

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GLYPHOSATE BİLEŞİĞİNİN SULU ÇÖZELTİDE ALKİLASYONU SONRASI
SIVI FAZ MİKROEKSTRAKSİYONU VE GC-MS ANALİZİ İLE TAYİNİ**

ZEYNEP KARNAS SELAMET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Kenan SEZER

EDİRNE-2022

Zeynep KARNAS SELAMET'in hazırladığı “**GLYPHOSATE BİLEŞİĞİNİN SULU ÇÖZELTİDE ALKİLASYONU SONRASI SIVI FAZ MİKROEKSTRAKSİYONU VE GC-MS ANALİZİ İLE TAYİNİ**” başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Kimya Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Kenan SEZER

.....

Prof. Dr. Dilek BAKIRCIOĞLU

.....

Doç. Dr. Ayça KARASAKAL

.....

Tez Savunma Tarihi: 21/04/2022

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Kenan SEZER

Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

.....

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

21 / 04 / 2022

Zeynep KARNAS SELAMET

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Glyphosate Bileşiğinin Sulu Çözeltide Alkilasyonu Sonrası Sıvı Faz Mikroekstraksiyonu ve GC-MS Analizi İle Tayini

T.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

ÖZET

Herbisitler, tarımsal üretimde bitkileri hastalıklardan ve verimi azaltan yabancı otlardan korumak için kullanılan kimyasal ajanlardır. Seçici olmayan bir herbisit olan Glyphosate (N-Phosphonomethyl glycine) yaygın kullanımı olan bir herbisittir. Glyphosate bazlı herbisit formülasyonları ile ilgili çalışmalar bu formülasyona maruz kalmış kişilerde bazı kanser türlerinin gelişme riskinin olduğunu bildirmiştir. Bu bileşiğin çevresel numunelerde varlığının belirlenmesi, aşırı polar yapısı, kromofor grupların eksikliği nedeniyle oldukça zordur. Glyphosate bileşiğinin analizi yaygın olarak kullanılan GC, LC, IC kromatografik ayrımları takip eden enstrümental yöntemlere dayanır ve bileşik genel olarak analiz edilmeden önce uygun türevlerine dönüştürülmektedir.

Bu çalışmada, sulu çözeltide bulunan Glyphosate bileşiğinin su-organik faz mikroemülsiyon sisteminde alkil halojenür alkilasyonu ile eşzamanlı sıvı faz mikroekstraksiyonu doğrudan uygulanmıştır. Emülsiyon uygun çözücüyle bozundurulduktan sonra Glyphosate alkil esteri oluşumu tamamlanmış ve GC-MS cihazında kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmiştir. Optimum türevlendirme reaksiyonu için diizopropilamin ve 1-bromopropan reaktiflerinin kullanımıyla 4 saat,

70 °C’de gerçekleştirilen reaksiyon için geri kazanım değerleri 100:10 (v/v) oranında kullanılan sulu çözelti:diklorometan sistemi için %50,5 ($\pm 5,0$) verimle elde edildi. Kalitatif tayin sınırı (LOD) 0,004 ppm ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) 0,014 ppm olarak belirlendi.

Yıl : 2022

Sayfa Sayısı : 67

Anahtar Kelimeler: Glyphosate, Pestisit, Türevlendirme, Sıvı faz mikroekstraksiyon, GC-MS analizi, Alkilasyon



Master Thesis

Determination Of Glyphosate Compound By Liquid Phase Microextraction And GC-MS Analysis After Alkylation In Aqueous Solution

Trakya University Institute of Natural Sciences

Chemistry Department

ABSTRACT

Herbicides are chemical agents used in agricultural production to protect plants from diseases and weeds that reduce yields. Glyphosate (N-Phosphonomethyl glycine), a non-selective herbicide, is a herbicide with widespread use. Studies on Glyphosate-based herbicide formulations have reported a risk of developing certain types of cancer in people exposed to this formulation. Determining the presence of this compound in environmental samples is quite difficult due to its extreme polar structure and lack of chromophore groups. Analysis of the Glyphosate compound is based on instrumental methods that follow commonly used GC, LC, IC chromatographic separations and the compound is generally converted into appropriate derivatives before being analyzed.

In this study, simultaneous liquid phase microextraction and alkyl halide derivatization in the water-organic phase microemulsion system where glyphosate compound take place was applied directly. After the emulsion was degraded with the appropriate solvent, the formation of Glyphosate alkyl ester was completed then qualitatively and quantitatively analyzed in the GC-MS instrument. With the use of diisopropylamin and 1-bromopropan reactants, recovery values for the reaction performed at 70 °C, 4h were obtained with a yield of 50.5% ($\pm 5.0\%$) for the aqueous

solution: dichloromethane used in a ratio of 100:10 (v/v). The limit of detection (LOD) was defined as 0.004 ppm and the limit of quantification (LOQ) was 0.014 ppm for performed study.

Year : 2022

Number of Pages : 67

Keywords :Glyphosate, Pesticide, Derivatization, Liquid phase microextraction, GC-MS analysis, Alkylation



TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında görüş ve önerilerini esirgemeyen değerli tez danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Kenan SEZER'e, tez çalışmam boyunca desteğini sürekli hissettiğim büyük özveri gösteren eşim Sunay SELAMET'e, her zaman yanımda olan annem, babam, kardeşlerim ve eşimin bana kattığı güzel ailesine içtenlikle teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2	4
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1.Pestisit Tanımı	4
2.2. Pestisitlerin Tarihçesi.....	5
2.3. Pestisitlerin Kullanımı	5
2.4. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	6
2.4.1.Yönettikleri organizmaya göre sınıflandırma	6
2.4.2. Kimyasal bileşimlerine göre sınıflandırma	7

2.4.2.1 Organoklorlu pestisitler.....	7
2.4.2.2 Organofosforlu pestisitler	8
2.4.2.3. Karbamatlar.....	8
2.4.2.4. Triazin pestisitler.....	8
2.4.2.5. Diğer sınıflar	8
2.4.3. Kullanılma tekniklerine göre sınıflandırma	9
2.4.4. Formülasyonlarına göre sınıflandırma	9
2.5. Pestisitlerin İnsan Sağlığı Üzerinde Etkileri.....	10
2.6. Pestisitlerin Çevre Üzerinde Etkisi	11
2.7. Pestisit Bileşiği Glyphosate’ın Tanımı	12
2.8. Glyphosate’ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	12
2.9. Glyphosate formülasyonları.....	14
2.10. Glyphosate Kullanımı ve Çevrede ki Varlığı ile Canlılar, Bitkiler ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkisi	15
2.11. Pestisitlerin ve Pestisit Bileşiği Glyphosate’ın Tayin Edilme Yöntemleri	22
2.11.1. Mikroekstraksiyon Yöntemleri	23
2.11.1.1. Katı Faz Mikroekstraksiyon (SPME).....	23
2.11.1.2. Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (LPME)	23
2.11.1.3. Dağıtıcı-Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME).....	24
2.12. Glyphosate’ın Gaz Kromatografisi ile Tayini	26
2.12.1. Asetilasyon ve Esterifikasyon Yöntemi	26
2.12.2. Trialkilsililasyon Yöntemi	26
2.13. Glyphosate’ın Sıvı Kromatografisi (LC) İle Tayini	27
2.14. Materyal.....	28
2.14.1. Glyphosate Bileşiği	28

2.14.2. Kullanılan Kimyasallar	28
2.15. Yöntem	28
2.16. Glyphosate Bileşiğinin GC-MS Analizi Optimizasyonu.....	33
2.16.1. Glyphosate bileşiğinin DLLME ekstraksiyonu optimizasyonu ve alkil türevlendirilmesi	38
2.16.2. Reaksiyon süresi ve sıcaklığının optimizasyonu.....	40
2. 16. 3. Dış kalibrasyon yöntemi ile LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesi ..	41
BÖLÜM 3	44
SONUÇ ve TARTIŞMA	44
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

2,4-D:	: 2,4-diklorofenoksiasetik asit
AA	: Asetik Asit Anhidrit
ACN	: Asetonitril
AChE	: Asetilkolinesteraz
AMPA	: Aminometilfosfonik asit
BSTFA	: N,O-bis(trimetilsilil)trifloroasetamid
CAS	: ChemicalAbstractsSystematic (Sistematik Kimyasal Özetler)
CE	: Kılcal Elektroforez
CO ₂	: Karbondioksit
DCM	: Diklormetan
DDT	: Diklorodifeniltrikloroetan
DIPA	: Diizopropilamin
DLLME	: Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
DMOSC	: 2,5-Dimetoksibenzensülfonil klorür
EEC	: EuropeanEconomicCommunity (Avrupa Ekonomik Topluluğu)
ELISA	: Enzime Bağlı İmmünosorbent Tahlili
EPA	: United StatesEnvironmentalProtectionAgency (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı)
EPSPS	: 5-enol piruvil şikimat-3-fosfat sentaz
FAO	: FoodandAgricultureOrganization (Gıda ve Tarım Örgütü)
FMOc	: Florenilmetiloksikarbonil
GC	: Gaz Kromatografisi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HFB	: Heptaflorobütanol
HFLPME	: Oyuk (Hollow) Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
LOD	: Gözlenebilme sınırı (Limit of Detection)
LLE	: Sıvı sıvı ekstraksiyonu
LPME	: Sıvı fazlı mikroekstraksiyon
LOQ	: Tayin sınırı (Limit of Quantification)
MRL	: Maksimum Kalıntı Limiti
MSTFA	: N-methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide
NH ₃	: Amonyak
OCP	: Organoklorlu
OP	: Organofosfat
OPAMCE	: o-ftaldialdehit/B-merkaptolanol
PFPA	: Pentafloropropiyonik asit
POEA	: Polioksietilenamin
PTFE	: Politetrafloretillen
PTSCL	: p-Toluensülfonil klorür
SBSE	: Stir Bar SorptiveEkstraksiyon (Karıştırma Çubuğu SorptifEkstraksiyon)
SDME	: Asılı Damla Mikroekstraksiyon
SFODME	: Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon
SPE	: Katı faz ekstraksiyonu
SPME	: Katı fazlı mikroekstraksiyon
STDLLME	: Solvent sonlu dispersif sıvı sıvı mikro ekstraksiyon
TFAA	: Trifloroasetik asit anhidrit
TFE	: Trifloroetanol
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TMOA	: TrimetilOrtoasetat
TMS	: Trimetilsilil
TIC	: Toplam İyon Akımı
WHO	: World HealthOrganization (Dünya Sağlık Örgütü)
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µm	: Mikrometre
ng/L	: Nanogram/Litre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Pestisitlerin ayrıntılı sınıflandırılmasının gösterimi (Parra-Arroyo vd., 2021).	6
Şekil 2. 2. Pestisitlerin formülasyonlarına göre sınıflandırılması (Parra-Arroyo vd., 2021).	10
Şekil 2. 3. Glyphosate'ın kimyasal yapısı (Zhan, Feng, Fan & Chen, 2018).	13
Şekil 2. 4. Glyphosate türevlerinin kimyasal yapıları (Xu vd., 2019).	15
Şekil 2. 5. Toprak bakterileri tarafından Glyphosate'ın birincil ve alternatif parçalanma yolu (Annett vd., 2014).	19
Şekil 2. 6. Bitkilerde Glyphosate'ın Parçalanma Mekanizması (Annett vd., 2014).	21
Şekil 2. 7. Glyphosate'ın pentil bromür ile 70°C'de reaksiyonuna ait kromotogram.....	30
Şekil 2. 8. Blank çalışmasının 1-bromopropan ile 70°C'de reaksiyonuna ait kromotogram.....	31
Şekil 2. 9. Glyphosate bileşiği propil ester türevi için elde edilen GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu	34
Şekil 2. 10. Glyphosate bileşiği propil ester türevi için elde edilen GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu (kütle spektrumu şiddeti arttırılmış)	35
Şekil 2. 11. Glyphosate bileşiği propil ester türevi için kütle spektrumunda oluşan m/z değerleri için öngörülen fragment yapıları.....	37
Şekil 2. 12. Sıcaklık-süre optimizasyonunda elde edilen pik alanlarına bağlı reaksiyon verimi	41
Şekil 2. 13. GC-MS analizi kalibrasyon doğrusu.	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Etkiledikleri canlı türlerine göre sınıflandırılması (Arroya vd., 2021).....	7
Çizelge 2. 2. Yüksek toksiteye sahip pestisitler ve ait oldukları sınıfları (Parra-Arroyo vd., 2021).	9
Çizelge 2. 3. Bazı pestisitlerin sağlık üzerine etkilerinin sınıflandırılması (Kulaksız, 2019).	11
Çizelge 2. 4. Glyphosate'ın fiziksel ve kimyasal özellikleri (Zhan vd., 2018).....	13
Çizelge 2. 5. 1974-2014 yılları arasında tarımsal ve tarım dışı uygulamalarda Glyphosate kullanımı (Benbrook, 2016).....	16
Çizelge 2. 6. Organiklerin analizi için geleneksel Dağıtıcı-Dispersif Sıvı-Sıvı Mikro Ekstraksiyon (DLLME) yöntemlerinin uygulamaları (Hashemi vd., 2017).	25
Çizelge 2. 7. FMOC ve OPA-MCE ile farklı sıcaklıklar ve çalışma süreleri ile Glyphosate ve AMPA bileşiklerinin optimizasyonları (Arkan & Molnár-Perl, 2015)....	28
Çizelge 2. 8. Glyphosate'ın 50°C ve 70°C'de, 1-bromopropan ve Iodoethane ile gerçekleştirilen çalışmaları.....	32
Çizelge 2. 9. Glyphosate bileşiğinin tayini için GC-MS cihazı şartları.....	33
Çizelge 2. 10. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME) eşlenik ester türevi oluşturma prosedürleri	38
Çizelge 2. 11. Türevlendirme reaksiyonunda sıcaklık ve süre optimizasyonu.....	40
Çizelge 2. 12. GC-MS analizi kalibrasyon doğrusu ve verileri	42

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artması nedeniyle canlı yaşamında önemli yere sahip olan gıda ürünlerinin tüketimi de artmaktadır (De, Bose, Kumar&Mozumdar, 2014). Dünyada ekilebilir alanların az olması ve tarım alanlarını genişletme imkanı sınırlı olmasından dolayı tarımsal üretimdeki artış, dünya nüfus artışının gerisinde kalmaktadır. Artan gıda talebini karşılayabilmek için tarımsal üretimi arttırmak gerekmektedir (Kitiş, Yazır&Özgönen Özkaya, 2016). Bu sebeple üretimde en büyük hedef verimi artırmaktır (Kaymak vd., 2015). Tarımsal üretimde karşılaşılabilecek en büyük sorun verim kayıplarıdır (Kurtoğlu, Ceylan, Cömertpay&Akyol, 2020). Tarımda verimi olumsuz yönde etkileyen en önemli etmenler zararlı ve yabancı otlar ile bitki hastalıklarıdır (Altundağ, 2019). Ülkemizde yetiştirilen tarım ürünlerinde ekonomik açıdan zarara yol açan, yaklaşık 500 hastalık etmeni, zararlı ve yabancı ot bulunmaktadır (Kurtoğlu, 2020). Bu yabancı otlar, kültür bitkileriyle rekabete girmekte ve verim kayıplarına neden olmaktadır (Demirkan, 2009). Oluşan verim kayıplarını en aza indirebilmek için yaygın olarak kullanılan zirai mücadele yöntemlerinden biri tarım ilaçlarının yani pestisitlerin kullanımıdır (Kurtoğlu vd., 2020). Pestisitler, zararlılarla mücadele ederek mahsul kayıplarını en aza indirmede basit, hızlı ve etkili bir yöntem

olmasından dolayı tercih edilmektedir (Arroya vd., 2021). Pestisit kullanımı sayesinde tarımsal üretimle beraber ürünlerin kalitesi de artmıştır (Atabey, 2016). Ticari ürünler arasında en çok tercih edilen tarım ilacı, 1970’li yıllarda Monsanto firması tarafından üretilen Roundup® olmuştur (Özden, 2018). Bu tarım ilacının etken maddesi herbisit sınıfına ait olan Glyphosate’tır (Aparicio vd., 2013). Glyphosate, yıllık ve çok yıllık otları, geniş yapraklıları seçici olmayan bir şekilde öldüren, geniş spektrumlu, bir çıkış sonrası herbisittir (Brake ve Evenson, 2004). Ayrıca dünya çapında en çok kullanılan pestisit olarak bilinmektedir (Carretta, Cardinali, Marotta, Zanin&Masin, 2019).

Pestisitlerin kullanımının artması ve yararlarının yanı sıra uzun süreli ve bilinçsizce kullanımları sonucunda ekosisteme ve insan sağlığına zarar verdiği saptanmıştır. Pestisit kalıntılarına gıda tüketimiyle maruz kalınmaktadır. Bu nedenle 1960 yılında Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi” kurulmuş ve bu komitenin çeşitli araştırmaları sonucunda gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır (Altıkat, Turan, Torun & Bingül, 2009). Pestisitlerin insan sağlığı, çevre ve doğal denge üzerindeki olumsuz etkilerinin görülmesinden sonra, halk sağlığını korumak için Glyphosate toksisitesi EPA (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı) tarafından düzenlenmiş ve toksite seviyesi “Seviye III” olarak belirlenmiştir (Mallet, 2014).

Glyphosate’ın, 2020 yılına kadar üretim ve kullanımının artmasıyla birlikte, bu herbisitlerin davranışlarını incelemeyi konu edinen araştırmalar artmıştır (Arkan, Csámpai&Molnár-Perl, 2016). Glyphosate’ın tespiti için birçok yöntem geliştirilmiştir. İyonik yapısı, zayıf uçuculuğu, amfoterik karakter, düşük molekül kütlesi, suda iyi çözünürlük ve yüksek polarite gibi fiziko-kimyasal özelliklerinden dolayı, Glyphosate analizinin düşük seviyelerde tayini çok zordur (Carretta vd., 2019). Ayrıca kimyasal yapısı, doğrudan tespit edilebilmesine yardımcı olabilecek gerekli fonksiyonel grupları içermemektedir (Sun vd., 2017). Genel olarak, Glyphosate tespit etmek amacıyla geliştirilen yöntemler 4 ana kategoriye ayrılmaktadır: Bu yöntemler Gaz Kromatografisi (GC), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), enzime bağlı immünosorbent analizi (ELISA) ve kapiler elektroforez (CE)’dir (Annett, Habibi &Hontela, 2014).

GC veya HPLC gibi cihazlarla tespiti için türevlendirme işlemleri gerekmektedir (Ibanez, Pozo, Sancho, Lopez, Hernandez, 2005). Örneğin, GC-MS analizlerinde türevlendirme tekniklerinden biri olan alkilsilil ile türevlendirme, N-methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide(MSTFA) reaktifi ile gerçekleştirilmekte ve trimetilsilil (TMS) türevleri elde edilerek Glyphosate tayini gerçekleştirilebilmektedir (Arkan vd., 2016).

