

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI PESTİSİTLERİN KROMATOĞRAFİK AYRILMALARI VE  
TAYİNLERİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Abdullah AKDOĞAN**

**Anabilim Dalı : Kimya**

**Programı : Analitik Kimya**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ümit DİVRİKLİ**

**EYLÜL 2011**

## DOKTORA TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 051700003 nolu öğrencisi Abdullah AKDOĞAN tarafından hazırlanan “BAZI PESTİSİTLERİN KROMATOĞRAFİK AYRILMALARI VE TAYİNLERİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı :** Prof. Dr. Ümit DİVRİKLİ  
(Jüri Başkanı) (Pamukkale Üniversitesi)

**Eş Danışman :** Prof. Dr. Latif ELÇİ  
(Pamukkale Üniversitesi)

**Jüri Üyesi :** Prof. Dr. Mustafa SOYLAK  
(Erciyes Üniversitesi)

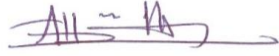
**Jüri Üyesi :** Prof. Dr. Mehmet KARTAL  
(Dokuz Eylül Üniversitesi)

**Jüri Üyesi :** Doç. Dr. Fikret KARCI  
(Pamukkale Üniversitesi)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 07/09/2011... tarih ve ..25/13..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
Prof. Dr. Nuri KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İmza : 

Öğrenci Adı Soyadı : Abdullah AKDOĞAN

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada, bazı organofosfor ve azole grup pestisitler ile s-triazin ve triketon grubu pestisitlerinin çevresel örneklerde tayini üzerinde durulmuştur. Bu amaçla, literatürde bilinen ekstraksiyon ve zenginleştirme yöntemlerin yanında yeni geliştirilen zenginleştirme yöntemleri kullanılarak su, toprak, sediment ve sebze örneklerinden pestisitlerin ekstraksiyonları ve kromatografik olarak tayinleri çalışılmıştır.

Doktora çalışmamın yönetimini kabul eden, çalışma konusunun seçiminde, hazırlanmasında, çalışmamın tüm safhalarında ve tezin hazırlanmasında yardım ve himayelerini esirgemeyen ve bana her zaman destek olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Latif ELÇİ ve Prof. Dr. Ümit DİVRİKLİ'ye sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Bu çalışmanın gerçekleşmesinde değerli katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesinde bulunan hocalarım Sayın Prof. Dr. Mustafa SOYLAK, Sayın Doç. Dr. Fikret KARCI ve Sayın Doç. Dr. Yusuf YILMAZ'a ve Tezin I. bölümünün yapılmasında kendi laboratuvarını bize açan ve işbirliğini kabul eden Prof. Dr. Irena BARANOWSKA'ya da ayrıca teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımcı olan Araş. Gör. Aslıhan ARSLAN KARTAL ve Araş. Gör. Ayşen HÖL'e teşekkür ederim.

Ayrıca Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri biriminin proje (BAP, 2008FBE013) desteği ve çalışmaların gerçekleştirildiği Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Başkanlığı'na verdiği alt yapı desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Eylül 2011

Abdullah AKDOĞAN

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>XV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XVI</b>
<b>1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI</b> .....	<b>1</b>
<b>2. PESTİSİTLER VE KULLANIMI</b> .....	<b>5</b>
2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması .....	6
2.1.1 Herbisitler .....	7
2.1.2 İnsektisitler .....	8
2.1.3 Fungisitler.....	9
2.2 Pestisitler ve Çevre .....	10
2.2.1 Gıdalarda pestisit kalıntısı .....	11
2.2.2 Toprakta pestisit kalıntısı .....	11
2.2.3 Sularda pestisit kalıntısı.....	14
2.2.4 Pestisitlerin insanlar üzerine etkileri .....	15
2.3 Ülkemizde Pestisit Kullanımı .....	16
<b>3. PESTİSİT ANALİZLERİ: EKSTRAKSİYON, ÖNDERİŞTİRME VE LİTERATÜR BİLGİLERİ</b> .....	<b>18</b>
3.1 Soxhlet ekstraksiyonu.....	19
3.2 Katı faz ekstraksiyonu .....	20
3.3 Sıvı faz mikro ekstraksiyon (LPME).....	21
3.3.1 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME).....	21
3.3.2 Bazı pestisitlerin DLLME ile tayinleri .....	24
3.4 Pestisit Analizleri ile İlgili Bazı Literatür Özetleri .....	26
<b>4. KROMATOĞRAFI VE TEMEL KAVRAMLAR</b> .....	<b>33</b>
4.1 Gaz Kromatografisi (GC) .....	34
4.1.1 Gaz kromatografi cihazı .....	34
4.1.1.1 Taşıyıcı gaz .....	35
4.1.1.2 Numune enjeksiyon sistemi .....	36
4.1.1.3 Gaz kromatografik kolonlar ve durgun fazlar.....	36
4.1.1.4 Kolon fırını .....	37
4.2.2 Dedektörler .....	37
4.2.3 Gaz kromatografi uygulamaları.....	39
4.3 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) .....	40
4.3.1 HPLC’de hareketli faz .....	40
4.3.2 HPLC’de kolonlar .....	41
4.3.3 HPLC’de dedektörler .....	41
<b>5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER (KEMOMETRİ)</b> .....	<b>42</b>
5.1 Deneysel Tasarım .....	43
5.2 Yöntem Belirsizliği .....	45
<b>6. DENEYSEL BÖLÜM I</b> .....	<b>47</b>
6.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografik Herbisit Tayini .....	47
6.1.1 Ölçüm sistemi.....	47
6.1.2 Kimyasal maddeler ve stok çözeltiler.....	48
6.1.3 Cam ve plastik kapların temizliği.....	48

6.1.4 Örnek alınması, saklanması ve analitlerin ekstraksiyonu.....	48
6.1.5 Su örneklerinin katı faz ekstraksiyonu .....	49
6.1.6 Sediment ve sebze örneklerinin katı faz ekstraksiyonu.....	50
6.1.7 Kromatografik şartlar .....	51
6.1.8 Yöntemin analitik değerlendirilmesi .....	53
6.2 Analitik Uygulamalar .....	56
6.2.1 Termal su örneklerinin analizi.....	56
6.2.2 Termal sediment örneklerinin analizi.....	58
6.2.3 Sebze örneklerinin analizi .....	61
6.2.3.1 Maydanoz Analizi.....	61
6.2.3.2 Pırasa Analizi.....	62
6.2.3.3 Isırganotu Analizi .....	62
6.2.3.4 Ispanak Analizi .....	63
6.2.3.5 Brokoli Analizi .....	64
6.2.3.6 Diğer sebze analizleri.....	66
6.2.4 Sebze örneklerinin mezotrin, simazin ve atrazin içerikleri .....	67
6.3 Sonuçların Belirsizlik Hesaplamaları .....	68
6.4 Yöntemin Litaratürdeki Diğer Çalışmalarla Karşılaştırılması .....	70
<b>7. DENEYSEL BÖLÜM II.....</b>	<b>73</b>
7.1 Ölçüm Sistemi .....	73
7.1.1 Gaz kromatografi–kütle spektrofotometre (GC-MS) .....	73
7.1.2 Diğer aletler.....	73
7.2 Materyaller .....	74
7.2.1 Kimyasal maddeler ve stok çözeltiler.....	74
7.2.2 Örnekler ve örneklerin alınması .....	74
7.2.3 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) ile pestisit deriştirilmesi... 75	
7.3 GC-MS Çalışma Şartlarının Optimizasyonu ve Bulgular .....	76
7.3.1 Analitlerin kütle spektrumları ve değerlendirilmesi.....	79
7.4 DLLME Yönteminin Optimizasyonu ve Bulgular .....	85
7.4.1 DLLME yöntemi üzerine tuz etkisi.....	96
7.5 Yöntemin Analitik Değerlendirilmesi .....	98
7.6 Yöntemin Gerçek Örneklerle Uygulanması .....	100
7.7 DLLME Yönteminin Litaratürdeki Diğer Çalışmalarla Karşılaştırılması .....	102
7.8 Toprak Örneklerinde Bazı Pestisitlerin GC-MS’de Tayinleri .....	104
7.8.1 Toprak örneklerinin pH ölçümleri.....	104
7.8.2 Toprak örneklerinin organik madde içeriğinin bulunması .....	105
7.8.3 Toprak örneklerinin ekstraksiyon işlemi .....	106
7.8.4 Çalkalamalı ekstraksiyon işleminin optimizasyonu ve bulgular .....	107
7.8.4.1 Toprakta pestisit ekstraksiyonuna çözücü türü etkisi .....	107
7.8.4.2 Ekstraksiyon verimine ekstraksiyon süresinin etkisi .....	109
7.8.4.3 Pestisit ekstraksiyonuna çalkalayıcı devrinin etkisi .....	110
7.8.5 Çalkalamalı ekstraksiyon yönteminin analitik performansı .....	111
7.8.6 Gerçek örnek analizi.....	113
7.8.7 Analiz Sonuçlarının İstatistiği .....	117
7.8.8 Çalkalamalı ekstraksiyon yönteminin litaratürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılması .....	138
<b>8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>140</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>149</b>

## KISALTMALAR

<b>AAS</b>	: Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
<b>ACN</b>	: Asetonitril
<b>ADI</b>	: Kabul Edilebilir Günlük Alım (Acceptable Daily Intake)
<b>CE</b>	: Kapiler Elektroforez (Capillary Electrophoresis)
<b>DDT</b>	: Dikloro difenol trikloroetan
<b>DLLME</b>	: Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (Dispersive Liquid- Liquid Microextraction)
<b>DPT</b>	: Devlet planlama Teşkilatı
<b>ECD</b>	: Elektron Yakalama Dedektör (Electron Capture Detector)
<b>EF</b>	: Zenginleştirme Faktörü (Enrichment Factor)
<b>EPA</b>	: Birleşik Devletler Çevre Koruma Kurumu (Environmental Protection Agency)
<b>FAO</b>	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
<b>FID</b>	: Alev İyonlaştırma Dedektör (Flame Ionization Detection)
<b>FLD</b>	: Floresans Dedektör (Floresans Detector)
<b>GC</b>	: Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography)
<b>GC-FPD</b>	: Gaz Kromatografisi-Alev Fotometri Dedektör (Gas Chromatography-Flame Photometric Detection)
<b>GC-MS</b>	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometre (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)
<b>GC-NPD</b>	: Gaz Kromatografisi-Azot Fosfor Dedektör (Gas Chromatography-Nitrogen Phosphor Detection)
<b>HLPME</b>	: Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction)
<b>HPLC</b>	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High-performance Liquid Chromatography)
<b>HPLC-DAD</b>	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Fotodiyot Dedektör (High-performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector)
<b>HPLC-UV</b>	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Ultraviyole dedektör (High-performance Liquid Chromatography-Ultraviolet Detection)
<b>IR</b>	: Infrared Detector
<b>IUPAC</b>	: The International Union of Pure and Applied Chemistry
<b>LC-MS-MS</b>	: Sıvı Kromatografisi-çift kütle spektrometre (Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry)
<b>LD<sub>50</sub></b>	: Ortalama Öldürücü Doz (The Median Lethal Dose)
<b>LLE</b>	: Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon (Liquid-liquid Extraction)
<b>LOD</b>	: Gözlenebilme Sınırı (Limit of Detection)
<b>LOQ</b>	: Tayin Sınırı (Limit of Quantification)
<b>LPME</b>	: Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (Liquid Phase Microextraction)
<b>MeOH</b>	: Metanol (Methanol)
<b>MLPME</b>	: Membran Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (Membrane Liquid Phase Microextraction)
<b>MRL</b>	: Maksimum Kalıntı Düzeyi (Maximum Residue Levels)
<b>MSPD</b>	: Matriks Katı Faz Dispersiyon (Matrix Solid-Phase Dispersion)
<b>OCPs</b>	: Organoklorlu Pestisitler (Organochlorine Pesticides)
<b>OPPs</b>	: Organofosfor Pestisitler (Organophosphor Pesticides)
<b>PLE</b>	: Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu (Pressure Liquid Extraction)
<b>R</b>	: Geri Kazanma (Recovery)

<b>SDME</b>	: Tek Damla Mikroekstraksiyon (Single Drop Microextraction)
<b>SHWE</b>	: Süper Isıtılmış Su ekstraksiyonu (Superheated water extraction)
<b>SIM</b>	: Seçilmiş İyon Tarama (Selected Ion Monitoring)
<b>SPME</b>	: Katı Faz Mikroekstraksiyon (Solid Phase Micro Extraction)
<b>TCD</b>	: Thermal Conductivity Detection
<b>TIC</b>	: Toplam İyon Kromatogramı (Total Ion Chromatogram)
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
<b>rpm</b>	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolution per minute)



## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

2.1:	Pestisitlerin sınıflandırılması .....	6
2.2:	Türk Gıda Kodeksi'ne göre pestisitlerin bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum miktarları .....	13
2.3:	Avrupa direktiflerine göre pestisitlerin bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum miktarları .....	13
2.4:	Bazı pestisitlere ait fizikokimyasal özellikler .....	14
4.1:	100°C'de GC gazlarının vizkozite ve termal iletkenlik değerleri .....	35
5.1:	5 faktör için Plackett-Burman deneysel tasarımı .....	44
6.1:	Herbisitlerin pik alanlarının dalga boyu ile değişimi .....	51
6.2:	Herbisit analizlerine ilişkin analitik değerlendirme verileri .....	53
6.3:	Bazı örneklerle yöntemin uygulanması .....	55
6.4:	Pamukkale ve Karahayıt su örneklerindeki mezotrin, simazin ve atrazin derişimleri .....	58
6.5:	Termal su sedimentlerinin mezotrin, atrazin ve simazin içerikleri .....	60
6.6:	Sebze örneklerinde mezotrin, simazin ve atrazin içerikleri .....	67
6.7:	Simazin, atrazin ve mezotrin tayininde % belirsizlik ve standart belirsizlik değerleri .....	70
6.8:	Çevresel matrisler içinde atrazin, simazin ve mezotrinin tayininde diğer HPLC yöntemleri ile geliştirilen yöntemin karşılaştırılması .....	72
7.1:	Çalışılan pestisitlere ait GC-MS çalışma şartları ve kolon sıcaklık programı .....	76
7.2:	Şekil 7.2'de verilmiş kromatogramdaki pestisit karışımına ait alıkonma zamanları, molekül ağırlıkları, hedef iyon ve doğrulama iyonları .....	77
7.3:	Çalışılan pestisitlere ait GC-MS çalışma şartları ve kolon sıcaklık programı .....	77
7.4:	Şekil 7.3'te verilmiş kromatogramdaki pestisit karışımına ait alıkonma zamanları, molekül ağırlıkları, hedef iyon ve doğrulama iyonları .....	78
7.5:	Tayini yapılan pestisitlere ait kromatografik veriler .....	79
7.6:	Çalışılan pestisitlere ait MS'de seçimli iyon modunda (SIM) m/z, alıkonma zamanları ve molekül yapıları .....	84
7.7:	Tayini yapılan pestisitlere ait analitik veriler .....	85
7.8:	İki düzeyde faktöriyel tasarıma ait faktör ve düzeyleri ile tasarım matrisi .....	85
7.9:	Analitlerin geri kazanma değerleri .....	86
7.10:	Optimizasyonu belirlenen sonuçlar ile CCl <sub>4</sub> (EÇ) ve MeOH (DÇ) deney sonuçlarına ait % geri kazanım değerleri .....	89

<b>7.11:</b>	DLLME faktöriyel tasarım ANOVA sonuçları .....	96
<b>7.12:</b>	DLLME yönteminin analitik performans değerleri .....	99
<b>7.13:</b>	Su örneklerinin analiz sonuçları .....	101
<b>7.14:</b>	Su örneklerinde azole grup pestisitler için geliştirilen DLLME-GC-MS yönteminin literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılması .....	102
<b>7.15:</b>	Su örneklerinde OPPs için geliştirilen DLLME-GC-MS yönteminin literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılması ....	103
<b>7.16:</b>	Toprakten pestisit ekstraksiyonuna çözücü türü etkisi .....	107
<b>7.17:</b>	Filtrede Analitlerin Alınması .....	108
<b>7.18:</b>	Toprakten pestisit ekstraksiyon verimine süresinin etkisi .....	109
<b>7.19:</b>	Toprakten pestisit ekstraksiyonuna çalkalayıcı devrinin etkisi ..	110
<b>7.20:</b>	Toprak örneklerinden pestisit ekstraksiyonu için optimum değişkenler .....	111
<b>7.21:</b>	Çalkalamalı ekstraksiyonda tayini yapılan pestisitlere ait analitik veriler .....	112
<b>7.22:</b>	Alan 1 için penkonazol pestisitinin analiz sonuçları .....	114
<b>7.23:</b>	Alan 1 için triadimenol pestisitinin analiz sonuçları .....	114
<b>7.24:</b>	Alan 1 için mayklobutanil pestisitinin analiz sonuçları .....	115
<b>7.25:</b>	Alan 2 için penkonazol pestisitinin analiz sonuçları .....	115
<b>7.26:</b>	Alan 2 için triadimenol pestisitinin analiz sonuçları .....	116
<b>7.27:</b>	Alan 2 için mayklobutanil pestisitinin analiz sonuçları .....	116
<b>7.28:</b>	Penkonazol pestisiti için ANOVA sonuçları .....	117
<b>7.29:</b>	Triadimenol pestisiti için ANOVA sonuçları .....	118
<b>7.30:</b>	Mayklobutanil pestisiti için ANOVA sonuçları .....	118
<b>7.31:</b>	Penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil pestisitleri arasındaki Pearson korelasyon (r) katsayıları .....	119
<b>7.32:</b>	Çalkalamalı ekstraksiyon tekniğiyle toprak örneklerinde bazı pestisitlerin ekstraksiyonunun literatürde kullanılan diğer tekniklerle karşılaştırılması .....	139

## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

<b>2.1:</b>	Simazin, atrazin ve mezotrine herbisitlerinin açık yapıları .....	8
<b>2.2:</b>	Fotolitik proses ve enzimatik desülfürasyondan oluşan fention metabolitleri (ikincil ürünler) .....	9
<b>2.3:</b>	Tez kapsamında çalışılan organofosfor pestisitlerinin açık yapıları .....	9
<b>2.4:</b>	Tez kapsamında incelenen fungisitlerin açık yapıları .....	10
<b>2.5:</b>	Sucul çevrede pestisitlerin kaynakları ve geleceği .....	15
<b>3.1:</b>	Soxhlet ekstraktörü .....	19
<b>3.2:</b>	SPE yönteminin İşlem basamakları .....	20
<b>3.3:</b>	Dispersif Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME)'nin şematik gösterimi .....	22
<b>4.1:</b>	Ayırma gücü, seçicilik ve kolon yeterliliği .....	34
<b>4.2:</b>	Bir gaz kromatografisi cihazının şeması .....	35
<b>4.3:</b>	Gaz kromatografisi enjeksiyon bloğu .....	36
<b>4.4:</b>	Kromatografi/kütle spektrometrenin blok diagramı .....	38
<b>4.5:</b>	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazının şematik gösterimi .....	40
<b>5.1:</b>	Kemometrinin diğer disiplinlerle olan ilişkisi .....	43
<b>5.2:</b>	Herhangi bir pestisit tayin yönteminde oluşturulmuş balık kılçığı diyagramı .....	46
<b>6.1:</b>	Katı faz ekstraksiyon kolonu (SPE) (A) Disk katı faz ekstraksiyon kolonu (B) .....	50
<b>6.2:</b>	20 µg L <sup>-1</sup> mezotrin, atrazin ve simazin çözeltisinin CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O hareketli fazıyla alınan kromatogramı .....	52
<b>6.3:</b>	20 µg L <sup>-1</sup> mezotrin, atrazin ve simazin çözeltisinin CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O+ % 0.05 TFA hareketli fazıyla alınan kromatogramı .....	52
<b>6.4:</b>	Pamukkale suyu kromatogramları; SPE sonrası (A) ve Disk katı faz ekstraksiyonu .....	56
<b>6.5:</b>	Kırmızı su (Karahayıt) kromatogramları; (A) SPE ve Disk katı faz ekstraksiyonu (B) .....	56
<b>6.6:</b>	Pamukkale ve kırmızı su (Karahayıt) örneklerine ait mezotrin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B) II. türev spektrumu (C) .....	57
<b>6.7:</b>	Pamukkale termal su sedimentine ait kromatogram .....	59
<b>6.8:</b>	Kırmızı su sedimentine ait kromatogram .....	59
<b>6.9:</b>	Kırmızı su sediment örneğine ait mezotrin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B) ve II.türev spektrumu (C) .....	60
<b>6.10:</b>	Maydanoz örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin ve simazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B) .....	61
<b>6.11:</b>	Pırasa örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin ve simazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B) .....	62

<b>6.12:</b>	Isırgan otu örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin, simazin ve atrazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B) .....	63
<b>6.13:</b>	Ispanak örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin, simazinve atrazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B) ..	64
<b>6.14:</b>	Ispanak örneğine ait atrazin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B) ve II.türev spektrumu (C) .....	64
<b>6.15:</b>	Brokoli örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin, simazinve atrazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B) ..	65
<b>6.16:</b>	Brokoli örneğine ait simazin ve atrazin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B) ve II.türev spektrumu (C) .....	66
<b>6.17:</b>	Afyon örneğine ait HPLC kromatogramı .....	66
<b>6.18:</b>	Gelincik örneğine ait HPLC kromatogramı .....	67
<b>7.1:</b>	(a) Model çözeltinin santrifüj işlem öncesi görünümü, (b) santrifüj işlemi sonrasındaki görünümü .....	75
<b>7.2:</b>	Tablo 7.1’de verilen sıcaklık programı ile elde edilen 10 µg mL <sup>-1</sup> derişimdeki model çözeltiliye ait GC kromatogramları .....	76
<b>7.3:</b>	Tablo 7.3’te verilen sıcaklık programı ile elde edilen 10 µg mL <sup>-1</sup> derişimdeki model çözeltiliye ait GC kromatogramları .....	78
<b>7.4:</b>	Kloropirifos-metil bileşiğine ait kütle spektrumu .....	79
<b>7.5:</b>	Fention bileşiğine ait kütle spektrumu .....	81
<b>7.6:</b>	Kloropirifos-etil bileşiğine ait kütle spektrumu .....	81
<b>7.7:</b>	Penkonazol bileşiğine ait kütle spektrumu .....	82
<b>7.8:</b>	Triadimenol bileşiğine ait kütle spektrumu .....	82
<b>7.9:</b>	Mayklobutanil bileşiğine ait kütle spektrumu .....	83
<b>7.10:</b>	Model pestisit çözeltilisinden DLLME ile zenginleştirme sonrası elde edilen GC-MS kromatogramı .....	87
<b>7.11:</b>	DLLME metodu için kullanılan ekstraksiyon çözücüsü ve dispersif çözücüler içeren kör numunelerin GC kromatogramları .....	88
<b>7.12:</b>	Kloropirifos-metile ait standardize edilmiş Pareto diagramı .....	89
<b>7.13:</b>	Kloropirifos-metile ait plot etkileşim diagramı .....	90
<b>7.14:</b>	Fentiona ait standardize edilmiş Pareto diagramı .....	91
<b>7.15:</b>	Fentiona ait plot etkileşim diagramı .....	91
<b>7.16:</b>	Kloropirifos-etile ait standardize edilmiş Pareto diagramı .....	92
<b>7.17:</b>	Kloropirifos-etile ait plot etkileşim diagramı .....	93
<b>7.18:</b>	Triadimenole ait standardize edilmiş Pareto diagramı .....	93
<b>7.19:</b>	Triadimenole ait plot etkileşim diagramı .....	94
<b>7.20:</b>	Mayklobutanil ait standardize edilmiş Pareto diagramı .....	94
<b>7.21:</b>	Mayklobutanile ait plot etkileşim diagramı .....	95
<b>7.22:</b>	DLLME metodu üzerine tuz etkisi .....	97
<b>7.23:</b>	DLLME-GC-MS ile ırmak suyundan standart eklemeyen (A) ve standart ekleme işlemi sonrası (B) elde edilmiş kromatogramlar	100
<b>7.24:</b>	Toprak örneğinde ekstraksiyon sonrası 0.05 µg’dan 1 mg L <sup>-1</sup> ye deriştirilen analitlere ait GC-MS toplam iyon kromatogramı	106
<b>7.25:</b>	Ekstraksiyon çözücü türü etkilerinin karşılaştırmalı GC kromatogramları .....	108
<b>7.26:</b>	Ekstraksiyon süresinin karşılaştırmalı GC kromatogramları .....	110
<b>7.27:</b>	Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	120

<b>7.28:</b>	Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	121
<b>7.29:</b>	Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Kontor plot sonucu .....	121
<b>7.30:</b>	Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Kontor plot sonucu .....	122
<b>7.31:</b>	Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	122
<b>7.32:</b>	Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	123
<b>6.33:</b>	Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Kontor plot sonucu .....	124
<b>7.34:</b>	Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için Bölge*Derinlik Kontor plot sonucu .....	124
<b>7.35:</b>	Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	124
<b>7.36:</b>	Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	125
<b>7.37:</b>	Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge*Derinlik Kontor plot sonucu .....	126
<b>7.38:</b>	Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge*Derinlik Kontor plot sonucu .....	126
<b>7.39:</b>	Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için Derinlik*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	126
<b>7.40:</b>	Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için Derinlik*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	127
<b>7.41:</b>	Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için Derinlik*zaman Kontor plot sonucu .....	128
<b>7.42:</b>	Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için Derinlik*zaman Kontor plot sonucu .....	128
<b>7.43:</b>	Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için Derinlik*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	129
<b>7.44:</b>	Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için Derinlik*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	129
<b>7.45:</b>	Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için Derinlik*zaman Kontor plot sonucu .....	130
<b>7.46:</b>	Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için Derinlik*zaman Kontor plot sonucu .....	130
<b>7.47:</b>	Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	131
<b>7.48:</b>	Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	131
<b>7.49:</b>	Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik*zaman Kontor plot sonucu .....	132
<b>7.50:</b>	Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik*zaman Kontor plot sonucu .....	132
<b>7.51:</b>	Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için bölge*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	133
<b>7.52:</b>	Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için bölge*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	133

<b>7.53:</b>	Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için bölge*zaman Kontor plot sonucu .....	134
<b>7.54:</b>	Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için bölge*zaman Kontor plot sonucu .....	134
<b>7.55:</b>	Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için bölge*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	135
<b>7.56:</b>	Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için bölge*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	135
<b>7.57:</b>	Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için bölge*zaman Kontor plot sonucu .....	136
<b>7.58:</b>	Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için bölge*zaman Kontor plot sonucu .....	136
<b>7.59:</b>	Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için bölge*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	137
<b>7.60:</b>	Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için bölge*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu .....	137
<b>7.61:</b>	Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için bölge*zaman Kontor plot sonucu .....	138
<b>7.62:</b>	Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için bölge*zaman Kontor plot sonucu .....	138

## SEMBOL LİSTESİ

$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\mu\text{m}$	Mikrometre
cm	Santimetre
k'	Kapasite faktörü
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
M $\Omega$	Miliohm
ng	nanogram
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
pg	pikogram
$r^2$	Korelasyon katsayısı
R <sub>s</sub>	Kolon ayırma gücü

## ÖZET

### BAZI PESTİSİTLERİN KROMATOĞRAFİK AYRILMALARI VE TAYİNLERİ

Pestisitler doğal çevreler, yararlı böcekler, balıklar ve diğer su organizmalarına ek olarak insanlar, memeliler ve kuşlar için toksik etkilere sebep olabilirler. Pestisitlerden olan herbisitler, insektisitler ve fungusitler dünyadaki pestisit kullanımının büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu pestisitlerden s-triazin grubu ve organofosfor pestisitlerin (OPPs) endokrin hormon fonksiyonunu bozarak kanser riskini arttırdığı bilinmektedir. Bu sebeple çevre ekolojisindeki pestisit derişimlerinin tayini önem kazanmaktadır. Bu amaçla, bağcılıkta kullanılan bazı OPPs ve azole grup pestisitlerin su ve toprak örneklerindeki kalıntı düzeylerinin belirlenmesine yönelik metot geliştirildi. Ayrıca, Denizli'nin halk pazarlarında satışı yapılan bazı sebzeler ile termal sediment ve su örneklerinde atrazin, simazin ve mezotrinin kalıntı derişimlerinin tayinleri gerçekleştirildi.

Tezin ilk bölümünde, atrazin, simazin ve mezotrin bileşiklerin tayini fotodiyot dedektör ile yüksek performanslı sıvı kromatografisinde gerçekleştirildi. Sebze örneklerinden atrazin simazin ve mezotrinin ekstraksiyonu için soxhlet, sediment örnekleri için çalkalamalı ekstraksiyon ve su örneklerinde katı faz ekstraksiyonu (SPE) ve disk SPE teknikleri kullanılmıştır. Ortalama geri kazanma değerleri % 70,0-95,0 aralığında bulunmuştur. Analizi yapılan herbisitlerin gözlenebilme sınırları (LOD) 0,03-0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  aralığında, tayin sınırları ise (LOQ) 0,1-0,35  $\mu\text{g L}^{-1}$  aralığında bulundu.

Tezin ikinci bölümünde, organofosfor ve azole grup pestisitlerin su örneklerindeki kalıntı düzeylerinin belirlenmesinde dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon tekniği için çalışma şartları optimize edildi. Yöntemin optimizasyonunda istatistiksel bir yöntem olan iki seviyede Plackett Burmann deney tasarımı kullanıldı. GC-MS ile gözlenebilme sınırları (LOD) 48,8-68,7  $\text{ng L}^{-1}$  aralığında, tayin sınırları da (LOQ) 162,7-229,0  $\text{ng L}^{-1}$  aralığında bulunmuştur. Zenginleştirme faktörleri 120-124 aralığındadır. Ortalama geri kazanma değerleri % 89,3-111,3 ve bağıl standart sapma değerleri ise % 1,1-12,8 aralığında değişmektedir.

Tez kapsamında, ayrıca çalkalamalı ekstraksiyon yöntemi ile toprak örneklerinde pestisit tayinleri de gerçekleştirildi. Yöntemin optimizasyonunda çalkalama devri, süresi ve ekstraksiyon çözücüsü tarandı. Geliştirilen yöntemin LOD değerleri 0,16-1,14  $\mu\text{g kg}^{-1}$  aralığındadır. Yöntemin deneysel zenginleştirme faktörleri 77,5-114,8 olarak hesaplandı.

**Anahtar Kelimeler:** Pestisit, Gaz Kromatografi, Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon, Deneysel Tasarım, Katı Faz Ekstraksiyonu



## ABSTRACT

### DETERMINATION AND SEPERATION OF SOME PESTICIDES WITH CHROMATOGRAPHY

Pesticides can cause toxic effect to natural environment, beneficial insects, fish and other aquatic organisms in addition to humans, mammals and birds. Herbicides, insecticides and fungicides are widely used in the world. Among these pesticides, it is known that organophosphor (OPPs) and s-triazine pesticides impairs the function of the endocrine hormone, which increases risk of cancer. For that reason, the determination of the concentrations of pesticides in environmental ecology is important. For this purpose, a method was developed to determine the residue level of OOPS and azole group of pesticides in water and soil samples used in viticulture. In addition, atrazine, simazine and mesotrion residue concentrations were determined for some vegetables on sale in the public markets in Denizli and for the thermal sediment and water samples.

In the first part of the thesis, the determination of atrazine, simazine and mesotrione compounds were performed through high-performance liquid chromatography-diode array detector. The Soxhlet apparatus was used for the extraction atrazine, simazine and mesotrione from vegetables, the shaking extraction method from sediment, SPE and disk SPE methods from water samples. The average recoveriey of herbicides were found in the range 70,0-95,0 %. The limits of detection range varied between 0.03 and 0.1  $\mu\text{g L}^{-1}$  and the limits of quantification range were 0.1-0.35  $\mu\text{g L}^{-1}$  for the herbicides.

In the second part of the thesis, the determination of OPPs and residue levels of azole group pesticides in water sample was optimized through dispersive liquid-liquid microextraction technique. The two-level Plackett Burman experimental design was used for the optimization of method. The limits of detection with GC-MS varied between 48.8 to 68.7  $\text{ng L}^{-1}$  and limits of quantification range from 162.7 to 229.0  $\text{ng L}^{-1}$  for the pesticides. Enrichment factors were between 120 and 124. The recoveries average of pesticides were found between 89,3 and 111,3 % and relative standard deviation range from 1.1 to 12.8 %.

Within scope of the thesis, also determination of pesticides in soil samples with shaking extraction was also performed. In the optimization of extraction, shaking speed, time and extraction solvent was scanned. Detection limits of the developed method were found between 0.16 and 1.14  $\mu\text{g kg}^{-1}$  for pesticides. The enrichment factor of the method was between the range of 77.5-114.8 for pesticides.

**Key Words:** Pesticide, Gas Chromatography, Dispersive Liquid- Liquid Microextraction, Experimental Design, Solid Phase Extraction

## 1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Günümüz Dünya nüfusu ile beslenme ihtiyacı doğru orantılı olarak artış göstermektedir. Ancak, gıda ihtiyacını karşılamak için üretilen ürünlerin üretiminde bazı hastalıklardan, zararlılar ve yabancı otlardan dolayı ürünlerin yaklaşık % 65'e varan kayıplar olmaktadır. İstatistiklere göre bu şekilde oluşan ürün kaybı 23 milyon ton olup 150 milyon insanın bir yıllık ihtiyacı kadardır (Url-1). Bu sebeple insanlar tarımsal alanlardaki verimi arttırabilmek ve gıda maddelerinin dayanım sürelerini uzatabilmek için çok farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden birisi tarımsal alandaki ürün verimliliğini arttıran tarımsal mücadele adı altında yapılan kimyasal mücadele yöntemidir. Aslında bu yöntemin temelini kimyasal savaşımın ana maddesi olan pestisitler oluşturmaktadır. Pestisitler tarım ürünlerini zararlı böcekler, patojen organizmalar ve yabancı otlardan korumak, ürün kalitesini ve verimi arttırmak için kullanılırlar. 4500 yıl önce kullanılan ilk pestisit, elementel kükürt tozudur. 15. yüzyıla kadar haşerilere karşı arsenik, civa ve kurşun gibi son derece toksik olan inorganik yapıdaki pestisitler kullanıldı. 17. yüzyılda tütün yapraklarından, yabancı otları öldürmek amacıyla nikotin sülfat elde edildi. 19. yüzyılda doğal bir pestisit olan rotenon kullanılmaya başlandı ve 1939'da çok etkili olan dikloro difenol trikloroetan (DDT) yaygın bir kullanım alanı buldu. Ancak, 1960'larda DDT'nin ekosistem üzerine yapmış olduğu olumsuz etkiler nedeniyle birçok ülkede kullanımı yasaklanmıştır. Ülkemizde yılda ortalama 35.000 ton tarım ilacı kullanılmaktadır. Ülkemizde hektar başına kullanılan % 100 aktif madde olarak, sadece 600 g olsa da, Ege ve Akdeniz bölgelerinde kullanılan tarım ilacı miktarı birçok Avrupa ülkesinin üzerindedir (Anonim, 2001).

Zararlılarla savaşım amacıyla kullanılan bu maddeler bilinçsiz kullanım sonucu meyve ve sebzelerde kalabilmektedir. Aşırı tarım ilacı kullanımı nedeniyle toprakta birikebilmekte, suya ve havaya karışmaktadır. Bu maddeler üstelik buldukları

ortamlarda başka maddelere parçalanabilmekte veya dönüşebilmektedir. Bir pestisitın çevredeki hareketliliğini onun kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon ve uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir. Üstelik bu ortamlarda yaşayan bazı canlılara, buradan da besin zinciriyle insanlara geçmektedir. Bazı pestisitler toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazıları kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuıcı etkiler gösterdiği bilinmektedir (Sanz ve diğ., 2005; Acero ve diğ., 2007; Kiziewicz ve Czczuga, 2002).

Pestisitlerin olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasıyla dünyadaki pek çok ülke ile birlikte Türkiye’de de pestisit kullanımıyla ilgili bazı sınırlamalar ve yeni düzenlemeler yapılmıştır. Özellikle organoklorürlü (OCPs) pestisitlerin büyük bir çoğunluğunun yasaklanmaya başlamasıyla doğada daha kolay parçalanabilen organofosforlu (OPPs) ve karbamatlı pestisitlerin üretimi ve kullanımında hızla artış olmuştur. Bunun yanında s-triazin grubu pestisitlerde 2000’li yıllara kadar geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Richard ve diğ., 2007). Fakat OPPs, karbamatlı ve s-triazin grubu pestisitlerinde zamanla doğada birikim gösterdiği yapılan birçok çalışmada vurgulanmıştır. Ülkelerin kendi bazı yasaları ve uluslararası anlaşmalar gereği özellikle ithal ve ihraç edilen birçok gıda ürünlerinde pestisit kalıntı miktarlarına yönelik standart değerler belirlemektedirler. Buna rağmen kontrol dışı pestisit kullanımı devam etmektedir.

Bu çevresel problemlerin boyutunun incelenmesi ve izlenmesine yönelik olarak pestisit kalıntı tayinlerine ilişkin çalışmalar da önem kazanmaktadır. Her zirai ürün sınıfına ait uygulanan pestisit grupları farklı olduğu için yapılan kalıntı tayinleri, o pestisit gruplarını kapsamaktadır. Toksikolojik risklerin ortaya çıkarılması, pestisit grubunun belirlenmesi ve kalıntı tayini için analitik metod geliştirme çalışmaları çok önemlidir. Bu amaçla, genelde pestisitlerin tayinlerine yönelik en çok tercih edilen teknikler arasında gaz kromatografisi (GC) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gelmektedir. Pestisit kalıntı tayinlerinde çoğu zaman bir deriştirme ve ayırma basamağına gereksinim duyulmaktadır (Haib ve diğ., 2003; Salleh ve diğ., 2001). Kullanılan deriştirme yöntemlerinden sıvı-sıvı ve katı faz ekstraksiyonlarının hem klasik şekillerine hem de mikroekstraksiyon tekniklerine (Katı-faz mikroekstraksiyon (SPME), dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) veya tek damla mikroekstraksiyon (SDME) ) ilgi yoğunudur (Chen ve

Pawliszyn, 1995; Rezaee ve diğ., 2006). Özellikle son zamanlarda su örneklerinde pestisit kalıntı tayin yöntemleri için dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) tekniğinin kullanımı artmıştır. Yeni bir mikroekstraksiyon tekniği olan DLLME sudan organik bileşiklerin tayin edilmesinde çok basit, hızlı ve oldukça yüksek deriştirme faktörüne sahip olması bakımından avantajlıdır (Rezaee ve diğ., 2006).

Ülkemizde tarım alanındaki önemli lokomotif alanlarından olan Ege Bölgesinde üzüm üretimi ve yurtdışına ihracatı kayda değer bir seviyededir. İhraç edilen üzüm için Avrupa Birliği direktifleri gereği kullanılan pestisitlerin kalıntı düzeylerinin tayininde önemli bir konudur. Bu bağlamda, Denizli-Honaz ilçesi ve çevresinde üretimi yapılan üzüm bağlarında kullanılan bazı pestisitlerin toprak ve sudaki kalıntı düzeylerinin pratik, kesin ve doğru bir şekilde tayin edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, pilot bölge olarak seçilen üzüm bağında kullanılan kloropirifos-metil, kloropirifos-etil, fention, penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil pestisitlerinin toprak ve su örneklerinde tayinleri GC-MS ile gerçekleştirilmiştir. Belirtilen pestisitlerinin sudaki tayinleri öncesi örnek hazırlama tekniği olarak dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon (DLLME) tekniği geliştirilmiştir. Üzüm bağlarında kullanılan sulama sularındaki ilgili pestisitlerin kalıntı düzeylerini tayininde kullanılan DLLME yönteminin optimizasyonu için gerekli deneysel dizayn faktöriyel tasarım yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Optimize edilen DLLME metodu, musluk suyu, artezyen suyu ve ırmak suyu örneklerine uygulanmıştır. Bu çalışma ile ilk defa OPPs ile azole grup pestisitler eşzamanlı olarak DLLME-GC-MS ile tayin edildi.

Diğer yandan üzüm bağlarından toplanan toprak örneklerindeki pestisit kalıntı tayinleri için yeni bir metod optimize edildi. Toprak örneklerindeki pestisit kalıntı analizlerinde çalkalamalı ekstraksiyon tekniği kullanılarak kısa sürede çoklu kalıntı tayinleri GC-MS ile gerçekleştirildi.

s-Triazin grubu herbisitlerden atrazin ve simazin endokrin fonksiyonunu bozarak kanser riskini artırdığı için Avrupa'da 2000 ve Amerika'da 2001 yılında kullanımı yasaklanmıştır. Bu herbisitler yerlerini triketon grubu herbisitlere braktadırlar. Ülkemizde halen bu herbisitlerin kullanımı söz konusu olduğu için tezin bu kısmında da triketon grubu olan mezotrin ile s-triazin grubu simazin ve atrazinin kalıntı tayinlerine yer verildi. Bu amaçla, Denizli ilimizin halk pazarlarında satışı yapılan bazı sebzelerdeki ve Denizli'nin sembolleri arasında yer alan Pamukkale travertenlerini oluşturan su ve sediment örnekleri ile birlikte kırmızı su ve sediment

örneklerinin analizleri de ele alındı. Herbisitlerin analizinde yüksek performanslı sıvı kromatografi-fotodiyot dedektör (HPLC-DAD) tekniği kullanılmıştır. Çalışmanın bu kısmı Erasmus kapsamında Silesian Teknoloji Üniversitesi Kimya Fakültesi, Analitik Kimya Bölümünde (Polonya) gerçekleştirildi. Örnekler Denizli halk pazarlarında satışı yapılan afyon, ısırgan otu, ısıpanak, maydanoz, brokoli ve gelincik sebzeleridir. Sebze örneklerinin HPLC-DAD ile analize hazırlanmasında soxhlet ekstraksiyonu kullanıldı. Termal su örnekleri için C<sub>18</sub> katı faz kartuşu içeren katı faz ekstraksiyon tekniği, termal sediment örnekleri içinse çalkalamalı ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır. Hem sebze hemde sediment örnekleri için HPLC'ye enjeksiyon öncesi matriks bileşenlerinin temizlenmesi amacı ile katı faz ekstraksiyon işlemi uygulandı.

## 2. PESTİSİTLER VE KULLANIMI

Devlet planlama teşkilatına (DPT) göre; pestisitler tarım ürünlerine veya hayvansal gıdalara; üretim, hasat, depolama ve taşıma esnasında zarar veren böcekleri, yabancı otları, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları kontrol etmek veya bunların zararlarını önlemek üzere uygulanan kimyasal madde veya maddeler karışımıdır (Anonim, 2001). EPA'ya göre ise pestisit herhangi bitki haşerelerini önleyici, tahrip edici, geri püskürten ya da azaltan bir madde veya maddeler karışımı olarak tanımlanıyor. Burada pestisit denince sadece insektisitler ( böcek öldürücü ilaçlar) akla gelmemeli, bunun yanında herbisitler (zararlı bitki öldürücü ilaç), fungusit ( mantar öldürücü ilaç) ve zararlıları önlemeye yarayan diğer maddelerde düşünülmalıdır (Url-2).

Pestisitler, doğrudan bitkilere ya da toprağa uygulanmazlar. Çünkü bunlar zehirli maddeler oldukları için, zararlılara karşı insan ve çevre sağlığını en az zararlı olacak şekilde bazı yardımcı maddelerle (katı, sıvı) birlikte karıştırılarak kullanılırlar. Bu karışımdaki pestisite “etken madde” veya”aktif madde” adı verilir. Her zehirli madde pestisit olarak kullanılamaz ve adlandırılmaz. Bir zehirli maddenin pestisit olarak kabul edilebilmesi için aşağıdaki şartları taşıması gerekir (Anonim, 2001).