Bu tez çalışmasının amacı, sulu çözeltide bulunan Glyphosate bileşiğinin su-organik çözücü mikroemülsiyon sistemi oluşturarak türevlendirme reaksiyonu ile alkil esterine dönüştürerek organik faza geçirmek ve GC-MS ile tayini etmektir.



BÖLÜM 2

KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.Pestisit Tanımı

Pestisitler, mahsule zarar veren herhangi bir organizmayı öldürebilen, engelleyebilen veya büyümesini durdurabilen kimyasal bileşiklerdir (Arroya vd., 2021). Pestisit yabancı kaynaklı bir kelime olup pest=zararlı,cide = öldürücü anlamına gelir (Klaassen, 2021).

EPA tanımına göre pestisit, herhangi bir haşereyi (böcekler, fareler ve diğer hayvanlar) istenmeyen bitkileri (yabani otlar) veya mikroorganizmaları önlemeye, yok etmeye, kovmaya veya hafifletmeye yönelik geliştirilen madde veya madde karışımlarıdır (Morillo&Villaverde, 2017).

FAO ve TGK ise pestisiti; herhangi bir zararlıyı önlemek, kontrol etmek, tahrip etmek, püskürtmek veya azaltmak için tasarlanmış madde veya madde karışımı olarak tanımlamaktadır (Kulaksız, 2019).

2.2. Pestisitlerin Tarihçesi

Pestisitlerin kullanımı çok eski tarihlere dayanmaktadır. M.Ö. 1500'lere ait bir papirüs üzerinde bit, pire ve eşek arılarına karşı insektisitlerin hazırlanışına dair kayıtlar bulunmuştur (Altıkat vd., 2009). Antik çağlardan beri insanların, besin kaynaklarında kaliteyi ve verimi artırabilmek için en etkili ve daha az zaman alan yaklaşımları uygulamaya çalıştıkları görülmektedir. Bu yönde zararlıları(haşereleler, böcekler vb., yabancı otlar gibi) yok etmek amacıyla kullandıkları ilk yöntem elemental kükürt kullanımı olmuştur (Abubakar vd., 2020).

M.Ö 1000 yılında kükürdün insektisit(böcek ilacı) ve fungusit(mantar ilacı) özelliği keşfedilmiştir (Kaymak vd., 2015). Yüzyıllardır böcek ilacı veya mantar ilacı (bakır veya civa bileşikleri) olarak çeşitli doğal bileşikler kullanılmıştır (Costa&Aschner, 2014). Çinlilerin, M.S 900'lü yıllarda arseniği bahçe böceklerine karşı kullandıkları bilinmektedir. 1970'li yıllarda yabancı otlarla mücadelede kullanılan bir herbisit olan Glyphosate keşfedilmiştir(Kaymak vd., 2015).

2.3. Pestisitlerin Kullanımı

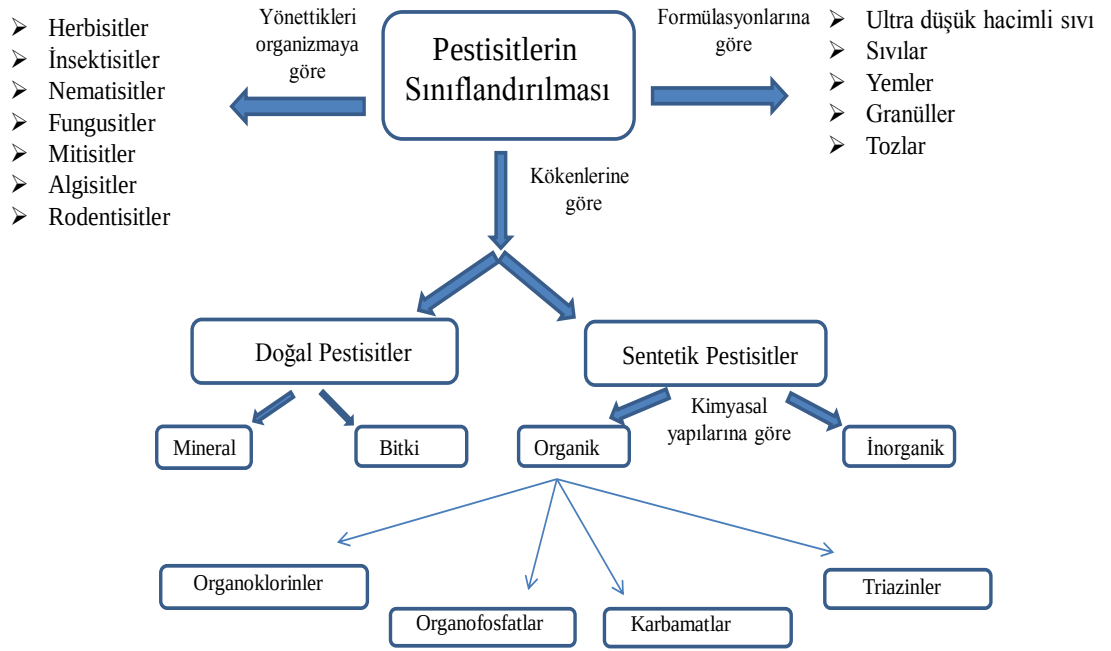
Dünya nüfusunun artmasıyla, yeterli besin üretiminde tarımsal ürünlerde ki verim kaybının önlenmesi için tarım alanı olarak kullanılan alanlarda birim alandan elde edilecek ürün miktarını arttırmak gerekmektedir (Kurtoğlu vd., 2020). Kaliteli ve fazla miktarda ürün alabilmek için yabancı otlar ve bitkilerde ki hastalıklar ile mücadele edilmesi gerekmektedir (Kulaksız, 2019). Bu sorunların çözümünde kullanılan zirai mücadele yöntemlerinden biri tarım ilacı kullanımıdır (Kurtoğlu vd., 2020). Pestisitler, üretim performansını artırmak ve gıdaların kalitesini artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Mir vd., 2021). Çoğunlukla mahsullere ekim sırasında veya hasat sonrası uygulanmaktadır (Türköz Bakırcı, Çınar &Karakaya, 2019).

Pestisitler, kısa sürede etkili olmaları ve kolay uygulanabilir olmalarından dolayı çok fazla tercih edilmektedir (Kitiş vd., 2016). Dünya genelinde her yıl tahmini 3 milyar ton pestisit uygulandığı tespit edilmiştir. Pestisit kullanımının çok yaygın olmasından dolayı yapılan bazı araştırmalarda yasal limitlerin üstünde pestisit konsantrasyonları tespit edilmiştir. Örneğin; Hindistan'da içme suyundaki organoklorlu(OCP) pestisitlerin tespit edilmesine yönelik bir araştırma gerçekleştirmiş ve bu araştırmada numunelerin %

37'sinin, içme suyu için Avrupa Ekonomik Topluluğu(EEC)tarafından belirlenen 500 ng/L'lik yasal pestisit sınırını aştığı tespit edilmiştir (Hearon, Wang, McDonald, Phillips, 2020)

2.4. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler yapılarına, kullanım amaçlarına, formülasyonlarına, kaynaklarına, etki biçimlerine, hedef organizmaya girişlerine, toksisitelerine, işlevlerine veya yönetilmesi amaçlanan zararlılara göre sınıflandırılabilir. Şekil 2.1.'de pestisitlerin ayrıntılı olarak sınıflandırılması gösterilmiştir.



Şekil 2. 1. Pestisitlerin ayrıntılı sınıflandırılmasının gösterimi (Parra-Arroyo vd., 2021).

2.4.1.Yönettikleri organizmaya göre sınıflandırma

Çizelge 2.1.'de pestisitlerin etkiledikleri canlı türlerine göre sınıflandırılması verilmiştir.

Çizelge 2. 1. Etkiledikleri canlı türlerine göre sınıflandırılması (Arroya vd., 2021).

Pestisit Sınıfı	Etkiledikleri Canlı Türleri
İnsektisitler	Böcekler
Herbisitler	Yabancı Otlar
Fungusitler	Mantarlar
Nematisitler	Böcekler ve Mantarlar
Algisitler	Algler
Rodentisitler	Kemirgenler
Mitisitler	Keneler

2.4.2. Kimyasal bileşimlerine göre sınıflandırma

Pestisitler kimyasal yapılarına göre organik ve inorganik pestisitler olarak sınıflandırılmaktadır.

Organik pestisitler: Karbon, hidrojen, flor, klorür, kükürt ve genellikle oksijen, nitrojen, fosfor veya sülfür içerirler (Bilal, Iqbal&Barceló, 2019).

İnorganik pestisitler: Kükürt ve bakır gibi elementleri içermektedir. İnorganik pestisitler, mevcut fonksiyonel gruplarına göre organofosfatlar, organoklorlar, karbamatlar, triazinler, neonikotinoidler, diamidler ve fenoksiller olarak sınıflandırılmaktadır (Bilal vd., 2019). Çoğu pestisit benzer bir kimyasal yapıya ve etki şekline sahip olsa da, hepsi farklı spesifik bölgeleri hedeflemektedir (Arroya vd., 2021)

Dünya çapında en yaygın olarak uygulanan pestisitler, organofosforlu pestisitler ve karbamatlardır. Pestisitleri de içeren çevresel kirleticilerin çoğu, çevre ve canlı ekosistemi için tehdit oluşturmaktadır. Çok sık kullanılmayan organoklorlu pestisitlerin ise çevrede uzun süre kalıcı olduğu bilinmektedir (Gonçalves, Rocha, Marques&Gonçalves, 2021).

2.4.2.1 Organoklorlu pestisitler

Çeşitli organizmalara karşı kullanılmaktadır. Bu pestisitler böcekleri, bakterileri, mantarları ve yabancı otları uzaklaştırmak için kullanılmaktadır (Bilal vd., 2019). Organoklorlu pestisitler, diğer kimyasal sınıflardaki pestisitlerden daha toksik ve

kalıcıdır. Çevreye verdikleri zararlar nedeniyle bu grubun üyelerinin kullanımı yasaklanmıştır (Atabay, 2016). Temas ve solunum yolu ile etkilidirler. Organoklorlu pestisitlerin bazı örnekleri DDT, klordan, heptaklor, endosulfan ve aldrin'dir (Bilal vd., 2019).

2.4.2.2 Organofosforlu pestisitler

Fosforik veya fosfonik asit esterleridir. Yapısal olarak fosfatlar, fosfonatlar, fosforotioatlar ve fosforamidatlar gibi 13 farklı türevi bulunmaktadır (Gupta&Milatovic, 2014). Organofosforlu pestisitler en yaygın kullanılan pestisitlerdir. Yaygın kullanımları, bilinen toksisiteleri ve kalıcılıkları nedeniyle organoklorinlerin yasaklanmasından sonra başlamıştır. Bu pestisitler dünyadaki pestisit satışlarının %34'ünü oluşturmaktadır. Temas, sindirim ve solunum yolu ile etkilerini gösterirler (Atabay, 2016). En yaygın olarak kullanılanları; klorpirifos, diazinon, malathion, parathion ve phorate'dir (Arroya vd., 2021). Aşağıdaki Çizelge 2.2. Yüksek toksiteye sahip pestisitler ve ait oldukları sınıfları verilmiştir.

2.4.2.3. Karbamatlar

Karbamatlar, istenmeyen bitkilerin filizlenmesini önledikleri anlamına gelen, çıkış öncesi kullanılan bir herbisit grubudur. Karbamik asitten elde edilirler ve genellikle sprey formda veya yem olarak uygulanmaktadırlar. Bazı örnekleri karbaril, oksamil, karbofuran, aldikarb, etienokarb ve metomil'dir (Parra-Arroyo vd., 2021).

2.4.2.4. Triazin pestisitler

Triazinler, yabancı otların yönetiminde sıklıkla kullanılmaktadır. Çoğu triazin pestisitler, fotosentezde elektron taşınmasını engellemekte ve herbisit olarak kullanılmaktadır (Parra-Arroyo vd., 2021).

2.4.2.5. Diğer sınıflar

Bu grupta yer alan pestisitlerin istenmeyen olumsuz etkilere yol açtığı kabul edilmiştir. Bu grupta neonikotinoidler ve diamidler yer almaktadır. Neonikotinoid insektisitler; genellikle tarım ve veterinerlikte kullanılmaktadır (Gupta&Milatovic,

2014). Bu pestisitler organizmanın merkezi sinir sistemini geri dönüşümsüz olarak etkilemektedir. Hedef organizmaları arasında toprak, çim ve emici böcekler, termitler, beyazsinekler ve Colorado patates böceği bulunmaktadır. Ancak son yıllarda bu organizmaların dirençli hale geldikleri tespit edilmiştir. Ek olarak, arılar, kuşlar, memeliler ve balıklar gibi hedef olmayan organizmalar üzerinde istenmeyen etkiler gösterdikleri gözlemlenmiştir. Piyasada bulunan ilk neonikotinoid, imidakloprid'dir

Çizelge 2. 2. Yüksek toksiteye sahip pestisitler ve ait oldukları sınıfları (Parra-Arroyo vd., 2021).

PESTİSİT	SINIFI
Klordan	İnsektisit
Dieldrin	İnsektisit
Bromofos	İnsektisit
Glyphosate	Herbisit
Pentaklorofenol	Herbisit
Hekzaklorobenzen	Fungusit
Edifenfos	Fungusit
Pirazofos	Fungusit
Fenamifos	Nematisit
Terbufos	Nematisit
Klofentezin	Mitisit
Lindan	Rodentsit

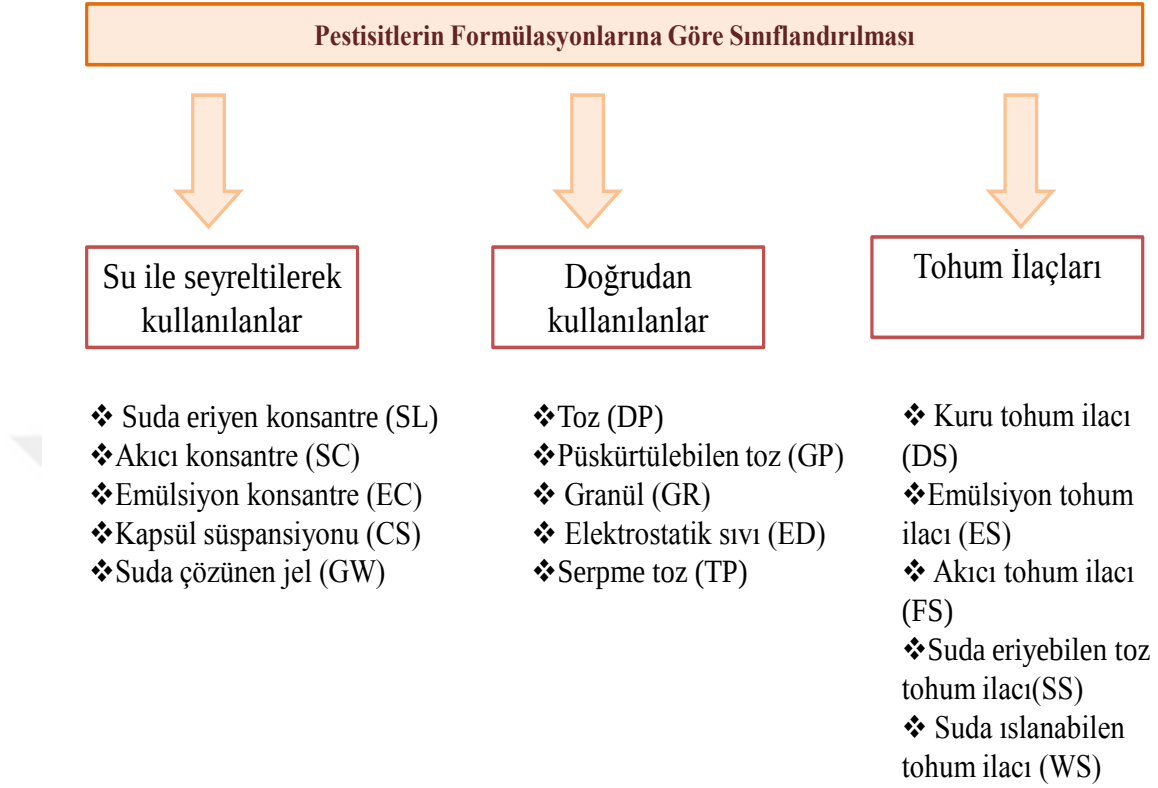
2.4.3. Kullanılma tekniklerine göre sınıflandırma

Bu sınıflandırmada pestisitlerin kullanma şekli göz önünde tutulur.

- Doğrudan kullanılanlar .
- Su veya bir başka çözücü ile seyreltilerek kullanılanlar.

2.4.4. Formülasyonlarına göre sınıflandırma

Pestisitlerin formülasyon şekilleri esas alınarak yapılan sınıflandırmaları Şekil.2.2.'de gösterilmiştir (Tunçdemir, 2016).



Şekil 2. 2. Pestisitlerin formülasyonlarına göre sınıflandırılması (Parra-Arroyo vd., 2021).

2.5. Pestisitlerin İnsan Sağlığı Üzerinde Etkileri

Pestisitlerin önemi ilk kez 1948’de insan vücudunda organik klorlu pestisit kalıntılarına rastlanmasıyla anlaşılmıştır (Altıkat vd.,2009). İnsanlar pestisite gıda ürünleri tüketimi ile maruz kalmaktadır (Mir vd., 2021). Toksik bileşikler et ürünleri, deniz ürünleri, balıkçılık ve su ürünleri tüketimiyle insan vücuduna girmektedir (Arroya vd., 2021). İnsan dokuları, sıvı ve dışkı örnekleri gibi biyobelirteçler, pestisit maruziyetine ilişkin kalitatif ve kantitatif kanıt sunmaktadır (Gupta ve Milatovic, 2014). İnsan vücudunda pestisitlerin tespit edilmesi ve bunların gıda yoluyla alındıklarının saptanmasıyla 1960 yılında FAO ve WHO tarafından “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi” kurulmuştur. Bu komitenin kurulmasıyla gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır (Kulaksız, 2019).

Kimyasal bileşimlerine göre sınıflandırılan pestisitlerden organoklorinler ve organofosfatlar gibi bazı sınıflar toksisitesi nedeniyle, birçok ülkede yasaklanmıştır (Arroya vd., 2021). Yapılan araştırmalarla pestisitlerin insan sağlığını olumsuz yönde etkilediği hatta insanlarda kanserojen, sinir sistemi bozuklukları ve mutasyon oluşturuca etkilere sahip olduğu saptanmıştır (Altıkat vd., 2009). Aynı zamanda pestisitlerin üreme sistemine olumsuz etki ettiği ve hamilelikte sorunların yaşanmasına neden olduğu tespit edilmiştir (Gasnier vd., 2009).

Çizelge 2. 3. Bazı pestisitlerin sağlık üzerine etkilerinin sınıflandırılması (Kulaksız, 2019).

Sağlık Üzerine Etki	Karsinojenik	Teratojen	Mutajen	Allergen
Pestisitler	Aldrin Benomil Captafol Carbofuran Captan 2,4-D Klorotalonil Lindan Tiram Trifluralin Zinep	Aldrin Benomil Captafol Captan 2,4-D Diquat Lindan Maneb Propaklor Tiram Zinep	Aldrin Aldicarb Benomil Captafol Carbofuran Klorfenvinfos Dimethoate Disulfaton Paraquat Simazine Tiram	Benomil Captafol Captan Klorotalonil Lindan Maneb Paraquat Propaklor Tiram Zinep

2.6. Pestisitlerin Çevre Üzerinde Etkisi

Tarımsal çalışmalar sırasında uygulanan pestisitler; hava, su ve toprak ile taşınmakta ve bu ortamlarda bulunmakta olan canlılara geçmektedir. Pestisitlerin yayılımını o pestisit kimyasal ve fiziksel özellikleri, formülasyonu, uygulama şekli, iklim ve tarımsal faaliyetler etkilemektedir. Tarım ürünlerini zararlı ve hastalık yapıcı otlardan korumak için pestisitler kullanılmakta ve bu kullanımlar sonucunda insanlar, canlılar ve çevre üzerinde olumsuz etkilere neden olan problemler ile karşılaşmaktadır.

Pestisit uygulamaları sırasında havaya karışan pestisitler rüzgarla taşınmakta ve uzun mesafelere kadar gidebilmektedir. Bu yolla taşınan pestisitler kontrol

edilemedikleri için suya, çevreye, insanlara ve canlılara ulaşarak zarar vermektedir. Bu tür zararların önüne geçilebilmesi için pestisitler uygulanırken dikkatli olunmalı, eğitimli kişiler tarafından uygulamalar yapılmalıdır (Altıkat vd., 2009)

2.7. Pestisit Bileşiği Glyphosate'ın Tanımı

Glyphosate, ağaç, çalı, ot, uzun ömürlü bitki, mısır ve soya gibi bitki türlerini etkili bir şekilde kontrol eder (Özden, 2018). Tarımsal ve tarım dışı alanlarda çok çeşitli yabani otları kontrol etmek amacıyla çıkış sonrası kullanılan, seçici olmayan, sistemik bir herbisittir (Travlos, Cheimona&Bilalis, 2017). Herbisitler, tarımsal üretimde verim kaybına yol açan yabancı otlar ve çalılar gibi bitkilerin büyümesini kontrol altına almak için kullanılmaktadır (Ulu, 2019).

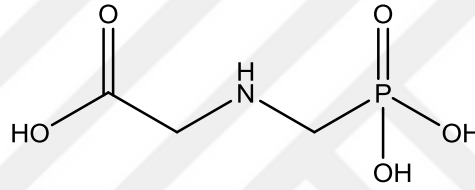
Yabancı ot kontrolü ile mücadeleler geçmişten beri sorun olmuştur. 2. Dünya Savaşı'ndan sonra yabancı ot kontrolü 2,4-D ile başlamış ve bu dönemin en önemli herbisitlerinden biri olan Glyphosate ile devam etmiştir (Duke &Powles, 2008). Glyphosate molekülü ilk olarak 1950 yılında İsviçre'de küçük bir ilaç şirketinde çalışan Henri Martin tarafından sentezlenmiş ancak 1970 yılında herbisidal aktivitesi keşfedildikten sonra Monsanto Co firmasından John E.Franz tarafından tekrar sentezlenerek, herbisit kullanımı için patenti alınmıştır (Duke &Powles, 2008). İlk Glyphosate içeren tarım ilacı, Monsanto firması tarafından ticari amaçlı üretilen Roundup® olmuştur (Aparicio vd., 2013). Ayrıca Glyphosate, dünya çapında en çok kullanılan pestisit olarak bilinmektedir (Carretta vd., 2019).

2.8. Glyphosate'ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

N-(fosfonometil)glisin yapısında olan Glyphosate, beyaz renkli, toz veya kristal şeklinde bulunmaktadır (Şentürk, 2017). Amin, karboksilat ve fosfonat gibi fonksiyonel gruba sahip bir moleküldür (Kergaravat, Fabiano, Soutullo & Hernandez, 2021). Ksilen, etanol ve aseton gibi organik çözücülerde çözünmez (Şentürk, 2017). Suda çözünürlüğü çok iyidir (25°Cde 1.2g/100ml) (Carrettavd, 2019). Polar ve amfoteriktir (Ghanem, Bados, Kerhoas, Dubroca&Einhorn, 2007). Zwitter iyon yapısındadır (Singh vd., 2020). Bileşik, hem hidrojen katyonu (H +) verici (asidik) hem de alıcı (bazik) fonksiyonel grupları içerir ve molekül içinde katyonik ve anyonik alanlar oluşturabilir. Bu özelliğiyle, aminoasitlere benzemekte olup, aminoasit bileşiği glisinin fosfonometil

türevidir (Székács ve Darvas, 2012). Glyphosate, fizikokimyasal etkilere karşı dirençli, karbon-fosfor (C-P) bağına sahip olan organofosfatlar sınıfına aittir (Shushkova,Ermakova&Leontievsky, 2010). Glyphosate uçucu olmayan bir kimyasaldır. Havada kararlıdır ve fotokimyasal olarak bozunmazlar (Kanissery, Gairhe, Kadyampakeni, Batuman ve Alferez, 2019). Glyphosate'ın bozunması abiyotik ve biyotik yollarla (absorpsiyon, fotoliz, termoliz ve katabolik enzimler) biyolojik bozunmayla gerçekleştirilebilir. Fotokatalitik bozunma, Glyphosate'ı CO₂, su ve inorganik iyonlar gibi toksik olmayan bileşiklere indirgeyebilir (Singh vd., 2020).

Aşağıda Şekil 2.3. Glyphosate bileşiğinin kimyasal yapısı verilmiş olup, Çizelge 2.4.'de Glyphosate'a ait fiziksel ve kimyasal özellikleri gösterilmiştir.



Şekil 2. 3. Glyphosate'ın kimyasal yapısı (Zhan, Feng, Fan &Chen, 2018).

Çizelge 2. 4. Glyphosate'ın fiziksel ve kimyasal özellikleri (Zhan vd., 2018).

Glyphosate	
Moleküler formülü	C ₃ H ₈ NO ₅ P
IUPAC adı	N-(fosfonometil)glisin
CAS numarası	1071-83-6
Moleküler ağırlığı	169.07 g/mol
Fiziksel durum ve renk	Kristal toz, beyaz
Kaynama noktası	200-230°C
Buhar basıncı	1.31x10 ⁻² mPa (25°C'de)
Yoğunluğu	1,705 g/cm ³ (20°C)
Su Çözünürlüğü	1.2g/100ml (25°C'de)
İyonlaşma sabiti pKa	2.0, 2.6,5.8 ve 10.8
pH	5-9(25°C)
Yarılma Ömrü	7 – 142 gün (suda)

2.9. Glyphosate formülasyonları

Roundup tarafından üretilen Glyphosate bazlı herbisitler, dünya çapında en çok tercih edilen ticari pestisit formülasyonlarıdır (Mesnage, Defarge, Vendomois&Seralini, 2015). Glyphosate bazlı herbisitlerde yaygın olarak bulunan yüzey aktif maddeler arasında polioksietilenamin(POEA), polioksietilen alkil eter fosfatlar ve alkil poliglukosit yer alır (Matozzo, Fabrello&Marin, 2020).

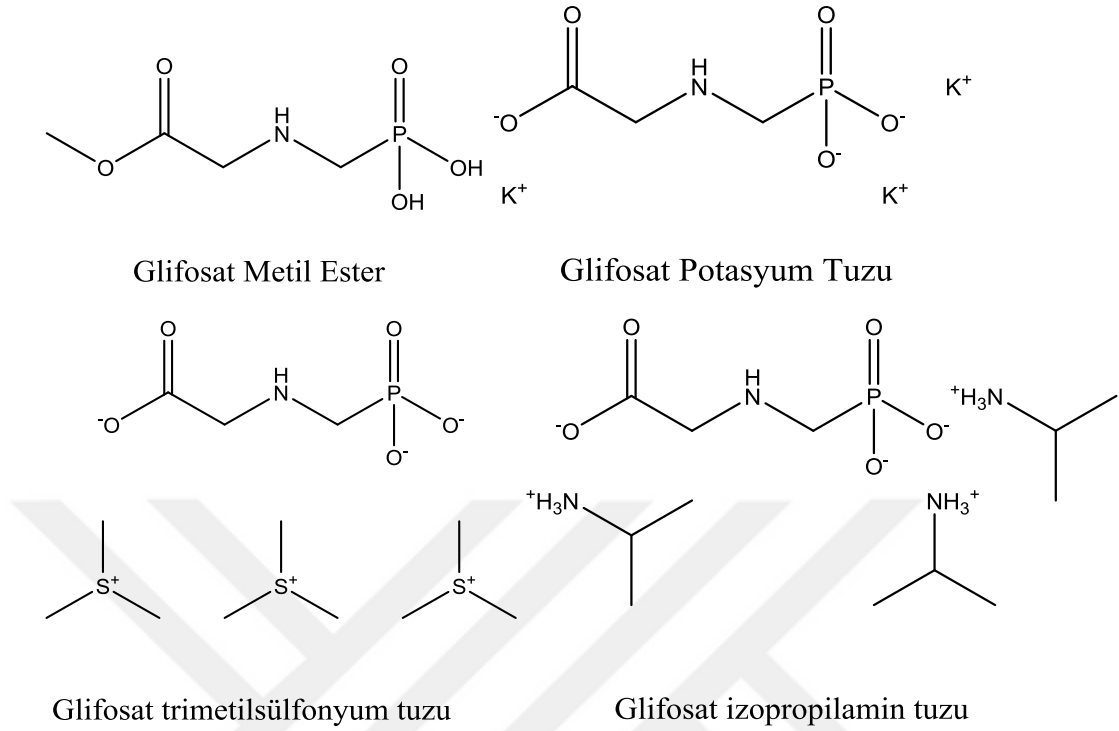
Formülasyonda bulunan Glyphosate'ın yüzey aktif maddeye oranı, ürünün pazarlandığı ülkeye göre değişmektedir. Brezilya'da, Roundup® %36 (a/a) Glyphosate ve %18 (a/a) polioksietilenamin olarak mevcuttur (Dallegrave vd., 2007).

Glyphosate, formülasyonlarında yardımcı maddeler olmadan tek başına kullanılmamaktadır. Formülasyonları genellikle aktif bileşen olarak %36-48 Glyphosate, su, tuz ve yüzey aktif madde olarak POEA gibi yardımcı maddelerden oluşmaktadır. Bu yardımcı maddeler Glyphosate'ın herbisidal aktivitesini değiştirmekte ve Glyphosate'ın toksisitesini artırmaktadır (Mesnage vd., 2015).

Formülasyon içerisinde yer alan tuzlar, yaprağa daha etkili nüfuz ederek Glyphosate'ın daha fazla emilmesini sağlamaktadır. Glyphosate bazlı herbisit, izopropilamin, diamonyum, monoamonyum, potasyum, trimetilsülfonyum ve seskisodyum gibi çeşitli tuz formlarında temin edilebilir (Travlos vd., 2017).

Suda çözünürlük sırası;

Glyphosate << amonyum tuzu < sodyum tuzu < potasyum tuzu < izopropil amonyum tuzu < trimezyum tuzu şeklindedir. Trimezyum tuzunun çözünürlüğü Glyphosate'dan iki kat daha yüksektir (Székács ve Darvas, 2012). Aşağıda Şekil 2.4.'de Glyphosate türevlerinin kimyasal yapıları verilmiştir.



Şekil 2. 4. Glyphosate türevlerinin kimyasal yapıları (Xu vd., 2019).

2.10. Glyphosate Kullanımı ve Çevrede ki Varlığı ile Canlılar, Bitkiler ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkisi

Dünya üzerinde çeşitli tarla bitkilerinde yıllık geniş yapraklı yabancı otları, otları ve sazları kontrol altına alabilmek için kullanılır. Kentsel ve doğal alanlar, meralar, ormancılık ve su ürünlerinde de kullanılmaktadır (Kanissery vd., 2019). Maliyetinin düşük olması ve kolay uygulanabilmesinden dolayı kullanımı artmıştır (Dentzman, 2018). Aşağıdaki Çizelge 2.5.'de, 1974-2014 yılları arasında tarımsal ve tarım dışı uygulamalarda Glyphosate kullanımının artışı gösterilmiştir.

Çizelge 2. 5. 1974-2014 yılları arasında tarımsal ve tarım dışı uygulamalarda Glyphosate kullanımı (Benbrook, 2016)

	1974	1982	1990	1995	2000	2005	2010	2012	2014
Glyphosate kullanımı(1000kg)	635	3538	5761	18,144	44,679	81,506	118,298	118,753	125,384
Tarım	363	2268	3357	12,474	35,720	71,441	106,963	107,192	113,356
Tarım Dışı	272	1270	2404	5670	8958	10,065	11,335	11,562	12,029
Glyphosate kullanımı(1000 lb)	1400	7800	12,700	40,000	98,500	179,690	260,804	261,807	276,425
Tarım	800	5000	7400	27,500	78,750	157,500	235,814	236,318	249,906
Tarım Dışı	600	2800	5300	12,500	19,750	22,190	24,989	25,489	26,519
Tarım yüzde %	57,1	64,1	58,3	68,8	79,9	87,7	90,4	90,3	90,4
Tarım Dışı Yüzde %	42,9	35,9	41,7	31,3	20,1	12,3	9,6	9,7	9,6

Glyphosate kullanımının artmasıyla birlikte insanlarda sindirim sorunları, obezite, otizm, depresyon, parkinson, alzheimer, karaciğer hastalıkları ve kanser gibi hastalıklarda artış gözlemlenmiştir (Samsel&Seneff, 2013). Glyphosate ürünlerinin insanlara akut toksisitesi incelenmiş ve Japonya'da 56 intihar girişiminin gözlemlendiği ve dokuz insanın ölümüyle sonuçlanan vakaları araştıran doktorlar tarafından yayınlanmıştır. Belirtiler arasında bağırsak ağrısı, kusma, akciğerlerde aşırı sıvı, zatürree, bilinç bulanıklığı yer almaktadır (Cox, 2018). Buna Roundup bileşeni POEA'nın toksisitesinin yol açtığı belirtilmiştir (Jarrell, Ahammad&Benson, 2020).

İnsanların Glyphosate'a maruz kaldıklarının bir kanıtı ise alınan idrar örneklerinde Glyphosate kalıntısının saptanması olmuştur (Niemann, Sieke, Pfeil&Solecki, (2015). Yapılan bir araştırmada çiftçilerde gözlenen kronik böbrek ve karaciğer rahatsızlıkları incelenmiş, karaciğer ve böbreklerin Glyphosate maruziyetinden en çok etkilenen organlardan olduğu sonucuna varmışlardır (Sarıaltın&Çoban, 2016). Dünya Sağlık Örgütü tarafından Glyphosate'ın kanserojenik etki gösterdiği ve "2A kanserojen"

(insanlar için muhtemelen kanserojen) kategorisinde bulunan bir kimyasal olduğu belirtilmiştir (Xu vd., 2019). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), hem saf Glyphosate hem de Glyphosate formölasyonları için güçlü genotoksisite kanıtı olduğu sonucuna varmıştır (Kergaravat vd., 2021).

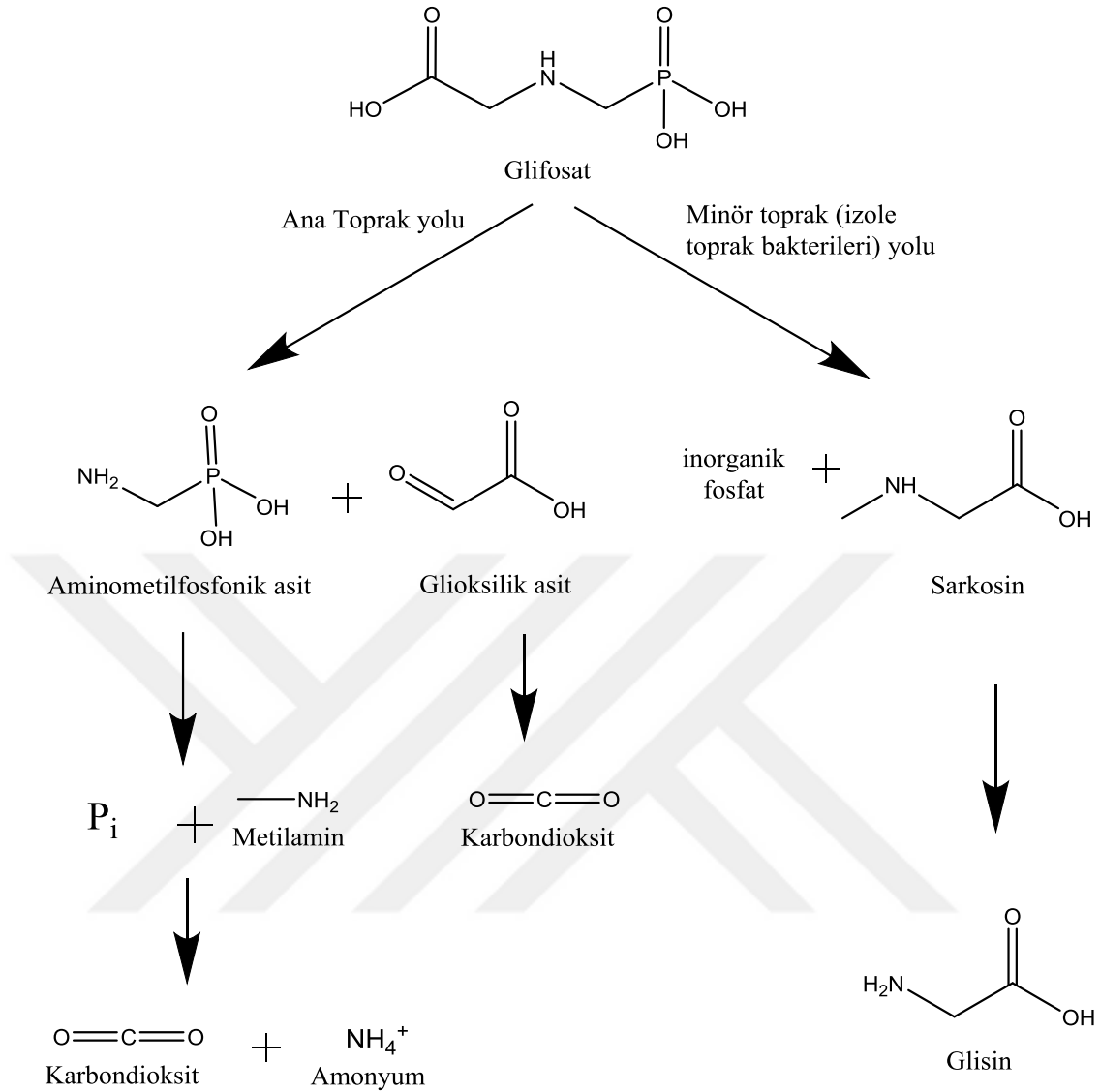
Pestisitlerin gıda ürünlerinde tespiti için bazı araştırmalar gerçekleştirilmiş. Bu çalışmalardan birinde sebze, meyve ve bebek mamasında Stir bar sorptive extraction (SBSE) yöntemi kullanılarak pestisit analizi gerçekleştirilmiş. Bu yöntemde, metanol çözücüsü kullanılmış ve 60 dakikalık SBSE yöntemi uygulanmış. Pestisit kalıntısının tespiti için GC-MS analizi gerçekleştirilmiştir. Bu cihazla 300 pestisit analiz edilmiş ve marul, armut, üzüm ve bebek mamaları gibi gıda ürünlerinde pestisit kalıntılarına rastlanmıştır (Sandra ve ark., 2003).