1. Biyolojik olarak aktif olmalı,
2. Etkili olmalı,
3. Güvenilir olmalı,
4. Yeteri kadar kararlı olmalı,
5. Kullanıcılar, üçüncü şahıslar ve tüketiciler açısından güvenilir olmalı,
6. Besi hayvanları açısından güvenilir olmalı,
7. Yabani hayat ve faydalı organizmalara zararlı olmamalı,
8. Çevre için kabul edilebilir olmalı,
9. Ticarete probleme sebep olmamalı.

Pestisitlerin taşıması gerektiği tüm bu özellikler Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenip belli esaslara bağlanarak, bu özelliklerin tayin edilebilmesi için standart metodlar geliştirilmiştir.

## 2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler görünüşü, etkin maddelerinin kimyasal yapısı, elde edildikleri kaynak, etkiledikleri zararlı grubuna göre farklı biçimlerde gruplandırılabilirler (Url-3; Url-4; Yalvaç, 2005). Tablo 2.1’de bu gruplandırma verilmiştir.

Tablo 2.1: Pestisitlerin sınıflandırılması.

<i>a) Formülasyon şekillerine göre</i>	<i>b) Kullanıldıkları zararlı grubuna göre</i>
Toz ilaçlar (Dust) Islanabilir toz ilaçlar (WP) Emülsiyon konsantre ilaçlar (EC veya EM), Solüsyon konsantre ilaçlar (SC), Suda çözünebilir toz ilaçlar (SP) Yazlık ve kışlık yağlar Granüller (G) Peletler Tabletler Toz tohum ilaçları Sıvı tohum ilaçları Aerosoller Zehirli yemler Kapsül şekli verilmiş formülasyonlar Akıcı konsantreler (FC) Kuru akışkanlar	İnsektisit: böcek öldürücü Fungusit: mantar öldürücü Herbisit: yabancı ot öldürücü Akarisit: örümcek öldürücü Bakterisit: bakteri öldürücü Afisit: yaprak biti öldürücü Rodentisit: kemirici öldürücü Nematisit: nematod öldürücü Molluskisit: salyangoz öldürücü Algisit: algleri öldürmek öldürücü Fungustatik: mantar faaliyetlerini durdurmak Avenisit: kuşları öldürmek veya kaçırmak Repellent: böcek ve tavşan gibi zarar veren hayvanları kaçırmak Aktraktan: zararlı hayvanları kendine çekmek Ovisidis: kene ve böceklerin yumurtalarını öldürü Feromonos: böceklerin üremelerini engelleyici Mikrobiyal pestisitler: mikroorganizmaları öldürücü
<i>c) İçerdikleri etkili maddenin yapısına göre</i>	<i>Bunlardan başka EPA yeni alt gruplarada yer vermiştir, bunlar;</i>
-Organik klorlu bileşikler *Diklordifenil triklor etan (DDT) *Benzen heksaklorür (BHC) *Siklodien grubu bileşikler; Klordan, Heptaklor, Aldrin, Dieldrin, İsdodrin, Endrin, Endosülfan ve Toksafen bu gruba dahil pestisitlerdir. -Organik fosforlu bileşikler -Karbamatlar -Sentetik pyrethroidler	Defoliantlar: yaprak dökücü Dessikantlar: kurutucu İnsekt gelişimi düzenleyici: böceklerin koza halinden olgunlaşmalarına yardımcı olanlar Bitki gelişimi düzenleyici: gübre gibi maddelerle bitkinin gelişmesine yardımcı olanlar
<i>d) Kontrol ettiği zararlının bulunduğu yere göre</i>	
Kültür bitkilerindeki zararlılara karşı, Orman zararlılarına karşı, Kerestelerin korunması için, Depodaki ürüne zarar vericilere karşı, Ev böceklerine karşı, karasinek ve sivrisinek gibi hastalık taşıyıcılara karşı, Hayvan ve insanlardaki dış parazitlere karşı kullanımlarına göre sınıflandırılırlar.	

Tez kapsamında tayini yapılan pestisitler, herbisit sınıfında bulunan, atrazin, simazin ve mezotrin, insektisit grubunda bulunan organofosfor içeren fention, kloropirifos-etil ve kloropirifos-metil ve ayrıca fungusit grubunda yer alan penkonazol, mayklobutanil ve triadimenoldür. Bu pestisitlerle ilgili ayrıntılı açıklamalar aşağıda verilmiştir.

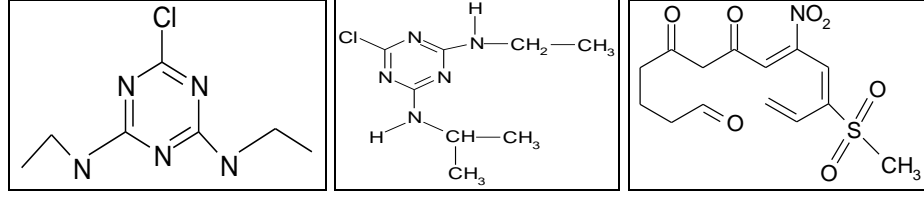
### 2.1.1 Herbisitler

Pestisitlerden olan herbisitlerin dünyadaki kullanımının %50'sini teşkil etmesi, herbisitler üzerindeki çalışmaların artmasına neden olmuştur. Topraktan herbisitler bitkiler (birincil üretici), otçul hayvanlar yoluyla daha üst seviyeye transfer edilir (birincil tüketici), daha sonra etçil hayvan (ikincil tüketici) ve üçüncül tüketiciler tarafından alınırlar. Çeşitli besin zincirlerinde herbisitlein transferi herbisitlerin tipine, ortam pH'sına, sıcaklık ve nem miktarına, toprağın organik madde içeriğine, büyümenin evresine ve hayvan türlerine bağlıdır (Kiziewicz ve Czeżuga, 2002).

s-Triazinler, en çok kullanılan herbisitlerdendir. Triazin herbisitlerin çoğu 2,4,6 pozisyonlarında süstitüe olmuş azot atomlarının simetrik olarak yerleşmesiyle oluşan heterosiklik yapıdaki 6 üyesi olan s-triazinden türetilmişlerdir. s-triazinlerin stereokimyasal kararlılıkları yüksektir. s-triazinler zayıf bazik yapıda, sudaki çözünlükleri oldukça zayıf ancak çözelti ortamında katı faz içinde kararlıdır (Pacáková ve diğ., 1996). Atrazine ve simazinin sudaki çözünlükleri sırasıyla 33 ve 6,2 mg L<sup>-1</sup>'dir (Garcinunõa ve diğ., 2003). Triazin grubu herbisitlerin besin zincirlerindeki biyolojik birikimleri sonucu endokrin foksiyonunu bozarak kanser riskini artırmaktadır. Bu sebeple çevre ekolojisindeki triazinlerin derişimlerinin takip edilmesi önem kazanmaktadır (Lee ve diğ., 1999; Hayes ve diğ., 2002).

Mezotrin, triketon grubu herbisitlerdendir. 2000 yılında Avrupa'da ve 2001 yılında da Amerika'da atrazin grubu herbisitlerin yerini almaya başlamasıyla çevredeki kalıntı derişiminin araştırılmasında önem kazanmıştır (Richard ve diğ., 2007). Triketon grubu herbisitlerden sulkotrin, mezotrin ve bunların metabolitleri araştırma konusu olmuştur. Mezotrin bitkilerde 4-hidroksifenil-piruvat-dehidrogenaz enziminin inhibisyonuna neden olmaktadır. Mezotrin'nin topraktaki kalıntı miktarı biber, salatalık, domates lahan ve fasulye üretimini etkileyebilir. Mezotrine ait yarılanma ömrü toprağın organik madde içeriğine ve suda pH'ya göre değişiklik göstermektedir (Felix ve diğ., 2007; Chaabane ve diğ., 2007). EPA'nın sıçan, fare ve köpek plazma örnekleri üzerinde yapılan çalışmalarda tirozin enzim seviyesinde artış gösterdiği belirlenmiş ancak kronik olarak sağlığa etkisi olmadığı belirtilmiştir. Bu bakımdan araştırmacılar tarafından mezotrin'nin sağlık üzerine olan etkileri halen tartışma konusudur (EPA, 2001). Şekil 2.1'de atrazin, simazin ve mezotrinin açık kimyasal yapıları verilmiştir.





Simazin

Atrazin

Mezintrin

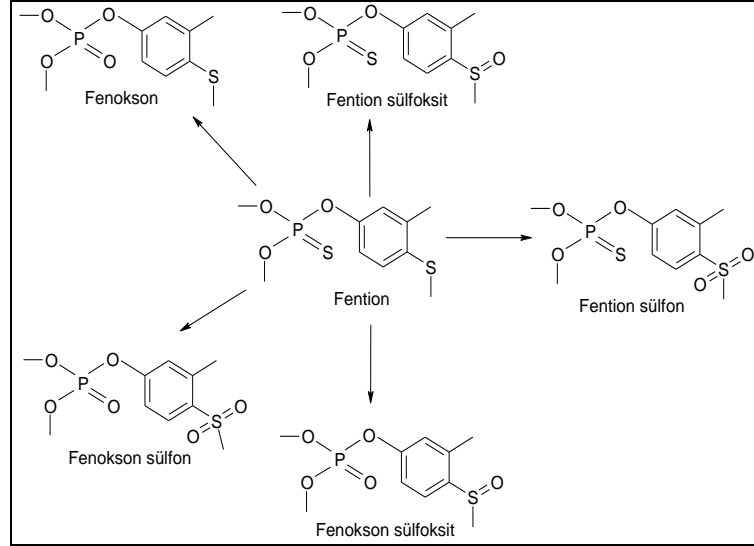
Şekil 2.1: Simazin, atrazin ve mezintrine herbisitlerinin açık yapıları.

### 2.1.2 İnsektisitler

Bu grupta yer alan organofosfor (OPPs) pestisitler genellikle kolinesteraz inhibitörü olarak da sınıflandırılırlar. Organofosfor pestisitler pamuk, tütün, şeker kamışı, bağcılıkta ve sebzeler gibi çok geniş bir alanda kullanılmaktadır. Bağcılıktaki uygulaması son yıllarda son bulmuştur. Organofosfor pestisitler tüm hayvanlar ve insanlar için toksik özellik göstermektedir. Bu bakımdan çevre örneklerinden, toprak ve sularda OPPs içeriklerinin ölçülmesinde önemlidir (Zhu ve diğ., 2005). Organofosfat pestisitler sinir gazına benzemektedir. Toksik etkisi inhalasyon sonucu sinir sisteminde asetilkolinesteraz (kolinesteraz) enziminin inhibisyonuna dayanmaktadır. Kolinesteraz sinaptik uçlarda asetilkolin parçaları ve sinir uyarılarının iletimi açısından çok büyük önem taşımaktadır.

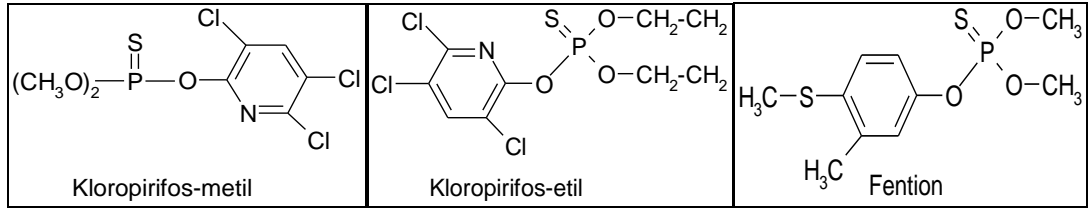
EPA tarafından yapılan çalışmalar, geleneksel su işleme prosesleri (koagülasyon, sedimentasyon, filtre etme, yumuşatma ve klorlama gibi) sudan pestisitlerin tam olarak etkili alınmadığını göstermiştir. Suların klorlanması esnasında OPPs merkezdeki fosfor atomuna çifte bağlı sulfur atomu, oksijen atomuyla yer değiştirirken OPPs bileşiklerinin toksisitesinde sürekli artırdığı ispatlanmıştır (Tankiewicz ve diğ., 2010).

Son zamanlardaki araştırmalar, klorpirifos ve malatyonun ikincil ürünlerinin kendi formlarından en az 100 kat daha toksik oldukları gösterilmiştir (Tankiewicz ve diğ., 2010). Organofosfor pestisitlerden olan fentiondan oluşabilecek ara ürünler Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2: Fotolitik proses ve enzimatik desülfürasyondan oluşan fention metabolitleri (ikincil ürünler) (Kasiotis ve diğ., 2008).

Tez kapsamında çalışılan organofosfor pestisitlerin açık kimyasal yapıları Şekil 2.3'te verilmiştir.

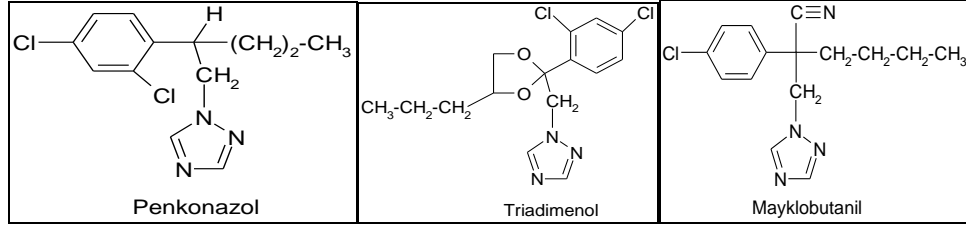


Şekil 2.3: Tez kapsamında çalışılan organofosfor pestisitlerin açık yapıları.

### 2.1.3 Fungisitler

Fungisitler dünyada yaygın olarak kullanılan diğer bir pestisit grubudur. Özellikle şarap yapımında kullanılan bağ üzümünde ve şarapçılıkta çok kullanılırlar. Sentetik organik fungisitler diğer kimyasal sınıflardan şarabın korunumu için yaygın kullanılır (Komárek ve diğ., 2010). Kimyasal fungisitler şarapçılıktaki problemlerle mücadelede kullanılmalarına rağmen, hedef funguslardan başka hedef olmayan diğer organizmaları da (doğal olarak oluşmuş faydalı ve patojenik organizmalar) etkileyebilirler. Fungisitler doğal kimyasal yapılarından dolayı toksik olabilirler ve biyolojik olarak parçalanamayabilirler. Kimyasal kalıntıları toprakta ortaya çıkabilir ve gıda zincirine girer. Bu nedenle sağlık ve potansiyel çevrelerde olabilecek problemler için fungisitlerin bilinçli kullanımı artış göstermektedir (Calhelha ve diğ., 2006). Kimyasal kalıntılarının topraktan besin zincirine katılmalarından dolayı, fungisitlerin topraktaki kalıntı düzeyleri ve davranışı araştırma konusu olmaktadır.

Ülkemizde bağcılıkta kullanılan ve tez kapsamında incelenen fungusitlerin isimleri ve açık kimyasal yapıları Şekil 2.4’te verilmiştir.



Şekil 2.4: Tez kapsamında incelenen fungusitlerin açık yapıları.

## 2.2 Pestisitler ve Çevre

Pestisitlerin püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı buharlaşma ve dağılma nedeniyle kaybolurken, diğer kısmı bitki üzerinde ve toprak yüzeyinde kalmaktadır. Havaya karışan pestisit rüzgarlarla taşınabilir; yağmur, sis veya kar yağışıyla tekrar yeryüzüne dönebilir. Bu yolla hedef olmayan diğer organizma ve bitkilere ulaşan pestisit, bu türler üzerinde kalıntı ve toksisiteye neden olabilir (Kiziewicz ve diğ., 2002).

Pestisitlere sadece zararlıları öldüren, kontrol eden kimyasal maddeler olarak bakmak hatalıdır. Nasıl ki bir sağlık ilacı insanla birlikte ele alınıyorsa, bir pestisitte kullanım alanında hastalıkla, zararlıyla, bitkiyle, insanla, çevre ve çevredeki diğer canlılarla birlikte değerlendirilmelidir. Teknik tavsiye ve talimatlara uyulmadan kullanılan pestisitler tüketime sunulan ürünler üzerinde ya da çevrede (su kaynakları, toprak gibi) kalıntı bırakmakla birlikte üretimi, formülasyonu ve tatbikatı gerçekleştirenler ile ilaçlanmış ürünleri yiyenler tarım ilaçlarının tehlikelerine maruz kalabilmektedirler (Anonim, 2008).

Yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımının sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da parçalanma ürünleri kalabilmektedir. Bunun sonucunda da hedef olmayan diğer organizmalar ve insanlar üzerinde olumsuz etkileri görülmektedir. Pestisit kalıntılarının önemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturucu etkiler saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu nedenle 1960

yılında FAO ve WHO “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi”ni kurmuşlar ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapılmış, bilimsel araştırma verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır. Ülkemizde de tarımsal ürünlerde kullanılan pestisitlerin gıdalarda bulunması müsaade edilebilir maksimum miktarları ürün ve ilaç bazında belirlenmiştir (Yücel, 2006).

### **2.2.1 Gıdalarda pestisit kalıntısı**

Gelişmiş ülkelerde gıdalardaki pestisit kalıntıları önemli ölçüde akut hastalıklara neden olmaktadır. Pestisit kalıntı seviyeleri çok düşük ve bağıl olarak her zaman olmayabilir. Gıdalardaki pestisit kalıntılarının toksikolojik etkiye katkısı ve sinerjileri hakkında çok az bilgi bilinmektedir. Ancak, yediğimiz her gıdada çok düşük derişimde de olsa bir ya da daha çok pestisit bulunabilir.

Toksik kimyasal alımında, farklı kimyasallar (pestisitler gibi), diyetler ve ülkeler arasında karşılaştırma yapılabilmesi için miktarın belirlenmesi zorunludur. Gelişmiş birçok ülkedeki pestisit kalıntı değerleri, gıda analizlerinin gerekli olduğunu göstermektedir. Bu kalıntı değerleri toksisite kriterleri (kabul edilebilir günlük miktar-ADI) ya da ticari standartlar (maksimum kalıntı limitleri-MRL) ile kıyaslanır. Ülkemizde tarımsal ürünlerde kullanılan pestisitlerin bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum miktarlar, ürün ve ilaç bazında belirlenmiştir (Tablo 2.2). Avrupa direktiflerine göre izin verilen sınırlar da Tablo 2.3’te verilmiştir.

ADI toksisitenin bir ölçüsüyken, MRL değeri ise toksikolojik bir değişken değildir. MRL sadece ulusal ve uluslar arası otoriterler tarafından (Codex Alimentarius gibi) dünyadaki gıda ticaretinin kontrolünün sağlıklı yapılabilmesi için oluşturulmuş standarttır (Watson, 2001).

### **2.2.2 Toprakta pestisit kalıntısı**

Tarım topraklarının ve yer altı su kaynaklarının, kullanılan tarım ilaçları tarafından kirletilmesi önemli bir çevre sorununa neden olmaktadır. Tarım toprakları üzerinde biriken pestisitlerin (insektisit, herbisit, fungusit v.d.) artışı, bu çalışmaların önemini göstermektedir. Tarım toprakları içindeki organik bileşiklerin taşınımı ve kimyasal değişimleri oldukça kompleks mekanizmalarla olmaktadır. Bunlar adsorpsiyon, liçing, buharlaşma veya uçma gibi fiziksel mekanizmaların yanısıra biyolojik ve

kimyasal yıkım mekanizmaları olabilir. Bu prosesler bu maddelerin biyoyararlılığını etkilemektedir. Bu yüzden bu maddelerin topraktaki davranışmaları ve dönüşümleri üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar genellikle sedimentler ya da topraklar için bu maddelerin tutulması onların biyoyararlılıklarını azaltmaktadır (Yu ve diğ., 2006).

Pestisitlerin bağcılıkta kullanımı tüm ülkelerde oldukça yaygındır. Bu açıdan bağ topraklarında olabilecek pestisit hareketliliğinin belirlenmesi de önem kazanmaktadır. Bağcılıkta pestisitler doğrudan toprak yüzeyine, üzüm salkımlarına ve yapraklarına uygulanır. Bitki yüzeyine yapılan ilaçlamalarda pestisitlerin bir kısmı toprağa düşer. Bu bağlarda organik ve inorganik pestisitlerin uzun süre kullanımı topraklarda ve çevrenin diğer kısımlarında organik ve inorganik pestisitlerin kirlilik derişimlerinin artışına neden olur. Organik kirleticiler ve metallerle kirlenme toksikolojik tehditler, önemli çevresel sorunlar ile toprakların kalitesini de düşürmektedirler. Son on yıl içinde, Avrupadaki bazı dik yamaçtaki bağlar çevre için kirleticilerin dispersiyon sonrasında ve yoğun bir şekilde toprak erozyonuna neden olduklarından terk edilmişlerdir (Komárek ve diğ., 2010). Tablo 2.4'te tez kapsamında kalıntı tayinleri amaçlanan pestisitlerin topraktaki yarılanma ömürleri, pestisit hareketi gibi fizikokimyasal özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.2: Türk Gıda Kodeksi'ne göre pestisitlerin bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum miktarları.

Ürünler	Bazı Pestisit Türleri ve Derişimleri (mg/kg)												
	Paration	Fention	Siromazin	Kloropirifos	DDT ve türevleri	Aldrin	Endosulfan	Klordan	Ometoat	Malation	Mono krotofos	Diazinon	Atrazin
Turunçgiller	-	-	-	-	0.05*	-	0.5	-	-	2.00	-	1.00	0.1*
Üzümü ve Küçük meyveler	-	0.2	-	0.05*-0.5	0.05*	-	0.05*	-	-	0.5	-	0.02*	0.1*
Köklü ve yumrulu sebzeler	-	-	-	0.05*-0.2	0.05*	-	0.05*	0.02	0.1	0.5	-	0.2	0.1*
Yapraklı sebzeler ve taze otlar	-	-	0.5	0.05*	0.05*	-	0.05*	0.02	0.1-0.4(?)	0.5	-	0.02*	0.1*
Baklagiller	-	-	0.5	0.05*	0.05*	-	0.05*	0.02	-	3.00	-	0.02*	0.1*
Mantarlar	-	-	-	0.05*	0.05*	-	0.05*	-	-	0.5	-	0.02*	0.1*
Tahıllar	0.05*	0.1 (?)	-	0.05*-0.2	0.1	0.01	0.05*	0.02	-	8.00	-	0.05	-
Hayvansal ürünler (et ve yağ üzerinden)	0.05* (?)	0.05-2.0	-	0.01*-0.05*	0.04-1.0	0.006-0.2	0.004-0.1	0.002-0.05	-	-	-	0.01*-0.05*	-

\* Analitik tespit edilebilir daha düşük limit. (?) Belli ürünler için geçerlidir. Tüm ürün grubunu kapsamaz.

Tablo 2.3: Avrupa Direktiflerine göre pestisitlerin bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum miktarları.

Ürünler	Bazı Pestisit Türleri ve Derişimleri (mg/kg)												
	Paration	Fention	Sikromazin	Kloropirifos	DDT ve türevleri	Aldrin	Endosulfan	Klordan	Ometoat	Malation	Mono krotofos	Diazinon	Atrazin
Turunçgiller	0.05*	3.0	0.05*	0.2-0.2-2.0	0.05*	0.01*	0.05	0.01*	-	-	-	0.01	0.05*
Üzümü ve Küçük meyveler	**	0.01*	**	0.05*	-	**	0.05*-0.5*	**	-	-	**	0.01*	**
Köklü ve yumrulu sebzeler	0.05*	0.01*	0.05*-1.00	0.05*	0.05*	0.01*	0.05*	0.01*	-	-	0.2	0.01*	0.05*
Yapraklı sebzeler ve taze otlar	-	-	0.05*	0.05*	-	-	0.05*	-	-	-	-	0.01*	0.05*
Baklagiller	-	-	0.05-5.00	0.05*	-	-	0.05*	-	-	-	-	0.01*	0.05*
Mantarlar	-	-	0.05-5.00	0.05*	-	-	0.05*	-	-	-	-	0.01*	0.05*
Tahıllar	0.05*	0.01*	0.05*	0.05*-0.2	0.05*	0.01*	0.05*	-	-	8.00	-	0.02*	0.1 (1)
Hayvansal ürünler	0.05*	0.05*	0.05*	-	1.00	0.2	0.05*	0.05*	-	-	-	0.05*	-

\* Analitik belirlenimin en düşük limit değerler. \*\* Pestisit-şifre kombinasyonları MRL olarak verilmiştir. (1) 1 Şubat 2008 e kadar geçici MRL değeridir. Direktif ya da düzenlemelerle değiştirilebilir.

Tablo 2.4: Bazı pestisitlere ait fizikokimyasal özellikler.

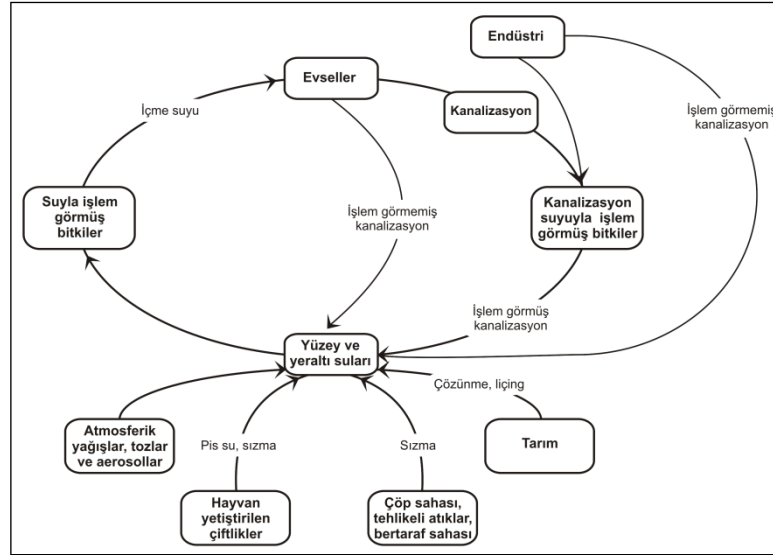
Pestisit adı	Molekül Ağırlığı	Sudaki çözünürlük (mg/L) <sup>1</sup> , 20 °C	Topraktaki yarılanma ömrü (gün) <sup>1</sup>	Buhar basıncı <sup>2</sup> (25 °C, mPa)	Pestisit hareketi <sup>1</sup>	pKa <sup>2</sup> , 25°C Çözünürlük sabiti	LD <sub>50</sub> mg/kg <sup>2</sup>	E.N <sup>20</sup> C	Sorbsiyon katsayısı <sup>1</sup> K <sub>oc</sub> , mL/g	Log <sup>2</sup> K <sub>ow</sub>
Kloropirifosmetil	322.5	4	7	5.6	Çok düşük	-	1828	45.4	3000	-
Fention	278.3	2	34	4	Düşük	-	180-315	7.5	1500	4.091
Kloropirifosetil	350.6	2	30	2.5	Çok düşük	4.55	82-163	43.2	6070	4.7
Penkonazol <sup>3</sup>	284.2	70	4	0.21	-	1.51	2125	63.0	-	-
Triadimenol <sup>4</sup>	295.8	62	300	0.0005	orta	-	700	133.9	1000	-
Mayklobutanil <sup>5</sup>	288.7	142	66	213	orta	2.3	1600	69.7	500	2.94
Atrazin <sup>6</sup>	215.6	33	60	0.3	Yüksek	1.7	2290	171-174	100	2.5
Simazin <sup>6</sup>	201.6	6.2	60	0.0061	Yüksek	1.62	5000	226-227	130	2.1

<sup>1</sup>(Url-5), <sup>2</sup>(Url-6), <sup>3</sup>(Url-7), <sup>4</sup>(Url-8), <sup>5</sup>(Url-9), <sup>6</sup>(Barchańska ve Baranowska, 2009)

### 2.2.3 Sularda pestisit kalıntısı

Pestisitler sucul ortama girdiklerinde, dünya nüfusunun büyük bir kısmı için önemli içme suyu kaynaklarını oluşturan yer altı sularını ve yüzey sularının kalitesini sürekli olarak düşürürler. Pestisitler mahsullere püskürtüldüğünde, sularda en yüksek derişim seviyeleri, baharda karlar tamamen eridiğinde elde edilmiştir. Şekil 2.5'te sulu çevrede pestisitlerin dönüşümü ve ana taşınım geçiş yolları gösterilmiştir.

Pestisitlerin sucul ortama geçişlerinin birçok kaynağı vardır. Pestisitler hem alan kaynakları (atmosferik yağışlar, çiftlik alanları gibi) hem de nokta kaynaklardan (çeşitli merkezlerdeki pis sular ya da tehlikeli-atık-bertaraf edilmiş pis sular gibi) gelebilirler. Hatta hava yoluyla uzun mesafeler boyunca bile taşınabilirler.



Şekil 2.5: Sucul çevrede pestisitlerin kaynakları ve geleceği (Tankiewicz ve diğ., 2010).

Pestisitlerin sucul çevrede olduklarında çeşitli proseslere maruz kalırlar. Fiziksel (birikme, seyrelme, tortu ve difüzyon), kimyasal (hidroliz ve oksitlenme) ve biyokimyasal (biyolojik bozunma, biyolojik taşınma ve biyolojik birikme) olabilen bu prosesler, oldukça büyük toksisiteye sahip maddelerin artışına neden olurlar. Şayet pestisitler sucul organizmalarda birikirse geri döştürülemez değişiklikler ile birçok tehlikeye yol açabilir.

Son zamanlarda, insanlar herhangi diğ er kimyasal bileşikler ve endüstriyel kirliliklerden çok daha sık pestisitlerle temas etmektedirler. Bu yüzden pestisitlerin özelliklerinin bilinmesi önemli olmakla birlikte, çevrede bu bileşiklerin nerelerde biriktiği özellikle doğal sular bakımından öne çıkmaktadır (Tankiewicz ve diğ., 2010).

#### 2.2.4 Pestisitlerin insanlar üzerine etkileri

Pestisitler büyük dünya pazarını doldurabilecek yeterli gıda üretiminin olabilmesi için modern gıda üretiminde önemli bir yere sahiptirler. Artan dünya nüfusu ile ortaya çıkan gıda ihtiyacını karşılayabilmek için günümüzde pestist kullanımı birçok alanda geniş yer bulmaktadır (Shaw ve Chadwick, 2002). Pestisitler kullandıkları mahsuller üzerinde belli bir kalıntı bırakmaları durumunda da insanlar üzerinde farklı toksik etkilere neden olabilmektedirler. Pestisitlerin ve etken maddelerinin akut toksik etkileri vardır. Karbamatlar, organofosfatlar ve klorlanmış hidrokarbonları içeren birçok pestisit toksik etkiye sahiptir. Tarım ile uğraş an ve pestisite maruz kalan insanlarda yapılan çalışmalarda bu bireylerde yapısal ve sayısal kromozom



anomalileri ile kardeş kromatid değişiminde artmalar gözlenmiştir. Pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde birçok genetik hasarın yanı sıra karaciğer, böbrek ve kaslarda bozukluklar görülmüştür. Pestisitlerin canlılar üzerindeki etkisi fetal yaşamdan itibaren başlamaktadır. Yapılan hayvan deneylerinde radyoaktif olarak işaretlenip anneye verilen pestisitlerin 5 saat sonra plasentadan fetüseye geçtiği ve fetüsün göz, sinir sistemi ve karaciğerine yerleştiiği gözlenmiştir. Organofosfatlı ve karbamatlı insektisitler ise etkilerini doğrudan doğruya periferik ve merkezi sinir sistemi üzerinde göstererek canlı yaşamını tehdit etmektedir (Url-10). Pestisitlerin akut toksisite değerleri LD<sub>50</sub> (“%50 Öldürücü doz”un kısaltması) ile verilir ve bu değer test edilen populasyonun yarısını öldürmek için gereken doz olarak tanımlanır.

Son yıllarda ilaçların besin maddelerindeki kalıntı miktarları kronik toksisite, kabul edilebilir günlük alım (ADI) ve maksimum kalıntı limitleri (MRL) olarak iki şekilde ele alınmaktadır. Bu miktarlar tarımsal ürünlerimizin dış pazarlarda yer bulabilmesi bakımından önemlidir. Tolerans miktarını aşan değerlerde tespit edilen pestisit kalıntısı bulunan ürünler alıcı ülke tarafından geri çevrilmektedir.

### **2.3 Ülkemizde Pestisit Kullanımı**

Türkiye’de pestisit kullanımı II. Dünya Savaşı’ndan sonra başlamıştır. Tarım ilaçları kullanımı da doğal olarak bu süreçle birlikte gelişmeye başlamıştır. Ülkemizde tarımı yapılan kültür bitkileri, sayıları 200’ü aşan hastalık ve zararlıların tehdidi altında olup yeterli savaşım yapılmadığı için toplam ürünün yaklaşık 1/3’ü kayba uğramaktadır. Bu kayıpların önlenmesinde çeşitli pestisitler kullanılmaktadır. Çeşitli bileşimlerdeki pestisitlerden ülkemizde yılda 30.000 ton civarında kullanılmaktadır (Url-11). Bu miktar, Amerika Birleşik Devletleri’nde 293.000, İtalya’da 43.000, Fransa’da 41.000, İngiltere’de 30.000 ve Almanya’da 25.000 tondur. Değerlerden de görüldüğü gibi dünyada en fazla pestisit tüketen ülke ABD’dir. Ülkemiz pestisit kullanımında dünyadaki diğer ülkelere göre daha gerilerde kalmaktadır. Ülkemizin sebze ve meyve ihtiyacının büyük bir kısmını karşılayan Akdeniz ve Ege bölgelerinde tüketilen pestisit miktarı Türkiye ortalamasının çok üzerindedir. Bu oranlar Ege bölgesi için 1998 yılı verilerine göre % 17,10’luk dilimde yer alırken, Akdeniz bölgesi % 24,92 ile en yüksek dilimi oluşturmaktadır (Delen ve diğ., 2005). Bu bakımdan yoğun bir şekilde tüketilen pestisitlerin çevre ve sağlık açısından taşımakta olduğu risklerin araştırılması önemli bir çalışma konusu olmaktadır.

Ülkemizde yapılan araştırmalarda 1979'dan 2002 yılları arasında en çok kullanılan pestisit gruplarını sırasıyla insektisitler, herbisitler, fungusitler ve akarisitler oluşturmaktadır (Delen ve diğ., 2005). Ülkemizdeki pestisit tüketimi, Avrupa Birliği (AB) ülkelerinininki ile kıyaslandığında, hektara (Ha) düşen pestisit miktarı olarak AB ülkelerinin çok gerisinde olduğumuz görölmektedir. Hektara kullanılan pestisit miktarımız 1990'larda 400-500 g iken, 2006 yılında bu değer 705 g'a ulaşmıştır. Bu artışa rağmen, Hollanda'nın 13.8 ve Yunanistan'ın 13.5 kg'lık tüketimleri ile kıyaslandığında bizim tüketimimizin çok gerilerde olduğu görölmektedir. 2002 yılı sonuna kadar atrazin, monokrotofos, paration-metil gibi bazı pestisitler ABD'de yasaklanmış ya da kısıtlanmış ve AB'de ruhsatı geri çekilmiş olmalarına karşın, halen Türkiye'de bunların kullanımına devam edildiği belirtilmektedir ( Durmuşoğlu ve diğ., 2005).

Ülkemizde pestisit kalıntılarıyla ilgili çalışmalar 1959 yılında Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitü Kalıntı Analiz Laboratuvarı'nın kurulmasıyla başlamıştır ve ilk çalışma Otacı ve Güvener (1959) tarafından yapılmıştır (Delen ve diğ., 2005). Gıda örneklerindeki pestisit miktarlarını değerlendirirken, dünyada en çok Avrupa Birliği Direktifleri (Url-12) dikkate alınırken, ülkemizde ise Ocak 2005 tarih 11-25697 sayılı Resmi gazetede yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Maksimum Bitki Koruma Ürünleri Kalıntı Limitleri Tebliği" kullanılmaktadır (Anonim, 2005).

### **3. PESTİSİT ANALİZLERİ: Ekstraksiyon, Önderiştirme ve Literatür bilgileri**

Kimyasal analizi yapılacak plazma, serum, idrar gibi biyolojik; su, toprak, hava gibi çevresel ve gıda, farmasotik ürünler gibi diğler numuneler, genellikle analit dışında birçok bileşenin yer aldığı karmaşık bir matriks içerirler. Kimyasal analizi yapılacak örneklerdeki bu matriks bileşenleri, geliştirilen metodun tekrarlanabilirliğine, gözlenebilme sınır değerlerine (LOD) ve hatta analizde kullanılacak cihazın kalibrasyonuna dahi etki etmektedirler. Tüm bu nedenlerden dolayı, özellikle yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografi-kütle spektrofotometresi (GC-MS), radyoimmunolojik analiz (RIA), atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) kapiler elektroforez (CE), biyosensörler gibi cihazlar yardımıyla yapılan analizler öncesinde örnek hazırlama tekniklerine başvurulmalıdır (Kataoka ve diğ., 2000; Salleh ve diğ., 2001; Haib ve diğ., 2003; Zief, 2005; Chen ve diğ., 2010;).

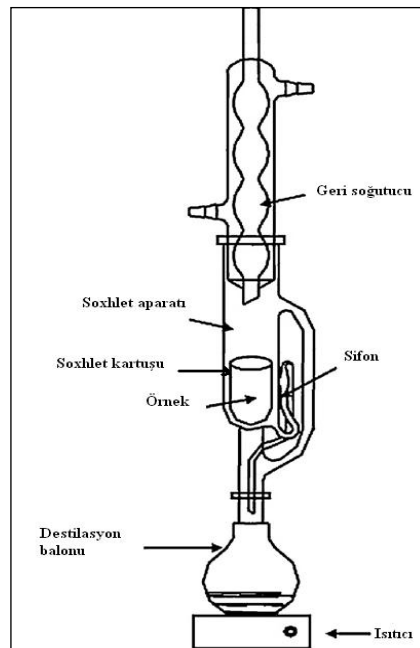
Analiz öncesi yapılması gereken örnek hazırlama, çoğu zaman zor, pahalı ve uzun süren bir işlemdir. İdeal örnek hazırlama teknikleri basit ve kolay uygulanabilir olmalı, hem zamandan tasarruf sağlamalı hem de olabilecek kirlilikleri azaltmış olmalıdır (Chen ve diğ., 2010). Bu bakımdan örnek hazırlama başlıca iki amaç için yapılmaktadır. Bunlar sırasıyla, örneklerin istenmeyen bileşenlerden ayrılması (clean-up) ve deriştirilmesidir. (Stevenson, 2000; Zief, 2005).

Farklı örnekler için farklı örnek hazırlama ve zenginleştirme teknikleri geliştirilmiştir. Katı örnekler için; Soxhlet ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE), süper ısıtılmış su ekstraksiyonu (SHWE), süper kritik sıvı ekstraksiyonu (SFE), mikrodalga çözünürleştirme ekstraksiyonu (MAE) ve ultrasonik ekstraksiyonu (USE) gibi örnek hazırlama teknikleri kullanılırken, sıvı örnekler için; çözücü ekstraksiyonu (sıvı-sıvı ekstraksiyonu), mikro sıvı-sıvı ekstraksiyon teknikleri, membran ekstraksiyonu-diyaliz ve oyuk lif membran ekstraksiyon teknikleri kullanılmaktadır. Katı faz ekstraksiyonu ise hemen hemen tüm örnek türleri için kullanılmaktadır (Ridgway ve diğ., 2007).

### 3.1 Soxhlet ekstraksiyonu

Soxhlet ekstraksiyonu klasik uygulamada, bir soxhlet aparatı içine yerleştirilmiş kartuş, soxhlet aparatı, geri soğutucu ve destilasyon balonundan oluşan bir sistemdir (Şekil 3.1). Destilasyon balonuna konan ekstraksiyon çözücüsü, Soxhlet aparatı boyunca sürekli sifon yaptırılarak örnekteki analitlerin ekstraksiyonu sağlanarak, tekrar destilasyon balonunda ekstraktantın toplanması işlemidir. Bu işlem ekstraksiyonun gerçekleşme süresine bağlı olarak 1-72 saat aralığında olabilir. Sifon işlemi de isteğe bağlı olarak 5-20 dakika arasında seçilebilir. Organik çözücü hacmi ise 10 g örnek için 50-200 mL arasında alınabilir. Genelde çözücü olarak aseton, kloroform, diklorometan ve eter gibi saf çözücüler kullanılır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra çözeltinin analizden önce deriştirilmesi gerekir. Bu işlem içinde farklı teknikler (döner buharlaştırıcılar, kızgın yüzeyli ısıtıcılar, su banyosu yada inert gaz geçirme gibi) tercih edilebilir (Ridgway ve diğ., 2007; Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010). Deriştirme işlemi sonrası katı faz ekstraksiyonu ile ayırma (clean-up) işlemi gerektirmektedir.

Tekniğin dezavantajları, seçici olmaması ve çözücünün ısıtılması esnasında analitlerin termal kararlılıklarının bozulabilmesi, kullanılan çözücülerin pahalı ve toksik olmaları, evaporasyon, deriştirme ve temizleme gibi basamaklara ihtiyaç duyulmasıdır (Ridgway ve diğ., 2007).

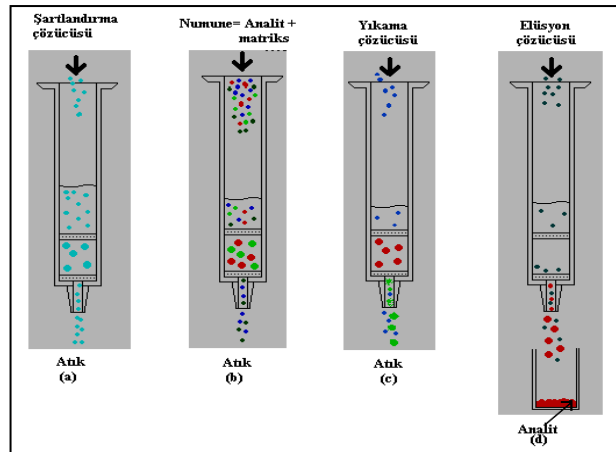


Şekil 3.1: Soxhlet ekstraktörü (Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010).

### 3.2 Katı faz ekstraksiyonu

Örnek hazırlama işleminin basitleştirilmesi, zaman kaybının önlenmesi ve analiz maliyetinin azaltılması amacıyla, 1970'li yılların ortalarında klasik metotlara alternatif olarak yeni bir teknik olan katı faz ekstraksiyon metodu (SPE) kullanılmaya başlanmıştır (Pichon, 2000; Poole ve diğ., 2000; Zief, 2005). Özellikle son 15 yıldır sularda pestisit kalıntı tayininde en çok tercih edilen yöntemler arasında yer almaktadır (Zief, 2000; Rossi, 2000; Camel, 2003). Genel olarak SPE, sıvı örneklerden istenmeyen bileşenlerin ayrılması (clean up), örnek matriks yapısının değiştirilmesi ve analitlerin zenginleştirilmesi gibi amaçlar için uygulanır (Poole, 2003). Katı faz ekstraksiyonu (SPE), sıvı örnekler ya da çözeltilerdeki analitin uygun bir katı faz (sabit) üzerinde toplanmasını ve sonra analitin katı fazdan küçük hacimli bir çözelti (Hareketli faz) ile elue edilmesini esas alır. SPE kesikli olarak uygulanabildiği gibi akışa enjeksiyon teknikleri ile de uygulanabilmektedir.

SPE yöntemi 4 adımda uygulanır. İlk adımda uygun katı faz uygun çözücülerle şartlandırılır. İkinci adımda şartlandırılmış SPE kolonundan analit içeren örnek çözelti geçirilir. Üçüncü adımda kolonda tutunmuş olan analitten, matriks bileşenlerini ayırmak için yıkama yapılır. Son adımda da analitler uygun bir çözücü ile elue edilir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: SPE yönteminin İşlem basamakları.

SPE'de kolon dolgu maddelerini içeren kartuşlar genellikle ticari olarak hazır satılan ürünlerdir. Ayrıca laboratuarda ticari dolgu maddeleri kullanılarak hazırlanan mini kolonlar da SPE yönteminde kullanılmaktadır. Mini kolonlarda kullanılan bazı dolgu maddeleri, molekül baskılanmış polimerler (Poole, 2003; Haginaka, 2005; Caro ve

diğ., 2006), grafitleştirilmiş karbonlar (Hennion, 2000), immuno sorbentler (Poole, 2003; Haginaka, 2005.), amberlit XAD-16 reçinelerini (Elçi ve diğ., 2000) ve amborsorb-572'dir (Baytak ve Türker, 2006).