Glyphosate'ın bilinçsiz kullanımı sonucu toprakta ve suda birikmelerin meydana geldiği belirtilmektedir. Glyphosate güçlü bir şekilde toprakta absorplanmakta ve mikrobiyal bozulmaya uğramaktadır (Hanke, Wittmer, Bischofberger, Stamm&Singer, 2010). Toprakta bulunan mikroorganizmaların (algler, mantarlar, bakteriler) bazı herbisitleri besin kaynağı olarak kullandıkları ve bu herbisitleri parçaladıkları bilinmektedir (Kurtoğlu vd., 2020). Glyphosate, topraktaki mikroorganizmalar tarafından parçalanır, daha toksik ve daha kalıcı ana metaboliti olan Aminometilfosfonik asit (AMPA) oluşturmak üzere bitki dokusunda metabolize edilir. AMPA, bir aminofosfonattır, kimyasal olarak Glyphosate'a benzer, davranış ve toksisite açısından benzer özellikler göstermektedir. Polar ve suda iyi özünür (20°C'de 146,6 g/L). Glyphosate ve AMPA, bitkinin kökünden gövdelere ve yapraklara taşınmaktadır (Kanissery vd., 2019). Topraktaki Glyphosate'ın yarı ömrü, mineral ve organik bileşim, iklim koşulları ve mikrobiyal aktiviteden etkilenmektedir (Matozzoetal vd., 2020). Tarımsal topraklarda, yarı ömür 1,7-197,3 gün arasında değişmektedir (Giesy vd., 2000). Tatlısu ekosistemlerinde yarılanma ömrü ise 7-142 gün olarak bildirilmiştir (Matozzoetal vd., 2020). AMPA'nın ise yarılanma ömrü (DT₅₀), 121 gündür (Grandcoin, Piel ve Baures, (2017).

alışmalar, Glyphosate'ın %48-70'inin, öncelikle C-N bağının kırılması yoluyla toprakta AMPA'ya parçalandığını göstermektedir (Hearon vd., 2020). Glyphosate

uygulamasından sonra AMPA sıklıkla yüzey sularında ve yeraltı sularında tespit edilmektedir (Grandcoin vd., (2017).

C-P yapısı liyaz veya oksidoredüktazları içeren enzimatik reaksiyonlara dahil olur ve sırasıyla C-P veya C-N bağının yok olmasına ve sarkozin veya AMPA oluşumuna yol açar. Sarkozin yolu ile bozunma sırasında oluşan metabolitler toksik değildir ve toprak mikro florası tarafından hızla kullanılır. Fosfor kaynağı olarak fosfatlar kullanılırken, sarkozin, amonyak (NH₃) ve karbondioksit (CO₂) ayrılan glisin, amino asit ve nükleik asit metabolizmasının bir koenzimi olan tetrahidrofolat ile bir kompleks oluşturan formaldehite yükseltgenir (Kulikova, Zhelezova, Filippova, Plyushchenko&Rodin, 2020). Şekil 2.5.'te Glyphosate'ın toprakta mikrobiyal parçalanması gösterilmiştir.

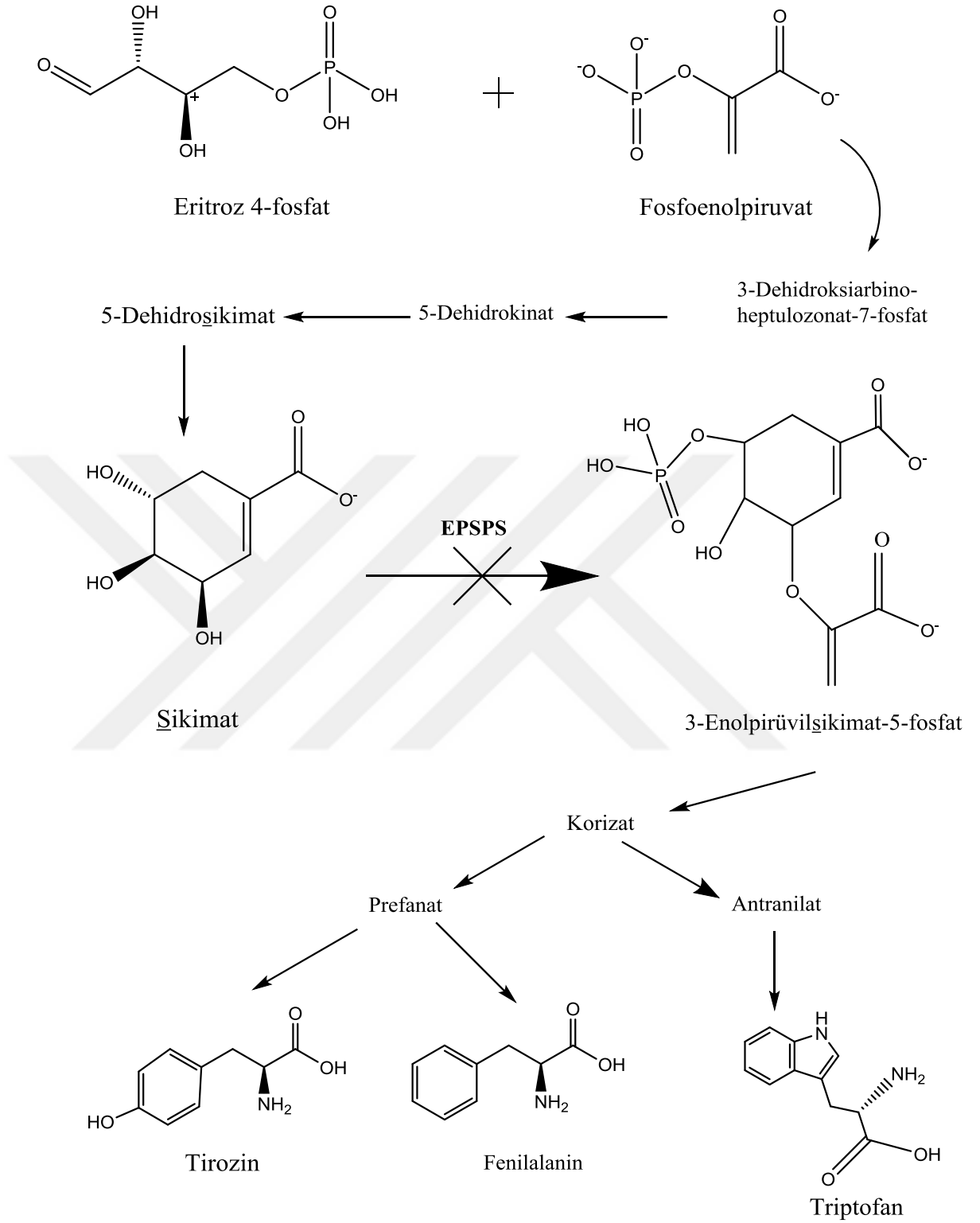


Şekil 2. 5. Toprak bakterileri tarafından Glyphosate'ın birincil ve alternatif parçalanma yolu (Annett vd., 2014).

Glyphosate bitkilere girdikten sonra, hızlı bir şekilde bitkinin aktif büyüme bölgesine taşınır (Kanissery vd., 2019). Glyphosate'ın etkisi, şikimik asit sentezinin enzimi olan, fosfoenolpiruvat ve şikimat-3-fosfat'tan (EPSP) üretilmesinde gerekli olan 5-enol piruvil şikimat-3-fosfat sentaz (EPSPS) enzimini (şikimat yolunun EPSPS'sini) inhibe etmede oldukça etkili olan tek molekül olması bakımından önemlidir (Shushkovavd, 2009). EPSPS enzimi, ot ve ağaç olmak üzere tüm bitkilerde mantarlarda ve bazı mikroorganizmalarda bulunan bir enzimdir (Matozzoetal vd.,

2020). Bileşik şikimik asit yolundaki altıncı adımı katalize eder, enzimi bloke ederek şikimat yolu ile üretilen aromatik aminoasitlerin (fenilalan, tirozin ve triptofan) biyosentezini önler (Kanissery vd., 2019). Bu aminoasitler, bitkinin büyümesi ve hayatta kalması için gereklidir (COX, 1998). Aşağıdaki Şekil 2.6.'da bitkilerde Glyphosate bileşiği için etkin çalışan parçalanma mekanizması gösterilmiştir.





Şekil 2. 6. Bitkilerde Glyphosate'ın Parçalanma Mekanizması (Annett vd., 2014).

2.11. Pestisitlerin ve Pestisit Bileşiği Glyphosate'ın Tayin Edilme Yöntemleri

Çevredeki zararlı bileşiklerin doğru ve hızlı bir şekilde belirlenmesini sağlayabilecek analitik yöntemlere olan talep son yıllarda artmaktadır (Hashemi vd., 2017). Pestisitlerin tespiti için kullanılan analitik yöntemler, düşük konsantrasyonlara pestisit kalıntılarını hızlı, basit, seçici, kesin ve yüksek doğruluk ile tespit edilip ölçülebilmesini kapsamaktadır. Bu yöntemlerde sulu çözelti numuneleri genellikle katı faz ekstraksiyonu (SPE) ve gıda numuneleri QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) ile ekstrakte edilmektedir. Pestisitlerin tespiti için analitik yöntemler temel olarak GC, LC ve HPLC gibi kromatografik tekniklere dayanmaktadır. Ayrıca pestisitlerin tespiti için biyosensörler, enzime dayalı sensörler, antikör sensörleri, aptamer sensörleri ve moleküler baskılanmış polimerlerin kullanımını içeren yöntemler kullanılmaktadır (Parra-Arroyo vd., 2021).

Kromatografi ile eşlenik tayin yönetimlerinde Glyphosate bileşiğinin doğrudan kantitatif tayini bileşiğin kimyasal yapısından dolayı oldukça problemlidir. Bu nedenle polar bir herbisit olan Glyphosate'ın tespitinde, kromatografik analizlerinden önce türevlendirme prosedürleri veya zenginleştirme adımları gibi ön işlemler uygulanmalıdır (Csámpai&Molnár-Perl, 2016). Türevlendirmede genel hedef, analitin tayine daha elverişli kimyasal bir özellik katacak bir forma dönüştürülmesidir. Kütle spektrometri (MS) özelinde türevlendirme moleküler iyon pik şiddetini arttırabilir, parçalanmayı doğrudan etkileyebilir ya da iyonizasyon verimini geliştirebilir. Asetilleme, alkilleme ve sililleme en sık kullanılan türevlendirme teknikleridir (Özkan, 2017).

En yaygın olarak kullanılan ön zenginleştirme teknikleri, Sıvı Sıvı Ekstraksiyonu (LLE) ve Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE) tekniklerini içerir.

LLE basit bir tekniktir, ancak büyük hacimli numune ve organik çözücü gereksinimi nedeniyle maliyetli ve genellikle zaman alıcıdır.

SPE tekniği ise, çevresel kirleticilerin etkili ekstraksiyonu için oldukça etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, katı faz kartuşlarının yıkanmasını, şartlandırılmasını, numunenin yüklenmesini, matriks bileşenlerinin yıkanmasını ve kartuşların tekrar kurutulmasını içeren birkaç işlem adımı gerektirir.

2.11.1. Mikroekstraksiyon Yöntemleri

Karmaşık numuneler, ayırma ve zenginleştirme işlemleri uygulanarak, analize uygun hale getirilir. Klasik yöntemlerden sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE), katı-sıvı ekstraksiyon (LSE) ve katı faz ekstraksiyonu (SPE) zaman alıcı ve çok miktarda organik solventlerle çalışma gerektirmeleri nedeniyle yöntemlerin dezavantajıdır. İdeal örnek hazırlama teknikleri hızlı, kullanımı kolay, ucuz ve birçok analitik cihaza uygulanabilir olmalıdır. Bu konuda yeni uygulanabilir bir yöntem, organik çözücü miktarını en aza indirerek, basit ve hızlı hazırlanabilen örnek hazırlama süreçlerini içeren mikroekstraksiyon yöntemleri olmuştur. Mikroekstraksiyon yöntemleri;

- Toksik ve pahalı solventlerin kullanım miktarını azaltmaları
- Buharlaştırma gibi adımlara ihtiyaç duymaması
- Yüksek zenginleştirme oranına sahip olmaları
- Ekstraksiyon işlemlerine ek olarak ayırma işlemlerini de yapabilmeleri
- GC ve HPLC gibi cihazlara kolayca aktarım sağlamaları gibi avantajlarından dolayı son zamanlarda klasik yöntemlere kıyasla daha çok tercih edilmeye başlanmıştır (Alver, Demirci &Özcimder, 2012).

2.11.1.1. Katı Faz Mikroekstraksiyon (SPME)

SPME, Pawliszyn'in araştırma grubu tarafından numune hazırlama alanında yeni bir gelişme olarak tanıtılmıştır (1991). SPME, hedef analitlerin polimer kaplı bir fiber üzerinde adsorbe edildiği çözücü kullanımı gerektirmeyen bir yöntemdir. Bu teknik basit, hızlı ve farklı analitlerin ekstraksiyonu için yeterince hassastır (Hashemi vd., 2017). SPME, tek basamakta örnekten maddeyi zenginleştirme, matriksten ayırma ve tayin etme işlemine olanak sağlar. Yöntem çevresel, biyolojik ve gıda numunelerinin analizlerinde yaygın kullanım alanı bulmaktadır, GC ve HPLC analizi ile uyumludur. Yöntemin dezavantajı, fiberlerin organik çözücülere karşı kararsız olmaları, tekrar kullanım sayılarının düşük olması ve yüksek maliyetleridir (Alver vd., 2012).

2.11.1.2. Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (LPME)

LPME, düşük solvent hacimleriyle numune ön işleme tekniği olarak önerilmiştir. Bu yöntemin, geleneksel LLE tekniklerinden farklı olarak birkaç mikrolitre organik

çözücüyle analitlerin ekstraksiyonuna olanak sağlar. En yüksek zenginleştirme faktörleri, yüksek numune hacmi/düşük organik çözücü oranı kullanılarak elde edilir. Bu yöntem, karmaşık matrislerden çok çeşitli analitleri izole etmek için kullanılabilecek basit, hızlı ve uygun maliyetlidir (Hashemi vd., 2017).

LPME'de ekstraksiyon işlemi, az miktarda suyla karışmayan organik çözücü (acceptor-alıcı faz) ile hedef bileşikler içeren sulu bir faz (donor-verici faz) arasında gerçekleşir. Sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi aşağıdaki şekillerde uygulanır;

- I) Asılı Damla Mikroekstraksiyon (SDME)
- II) Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME)
- III) Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon (SF-ODME)
- IV) Oyuk (Hollow) Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (HF-LPME) (Alver vd., 2012).

Son yıllarda, LPME, çevresel, gıda ve farmasötik numunelerin ön işlemi ve analit ekstraksiyonu için en yaygın ekstraksiyon prosedürlerinden biri haline gelmiştir (Hashemi vd., 2017).

2.11.1.3. Dağıtıcı-Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME)

DLLME, basit ve hızlı bir sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi olarak bilinir. İlk olarak Rezaee ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır. Bu yöntem, organik çözücü tüketimini en aza indirerek ve daha basit sistemlerle numune hazırlama tekniğiyle daha sağlıklı analitik prosedürlerin yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır (Hashemi vd., 2017).

Yöntem birkaç mililitre dağıtıcı (mikro emülsiyon oluşturucu) çözücü ile birlikte mikrolitre hacimlerde kullanılan ekstraksiyon çözücüsüyle analiz yapma imkanı sunmuştur. Bu teknik, hedef analitleri içeren sulu örnek içerisine ekstraksiyon ve dağıtıcı çözelti karışımlarının hızlı bir şekilde enjekte edilmesine dayanmaktadır. Ekstraksiyon çözücüsü toplam çözelti hacminin %1-3'ünü oluşturur (Alver vd.,2012). İkili çözücü karışımının (ekstraksiyon ve/veya dağıtıcı çözücüler) sulu bir numuneye enjeksiyonu üzerine ekstraksiyon çözücüsü damlacıklar oluşturur ve mikro emülsiyon oluşur. İnce damlacıklar ve sulu faz arasındaki geniş yüzey alanı olduğundan sistem dengeye hızlı ulaşarak, analitlerin numune çözeltisinden ekstraksiyon fazına hızla

geçişini kolaylaştırır. Santrifüjleme işlemiyle, damlacıklar konik tüpün dibine çöker. Son olarak, dipte toplanan alt fazdaki ekstraksiyon çözücüsü, bir şırınga kullanılarak toplanabilir ve uygun analitik ekipman ile analiz edilebilir. Tanıtıldığı günden bu yana DLLME, çeşitli avantajları (basitlik, hız, yüksek zenginleştirme faktörleri ve düşük organik solvent tüketimi) nedeniyle çok popüler bir mikro ekstraksiyon yöntemi haline gelmiştir. Çizelge 2.6.'da çevresel örneklerden farklı organik ve inorganik kirleticilerin ekstraksiyonu ve belirlenmesi için DLLME ile ilgili örnekler verilmiştir.

Çizelge 2. 6. Organiklerin analizi için geleneksel Dağıtıcı-Dispersif Sıvı-Sıvı Mikro Ekstraksiyon (DLLME) yöntemlerinin uygulamaları (Hashemi vd., 2017).

Analitler	Matris	Kullanılan Cihazlar	Ekstraksiyon solventi	Dağıtıcı çözücü
LC ve HPLC Analizleri				
Antioksidanlar	Çeşme suyu ve hazır su	HPLC-DAD	Karbon tetraklorür	Asetonitril
Pretroidler	Nehir suyu	HPLC-UV	Tetrakloroetan	Aseton
Metomil	Doğal su	HPLC-VWD	Tetrakloroetan	Metanol
Ftalat Esterleri	Kozmetik ürünler	LC-MS	Karbon tetraklorür	Asetonitril
GC Analizleri				
PAH bileşikler	Yüzey suyu örnekleri	GC-FID	Tetrakloroetilen	Aseton
Ftalat Esterleri	Su Örnekleri	GC-MS	Trikloretilen	Aseton
Diğer Teknikler				
Sülfonamidler	Su	CE-UV	Klorobenzen	DMSO
Boyalar	Su örnekleri	UV-VİS	Kloroform	Etanol

Temel deneysel değişkenlerin seçimi (ekstraksiyon tipi, dağıtıcı solventler ve bunların hacimleri) hedef analitlerin DLLME ekstraksiyon verimliliğini etkileyebilir. İyi bir geri kazanım elde etmek için bu faktörler optimize edilmelidir. İlk olarak, DLLME prosedüründe uygun bir ekstraksiyon solventinin seçilmesi esastır. Bu solventler, yoğunluğa, analitlerin ekstraksiyon kabiliyetine, sudaki çözünürlüğüne ve uygun kromatografik tepkiye göre seçilir. Klorobenzen, karbon tetraklorür ve tetrakloroetilen, yoğunlukları suyunkinden daha yüksek olduğu için ekstraksiyon çözücülerini olarak

yaygın olarak kullanılır. Ekstraksiyon çözücüsünün hacmi ve oktanol/su katsayısı (Kow), DLLME prosedürünün verimliliğini etkileyebilir. Zenginleştirme faktörü, ekstraksiyon çözücüsünün hacmi arttıkça azalır. Aseton, etanol, metanol ve asetonyitril, düşük toksisiteleri, uygun fiyatları nedeniyle genellikle dağıtıcı çözücüler olarak kullanılır. Ayrıca DLLME işleminin verimliliği dağıtıcı çözücünün hacminden etkilenebilir. Bu çözücülerin düşük hacimlerinde, bulanıklık düzgün bir şekilde oluşamazken, dağıtıcı çözücü hacminin artırılması, analitlerin sulu fazda artan çözünürlüğünden dolayı ekstraksiyon verimini düşürür (Höl, 2011).

2.12. Glyphosate'ın Gaz Kromatografisi ile Tayini

Glyphosate'ın GC ile tayini çeşitli türevlendirme prosedürlerini içermektedir.

2.12.1. Asetilasyon ve Esterifikasyon Yöntemi

Bu yöntem filtreleme, santrifüjleme, buharlaştırma ve katyon veya anyon değişim saflaştırma/zenginleştirmeyi içermektedir. Katı numuneler su ile ekstrakte edilmekte ve birbiriyle karışabilen reaktifler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde türevlendirme işlemleri trifloroetanol (TFE), heptaflorobütanol (HFB), pentafloropropiyonik asit (PFPA) ve trifloroasetik asit anhidrit (TFAA) gibi reaktifler ve asetik asit anhidrit (AA) ile asilasyona ve trimetilortoasetat (TMOA) esterifikasyonuna dayanmaktadır (Arkan & Molnár-Perl, 2015).

2.12.2. Trialkilsililasyon Yöntemi

GC-MS analizlerinde yaygın olarak kullanılan sililleme tekniğinde alkoller, aminoasitler, karbonhidratlar, steroidler ve amino alkollerde bulunan aktif hidrojenle bir alkilsilil grubu yer değiştirir. En çok TMS (trimetilsilil) türevi oluşturulur (Özkan, 2017).

Popüler bir teknik olan trialkilsililasyon, temel araştırma çalışmalarını, serum ve idrar analizi yoluyla herbisit zehirlenmesini belirlemek için optimize edilmiştir. Bu yöntemde N-Metil-N-tert-butyl dimetilsilil trifloroasetamid (MTBSTFA) reaktifi kullanılmaktadır. Saf Glyphosate bileşiği, N,O-bis(trimetilsilil)trifloroasetamid (BSTFA) ile türevlendirilerek tespit edilmektedir. Analiz sırasında trimetilklorosilan

(TMCS) katalizörü kullanılmakta ve bu katalizör analizi hızlandırmakta ve pratik bir yöntem olarak tercih edilmesini sağlamaktadır (Arkan & Molnár-Perl, 2015).

2.13. Glyphosate'ın Sıvı Kromatografisi (LC) İle Tayini

LC-MS/MS kullanılarak, türevlendirme genellikle analitlerin polar karakterini azaltmak ve iyi bir kromatografik ayırma sağlamak için gereklidir. Şu anda en çok kullanılan yöntem, 9-florenilmetil kloroformat (FMOC-Cl) ile ön kolon türevlendirmesini içerir. Sıvı kromatografiye bir alternatif olarak ve Glyphosate ve AMPA'nın zwitter iyonik doğası göz önüne alındığında, Glyphosate analizi, baskılanmış iyon modunda hem katyon hem de anyon değişimini içeren İyon Değişim Kromatografisi (IC) ile gerçekleştirilmiştir (Carretta vd., 2019).

LC sisteminde Glyphosate tespiti için bir çalışma gerçekleştirilmiş ve zenginleştirme işlemleri uygulanmıştır. Bu çalışmada ön türevlendirme işlemi için Florenilmetiloksikarbonil (FMOC) kullanılmış; sulu çözeltilerde, çoğunlukla pH9'da, düşük şartlarda (oda sıcaklığından 40°C'ye kadar, 20 dakikadan 24 saate kadar) yüksek verim-cevap floresan türevleri oluşturulmuş. FMOC'nin yanında, aynı zamanda floresan türevleri de sağlayan o-ftaldialdehit/B-merkaptotanol(OPA-MCE) reaktifi kullanılmış ve pratik kullanımlar için uygulanabilir olduğunu ortaya çıkarmış (Arkan & Molnár-Perl, 2015).

Çevresel su örneklerinde Glyphosate ve AMPA analizi için Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Kütle spektrometresiyle (UHPLC – ESI-MS / MS) tespit edilebilen analitik bir yöntem sunulmuştur. Yöntem, Waters Corporation'ın bir uygulamasından geliştirilmiş ve AccQ®'nın alternatif bir türevlendirme reaktifinin kullanımını içermektedir. Kit, türevlendirme reaktifi 6-aminokinolil-N-hidroksisukinimidilkarbamat (AQC) içerir. Türevlendirme doğrudan enjeksiyon şişesinde gerçekleşir ve numune ön konsantrasyonuna gerek yoktur. Türevlendirilmiş Glyphosate ve AMPA pozitif iyon modunda kaydedilmiş. Geliştirilen yöntem, Glyphosate'ın yaygın olarak kullanıldığı bir tarım alanı olan Po Vadisi'ndeki (Kuzey-Doğu İtalya) bir tarladan toplanan 23 adet su örneğinden Glyphosate ve AMPA'nın tayininde başarıyla uygulanmıştır (Carretta vd., 2019). Aşağıdaki Çizelge 2.7.'de FMOC ile farklı sıcaklıklar ve çalışma süreleri ile Glyphosate ve AMPA bileşiklerinin

optimizasyonları gerçekleştirilmiş ve LC sistemlerinde tespit edilebildikleri en küçük belirlenebilirlik (LOD) ve tayin sınırları (LOQ) kaydedilmiştir.

Çizelge 2. 7. FMOC ve OPA-MCE ile farklı sıcaklıklar ve çalışma süreleri ile Glyphosate ve AMPA bileşiklerinin optimizasyonları (Arkan & Molnár-Perl, 2015).

Matris/miktar, mL/g	Zenginleştirme	Türevlendirme Koşulları			Cihaz	LOD µg/L, µg/1000 g	LOQ µg/L, µg/1000 g	Bileşikler
		Reaktif	°C	süre				
İçme, yüzey, atık su, 4	On-line SPE	FMOC	37	1 gece	LC- MSMS	0,03	0,05	Glyphosate, AMPA
Akarsular, 125	SPE	FMOC	40	24 saat	LC- MSMS	0,1	-	Glyphosate, AMPA
Yüzey, yeraltı suyu, 100	On-line SPE	Kolon sonrası, OPA- MCE	-	-	LC-FD	0,02	-	Glyphosate, AMPA
Meyve suyu, 100	Sıvı membran	PTSCL	50	10	LC- UV	10	25	Glyphosate, AMPA
Türevlendirme Çalışması	-	DMOSC	35	10	LC- UV	640	5000	Glyphosate

2.14. Materyal

Bu tez çalışmasında kullanılan materyaller ve kimyasallar aşağıda verilmiştir.

2.14.1. Glyphosate Bileşiği

Bu tez çalışmasında kullanılacak olan Glyphosate standardı Merck firması tarafından temin edilmiştir.

2.14.2. Kullanılan Kimyasallar

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasallar Diisopropilamin (DIPA), Asetonitril (ACN), Diklormetan (DCM), Kloroform, Dietileter, 1-bromopropan ve Iodoethane, Merck firmasından temin edilmiştir.

2.15. Yöntem

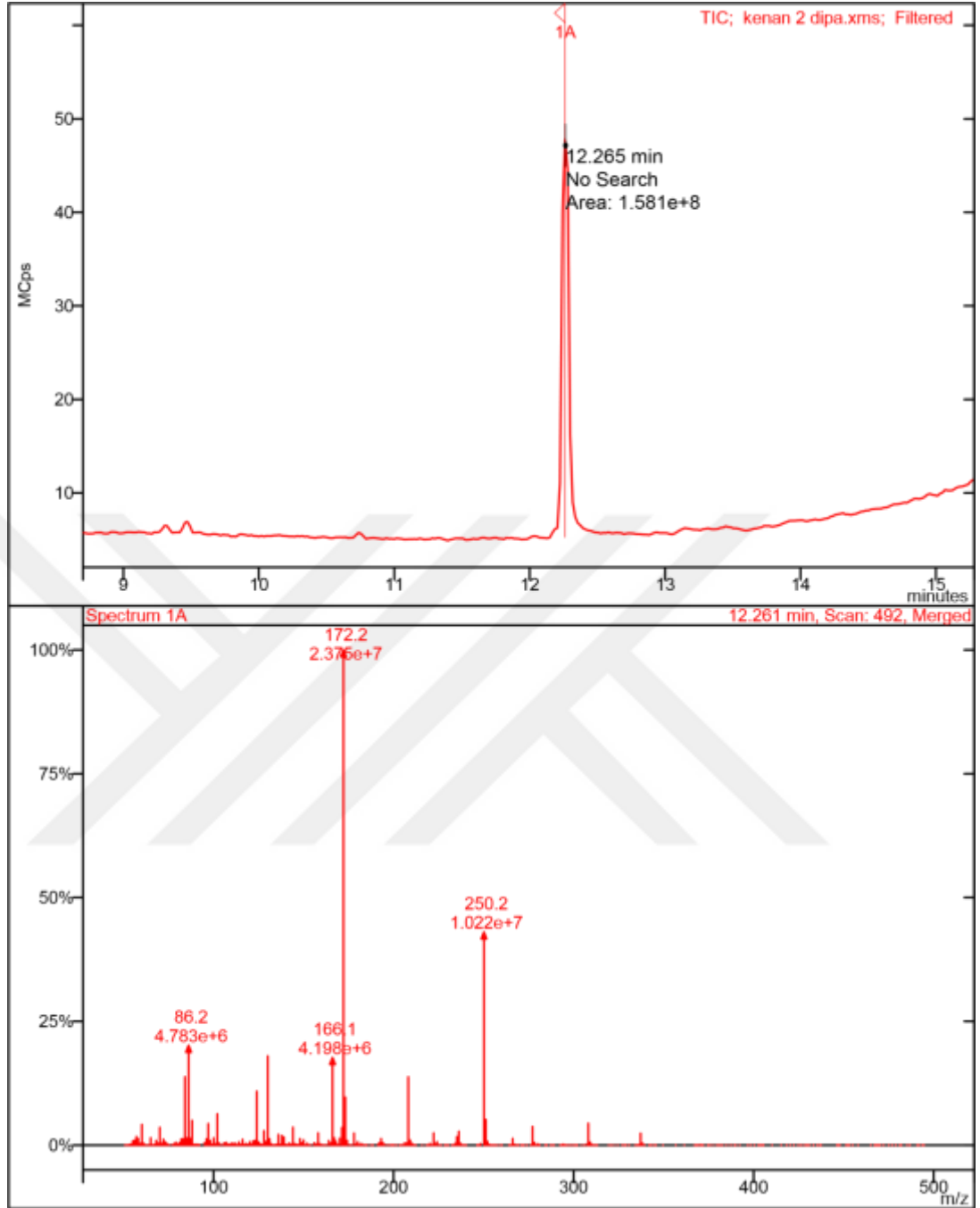
Glyphosate alkil ester türevlendirmesi ve DLMME ekstraksiyonu için gerçekleştirilen çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

1.Çalışma:

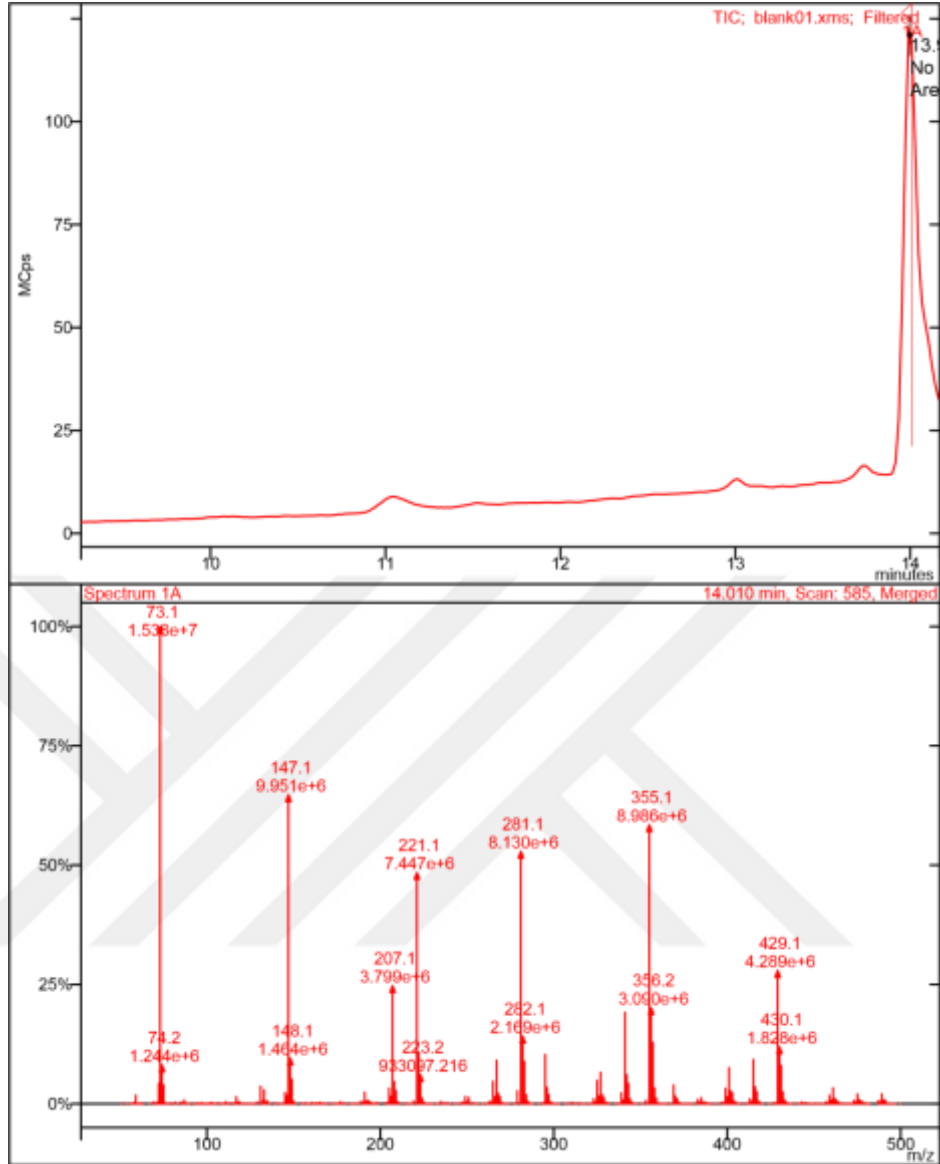
Deney tüpüne ACN çözeltisinden 1ml alındı. Üzerine 20µl DIPA çözeltisinden eklendi. Daha sonra 100 ppm Glyphosate (sulu çözelti) standartından 2ml eklenip, vortekslendi. Üzerine $\text{NH}_3(\text{der.})$ çözeltisinden 20µl eklendi ve tekrar vortekslendi. Üzerine 25µl 1-bromopropan eklenip, vortekslendi. Türevlendirme işlemi için 70°C'de ayarlanmış olan ısıtıcıda 4 saat reaksiyon gerçekleşmesi için bırakıldı. Reaksiyon süresi dolduktan sonra ısıtıcıdan alındı ve oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Sonrasında üzerine 2ml DCM eklendi ve faz ayrımı için beklendi. Fakat faz ayrımı gözlenmediği için çalışma sonlandırıldı.

2.Çalışma:

Deney tüpüne 100ppm Glyphosate (suda çözünmüş) standartından 2ml alındı. Üzerine 100µl DIPA eklendi. 30dk boyunca vortekslendi. 30dk buzdolabında 15°C'de bekletildi. Üzerine 25µl 1-bromopropan eklenip tekrar vortekslendi. DLLME sistemini oluşturmak için 100µl DCM organik çözücüsü ilave edilerek sulu çözeltide emülsiyon oluşumu sağlandı, bunun için alıcı faz (DCM+DIPA+pentil bromür) ve verici faz (Glyphosate içeren sulu çözelti) 50 mL hacme sahip kapaklı viallerde 100 rpm karıştırma hızında manyetik balık ile 15dk. süreyle karıştırıldı. Mikro emülsiyon oluşumu sağlandıktan sonra analit bileşik Glyphosate için alkil esteri türevlendirilmesi reaksiyonu karıştırıcılı hotplate üzerinde 50°C, 70°C ve 100°C'de 3 adet paralel deney ile farklı reaksiyon süreleri uygulanarak (1-2-4-6 saat) gerçekleştirildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra emülsiyonu bozundurarak faz ayrımını sağlamak ve reaksiyon ürünlerini izole etmek için viallere 500µl DCM ilave edildi, yoğun alt faz (DCM fazı) Hamilton enjektörü ile alınarak 0,45µm PTFE filtreden süzüldü. Ekstrakt, çözelti değiştirme işlemi uygulanarak 2 mL ACN:DCM (3:1 v/v) hacme getirildi. Bu çalışmaya ek olarak blank(Glyphosate olmadan) çalışması aynı şartlarda çalışıldı. GC/MS analizinde cihaza türevlendirme işlemi uygulanan çözeltiden 1µl enjekte edildi. Şekil 2.7. ve Şekil 2.8.'de Glyphosate ve blank çalışmasının 1-bromopropan ile 70°C'de reaksiyonuna ait kromotogram verilmiştir.