### 3.3 Sıvı faz mikro ekstraksiyon (LPME)

LPME tekniği katı ve sıvı örneklerdeki pestisitlerin analizinde kullanılan, sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) avantajlarıyla kombine edilmiş bir tekniktir. LPME tekniğinde iki örnekleme tipi vardır. Bunlar iki ve üç fazlı tipleridir.

a) İki fazlı LPME analitlerin (A) sulu fazdan (donor faz) mikrolitre hacimdeki organik faza (akseptor faz) geçişini esas alır.

$$A_{\text{sulu faz}}(\text{donor faz}) \leftrightarrow A_{\text{organik faz}}(\text{akseptor faz})$$

b) Üç fazlı LPME'de ise analitler (A) sulu örnek çözeltisinden (donor faz) bir hidrofobik membranın gözeneklerine sabitleştirilmiş organik çözücüye (organik faz) ve sonrasında genellikle bir sulu çözelti (akseptor faz) içinden membranın boşluğunun içine ekstrakte edilir. (Lambropoulou ve Albanis, 2007).

$$A_{\text{sulu faz}}(\text{donor faz}) \leftrightarrow A_{\text{organik faz}} \leftrightarrow A_{\text{sulu faz}}(\text{akseptor faz})$$

LPME teknikleri genel olarak üç ana gruba ayrılır: a) tek damla mikro ekstraksiyon (SDME); b) membran sıvı faz mikro ekstraksiyon (MLPME); c) dispersif sıvı sıvı mikro ekstraksiyon (DLLME). Bunların farklılıkları sulu faz ile çözücünün etkileşim şekilleri ile ilgilidir (Pinto ve diğ., 2010).

Bu tekniklerin hepsinin amacı klasik LLE'ye göre daha az örnek hacmi (2-10 mL) ve çok küçük organik faz (3-5 µL) kullanımınıdır. Zenginleştirme faktörleri oldukça yüksektir. Bu yöntemler daha çevreci, daha ekonomik ve daha az işlem basamağı içermesi gibi üstünlüklere sahiptir (Psillakis ve Kalogerakis, 2002).

#### 3.3.1 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME)

Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) tekniği, en çok tercih edilen önderleştirme yöntemlerinden biridir (Xiao-Huan ve diğ., 2009; Rezaee ve diğ., 2010; Sarafraz-Yazdi ve Amiri, 2010). 2006 yılında Assadi ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. DLLME, düşük maliyetli, yüksek geri kazanım ve yüksek zenginleştirme faktörü elde edilebilen, basit ve hızlı bir yöntemdir (Ojeda ve Rojas, 2009). DLLME, analitlerin ekstraksiyon çözücüsü ve örnek çözelti arasındaki

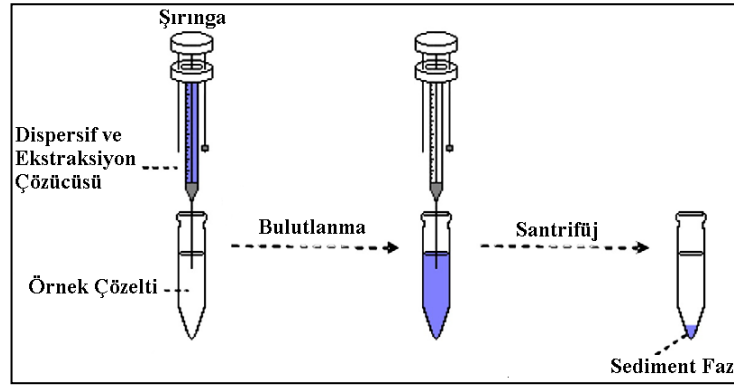
dağılım dengesine dayanmaktadır. Bu yöntemde zenginleştirme faktörü (EF) ve ekstraksiyon geri kazanımı (R) aşağıdaki şekilde hesaplanır (Xiao-Huan ve diğ., 2009)

$$EF = C_{sed}/C_o \quad (3.5)$$

$$R = (C_{sed} \cdot V_{sed}) / (C_o \cdot V_{su}) \quad (3.6)$$

Burada,  $C_{sed}$ ; sediment fazdaki analit derişimi,  $C_o$ ; sulu faz içindeki analitin başlangıç derişimi,  $V_{sed}$ ; sediment fazın hacmi,  $V_{su}$ ; sulu örneğin hacmini ifade etmektedir.

DLLME işlem basamakları Şekil 3.3’de gösterilmiştir. Analiti içeren sulu örnek çözeltisi santrifüj tüpüne alınır. Ekstraksiyon ve dağıtıcı çözümleri içeren çözelti, şırınga veya mikropipet ile örnek çözelti içine hızla eklenir. Karışım (su/dispersif çözümlü/ekstraksiyon çözümlü/analit) çalkalanır ve bulutumsu bir çözelti elde edilir. Bu sırada analit sulu fazdan ekstraksiyon çözümlü fazına geçer. Ardından tüp santrifüjlenerek, sulu faz ve ekstraksiyon çözümlü sediment fazı şeklinde birbirinden ayrılır. Üst kısımda kalan sulu faz dekante edilerek, tüpün dibindeki toplanan sediment fazdan bilinen hacimde mikro şırıngayla alınarak analiz için ölçüm sistemine enjekte edilir. Bazı uygulamalarda da sediment faz buharlaştırılarak, belirli hacme uygun çözümlü sistemi ile seyreltilerek analit tayin edilir (Xiao-Huan ve diğ., 2009; Rezaee ve diğ., 2010; Sarafraz-Yazdi ve Amiri, 2010).



Şekil 3.3: Dispersif Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyonun (DLLME) şematik gösterimi (Pena-Pereira ve diğ., 2010).

DLLME tekniğinde ekstraksiyona etki eden parametreler şunlardır;

*Ekstraksiyon çözümlü seçimi:* DLLME tekniğinde en önemli parametrelerden biridir. Ekstraksiyon çözümlüsünün yoğunluğu suyun yoğunluğundan daha büyük olmalıdır. Ayrıca ekstraksiyon çözümlü su içinde düşük çözünürlüğe sahip olmalı, kromatografik analize uygun olmalı ve hedef analitlerin ekstraksiyonuna elverişli

olmalıdır. Genellikle seçilen ekstraksiyon çözücülerini klorobenzen, klorofom, karbon tetraklorür ve tetrakloroetilen dir.

*Dispersif çözücü seçimi:* Dispersif çözücü hem sulu faz içinde, hem de ekstraksiyon çözücüsü ile karışabilen özellikte olan çözücülerdir. Her iki faz içinde dağılan dispersif çözücünün bulutumsu (su/dispersif çözücü/ekstraksiyon çözücüsü) bir görüntü oluşturması gerekir. Dispersif çözücü, sulu faz ve ekstraksiyon çözücüsü arasındaki yüzey alanına bağlı olarak ekstraksiyon veriminin artmasına yardımcı olur. En çok kullanılan dispersif çözücüler metanol (MeOH), etanol, asetonitril (ACN ya da MeCN), aseton ve tetrahidrofurandır.

*Ekstraksiyon çözücü hacminin etkisi:* Zenginleştirme faktörünü doğrudan etkileyen parametredir. Ekstraksiyon çözücü hacminin yüksek olması, santrifüj sonrası elde edilen organik faz hacminin artmasına ve dolayısıyla zenginleştirme faktörünün de düşük çıkmasına neden olur. Bu yüzden ekstraksiyon çözücü hacmini düşük tutarak hem zenginleştirme faktörünün yükselmesi hem de hedef analitlerin belirlenmesindeki duyarlılığı artırmış oluruz. Genel ekstraksiyon çözücü hacmi 5-100 µL aralığında bir değerde seçilmektedir.

*Dispersif çözücü hacminin etkisi:* Dispersif çözücü hacmi, bulutumsu çözelti oluşumunu etkileyen bir parametredir. Sulu fazdaki ekstraksiyon çözücüsünün dağılımı ve ekstraksiyon veriminde önemli rol oynar. Genellikle 0.5-1.5 mL aralığında hacimler tercih edilir.

*Ekstraksiyon süresinin etkisi:* DLLME’de ekstraksiyon süresi ekstraksiyon ve dispersif çözücü karışımının enjeksiyonu ve santrifüj arasında geçen süre olarak tanımlanır. Ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimine çok önemli bir katkısının olmadığı söylenmektedir. Ekstraksiyon işleminin çok hızlı gerçekleşmesi DLLME tekniğinin en önemli avantajlarından biridir.

*Tuz ilavesinin etkisi:* Sulu faz içindeki organik ekstraksiyon çözücüsü ve analitlerin çözünebilirliği genellikle iyonik kuvvetin artışıyla azalabilmektedir. Bu da yüksek geri kazanım değerlerine ulaşılmasına yol açmaktadır. Fakat aynı zamanda elde edilen organik faz hacmini arttırarak analit derişimi ve zenginleştirme faktörünün her ikisinin de azalmasına neden olabilir (Xiao-Huan ve diğ., 2009).

DLLME tekniği çevresel örneklerde, gıda örneklerinde, pestisit kalıntıları ve eser metal tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lambropoulou ve Albanis, 2007;



Pena-Pereira ve diğ., 2009; Ojeda ve Rojas, 2009; Xiao-Huan ve diğ., 2009; Sarafraz-Yazdi ve Amiri, 2010; Pinto ve diğ., 2010,).

### 3.3.2 Bazı pestisitlerin DLLME ile tayinleri

Yeni bir örnek hazırlama tekniği olan DLLME, gaz kromatografisi (GC), ve sıvı kromatografisi (LC) yöntemleriyle kombine olarak, bazı pestisitlerin tayininde kullanılabilir. Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Toprak örneklerinde karbamat (karbaril) ve organofosfor (triazifos) pestisitlerini tayinine yönelik çalışmada Fu ve ark. (2009) DLLME tekniğinin kullanarak sıvı kromatografisi (LC)-floresans dedektörü (FLD) ile tayin etmişlerdir. Optimum ekstraksiyon şartlarında LOD değerlerini karbaril için  $14,0 \text{ ng g}^{-1}$ , triazifos içinde  $110,0 \text{ ng g}^{-1}$  olarak tespit etmişlerdir. Yöntemin bağıl standart sapmaları % 1,96-4,24 (N=6) olarak hesaplanmıştır. Toprak örneğine 10,0; 20,0 ve 50,0  $\text{ng g}^{-1}$  düzeylerinde yapılan standart ekleme sonrası elde edilen % geri kazanım değerleri sırasıyla % 88,2-108,8, % 80,8-110,7 ve % 81,0-111,1 aralıklarında bulunmuştur.

Berjiani ve ark. (2006) sulardaki organofosfor pestisitlerin analizinde DLLME tekniğini kullanarak GC-FID (alev iyonlaşma dedektörü) ile tespit etmişlerdir. Tekniğin optimizasyonunda ekstraksiyon çözücüsü; klorobenzen ( $5,0 \pm 0,3 \text{ } \mu\text{L}$ ), dispersif çözücü; aseton (1 mL) ve örnek hacmi 5 mL olarak seçilmiştir. Belirlenen bu optimum şartlarda elde edilen zenginleştirme faktörleri ve ekstraksiyon geri kazanım değerleri sırasıyla, 789-1070 ve % 78,9-107,0'dır. LOD değerleri ise  $3 \text{ pg mL}^{-1}$ 'den  $20 \text{ pg mL}^{-1}$  aralığında hesaplanmıştır.

Sulardaki poliklorlanmış bifenillerin analizi için geliştirilen DLLME tekniğini Rezaei ve ark. (2008) çalışmışlardır. Su örneklerine tekniğin uygulanmasından sonra tayinler GC-ECD (elektron yakalama dedektörü) ile gerçekleştirmişlerdir. Tekniğin optimizasyon sonucunda ekstraksiyon çözücüsü; klorobenzen ve dispersif çözücü de aseton olarak seçilmiştir. Yöntemin bağıl standart sapması % 4,1-11,0 aralığında hesaplanmıştır. LOD değeri ise en düşük  $0,002 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  olarak verilmiştir. Nehir ve deniz suyu örneklerine yapılan standart ekleme sonuçlarının bağıl geri kazanım değerleri sırasıyla % 97,0-102,0 ve % 96,0-103,0 aralıklarında verilmiştir.

Zhao ve ark. (2007) kavun ve salatalık örneklerindeki bazı organofosfor pestisitlerin analizinde DLLME-GC-FPD kullanmışlardır. Çalışmada ekstraksiyon çözücüsü olarak klorobenzen, dispersif çözücü olarak da asetonitril seçilmiştir. Optimize

edilmiş tekniğin LOD değerleri 0,010  $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'dan 0,190  $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'a kadar tayini yapılan pestisitlere göre değişiklik göstermektedir. Yöntemin bağıl standart sapma değerleri ise % 2 ile % 9 (N=3) arasında değişiklik göstermiştir.

Fu ve ark. (2009) DLLME tekniğini meyve suyu örnekleri ve sularındaki karbaril ve triazifos pestisitlerin analizinde kullanmışlardır. Tekniğin optimizasyonunda ekstraksiyon ve dispersif çözücü türleri, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon ve dispersif çözücü hacimleri ve tuz derişimi gibi parametreler incelenmiştir. Optimum şartların ekstraksiyon çözücüsü olarak tetrakloroetan (15,0  $\mu\text{L}$ ), dispersif çözücü olarak da asetonitril (1,0 mL) seçilmiştir. Karbaril ve triazifos için zenginleştirme faktörleri sırasıyla 87,3 ve 275,6 olarak hesaplanmıştır. Yöntemin bağıl standart sapması % 1,38 ile % 2,74 (N=6) aralığında verilmiştir.

Diğer bir çalışma da çayda organofosfor pestisit analizi için Moinar ve ark. (2009) DLLME tekniğini kullanarak GC-FPD ile tayin yapmışlardır. Teknikte ekstraksiyon çözücüsü olarak n-heksan, dispersif çözücü olarak da asetonitril kullanılmıştır. Geri kazanım çalışmaları 5,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  derişim için yapılmış ve analitler için % 83,3 ile % 117,3 aralığında bulunmuştur. Yöntemin tekrarlanabilirliği yüzde bağıl standart sapma değerleri 3 ile 7,8 (N=3) aralığında hesaplanmıştır. Analitler için LOD değeri 0,030  $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'dan 1  $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'a değişiklik göstermektedir.

Biyolojik örnek olarak yapılan başka bir çalışmada, idrar örneklerindeki bazı psikotropik ilaçların analizinde de DLLME tekniği kullanılmıştır. Tekniğin optimizasyonunda pH, ekstraksiyon ve dispersif çözücü türü ile hacimleri, ekstraksiyon süresi ve tuz etkisi gibi parametreler çalışılmıştır. İlaçların ekstraksiyon sonrası tayinleri HPLC-UV cihazı kullanılarak yapılmış. Yöntemin LOD değerleri amitrifitilin için 3  $\text{ng mL}^{-1}$ , klomipramin için 7  $\text{ng mL}^{-1}$  ve tiyoridazin için 8  $\text{ng mL}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Dokuz tekrarlı standart ekleme sonrası elde edilen bağıl standart sapma değeri ise % 4,8 olarak verilmiştir (Xiong ve diğ., 2009).

Sulu örneklerde bulunan triazin herbisitlerin tayininde Nagaraju ve Huang (2007) DLLME tekniğini tercih etmişlerdir. Optimize ettikleri yöntemde ekstraksiyon çözücüsü olarak klorobenzen, dispersif çözücü asetonu 1 mL ve örnek hacminde 5 mL'yi seçmişlerdir. Optimum çalışma şartlarında zenginleştirme faktörlerini ve geri kazanım değerlerini sırasıyla, 151-722 ve % 24,2-115,6 olarak hesaplamışlardır. LOD değerleri ise 0,021  $\mu\text{g L}^{-1}$  ile 0,12  $\mu\text{g L}^{-1}$  aralığında değişmektedir. Musluk ve

nehir sularına yapılan  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$  düzeydeki standart ekleme sonrası elde ettikleri geri kazanım değerleri ise, nehir suyu için % 85,2–114,5 aralığındayken, musluk suyu için % 87,8–119,4 aralığında bulunmuştur.

Zhou ve ark. (2009) çevresel su örneklerinde atrazin ve simazinin analizinde DLLME tekniği ile ekstraksiyon yaptıktan sonra HPLC ile tayin etmeye çalışmışlardır. Yöntemde ekstraksiyon çözücüsü olarak karbon tetraklorür, dispersif çözücü olarak da metanol kullanmışlardır. Optimum şartlarda lineer kalibrasyon atrazin için  $0,5\text{--}50 \mu\text{g L}^{-1}$ , simazin için  $0,1\text{--}50 \mu\text{g L}^{-1}$  aralığında oluşturulmuştur. LOD değerleri ise atrazin ve simazin için sırasıyla  $0,1$  ve  $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Gerçek çevresel su örnekleri üzerinde yapılan standart ekleme sonrası elde edilen geri kazanım yüzdeleri ise  $60,7 - 91,4$  aralığında bulunmuştur.

### **3.4 Pestisit Analizleri ile İlgili Bazı Literatür Özetleri**

Çeşitli ortamlarda bulunan pestisit tayinlerine ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Bunlardan bazıları şunlardır:

Kitamura ve ark. (2000) *Carassius auratus* kırmızı balığında bir organofosfor pestisit olan Fenthionun balık metabolizmasında meydana gelen maddeleri, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka kromatografisi (TLC) ve gaz kromatografisi – kütle spektrometre (GC-MS) ile incelemişlerdir. Yapılan çalışmada bir metabolit olarak incelenmiş, fenthion okzon miktarı belirlenememiştir. 4 gün içindeki Fenthion'un başlangıç dozunun fenthion, fenthion sülfoksit ve fenthion okzon, sırasıyla % 2,7; % 3,4 ve % 2,5 olarak ortaya çıktığı bulunmuştur. 10 gün sonrasında ise metabolize olmamış fenthionun balık vücudundaki oranı başlangıç dozunun % 42-50 arasında saptanırken, fenthion sülfoksit ve fenthion okzon çok düşük derişimde gözlenmiştir.

Khan ve ark. (2007) GC kullanarak buğday unundaki organofosfor pestisitler ve sentetik payretroidleri tayin etmişlerdir. Pestisitlerin geri kazanım değerlerinin % 70-113 aralığında değiştiği, bağıl standart sapma değerleri ise % 1,00-7,23 aralığında bulmuşlardır.

Bazı meyve ve sebze örneklerdeki 73 pestisit ve metabolit kalıntılarının tayini için Hetheron ve ark. (2004) iki boyutlu kütle spektrometre ile yüksek performanslı sıvı kromatografisini (HPLC-MS-MS) kullanarak metod geliştirmişlerdir. Metodun

doğruluk testi için elma, salatalık ve portakal örneklerinde 0,01-0,1 mg kg<sup>-1</sup> aralığındaki seviyelerde başardıklarını belirtmişlerdir. Pestisitlerin çoğu için geri kazanım yüzdelerini % 77-124 arasında bulmuşlardır.

Taze meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntılarının sınıflandırılmasında Frenich ve ark. (2004) iki boyutlu kütle spektrometre ile sıvı kromatografi (LC-MS-MS) sistemini kullanmışlardır. Gözlenebilirlik sınırlarını <1 ng g<sup>-1</sup> olarak bulmuşlardır. Bulunan değerler, Avrupa direktiflerine göre, pestisitlerin gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum miktarlarından daha düşük bulunmuştur.

Kennedy ve ark. (1994) havadaki 19 çeşit organofosfor pestisitlerin eş zamanlı belirlenebilmesi için GC sistemini kullanmışlardır. Bu pestisitlerin gözlenebilirlik sınırlarını ise 0,02-1,0 µg mL<sup>-1</sup> aralığında bulmuşlardır.

Diyetle alınan 25 gıda örneğinde Sawaya ve ark. (2000) organofosfat pestisitlerin GC ile analizini araştırmışlardır. 12 mısır gevreğinin 7 sinde (Kloropirifos: 0,03-0,21 µg mL<sup>-1</sup> ve Fenetrothion: 0,016-0,84 µg mL<sup>-1</sup>), 16 sebzenin 6'sında ( Diazinon: 0,05-0,2 µg mL<sup>-1</sup>) derişim aralılarında OPPs'lere rastladıklarını belirtmişlerdir.

Sulu örneklerdeki polar organofosfor pestisitlerin tayini için Ingelse ve ark. (2001) LC-MS-MS kullanmışlardır. Sudaki polar OPPs belirlemek için ters faz oktadesil (RP-C<sub>18</sub>) HPLC kolon sistemine direkt enjeksiyon yaparak analizi gerçekleştirmişlerdir. Bu analiz sonunda gözlenebilirlik sınırını 0,01-0,03 µg L<sup>-1</sup> aralığında bulmuşlardır.

Zeytinyağları üzerinde yapılan bir çalışmada Aramendía ve ark. (2007) düşük polaritedeki kloro-s-triazin herbisitlerden atrazin ve simazinin tayin etmişlerdir. Seçilen herbisitler için 1-500 µg kg<sup>-1</sup> aralığında kalibrasyon eğrisi çizmişler ve korelasyon katsayısının (r<sup>2</sup>) 0,996'dan daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. Tekrarlanabilirlik % 8-11 aralığında bir bağıl standart sapmaya sahiptir. Ayrıca analitlere ait yapılan geri kazanım değerleri için % 90-102 aralığında değişmektedir. Atrazin ve simazin herbisitleri için LOQ değerini 50 µg kg<sup>-1</sup> olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada iç standart olarak bromofos bileşiği tercih edilmiş.

Baranowska ve grubu (2005) atrazin ile simazin dağılımının besin zinciri üzerindeki kalıntı tayinlerine yönelik çalışmada farklı organik çözücüleri (aseton, metanol, kloroform, hekzan ve asetonitril) kullanarak sokslet ekstraksiyonu, çalkalama yöntemi, ultrasonik destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon

yöntemlerini kullanarak HPLC ile atrazin ve simazin tayini için metod geliştirme çalışmaları yapmışlardır. Geliştirdikleri metod da atrazin için LOD: 0,2 µg mL<sup>-1</sup>, LOQ: 0,73 µg mL<sup>-1</sup> ve simazin için LOD: 0,3 µg mL<sup>-1</sup>, LOQ: 1,12 µg mL<sup>-1</sup> olarak bulmuşlardır. İnceledikleri örneklerde topraktaki simazin içeriği 3,45–8,60 µg g<sup>-1</sup> aralığında çıkarken, atrazin derişimi 11,9–13,03 µg g<sup>-1</sup> olarak tespit etmişlerdir.

Fareler üzerinde yapılan çalışmada idrar ve plazma örneklerindeki atrazin ve onun metabolitlerine ait kalıntı çalışması Ross ve ark. (2006) tarafından Mississippi State Üniversitesinde (USA) yapılmıştır. Analitlere ait kalıntı tayinleri için LC-MS sistemi kullanmışlardır. LC-MS sisteminde gradiyent elusyon uygulanmış ve mobil faz olarak çözücü A: su ( % 0.05 asetik asit (v/v)), çözücü B: metanol (%0.1 asetik asit ya da formik asit (v/v)) tercih edilmiştir. Geliştirilen metoda ait LOD ve LOQ değerleri plazma örneklerindeki atrazin için sırasıyla 2 nM ve 7 nM olarak bulmuşlardır. İdrar örnekleri için ise 0,03 µM ve 0,1 µM olduğunu tespit etmişlerdir.

Dagnac ve ark. (2005) GC-MS-MS, LC-MS ve LC-MS-MS cihazlarını kullanarak, s-Triazin ve metabolitlerin analizini yapmışlardır. Analitlerin ekstraksiyonu için basınçlı sıvı ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır. Toprak örnekleri üzerinde çalışmalar yapılmış ve % 85'in üzerinde geri kazanım değerleri elde etmişlerdir. Gözlenebilme sınırı 0,5-5 µg kg<sup>-1</sup> aralığında hesaplanmış. Ekstraksiyon işlemi için aseton, metanol ve metanol-su karışımı çözücüler denemeleri yanında ekstarksiyon sıcaklığında optimize edilmiş. Çalışma sonucunda GC-MS-MS, LC-MS ve LC-MS-MS analiz sonuçlarına ait gözlenebilme sınırlarını karşılaştırmışlar.

Jiang ve ark. (2005) ise yüzey sularında kloro-s-triazin grubu herbisitlerinden atrazin, simazin ve propazinin yanında atrazine ait metabolitlerden deetil-atrazin, deisopropil-atrazin ve didealkil-atrazini eş zamanlı olarak GC-MS ile tayin etmişlerdir. Analitlere ait geri kazanım çalışmaları yapılmış ve %94-110 arasında değişen oranlar elde etmişler, gözlenebilme sınırını ise 0,01 µg.L<sup>-1</sup> olarak tespit etmişlerdir.

Yine diğer bir çalışmada Freitas ve ark. (2004) yeni triketon grubu olan sulkotrin ve mezotrinin yüzey sularındaki kalıntı miktarının belirlenmesi için LC-MS-MS'i kullanılmıştır. Bu çalışma ile sulkotrin, mezotrin yanında bazı önemli diğer herbisitlerin ve onlara ait bazı metabolitlerin tayini gerçekleştirilmiştir. Örneğin zenginleştirilmesi için katı faz ekstraksiyon tekniği kullanılmış ve geri kazanım

değerlerinin %94-112 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Metodun gözlenebilme sınırı 0,5-10 ng L<sup>-1</sup> derişim aralığında değişiklik gösterdiği vurgulanmıştır.

Mendaş ve ark. (2000) İnsan üresinde kloro- ve metiltiyotriazin bileşiklerinin tayinine ilişkin bir çalışma yapmışlar. Çalışmada analitlerin insan ürininden ekstraksiyonunda katı faz ekstraksiyon ve dietileter ile ekstraksiyon tekniklerini kullanmışlardır. Örneğin ekstraksiyonundan sonra ekstrakt gaz kromatografisine n-hekzan içinde enjekte edilmiş. Dedektör olarak ısı duyarlı (TSD) ve elektron yakalamalı (ECD) dedektör ile kalıntı tayinleri gerçekleştirmişlerdir. Yapılan tayinlere yönelik ısıya duyarlı dedektör ve ECD ile atrazin için gözlenebilme sınırı 5 ng mL<sup>-1</sup> olarak tespit etmişlerdir. Yapılan kalıntı tayinleri sonunda her iki dedektör sisteminin bu analitler için eşit bir seçimliliğe sahip oldukları vurgulanmıştır.

Çevresel su örneklerinde prometrin ve fungusitlerin tayini için çok duvarlı karbon nanotüp katı faz ekstraksiyon tekniği üzerinde optimizasyon çalışmaları Zhou ve ark. (2007) tarafından yapılmıştır. Optimizasyonda elüent hacmi, pH ve örnek hacmi gibi parametreler optimize edilmiş. Belirlenen çalışma şartlarında yöntemle ait gözlenebilme sınırları metalaksil, dietofenkarbon, mayklobutanil, promitrin ve tebukonazol için 2,99-6,94 ng L<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Önerilen metodun %1,43–5,86 aralığında iyi bir doğruluğa sahip olduğu vurgulanmıştır. Bu metodu çevresel su örneklerine başarılı bir şekilde uygulamışlar ve rutin çevre alanındaki analizler için iyi bir alternatif yöntem olabileceği vurgulanmıştır.

Venkateswarlu ve ark. (2007) taze üzüm örneklerindeki 10 tane pestisit (imidakloprit, kloropirifos, tiametoksam, dimetoat, monokrotofos, metalaksil, methomil, mayklobutanil ve karbendazim) rutin analizleri için duyarlı ve seçimli bir metod geliştirerek sıvı kromatografisi-elektrospray iyonlaştırmalı-iki boyutlu kütle spektrometri (Liquid chromatography- electrospray ionization- tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS-MS)) ile tayin etmişlerdir. Pestisitleri ayırmada gradiyent elüsyonla polar olmayan ters faz kolon kullanılmıştır. 0,010–0,100 mg kg<sup>-1</sup> standart ekleme oranlarından elde ettikleri geri kazanım değerleri tüm bileşikler için %78–104 aralığında tespit edilirken, bağlı standart sapma değerlerinde %15'in altında olduğu vurgulanmıştır. Metod Güney Hindistan'da Hayderabad bölgesinden toplanan taze üzüm örneklerine uygulanmıştır.

Hava örneklerinde fenheksamit, metalaksil-M, pirimethanil, malatyon ve mayklobutanilin belirlenmesi için katı sorbentlerin değerlendirilmesi üzerine Tsiropoulos ve ark. (2006) bir çalışma yapmışlardır. Katı sorbentler de fenheksamit, metalaksil-M, pirimethanil, malatyon ve mayklobutanilin örneklenmesiyle sera hava analizleri için bir metod tanımlanmıştır. Pestisitler azot-fosfor dedektörlü gaz kromatografisi (GC-NPD) ile belirlendi. Farklı örnekleme şartlarında (hız, zaman ve havanın nemi) XAD-2, XAD-4, Supelpak-2, Florosil ve C-18 gibi verimli tuzaklar ve pestisit derişim seviyeleri değerlendirildi. Bir domates ekimi uygulamasından sonra deneysel seranın havasında malatyon ve fenheksamit örnekleri için seçilmiş sorbentler (Supelpak-2, C-18) ile özel pompalar kullanılmıştır. Malatyon derişimi uygulamadan hemen sonra  $20.1 \mu m^{-3}$  ve 3 gün sonra  $1.06 \mu m^{-3}$  arasında tespit edilmiştir. Fenheksamit derişimleri ise yüksek performanslı sıvı kromatografisi-ultraviyole dedektör (HPLC-UV) ile tayin edildi.

Şeker örnekleri için 11 pestisit  $\mu g kg^{-1}$  seviyesinde kantitatif tayini için Sinha ve ark. (2011) duyarlı bir metod geliştirmişlerdir. Basit bir çözücü ekstraksiyon yönteminden sonra GC-MS ile tayinler gerçekleştirilmiştir. Metodun doğruluğunun  $> \% 99$  ve gözlenebilme sınırını  $0,1 \mu g kg^{-1}$  olduğunu belirtmişlerdir. Tüm pestisitler için geri kazanım değerleri en düşük  $\%82$  ve en yüksek  $\%104$  olarak gözlemlenmişler. Hindistanın farklı bölgelerindeki satış yerlerinden alınan şeker örneklerine yöntemi uygulamış ve 27 rafine şeker örneklerinden sadece bir tanesinde kloropirifos pestisitini saptamışlardır.

Hernández-Borges ve ark. (2009) tarafından Kanarya adalarındaki bölgesel marketlerden toplanan 57 muz örneğinde 11 tane pestisiti (etoprofos, dimetoat, diazinon, kloropirifos-metil, fenitrotiyon, malatyon, kloropirifos, fenamifos, buprofezin ve fosmet) analiz etmişlerdir. Gıdalarda pestisit kalıntı analizleri için geliştirilmiş QuEChERS metodunu kullanmışlar ve gaz kromatografisi – azot fosfor dedektör (GC-NPD) sistemiyle tayinleri gerçekleştirmişlerdir. İç standart olarak trifenilfosfat (TPP) kullanılmıştır. Geri kazanım değerlerini  $\% 67$  ile  $\% 118$  aralığında tespit ederken bağıl standart sapma değerlerinde  $\% 16$ 'nın altında hesaplamışlardır. Kantitatif tayin sınırı  $0,01-0,14 mg kg^{-1}$  olarak verilmiştir. 50 örneğe ait kloropirifos değerleri  $0,03-0,65 mg kg^{-1}$  aralığında çıkarken, 5 örnekte  $0,16-0,17 mg kg^{-1}$  aralığında malatyon, 4 örnekte  $0,02-0,10 mg kg^{-1}$  aralığında fenitrotiyon ve bir örnekte  $0,15 mg kg^{-1}$  düzeyinde buprofezin pestisiti tespit

edilmiştir. İki örnekteki fenitrotiyon içeriği hariç diğer tüm örneklerdeki pestisit kalıntı düzeyleri MRLs altında olduğu vurgulanmıştır.

Ourense (Galicia, İspanya) ili ırmak kenarındaki asidik topraklarda şarap yapımı için 50,000 ton üzüm üretilmektedir. Bermúdez-Couso ve ark. (2007) bu bölgedeki bağ topraklarındaki fungusit taşınımıyla ilgili araştırma yapmışlardır. Fungusit kalıntı düzeyleri bağ toprakları ve nehir sediment örneklerinde katı faz ekstraksiyonundan sonra GC-MS ile tayin edilmiştir. Prosimidon ve siprodinil nehir sedimentlerinde fludioksonil, metalaksil ve penkonazolden daha yüksek çıkmıştır. Sedimentlerde peosimidonun en yüksek derişimi 29–57  $\mu\text{g kg}^{-1}$  aralığındadır. Bu değerler birikmenin olmadığı durum için geçerlidir. Tüm bileşikler için topraktaki en yüksek derişim düzeyleri prosimidon ve metalaksil için 1000  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , siprodinil, fludioksonil ve penkonazol için 400  $\mu\text{g kg}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Yöntemin gözlenebilme sınırı 2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  olarak verilmiştir.

Diğer bir fungusit çalışmasında Pan ve ark. (2004) oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon (HLPME) ve gaz kromatografisi elektron yakalama dedektörü (GC-ECD) ile pestisit tayini yapmışlardır. Çalışmada 6 pestisit (klorothalonil, heksakonazol, penkonazol, tetrakonazol ve vinklonozil) seçilmiştir. Metotta ekstraksiyon çözücüsü olarak 3  $\mu\text{L}$  toluen kullanılmış, ekstraksiyon zamanı 20 dakika, pH 4, karıştırma hızı 870 rpm seçilmiştir. Zenginleştirme faktörleri 135–213 aralığında, gözlenebilme sınırları ise 0,004–0,025  $\mu\text{g L}^{-1}$  düzeylerinde tespit edilmiştir. Yöntemin bağıl standart sapması 0,1 ve 5  $\mu\text{g L}^{-1}$  seviyelerinde standart eklemeler için % 3 – 8 olarak hesaplanmıştır. Altı fungusit için geri kazanım değerleri 0.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  standart ekleme sonrası % 90,7–97,6 aralığında verilmiştir.

Wong ve ark. (2007) kuru zemin üzerindeki bitki köklerinde organofosfor pestisitleri tayin etmek için yöntem geliştirmişlerdir. Pestisitleri, tuzla doyrulmuş su/asetonitril karışımını kullanarak örneklerden ekstrakte etmişler. Ekstrakt katı faz dağıtıcı ayırımı uygulandıktan sonra seçimli iyon izlem modu ve fosfor modundaki alev fotometrik dedektörü (GC-FID) ile kapiler gaz kromatografisinde (GC-MS/SIM) analiz edilmişlerdir. Gözlenebilme sınırları GC-FID kullanıldığında 0,025–0,05  $\mu\text{g g}^{-1}$  aralığında bulunurken, analitlere bağılı olarak GC-MS/SIM de 0,005–0,50  $\mu\text{g g}^{-1}$  aralığında hesaplanmıştır. Geri kazanım çalışmaları 0,025; 0,1 ve 1,0  $\mu\text{g g}^{-1}$  düzeylerinde yapılmış ve GC-FID sisteminde % 90'nın üzerinde bulunmuştur.



Şarap örneklerinde sekiz fungusitin (siprokonazol, dinikonazol, tetrakonazol, tiabendazol, flusilazol, triadimenol, triadimefon ve karbendazim) eş zamanlı tayini için yapılan diğer bir çalışmada Nozal ve ark. (2005) polimerik yapıda katı faz kullanarak ekstraksiyon çalışması yapmışlardır. Çalışmada tayin için pozitif iyonlaştırmalı kütle spektrometrelili sıvı kromatografisi (LC-MSD) kullanmışlardır. Yöntem geliştirme basamağında hareketli faz bileşimi, kolon sıcaklığı, fragmentor voltajı gibi parametreler çalışılmış ve doğrulanmıştır. Şarap örneklerinde standart ekleme sonrası bu pestisitlerin geri kazanım değerleri % 83–109 aralığında hesaplanmıştır. Tayin edilebilir sınır ise 9–31  $\mu\text{g L}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Gilbert-López ve ark. (2010) zeytinyağı örneklerinde pestisit kalıntı tayini için sıvı-sıvı ekstraksiyon ve matriks katı faz dağıtıcı (matrix solid-phase dispersion- MSPD) iki örnekleme tekniğini kapsamlı bir şekilde karşılaştırmışlardır. Çalışmada sıvı kromatografisi - uçuş zamanlı kütle spektrometresi (LC-TOFMS) ile kalıntı tayinleri gerçekleştirilmiş. Metodların doğrulanma çalışmaları için 10 ve 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$  düzeyinde standart ekleme yapılarak geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiş, geri kazanım değerleri sıvı-sıvı ekstraksiyon kullanıldığında analitlerin % 72'si için % 70–130 aralığında iken MSPD'de analitlerin sadece % 57'sinde benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Gözlenebilir sınırını ise her iki örnekleme tekniği içinde 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$  olarak hesaplamışlardır.

İki beyaz ve kırmızı şarap yapım prosesinde pestisit kalıntı tayini için Čuš ve ark. (2010) GC-MS ve LC-MS/MS kullanarak 117 pestisiti tayin etmeye çalışmışlardır. Bu pestisitlerden 71'ini GC-MS de, 45'inide LC-MS/MS ile tayin etmişlerdir. Şarap yapımı prosesi süresince belirlenmiş pestisitler ve derişimleri sırasıyla boskalid (0,01-0,02  $\text{mg L}^{-1}$ ), siprodinil (0,04  $\text{mg L}^{-1}$ ), dimetomorf (0,01-0,08  $\text{mg L}^{-1}$ ), fenekzamid (0,12-0,13  $\text{mg L}^{-1}$ ), metalaksil (0,09-0,11  $\text{mg L}^{-1}$ ) ve prosimidon (0,07-0,13  $\text{mg L}^{-1}$ ) dur.

Nguyen ve ark. (2010) soya yağındaki 95 pestisitlerin eser analiz tayininde sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) ve ayırma basamağı için dağıtıcı katı faz ekstraksiyon (dispersive SPE) kullanmışlardır. Deneysel çalışmalarda 0,040; 0,080 ve 0,160  $\text{mg kg}^{-1}$  düzeylerinde standart eklemelerden elde ettikleri geri kazanım değerleri % 80–114 aralığında bulunurken, bağıl standart sapma değerleri % 2–14 olarak bulmuşlardır. Soya yağındaki pestisit kalıntı düzeyleri tüm bileşikler için maksimum kalıntı düzeyinin altında bulmuşlardır.

#### 4. KROMATOGRAFI VE TEMEL KAVRAMLAR

Kromatografi (chroma-renk, ve graphein-yazma anlamına gelmektedir) terimi ilk defa 1906 tarihinde Rus kimyacı ve botanikçi olan Michael Tswett (Mikhail Semenovich Tswett, 1872-1919) tarafından kullanılmıştır. Kromatografi alanında da ilk Nobel ödülü Tiselius (İsveç), Martin ve Syngge'ne (İngiltere) verilmiştir (Braithwaite ve Smith, 1999).

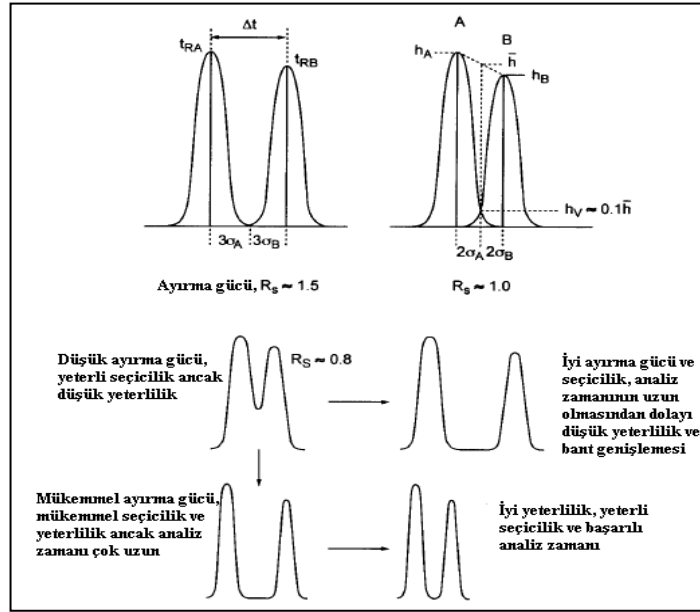
Kromatografi, gaz veya sıvı haldeki hareketli fazda bulunan karışımdaki bileşenlerin, durgun fazdan geçme hızlarına bağlı olarak ayrıldıkları bir yöntemdir. IUPAC tarafından 1993 te yapılan tanıma göre, kromatografi, biri hareketli diğeri sabit olan iki faz arasında dağılmış bileşenlerin ayrılmasında kullanılan fiziksel bir metoddur (Braithwaite ve Smith, 1999; Skoog ve diğ., 1999).

Kromatografide bazı temel kavramlar vardır. Bunlardan en çok kullanılanları durgun faz, hareketli faz, alıkonma zamanı ve kolon ayırma gücüdür. Bir kolon içinde veya düz bir yüzeyde tutturulmuş faza durgun faz, durgun fazın üzerinden veya arasından geçen ve analiti de içeren faza da hareketli faz denir. Numune enjeksiyonundan sonra, analit pikinin dedektöre ulaşması için geçen zamana alıkonma zamanı denir ve  $t_R$  ile gösterilir. Kolon ayırma gücü ( $R_s$ ), kolonun iki analiti ayrılabilmesinin kantitatif bir ölçüsüdür. Bu terimin önemi, farklı ayırma gücüne sahip kolonda A ve B türlerinin kromatogramlarından oluşan Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Kolon ayırma gücü;

$$R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B} \quad (3.1)$$

$R_s$ 'nin 1.5 olması durumunda iki bileşenin ayrılması tam olarak gerçekleşir. Bu durumda iki bileşenin sadece % 0.3'ü çakışır ( ). Ayrışmanın 1.0 olduğu durumda ise A bileşenine ait pik % 2.8 B bileşeni içerirken aynı şekilde B bileşenide A bileşenini içerir ( ) (Şekil 4.1). Belli bir sabit faz için ayırma gücü kolon

uzunluğunu arttırarak iyileştirilebilir. Ancak bu kez ayırma için gereken süre artar (Braithwaite ve Smith, 1999).



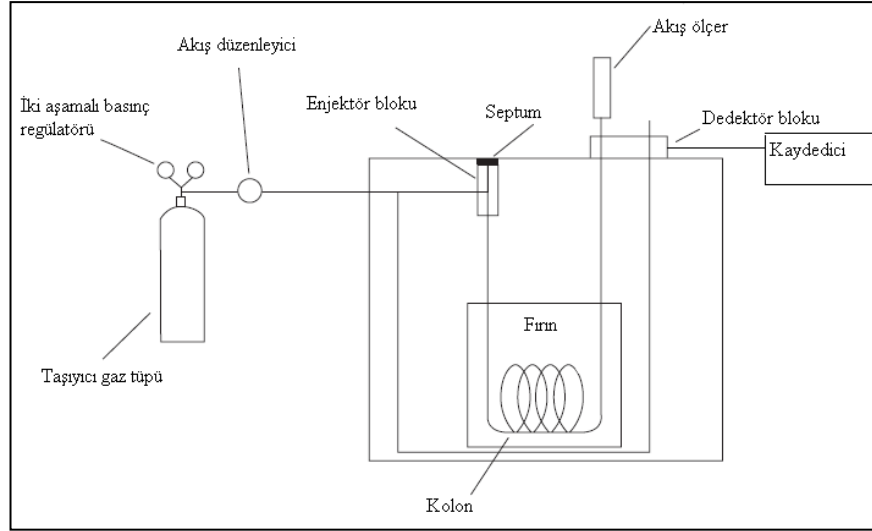
Şekil 4.1: Ayırma gücü, seçicilik ve kolon yeterliliği (Braithwaite ve Smith, 1999).

#### 4.1 Gaz Kromatografisi (GC)

Gaz kromatografisi, analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine tutturulmuş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur. Gaz kromatografisinin temelini ilk kez 1941 yılında Martin ve Syngge geliştirmesine rağmen, cihaz olarak Martin ve James tarafından 1952 yılında geliştirilmiştir. 1952'den beri GC özellikle 1960'larda hızlı bir şekilde gelişerek analitik kimyada ve pek çok alanda araştırmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Braithwaite ve Smith, 1999).

##### 4.1.1 Gaz kromatografi cihazı

Genel olarak bir gaz kromatografi cihazı altı kısımdan oluşmaktadır. Bunlar taşıyıcı gaz sağlayıcı ve kontrol kısmı, örnek enjeksiyonunun yapıldığı enjektör bloku, kromatografik kolon ve fırın, dedektör, sinyal işleyici ve bilgisayardan oluşmaktadır. Cihazın kısımları aşağıda tek tek tartışılacaktır. Gaz kromatografi cihazının basit bir şeması Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Bir gaz kromatografisi cihazının şeması (Harvey, 2000).

#### 4.1.1.1 Taşıyıcı gaz

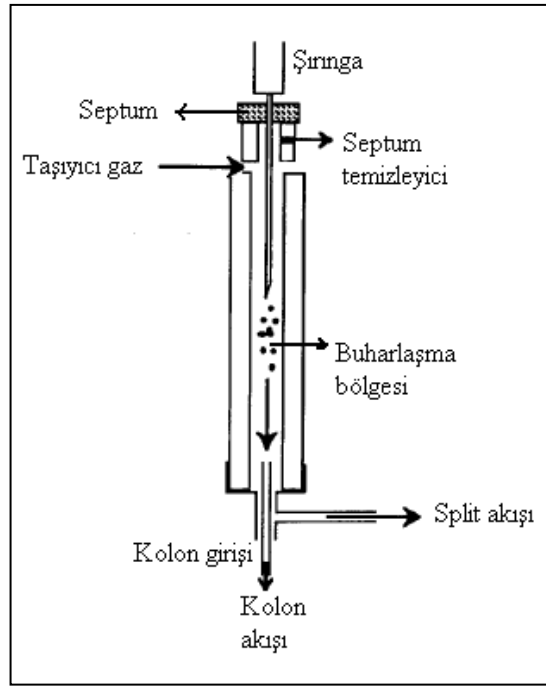
GC’de taşıyıcı gaz seçimi önemlidir çünkü taşıyıcı gaz kolon ayırma prosesini ve dedektör performansının her ikisini de etkiler. Taşıyıcı gaz analit bileşenlerine ve kolon dolgu maddesine karşı inert olmalıdır. Hidrojen ve helyum gibi çok düşük difüzyon katsayılarına sahip taşıyıcı gazlar, azot, karbondioksit ve argon gibi daha yüksek molekül ağırlığına sahip gazlardan daha etkin bir ayırma yaparlar. Hızlı bir analiz için difüzyon katsayısının vizkozite oranı düşük bir değerde olmalıdır. Tablo 4.1’de GC’de kullanılan taşıyıcı gazların 100°C’deki vizkozite, molekül ağırlığı ve termal iletkenlik değerleri verilmiştir. Taşıyıcı gazdaki hava, su buharı ve eser miktardaki hidrokarbon gazları gibi kirlilikler analizi yapılacak örnek reksiyonunu, kolon dolgu maddesini ve dedektörün performansını olumsuz yönde etkileyebilir. Bu nedenle % 99.999 saflıkta taşıyıcı gaz kullanmak gerekir (Braithwaite ve Smith, 1999).

Tablo 4.1: 100 °C’de GC gazlarının vizkozite ve termal iletkenlik değerleri.

Gaz	Molekül ağırlığı	Vizkozite, $\eta \times 10^{-6}$ (µp)	Termal iletkenlik (cal.s <sup>-1</sup> C <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )x10 <sup>-6</sup>
CO <sub>2</sub>	44	189	42
Ar	40	269	44
O <sub>2</sub>	32	256	66
N <sub>2</sub>	28	219	64
He	4	228	369
H <sub>2</sub>	2	108	459
CH <sub>4</sub>	16	-	86
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	46	-	35

#### 4.1.1.2 Numune enjeksiyon sistemi

GC içine örneğin enjeksiyonu kromatografik analizin ilk basamağını oluşturur. Ayırmanın etkin bir şekilde olması enjeksiyona bağlı olarak değişiklik gösterir. Numunenin enjeksiyonu kolon verimini etkileyeceğinden, örnek uygun miktarda ve buhar halinde tek seferde enjekte edilmelidir (Braithwaite ve Smith, 1999). Şekil 4.3'de GC için enjeksiyon kısmı şematik olarak gösterilmiştir (Jennigs ve diğ., 1997). Geliştirilmiş enjeksiyon bloğu sayesinde yarıklı ve yarıksız (split/splitless) enjeksiyon yapılabilmektedir (Kitson ve diğ., 1996).



Şekil 4.3: Gaz kromatografisi enjeksiyon bloğu (Jennigs ve diğ., 1997).

#### 4.1.1.3 Gaz kromatografik kolonlar ve durgun fazlar

Başlangıçta gaz kromatografik çalışmalar da toz şeklindeki inert katı destek üzerine kaplanmış sıvı fazla doldurulan dolgulu kolonlar kullanılmaktaydı. Daha sonra, dolgusuz boru şeklinde kapiler kolonlarla daha başarılı ayırmaların yapılabileceği görüldü. Kapiler kolonların uygulanması ve teorisi ilk olarak Golay tarafından ortaya konmuştur. Bir kapiler kolon için çok yüksek etkinliğin teorik tahminleri basit bir şekilde tubing boyunun uzunluğu, 10-100 m uzunluk, iç çapının 0.1-0.7 mm olması ve iç duvardaki durgun fazın ince bir tabakayla yüklenmiş olmasıdır. Kapiler kolonlar bakır, paslanmaz çelik ve camdan üretilmektedir. Ancak günümüzde silika maddesinin geliştirilmesiyle daha esnek inert kolonların kullanımı yaygınlaşmıştır.

Metal kolonların kullanımından, analitlerle oluşabilecek kataliz reaksiyonlarından dolayı kaçınılmaktadır (Braithwaite ve Smith, 1999).

Dolgulu kolonlarla kıyaslandığında kapiler kolonların (açık borusal kolonlar); daha büyük ayırma gücü, kısa analiz süresi, daha yüksek seçicilik gibi avantajları yanında düşük örnek kapasitesi gibi dezavantajı vardır.

GC kolonlarında kullanılan durgun sıvı fazlar için istenen özellikler ise; düşük uçuculuk, termal kararlılık, kimyasal inertlik, ayrımı yapılacak türler için uygun alıkonma ve seçicilik faktör değerlerini verebilecek çözücü niteliklerine sahip olmalıdır. Bu amaçla dimetil siloksan, polietilen glikol, fenil-polidimetil siloksan, siyanopropil-polidimetil siloksan ve trifloropropil-polidimetil siloksan fazları kullanılmaktadır.

#### **4.1.1.4 Kolon fırını**

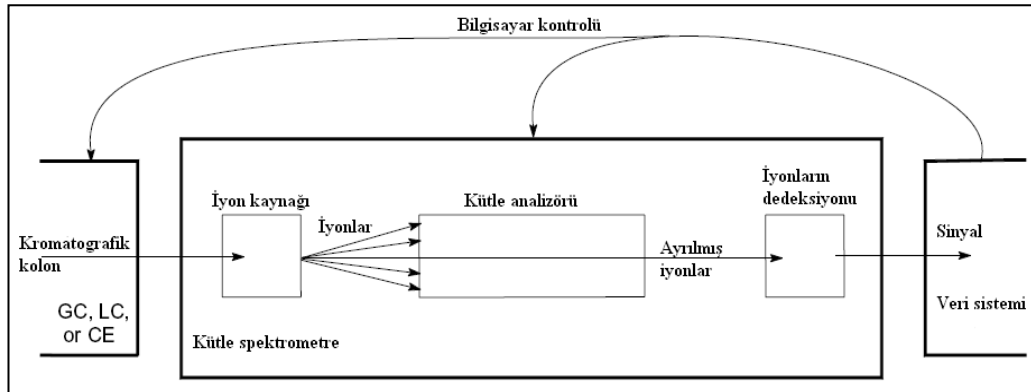
Gaz kromatografisinde kullanılan kapiler kolonlar 10-30 cm çapında spiraller haline getirilerek sıcaklığı kontrol edilebilen fırın içine yerleştirilirler. Bu nedenle kolon fırın sıcaklığı çok önemlidir. Optimum kolon sıcaklığı numunenin kaynama noktasına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Kaynama aralığı geniş olan numunelerde sıcaklık programlaması yapılır. İzotermal ya da gradient sıcaklık programı yapılarak numune bileşenlerinin kolonda etkin bir biçimde ayrılmaları sağlanabilir. İzotermal sıcaklık programında sıcaklık sürekli olarak arttırılırken gradient sıcaklık programında basamaklar halinde arttırılır. Uygun sıcaklık programına göre numune bileşenlerinin analiz süresi 2-30 dakika arasında değişiklik gösterebilir. Genel olarak, optimum ayrılma en düşük sıcaklıkla ilgilidir, düşük sıcaklığın sakıncası ise, elüsyon süresinin ve dolayısıyla analiz süresinin artışıdır (Skoog ve diğ., 1999).

#### **4.2.2 Dedektörler**

Dedektörün amacı, numune kolondan taşıyıcı gaz yardımıyla elue edilirken ayrılmış analitler için sinyal üreterek sinyal işleyiciye aktarmaktır. Kromatografi bir ayırma tekniğidir. Alev iyonlaştırma, elektron yakalama ve termal iletkenlik dedektörleri gibi dedektörler analitleri tanımlamaz. Ancak kütle spektrometre gibi bazı ek teknikler, ayrımı yapılmış olan analitlerin tanınmasına yardımcı olurlar. İdeal dedektörler; uygun duyarlılık, kararlılık ve iyi tekrarlanabilirlik, geniş bir doğrusal

çalışma ve 400°C'ye kadar varan sıcaklık aralığında çalışılabilmesi, yüksek güvenilirlik ve kullanım kolaylığı, az hata verimi, belirli sınıf maddeler karşı seçici cevap verme ve numuneyi parçalamama gibi özelliklere sahip olmalıdırlar. GC'de dedektör olarak; alev iyonlaştırma dedektörü (FID), elektron yakalama dedektörü (ECD), termal iletkenlik dedektörü (TCD), azot-fosfor dedektörü (NPD), alev fotometrik dedektör (FPD), foto iyonlaştırma dedektörü (PID) kullanılır (Braithwaite ve Smith, 1999).

Gaz kromatografisi çoğu zaman ikili yöntemler adı verilen seçici spektroskopik ve elektrokimyasal tekniklerle bağlantılı olarak kompleks karışımların analizinde güçlü bir araç olarak kullanılır. 1970'li yılların başında özellikle gaz kromatografide kullanılmak üzere çeşitli kütle spektrometreleri imal edilmiştir. Şekil 4.4'te tipik bir MS cihazının GC, LC ya da kapiler elektroforez (CE) sistemlerine ait blok diyagramı verilmiştir. Kütle spektrometrik dedektörler genellikle anında sinyal görüntüleri ve bilgisayarda yeniden biçimlendirilmiş sinyal görüntüleri olmak üzere iki tip sinyal gürültüsü verirler. Bunların her birinde toplam iyon akım kromatogramları (zamana göre tüm iyon akımlarının kaynağı) (TIC), seçici iyon akım kromatogramları (zamana karşı bir veya birkaç iyonun oluşturduğu akımlar) (SIM) ve bazı kromatografik piklerin kütle spektrumları gözlenebilir. Bazı cihazlarda bulunan kütüphaneler maddeleri tanımda da yardımcı olabilir (Skoog ve diğ. 1998).



Şekil 4.4: Kromatografi/kütle spektrometrenin blok diyagramı (Smith, 2004).

Gaz kromatografisi/kütle spektrometre sistemleri; gıdalardaki tat-koku veren maddelerin ve pestisit kalıntılarının tayininde, su kirleticilerin tayininde, ilaç ve uyuşturucu metabolitlerin incelenmesinde kullanılmaktadır.

### 4.2.3 Gaz kromatografi uygulamaları

Gaz kromatografisi yönteminin uygulamada iki farklı rolü vardır. Bunlardan ilki, ayırma amacıyla kullanımıdır. Bu anlamda, kendisi veya bir türevi buharlaşabilen maddelerden oluşmuş kompleks organik sistemlerin, metal-organik maddelerin ve biyokimyasal sistemlerin ayırımında tercih edilir. İkinci önemli rolü ise ayrılan maddelerin teşhisini ve tayinini sağlamaktır. Kalitatif analizde alıkonma zamanları kullanılırken, pik yükseklikleri veya alanları da kantitatif amaçlar için değerlendirilir.

*Kalitatif analiz;* organik maddelerin safsızlık derecelerini belirlemede çok kullanılır. Teorik olarak alıkonma zamanları, karışımdaki maddelerin tanınmasında kullanılır. Ancak bu imkan sınırlıdır.

*Kantitatif analiz;* gaz kromatografisinde elde edilen sinyallerden (piklerden) yararlanılarak kantitatif tayinler yapılabilir. Böyle tayinlerde hata %1'e kadar düşebilir. Tayinlerde ya piklerin yükseklikleri ya da alanları esas alınır. Pik yüksekliği taşıyıcı gaz hızı, kolon doldurma şekli ve kullanılan dolgu maddesi gibi faktörlerden etkilenebilir. Bu nedenle pik alanları daha çok tercih edilir. Bu analiz yönteminde dış standart yöntemi kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilir. Daha sonra analit miktarı çizilen bu kalibrasyon eğrisi ile tayin edilir. Kalibrasyon dış standart pik alanına (y-ekseni), dış standartın miktarı (x-ekseni) olarak çizilir.

Kolon değişkenlerinden gelebilecek hataları ortadan kaldırabilmek için de iç standart (İ.S.) yöntemide kullanılmaktadır. Bu yöntemde iç standartın miktar ve pik alanı kullanılarak, analit (A) miktarı hesabı yapılabildiği gibi kalibrasyon tekniğide kullanılmaktadır. Kalibrasyon tekniğinde maddenin alanının iç standartın alanına bölümü, madde miktarına karşı çizilerek kalibrasyon eğrisi elde edilir. İç standart seçimi yapılırken alıkonma zamanının tayini yapılacak maddeninkilerine yakın olması ve piklerin birbirinden tamamen ayrı olması gerekir. Her iki yöntemde de analizi istenen madde ya da maddelerinde referans standartlarına ihtiyaç vardır.

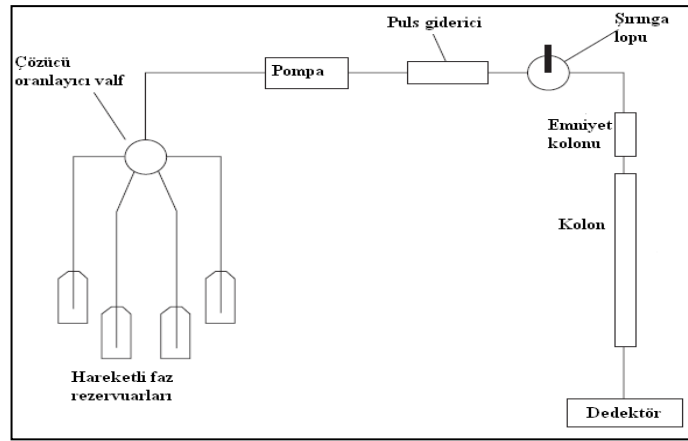
Birde standart ekleme yöntemi kullanılabilir. Bu yöntemde örnek içine belirli miktarlarda standart eklenerek elde edilen geri kazanım değerleri kullanılarak hesap yapılır (Özçimder ve Demirci, 2004).



### 4.3 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Sıvı kromatografisi polar, uçucu olmayan türler, termal yönden kararsız ve yüksek molekül kütlesine (54'ten 450.000 daltona kadar) sahip bileşikler için tercih edilen bir ayırma tekniğidir (Kellner ve diğ., 2004).

Modern sıvı kromatografi sistemlerinde tanecik boyutu 2-10 µm arasında olan dolgu maddeleri ile uygun sıvı akış hızları elde edebilmek için, özel pompa sistemleri kullanmak gerekir. Yüksek basınçlardaki sistem gereksinimleri HPLC cihazının gelişimiyle sağlanmıştır (Skoog ve diğ., 1998). Tipik bir HPLC cihazının şematik gösterimi Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5: Yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazının şematik gösterimi (Harvey, 2000).

#### 4.3.1 HPLC'de hareketli faz

HPLC'de kullanılacak hareketli faz, durgun fazla etkileşime girmeyecek, hızlı ve ekili ayırma yapabilecek özellikte olmalıdır. Hareketli faz, alıkonma zamanını etkileyen bir parametredir. Polaritesi düşük olan hareketli fazlar alıkonma süresini uzatabilmektedir (Harvey, 2000; Meyer, 2000).

Sıvı kromatografisindeki en büyük zorluk, uygun hareketli fazın seçimi ve deneysel şartların optimizasyonudur. Sıvı-sıvı kromatografide hareketli faz apolarken durgun faz polardır. Sıvı-katı kromatografide bu durum tam tersidir. Dolayısıyla iki yöntemin uygulanmasında farklı hareketli faz ya da faz karışım oranları tercih edilir (Christian, 1994).

HPLC'de tek bir hareketli faz kullanmak suretiyle yapılan ayırmaya izokrotik elüsyon, analiz sırasında hareketli fazın bileşiminde değişiklik yapılmasına gradient

elüsyon adı verilir. Elüsyonda pH, polarite ve iyonik kuvvetlerin değiştirilmesi ile analiz süresi kısaltılabilir ya da ayrıcılık daha iyi hale getirilebilir. Hareketli fazda kullanılan çözücülerin birbirleri içinde karışabilir olması gerektiği unutulmaması gereken önemli bir noktadır (Meyer, 2000).

#### **4.3.2 HPLC’de kolonlar**

HPLC kolonları çoğunlukla, kimyasal korozyona karşı inert (özellikle düşük pH’larda klor ve lityum iyonaları) ve HPLC basıncına dirençli paslanmaz çelik borulardan imal edilir. Analitik amaçlar için kullanılan kolonların iç çapları genellikle 2-5 mm’dir. Preparatif amaçlar içinse 10-25.4 mm arasında değişmektedir. Şayet 10 µm ya da daha düşük mikropartikül durgun faz kullanılıyorsa kolon uzunlukları 5, 10, 15 ya da 25 cm gibi boyutlarda olabilir (Meyer, 2000).

HPLC’de kullanılan en yaygın kolon dolgu maddeleri silikat esaslıdır. Silika esaslı maddeler doğrudan dolgu maddesi olarak kullanıldığı gibi bir katı yüzeyine film halinde kaplanabilir (Çiftçi, 2007). Silika esaslı kolonların dezavantajı çalışma pH aralığının dar olmasıdır. Bu amaçlarda alümina, polimer ve poröz grafit esaslı destek maddeleri de dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır.

#### **4.3.3 HPLC’de dedektörler**

İdeal bir HPLC dedektörü yüksek duyarlılık, kararlı ve tekrarlanabilirliği iyi, sıcaklık ve basınç değişimlerine duyarsız, akış hızından bağımsız hızlı cevap verebilme, bant genişletme etkisi küçük, güvenilir ve kullanımı kolay olması gibi özelliklere sahip olmalıdır (Braithwaite ve Smith, 1999).

Sıvı kromatografide dedektörler temel olarak iki tipdir. Yığın özelliği dedektörleri, hareketli fazın kırma indisi, dielektrik sabiti veya yoğunluğu gibi, analit tarafından değiştirilen yığın özelliklerine cevap veren dedektörlerdir. Analit özelliği dedektör tipi ise, analitin UV absorbansı, floresans şiddeti veya difüzyon akımı gibi hareketli fazın sahip olmadığı, bazı özelliklere cevap veren dedektörlerdir (Skoog ve diğ., 1998). Analit özelliği dedektörleri şunlardır; ultraviyole dedektörler (UV), fotodiyot ışın demeti dedektörleri (DAD), floresans dedektörler (FD), infrerad dedektörler (IR), elektrokimyasal dedektörler, iletkenlik dedektörleri, refraktif indeks dedektörleri (RID), buharlaştırmalı ışık saçma dedektörleri, radyoaktif dedektörler ve kütle spektrometre dedektörleridir (MS).

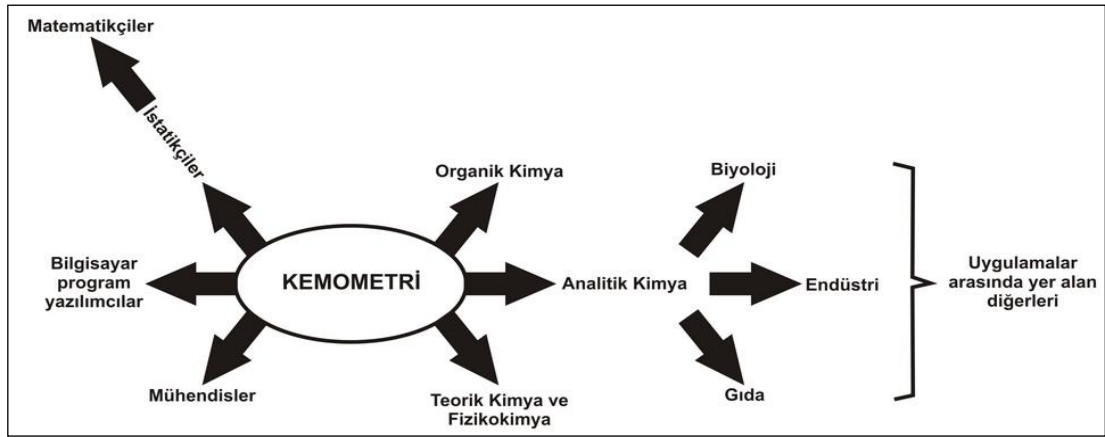
## 5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER (KEMOMETRİ)

Analitik kimyada, bir yöntem geliştirirken hem ayırma hem de analiz basamağında hangi olasılıkla hangi sonuçları alabileceğimiz yönündeki öngörülerin tartışılması gerekmektedir. Özellikle 1960'lı yılların ortalarına doğru analiz tekniklerinde bilgisayarla birleştirilmiş aletli tekniklerin gelişimiyle veri sayılarında büyük artış olmaya başlamıştır. Bu durum kimyada bilgisayar kullanımıyla ilişkili olarak kemometri adı verilen alt bir disiplin oluşumuna katkı yapmıştır. 1971 yılında Wold tarafından matematikçi ve istatistikçilerin kullandığı yaklaşımı kimyadaki deneysel işlemlere uyguladılar. Bu bağlamda; (I) optimal deney prosedürlerinin seçimi yada tasarımı, (II) analizi yapılmış kimyasal verilerle kimyasal bilgiler arasında maksimum ilişki sağlamak, (III) kimyasal sistemler hakkında bilgi sağlamak için yeni denilebilecek bir kimya disiplini olarak kemometri geliştirmiştir (Stalikas ve diğ., 2009). İsveçli Svante Wold ve Amerikalı Bruce R. Kowalski tarafından ilk defa 1972 yılında kemometri disiplini kullanılmaya başlanmıştır (Otto, 1999).

Kemometri, kimyasal veri analizi ile maksimum kimyasal bilgi sağlanmak için optimum ölçüm prosedürlerinin oluşturulması ya da seçilmesi amacıyla deneysel çalışmalar da deneysel tasarımda istatistik ve matematiği kullanan kimyasal bir disiplin olarak tanımlanmıştır (Otto, 1999, Miller and Miller, 2005).Günümüzde, analitik metodların optimizasyonunda daha az kaynak ekipmanları (zaman, reaktif, deneysel çalışma gibi) gerektirmesi gibi avantajından dolayı kemometri yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kemometri sadece kimya değil aynı zamanda diğer disiplinler arası ilişkilerde de kullanılmaktadır (Şekil 5.1).

Analitik veriler ya da yapılacak çalışmalar bilgisayar program temelinde hazırlanmış hazır paket programlar kullanılarak (MATLAB, MINITAB, SPSS vb) hem veriler için bazı basit istatistiksel testleri (standart hata, bağıl standart sapma, korelasyon, sistematik hataların belirlenmesi, varyans analizleri, t ve F testleri gibi) yapılabilirken, daha karmaşık gibi görünen deneysel çalışmaların optimizasyonuna (çoklu varyans analizi, deneysel tasarımlar, ana bileşen analizi, merkezi kompozit tasarım gibi) olanak sağlamaktadırlar. Analitik kimyanın karşılaştığı problemlere

cevap verebilmesi bakımından kemometri uygulamaları önem kazanmaktadır. Bu problemler; birçok alternatiften tek bir yöntemin seçimi, verilen bir probleme göre bir yöntemin optimizasyonu ve analitik işlemlerin kombine edilmesi halindeki optimizasyondur (Elçi, 2005). Tüm bu problemleri en aza indirmek için, farklı kemometrik optimizasyon teknikleri geliştirilmiştir. Özellikle son yıllarda analitik kimyacılar tarafından yöntem geliştirmede deneysel tasarım kullanımı yaygın bir durumdadır. Burada tüm kemometrik yöntemlere değinilmeyecektir. Sadece deneysel tasarım ve yöntem belirsizliği konuları hakkında kısa bilgiler verilecektir.



Şekil 5.1: Kemometrinin diğer disiplinlerle olan ilişkisi (Brereton, 2006).

## 5.1 Deneysel Tasarım

Deneysel tasarım, deney sonuçlarını etkileyebilecek faktörlerin belirlenmesinde, kontrol edilemeyen faktörlerin etkisini azaltmada ve çeşitli faktörlerle ilişkili etkilerin değerlendirilmesi ve ayrılması için kullanılan istatistiksel yöntemdir (Miller and Miller, 2005). Metod geliştirme çalışmalarında, deneysel parametrelerin çokluğu (sıcaklık, pH, nem, kullanılan reaktiflerin saflığı, çözücü bileşimi gibi) sonuçlara direk etki edebildiği için kontrol edilmeleri oldukça zordur. Bu nedenle iki düzeyli ya da üç düzeyli deneysel tasarım yöntemleri geliştirilmiştir. İki düzeyli tasarımlar, tam faktöriyel tasarım, tam olmayan faktöriyel tasarım, Plackett-Burman ve Taguchi tasarımlarıdır (Brereton, 2006). Üç düzeyli tasarımlar ise, merkezi kompozit tasarım, Doehlert tasarımı ve Box-Behnken tasarımlarıdır (Otto, 1999; Stalikas ve diğ. 2009).

Tam faktöriyel tasarım, her bir faktörün genel olarak etkisini incelerken aynı zamanda faktörlerin birbirleriyle olan etkileşimlerini de dikkate alır. Böyle bir tasarım için deney sayısı  $N=l^k$  denkleminde  $N$ , deney sayısı,  $l$ ,

düzy sayı (burada iki düzy olduğu için 2) ve k'da faktörlerin sayısını ifade etmektedir. Örneğin 7 deneysel faktör olan bir çalışma için tam faktöriyel tasarım yapmak istersek,  $2^k$ 'dan ( $2^7$ ) 128 tane deney sayısını ile karşılaşırız. Ancak bu sayı yapılacak paralel çalışmalarda dikkate alındığında oldukça yüksektir. Bu nedenle deney sayısını azaltmak için tam olmayan faktöriyel tasarım ya da Plackett-Burman tasarımlar geliştirilmiştir. Bu tasarımlarda  $2^k$  olan deney sayısı,  $2^{k-f}$  denklemi ile deney sayısı  $1/2$  ( $f=1$ ),  $1/4$  ( $f=2$ ),  $1/8$  ( $f=3$ ) ve buna benzer şekilde azaltılmaktadır. Burada f, deney sayısındaki azaltmanın hangi oranda yapılacağını ifade eder. Şayet 7 faktörlü bir deney tasarımında  $1/16$  oranında azaltmak istersek  $f=4$  olacağı için,  $2^{7-4}$  denklem hesabına göre yapılacak deney sayısı 124'ten 8'e düşürülmüş olur.

Faktöriyel tasarım basamakları sırasıyla şöyledir; 1- Her bir faktörün alt (- ya da -1) ve üst (+ ya da +1) düzeyleri belirlenir, 2- belirlenen şartlarda deneysel tasarım istatistiksel programlar yardımıyla kurulur, 3- kurulan tasarımda tanımlanan deney bloklarının uygulaması yapılarak veriler elde edilir (burada tasarımdan alınan deney verileri sırasıyla değil, karışık sırada yapılmasına dikkat edilmelidir), 4- alınan veriler tasarıma yüklenerek özel Pareto diyagramları oluşturulur, 5- sonuçlar değerlendirilerek metodun optimizasyon sonuçlarına karar verilir. Burada tasarım oluşturulurken analizcinin mutlaka bazı ön bilgilere sahip olması gerektiği de unutulmamalıdır. Aşağıdaki Tablo 5.1'de 5 faktör içeren bir metod için oluşturulan deneysel tasarım örneği ve yapılacak deney listesi verilmiştir.

Tablo 5.1: 5 faktör için Plackett-Burman deneysel tasarımı.

Faktörler	Düzeyler	
	Düşük (-)	Yüksek (+)
A	-	+
B	-	+
C	-	+
D	-	+
E	-	+

Deney	Faktörler				
	A	B	C	D	E
1	-	+	+	+	-
2	-	-	+	-	+
3	+	+	+	-	-
4	-	+	-	+	+
5	+	-	-	+	-
6	+	+	-	-	+
7	0	0	0	0	0
8	+	-	+	+	+
9	-	-	-	-	-

Literatürde pestisit çalışmalarının metod optimizasyonun da deneysel tasarım uygulamalarına birkaç örnek aşağıda verilmiştir;

Bouaid ve ark. (2001) toprak örneklerinden dört organofosfor pestisit ve atrazinin SPME tekniğini kullanarak GC ile tayininde ekstraksiyon süresi, iyonik kuvvet, karıştırma hızı, desorpsiyon sıcaklığı olmak üzere 4 faktörü değerlendirmişlerdir.

Yine diğer bir çalışma da Boucharat ve ark. (1998) klorlanmış su ürünleri ve asidik herbisitlerin türevlendirerek eş zamanlı analizinde tam faktöriyel tasarımı yapmışlardır. Deneysel faktörleri sıcaklık, pentaflorobenzilbromür miktarı ve reaksiyon süresi olarak seçmişlerdir.

Huertas-Pérez ve ark. (2004) ise karbaril pestisitinin sebzeler ve doğal sularda duyarlı bir şekilde tayini için luminol kemiuminesans reaksiyon temelinde analiz etmek için metot geliştirmişlerdir. Metot optimizasyonunda sodyumhidroksit derişimi, luminol derişimi ve potasyum permanganat derişimi olmak üzere üç faktörü kullanarak tam faktöriyel tasarım yapmışlardır.

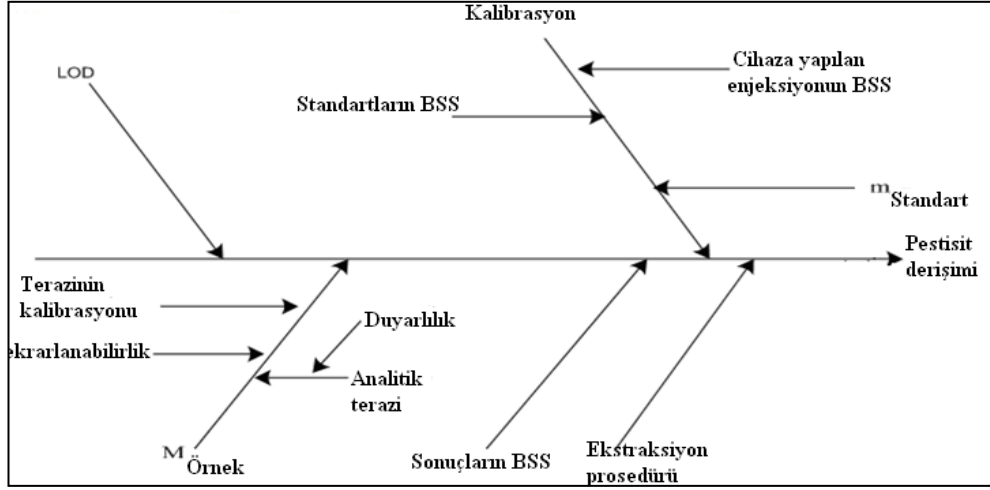
Mathialagan ve Viraraghavan (2005) fungal biyokütle kullanarak sulu çözeltilerden pentakloro fenolün biyosorpsiyon çalışmasında 5 faktörlü bir tasarım kullanmışlardır. Bu çalışmayı tam olmayan faktöriyel tasarım ile değerlendirmişlerdir. Seçmiş oldukları faktörler sırasıyla; biyokütlenin tipi, pH, derişim, sıcaklık ve çözünmüş oksijen miktarıdır.

Doğal sularda kişisel bakım ürünlerinin DLLME tekniği ile belirlemede Panagiotou ve ark. (2009) kemometriyi kullanmışlardır. Plackett-Burman tasarımı kullanarak metod optimizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada 7 tane fatör (disperser çözücü hacmi, ekstraksiyon çözücü hacmi, pH, iyonik kuvvet, ekstraksiyon süresi, santrifüj hızı ve santrifüj süresi) değerlendirmişlerdir.

## **5.2 Yöntem Belirsizliği**

Yöntem belirsizliğini ölçümün belirsizliği ile tanımlayabiliriz. Ölçüm belirsizliği ise herhangi bir ölçümdeki şüpheli ifade eder. Hata; ölçüm sonucu ile ölçülen büyüklüğün gerçek değerinin en iyi tahmini arasındaki farktır. Belirsizlik ise ölçüm sonucundaki şüphelinin nicel değeridir. Ölçüm belirsizliği ise, ölçülen büyüklüğe karşılık gelen nicel değerlerinin kullanılan bilgiler doğrultusunda dağılımını karakterize eden parametredir (ISO/IEC Guide 99, 2007). Ölçüm belirsizliğinin hesabı, ana belirsizlik kaynaklarının belirlenmesinde ölçüm prosedürünü geliştirme ve ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması için önemlidir. Belirsizliğin hesabı,

belirsizliğe neden olan kaynakların doğru bir biçimde seçimine bağlıdır. Bunun için balık kılıçığı (Ishikawa) adı verilen basit bir diyagram çizilir (Şekil 5.2) (Vaccaro ve diğ., 2007).



Şekil 5.2: Herhangi bir pestisit tayin yönteminde oluşturulmuş balık kılıçığı diyagramı.

Burada hesaplama önce modelde belirlenen hata kaynakları değerleri ile ilişkili bileşenin tek tek birleşik standart ölçüm belirsizliği ( $u_c(y)$ ) hesaplanır. Daha sonra genişletilmiş ölçüm belirsizliği  $U=k \cdot u_c(y)$  eşitliğiyle hesaplanarak bulunur. Burada  $k$ , kapsam faktörüdür (genişletilmiş belirsizlik için belirli güvenilirlik seviyesini verir).

Ölçüm belirsizliği, ölçüm prosedürünün çok iyi bir şekilde anlaşılmasını sağlarken aynı zamanda belirsizliğin en önemli kaynaklarının da belirlenmesine yardımcı olur (TrainMiC, 2010).

## **6. DENEYSEL BÖLÜM I**

### **6.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografik Herbisit Tayini**

Bu tez çalışmasının ilk bölümünde Denizli çevresinde çok tüketilen bazı sebze örnekleri ile su ve sediment örneklerinde atrazin, simazin ve mezotrin gibi herbisit kalıntısı tayini yapıldı. Sebze örneklerinden mezotrin, atrazin ve simazin soxhlet aparatında kloroform ile ekstrakte edildi. Aynı herbisitlerin sediment örneklerinden ekstraksiyonları kloroform kullanarak çalkalayıcı yardımıyla gerçekleştirildi. Su örneklerinden herbisitlerin toplanması için katı faz ekstraksiyonu yöntemi kullanıldı. Bu örneklerden ekstrakte edilen atrazin, simazin ve mezotrin tayini yüksek performanlı sıvı kromatografik diyot array dedektör (HPLC-DAD) ile yapıldı. Bu herbisit ekstraksiyon ve tayinlerinin önemli bir kısmı, Silesian Teknik Üniversitesi (Polonya) Kimya Fakültesi, Analitik Kimya Bölümünde Prof.Dr. Baranowska'nın araştırma laboratuvarlarında yapılmıştır.

#### **6.1.1 Ölçüm sistemi**

Bu tez çalışmasında, atrazin, simazin ve mezotrin analizleri Hitachi L-6200 marka HPLC ve dedektör olarak da Hitachi L-4500, fotodiyot dedektör (DAD) ile tayinler gerçekleştirilmiştir. Ters faz oktadesil (RP-18) (LiChroCART) 125 mm x 3 mm ID ve 5 µm partikül boyutuna sahip paslanmaz çelik kolon ve güvenlik kolonu olarak RP-18, 4 mm x 4 mm ID, 5 µm partikül boyutunda kolon kullanılmıştır. Hareketli faz metanol:su (50:50, V/V) çözelitisi dir. Akış hızı 0,8 mL/dakika olup, 222 nm'de analiz gerçekleştirildi. Örnek çözeltileri HPLC cihazına 20 µL olarak Hamilton (USA) enjektör ile yapıldı. Sonuçlar üç ölçümün ortalaması olarak verildi. Herbisitlerin spektrumları Hewell Packard 8452A (Germany) model spektrometre ile alındı.

Deneyleerde sebze örneklerinden mezotrin, atrazin ve simazinin ekstraksiyonu için 250 mL hacme sahip Soxhlet aparatı kullanıldı.

Sediment örneklerinden mezotrin, atrazin ve simazin'in ekstraksiyonu için IKA (KS 130 control, WERKE-GmbH, Germany) marka çalkalayıcı kullanıldı.



Çalışmada katı faz ekstraksiyonları J.T Baker marka 12 portlu vakum ekstraksiyon ünitesi ile gerçekleştirildi.

### **6.1.2 Kimyasal maddeler ve stok çözeltiler**

Tez çalışması boyunca, çözeltilerin hazırlanması ve seyreltilmesi aşamalarında deiyonize saf su kullanıldı. Kromatografik saflıkta asetonitril ve metanol Merck firmasından (Darmstadt, Germany), asetik asit, kloroform, nitrik asit ve potasyum di hidrojen fosfat POCH firmasından (POCH S.A., Poland) satın alındı.

Atrazin (2-kloro-4-etilamino-6-izopropilamino-1,3,5-triazin), simazin (2,4-Bis (etilamino)-6-kloro-1,3,5-triazin) ve mezotrin (2-(4-mesil-2-nitrobenzoil) sikloheksan-1,3-dion) herbisit standartları Sigma-aldrich (Supelco,USA) firmasından alındı.

Stok standart çözeltiler (1 mg/mL), herbir herbisitten 10 mg tartılarak 10 mL'lik metanolde çözüldü. Seyreltik çözeltiler, deneyin yapıldığı gün, bu stoktan seyreltme ile günlük olarak hazırlanmış ve + 4°C'de saklanmıştır.

Katı faz ekstraksiyonda (SPE) sorbent olarak Bakerbond SPE Aromatik Sulfonik Asid (3 ml, 500 mg, J.T. Baker) kolon, Bakerbond SPE Octadesil (C<sub>18</sub>, 6 ml, 500 mg, J.T. Baker) kolon ve Bakerbond marka disk katı faz ekstraksiyon, Octadesil (C<sub>18</sub>, J.T. Baker, Denventer, Netherlands) disk kullanıldı. Disk katı faz ekstraksiyonu diskini SPE kolondan ayıran temel farklar ekstraksiyon işleminin 9 kat daha hızlı gerçekleşmesi, partikül boyutu (10-25 µm) ve kolon boyutu/sorbent (1cm<sup>3</sup>/20 mg) içerikleridir.

### **6.1.3 Cam ve plastik kapların temizliği**

Numunelerin alındığı polietilen kaplar ve çalışmada kullanılan cam malzemeler, önce deterjanla yıkandı ve sonra bol çeşme suyu ile durulandı. Daha sonra damıtık su ile yıkandı. Bu şekilde ön temizliği yapılan kaplar, 1:1 HNO<sub>3</sub>, damıtık su, 1:1 HCl ve damıtık su ile iyice yıkandı. Bu çalışma boyunca cam kaplar da benzer yol ile temizlendi.

### **6.1.4 Örnek alınması, saklanması ve analitlerin ekstraksiyonu**

Termal su örnekleri, Denizli'nin Karahayıt'taki kırmızı su olarak bilinen termal sudan ve Pamukkale travertenlerinin ana kaynaklarından polietilen kaplara alınıp

hemen laboratuvar ortamına taşınarak +4°C'ye ayarlanmış buzdolabında analize kadar saklandı.

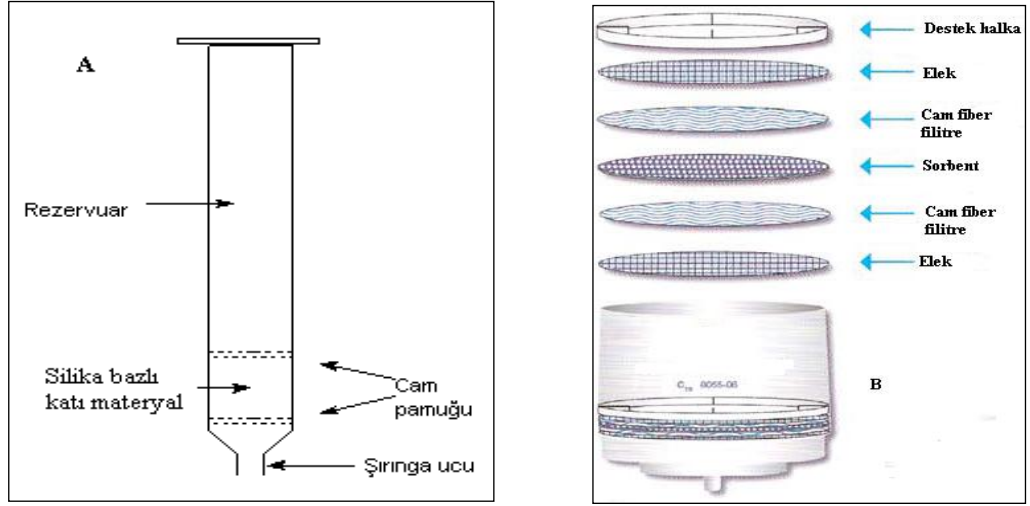
Denizli'de halk pazarlarından, farklı satıcılardan alınan sebze örnekleri de (afyon, ıspanak, gelincik, ısırgan otu, pırasa, brokoli ve maydanoz) polietilen kaplar içine alınarak vakumlanıp, +4°C'ye ayarlanmış buzdolabında saklanmıştır. Sebze örnekleri, direkt yaş sebze örneği öğütülerek 50 g tartılarak ekstraksiyon kartuşuna yerleştirildi. Daha sonra 50 mL kloroform ile 8 saat Soxhlet ekstraksiyonuna tabii tutuldu. Oluşan fazlar yani hem alttaki faz hem de üstteki faz birleştirilerek, N<sub>2</sub> varlığında ekstraktlar kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve SPE uygulandı.

Sediment örnekleri, kırmızı su ve Pamukkale traverten havuzlarının dip kısmından alındı. Polietilen kaplar yardımıyla laboratuvara getirilerek 35°C'de sterilize etüvde kurularak saklandı. Sediment örnekleri, 35°C'de sterilize etüvde kurutulduktan sonra 0.1 mesh'lik elekten geçirildi. 100 g sediment örneği kapaklı bir erlene alınarak içerisine 100 mL kloroform ilave edildi ve 24 saat bekletildi. Sonra karışım 2 saat boyunca çalkalayıcı ile 1200 rpm'de çalkalandı. Daha sonra süzülerek N<sub>2</sub> varlığında kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve SPE uygulandı.