Şekil 2. 7. Glyphosate'ın pentil bromür ile 70°C'de reaksiyonuna ait kromatogram



Şekil 2. 8. Blank çalışmasının 1-bromopropan ile 70°C’de reaksiyonuna ait kromotogram

3.Çalışma

Deney tüpüne 100ppm Glyphosate(suda çözünmüş) standartından 2 ml alındı. Üzerine 50µl DİPA ve 50µl ACN eklendi. 15dk boyunca vortekslendi. Daha sonra üzerine 25µl 1-bromopropan eklenip tekrar vortekslendi. Çalışmalar 70°C’de 4saat boyunca reaksiyonun gerçekleşmesi için bırakıldı. 1 saat aralıklarla çalışmalar vortekslenip tekrar ısıtıcıya konuldu. Reaksiyon sonunda 500µl DCM ile çözülüp, 0,45µm PTFE filtreden süzülerek hacim ACN ile 2 mL’ye tamamlanarak GC/MS cihazına enjekte edildi.

Aşağıdaki Çizelge 2.8.'de, 1-bromopropan ve Iodoethane ile türevlendirme işlemleri 50°C ve 70°C'de gerçekleştirilmiş ve en iyi sonuç alınan parametreler işaretlenmiştir. Çizelgeye göre en iyi reaksiyon 70°C 'de, 1-bromopropan ile gerçekleştirilen çalışmadan elde edilmiştir.

Çizelge 2. 8. Glyphosate'ın 50°C ve 70°C'de, 1-bromopropan ve Iodoethane ile gerçekleştirilen çalışmaları

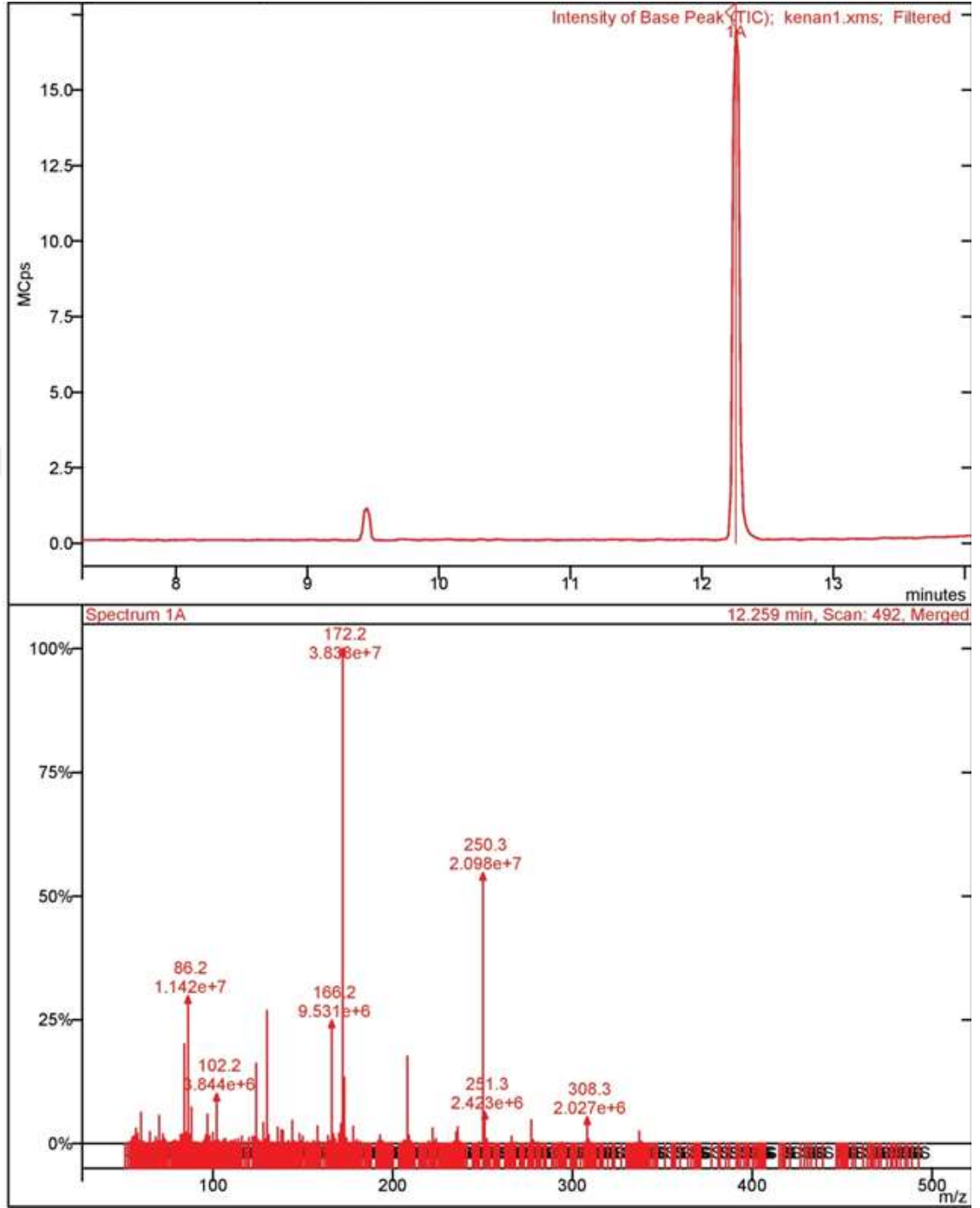
50°C		70°C	
1-bromopropan	Iodoethane	1-bromopropan	Iodoethane
Dipa : 50µl	Dipa : 50µl	Dipa : 50µl	Dipa : 50µl
100ppm Glyphosate: 1ml	100ppm Glyphosate: 1ml	100ppm Glyphosate: 1ml	100ppm Glyphosate: 1ml
ACN : 50µl	ACN : 50µl	ACN : 50µl	ACN : 50µl
15 dkvortekslenir.			
1-bromopropan : 25 µl	Iodoethane : 25 µl	1-bromopropan : 25 µl	Iodoethane : 25 µl
2-3dkvortekslenir.			
4 saat, 50°C'de reaksiyon gerçekleştirilir.		4 saat, 70°C'de reaksiyon gerçekleştirilir.	

2.16. Glyphosate Bileşiğinin GC-MS Analizi Optimizasyonu

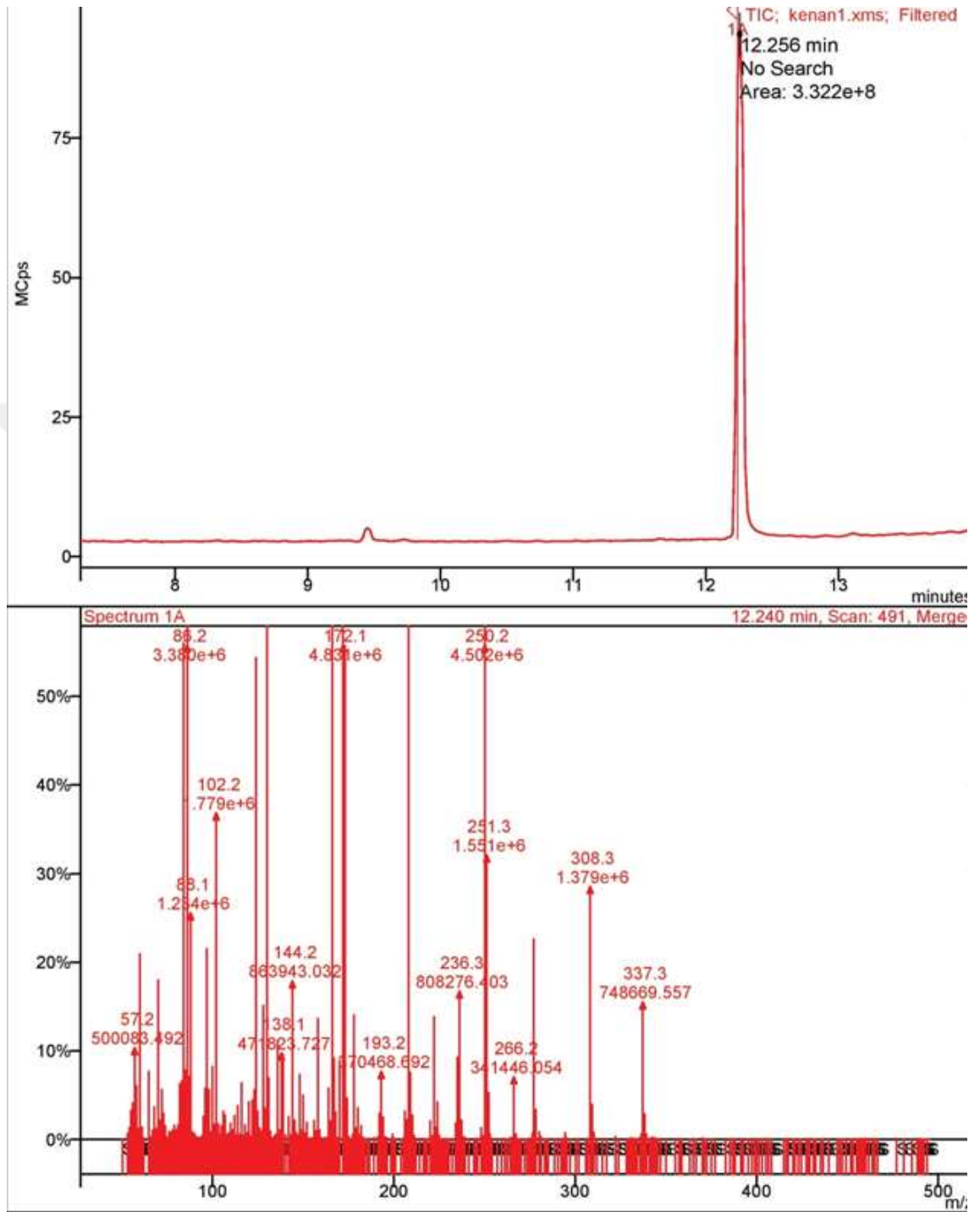
Glyphosate'ın alkil ester türevi oluşturulduktan sonra, numune GC-MS'e enjekte edildi. Cihazın kolon akış hızı 1ml/dk olarak ayarlandı. Kolon fırının başlangıç sıcaklığı 100°C'ye ayarlandı ve bu sıcaklıkta 1dakika boyunca sabit kalması sağlandı. Sonrasında kolon fırının sıcaklığı dakikada 12°C artacak şekilde, 280°C'e kadar sıcaklığı arttırıldı. Sıcaklık bu değere 15 dakikada ulaştı ve bu değerde 14 dakika boyunca sabit sıcaklıkta kalması sağlandı ve böylece numunenin analizi 30 dakikada tamamlandı. Bu şekilde Glyphosate'ın GC-MS'te analizi gerçekleştirildi. Toplam iyon akımı (TIC) modunda gerçekleştirilen analizde EI+ iyonlaştırma kaynağı ile elde edilen kütle spektrumu alkil esteri türevlerinin moleküler iyon ve fragment iyon yapılarının belirlenmesi için kullanıldı. Şekil 2.9.'da Glyphosate bileşiği propil esterinin GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu Şekil 2.10.'da Glyphosate bileşiği propil ester türevi için kütle spektrumunda oluşan m/z değerleri düşük şiddetli pikler için gösterildi. Öngörülen fragment yapıları Şekil 2.11.' de verilmiştir. Çizelge 2.9.' da Glyphosate bileşiğinin tayini için kullanılan GC-MS cihazının çalışma şartları verilmiştir.

Çizelge 2. 9. Glyphosate bileşiğinin tayini için GC-MS cihazı şartları

Kademeli Fırın Sıcaklık Programı			
	Oran (°C/dk)	Sıcaklık (°C)	Bekleme süresi (dk)
Başlangıç	0	100	1
	12	280	14

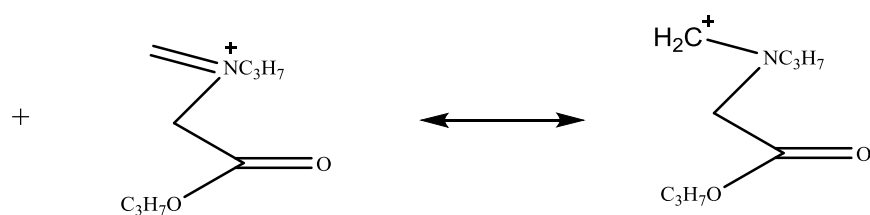
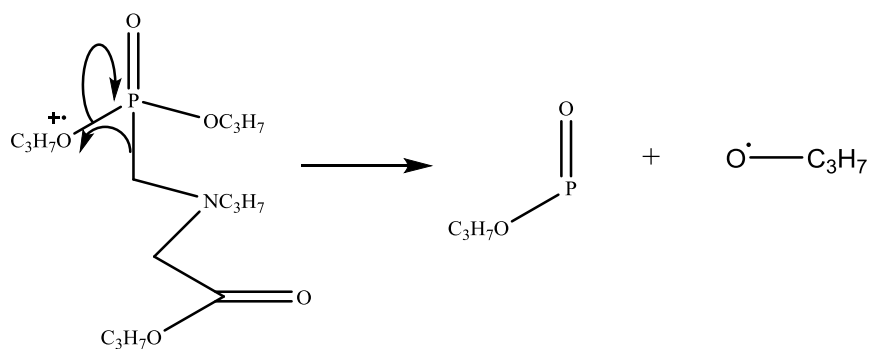
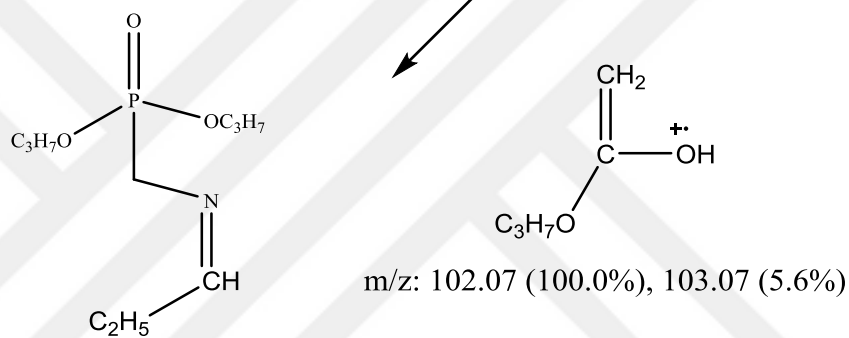
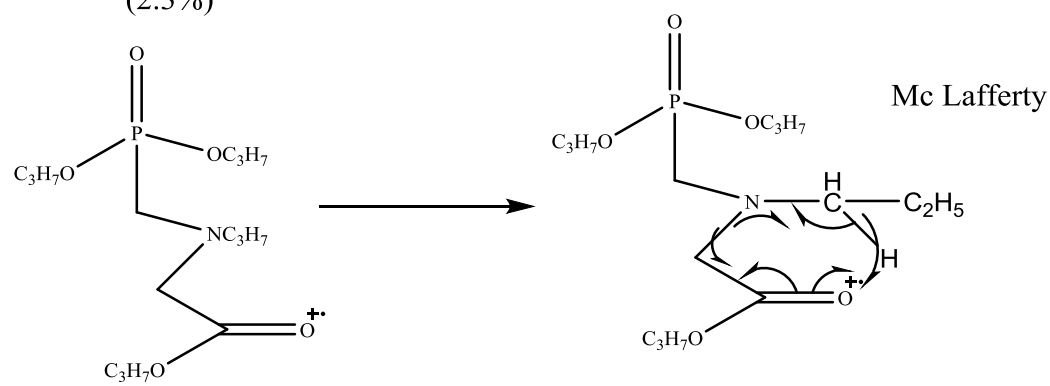


Şekil 2. 9. Glyphosate bileşiği propil ester türevi için elde edilen GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu

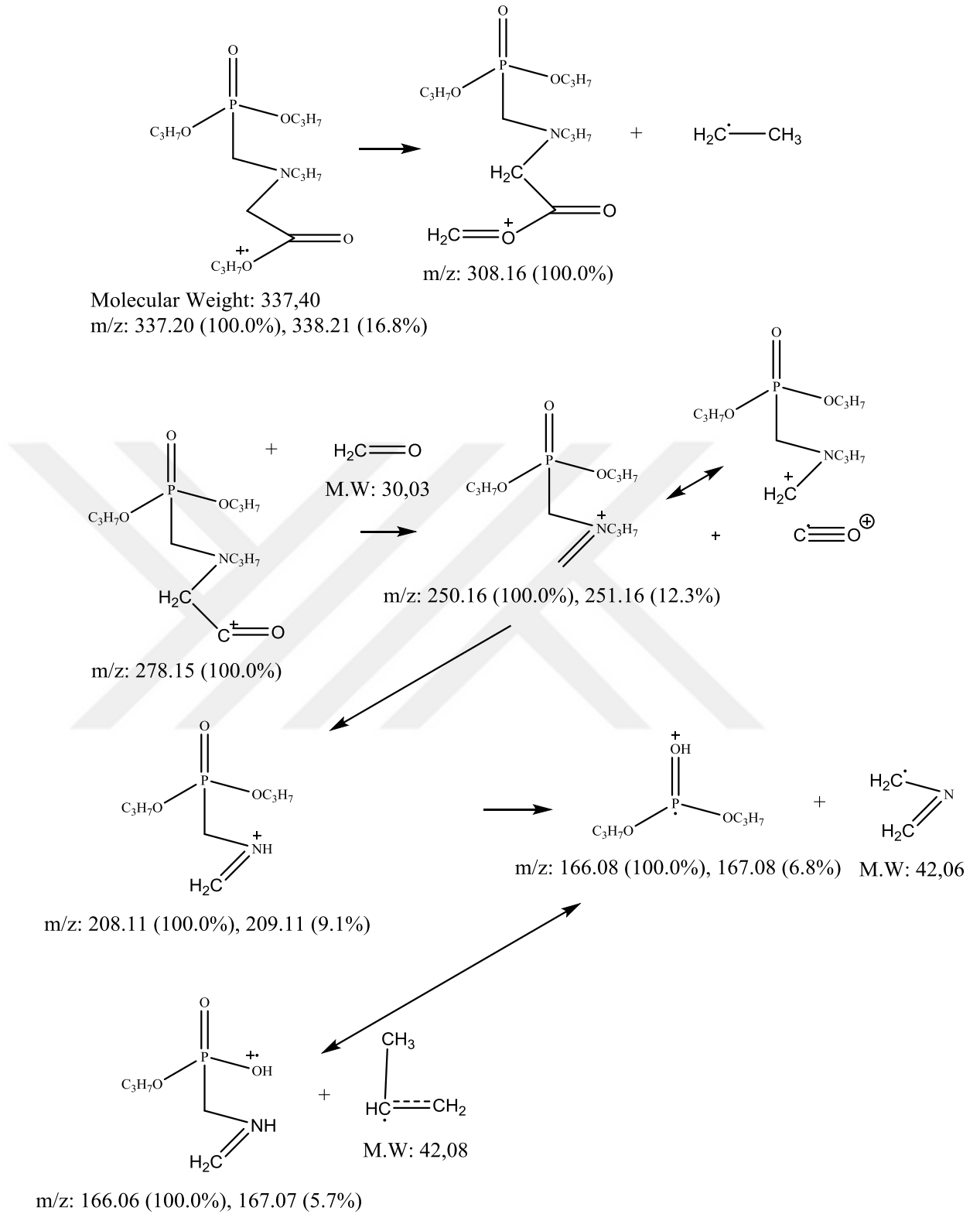


Şekil 2. 10. Glyphosate bileşiği propil ester türevi için elde edilen GC-MS kromatogramı ve kütle spektrumu (kütle spektrumu şiddeti artırılmış)

m/z: 337.20 (100.0%), 338.21 (16.8%), 339.21 (2.3%)



m/z: 172.13 (100.0%), 173.14 (10.0%) m/z: 172.13 (100.0%), 173.14 (10.0%)



Şekil 2. 11. Glyphosate bileşiği propil ester türevi için kütle spektrumunda oluşan m/z değerleri için öngörülen fragment yapıları

2.16.1. Glyphosate bileşiminin DLLME ekstraksiyonu optimizasyonu ve alkil türevlendirilmesi

Türevlendirme reaksiyonundan önce uygulanan DLLME için çözücü türü/bileşimi, emülsiyon bozundurulması, analitin çözücü değişimi ile türevlendirme reaksiyonu ortamına alınması ve reaktif miktarları optimize edildi. Parametrelerin optimizasyonu için 500 ppm stok çözeltiden 2 mL alınarak işlemler gerçekleştirildi. DLLME ve türevlendirme reaksiyonuna ait işlemler Çizelge 2.10'da yer almaktadır.