### **6.1.5 Su örneklerinin katı faz ekstraksiyonu**

Su örnekleri için direkt katı faz ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır. Bunun için yüzey alanı daha geniş olan disk katı faz ekstraksiyon diskleri ve SPE hazır kolonlar kullanılmıştır. Çalışmada su örnekleri için oktadesil, sediment ve bitkiler için PhSO<sub>3</sub>H ((C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)SO<sub>3</sub>H) dolgululu kolon seçtik. Şekil 6.1'de SPE kolonuna ve disk katı faz ekstraksiyona ait kısımlar gösterilmiştir.

Su örneklerinin katı faz ekstraksiyon yöntemi ile analiz için, kolon ve disk katı faz ekstraksiyon yöntemi ile örnekleme yapıldı. Birinci örneklemede, oktadesil sorbent içeren normal katı faz kolonu kullanılmıştır. Kolon 3 mL metanol ve 3 mL saf su ard arda geçirilerek şartlandırıldı. Ekstraksiyon için 500 mL su örneği kolondan geçirildi ve sonra kolon vakum altında 1 dakika boyunca kurutuldu. Sonra analitler 2 mL metanol ile elue edildi. Kolonun bir sonraki ekstraksiyon işlemi için, kolon tekrar şartlandırıldı.



Şekil 6.1: Katı faz ekstraksiyon kolonu (SPE) (A) Disk katı faz ekstraksiyon kolonu (B).

İkinci örneklemede ise oktadesil sorbent içeren partikül boyutu daha küçük, disk katı faz ekstraksiyonu kullanıldı. Diskin şartlandırılması ve disk ile örnekten analitlerin ekstraksiyonu kolon işlemleri gibi uygulandı.

Her iki ekstraksiyon ile elde edilen eluattaki analitler, çalışma şartları optimize edilmiş HPLC ile analiz edildi.

### 6.1.6 Sediment ve sebze örneklerinin katı faz ekstraksiyonu

Azot atmosferi varlığında kuruluğa kadar buharlaştırılmış olan sediment ve sebze örneklerine, 5 mL asetonitril ilave edildi. Karışım iyice çalkalandıktan sonra çözelti içindeki partikülleri uzaklaştırmak için 0.2 µm'lik şırınga filtreden süzüldü. 5 mL'lik süzüntüye 25 mL asetik asit/su (1:99 oranında) karışımı ilave edilerek seyreltildi. Elde edilen çözelti 3 mL asetik asit/su (1:99 oranında) ile şartlandırılan aromatik sülfonik asit (PhSO<sub>3</sub>H) SPE kolonundan geçirildi. Bu işlemle analitler kolonda alıkonulurken matriks bileşenleri kolondan uzaklaştırıldı. Kolonda olası alıkonan farklı polaritedeki matriks bileşenlerinin uzaklaştırılması için sırasıyla 2 mL asetik asit/su (1:99 oranında) ve 1 mL asetonitril kolondan geçirildi. Daha sonra ortamdaki asidik -SO<sub>3</sub>H gruplarını sülfonatlar haline getirerek hidrojen bağı zayıflatmak amacıyla 1 mL 0.1 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi kolondan geçirilerek kolon 2 dakika boyunca vakum altında kurumaya bırakıldı. Son olarak kolonda tutunmuş olan analitler 2 mL asetonitril/0.1 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1:1 oranında) ile elue edildi. Kolonun bir sonraki analize hazır hale getirmek için, önce asetonitril daha sonra saf su kolondan geçirilerek kolon

temizlendi. Elue edilen örnekler, belirlenen HPLC çalışma şartlarında sisteme enjekte edildi (Baranowska ve diğ., 2006).

### 6.1.7 Kromatografik şartlar

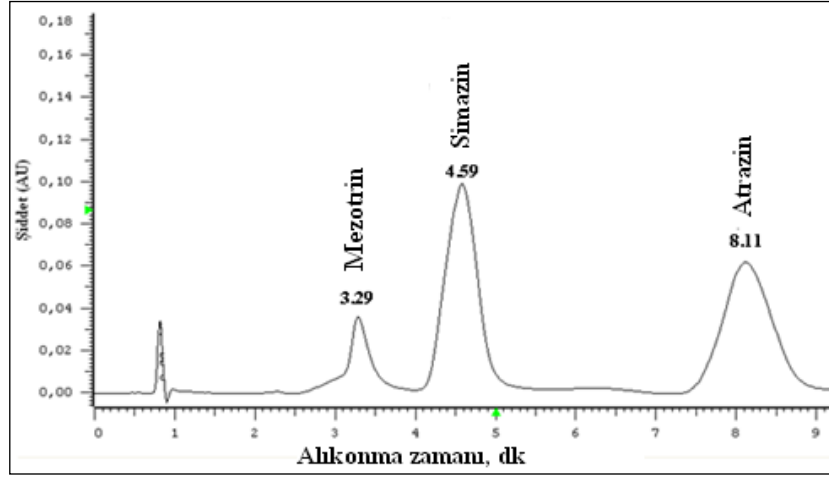
Tayini amaçlanan herbisitleri kromatografik olarak ayırmak için Baranowska ve ark. (2005) tarafından önerilen yöntem esas alındı. Atrazin ve simazin için HPLC çalışma şartları, ters faz oktadesil (RP-C<sub>18</sub>) kullanımıyla hareketli faz; CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O 1:1 v/v, akış hızı; 0.8 mL/dak, dalga boyu; 222 nm'dir. Bizim bu çalışmamızda atrazin ve simazinin yanında mezotrinin eş zamanlı analizi de yapılmıştır. Mezotrin ilk defa bu metotla tayin edilmiştir.

HPLC çalışma şartlarının belirlenmesi amacıyla 20 µg mL<sup>-1</sup> atrazin, mezotrin ve simazin içeren standart çözelti ile 200-800 nm aralığında dalga boyu taraması yapıldı. Sonuçta, herbisitlerin 222 nm ve 254 nm'de maksimum absorbans verdikleri görüldü. 222 nm'de elde edilen kromatogramlardaki pik alanları ile 254 nm'deki pik alanları karşılaştırıldığında; 222 nm dalga boyunda atrazin ve simazinin, 254 nm dalga boyunda ise mezotrinin daha büyük pik alanına sahip olduğu görüldü (Tablo 6.1). Atrazin ve simazinin daha duyarlılığı olduğu 222 nm'de mezotrinin duyarlılık kaybı daha küçüktür. Bu sebeple analizler 222 nm'de gerçekleştirildi.

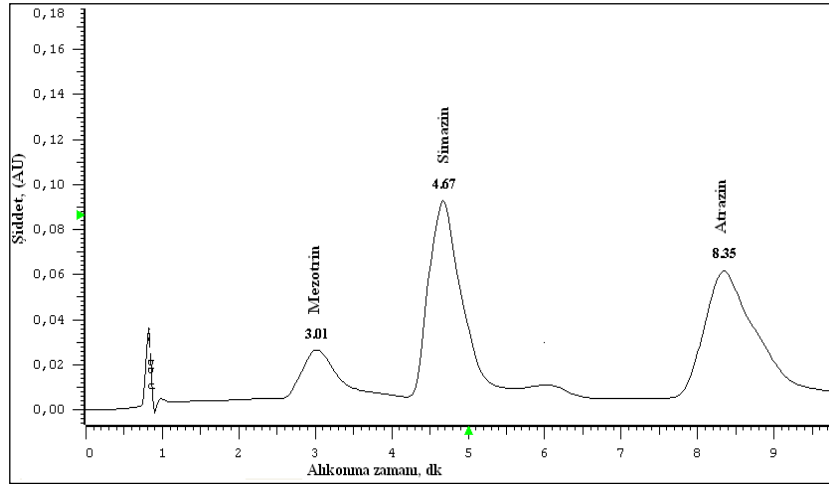
Tablo 6.1: Herbisitlerin pik alanlarının dalga boyu ile değişimi (Standart çözelti karışımı: 20 µg mL<sup>-1</sup>, hareketli faz; CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O 1:1 v/v, akış hızı; 0.8 mL/dak).

Dalga boyu, nm	Pik Alanı		
	Mezotrin	Simazin	Atrazin
222	707401	2142975	1789378
254	1320605	463788	190951

Mezotrin, atrazin ve simazin'nin eş zamanlı tayininde, C<sub>18</sub> (ODS) kolonda alıkonma şartlarını belirlemek amacıyla hareketli faz olarak metanol, su ve trifloro asetik asit (TFA) kullanılarak hareketli faz bileşimi için kromatogramlar alındı. Mezotrin tayini için de, atrazin ve simazin bileşikleri için kullanılan hareketli faz test edildi. Elüsyon 0.8 mL/dak akış hızında hacimce 1:1 olacak şekilde metanol-su (Şekil 6.2) ve metanol-su + % 0.05 TFA izokrotik olarak gerçekleştirildi (Şekil 6.3).



Şekil 6.2: 20 µg L<sup>-1</sup> mezotrin, simazin ve atrazin çözeltisinin CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O hareketli fazıyla alınan kromatogramı.



Şekil 6.3: 20 µg L<sup>-1</sup> mezotrin, simazin ve atrazin çözeltisinin CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O+ % 0.05 TFA hareketli fazıyla alınan kromatogramı.

Şekil 6.2 ve 6.3'e bakıldığında, her iki hareketli faz oranlarında herbisitler birbirinden ayrılmışlardır. MeOH:Su (1:1, v/v) hareketli faz ile elde edilen alıkonma zamanları mezotrin, simazin ve atrazin için sırasıyla 3.29, 4.59 ve 8.11'dir. MeOH:Su + % 0.05 TFA (1:1, v/v) hareketli faz oranında ise alıkonma zamanları sırasıyla 3.01, 4.67 ve 8.35 olarak görüldü. Atrazin ve simazinin alıkonma sürelerindeki küçük değişikliğin nedeni, TFA'nın simazin ve atrazin yapısındaki -N-H gruplarındaki azotlar üzerindeki elektron çiftlerini protonlamış olma ihtimalinden kaynaklanmış olabilir. Bu durum, bileşiklerin polaritelerini de küçük de olsa değiştirmiştir. Ayrıca hareketli faza TFA ilavesi piklerin kuyruklanmalarına (Tailing) neden olmuştur. TFA içeren hareketli faz ile mezotrin ile simazinin tekrarlanabilirliğinin bozulması nedeniyle, hareketli faz olarak MeOH:Su (1:1, v/v)

seçilmiştir. Bu hareketli fazın seçiminde analitlerin örneklerden ekstraksiyonlarında kullanılan ekstraksiyon çözücüsünün hareketli faz ile kolay karışması da dikkate alınmıştır. Daha sonraki çalışmalar akış hızı 0.8 mL/dak ve hareketli faz metanol-su (1:1, v/v) karışımında gerçekleştirilmiştir.

### 6.1.8 Yöntemin analitik değerlendirilmesi

Analitik değerlendirme için öncelikle kalibrasyon eğrileri incelenmiştir. Kalibrasyon doğruları için kullanılan standartlar ekstraksiyon çözeltileri dikkate alınarak hazırlanmıştır. Ekstraksiyon çözeltileri, analit içermediğinden emin olunan örneklerle uygulana ekstraksiyon sonucu elde edilmiştir. Bu çözeltilere değişen derişimlerde herbisit ilavesi yapılarak kalibrasyon doğruları türetilmiştir (Tablo 6.2). Kalibrasyon eğrileri, HPLC cihazının kendi yazılım programıyla oluşturulmuştur. Yöntemin analitler için gözlenebilme sınırlarının (LOD) belirlenmesi için, çalışılan optimum şartlarda analit içermeyen 12 tane kör çözelti hazırlandı ve bu çözeltilerden 20 µL alınarak HPLC'ye enjekte edildi. Analitlerin alıkonma zamanındaki piklerin pik alan değerleri ve standart sapmaları hesaplandı. Ortalama pik alan değeri, standart sapmasının 3 katı ile toplanarak elde edilen pik alan değeri kalibrasyon doğrusunda yerine konarak gözlenebilme sınırları belirlendi (S/N=3). Tayin sınırı ise (LOQ) ise ortalama pik alan değeri, standart sapmasının 10 katı ile toplanarak kalibrasyon denkleminde yerine koyularak hesaplanmıştır. Bu çalışmalar sonunda elde edilen sonuçlar Tablo 6.2'de verilmiştir.

Tablo 6.2: Herbisit analizlerine ilişkin analitik değerlendirme verileri.

Herbisitler	Örnek türü	Derişim aralığı (µg mL <sup>-1</sup> )	Kalibrasyon eğrisi	r <sup>2</sup>	LOD (S/N=3) (µg mL <sup>-1</sup> )	LOQ (S/N=10) (µg mL <sup>-1</sup> )
	Sediment	1-30	y = 152634x - 320532	0,963	0,10	0,35
Mezotrin	Sebze	4-51	y = 17816x - 70087	0,957	0,06	0,20
	Su	1.5-16	y = 37121x + 11372	0,993	0,08	0,25
Simazin	Sediment	2-50	y = 139715x + 52676	0,994	0,03	0,10
	Sebze	1-60	y = 37568x + 238579	0,980	0,06	0,20
	Su	1-28	y = 50084x + 51388	0,988	0,04	0,10
Atrazin	Sediment	2-50	y = 182947x - 220437	0,998	0,04	0,10
	Sebze	1-60	y = 54539x + 104427	0,991	0,05	0,15
	Su	1.5-32	y = 41576x + 23969	0,989	0,10	0,35

Geliştirilen yöntem, sediment, kırmızı su ve brokoli örneklerindeki mezotrin, atrazin ve simazin içeriklerinin tayininde kullanıldı. Sonuçlarının doğruluğu için analitik eklemeli örnek analizi yapıldı. Pamukkale sediment, brokoli ve musluk suyu örneklerinden mezotrin % 3,6-16,0 bağıl standard sapma (BSS) ile % 70-97 aralığında; simazin % 2,3-6,5 BSS ile % 82-95; ve atrazin % 3.2-6.0 BSS ile % 77-90 aralığında geri kazanılmıştır (Tablo 6.3).

Tablo 6.3: Bazı örneklere yöntemin uygulanması (N:3)

Analitler	Pamukkale sediment			Brokoli			Musluk suyu		
	Eklenen (µg)	Bulunan <sup>a</sup> (µg)	R (%)	Eklenen (µg)	Bulunan <sup>a</sup> (µg)	R (%)	Eklenen (µg)	Bulunan <sup>a</sup> (µg)	R (%)
Mezotrin	-	BDL	-	-	BDL	-	-	BDL	-
	20	14,0±0,5	70,0±2,5	10	8,0±0,5	80,0±12,8	2,4	2,2±0,1	92,0±4,1
	80	60,0±2,6	75,0±3,2	40	35,0±1,0	87,5±2,5	16,0	15,5±1,0	97,0±6,2
Simazin	-	BDL	-	-	41,0±5,5	-	-	BDL	-
	220	192,0±8,0	87,3±3,5	10	50,5±3,3	95,0±6,2	0,4	0,34±0,02	85,0±4,9
	480	418,0±44,0	87,1±9,1	40	76,0±1,7	87,5±2,0	1,6	1,32±0,06	82,5±3,7
Atrazin	-	BDL	-	-	10,0±1,0	-	-	BDL	-
	220	188,0±7,0	85,4±2,7	10	18,0±1,1	80,0±4,8	0,4	0,36±0,02	90,0±5,0
	440	380,0±22,0	86,4±5,0	20	25,5±1,2	77,5±3,7	0,8	0,68±0,04	85,0±4,5

<sup>a</sup>ortalama ± standart sapma, BDL: gözlenebilme sınırının altında

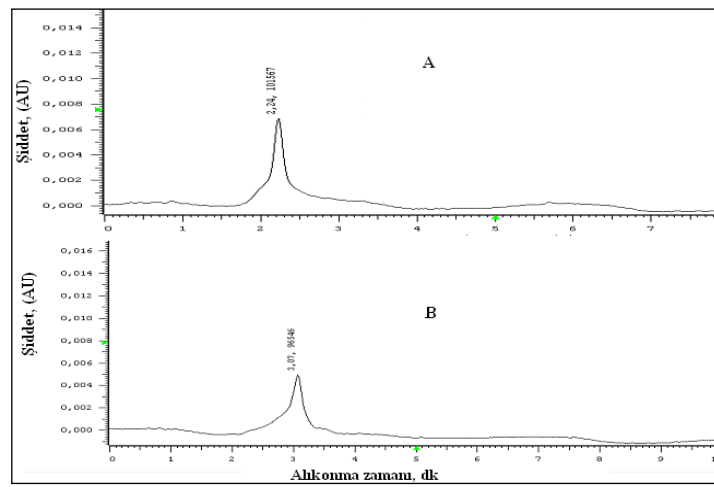


## 6.2 Analitik Uygulamalar

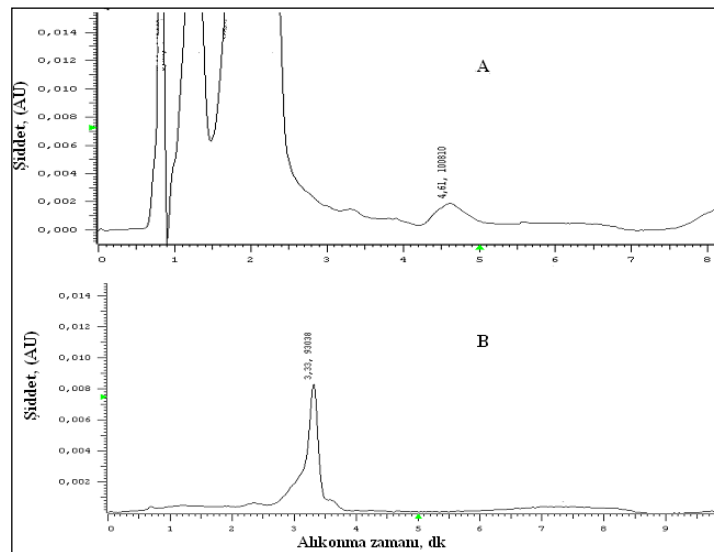
Bu bölümde yöntemin farklı matrisli örneklerdeki pestisit tayinine ilişkin kromatogramlar incelenmiş ve analiz sonuçları verilmiştir.

### 6.2.1 Termal su örneklerinin analizi

Termal su örneklerine, kolon katı faz ekstraksiyonu (SPE) ve disk katı faz ekstraksiyonu uygulanmıştır. Ekstraktların HPLC kromatogramları, Pamukkale suyu için Şekil 6.4 ve Karahayıt suyu için Şekil 6.5'te verilmiştir.

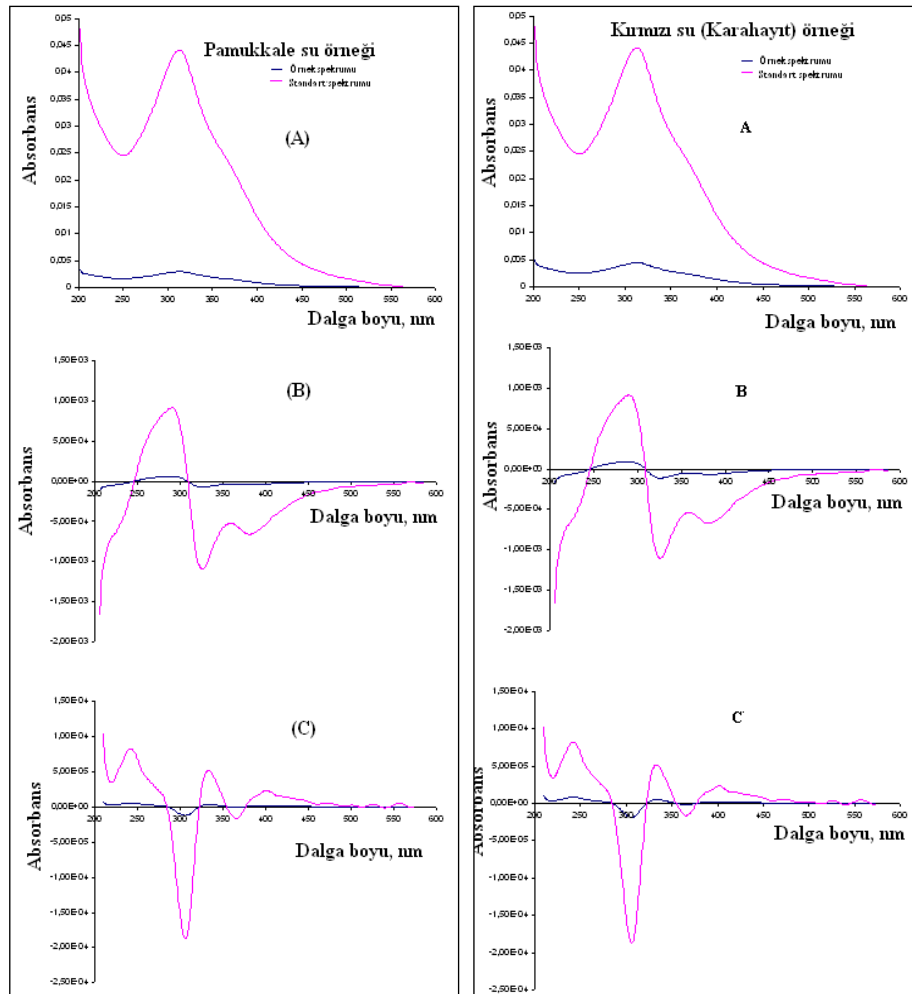


Şekil 6.4: Pamukkale suyu kromatogramları; SPE sonrası (A) ve Disk katı faz ekstraksiyonu (B) (hareketli faz; CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O 1:1 v/v, akış hızı; 0.8 mL dk<sup>-1</sup>).



Şekil 6.5: Kırmızı su (Karahayıt) kromatogramları; SPE (A) ve Disk katı faz ekstraksiyonu (B).

Şekil 6.4 ve 6.5'teki her iki su örneğinin disk katı faz ekstraksiyonuna ilişkin kromatogramlar, Şekil 6.2'deki standart kromatogramları ile karşılaştırıldığında mezotrin piklerinin matrisle ilgili olarak küçük kaymalar göstermektedir. Pamukkale suyu için mezotrinin alıkonma zamanı 3.07 iken kırmızı su için 3.33 olduğu görülmüştür. Standartlarla alınan kromatogramda mezotrinin alıkonma süresi 3.29 dakikadır. Pamukkale ve Karahayıt (kırmızı su) su örneklerinin disk katı faz ekstraksiyonu yardımıyla alınan kromatogramlardan su örneklerinin sadece mezotrin herbisitini içerdikleri belirlendi. Disk katı faz ekstraksiyonu ve SPE ile yapılan ekstraksiyondan benzer sonuçlar alınamamıştır. Disk katı faz ekstraksiyonu kromatogramındaki pikin mezotrin olduğundan emin olmak için ekstraktların türev spektrumları da incelendi (Owen, 1995). Pamukkale ve kırmızı su örnekleri için mezotrine ait türev spektrumları Şekil 6.6'da verilmiştir.



Şekil 6.6: Pamukkale ve kırmızı su (Karahayıt) örneklerine ait mezotrin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B) II. türev spektrumu (C).

Normal spektrum da (sıfırıncı derece türev spektrumu) örtüşen pikleri ayırmak için türev spektumu kullanılır. Birinci derece türev spektrumunda yeni maksimum ve minimumlar görülür. Ayrıca spektrumun x-eksenini kesim noktaları bulunur. İkinci türev spektrumunun en karakteristik özelliği ise türevsiz spektrumundaki pikin ters yönde pik şeklinde ortaya çıkmasıdır. Aynı zamanda pozitif bantlar oluşabilir. Ancak negatif bantta gözlenen değişim dikkate alınır. Bu bağlamda Şekil 6.6 ve 6.7 verilen türev spektrumları ile standarda ait spektrum karşılaştırıldığında her iki termal su örneğinde de mezotrinin bulunduğu anlaşılır. Standarda ait spektrumlar  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimde standart kullanılarak alınmıştır.

Şekil 6.4 ve 6.5'te elde edilen kromatogramlara göre, Pamukkale su örneğinde mezotrin, kırmızı su örneğinde ise atrazin ve mezotrin bulunduğu görülmüştü. Kırmızı su örneği disk katı faz ekstraksiyonu sonrası ve pamukkale su örneğinin kolon SPE ekstraktlarının HPLC ile analizinde elde edilen herbisit derişimleri ise Tablo 6.4'te verilmiştir.

Tablo 6.4: Pamukkale ve Karahayıt Su Örneklerindeki Mezotrin, Simazin ve Atrazin Derişimleri (N:3).

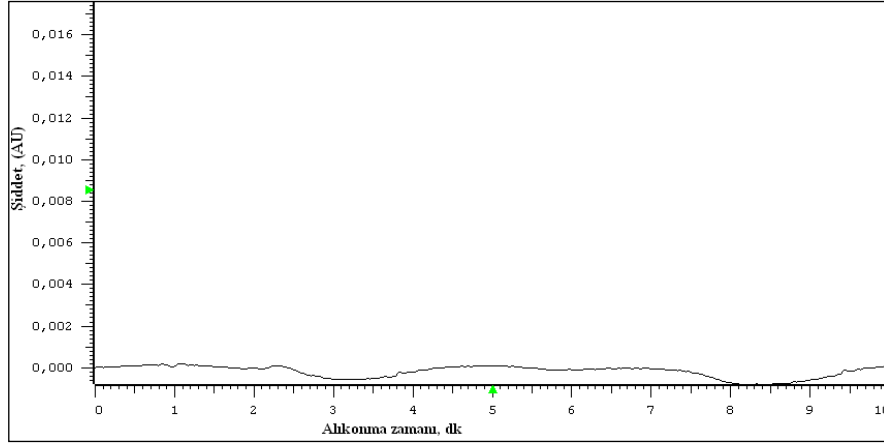
Termal Su örnekleri	Derişimler, ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		
	Mezotrin	Simazin	Atrazin
Kırmızı su	$4,96 \pm 0,52$	BDL	BDL
Pamukkale su	$2,40 \pm 0,10$	BDL	BDL

BDL; Gözlenebilme sınırının altında

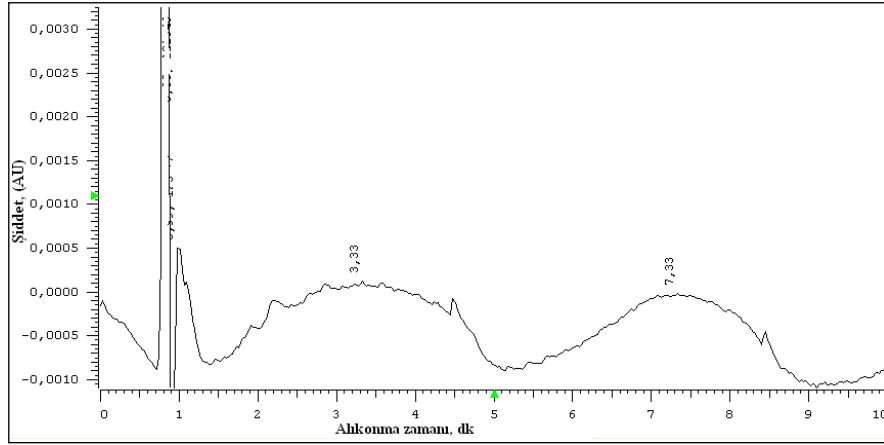
<sup>a</sup>ortalama  $\pm$ std. sapma

## 6.2.2 Termal sediment örneklerinin analizi

Termal sediment örneklerinden, Bölüm 6.1.4'de verilen yöntemle analitlerin ekstraksiyonu ve Bölüm 6.1.6'da açıklanan SPE'nun uygulanması ile elde edilen eluentlerin HPLC kromatogramları Şekil 6.7 ve Şekil 6.8'de verilmiştir.

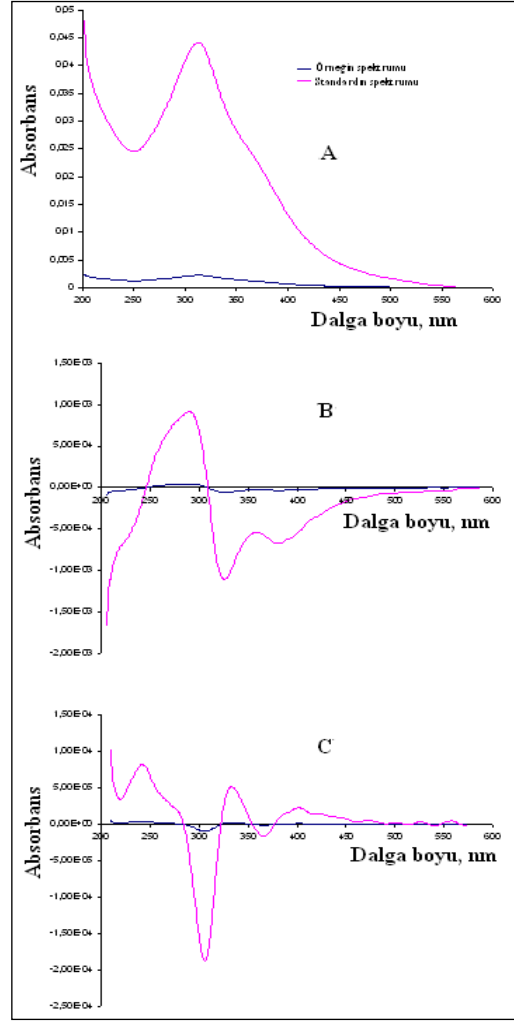


Şekil 6.7: Pamukkale termal su sedimentine ait kromatogram (hareketli faz; CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O 1:1 v/v, akış hızı; 0.8 mL/dk, kolon; C<sub>18</sub>).



Şekil 6.8: Kırmızı su sedimentine ait kromatogram.

Pamukkale termal su sedimentine ait kromatogramdan sedimentin incelenen herbisitleri içermediği belirlenmiştir (Şekil 6.7). Kırmızı sudan alınan sediment örneğinin Şekil 6.8'deki kromatogramında, çok yayvan ve zayıf iki pik gözlenmiştir. 7.33 dakika alıkonma zamanlı yayvan pikin atrazine ait olan 8.11 alıkonma zamanından oldukça uzak kaldığı için örneğin atrazin içermediği düşünülmüştür. Alıkonma zamanı 3.33 olan pikin çok keskin olmayışı mezotrine ait türev spektrumlarının alınmasıyla açıklanmaya çalışılmıştır. Mezotrinin standart türev spektrumları ile örneğin türev spektrumları karşılaştırılmıştır. Standart mezotrin çözeltisinin ikinci türevindeki negatif bantta verdiği absorbans ile örneğin verdiği absorbans dalga boyu değişimlerinin aynı olduğu Şekil 6.9'daki spektrumların karşılaştırılmasından anlaşılabilir. Bu kırmızı su sediment örneğinin mezotrin içerdiğini gösterir.



Şekil 6.9: Kırmızı su sedimentine ait mezotrin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B) ve II.türev spektrumu (C).

Şekil 6.7 ve 6.8'den elde edilen kromatogramlara göre, sadece kırmızı sudan alınan çamur örneğinde mezotrin bulunmuştur. Termal çamurların çalkalamalı ekstraksiyonu ve HPLC ile bulunan herbisit derişimleri Tablo 6.5'te verilmiştir.

Tablo 6.5: Termal su sedimentlerinin mezotrin, atrazin ve simazin içerikleri (N:3)

Sediment adı	Derişimler, ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		
	Mezotrin	Simazin	Atrazin
Kırmızı su sedimenti	$0,28 \pm 0,02$	BDL	BDL
Pamukkale su sedimenti	BDL	BDL	BDL

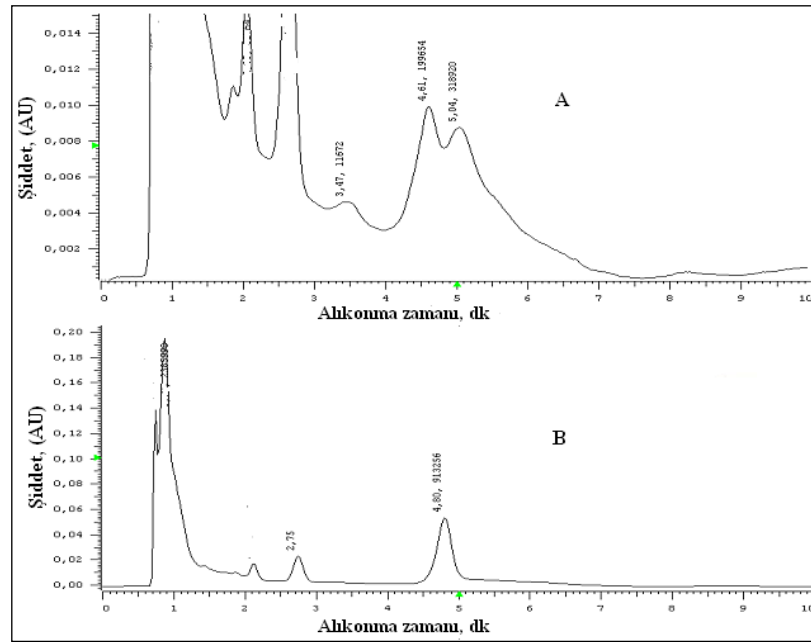
BDL; Gözlenebilme sınırının altında  
<sup>a</sup>ortalama  $\pm$ std. sapma

### 6.2.3 Sebze örneklerinin analizi

Sebze örneklerinden, Bölüm 6.1.4'te verilen yöntemle analitlerin ekstraksiyonu ve Bölüm 6.1.6'da açıklanan SPE'nun uygulanması ile elde edilen eluentler HPLC ile analiz edildi. Sebze örneklerine ait HPLC kromatogramları aşağıda incelenmiştir.

#### 6.2.3.1 Maydanoz Analizi

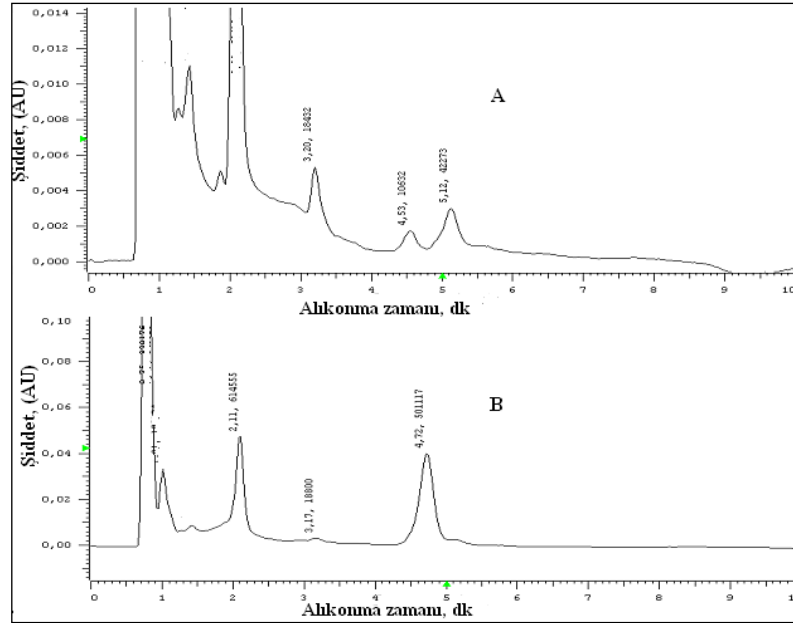
Maydanoz örneğine ait kromatogram (Şekil 6.10A) ile herbisit standart çözeltisinin kromatogramlarının karşılaştırılmasından mezotrin ve simazin bileşiklerinin pik maksimumları hemen hemen aynı alıkonma sürelerine sahip olduğu düşünülebilir. 4,61. dakikada gelen pikin simazin olabileceği söylenebilir. Ancak örnek matrisine bağlı olarak bileşenlerin alıkonma zamanlarında kaymalar olabileceğinden pik tanınması için örneğe 15 µg mezotrin ve 15 µg simazin eklenerek kromatogramlar alındı. Standart ekleme sonrası elde edilen kromatogramlar incelendiğinde 4,61. dakikada gelen pikin alanında (pik alanı 199654'ten 913256'ya çıkmıştır) artma olduğu görülmüştür (Şekil 6.10B). Bu pik alanındaki artış örneğin simazin içerdiğini ancak mezotrin içermediğini göstermiştir.



Şekil 6.10: Maydanoz örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin ve simazin ilave sonrasında ait HPLC kromatogramı (B).

### 6.2.3.2 Pırasa Analizi

Şekil 6.11A'da pırasa örneğine ait HPLC kromatogramı verilmiştir. Şekil 6.11A'da görülen kromatogram ile herbisit standart çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki mezotrin ve simazin bileşiklerinin pik maksimumları hemen hemen aynı alıkonma sürelerine sahip oldukları söylenebilir. 3,20. dakikada gelen pikin mezotrin ve 4,53. dakikada gelen pikinde simazin olabileceği söylenebilir. Gözlenen bu iki pikin tanınması için örneğe 15 µg mezotrin ve 15 µg simazin eklenerek kromatogramlar alındı (Şekil 6.11B). Standart ekleme sonrası elde edilen kromatogramlar incelendiğinde 3,20. dakikada gelen pikin alanında (pik alanı 18432 iken, standart ekleme sonrası 18800'de kalmıştır) önemli bir değişim olmadığı, 4,53. dakikada gelen pikin alanında ise (pik alanı 10632'den 50117'ye çıkmıştır) artma olduğu görülmüştür (Şekil 6.11B). Pik alanlarındaki bu değişimler dikkate alındığında örneğin sadece simazin içerdiğini söylemek mümkündür.

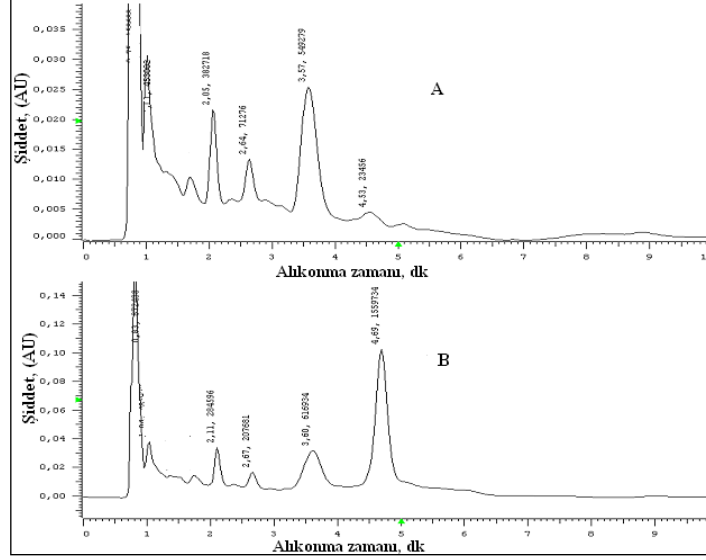


Şekil 6.11: Pırasa örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin ve simazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B).

### 6.2.3.3 Isırganotu Analizi

Isırganotu örneğine ait kromatogram Şekil 6.12A'da verilmiştir. Herbisit standart çözelti kromatogramı ile Şekil 6.12A karşılaştırıldığında simazin bileşiğinin pik maksimumunun hemen hemen aynı alıkonma süresine sahip olduğu görülmektedir. 4,53. dakikada gelen pikin simazin olabileceği söylenebilir. Örnek matrisine bağlı olarak bileşenlerin alıkonma zamanlarında değişiklik olabileceği düşünülerek 3,57.

dakikada görülen pikinde mezotrin olabileceği ihtimalide dikkate alınarak örneğe 15 µg mezotrin, simazin ve atrazin eklenerek kromatogramlar alındı (Şekil 6.12B). Standart ekleme sonrası alınan kromatogramda 3,57. dakikada gelen pikin alanında herhangi bir değişiklik olmadığı, fakat 4,53. dakikada gelen pikin alanında (pik alanı 23456'dan 159734'e çıkmıştır) artma olduğu görülmüştür (Şekil 6.12B). Bu pik alanındaki artış örneğin simazin içerdiğini göstermiştir.

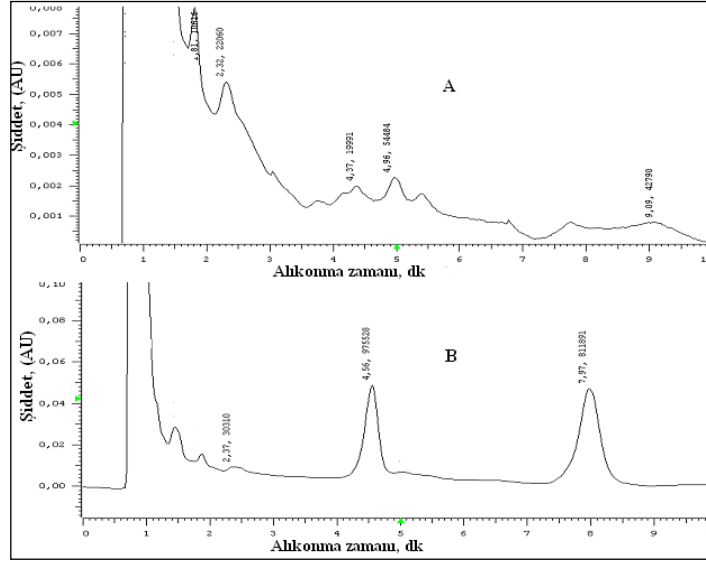


Şekil 6.12: Isırganotu örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin, simazin ve atrazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B).

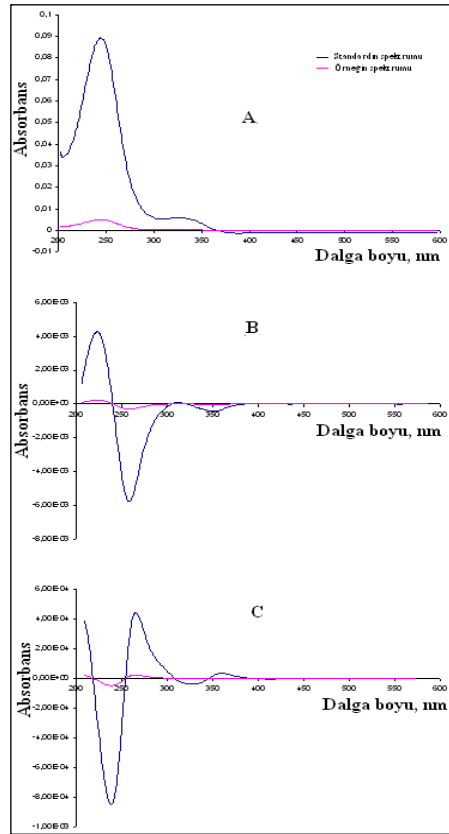
### 6.2.3.4 Ispanak Analizi

Ispanak örneğinin analizine ait HPLC kromatogramı Şekil 6.13A'da verilmiştir. Şekil 6.13A ile herbisit standart çözeltisinin kromatogramları karşılaştırılmasından simazin bileşiğinin pik maksimumu hemen hemen aynı alıkonma süresine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Pik tanınması için örneğe 15 µg mezotrin, 15 µg simazin ve 15 µg atrazin eklenerek kromatogramlar alındı. Standart ekleme sonrası elde edilen kromatogramlar incelendiğinde 4,56. dakikada (pik alanı 19990'dan 914528'e çıkmıştır) ve 7,97. dakikada gelen (pik alanı 811891'e çıkmıştır) piklerin alanlarında artma olduğu görülmüştür (Şekil 6.13B). Ancak atrazin piki standart ekleme öncesinde çok net görülmemiştir. Bu nedenle pikin tanınması için türev spektrumları alınmıştır. Standart atrazin çözeltisinin ikinci türevindeki negatif bantta verdiği absorbans ile örneğin verdiği absorbans dalga boyu değişimlerinin aynı olduğu Şekil 6.14'teki spektrumların karşılaştırılmasından anlaşılabilir. Bu ıspanak örneğinin atrazin içerdiğini gösterir.





Şekil 6.13: Ispanak örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin, simazin ve atrazin ekleme sonrasında ait HPLC kromatogramı (B).

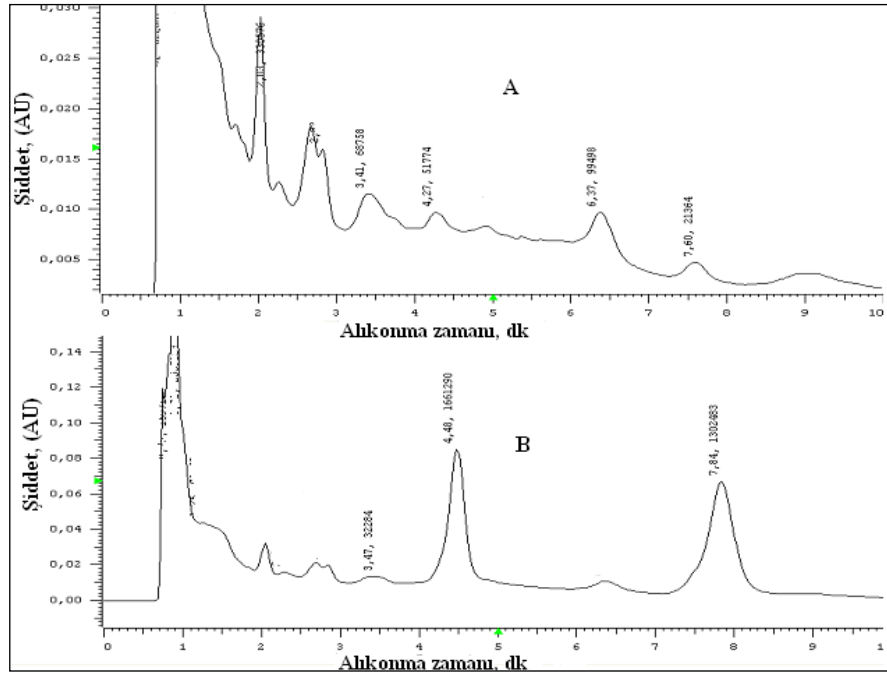


Şekil 6.14: Ispanak örneğine ait atrazin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B) ve II.türev spektrumu (C).

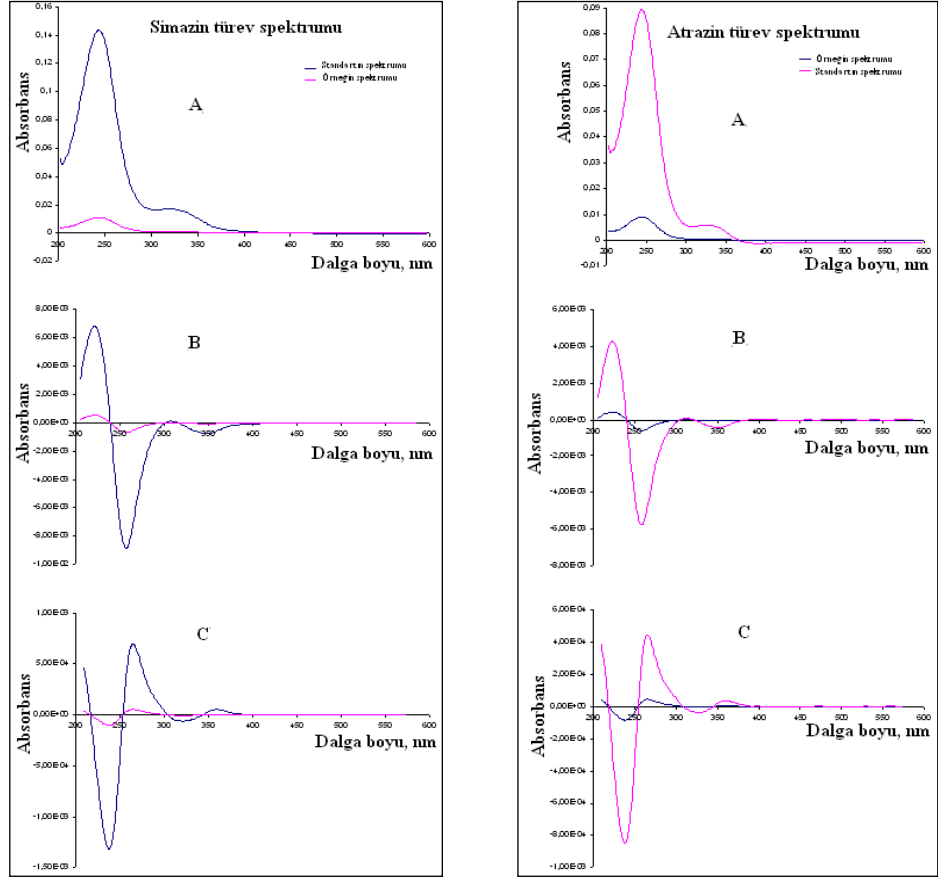
### 6.2.3.5 Brokoli Analizi

Brokoli örneğine ait kromatogram Şekil 6.15A'da ve pik tanımları için örneğe 15 µg mezotrin, 15 µg simazin ve 15 µg atrazinin eklenerek elde edilen kromatogram

Şekil 6.15B’de gösterilmiştir. Şekil 6.15A ile herbisit standart çözeltisinin kromatogramları karşılaştırıldığında (Şekil 6.2) brokoli örneğinin mezotrin, simazin ve atrazin bileşiklerini içermediği düşünülebilir. Ancak örnek matrisine bağlı olarak bileşenlerin alıkonma zamanlarında kaymalar olabileceği için örneğe standart eklme yapıldı. Brokoli örneğine pik tanınması için 15 µg mezotrin, 15 µg simazin ve 15 µg atrazinin eklenerek elde edilen kromatogram incelendiğinde 4,27. dakikada gelen pikin (pik alanı 51774’den 1661290’a çıkmıştır) simazin ve 7,60. dakikada gelen pikinde (pik alanı 21364’ten 1302483’e çıkmıştır) atrazin olabileceği söylenebilir (Şekil 6.15B). Ayrıca piklerin tanınmasında simazin ve atrazin bileşiklerinin türev spektrumları da incelendi. Standart simazin ve atrazin çözeltilerinin ikinci türevindeki negatif bantta verdiği absorbanslar ile örneğin verdiği absorbans dalga boylarındaki değişimlerinin aynı olduğu Şekil 6.16’daki spektrumların karşılaştırılmasından anlaşılabilir. Bu brokoli örneğinin simazin ve atrazin içerdiğini gösterir.



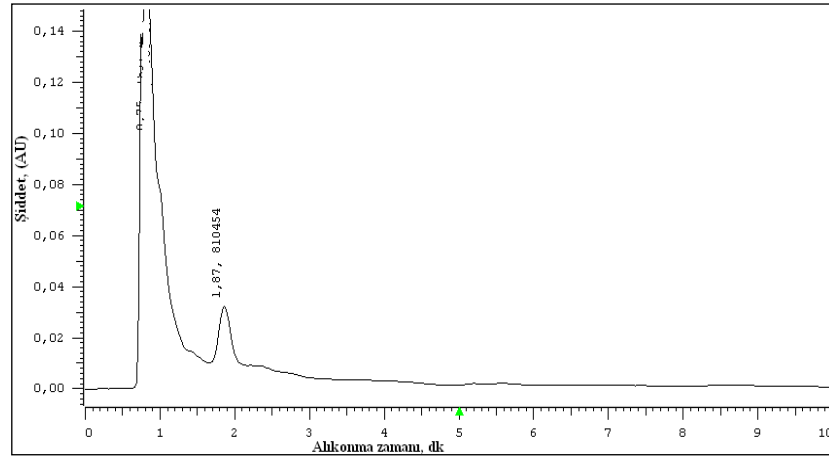
Şekil 6.15: Brokoli örneğine ait HPLC kromatogramı (A), 15 µg mezotrin, simazin ve atrazin ilave sonrasına ait HPLC kromatogramı (B).



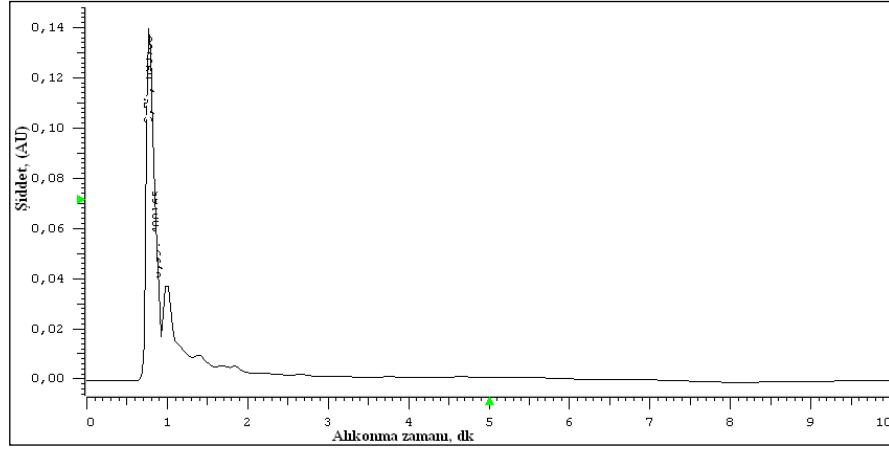
Şekil 6.16: Brokoli örneğine ait simazin ve atrazin spektrumu (A), I.türev spektrumu (B)ve II.türev spektrumu (C).

### 6.2.3.6 Diğer sebze analizleri

Diğer sebze örneklerinden afyon ve gelincik analizinde mezotrin, simazin ve atrazin içeriğine rastlanmamıştır. Bu örnekler incelenen bu herbisitler yönünden temiz bulunmuştur. Afyon örneğine ait HPLC kromatogramı Şekil 6.17’de ve gelincik örneğinin HPLC kromatogramıda Şekil 6.18’de gösterilmiştir.



Şekil 6.17: Afyon örneğine ait HPLC kromatogramı.



Şekil 6.18: Gelincik örneğine ait HPLC kromatogramı.

Şekil 6.10-6.18’de elde edilen kromatogram ve türev spektrumlarına göre maydanoz, pırasa ve ısırgan otu örneklerinde simazin, ıspanak ve brokoli örneklerinde ise simazin ve atrazin bulunmuştur.

#### 6.2.4 Sebze örneklerinin mezotrin, simazin ve atrazin içerikleri

Farklı türde sebze örneklerindeki mezotrin, simazin ve atrazin içerikleri Tablo 6.6’da verilmiştir.

Tablo 6.6: Sebze örneklerinde mezotrin, simazin ve atrazin içerikleri (N:3)

Sebze örnekleri	Derişim, , ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		
	Mezotrin	Simazin	Atrazin
Pırasa	BDL	0,025 $\pm$ 0,003	BDL
Maydanoz	BDL	0,115 $\pm$ 0,004	BDL
Isırgan otu	BDL	0,744 $\pm$ 0,063	BDL
Brokoli	BDL	0,820 $\pm$ 0,110	0,197 $\pm$ 0,005
İspanak	BDL	0,050 $\pm$ 0,005	0,065 $\pm$ 0,003
Gelincik	BDL	BDL	BDL
Afyon	BDL	BDL	BDL

BDL; Gözlenebilme sınırının altında

<sup>a</sup>ortalama  $\pm$ std. sapma

Tablo 6.6 incelendiğinde en yüksek % bağıl standart sapma (BSS) brokoli örneğinde bulunan simazin için 13,4 olduğu görülmektedir. Aynı şekilde pırasa ve ıspanak örneğindeki simazinin % BSS değerleri sırasıyla 12,0 ve 10,0’dır. Maydanoz ve ısırgan otu örneklerinde simazin içeriklerinin % BSS’ları da % 3,47 ve 8,50 olarak

hesaplanmıştır. Ispanak ve brokoli örneklerinde atrazin için % BSS değerleri sırasıyla % 4,62 ve 2,54'dür.

### 6.3 Sonuçların Belirsizlik Hesaplamaları

Bir yöntemdeki sonuçların belirsizlik testini yapmadan önce, belirsizliğe neden olabilecek kaynakların seçilmesi gereklidir. Bu belirsizlik kaynakları her çalışma için uygulanan yöntem, çalışılan örnek grubunu ve laboratuvara göre değişiklik gösterebilmektedir. Bizim çalışmamızda seçtiğimiz muhtemel belirsizlik kaynakları şunlardır; örneğin tartılması esansında olabilecek belirsizlikler için ( $M_{\text{örnek}}$ ), elde ettiğimiz sonuçların bağıl standart sapmaları (sonuçların BSS), ekstraksiyon esnasındaki belirsizlikler için (ekstraksiyon işlemi), kalibrasyon eğrilerinin çizimlerdeki belirsizlik kaynakları için (kalibrasyon) ve gözlenebilme sınırı ölçümlerindeki belirsizlikler içinde (LOD) hesaba katılmıştır.

Belirlenen belirsizlik kaynakları ile her bir örnek için birleşik belirsizlikler aşağıdaki 6.1 nolu denklemlerle hesaplanır. Burada  $k$ ; kapsam faktörünü ifade eder ve özel bir bilgi verilmediği sürece % 95 güven seviyesi için her zaman 2 olarak alınır (Miller and Miller, 2005).

$$\frac{\text{BSS}}{M_{\text{örnek}}} = \frac{\text{BSS}_{\text{ekstraksiyon}}}{M_{\text{örnek}}} + \frac{\text{BSS}_{\text{kalibrasyon}}}{M_{\text{örnek}}} + \frac{\text{BSS}_{\text{LOD}}}{M_{\text{örnek}}} \quad (6.1)$$

Birleşik belirsizlik denkleminde yer alan belirsizlik değerleri aşağıdaki denklemlerle hesaplanır.

$$\text{BSS}_{\text{ekstraksiyon}} = \frac{\text{BSS}_{\text{ekstraksiyon}}}{M_{\text{örnek}}} \quad (6.2)$$

Denklem 6.2'de yer alan  $M_0$ ; örneğin analitik terazi ile tartılması esansındaki belirsizliği,  $s$ ; analitik terazinin standart sapma değerini,  $k$ ; analitik terazinin kesinliğini (0,0001 ya da 0,1 gibi) ve  $M$ ; örneğin kütlesini temsil etmektedir.

Sonuçların bağıl standart sapma değerlerinden gelen belirsizliğin hesabı için denklem 6.3'den faydalanırız.

$$\text{BSS} = \frac{s}{M} \cdot k \quad (6.3)$$

Buradaki ; örnek sonuçlarına ait B.S.S. değerlerindeki belirsizliği ifade etmektedir. Bu değer hesaplanırken her bir örnekteki her analit için ayrı ayrı hesaplama yapılmıştır.

Gözlenebilme sınırına ait belirsizlik hesabı denklem 6.4'te verilmiştir. Denklemde yer alan LOD değeri her bir analit için bulunan değeri, ; örnekteki içindeki analit (atrazin, simazin ya da mezotrin) derişimini ifade etmektedir.

$$\text{---} \quad (6.4)$$

Ekstraksiyon prosedüründen gelecek olan belirsizlik hesabı gözlenebilme sınırına ait belirsizliğe eşittir. Bu durum denklemleri ile ifade edilir.

Kalibrasyondan gelen belirsizlik hesabı 6.5'de verilen denlem ile yapılır. Buradaki b; eğri denklemindeki eğimi, p; standartın örnekleme ve enjeksiyon sayısının hesabına ilişkin değeri (3 tekrarlı hazırlanan standartın 3 kez enjekte edilecek olduğu düşünülürse p sayısı 9 olarak hesaba katılır), n; enjeksiyon sayısını,  $X_{pr}$ ; kalibrasyon eğiminin ortalamasını ve  $X_{sr}$ ; standartın kalibrasyon içindeki değerlerinin ortalamasını ifade etmektedir.

$$\text{---} \quad (6.5)$$

$$\text{---} \quad (6.6)$$

$$(6.7)$$

Denklem 6.6'da yer alan  $y_i$ ; kalibrasyon eğrisinde yer alan standartın her bir noktaki derişim değerini,  $Y_i$ ; bu değerlerin eğri üzerindeki gerçek değerlerini ifade etmektedir. Bunun anlamı sizin hazırladığınız derişimdeki standartlarınızın derişimleri eğri sıfırdan geçemeyeceği için farklı bir değerde çıkmasıdır. Bu da bir belirsizlik kaynağı olarak bize yansır. 6.7 Nolu denklemde yer alan,  $X_i$ ; kalibrasyon eğrisinden okunan örneğin her bir paraleline ait derişim miktarını,  $X_{sr}$  ise örnekteki paralellerin ortamları değerini ifade etmektedir. Tüm bu denklemler kullanılarak her bir analite ait örnek grupları içindeki belirsizlikleri Tablo 6.7'de verilmiştir.

Tablo 6.7 incelendiğinde en yüksek belirsizlik % 7,33 değeri ile pırasa örnek içeriğindeki simazin tayininde olduğu görülmektedir. Pırasa örneği içindeki simazin

derişimi  $0,025 \mu\text{g g}^{-1}$  LOD değerine en yakın sonuçtur. LOD değerine yakın derişimlerin belirsizliğinin yüksek çıkması olası bir durum olduğu için pırasa örnek içeriğindeki simazin tayinindeki belirsizlik de artmıştır. Ispanak örneğindeki belirsizlik ise, simazin için % 3,47 olarak bulunmuştur.

Tablo 6.7: Simazin, atrazin ve mezotrin tayininde % belirsizlik ve standart belirsizlik değerleri.

Analitler	Belirsizlik kaynakları	Belirsizlik, %							
		Brokoli	Pırasa	Isırgan otu	Maydanoz	Ispanak	Pamukkale su	Kırmızı su sed.	Kırmızı su
Simazin	u(M <sub>6</sub> )	0,0023	0,0023	0,0023	0,0023	0,0023	-	-	-
	B.S.S. <sub>(sonuçlar)</sub>	0,0180	0,0140	0,0072	0,0012	0,0104	-	-	-
	u(LOD)	0,0054	5,7600	0,0065	0,2720	1,5000	-	-	-
	u(Extr.)	0,0054	5,7600	0,0065	0,2720	1,5000	-	-	-
	u(kalib.)	0,0030	0,1100	0,0030	0,0900	0,0570	-	-	-
	U(k=2)	0,2600	7,3300	0,2500	1,4800	3,4700	-	-	-
Atrazin	u(M <sub>6</sub> )	0,0023	-	-	-	0,0023	-	-	-
	B.S.S. <sub>(sonuçlar)</sub>	0,0075	-	-	-	0,0009	-	-	-
	u(LOD)	0,0644	-	-	-	0,5920	-	-	-
	u(Extr.)	0,0644	-	-	-	0,5920	-	-	-
	u(kalib.)	0,0070	-	-	-	0,0600	-	-	-
	U(k=2)	0,7400	-	-	-	2,1800	-	-	-
Mezotrin	u(M <sub>6</sub> )	-	-	-	-	-	0,00230	0,0023	0,00230
	B.S.S. <sub>(sonuçlar)</sub>	-	-	-	-	-	0,0018	0,0072	0,0111
	u(LOD)	-	-	-	-	-	0,0011	0,1260	0,0003
	u(Extr.)	-	-	-	-	-	0,0011	0,1260	0,0003
	u(kalib.)	-	-	-	-	-	0,00230	0,0023	0,00230
	U(k=2)	-	-	-	-	-	0,0018	0,0072	0,0111

#### 6.4 Yöntemin Litaratürdeki Diğer Çalışmalarla Karşılaştırılması

Yöntem, son zamanlarda yapılmış literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldı. Karşılaştırma Tablo 6.8'de özetlenmiştir. Tablo 6.8'e bakıldığında önerilen metodun diğer yöntemlerden en önemli farklılıklarının hareketli faz bileşimi, uygulanan matris ortamının zenginliği ve atrazin, simazin ile mezotrinin aynı ortamda tayin edilebilmeleridir. Bunun yanında analiz süresi bakımından Beale ve ark. (2010) tarafından yapılmış çalışma hariç önerilen yöntemin diğer yöntemlerle (Zhao ve diğ., 2008; Hale ve diğ., 2010; Chimuka ve diğ., 2011) yarışabileceğini hatta bazılarında daha iyi bir analiz süresine sahip olduğu görülmektedir. Önerilen yöntemin en büyük dezavantajı diğer yöntemlere göre gözlenebilme sınırı değerlerinin yüksek çıkmasıdır. Önerilen yöntemde kullanılan ekstraksiyon teknikleri de diğer yöntemlerden, Zhao ve ark. (2008) ile Beale ve ark. (2010) çalışmaları hariç,

farklıdır. Analiz süresi bakımından en iyi yöntem 2 dakika ile Beale ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmadır. Bunun nedeni ise çalışmada monolitik kolon tercih etmiş olmalarıdır.

Tablo 6.8’de kullanılan kısaltmaların açık isimleri sırasıyla şöyledir, MWCNT; çoklu duvar karbon nanotüp, MASE; membran destekli çözücü ekstraksiyonu, MISPE; moleküler baskılı polimer sorbent.



Tablo 6.8: Çevresel matrisler içinde atrazin, simazin ve mezotrinin tayininde diğer HPLC yöntemleriyle geliştirilen yöntemin karşılaştırılması.

Analit	Matriks	Ekstraksiyon tekniği	Ekstraksiyon çözücüsü	Teknik	Hareketli faz	Analiz süresi (dak)	Geri kazanım (%)	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Kaynaklar
Atrazin, simazin	Su	SPE	Eluasyon için ACN	HPLC-UV	ACN/ H <sub>2</sub> O (70/30, v/v)	10	75,2 – 107,1	0,1-0,1	(Zhao ve diğ., 2008)
Atrazin, simazin	Su	Sıcak-işlem görmüş diatome toprağı	Eluasyon için MeOH	HPLC-UV	ACN/ H <sub>2</sub> O (15/85, v/v)	5	75,0 – 95,7	0,24 – 0,21	(Katsumata ve diğ., 2006)
Atrazin, simazin	Su	MWCNT	Eluasyon için ACN	HPLC-DAD	ACN/ H <sub>2</sub> O (70/30, v/v)	8	82,6 – 103,7	0,033 – 0,009	(Zhou ve diğ., 2006)
Atrazin, siyanazin	Gıda	HCl içindeki piridin varlığında p-aminoasetofenon ile reaksiyonu	-	UV-spectr.	-	-	90,6 – 114,4	150 - 150	(Zhang and Pan, 2011)
Atrazin, simazin, prometon, terbumeton, tertbütilazin, prometrin	Gıda	MASE, MASE-MISPE, MISPE	Sikloheksan	HPLC-UV	ACN/ H <sub>2</sub> O (30/70, v/v)	Sadece atrazin ve simazin için 13	-	MASE; 3,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ , MISPE; 1,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ , MASE-MISPE; 3,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(Chimuka ve diğ., 2011)
Atrazin, simazin, heksazinon	Su	SPE	Eluasyon için MeOH/H <sub>2</sub> O (50/50, v/v)	HPLC-UV	ACN/ H <sub>2</sub> O (70/30, v/v)	Monolitik kolon ile 2	80,0 – 106,0	5,7, 4,7, 4,0	(Beale ve diğ., 2010)
Mezotrin, nikosulfuron	Su, Toprak	Fotoreaksiyon	-	HPLC-UV HPLC-MS	HPLC-MS için ACN/ H <sub>2</sub> O (3% formik asit ile pH=2.5), UV için (30/70, v/v)	Mezotrinin fotoürünleri için HPLC-MS ile 13	-	-	(Halle ve diğ., 2010)
Atrazin, simazin, mezotrin	Termal su, Termal sediment, sebze	Sediment örneklerinde çalkalamalı ekstr., sebzeler için soxhlet ekstr. ve ekstraktların temizlenmesi ve su örnekleri için SPE.	Su örneklerinin eluasyonunda MeOH. Sebze ve sediment örnekleri için kloroform.	HPLC-DAD	MeOH/H <sub>2</sub> O (50/50, v/v)	9	Sediment; 70 – 86, Sebze; 78 – 95, Su; 82 – 97	ATR; 40-100, SIM; 40 – 60, MES; 60 – 100	(önerilen)

## **7. DENEYSEL BÖLÜM II**

Tez çalışmasının bu bölümünde, Honaz (Denizli) ilçesinde pilot olarak seçilmiş üzüm bağında kullanılan bazı pestisit (penkonazol, triadimenol, mayklobutanil, kloropirifos-etil, kloropirifos-metil ve fention) kalıntılarının gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile tayini için bir önderiştirme yönteminin kullanımı amaçlanmıştır. Deriştirme yöntemi olarak dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) yöntemi seçilmiştir. DLLME ile deriştirme metodunun optimizasyonu kemometrik faktöriyel tasarım kullanılarak yapılmıştır. Optimize edilen yöntem gerçek numunelere uygulandı.

### **7.1 Ölçüm Sistemi**

#### **7.1.1 Gaz kromatografi-kütle spektrofotometre (GC-MS)**

Pestisitlerin kromatografik tayinleri ayırmalı/ayırmasız (split/splitless) enjektör sistemli (AOC 20i model oto enjektörlü AOC 20s otomatik örnekleme) Shimadzu GC-2010 gaz kromatografisi ve Shimadzu QP-2010 model kütle spektrometresi kombinasyonu ile gerçekleştirilmiştir. GC kolonu olarak TRB-5MS (%95 dimetil polisiloksan, % 5 difenil ince film kaplı, 30 m X 0.25 mm i.d. X 0.25 µm boyutlarda, (Teknokroma, Barcelona-Spain) kolon kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum (%99,9 saflıkta) kullanıldı. Taşıyıcı gaz sisteme verilmeden önce Shimadzu GLC ltd. marka moleküler elek ve oksijen tuzaklarından geçirilerek sisteme gönderilmektedir. Cihazda tüm analizler 70 eV'luk elektron çarpması (EI:electron impact) modun da gerçekleştirildi.

#### **7.1.2 Diğer aletler**

Çalışmada su ve toprak örneklerinin DLLME ile ekstraksiyonunda Velp Scientifica (ZX Clasic) (Italy) model vorteks kullanıldı. Sulu faz ve organik fazın birbirinden ayrılmasında Hettich EBA 20 marka santrifüj cihazı kullanılmıştır. Çözeltilerin pH ölçümü için WTW 720 marka pH metre kullanılmıştır. Tartımlar PRECISA XB 220A marka  $\pm 0.0001$  g duyarlıdaki analitik terazi ile yapılmıştır. Su örneklerinin iletkenlik değerlerinin ölçümü WTW cond 330i/SET (Germany) model iletkenlik

ölçer ile gerçekleştirildi. Toprak örneklerinin öğütülmesinde Fritsch marka pulverisette 2 model (Germany) değirmen, Retsch (ASTME;11) (Germany ) marka elek sistemi kullanıldı. Toprak örneklerinin çalkalamalı ekstraksiyonu için VWR (U.S.A) marka mini orbital çalkalayıcı kullanıldı. Toprak örneklerinde organik madde içerik tayininde Thermolyne 48000 Furnace (U.S.A) model kül fırını kullanıldı.

## 7.2 Materyaller

### 7.2.1 Kimyasal maddeler ve stok çözeltiler

Tez çalışmasının boyunca, çözeltilerin hazırlanması ve seyreltilmesinde ters faz osmoz sistemiyle üretilen, direnci 18.2 mΩ olan deiyonize-saf su kullanıldı. Yüksek saflıktaki su, Human Power I<sup>plus</sup> marka saf su cihazından alınmıştır. GC analizleri için, kromatografik saflıkta asetonitril (ACN), metanol (MeOH), aseton ve hekzan (Merck, Darmstadt-Germany), klorobenzen, metanol, sodyum klorür (Merck, Darmstadt-Germany), ve karbon tetraklorür (Riedel, Germany) kullanılmıştır.

Kullanılan stok kloropirifos-metil (*o,o*-dimetil *o*-(3,5,6-trikloro-2-piridil) ester), kloropirifos-etil (*o,o*-dietyl *o*-(3,5,6-trikloro-2-piridil) ester), fention (*o,o*-Dimetil *o*-[3-metil-4-(metilsulfanil)fenil] fosforotioat), penkonazol ((*RS*)-1-[2-(2,4-diklorofenil)pentil]-1*H*-1,2,4-triazol), triadimenol ((*1RS,2RS;1RS,2SR*)-1-(4-klorofenoksi)-3,3-dimetil-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol) ve mayklobutanil ((*RS*)-2-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metil) hekzanenitril (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany) ve iç standart olarak trifenil fosfat (TPP) analitik saflıktadır (Supelco, USA).

Standart stok çözeltiler (1 mg mL<sup>-1</sup>), herbir herbisitten 10 mg tartılarak 10 mL'lik asetonunda çözüldü ve +4°C'de saklanmıştır. Seyreltik model çözeltiler, deneyin yapıldığı gün, standart çözeltiden seyreltme ile günlük olarak hazırlanmıştır. Model çözelti karışımı 10 µg mL<sup>-1</sup> derişimde hazırlanarak, GC-MS'e enjekte edilmiştir.

### 7.2.2 Örnekler ve örneklerin alınması

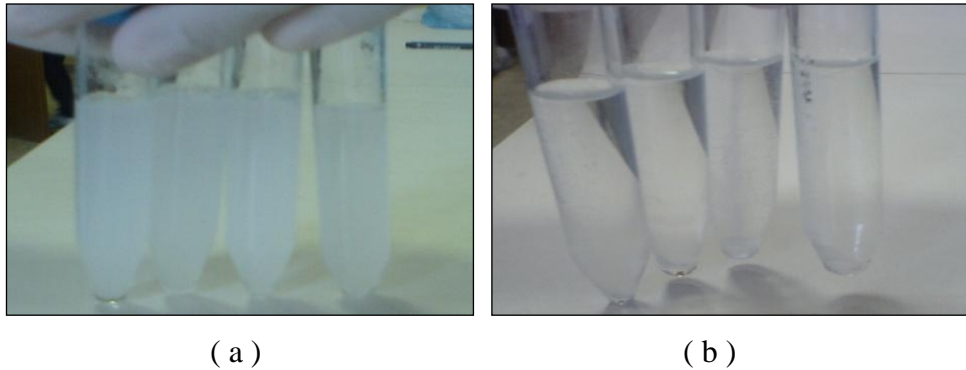
Bu çalışmada üç farklı su örneği analiz edilmiştir. Bu örneklerden iki tanesi pilot bölge olarak seçilmiş 37°47'9.52" K enlem ve 29°19'41.27" D boylam koordinatlarına sahip üzüm bağının sulanmasında kullanılan artezyen suyu ve akarsu örnekleridir.

Musluk suyu örneği ise Pamukkale üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarı'ndan alınmıştır. Su örnekleri analiz edilmeden önce 0.45 µm selüloz membrane filtreden (Sartorius, Goettingen, Germany) süzülüş ve renkli cam şişede buzdolabında saklanmışlardır. Toplanan su örnekleri bir hafta içinde analiz edilmişlerdir.

Toprak örnekleri ise, farklı iki alana sahip pilot bölge olarak seçilen üzüm bağının I. alanında 5 ayrı bölge, II. alandan ise 3 ayrı bölge ve 3 farklı derinlikten örnekleme yapıldı. Örnekleme her bir noktada, her iki alan için 0 cm, 10 cm ve 20 cm derinliklerden 2 Mayıs 2009 (ilaçlama yapılmadan önce), 25 Mayıs 2009 (ilaçlama sonrası) ve 3 Eylül 2009 (ilaçlama sonrası) tarihlerinde yapılmıştır.

### 7.2.3 Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) ile pestisit deriştirilmesi

Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) yönteminin optimizasyonunda model çözeltiler kullanıldı. Deneyde, santrifüj tüpüne 7,5 mL'de her bir pestisitten 8 µg L<sup>-1</sup> olacak şekilde pestisit karışımı ile iç standart (trifenil fosfat) içeren model çözelti alındı ve çözeltiliye hızlıca dispersif çözücü (750 µL ACN) ve ekstraksiyon çözücü (60 µL klorobenzen) karışımı eklendi. Daha sonra örnek, 3,5 dakika 1600 rpm'de vorteks ile karıştırıldı. Bu işlem esnasında bulutlanma noktası ekstraksiyonunda olduğu gibi su örneğinde bir bulutlanma görüldü. Bu karışım, sonrasında 3,5 dakika 4000 rpm'de santrifüjlendi. Altta sediment faz (55±2 µL) alınarak GC-MS'e oto enjektör yardımıyla verilmiştir. Şekil 7.1'de yöntemine ait santrifüj öncesi ve santrifüj sonrası fotoğraflar görülmektedir.



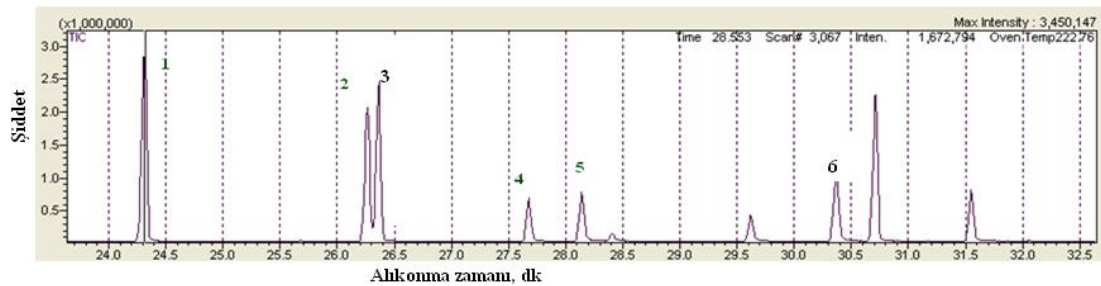
Şekil 7.1: (a) Model çözeltinin santrifüj işlem öncesi görünümü, (b) santrifüj işlemi sonrasındaki görünümü.

### 7.3 GC-MS Çalışma Şartlarının Optimizasyonu ve Bulgular

GC-MS ile analizden önce, analizi yapılan pestisitleri içeren standart çözelti karışımından hazırlanmış olan model çözeltilere ait analiz şartlarının belirlenmesi için farklı kolon sıcaklık programları çalışıldı. Tayini yapılan kloropirifos-metil, kloropirifos-etil, fention, penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil pestisitlerine ait alıkonma zamanlarının uygulanan fırın sıcaklık programları ile değiştiği düşünüldüğünden, bileşiklerin daha kısa zamanda analizine imkan verecek sıcaklık programı optimize edilmiştir. Standart stok çözeltilerden hazırlanan  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimde model çözeltilerinin analizi için, bileşiklerin kaynama noktaları dikkate alınarak GC’de farklı kolon fırın sıcaklık programı ve MS şartları çalışıldı. Çalışmada gradiyent sıcaklık programı tercih edilmiştir. Tablo 7.1’de splitless enjeksiyon modunda çalışılan pestisitlere ait elde edilen sıcaklık programı verilmiştir. Bu değerlerden elde edilen kromatogram da Şekil 7.2’de gösterilmiştir.

Tablo 7.1: Çalışılan pestisitlere ait GC-MS çalışma şartları ve kolon sıcaklık programı.

GC-2010		MS	
Kolon Fırın Sıcaklığı, °C	90	İyon Kaynağı Sıcaklığı, °C	250
Enjeksiyon Sıcaklığı, °C	250	Ara Yüzey Sıcaklığı, °C	250
Enjeksiyon Modu	Splitless (Ayrırmaz)	Başlangıç Zamanı, dakika	2
Split Oranı	-1	Bitiş Zamanı, dakika	20
Enjeksiyon Hacmi, $\mu\text{L}$	1	ACQ Modu	SIM
Kolon Akış, mL/dak.	1,54	Başlangıç m/z	40
<b>Kolon Fırın Sıcaklık Programı</b>		Bitiş m/z	510
Sıcaklık artış oranı, °C/dak	Sıcaklık, °C	Tutma süresi, dak	
	90	2	
5	180	-	
5	280	5	



Şekil 7.2: Tablo 6.1’de verilen sıcaklık programı ile elde edilen  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimdeki model çözeltilere ait GC kromatogramları. (1) kloropirifos-metil, (2) kloropirifos-etil, (3) fention, (4) penkonazol, (5) triadimenol, (6) mayklobutanil.

Tablo 7.1’de verilen şartlarda elde edilen kromatogram (Şekil 7.2) incelendiğinde kloropirifos-metil, kloropirifos-etil, fention, penkonazole, triadimenol ve mayklobutanilin ait piklerin ayrılabilirdikleri görülmüştür. Bu kromatograma ait alıkonma zamanları, ayrımı yapılabilen iyonlara ait molekül pik değerleri ve kütle spektrumunda, kopmaları doğrulayan iyon değerleri Tablo 7.2’de verilmiştir.

Tablo 7.2: Şekil 7.2’de verilmiş kromatogramdaki pestisit karışımına ait alıkonma zamanları, molekül ağırlıkları, hedef iyon ve doğrulama iyonları.

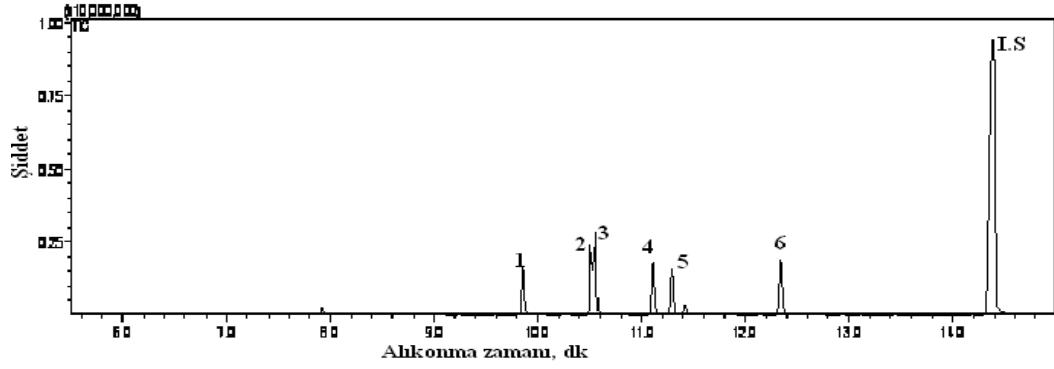
Analitler	Molekül ağırlığı	Alıkonma zamanı (dakika)	Hedef iyon (m/z)	Q1 <sup>a</sup>	Q2 <sup>a</sup>	Q3 <sup>a</sup>
Kloropirifos-metil (1)	322,5	24,3	286	125	288	290
Fention (2)	278,33	26,25	278	153	263	125
Kloropirifos-etil (3)	350,6	26,35	197	199	97	314
Penkonazol (4)	284,19	27,68	159	248	161	250
Triadimenol (5)	295,8	28,15	112	168	128	130
Mayklobutanil (6)	288,79	30,38	179	150	181	152

a: Doğrulama iyonları

Tablo 7.2’ye göre, analitlere ait analiz süresinin 30.38’inci dakikada sonlandığı görülmektedir. Tablo 7.1’de verilen kolon sıcaklık programının analitlerin ayrılabilirlikleri bakımından uygun, ancak analiz süresi bakımından uygun bir sıcaklık programı olmadığı görülmüştür. Bu nedenle analiz süresini kısaltabilmek amacıyla kolon fırın sıcaklık programında değişiklik yapıldı. Yeni kolon sıcaklık programı Tablo 7.3’te verilmiştir. Bu değerlerden elde edilen kromatogram da Şekil 7.3’te gösterilmiştir.

Tablo 7.3: Çalışılan pestisitlere ait GC-MS çalışma şartları ve kolon sıcaklık programı.

GC-2010		MS	
Kolon Fırın Sıcaklığı, °C	70	İyon Kaynağı Sıcaklığı, °C	250
Enjeksiyon Sıcaklığı, °C	270	Ara Yüzey Sıcaklığı, °C	250
Enjeksiyon Modu	Split	Başlangıç Zamanı, dakika	5
Split Oranı	1:10	Bitiş Zamanı, dakika	15
Enjeksiyon hacmi, µL	1	ACQ Modu	Scan
Kolon Akış, mL/dak.	1,54	Başlangıç m/z	40
<b>Kolon Fırın Sıcaklık Programı</b>		Bitiş m/z	510
Sıcaklık artış oranı, °C/dak.	Sıcaklık, °C	Tutma süresi, dak	
	70	1	
20	220	-	
5	280	10	



Şekil 7.3: Tablo 7.3'te verilen sıcaklık programı ile elde edilen  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimdeki model çözeltiye ait GC kromatogramları. (1) kloropirifos-metil, (2) fention, (3) kloropirifos-etil, (4) penkonazol, (5) triadimenol, (6) mayklobutanil, (I.S) trifenilfosfat.

Şekil 7.3'e göre, elde edilen kromatogramda, çalışılan analitlerin, Şekil 7.2'deki kromatograma göre daha kısa alıkonma zamanına sahip olduğu görülmüştür. Tablo 7.3'te elde edilen sıcaklık programı kullanılarak elde edilmiş alıkonma süreleri ve doğrulama iyonları ise Tablo 7.4'de verilmiştir.

Tablo 7.4: Şekil 7.3'de verilmiş kromatogramdaki pestisit karışımına ait alıkonma zamanları, molekül ağırlıkları, hedef iyon ve doğrulama iyonları.

Analitler	Molekül ağırlığı	Alıkonma zamanı (dakika)	Hedef iyon (m/z)	Q1 <sup>a</sup>	Q2 <sup>a</sup>	Q3 <sup>a</sup>
Kloropirifos-metil (1)	322,5	9,77	286	125	288	290
Fention (2)	278,33	10,43	278	153	263	125
Kloropirifos-etil (3)	350,6	10,46	197	199	97	314
Penkonazol (4)	284,19	11,11	159	248	161	250
Triadimenol (5)	295,8	11,27	112	168	128	130
Mayklobutanil (6)	288,79	12,38	179	150	181	152
Trifenil fosfat (I.S)	326,29	14,22	326	77	215	-

a: Doğrulama iyonları

Tablo 7.4'te, analitlere ait analiz süresinin iç standartla birlikte 14.22 dakika olduğu görülmektedir. Yeni kolon fırın sıcaklık programının (Tablo 7.3) analiz süresi bakımından Tablo 7.1'deki çalışma şartlarından daha uygun olduğu görüldü. Bundan sonraki önderiştirme çalışmalarında, Tablo 7.3'teki sıcaklık programı kullanılarak çalışılan analitlerin tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 7.3'teki sıcaklık programı kullanılarak  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişiminde pestisit karışımı için kolon verimliliğinin belirlenmesine yönelik kapasite faktörü ( $k'$ ), kolon ayırma gücü ( $R_s$ ) ve teorik plaka sayısı (T.Plake) değerleri de hesaplanmış ve Tablo 7.5'te verilmiştir.

Tablo 7.5: Tayini yapılan pestisitlere ait kromatografik veriler.

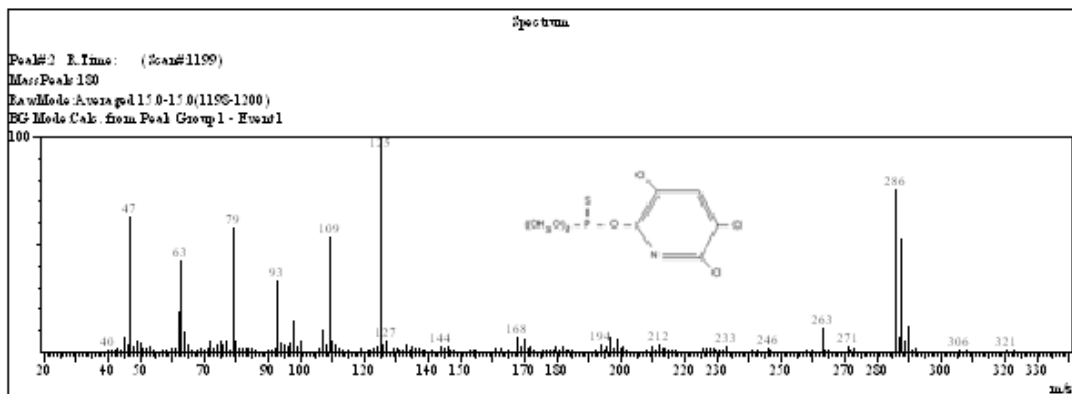
Pestisit	k'	Teorik plaka sayısı (N)	Rs
Kloropirifos-metil	0,026270	494622	1,90
Fention	0,026891	361509	4,41
Kloropirifos-etil	0,030722	524996	1,78
Penkonazole	0,028733	454898	4,37
Triadimenol	0,038542	400489	2,75
Mayklobutanil	0,033206	3596602	6,44

Kromatografide teorik plaka sayısı ile kolon verimliliği arasında bir ilişki vardır. Teorik plaka sayısının artması kolon verimliliğini de artırır. Tablo 7.5'e göre, teorik plaka sayılarının yüksek çıkması TRB-5ms kolon veriminin iyi olduğunu gösterir. Ayrıca kromatografide kolon ayırma gücü de önemlidir ve genellikle 1,5'in üzerinde bir değerde olması istenir. Tablo 7.5'de ayırma gücünün tüm analitler için 1,5'in üzerinde olduğu görülmüştür. Bu da pestisit karışımının TRB-5ms kolonda ayırmanın iyi olduğunu göstermektedir.