Çizelge 2. 10. Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME) eşlenik ester türevi oluşturma prosedürleri

1. Prosedür	2. Prosedür	3. Prosedür
2mL, 500 ppm Glyph. (saf suda) alınır	2mL, 500 ppm Glyph. (saf suda) alınır	2mL, 500 ppm Glyph. (saf suda) alınır
50µL DIPA eklendi	50µL DIPA eklendi	50µL DIPA eklendi
50 mL vialde 1 saat karıştırma (Devir:100rpm)	50 mL vialde 1 saat karıştırma (Devir:100rpm)	50 mL vialde 1 saat karıştırma (Devir:100rpm)
0,4 mL dietil eter ve 0,4 mL Kloroform eklendi eklendi (emülsiyon oluşuyor-bulanık)	0,4 ml dietil eter eklendi (emülsiyon oluşuyor-bulanık)	0,4 mL Kloroform eklendi (emülsiyon oluşuyor-bulanık)
Türevlendirme reaktifi olarak 25µL 1-Bromopropan konulur ve mikro emülsiyon halinde bulunan çözelti 70°C'de 1 saat karıştırılır (100 rpm)	Türevlendirme reaktifi olarak 25µL 1-Bromopropan konulur ve mikro emülsiyon halinde bulunan çözelti 70°C'de 1 saat karıştırılır (100 rpm)	Türevlendirme reaktifi olarak 25µL 1-Bromopropan konulur ve mikro emülsiyon halinde bulunan çözelti 70°C'de 1 saat karıştırılır (100 rpm)
2mL DCM ile emülsiyon bozundurulur, faz ayrımı	2 mL dietil eter ile emülsiyon bozundurulur, faz ayrımı	2mL DCM ile emülsiyon bozundurulur, faz ayrımı

oluşur. Alt faz DCM+Kloroform+dietil eter üst faz su. 10 dk 50 rpm'de karıştırılır ve berrak alt fazı dikkatlice blok ısıtıcıya uygun vial e alınır. Üst faz bulanıklık içeren su fazı.	faz ayrımı oluşur. 10 dk 50 rpm'de karıştır ve berrak üst fazı dikkatlice blok ısıtıcıya uygun vial e alınır. Alt faz bulanıklık içeren su fazı.	oluşur. Alt faz DCM+Kloroform, üst faz su. 10dk 50 rpm karıştırılır ve berrak alt fazı dikkatlice blok ısıtıcıya uygun vial e alınır. Üst faz bulanıklık içeren su fazı.
Bulanıklık içeren su fazına: +2mL DCM ile aynı ekstraksiyon işlemi uygulanır (bir önceki basmak), iki alt faz birleştirilir.	Bulanıklık içeren su fazına: +2mL DCM ile aynı ekstraksiyon işlemi tekrarlanır, alt faz DCM ile bir önceki işlemde elde edilen dietil eter fazı birleştirilir. İşlem sonunda sulu çözelti berrak hale gelmektedir.	Bulanıklık içeren su fazına: +2mL DCM ile aynı ekstraksiyon işlemi uygulanır (bir önceki basmak), iki alt faz birleştirilir.
Ekstrakt çözeltiye 1 mL ACN eklenir karıştırılır ve blok ısıtıcıda 40°C'de uçurma işlemi uygulanır. Çözelti hacmi 0,9 mL kalınca işleme son verilir (çözücü değiştirme tamamlanır)	Ekstrakt çözeltiye 1 mL ACN eklenir karıştırılır ve blok ısıtıcıda 40°C'de uçurma işlemi uygulanır. Çözelti hacmi 0,9 mL kalınca işleme son verilir (çözücü değiştirme tamamlanır)	Ekstrakt çözeltiye 1 mL ACN eklenir karıştırılır ve blok ısıtıcıda 40°C'de uçurma işlemi uygulanır. Çözelti hacmi 0,9 mL kalınca işleme son verilir (çözücü değiştirme tamamlanır)
Türevlendirme reaksiyonunun tamamlanması: 50µL DIPA + 25µL 1-Bromopropan konulur ve	Türevlendirme reaksiyonunun tamamlanması: 50µL DIPA + 25µL 1-Bromopropan konulur ve	Türevlendirme reaksiyonunun tamamlanması: 50µL DIPA + 25µL 1-Bromopropan konulur ve

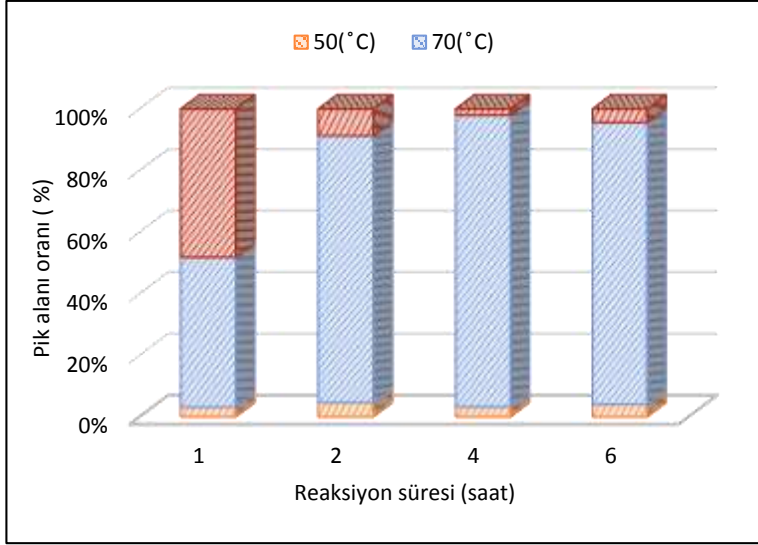
toplam hacim ACN ile 2mL'ye tamamlanır; Reaksiyon kapaklı vial'de 70°C'de 4 saat blok ısıtıcıda gerçekleştirilir.	toplam hacim ACN ile 2mL'ye tamamlanır; Reaksiyon kapaklı vial'de 70°C'de 4 saat blok ısıtıcıda gerçekleştirilir.	toplam hacim ACN ile 2mL'ye tamamlanır; Reaksiyon kapaklı vial'de 70°C'de 4 saat blok ısıtıcıda gerçekleştirilir.
---	---	---

2.16.2. Reaksiyon süresi ve sıcaklığının optimizasyonu

Reaksiyon sıcaklığı ve süresinin optimizasyonunda 50°C, 70°C, 100°C reaksiyon sıcaklıkları 1, 2, 4, 6 saat sürelerle uygulandı. Kromatogram pik alanları kullanılarak optimum koşullar belirlendi. Bu amaçla alınan 25mL hacminde 500ppm Glyphosate konsantrasyonuna sahip stok çözelti 40°C'de evapotatörde vakum altında çözücü uzaklaştırma işlemine tabi tutularak elde edilen ekstraktlara 50µL DIPA + 25µL Bromopropan konuldu ve toplam hacim ACN ile 2mL'ye tamamlandı; Reaksiyon kapaklı vialde 50°C, 70°C, 100°C reaksiyon sıcaklıkları 1, 2, 4, 6 saat sürelerle blok ısıtıcıda gerçekleştirildi. (Çizelge 2.11. ve Şekil 2.12.)

Çizelge 2. 11. Türevlendirme reaksiyonunda sıcaklık ve süre optimizasyonu

Reaksiyon süresi (saat)	Sıcaklık°C		
	50 (°C)	70 (°C)	100 (°C)
1	2,65E+03	4,05E+04	4,01E+04
2	4,85E+05	9,12E+06	9,15E+05
4	6,25E+06	1,81E+08	3,85E+06
6	8,10E+06	1,83E+08	8,77E+06



Şekil 2. 12. Sıcaklık-süre optimizasyonunda elde edilen pik alanlarına bağlı reaksiyon verimi

Türevlendirme reaksiyonunun sıcaklık ve reaksiyon süresi optimizasyonunda 50°C, 70°C, 100°C sıcaklıklarında ve süre açısından en uygun reaksiyon şartları 70°C ve 4 saat olarak belirlendi. Bu seçimde temel olarak elde edilen Glyphosate propil esterinin GC-MS analizlerinden elde edilen pik alanları baz alındı. Bu veriler değerlendirildiğinde ilgili şartlarda elde edilen reaksiyon verimi pik alanları ile ilişkilendirilmiştir. Reaksiyon sıcaklığının düşük (50°C) tutulduğu durumda reaksiyonda elde edilen ürün ile bağlantılı pik alanı diğer sıcaklıklara oranla oldukça düşük değerde tayin edildi. Yüksek sıcaklık (100°C) durumunda kısa reaksiyon süresinde göreceli iyi verim elde edilirken reaksiyon süresinin uzaması reaksiyon verimini negatif yönde etkilemektedir. Bu durum yüksek sıcaklıkta reaktif veya ürünlerin bozunması ile açıklanabilir, çünkü hiçbir sıcaklık değerinde toplam çözücü başlangıç ve son hacimleri arasında bir değişiklik saptanmadı.

2. 16. 3. Dış kalibrasyon yöntemi ile LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesi

Stok çözeltiden (500 ppm) uygun seyreltmeler yapılarak çalışma çözeltiler 1, 10, 25, 50, 100, 250 ppm konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerden 2mL hacim alınarak 40°C'de evapotatörde vakum altında çözücü uzaklaştırma işlemine tabi tutularak elde edilen ekstraktlara 50µL DIPA + 25µL Bromopropan konuldu ve toplam hacim ACN ile 2

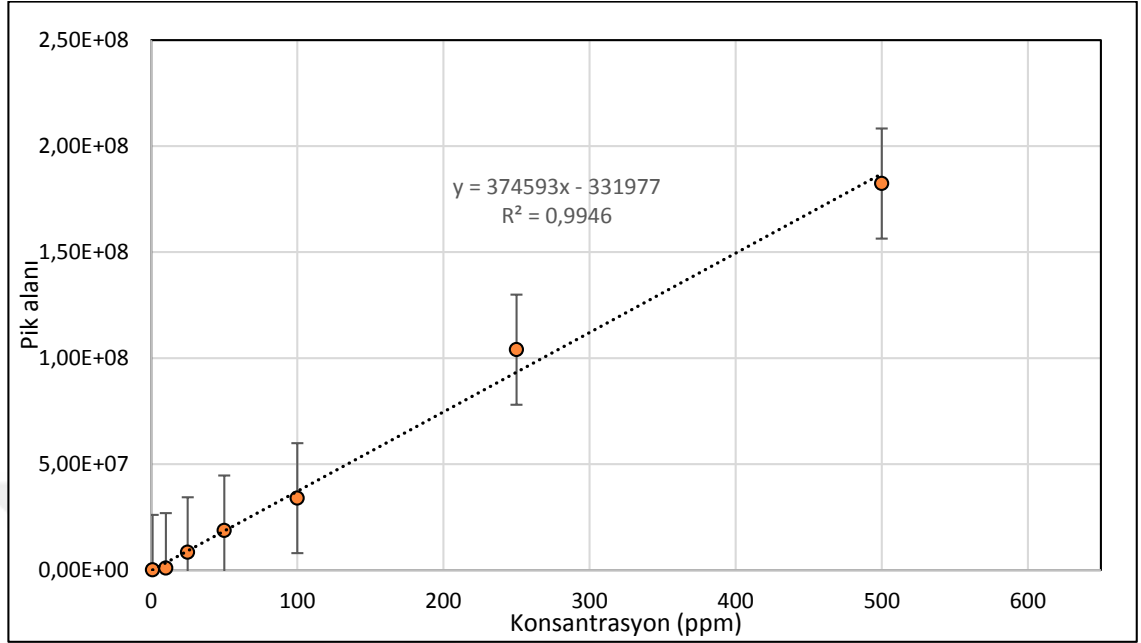
mL'ye tamamlandı. Reaksiyon koşulları olarak 70°C ve 4 saat reaksiyon süresi uygulandı. GC-MS analizlerinde 1µL hacimler cihaza verilerek TIC modunda kromatogram ve kütle spektrumları kaydedildi. Pik alanları entegrasyonu ile alanlar hesaplandı ve kalibrasyon doğrusu oluşturuldu (Çizelge 2.12. ve Şekil 2.13.). Kalibrasyon doğrusu verileri kullanılarak en düşük kalitatif belirlenebilme sınırı (LOD, Gözlenebilme sınırı (Limit of Detection) ve en düşük kantitatif belirlenebilme sınırı (LOQ, Tayin sınırı (Limit of Quantification) değerleri sırasıyla 0,004 ppm ve 0,014 ppm olarak hesaplandı.

Çizelge 2. 12. GC-MS analizi kalibrasyon doğrusu ve verileri

n = 3	Entegrasyonu yapılan pik alanları			Ort. pik alanı	Std. Sapma	Eğim (m)
Standart Çözelti (ppm)	1. ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm			3,32E+05
1	8,36E+04	7,75E+04	7,98E+04	8,03E+04	2,52E+03	
10	9,75E+05	8,98E+05	9,22E+05	9,32E+05	3,22E+04	
25	8,26E+06	8,33E+06	8,56E+06	8,38E+06	1,28E+05	
50	1,68E+07	1,77E+07	2,15E+07	1,87E+07	2,04E+06	
100	3,50E+07	3,12E+07	3,56E+07	3,39E+07	1,95E+06	
250	1,01E+08	9,89E+07	1,12E+08	1,04E+08	5,74E+06	
500	1,80E+08	1,83E+08	1,84E+08	1,82E+08	1,70E+06	
Blank-Şahit	6,55E+03	6,66E+03	5,58E+03	6,26E+03	4,85E+02	

$S = \bar{S}_{bl} + 3s_{bl}$ (S = Aanalite ait belirlenebilen en düşük sinyal şiddeti, $\bar{S}_{bl}$ blank-şahit çözeltinin ortalama sinyal şiddeti, s_{bl} blank-şahit çözeltinin ölçümlerine ait standart sapma değeri, $k=3$ olarak alınmıştır ve istatistiksel olarak %95 güven seviyesinde sinyalin analite ait olduğunu ifade etmektedir burada $p = 0.05$ 'dir)

$$LOD = \frac{s - \bar{s}_{bl}}{m} = 0,004 \text{ ppm ve } LOQ = 3,3 \times LOD = 0,014 \text{ ppm}$$



Şekil 2. 13. GC-MS analizi kalibrasyon doğrusu.

BÖLÜM 3

SONUÇ ve TARTIŞMA

Zirai ürünlerin üretiminde bitkilerin zararlı organizmalardan korunması ve büyüme evrelerinin kesintiye uğramaması için bazı ilaçlarının kullanımı gereklidir. Bu nedenle, tarımsal ürünlerin korunması amacıyla çeşitli kimyasal formülasyonlar kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan formülasyonlara genel olarak Pestisit ismi verilmektedir. Uygulanmaları sonrasında çevrede yer alan bu kimyasal bileşikler canlılar üzerinde ve dolaylı olarak insan organizmasına zararlı etkiler taşımaktadır. Bunun sonucunda hava, su, toprak alanları etkilenmektedir.

Bu bileşiklerin tespiti için birçok analiz metodu belirli gereksinimleri karşılamak üzere geliştirilmekte ve uygulanmaktadır. Glyphosate bileşiği dünyada kullanım miktarı olarak en üst sırada yer almaktadır. Bileşik için şüpheli-olası kanser yapma potansiyeli çevre ve gıda örneklerinde analizini hassas ve doğru tayinine yönelik analiz metodlarının geliştirilmesi için çalışmaların arttırılması gerekmektedir.