### 7.3.1 Analitlerin kütle spektrumları ve değerlendirilmesi

Şekil 7.2 ve 7.3'te kromatogramları verilmiş olana analitlerin kütle spektrumları ve spektrumlara ait yorumlar aşağıda analitlerin kolonda alıkonma süreleri dikkate alınarak sırasıyla verilmiştir.

Şekil 7.4'te kloropirifos-metil bileşiğine ait kütle spektrumu verilmiştir. Spektrumda, 322.5 g/mol molekül ağırlığına sahip olan bileşiğe ait moleküler pik görünmemektedir. Literatürde de EI modunda bazı yapılara ait kütle spektrumlarında, moleküler pikin ya çok küçük bir bağıllıkta ya da hiç görünmediği belirtilmektedir (Skoog ve diğ., 1998; Erdik, 2008).



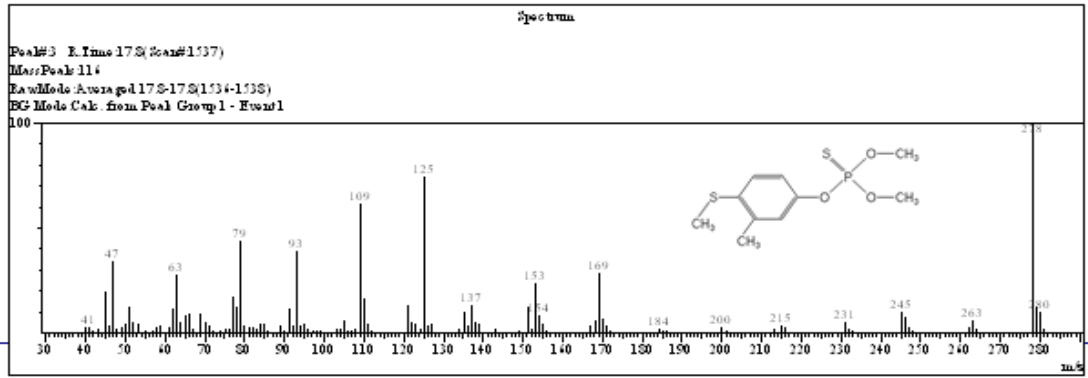
Şekil 7.4: Kloropirifos-metil bileşiğine ait kütle spektrumu.



MS spektrumuyla bileşikler aydınlatılırken izotop pikleri önemlidir. İzotop piklerinin bağıl bolluğu,  $(a+b)^n$  eşitliğinden yararlanılarak bulunabilir; a ve b izotopların bağıl bolluğu ve n iyondaki atom sayısıdır. İzotop atomların bağıl bolluk oranlarına bakılarak yapı tayin edilebilir. Klor izotopları  $^{35}\text{Cl}$  (% 75.5),  $^{37}\text{Cl}$  (% 24.5) bağıl bolluk oranıyla 3:1 oranında  $M^+/M^{+2}$  piki verir. Kloropirifos-metil bileşiği incelendiğinde yapıda 3 tane Cl atomu vardır. Moleküldeki 2 Cl atomu izotop pikine etki edecek olursa bağıl bolluk oranı 9:6:1, 3 Cl atomu etki edecek olursa 27:27:9 oranında  $M^+/M^{+6}$  piki verir (Erdik, 2008). m/e: 286 pikinden sonra gelen 288 piki klor'a ait  $M^{+2}$  izotop pikidir ve bu pik bağıl bolluk oranına göre 286 pikinin 6/9'u kadardır. Bu da yapıdaki 2 Cl atomunun izotop pikine etkisinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.

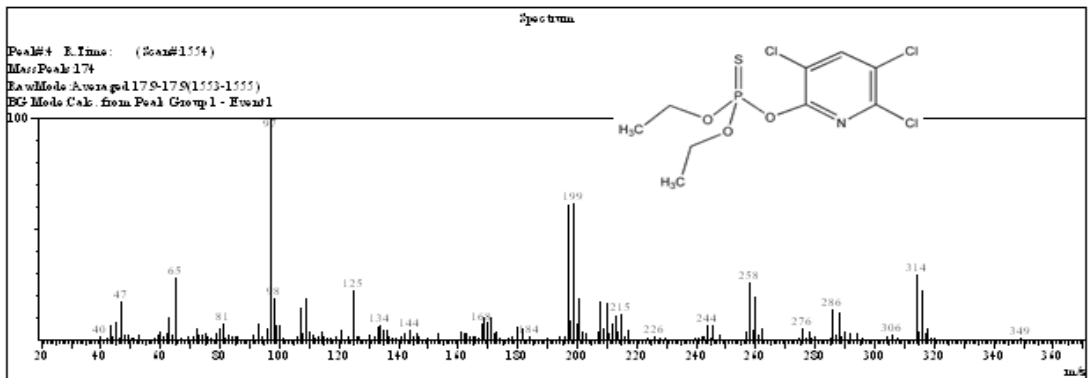
Şekil 7.4'teki kütle spektrumunda, halkalı yapıdan Cl atomunun ayrılmasıyla M-36 piki, halkalı yapı ve halkaya bağlı O atomunun kopmasıyla da M-197 veren bölünme ürünü görülmektedir. m/e: 125'te temel pik olarak karşımıza çıkmaktadır. Bileşikteki halkanın parçalanmasıyla M-230 kopması ve m/e: 93 pikinin oluşumu gözlenir. Bu bileşiğin MS spektrumunun spektrometrenin NIST147 kütüphanesi ile olan benzerliği % 92'dir.

Şekil 7.5'te fention bileşiğine ait kütle spektrumu görülmektedir. Bu spektrumda, moleküler iyon piki m/e:278'de görülmüştür. Ayrıca yapının S atomu bulundurduğu düşünülürse 1:24 oranında moleküler iyon pikinin yanında  $M^{+2}$  izotop piki de görülebilir (Erdik,2008). Bu durum 278 pikinin bağıl bolluğunun 1/24 oranında görülen 280'deki pik ile açıklanabilir. m/e:137'de gözlenen pik,  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3\text{PS}$  grubunun kopmasıyla oluşmuştur. m/e:125 de görülen pikin ise halkaya bağlı -S'ün yanındaki - $\text{CH}_3$  grubunun kopmasından ileri gelmektedir. m/e:79 pik ise benzen halkasına bağlı grupların halkadan koptuğunu göstermektedir. Fention bileşiğinin MS spektrumunun spektrometrenin NIST147 kütüphanesi ile karşılaştırılmasında benzerlik % 90'dır.



Şekil 7.5: Fention bileşiğine ait kütle spektrumu.

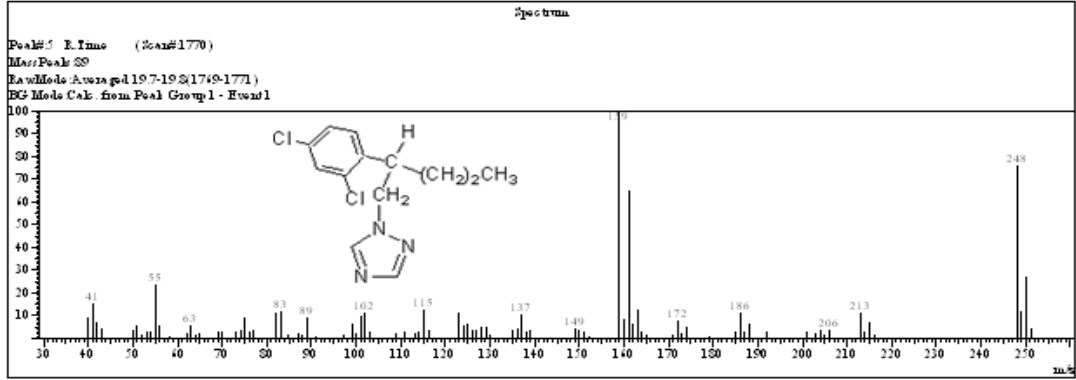
Kloropirifos-etil bileşiğine ait kütle spektrumu Şekil 7.6'da görülmektedir. m/e:97'de temel pik görülmüştür. m/e: 314 pikinden sonra gelen pik ise 2 tane klor atomuna ait  $M^{+2}$  izotop pikidir ve bu 314 pikinin bağıl bolluğunun 6/9'u kadardır. Organofosfor pestisit sınıfındaki bu bileşikten,  $C_4H_8O_2PS$  grubunun kopmasıyla m/e: 197 piki spektrumda görülmektedir. m/e: 199 piki ise 3 Cl atomundan dolayı oluşan  $M^{+6}$  izotop pikidir. Burada izotop pik oranı 27:27:9 olduğu için 197 ile 199 piklerine ait bağıl bolluklar hemen hemen eşittir. Halkaya bağlı son O atomunun da kopmasıyla M-169 pikini de düşük bir bağıl bollukta görmekteyiz. m/e:97'nin oluştuğu temel pik de halkanın parçalanmasıyla oluştuğu düşünülmektedir. Bu bileşiğin MS spektrumunun spektrometrenin NIST147 kütüphanesi ile olan benzerliği % 88'dir.



Şekil 7.6: Kloropirifos-etil bileşiğine ait kütle spektrumu.

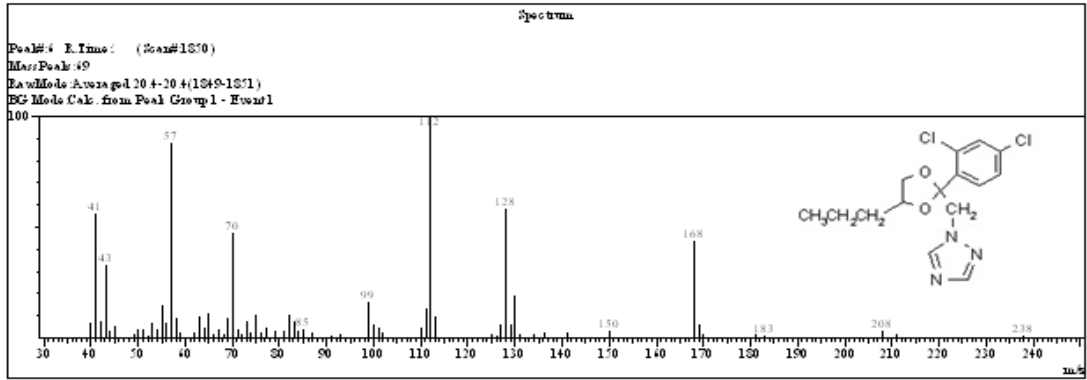
Penkonazol bileşiğine ait MS spektrumu Şekil 7.7'de verilmiştir. Azole grup pestisit olan penkonazolden M-36 klorür kopmasıyla 248 piki oluşmuştur. m/e:250'de de benzen halkasına bağlı 2 Cl atomuna ait oluşabilecek izotop pikini görmekteyiz. Aynı izotop piki benzer bir bağıl bollukla m/e:161 pikiyle tekrarlanmaktadır. Benzen halkasına bağlı alifatik ve triazin grubunun kopmasıyla M-125 de 159 pikinin

oluştugu gözlenmiştir. Penkonazol bileşiği ise %94 oranında spektrometrenin NIST147 kütüphanesi ile benzerlik göstermiştir.



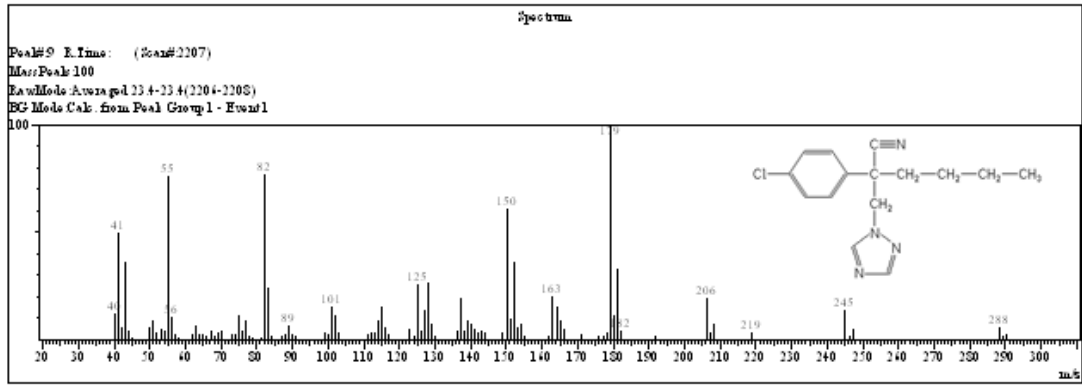
Şekil 7.7: Penkonazol bileşiğine ait kütle spektrumu.

Azole grup pestisit sınıfındaki bir diğer pestisit olan triadimenole ait MS spektrumu da Şekil 7.8'de gösterilmiştir. m/e:168'de görünen pik yapıdan -C<sub>3</sub>H<sub>9</sub> ile triazin halkasına bağlı -CH<sub>2</sub> den olan kopmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Halkaya bağlı 2 O atomunun kopmasıyla m/e:112 temel piki oluşmuştur. Bu bileşiğin ise benzerlik oranı yine spektrometrenin NIST147 kütüphanesi için % 96 olarak görüldü.



Şekil 7.8: Triadimenol bileşiğine ait kütle spektrumu.

Şekil 7.9'da azole grup pestisit olan mayklobutanil bileşiğine ait temel pik m/e:179'da görünmektedir. Temel pikin yapıda -CN ve triazin grubuna bağlı -CH<sub>2</sub> nin kopmasından olabileceği söylenebilir. Çok düşük bir bağlı bollukta da olsa 288'de moleküler pikin olduğu görülmektedir. m/e:181'de de M<sup>+2</sup> izotop pikinin görüldüğü söylenebilir. Spektrometrenin NIST147 kütüphanesi ile olan karşılaştırmada mayklobutanil bileşiği % 87'lik bir benzerlik göstermiştir.

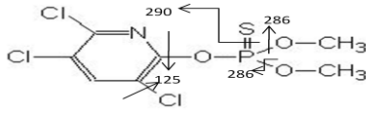
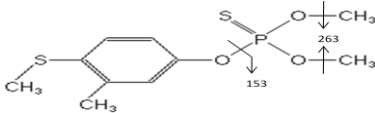
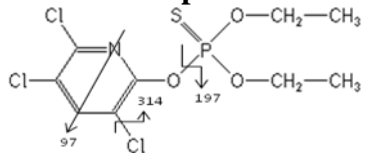
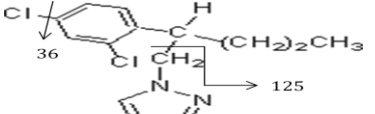
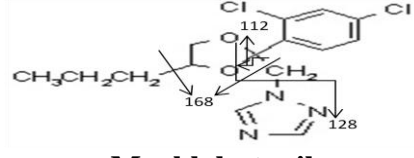
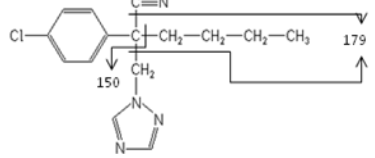
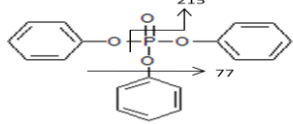


Şekil 7.9: Mayklobutanil bileşiğine ait kütle spektrumu.

Kromatografik çalışmalarda MS’de, taramalı (Scan) mod daha çok kalitatif tayinler, seçimli iyon taraması (SIM) modu da kantitatif tayinler için kullanılan yöntemlerdir. Çalışmamızda tayini yapılan pestisitlere ait tarama modunda MS spektrumlarını değerlendirerek spesifik m/e kopmaları belirlenmiştir. Daha sonra kantitatif analiz için bu değerler SIM modunda değerlendirilmiştir. SIM modundaki çalışmada kullanılan m/z değerleri ile elde edilmiş bağıl bolluk oranları Tablo 7.6’da özetlemiştir.

Kantitatif analiz için, DLLME yöntemine geçmeden önce optimize edilmiş GC-MS çalışma şartlarında her bir bileşik için kalibrasyon grafikleri çizilerek; eğri denklemi, korelasyon katsayısı, cevap faktörü gibi veriler değerlendirildi. Kalibrasyon grafikleri model çözelti kullanılarak elde edildi. Pestisitlere ait analitik veriler incelendiğinde tüm analitlerin 0,2-10 µg mL<sup>-1</sup> derişim aralığında doğrusallık gösterirken, cevap faktörlerine ait bağıl standart sapmaların değişiklik gösterdiği görülmektedir (Tablo 7.7). Cevap faktörlerinin bağıl standart sapmalarının daha iyi olabileceği noktalar için, kalibrasyon eğrisine ait noktaların hem düşük hem de yüksek derişim aralığı için ayrı çalışmalar yapılmıştır. Ancak sonuçlarda çok büyük sapma değerleri olmamıştır. Tüm analitler için kalibrasyon eğrilerine ait yüksek korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Tablo 7.7’de yer alan gözlenebilme sınırı (LOD) değeri ise kalibrasyon eğrisi içerisinde inilebilecek en düşük derişim olarak ifade edilmiştir. IUPAC’ın tanımladığı gözlenebilme sınırı ile aynı anlamı taşımamaktadır. Herbir analite ait gözlenebilme sınırları geliştirilen metod için daha sonra verilecektir.

Tablo 7.6: Çalışılan pestisitlere ait MS’de seçimli iyon modunda (SIM) m/z, alıkonma zamanları ve molekül yapıları.

Pestisitlerin molekül yapıları	MA <sup>b</sup>	Rt <sup>c</sup> (min.)	m/z (R.A., %) <sup>d</sup>
<p><b>Kloropirifos-metil</b></p> 	322,5	9,77	286 <sup>e</sup> , 125, 290 (100; 71,07; 15,31)
<p><b>Fention</b></p> 	278,33	10,43	<b>278<sup>e</sup></b> , 153, 263 (100; 16,07; 6,4)
<p><b>Kloropirifos-etil</b></p> 	350,6	10,46	97, 197 <sup>e</sup> , 314 (100; 70,01; 58,08)
<p><b>Penkonazol</b></p> 	284,19	11,11	159 <sup>e</sup> , 248, 250 (100; 94,23; 33,46)
<p><b>Triadimenol</b></p> 	295,8	11,27	112 <sup>e</sup> , 168, 128 (100; 57,38; 48,38)
<p><b>Mayklobutanil</b></p> 	288,79	12,38	179 <sup>e</sup> , 150 (100; 51,28)
<p><b>Trifenil fosfat<sup>a</sup></b></p> 	326,29	14,22	<b>326<sup>e</sup></b> , 77, 215 (100; 74,78; 31,97)

<sup>a</sup> iç standart. <sup>b</sup>MA: molekül ağırlığı. <sup>c</sup>Rt: alıkonma zamanı (dak.). <sup>d</sup>R.A.: bağıl bolluk. <sup>e</sup> doğrulama iyonları ( altı çizili olan iyonlar temel piki ve bold olanlar ise moleküler piki ifade etmektedir).

Tablo 7.7: Tayini yapılan pestisitlere ait analitik veriler.

Pestisit	Derişim aralığı ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Kalibrasyon eğrisi	$R^2$	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	CF (% BSS)
Kloropirifos-metil	0,2 - 10	$y = 37083,2x + 5748,1$	0,998	1,38	20,53
Fention	0,2- 10	$y = 131441,2x - 39553,7$	0,999	1,24	45,89
Kloropirifos-etil	0,2 - 10	$y = 36577,2x - 7215,0$	0,999	4,44	32,74
Penkonazole	0,2 - 10	$y = 53137,4x - 809,3$	0,999	1,95	11,65
Triadimenol	0,2 - 10	$y = 53667,5x + 2456,2$	0,999	5,33	9,32
Mayklobutanil	0,2 - 10	$y = 40185,2x + 3389,6$	0,999	8,70	9,75

#### 7.4 DLLME Yönteminin Optimizasyonu ve Bulgular

Bir yöntemin optimizasyonunda yapılacak deneylerin sonuçlarını etkileyen birçok faktör (pH, sıcaklık, nem, kullanılan reaktifler gibi) vardır. Bunları her zaman kontrol etmek mümkün olmaz. Bu yüzden deneysel tasarımların dikkatlice kurulması gerekir. Bu amaçla DLLME yönteminin optimizasyonunda MINITAB 13.1 istatistik programı ile faktoriyel tasarım yapılarak değişkenlerin rastgele kombinasyonu ile oluşturulan deneysel şartlarda deneyler gerçekleştirildi. Tayini ve deriştirilmesi yapılacak bileşiklerin DLLME yöntemiyle tayinine yönelik metodun optimizasyonu için düzeylere ait veriler ve yapılacak deneylere ilişkin verilerin oluşturulduğu Plackett-Burman tasarım değişkenleri Tablo 7.8'de verilmiştir. Deneylerde ekstraksiyon çözücüsü olarak klorobenzen ve dispersif çözücü olarak da asetonitril (ACN) kullanıldı.

Tablo 7.8: İki düzeyde faktöriyel tasarıma ait faktör ve düzeyleri ile tasarım matrisi.

Faktörler	Düzeyler	
	Düşük (-)	Yüksek
(EÇH) Ekstraksiyon çözücü	40	80
(DÇH) Dispersif çözücü	0,5	1
(ES) Ekstraksiyon süresi	2	5
(SD) Santrifüj devri (rpm)	3500	4500
(ÖH) Örnek hacmi (mL)	5	10

Deney no	Faktörler				
	EÇH	DÇH	ES	SD	ÖH
1	-	+	+	+	-
2	-	-	+	-	+
3	+	+	+	-	-
4	-	+	-	+	+
5	+	-	-	+	-
6	+	+	-	-	+
7	0	0	0	0	0
8	+	-	+	+	+
9	-	-	-	-	-

Bu faktöriyel tasarıma göre analitlerin kantitatif geri kazanımını sağlayan en iyi değişken değerlerini bulmak için DLLME deneyi uygulandı. Değişkenlerin optimizasyonunda, karşılaştırma ölçütü olarak analitlerin geri kazanma verimi kullanıldı.

Yapılan deneylere ait önderiştirme faktörü, sediment fazdaki analit derişiminin (*Csed*), örnek çözeltideki analitin başlangıç derişimine oranı olarak hesaplanmıştır:

$$PF = \frac{C_{sed}}{C_o} \quad (7.1)$$

*Csed*, kalibrasyon grafiğinden bulundu. Ekstraksiyon geri kazanımı ER (extraction recovery), sediment faza ekstrakte edilen analit miktarının (*nsed*) toplam analit miktarına (*no*) oranının 100 katı olarak tanımlanır:

$$ER = \frac{nsed}{no} \times 100 = \frac{C_{sed} \times V_{sed}}{C_o \times V_{aq}} \times 100 \quad (7.2)$$

$$ER = \left( \frac{V_{sed}}{V_{aq}} \right) PF \times 100$$

(7.3)

*Vsed* ve *Vaq*, sırasıyla sediment faz ve örnek çözelti hacmidir.

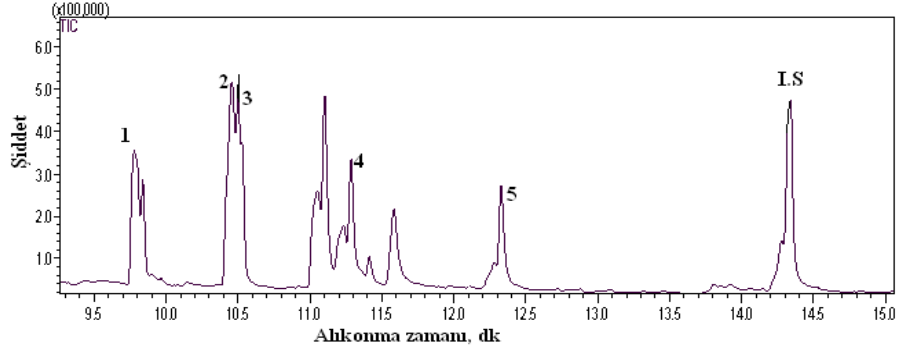
Yapılan DLLME yöntemiyle önderiştirme çalışmasında, sediment faz hacmi  $55 \pm 2$   $\mu$ L olarak elde edilmiştir.

Her bir pestisit için Tablo 7.8’de verilen deneysel çalışma şartlarının Plackett Burman geri kazanım değerleri Tablo 7.9’da verilmiştir.

Tablo 7.9: Analitlerin geri kazanma değerleri (N:4).

Deney No	Geri kazanım (%)					
	Kloropirifos- metil	Fention	Kloropirifos- etil	Penko-nazol	Triadimenol	Mayklobutanil
1	37,9 $\pm$ 2,6	27,4 $\pm$ 3,4	71,3 $\pm$ 3,6	-	37,5 $\pm$ 2,1	56,9 $\pm$ 2,8
2	16,2 $\pm$ 0,7	17,5 $\pm$ 1,3	74,6 $\pm$ 4,6	-	23,9 $\pm$ 3,2	41,6 $\pm$ 1,7
3	36,8 $\pm$ 0,8	62,2 $\pm$ 2,4	71,5 $\pm$ 0,6	-	43,8 $\pm$ 1,0	67,9 $\pm$ 2,4
4	90,0 $\pm$ 4,3	101,7 $\pm$ 4,9	93,3 $\pm$ 2,7	-	40,0 $\pm$ 1,6	97,7 $\pm$ 7,2
5	84,6 $\pm$ 2,5	49,3 $\pm$ 1,5	62,0 $\pm$ 5,0	-	88,7 $\pm$ 3,8	105,0 $\pm$ 5,2
6	21,8 $\pm$ 2,8	96,4 $\pm$ 2,7	59,5 $\pm$ 2,6	-	29,8 $\pm$ 0,8	58,0 $\pm$ 1,4
7	99,0 $\pm$ 5,5	97,7 $\pm$ 8,5	95,7 $\pm$ 7,2	-	97,7 $\pm$ 7,3	103,3 $\pm$ 7,6
8	81,0 $\pm$ 3,6	92,0 $\pm$ 7,2	85,3 $\pm$ 8,4	-	27,0 $\pm$ 1,7	74,0 $\pm$ 3,5
9	88,0 $\pm$ 1,8	105,6 $\pm$ 9,4	91,7 $\pm$ 4,6	-	61,3 $\pm$ 7,1	101,0 $\pm$ 8,7

7 numaralı deneyde, kantitatif geri kazanma değerleri elde edilmiştir (kloropirifos-metil için % 99, fention için % 97,7, kloropirifos-etil için % 95,7, triadimenol için % 97,7 ve maylobütanil için %103,3). Yedi numaralı deneye ait elde edilen GC kromatogramı Şekil 7.10’da verilmiştir.

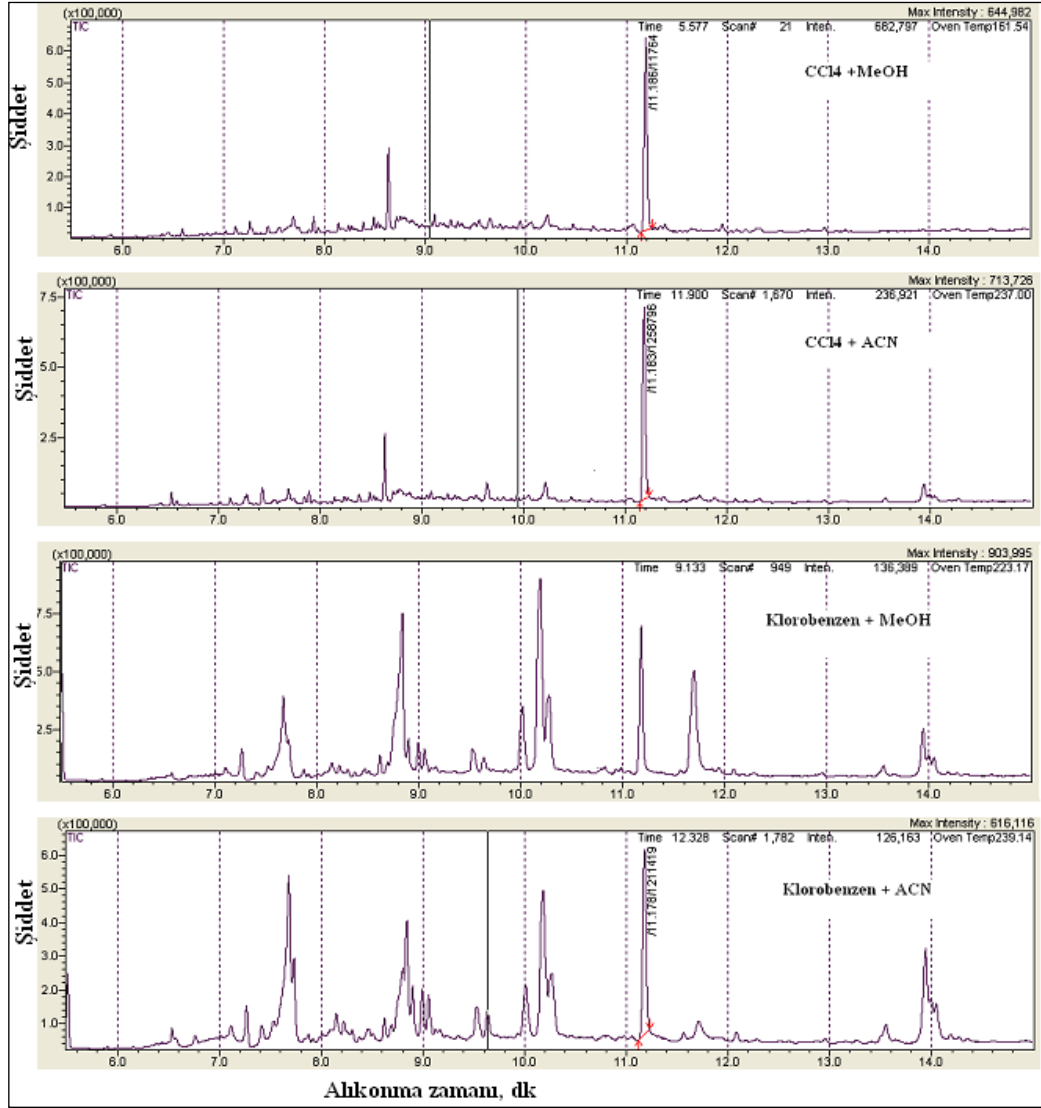


Şekil 7.10: Model pestisit çözeltisinden DLLME ile zenginleştirme sonrası elde edilen GC-MS kromatogramı (1) Kloropirifos-metil, (2)fention, (3) kloropirifos-etil, (4) triadimenol, (5) mayklobutanil ve (IS) trifenil fosfat

Şekil 7.10’da verilmiş kromatogram ile Şekil 7.3’teki model çözeltinin kromatogramı ile karşılaştırıldığında piklerin alıkonma zamanlarında matrikse bağlı olarak küçük değişiklikler göstermektedir. Piklerin alıkonma zamanları model çözülden elde edilen kromatogramdaki alıkonma zamanları ile hemen hemen aynıdır. Şekil 7.10’a göre, kloropirifos-metil,fention, kloropirifos-etil, triadimenol, mayklobutanil ve iç standardın (trifenil fosfat) alıkonma zamanları sırasıyla 9,78; 10,43; 10,46; 11,25; 12,38 ve 14,32’dir.

Tablo 7.9’a göre, penkonazol bileşiğine ait yapılan tüm deneylerden herhangi bir geri kazanım değeri hesaplanamamıştır. DLLME yönteminde kullanılan ekstraksiyon ve dispersif çözücülerden safsızlık gelebileceği düşünülerek, bu çözücülere ait kör çözelti analizi yapılmıştır (Şekil 7.11).





Şekil 7.11: DLLME metodu için kullanılan ekstraksiyon çözücüsü ve dispersif çözücüler içeren kör numunelerin GC kromatogramları.

Şekil 7.11’de kör çözeltilerin GC-MS kromatogramları incelendiğinde, penkonazol’ün 11,11. dakikadaki alkonma zamanında gözlenen pik ile safsızlık veya matriksten tanımlanamayan bir başka madde piki ile çakıştığı görülmüştür. Safsızlık ya da matriks kaynaklı bu pik penkonazolün pik alanında değişikliğe neden olduğundan bu pestisite ait geri kazanım değeri verilememiştir.

Daha sonra farklı bir ekstraksiyon ve dispersif çözücü ile ekstraksiyon veriminde herhangi bir değişiklik olup olmayacağına karar vermek için Tablo 7.9’deki 7 numaralı deneyin çalışma şartlarında ekstraksiyon çözücüsü olarak karbontetraklorür (60 µL) ve dispersif çözücü olarak da metanol (0,75 mL) kullanılarak çalışma tekrarlandı. Elde edilen geri kazanma değerleri Tablo 7.10’da verilmiştir.

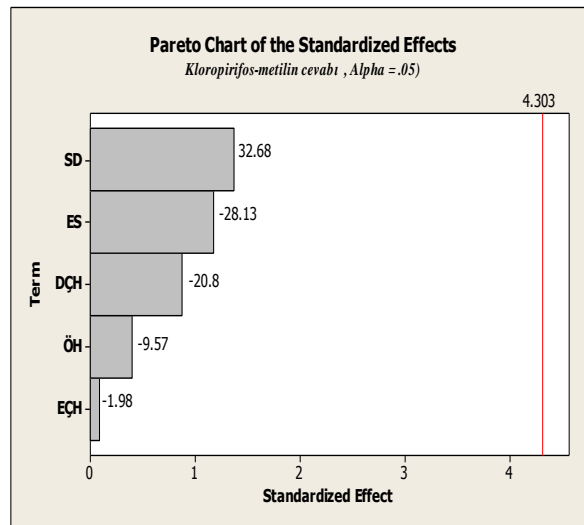
Tablo 7.10: Optimizasyonu belirlenen sonuçlar ile CCl<sub>4</sub> (EÇ) ve MeOH (DÇ) deney sonuçlarına ait % geri kazanım değerleri (N:4).

EÇ+DÇ	Geri kazanım (%)					
	Kloropirifos- metil	Fention	Kloropirifos- etil	Penko- nazol	Triadimenol	Mayklobutanil
CCl <sub>4</sub> +MeOH	57,3 ± 4,7	49,6 ± 3,9	62,0 ± 5,8	-	29,0 ± 3,1	84,5 ± 8,4
CCl <sub>4</sub> +ACN	61,9 ± 5,2	75,0 ± 5,7	72,5 ± 6,3	-	105,6 ± 7,4	79,5 ± 7,2
Klorobenzen+ MeOH	34,3 ± 3,6	57,7 ± 9,8	58,3 ± 5,7	-	41,3 ± 7,3	71,0 ± 8,7

Tablo 7.10'daki sonuçlara bakıldığında analitlerin geri kazanım değerlerinde düşme olduğu görüldü. Bu nedenle, çalışmanın bundan sonraki bölümünde ekstraksiyon çözücüsü klorobenzen ve dispersif çözücüde ACN kullanılarak gerçekleştirildi.

Tablo 7.9'da verilen 9 deneyin geri kazanım değerleri dikkate alınarak MINITAB 13.1 istatistik programında yapılan hesaplamalar sonunda belirlenen değişkenlerin etkileri incelenmiştir. Deneysel tasarımın sonuçları, ana etkiler ve % 5 önem seviyesinde ANOVA testi ile değerlendirilmiş ve değişken etkilerine ait veriler her bir pestisit için Şekil 7.12-7.21'de pareto ve plot etkileşim diyagramları ile gösterilmiştir. Pareto diyagramlarındaki barlar her bir faktörün etki değerini gösterirken dikey referans çizgisi ise önem düzeyini göstermektedir. Değişken plot etkileşim grafikleri incelenirken, değişkenler arasındaki etkileşim eğrisi birbirine paralel ise; değişkenler arasında etkileşim olmadığı, etkileşim eğrileri çakışıyor ise; bileşiklerdeki değişkenlerin birbirini etkilediği söylenebilir.

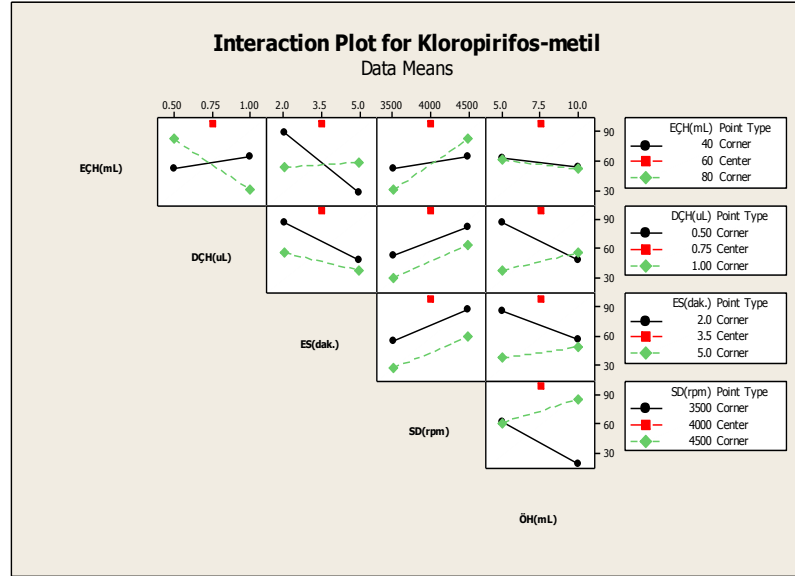
Bu bağlamda, ilk olarak kloropirifos-metil pestisitine ait pareto diyagramı incelenmiştir (Şekil 7.12).



Şekil 7.12: Kloropirifos-metile ait standardize edilmiş Pareto diyagramı.

Şekil 7.12’de Pareto diyagramını incelendiğinde genel olarak, barlardan da görüldüğü gibi tüm değişkenlerin etki düzeyleri (% 5 önem seviyesinde) referans çizgisini geçmemiştir. Ancak bu bileşiğin geri kazanım değeri üzerinde santrifüj devri (SD) önem seviyesi en yüksek olan değişkendir. Şekil 7.12’den görüldüğü gibi etki değerinin pozitif olması (32,68), bu değişkenin daha yüksek seviyesinde çalışılması gerektiği anlamına gelmektedir. Ekstraksiyon süresi (ES), dispersif çözücü hacmi (DÇH), örnek hacmi (ÖH) ve ekstraksiyon çözücü hacminin (EÇH) etki değerinin negatif olması, deneylerin bu değişkenler için düşük seviyede çalışılması gerektiği anlamını taşımaktadır. Bu değişkenlerin önem düzeylerinin düşük olduğu p değerleri ile de açıklayacak olursak, her bir değişken için sırasıyla p değerleri; SD (0,305), ES (0,361), DÇH (0,476), ÖH (0,728) ve EÇH (0,942) dir. Tüm p değerleri görüldüğü gibi 0,05 değerinden yüksek olduğu için önem düzeyleri de referans çizginin altında çıkmıştır.

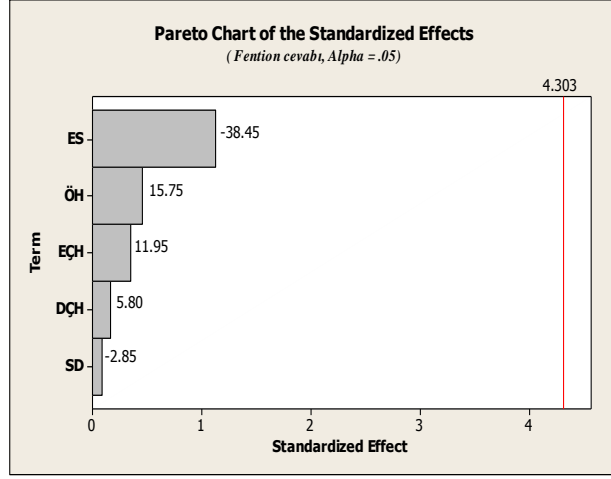
Bunun yanında değişkenlerin birbirleriyle olan etkileşimlerini açıklamak için plot etkileşim diyagramı dikkate alınmıştır (Şekil 7.13).



Şekil 7.13: Kloropirifos-metile ait plot etkileşim diyagramı.

Şekil 7.13’te verilen plot diyagramından DÇH ile SD ve ES ile SD arasında önemli bir etkileşim olmadığını, bu değişkenlerin birbirlerini direk etkilemedikleri görülmüştür. EÇH ile DÇH, ES, SD ve ÖH arasında önemli bir etkileşim vardır.

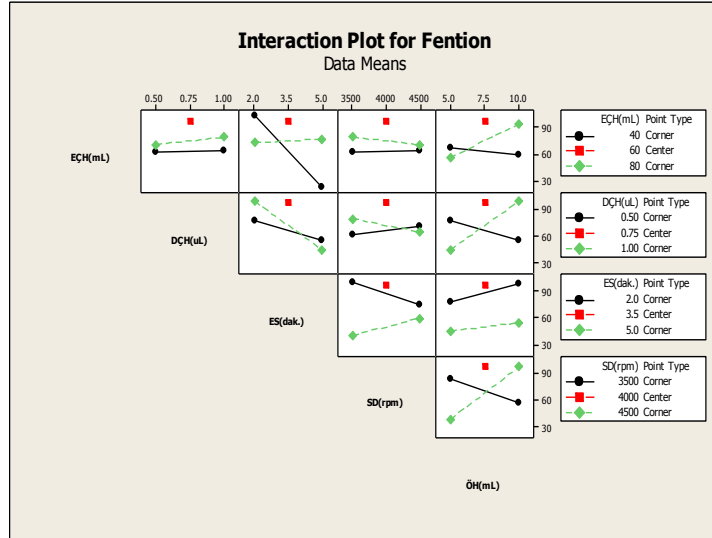
Diğer bir çalışılan pestisit olan fention bileşiği için elde edilmiş geri kazanım değerlerine ait pareto diyagramı Şekil 7.14’te verilmiştir.



Şekil 7.14: Fentiona ait standardize edilmiş Pareto diyagramı.

Şekil 7.14'e göre, fention bileşiği içinde tüm değişkenlerin önem düzeyleri referans çizginin altında kalmaktadır. En önemli değişken ise ekstraksiyon süresidir (p: 0,378) ve etki düzeyi negatif olduğu için (-38,45) bu değişkenin daha düşük seviyesinde çalışılması gerekmektedir. Önem düzeyi en düşük değişken ise SD (p:0,941) dir. ÖH, EÇH ve DÇH önem düzeylerinin pozitif çıkması ise, bu değişkenlerin daha yüksek seviyelerinde çalışılması gerektiğini göstermektedir.

Yine fentiona ait seçilen değişkenlerin birbiriyle etkileşimi için plot etkileşim diyagramı çizilmiştir (Şekil 7.15).

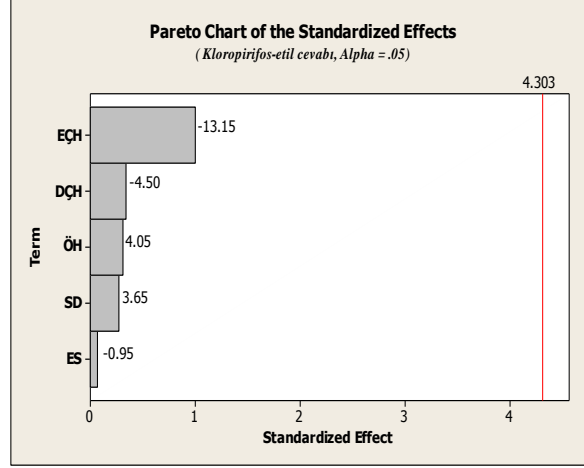


Şekil 7.15: Fentiona ait plot etkileşim diyagramı.