Glyphosate bileşiğinin su, toprak, sediment ve hava gibi çevresel örneklerde analizi için kabul edilmiş uluslararası standart bir analiz yöntemi bulunmamaktadır. Bununla birlikte Glyphosate ve ana bozulma ürünü olan AMPA'nın yüksek doğruluk ve hassasiyet ile çevresel örneklerde analiz edilmesine yönelik artan çabalar mevcuttur. Kromatografi eşlenmiş analiz metodlarından LC-MS, bileşiğin FMOC-Cl ile SPE ayrımı

öncesi ve sonrasında türevlendirilmesine dayandırılmaktadır ve yaygın olarak çevre numunelerinde Glyphosate bileşiğine yönelik gerçekleştirilen analizlerde kullanılmaktadır. Bununla birlikte çoğu ulusal ve uluslararası denetim kurumu Glyphosate bileşiğinin çeşitli matrislerde (su, gıda, çevre) izin verilen MRL (Maksimum Kalıntı Limiti) değerlerinin düşük olmasını şart koşmaktadır, örnek olarak gıdalarda 0,3µg/kg olarak belirlenen MRL değerleri LC-MS analizleri ile ulaşılabilir olmasına rağmen cihaz tayin kapasitesinin yüksek olmasını ve çalışma şartlarının çok iyi kontrolünü gerektirmektedir. GC-MS analizlerinde Glyphosate bileşiğinin sahip olduğu iyonik ve polar karakterinin -OH ve -NH fonksiyonel grupları üzerinden gerçekleştirilen türevlendirme reaksiyonları ile analize uygun hale getirilmesine yönelik çalışmalara esterleştirme reaksiyonları yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bizim çalışmamızda Glyphosate bileşiğinin sulu çözeltiden DLLME ekstraksiyonu sonrasında alkil halojenür varlığında alkil esterleri türevlerine dönüştürülmesi ve GC-MS ile tayin edilmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışması deneylerinde diizopropilamin baz varlığında Glyphosate'ın alkil esteri türevine dönüştürülmesi propil bromür varlığında 70°C reaksiyon sıcaklığında ve optimum 4 saat reaksiyon süresi içinde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Türevlendirme reaksiyonu sonrası alınan GC-MS spektrumları değerlendirildiğinde Glyphosate bileşiğinin iki adet fosfonik asit fonksiyonel grubuna ait her iki P-OH yapısı P-O-C₃H₇ propil esteri yapısına dönüştürülmüş, karboksilik asit fonksiyonel grubundaki C-OH yapısının C-O-C₃H₇ ester yapısına ve N-H yapısının N-C₃H₇ yapısına dönüştürülmüştür. Spektrumda Şekil 2.9.'da belirlenen ve m/z 337'de görülen pik Glyphosate propil esteri türevine ait moleküler iyon olup pik şiddeti beklendiği gibi düşük kalmaktadır, Şekil 2.10.'da kütle spektrumu şiddetlendirildiğinde bu moleküler iyon net olarak görünmektedir. Moleküler iyon dışında spektrumda yer alan fragment iyonlara ait m/z değerleri incelendiğinde m/z 172 en yüksek şiddette pik (basepeak) olarak yer almaktadır burada oluşan fragment iyon yapısının rezonans ile kararlılık açısından desteklendiği görülmektedir (Şekil 2.11.). Spektrumda gözlemlenen Glyphosate bileşiği propil esterine ait en spesifik pik m/z 102 değerine sahiptir ve fragmentasyonda olası mekanizmalarda biri olan McLafferty yeniden düzenlenmesine aittir (Şekil 2.11.). Bu spesifik pik bileşiğin kalitatif ve kantitatif tayininde, özellikle matriks etksi gösteren aynı molekül ağırlığına sahip bileşiklerden ayırt edilmesinde kullanılabilir ve GC-MS

analizi açısından çok değerlidir. Propil esteri türevi bileşiğin fragmentasyonuna ait diğer fragment iyonlar oldukça yüksek pik şiddetlerinde m/z 308; m/z 250 ve m/z 166 değerlerinde ortaya konulmuştur (Şekil 2.9.). Glyphosate bileşiğinin propil esterine dönüştürülmesi ve GC-MS’de çalışılan şartlarda elde edilen kütle spektrumu kalitatif tayin açısından başarılı olarak ortaya konulmuştur. Bu açıdan literatürde ilk defa bileşiğin propil esterinin GC-MS ile kalitatif tayini gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasında hedeflenen alkil türevlendirmesi ile eş zamanlı sulu çözeltiden Glyphosate bileşiğinin sıvı faz mikroekstraksiyonu DLLME olarak çalışılmıştır. Ekstraksiyon işlemi, bileşiğin kalitatif olarak GC-MS tayini açısından başarılı olduğu ortaya konulmuştur fakat yapılan kantitatif tayine bağlı ekstraksiyon geri kazanım çalışmaları düşük verimle sonuçlanmıştır. DLMME çalışmalarında alıcı çözücü ortamı olarak DCM, kloroform ve ACN kullanılmıştır. Sulu Glyphosate çözeltisi (verici çözelti-donor) ile organik çözelti ortamları (alıcı çözelti-acceptor) 100:1(v/v) 100:5 (v/v) ve 100:10 (v/v) oranlarında göreceli en iyi sonuç 100:10 oranında kullanılan sulu çözelti-DCM sistemi için %50,5 (± 5) verimle elde edilmiştir (DLLME ekstraksiyonu optimizasyonu 2. Prosedür ve Şekil 2.7.). Bu geri kazanım oranı bileşiğin kantitatif tayini için yetersiz olarak ortaya konulmuştur. Bu açıdan mikro emülsiyon ekstraksiyon prosedürlerinin ve çözücü parametrelerinin iyileştirilmesi gerekmektedir.

Yapılan reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi optimizasyonu çalışmalarında optimum şartlar olarak 70°C ve 4 saat en uygun şartlar olarak belirlendi. GC-MS analizlerinde standart çözeltilerin kullanılması ile LOD ve LOQ değerleri 0,004 ppm ve 0,014 ppm olarak tayin edildi. Sıvı faz mikroekstraksiyon özelinde DLLME’nin optimize edilmesi ve Glyphosate bileşiği için açıklanan alkil türevlendirme reaksiyonu ile birleştirilmesi özgün bir GC-MS tayin metodu ortaya çıkarma potansiyeline sahiptir.

KAYNAKLAR

- Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, C.O., Kala, S., Kryeziu, T., Ifemeje, J.C., & Iwuanyanwu, K.C.P. (2020). Pesticides, *History, and Classification*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00003-8>
- Altıkat, A., Turan, T., Ekmekyapar Torun, F., & Bingül, Z. (2009). Türkiye’de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2), 87-92. ISSN : 1300 – 9036
- Altundağ, B. C. (2019). *Turunçgil Alanlarında Kullanılan Farklı Toprak Herbisitlerinin Amaranthus Palmeri’ye Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Aydın Adnan Menderes Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Alver, E., Demirci, A., & Özcimder, M. (2012). Microextraction Methods. *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 30, 75-90.
- Székács, A., & Darvas, B. (2012). Forty Years with Glyphosate, *Herbicides-Properties, Synthesis and Control of Weeds*. doi: 10.5772/32491
- Annett, R., Habibi, H.R., & Hontela, A. (2014). Impact of Glyphosate and Glyphosate-Based Herbicides On The Freshwater Environment. *Journal of Applied Toxicology*, 34(5), 458-479. <https://doi.org/10.1002/jat.2997>
- Aparicio, V. C., Gerónimo, E. D., Marino, D., Primost, J., Carriquiriborde, P. & Costa, J. L. (2013). Environmental Fate of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Surface Waters and Soil of Agricultural Basins. *Chemosphere*, 93, 1886-1873. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.041>
- Arkan, T., & Molnár-Perl, I. (2021). The Role of Derivatization Techniques in The Analysis of Glyphosate and Aminomethyl-Phosphonic Acid by Chromatography. *Microchemical Journal*, 121, 99-106. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2015.02.007>
- Arkan, T., Csámpai, A., & Molnár-Perl, I. (2016). Alkylsilyl Derivatization of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid Followed by Gas Chromatography Mass Spectrometry. *Microchemical Journal*, 125, 219-233.
- Arkan, T., Csámpai, A., & Molnár-Perl, I. (2016). The Alkylsilyl Derivatization of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid Followed by Gas Chromatography Mass Spectrometry. *Microchemical Journal*, 125, 219-223. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2015.11.027>

Arroyo, L. P., González, R. B. G., Zacarías, C. C., Martínez, E. M. M., Hernández, J. E. S., Bilal, M., Iqbal, H. M. N., Barceló, D., & Saldívar, R. P. (2021). Highly Hazardous Pesticides and Related Pollutants: Toxicological, Regulatory, and Analytical Aspects. *Science of the Total Environment*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151879>

Atabey, T. (2016). *Edirne Yöresinde Üretilen Pirinçlerde Pestisit Tayini*. (Yüksek Lisans Tezi). Namık Kemal Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Bilal, M., Iqbal, H.M.N., & Barceló, D. (2019). Persistence of Pesticides-Based Contaminants in the Environment and Their Effective Degradation Using Laccase-Assisted Biocatalytic Systems. *Science of the Total Environment*, 695, 133896. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133896>

Brake, D. G., & Evenson, D.P. (2003). A Generational Study of Glyphosate-Tolerant Soybeans on Mouse Fetal, Postnatal, Pubertal and Adult Testicular Development. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 29-36. Doi:10.1016/j.fct.2003.08.003

Carretta, L., Cardinali, A., Marotta, E., Zanin, G., & Masin, R. (2019). A New Rapid Procedure for Simultaneous Determination of Glyphosate and AMPA in Water at Sub µg/L Level. *Journal of Chromatography A*, 1600, 65-72.

Costa, L.G., & Aschner, M. (2014). Toxicology of Pesticides. *Reference Module in Biomedical Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00208-7>

Cox, C. (1998). Glyphosate (Roundup). *Journal of Pesticide Reform*, 18(3). <http://www.wolf.sk/dok/pesticidy/glyphosate.pdf>

Dallegre, E., Mantese, F.D., Oliveira, R.T., Andrade, A.J.M., Dalsenter, P.R., & Langeloh, A. (2007). Pre- and Postnatal Toxicity of the Commercial Glyphosate Formulation in Wistar rats. *Arch Toxicol*, 81, 665-673. Doi 10.1007/s00204-006-0170-5

De, A., Bose, R., Kumar, A., & Mozumdar, S. (2014). Targeted Delivery of Pesticides Using Biodegradable Polymeric Nanoparticles. *Springer Briefs In Molecular Science*. Doi: 10.1007/978-81-322-1689-6

Demirkan, H. (2009). Herbisitlere Dayanıklılık Konusunda Dünyada Yapılmış Bildirimlerin Değerlendirilmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46(1), 71-77. ISSN 1018 – 8851

Dentzman, K. (2018). “I Would Say That Might Be All It Is, Is Hope”: The Framing of Herbicide Resistance and How Farmers Explain Their Faith in Herbicides. *Journal of Rural Studies*, 57, 118-127. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2017.12.010>

Duke, S.O., & Powles, S.B. (2008). Mini-Review Glyphosate: A Once-In-A-Century Herbicide. *Pest Management Science*, 64, 319-325. Doi: 10.1002/ps.1518

Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnon, M.C., & Seralini, G.E. (2009). Glyphosate-Based Herbicides are Toxic and Endocrine Disruptors in Human Cell Lines. *Toxicology*, 262, 184-191. Doi:10.1016/j.tox.2009.06.006

Ghanem, A., Bados, P., Kerhoas, L., Dubroca, J., & Einhorn, J. (2007). Glyphosate and AMPA Analysis in Sewage Sludge by LC-ESI-MS/MS after FMOC Derivatization on Strong Anion-Exchange Resin as Solid Support. *Analytical Chemistry*, 79, 3794-3801.

Giesy, J.P., Dobson, S., & Solomon, K.R. (2000). Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup ® Herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167, 35-120.

Gonçalves, A.M., Rocha, C.P., Marques, J.C., & Gonçalves, F.J.M. (2021). Fatty Acids as Suitable Biomarkers to Assess Pesticide Impacts in Freshwater Biological Scales- A Review. *Ecological Indicators*, 122, 107299. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107299>

Grandcoin, A., Piel, S., & Baures, E. (2017). Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) in Natural Waters: Its Sources, Behavior and Environmental Fate. *Water Research*. Doi: 10.1016/j.watres.2017.03.055.

Gupta, R.C., & Milatovic, D. (2014). Insecticides. *Biomarkers in Toxicology*. 389-407. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-404630-6.00023-3>

Hanke, I., Wittmer, I., Bischofberger, B., Stamm, C., & Singer, H. (2010). Relevance of Urban Glyphosate Use For Surface Water Quality. *Chemosphere*, 81, 422-429. Doi:10.1016/j.chemosphere.2010.06.067

Hashemi, B., Zohrabi, P., Kim, K.H., Shamsipur, M., Deep, A., & Hong, J. (2017). Recent Advances in Liquid-Phase Microextraction Techniques for The Analysis of Environmental Pollutants. *Trends in Analytical Chemistry*, 97, 83-95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2017.08.014>

Hearon, S.E., Wang, M., McDonald, T.J., & Phillips, T.D. (2021). Decreased Bioavailability of Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) in Genetically Modified Corn with Activated Carbon Or Calcium Montmorillonite Clay Inclusion In Soil. *Journal Of Environmental Sciences*, 100, 131-143. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.06.029>

Ibáñez, M., Pozo, O.J., Sancho, J.V., Lopez, F.J., & Hernández, F. (2005). Residue Determination of Glyphosate, Glufosinate and Aminomethylphosphonic Acid in Water and Soil Samples by Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1081(2), 144-155. Doi:10.1016/j.chroma.2005.05.041

Jarrell, Z.R., Ahammad, M.U., & Benson, A.P. (2020). Glyphosate-Based Herbicide Formulations and Reproductive Toxicity in Animals. *Veterinary and Animal Science*, 10, 100126. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100126>

Kanissery, R., Gairhe, B., Kadyampakeni, D., Batuman, O., & Alferez, F. (2019). Glyphosate: Its Environmental Persistence and Impact on Crop Health and Nutrition. *Plants*, 8, 499. Doi:10.3390/plants8110499

Kaymak, S., Özdem, A., Karahan, A., Özercan, B., Aksu, P., Aydar, A., Kodan, M., Yılmaz, A., Başaran, M. S., Asav, Ü., Erdoğan, P., & Güler, Y. (2015). *Ülkemizde Zirai Mücadele Girdilerinin Değerlendirilmesi*. Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara. ISBN: 978-605—9175-33-3

Kergaravat, S.V., Fabiano, S.N., Soutullo, A.R., & Hernandez, S.R. (2021). Comparison of The Performance Analytical of Two Glyphosate Electrochemical Screening Methods Based on Peroxidase Enzyme Inhibition. *Microchemical Journal*, 160, 105654. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105654>

Kitiş, Y.E., Yazır, B., & Özgönen Özkaya, H. (2016). The Effects of Some Soil Herbicides on Root Colonization and Spore Number of Mycorrhizal Fungi *Glomus Intraradices*. *Biological Diversity and Conservation*, 9(2), 1-7. ISSN 1308-8084

Kulaksız, Ç. (2019). *Edirne Meriç Nehri Boyunca Sulanan Çeltiklerde Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Trakya Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

Kulikova, N.A., Zhelezova, A.D., Filippova, O.I., Plyushchenko, I.V., & Rodin, I.A. (2020). The Degradation of Glyphosate and Its Effect on the Microbial Community of Agro-Sod-Podzolic Soil under Short-Term Model Experiment Conditions. *Moscow University Soil Science Bulletin*, 75(3), 138-145. ISSN 0147-6874

Kurtoğlu, C. (2020). *Glifosat ve 2,4-D Kullanılan Topraklardan İzole Edilen Bakterilerin Herbisit Degradasyon Potansiyellerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

Kurtoğlu, C., Ceylan, F., Cömertpay, S., & Akyol, İ. (2020). Determination of herbicide degradation potentials of bacteria isolated from glyphosate applied soil. *Biological Diversity and Conservation*, 13(2), 102-108. Doi: 10.46309/biodicon.2020.732161

Mallet, C., (2014). Analysis of Glyphosate, Glufosinate, and AMPA in Tap and Surface Water Using Open-Architecture UPLC with 2D-LC Technology. *Waters Corporation, USA*.

Matozzo, V., Fabrello, J., & Gabriella Marin, M. (2020). The Effects of Glyphosate and Its Commercial Formulations to Marine Invertebrates: A Review. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8, 399. Doi:10.3390/jmse8060399

Mehtiyev, T. (2018). *Glifosatın Hepg2 Hücrelerinde Toksik Etkilerinin Araştırılması*. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Mesnage R., Defarge N., Spiroux de Vendômois J., & Séralini G.E. (2015). Potential Toxic Effects of Glyphosate and Its Commercial Formulations Below Regulatory Limits. *Food and Chemical Toxicology*. Doi: 10.1016/j.fct.2015.08.012

Mir, S.A., Dar, B.N., Mir, M.M., Sofi, S.A., Shah, M.A., Sidiq, T., Sunooj, K.V., Hamdani, A.M., & Khaneghah, A.M. (2021) Current Strategies for The Reduction of Pesticide Residues in Food Products. *Journal of Food Composition and Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104274>

Morillo, E., & Villaverde, J. (2017). Advanced Technologies For The Remediation of Pesticide-Contaminated Soils. *Science of the Total Environment*, 586, 576-597. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.020>

Niemann, L., Sieke, C., Pfeil, R., & Solecki, R. (2015). A Critical Review of Glyphosate Findings in Human Urine Samples and Comparison with The Exposure of Operators and Consumers. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 10, 3-12. Doi: 10.1007/s00003-014-0927-3

Samsel, A., & Seneff, S. (2013). Glyphosate's Suppression of Cytochrome P450 Enzymes and Amino Acid Biosynthesis by the Gut Microbiome: Pathways to Modern Diseases. *Entropy*, 15(4), 1416-1463. Doi:10.3390/e15041416

Singh, S., Kumar, V., Gill, J.P.K., Datta, S., Singh, S., Dhaka, V., Kapoor, D., Wani, A.B., Dhanjal, D.D., Kumar, M., Harikumar, S.L., & Singh, J. (2020). Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17, 7519. Doi:10.3390/ijerph17207519

Sun, L., Kong, D., Gu, W., Guo, X., Tao, W., Shan, Z., Wang, Y., & Wang, N. (2017). Determination of Glyphosate in Soil/Sludge by High Performanceliquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1502, 8-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.04.018>

Şentürk, Y. (2020). Mezo Gözenekli Silika Nanopartikül Sentezi, Glyphosate Türevi Herbisitlerin Bu Materyaller Üzerine Adsorpsiyonunun İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Giresun Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Giresun.

Travlos, I., Cheimona, N., & Bilalis, D. (2017). Glyphosate Efficacy of Different Salt Formulations and Adjuvant Additives on Various Weeds. *Agronomy*, 7, 60. Doi:10.3390/agronomy7030060

Türköz Bakırcı, G., Çınar, E., & Karakaya, S. (2019). Manisa İlinden Toplanan Asma Yapraklarında Pestisit Kalıntıları. *Akademik Gıda*, 17(1), 55-60.

Doi: 10.24323/akademik-gida.544073

Ulu, H.B. (2019). Removal of Chloridazon Herbicide From Wastewaters Using Fe/H₂O₂, Uv/H₂O₂ and Uv/Fe/H₂O₂. (Yüksek Lisans Tezi). Ortadoğu Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Xu, J., Smith, S., Smith, G., Wang, W., & Li, Y. (2019). Glifosat Contamination in Grains and Foods: an Overview. *Food Control*, 106, 106710. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106710>

ÖZGEÇMİŞ

2009 yılında Gemlik Lisesini bitirdim. 2014 yılında Balıkesir Üniversitesi Kimya bölümünden mezun oldum. İş hayatıma Ekim 2014’de Bursa Sunteks Dokuma Boya Apre Sanayi Ve Ticaret A.Ş’de laboratuvar personeli olarak başladım. 2017-2021 yılları arasında Edirne’de Radix Analiz Özel Gıda Laboratuvarı’nda laboratuvar personeli olarak çalıştım. Şu anda Pilab Özel Gıda Laboratuvarı’nda Kalite Yönetim Sistemi Sorumlusu ve Kimya biriminde laboratuvar personeli olarak görev yapmaktayım. HPLC, GC-MS/MS ve GC-FID cihazlarını iyi derecede kullanabiliyorum.