Şekil 7.15'deki plot etkileşim diyagramı incelendiğinde, ES ile ÖH değişkenlerinin birbirlerini çok etkilemedikleri ancak EÇH ile DÇH, ES, SD ve ÖH değişkenlerinin

birbirlerini etkiledikleri söylenebilir. En yüksek geri kazanım değerlerine tüm değişkenlerin merkezi noktalarında ulaşıldığı görülmüştür.

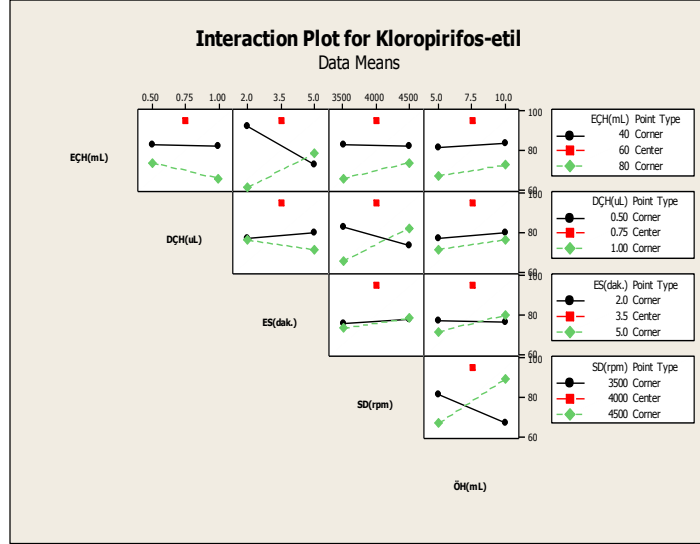
Tayini yapılması düşünülen diğer bir pestisit olan kloropirifos-etil pestisitine ait Pareto diyagramı Şekil 7.16'da verilmiştir.



Şekil 7.16: Kloropirifos-etile ait standardize edilmiş Pareto diyagramı.

Şekil 7.16'da önem düzeyi en yüksek olan değişkenin EÇH olduğu (-13,15) ancak referans çizginin altında kaldığı görülmektedir (p: 0,424). Önem sırasına göre diğer değişkenlerimiz. DÇH (p: 0,776), ÖH (p: 0,788), SD (p: 0,808) ve ES (p: 0,949) dir. EÇH, DÇH ve ES etki değerlerine bakıldığında, çalışmanın bu değişkenler için etki düzeyleri negatif olduğundan bu değişkenlerin daha düşük seviyelerinde çalışılması gerekmektedir. Düşük seviyelerde (-) daha yüksek geri kazanım değerleri elde edilebileceğini göstermektedir. ÖH ve SD değişkenlerinde yüksek geri kazanım değerleri için daha yüksek seviyelerde (+) çalışılmasına yönlendirmektedir.

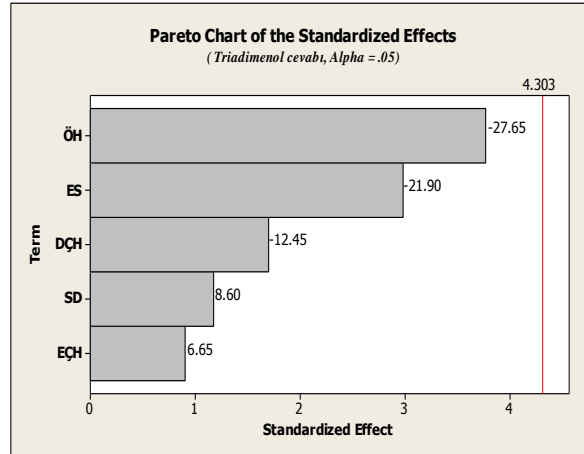
Kloropirifos-etil pestisiti için çalışılan değişkenler arasındaki plot etkileşim diyagramı Şekil 7.17'de verilmiştir.



Şekil 7.17: Kloropirifos-etile ait plot etkileşim diyagramı.

Plot etkileşim diyaframı incelendiğinde (Şekil 7.17) EÇH ile DÇH değişken etkileşimlerinin çok yüksek olmadığı ancak diğer değişkenlerin etkileşimlerinin önemli olduğu görülmektedir.

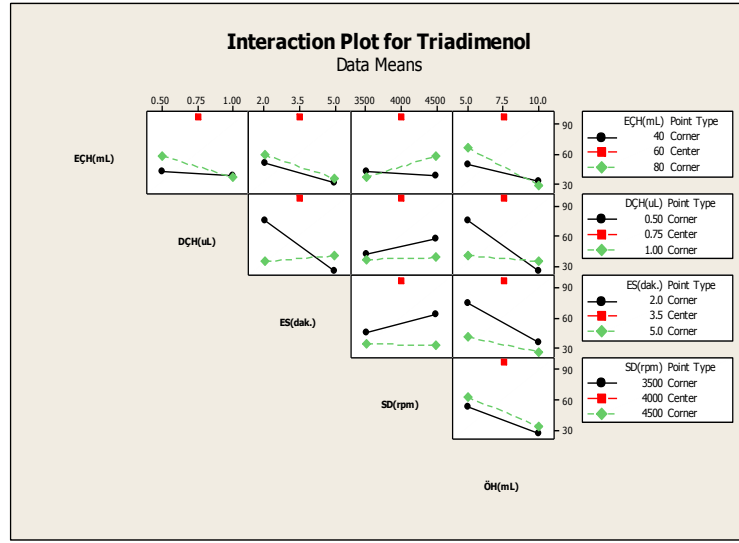
Şekil 7.18’de triadimenol bileşiğinin geri kazanım yüzde değerleri üzerinden elde edilmiş pareto diyaframı verilmiştir.



Şekil 7.18: Triadimenole ait standardize edilmiş Pareto diyaframı.

Şekil 7.18’de tüm değişkenlerin önem düzeylerinin kloropirifos-metil, fention ve kloropirifos-etil bileşiklerine göre referans çizgisine yakın olduğu görülmektedir. Bu değişkenlerden en önemlileri sırasıyla; ÖH (p: 0,064), ES (p: 0,096), DÇH (p: 0,232), SD (p: 0,362) ve EÇH (p: 0,461) dir. Triadimenol bileşiği için en yüksek geri kazanım değerlerine ÖH, ES ve DÇH’nin düşük seviyelerinde (-) ulaşılabileceği Pareto diyaframındaki barlar üzerinde verilmiş etki değerlerinden görülmektedir.

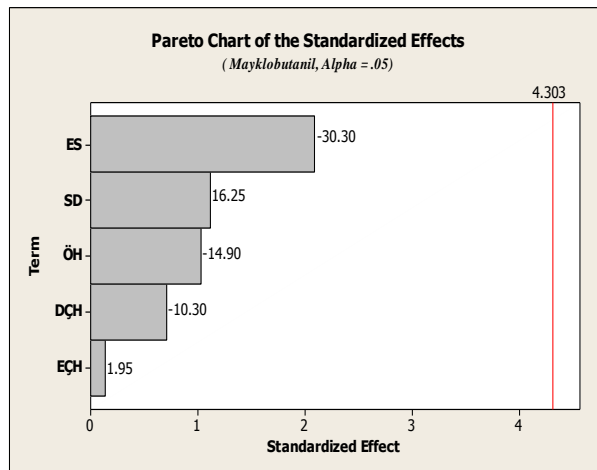
Bunun yanında değişkenlerin etkileşimleri için plot etkileşim diyagramı Şekil 7.19'da verilmiştir.



Şekil 7.19: Triadimenole ait plot etkileşim diyagramı.

Şekil 7.19'dan SD ile ÖH ve EÇH ile ES arasındaki etkileşimlerin çok düşük olduğu görülmektedir. Triadimenol bileşiği içinde en yüksek geri kazanım değerleri tüm değişkenler için merkezi noktadaki değerlerde elde edilmiştir.

Diğer çalışılan pestisit olan mayklobütanil bileşiğine ait Pareto diyagramı Şekil 7.20'de görülmektedir.

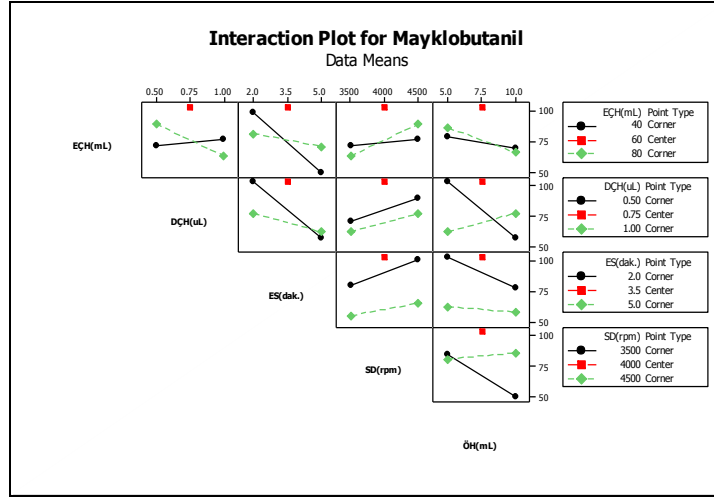


Şekil 7.20: Mayklobutanil ait standardize edilmiş Pareto diyagramı.

Şekil 7.20'ye bakıldığında, mayklobutanil bileşiğinin geri kazanımı üzerinde en büyük öneme sahip değişken ES olarak görülmüştür. ES önem düzeyi (-30,30) değeri bizi ES seçiminde daha düşük seviyelerde çalışmamız gerektiğini göstermektedir.

Mayklobutanil bileşiğine ait etki değerleri için p değerleri önem sırasına göre; ES (p: 0,172), SD (p: 0,379), ÖH (p: 0,412), DÇH (p: 0,551) ve EÇH (p: 0,905) dir. p değerlerinden de görüldüğü gibi DÇH ve EÇH geri kazanım değeri üzerinde çok fazla bir öneme sahip değildir.

Şekil 7.21’de ise, aynı bileşiğe ait değişken etkileşimlerini açıklamak için plot etkileşim diyagramı çizilmiştir.



Şekil 7.21: Mayklobutanile ait plot etkileşim diyagramı.

Değişkenlerin etkileşimlerine bakıldığında, DÇH ile SD, ES ile SD ve ES ile ÖH aralarındaki etkileşimler çok düşük bulunmuştur (Şekil 7.21). En yüksek geri kazanım değerlerine tüm değişkenlerin merkezi noktada yapılmış deneysel çalışmalarda ulaşıldığı da görülmüştür.

Pareto diyagramları genel olarak özetlenecek olursa, her bir bileşik için seçilmiş değişkenlere ait etkilerin farklılık gösterdiği ancak tüm değişkenlerin önem düzeylerinin referans çizgisinin altında kaldığını söyleyebiliriz. Bu da beş değişkenin pestisitlerin geri kazanımları üzerindeki etkilerinin önemsiz olduğunu göstermiştir. Pareto diyagramları üzerinde etki değerleri ile verilmiş barlar ise belirlediğimiz etki düzeylerinin çalışmayı hangi düzeylerde seçim yapmamıza yardımcı olmuştur. Tüm bu sonuçlar ANOVA testinden elde ettiğimiz F değerleri ile de desteklemektedir. Tablo 7.11’de ANOVA test sonuçları ve F değerleri verilmiştir.



Tablo 7.11: DLLME faktöriyel tasarım ANOVA sonuçları.

Pestisit ismi	Kaynak	SD	SS	MS	F	P
Kloropirifos-metil	Ana etkiler	5	4776	955,2	0,83	0,624
	Eğim derecesi	1	1565	1565,2	1,37	0,363
	Kalıntı hata	2	2288	1144,2		
Fention	Ana etkiler	5	3822,1	764,4	0,33	0,864
	Eğim derecesi	1	732,2	732,2	0,31	0,632
	Kalıntı hata	2	4677,2	2338,6		
Kloropirifos-etil	Ana etkiler	5	447,6	89,52	0,26	0,904
	Eğim derecesi	1	339,7	339,74	0,97	0,428
	Kalıntı hata	2	697,0	348,52		
Triadimenol	Ana etkiler	5	3034,6	606,9	5,63	0,158
	Eğim derecesi	1	2563,3	2563,3	23,77	0,040
	Kalıntı hata	2	215,7	107,8		
Mayklobutanil	Ana etkiler	5	3028,1	605,6	1,44	0,458
	Eğim derecesi	1	699,4	699,4	1,66	0,326
	Kalıntı hata	2	841,7	420,9		

SS: kareler toplamı. MS: kareler ortalaması. SD: serbestlik derecesi

Tablo 7.11’de verilmiş olan varyans kaynaklarından ana etkiler tasarımda belirlediğimiz değişkenleri ifade ederken, kalıntı hataları ise değişkenlerin tasarımdaki katkılarının sınırlarını göstermektedir. F test istatistiği değeri ana etkilerin kalıntı hata serbestlik derecesi 5;2 oranı için F teorik değer 5,79’dur ( $\alpha;0,05$ ) ve Tablo 7.11’deki tüm deneysel F değerlerinden büyük olduğu için ana etkiler önemsizdir.

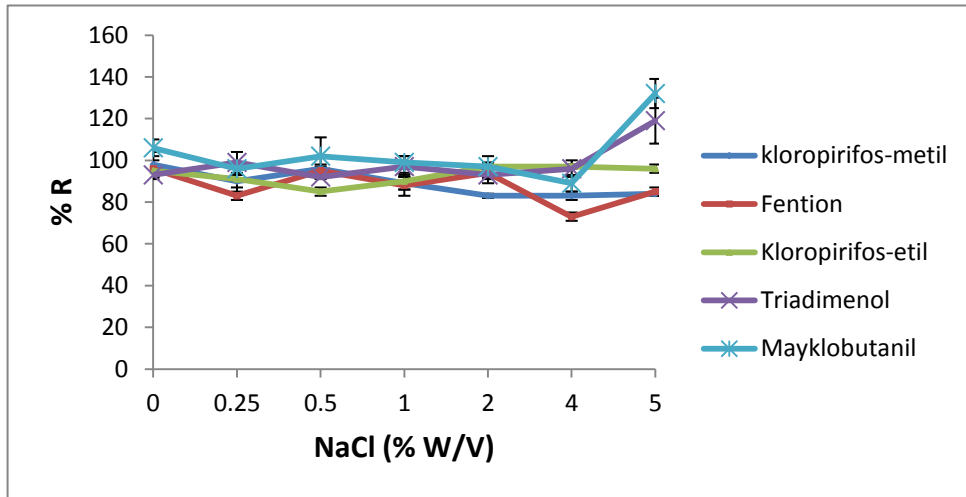
Pareto diyagramlarıyla değişkenlerin etki değerlerinin boyutu belirlendikten sonra DLLME yönteminin analitlere uygulanmasında hangi değişkenlerin alınması gerektiğine her bir analite ait elde edilen plot etkileşim diagramları incelenerek karar verilmiştir. Optimizasyon sonuçlarına göre tüm pestisitler için en yüksek geri kazanma değerleri 7 numaralı deneydeki verilerle elde edildiği görülmüştür. Buna göre optimizasyon sonucu değişken değerleri sırasıyla; EÇH: 60  $\mu$ L. DÇH: 0,75 mL. ÖH: 7,5 mL. SD: 4000 rpm ve ES: 3,5 dakika olarak seçildi.

#### 7.4.1 DLLME yöntemi üzerine tuz etkisi

Geleneksel ekstraksiyon metodlarında ekstraksiyon verimini artırmak ve organik faz içerisinde polar analitlerin bozunmadan kalmasını sağlamak için sulu örnek çözeltiye tuz eklenmesi ortak bir kabuldür. Su örneklerine tuz ilave edilmesi, suyun iyonik kuvvetini arttırarak polar analitlerin sudaki çözünürlüğü ile organik bileşiklerin sudaki çözünürlüğünü azaltarak organik faza geçen analit oranını artırır ve buna bağlı

olarak yöntemin ekstraksiyon verimliliği artabilir. Analitlerin sudaki çözünürlüğünün azalması sulu ortamdaki iyonik tuz molekülleri, (salting out etkisi) hidrasyon tabakasını sarmasıyla gerçekleşir. Ayrıca tuz molekülleri, polar moleküller ile elektrostatik etkileşime girebilir ve böylece analitlerin kütle transferinin azalmasına neden olabilir. Analitlerin çözünürlüğüne bağlı olarak, yüksek tuz konsantrasyonların da salting out etkisiyle ekstraksiyonun miktarı artabilir veya çözeltilde dağılmış olarak bulunan yüklü tanecikler (elektrolitler ve analitler) arasındaki çekim kuvvetleri nedeniyle analitlerin ekstraksiyonu azalabilir. Bu nedenle DLLME metodu üzerine tuz etkisi çalışılmıştır. Ekstraksiyon verimi üzerine tuz etkisi çalışmalarında genellikle bu amaç için NaCl kullanılır.

Model çalışmada optimize edilen şartlar altında ağırlıkça % 0-5 NaCl (w/v) aralığında tuz ile  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  düzeyde pestisit karışımı saf su örneğine ilave edilerek tuz etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara ilişkin veriler Şekil 7.22'de verilmiştir. Grafiktende görüldüğü gibi % 0-5'lik NaCl oranında tüm bileşikler için kantitatif geri kazanma değerlerinde önemli derecede azalma gözlenmezken, sadece triadimenol ve mayklobutanil bileşiğine ait geri kazanım değerleri %4'ün üzerindeki NaCl oranında kantitatif geri kazanımları artırdığı görülmüştür. Bu nedenle, optimum NaCl derişimi, %4 (w/v) olarak seçilmiştir. Bundan sonraki deneysel çalışmalarda tuz ilavesi yapılmamıştır.



Şekil 7.22: DLLME metodu üzerine tuz etkisi.

## 7.5 Yöntemin Analitik Değerlendirilmesi

Bazı organofosfor ve azole grup pestisitlerin deriştirilmesi ve tayini için optimize edilen DLLME-GC-MS yöntemi, lineerlik, gözlenebilme sınırı, kantitatif tayin sınırı % bağıl standart sapma, teorik ve deneysel zenginleştirme faktörleri gibi kantitatif analizdeki önemli değişkenler dikkate alınarak analitik açıdan değerlendirilmiştir.

Analizlerin yapıldığı GC-MS çalışma aralığını belirlemek amacıyla pestisitler için 1,6-32  $\mu\text{g L}^{-1}$  derişim aralığında çözeltiler hazırlandı ve doğrusal kalibrasyon aralığını belirlemek için GC-MS ile tayin edildi. Doğrusal çalışma aralığında kullanılan çözeltilere karşılık gelen seyreltik sulu pestisitlerin kalibrasyon çözeltilerine DLLME yöntemi uygulanarak önderiştirmeli kalibrasyon doğrusu çizildi. DLLME yöntemi ile zenginleştirme sonrası derişim aralığı 200–4000  $\mu\text{g L}^{-1}$  dir (Tablo 7.12). Bu kalibrasyon eşitliklerinin DLLME yöntemiyle elde edilen eğimin, DLLME'siz elde edilen eğime oranlanmasından deneysel zenginleştirme faktörleri hesaplandı (Elçi ve diğ., 2000, Zhou ve diğ., 2009). Teorik zenginleştirme faktörleri ise örnek hacminin (7,5 mL) son sediment hacmine (55  $\mu\text{L}$ ) oranlanması ile hesaplandı. Teorik zenginleştirme faktörlerine bağılı olarak deneysel zenginleştirme faktörlerinin bağıl hataları % 13'den büyük hesaplanmamıştır. Ayrıca DLLME'de zenginleştirme faktörü sediment fazdaki analit derişiminin, örnek çözeltideki analitin başlangıç derişimine oranı olarak da hesaplanmıştır. Bileşiklere ait kalibrasyon eğrileri çizildikten sonra yöntemine ait gözlenebilme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) değerleri hesaplandı. Bu hesaplama için 14 tane kör çalışma yapılmış, analitlerin alıkonma zamanındaki piklerin pik alan değerleri ve standart sapmaları hesaplandı. Ortalama pik alan değeri, standart sapmasının 3 katı ile toplanarak elde edilen pik alan değeri kalibrasyon doğrusunda yerine konarak gözlenebilme sınırları belirlendi ( $S/N=3$ ). Tayin sınırı ise (LOQ) ise ortalama pik alan değeri, standart sapmasının 10 katı ile toplanarak kalibrasyon denkleminde yerine koyularak hesaplanmıştır ( $S/N=10$ ). Bulunan derişimler zenginleştirme faktörüne bölünerek Tablo 7.12'de verilmiştir. Bu değerlendirmeler yapılırken ayrıca iç standart kullanılarak geri kazanma değerlerine ait % bağıl standart sapma değerleri ve korelasyon katsayılarındaki değişimlerde incelenmiştir. Yapılan değerlendirme sonunda iç standart kullanımıyla çizilen kalibrasyon eğrilerine ait korelasyon katsayılarının 0,993 ile 0,998 arasında olduğu gözlenmiştir.

Tablo 7.12: DLLME yönteminin analitik performans değerleri.

Analitler	BSS (%) <sup>a</sup> N:10	BSS (%) <sup>b</sup> N:10	Kalibrasyon Eşitlikleri			Faktörler			LOD (ng L <sup>-1</sup> ) (S/N=3)	LOQ (ng L <sup>-1</sup> ) (S/N=10)
			Önderiştirmesiz	Önderiştirmeli	Deneysel zenginleştirme faktörü <sup>1</sup>	Deneysel zenginleştirme faktörü <sup>2</sup>	Teorik zenginleştirme faktörü			
Kloropirifos- metil	6,5	0,6	y=47x-10817 (r <sup>2</sup> ; 0,997)	y=5828x-10320 (r <sup>2</sup> ; 0,998)	124	120	136	54,2	180,6	
Fention	4,1	2,8	y=38x-9176 (r <sup>2</sup> ; 0,998)	y=4769x-5081 (r <sup>2</sup> ; 0,994)	126	121	136	48,8	162,7	
Kloropirifos- etil	3,7	3,8	y=14x-950 (r <sup>2</sup> ; 0,998)	y=1849x-950 (r <sup>2</sup> ; 0,998)	132	124	136	68,7	229,0	
Triadimenol	2,1	1,2	y=18x-1108 (r <sup>2</sup> ; 0,998)	y=2018x-448 (r <sup>2</sup> ; 0,995)	112	120	136	53,3	177,7	
Mayklobutanil	3,4	2,2	y=66x-12959 (r <sup>2</sup> ; 0,993)	y=8260x-12878 (r <sup>2</sup> ; 0,996)	125	120	136	63,6	212,0	

<sup>a</sup> Her bir pestisitinin 1,6 µg L<sup>-1</sup> derişimde iç standard kullanmaksızın DLLME ile BSS

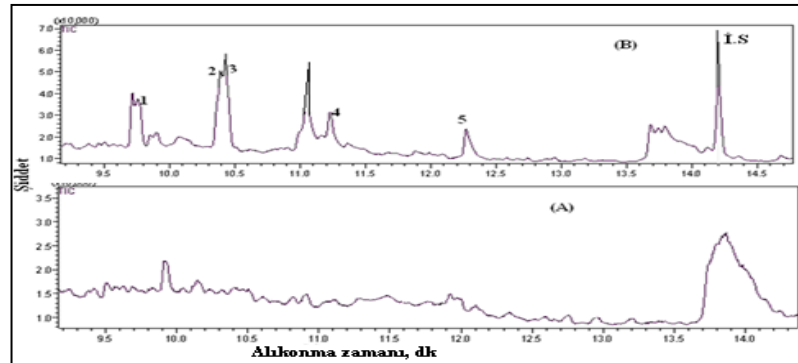
<sup>b</sup> Her bir pestisitinin 1,6 µg L<sup>-1</sup> derişimde iç standard kullanılarak DLLME ile BSS

<sup>1</sup>Önderiştirmeli kalibrasyon eşitliği eğimi/Önderiştirmesiz kalibrasyon eşitliği eğimi

<sup>2</sup>C<sub>sed</sub>/C<sub>o</sub>

## 7.6 Yöntemin Gerçek Örneklerle Uygulanması

Tez kapsamında bağcılıkta kullanılan bazı pestisitlerin sulu ortamlarda tayinleri için yöntem geliştirmede DLLME yöntemi seçilmiş ve bu yönteme ait optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Deneysel çalışma şartlarının belirlenmesinden sonra yöntem gerçek su örneklerine uygulanmıştır. Bu amaçla pilot bölge olarak seçtiğimiz bağ alanında kullanılan sulama suları ile Pamukkale Üniversitesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarı'na ait musluk suyuna DLLME işlemi uygulanmıştır. Pilot bölgemizde bağın sulanmasında artezyen ve o bölgeden geçen ırmak suyu (Kocabaş-Honaz/Denizli) kullanılmaktadır. Bu sulardan alınan numuneler aynı gün içinde labratuvara getirilerek analiz öncesi 0.45 µm selüloz nitrat filtreden (Sartorius, Goettingen, Germany) süzölmüştür. DLLME yönteminin uygulanması sonrasında su örneklerindeki pestisit kalıntı derişimleri gözlenebilme sınırının altında bulunmuştur. Yöntemin doğruluğunu test edebilmek için çalışılan su örneklerine standart ekleme yapılmıştır. Su örneklerine 3, 6, ve 9 µg L<sup>-1</sup> olacak şekilde incelenen pestisitlerden ilave edilerek DLLME prosedürü uygulanmış, bulunan ve ilave edilen derişim değerleri kullanılarak % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır (Tablo 7.13). Deneyler 3 paralel olarak çalışılmıştır. Su örneklerine eklenen standardın miktarı ve geri kazanım değerleri kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışma sonunda artezyen, ırmak ve musluk suyu için geri kazanım değerleri sırasıyla % 89,3-105,3, 89,5-103,0 ile 92,0-111,3 aralığında bulunmuştur. Şekil 7.23'te ırmak suyuna ait DLLME sonrası elde edilmiş kromatogram (A) ile 6 µg L<sup>-1</sup> standart ilavesi ile DLLME işlemi sonrası alınan kromatogram (B) verilmiştir.



Şekil 7.23: DLLME-GC-MS ile ırmak suyundan standart ekleden (A) ve standart ekleme işlemi sonrası (B) elde edilmiş kromatogramlar. (1) kloropirifos-metil; (2) fention; (3) kloropirifos-etil; (4) triadimenol; (5) mayklobutanil; (İS) trifenilfosfat(TPP).

Tablo 7.13: Su örneklerinin analiz sonuçları (N:3).

Analitler	Eklenen ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Artezyen suyu		Irmak suyu		Musluk suyu	
		Bulunan <sup>a</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	R (%)	Bulunan <sup>a</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	R (%)	Bulunan <sup>a</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	R (%)
Kloropirifos-metil	-	BDL	-	BDL	-	BDL	-
	3	2,68±0,03	89,3	2,93±0,13	97,7	2,87±0,11	95,7
	6	5,72±0,30	95,3	6,17±0,21	103,0	6,05±0,62	101,0
	9	8,83±0,40	98,1	8,54±0,17	95,0	10,02±0,38	111,3
Fention	-	BDL	-	BDL	-	BDL	-
	3	2,77±0,11	92,3	2,85±0,07	95,0	3,18±0,10	106,0
	6	5,81±0,28	96,8	5,98±0,17	99,7	5,75±0,31	96,0
	9	8,85±0,51	98,3	8,39±0,28	93,2	9,56±0,18	106,2
Kloropirifos-etil	-	BDL	-	BDL	-	BDL	-
	3	2,90±0,04	96,7	2,72±0,16	90,7	3,10±0,20	103,3
	6	6,32±0,13	105,3	5,85±0,11	97,5	5,95±0,33	99,2
	9	8,43±0,31	93,7	8,34±0,17	92,7	9,23±0,15	102,5
Triadimenol	-	BDL	-	BDL	-	BDL	-
	3	2,89±0,18	96,3	2,84±0,08	94,7	3,16±0,16	105,3
	6	5,89±0,13	98,2	5,75±0,21	95,8	6,07±0,78	101,2
	9	8,55±0,70	95,0	8,06±0,05	89,5	8,98±0,12	99,8
Mayklobutanil	-	BDL	-	BDL	-	BDL	-
	3	2,87±0,18	95,7	3,01±0,24	100,3	2,98±0,24	99,3
	6	5,81±0,21	96,8	6,15±0,13	102,5	5,52±0,10	92,0
	9	8,43±0,28	93,7	8,50±0,32	94,4	9,94±0,12	110,4

<sup>a</sup>ortalama  $\pm$ std. sapma.

BDL: gözlenebilme sınırının altında.

## 7.7 DLLME Yönteminin Litaratürdeki Diğer Çalışmalarla Karşılaştırılması

Yöntem, son zamanlarda yapılmış literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldı. Azole grup pestisitler için benzer çalışmalar Tablo 7.14'te verilmiştir.

Tablo 7.14: Su örneklerinde azole grup pestisitler için geliştirilen DLLME-GC-MS yönteminin literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılması.

Metod	Örnek hacmi (mL)	Ekstraksiyon süresi (dak)	Analiz süresi (dak) <sup>a</sup>	EF	Lineer aralık ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	BSS (%)	Kaynaklar
SPE-GC-ECD/NPD <sup>1</sup>	10	45	54	-	50-500	7	3-8	(Jiménez ve diğ., 2001)
SPME-GC-MS <sup>2</sup>	1	55	69	-	10-500	0,17-8,3	2-10	(Cortés-Aguado ve diğ., 2008)
SPE-LC-MS/MS <sup>3</sup>	10	10	14	-	5-100	0,90-2,2	<20	(Economou ve diğ., 2009)
LC-MS/MS	-	-	5	-	0,1-50	0,25-0,5	2,6-5,3	(Trösken ve diğ., 2005)
DLLME-GC-MS	7,5	3,5	7	120-129	1,6-32	0,053-0,063	1,2-2,2	Önerilen yöntem

<sup>a</sup> Ekstraksiyon-santrifüj-desorpsiyon ve ek sürelerin toplamı.

<sup>1</sup> Katı faz ekstraksiyonu-gaz kromatografisi-elektron yakalama dedektör/azot fosfor.

<sup>2</sup> Katı faz ekstraksiyonu-gaz kromatografisi –kütle spektrometre.

<sup>3</sup> Katı faz ekstraksiyonu-sıvı kromatografisi –çift kütle spektrometre.

EF; zenginleştirme faktörü.

Tablo 7.14'e göre, azole grup pestisitlerin geliştirilen yöntem Jiménez ve ark. (2001), Cortés-Aguado ve ark. (2008), Economou ve ark. (2009) ile Trösken ve ark.'nın (2005) çalışmalarından LOD, % BSS ve analiz süreleri bakımından daha iyidir.

Organofosfor (OPPs) pestisitlerin tayini için yapılan diğer çalışmalar da Tablo 7.15'te özetlenmiştir. Metod diğer çalışmaların örnek hacmi, ekstraksiyon süresi, analiz süresi, zenginleştirme faktörü, LOD ve % bağıl standart sapma değerleri ile kıyaslanmıştır.

Tablo 7.15: Su örneklerinde OPPs için geliştirilen DLLME-GC-MS yönteminin literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılması.

Yöntem	Örnek hacmi (mL)	Ekstraksiyon süresi (dak.)	Analiz süresi (dak) <sup>a</sup>	Zenginleştirme faktörü	Lineer aralık ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	BSS (%)	Kaynaklar
DLLME-GC-FPD	5	Birkaç saniye	5	789-1070	0,01-100	0,005-0,01	1,2-5,6	(Berijani ve diğ., 2006)
IL-DLLME-HPLC-UV-VIS. <sup>1</sup>	5	Birkaç saniye	5	>200	10-1000	0,1-5	2,4-4,7	(Lijun ve diğ., 2009)
Sol-gel-SPME-GC-MS. TMSPA-PDMS coating <sup>2</sup>	9	40	185	-	0,01-50	0,0005-0,001	6,3-10,5	(Bagheri ve diğ., 2010)
LPME-GC-FID <sup>3</sup>	>20	20	25	621-1302	0,10-100	0,01-0,04	3,5-8,9	(Khalili-Zanjani ve diğ., 2008)
MISPE-GC-NPD <sup>4</sup>	1000	100	120	-	-	0,009-0,032	2,3-5,9	(Zhu ve diğ., 2005)
SDME-GC-MS <sup>5</sup>	5	15 (yaklaşık olarak)	-	-	0,5-100	0,01-0,07	8,5-10,5	(Lambropoulou ve diğ., 2004)
HF-LPME-GC-ECD <sup>6</sup>	-	30	-	-	-	99-128	0,5-8,0	(Sanagiab ve diğ., 2010)
DLLME-GC-MS	7,5	3,5	7	121-125	1,6-32	0,048-0,068	0,6-3,8	Önerilen yöntem

<sup>a</sup> Ekstraksiyon, santrifüj, desorpsiyon ve ek süreler.

<sup>1</sup> İyonik sıvı temelinde-DLLME- HPLC-UV-vis.

<sup>2</sup> 3-(trimetosisililpropil) amin-poli metil hidrojen siloksane yüklü sol-jel-temelinde katı faz mikroekstraksiyon – GC-MS.

<sup>3</sup> Sıvı faz mikroekstraksiyon -gaz kromatografi-FID.

<sup>4</sup> Moleküler imprinted katı faz ekstraksiyon - gaz kromatografi -NPD

<sup>5</sup> Tek damla mikroekstraksiyon - gaz kromatografi -MS

<sup>6</sup> Oyuk fiber sıvı faz mikroekstraksiyon - gaz kromatografi –ECD



Tablo 7.15'e bakıldığında geliştirilen yöntemin diğer zenginleştirme yöntemlerinden daha avantajlı ve iyi bir doğruluk gösterdiği görülmektedir. Fakat geliştirilen yöntemin OPPs bakımından zenginleştirme faktörü Lijun ve ark. (2009) ve Sanagiab ve diğ. (2010) çalışmalarından daha düşüktür. Önerilen yöntemin analiz süresi bakımından Zhu ve ark. (2005), Khalili-Zanjani ve ark. (2008), ile Bagheri ve ark. (2010)'nın çalışmalarından daha kısadır.

## **7.8 Toprak Örneklerinde Bazı Pestisitlerin GC-MS'de Tayinleri**

Tezin bu bölümünde, pilot bölge olarak seçilmiş 37°47'9.52" K enlem ve 29°19'41.27" D boylam koordinatlarına sahip üzüm bağından toplanan toprak örneklerinde, azole grup fungusitler (penkonazol, triadimenol, mayklobutanil) ve organofosfor insektisitlerin (kloropirifos-metil, fention) kalıntı tayinlerine yönelik ekstraksiyon analizleri yapılmıştır. Toprak örneklerinden bağcılıkta kullanılan bazı pestisitlerin tayinine yönelik ekstraksiyon yöntemi olarak çalkalamalı ekstraksiyon kullanılmış ve optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Optimize edilmiş yöntem, pilot bölgeden iki alandan toplam 8 farklı nokta ve farklı 3 derinlikten (0, 10 ve 20 cm) toplanan gerçek toprak örneklerine uygulandı. Ayrıca elde edilmiş veriler bazı istatistiksel testlerle de (varyans analizi, pearson korelasyonu ve Duncan testi) değerlendirilmiştir.

Yöntemin optimizasyonunda, ölçüm sistemleri bölüm 7.1'de ve kullanılan kimyasal maddeler ve stok çözeltilerle ilgili çözelti hazırlama bölüm 7.2.2'de verildiğinden burada tekrar verilmeyecektir.

### **7.8.1 Toprak örneklerinin pH ölçümleri**

Toprak örneklerinin pH değerleri pestisitlerin adsorpsiyonu ve topraktaki hareketliliğine (pestisitlerin hidrolize uğramaları, yarılanma ömürlerinin değişmesi gibi) etki eden parametrelerden biridir (Weber ve diğ., 2007; Đurović ve diğ., 2009; Liu ve diğ., 2010). Bu nedenle toprak örneklerinin pH ölçümlerinin yapılması önemlidir. Toprak örneklerine ait pH ölçümleri PN-350 10390 ISO (Baranowska ve diğ., 2005) yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde göre 5 g örnek 25 mL saf su ilave edildi ve 5 dakika boyunca karışmaya bırakıldı. İki saat bekletildikten sonra tekrar karıştırıldı ve pH ölçümleri yapıldı. Yapılan ölçüm sonucunda örnek alınan

pilot bağıın I. ve II. alanından alınan toprak örneklerin saf su içindeki pH değerleri sırasıyla  $8,05 \pm 0,04$  (N:6) ve  $7,93 \pm 0,03$  (N:6) olarak ölçülmüştür. Toprak örneklerinin sudaki pH değerleri, örneklerin kalsiyum içerikli olabileceğini göstermektedir (McCauley ve diğ., 2009).

Ayrıca metanol içindeki pH değerleri içinde aynı işlemler uygulanarak MeOH içindeki pH değerleri de sırasıyla  $7,39 \pm 0,02$  (N:4) ve  $7,68 \pm 0,07$  (N:4) ölçülmüştür.

### **7.8.2 Toprak örneklerinin organik madde içeriğinin bulunması**

Toprak örneğinde pestisit hareketliliği ve adsorpsiyonuna etki eden diğer parametrede organik madde içeriğidir. Literatür bilgilerine göre yüksek organik madde içerikli topraklarda (>% 5) pestisitlerin adsorpsiyonu organik madde içeriğiyle bağlantılı iken % 5'in altındaki organik madde içeriklerinde inorganik fraksiyonlara bağlı olduğu vurgulanmaktadır (Wauchope ve diğ., 2002; Picó ve Andreu, 2004; Đurović ve diğ., 2009). Bu nedenle toprak örneklerinin organik madde içeriklerine bakıldı. Toprak örneklerine ait organik madde içeriğini bulmak için PN-75 C-04616 ISO (Baranowska ve diğ., 2005) yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde göre 5 g toprak örneği saat camı üzerine konarak  $105^{\circ}\text{C}$ 'de etüvde 2 saat bekletildi. Daha sonra desikatörde soğutulularak örnek tartıldı. Tekrar  $105^{\circ}\text{C}$ 'de 1 saat etüvde bekletildi. En son basamakta desikatörde soğutulan örnek tartılarak ilk tartımla ikinci tartım arasındaki farkın %2'den az olup olmadığı kontrol edildi. Eğer fark %2'den fazlaysa etüvde kurutma işlemine devam edilir. Bu işlemle örnek içindeki suyu kaybeder. Toprak örnekleri etüvden alındıktan sonra krozelere konarak  $600^{\circ}\text{C}$ 'de kül fırınında 2 saat tutulur. Desikatöre alınarak soğutulduktan sonra tartıldı ve aşağıda gösterilen hesaplama göre organik madde içeriği belirlendi.

$$X_m = (M_3 - M / M_2 - M) \times \% 100$$

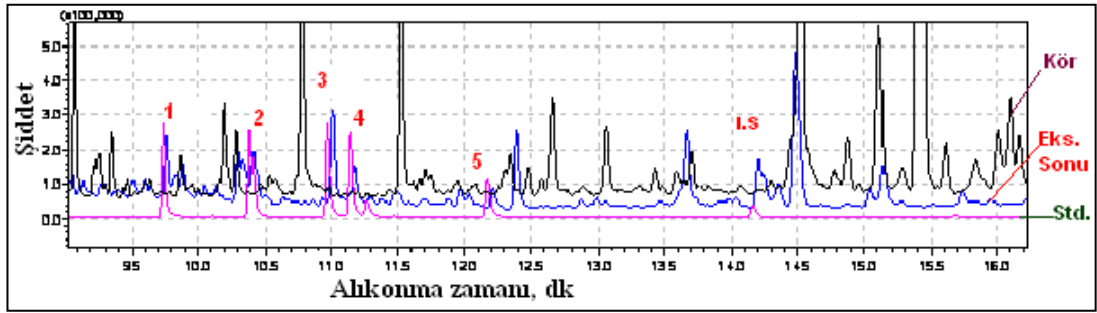
$$X_0 = 100 - X_m$$

( $X_m$ ; mineral içeriği.  $X_0$ ; organik madde içeriği.  $M_3$ ; kül fırını sonrası yapılan tartım.  $M_2$ ; Etüv işlemi sonunda alınan son tartım.  $M$ ; krozenin boş ağırlığı)

Buna göre örnekleme yapılan pilot bağıın I. alanındaki toprak örneğinin organik madde içeriği  $\%11,8 \pm 0,5$  (N:3) ve II. alan içinde  $\% 9,7 \pm 0,4$  olarak hesaplandı. Elde edilen veriler incelendiğinde her iki örnekteki organik madde içeriklerinin % 5'in üzerinde olduğu tespit edildi. Bu durum; organofosfor insektisitler ve azole grup fungusitlerin toprak tarafından adsorbe edilebileceklerini göstermektedir. Bu nedenle toprak örneklerinden pestisitlerin ekstraksiyonu için yöntem geliştirilmiştir.

### 7.8.3 Toprak örneklerinin ekstraksiyon işlemi

Ekstraksiyonda çalışılan pestisitlerin tayini için çalkalama tekniği kullanıldı. Bunun için 0,5 g toprak (çalışılan pestisitleri içermeyen) örneği santrifüj tüpüne alındı ve herbir pestisitten 0,05 µg içeren karışım toprak örneğine ilave edilmiştir. Daha sonra vorteks de 1600 rpm’de toprakta pestisitlerin homojen şekilde dağılması sağlandı. Bu karışıma 5 mL MeOH ilave edildikten sonra orbital çalkalayıcıda 2 saat 900 rpm’de çalkalandı. Sonrasında santrifüj tüpleri 3500 rpm’de 3 dakika santrifüjlendikten sonra MeOH fazı alınarak 0,20 µm boyuttaki şırınga filtreden geçirildi. Partikül içermeyen MeOH fazı N<sub>2</sub> varlığında kuruluğa kadar uçuruldu. Uçurma işleminden sonra ekstrakt içine 0,05 µg İS (TPP) ilave edildikten sonra 50 µL hekzan ortamında GC-MS enjeksiyonu yapıldı. Ekstraksiyon sonrası elde edilen GC kromatogramı karşılaştırmalı olarak Şekil 7. 24’te verilmiştir.



Şekil 7.24: Ekstraksiyon sonrası 0,05 µg dan 1 mg L<sup>-1</sup>’ye deriştirilen analitlere ait GC-MS toplam iyon kromatogramları: (1) kloropirifos-metil; (2) fention; (3) penkonazole; (4) triadimenol; (5) mayklobutanil; (I:S) trifenilfosfat(TPP).

Şekil 7.24’e göre analitleri içeren 1 mg L<sup>-1</sup> derişimde model çözeltinin kromatogramıyla, çalkalamalı ekstraksiyon ile zenginleştirme sonrası elde edilen kromatogramda analitlerin aynı alıkonma zamanlarına sahip oldukları belirlenmiştir. Analitlerin alıkonma süreleri kloropirifos-metil, fention, penkonazol, triadimenol, mayklobutanil ve iç standart (trifenil fosfat) için sırasıyla 9,77; 10,43; 11,11; 11,27; 12,38 ve 14,22’nci dakikalardır. Ayrıca analitleri içermeyen toprak örneğinin ekstraksiyonundan elde edilen kör kromatogramda analitlerin alıkonma zamanlarında toprak matriksine bağlı piklere raslanmadığı da Şekil 7.24’te görülmektedir.

#### 7.8.4 Çalkalamalı ekstraksiyon işleminin optimizasyonu ve bulgular

Tez çalışmasının bu bölümünde, çevresel toprak örneklerinde kloropirifos-metil, fention, penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil pestisitlerine ait kalıntı analizleri için ekstraksiyon tekniği optimize edilmiştir. Yapılan deneylere ait geri kazanım (%R) değerleri analitlerin doğrusallık gösterdiği 0,02–4 mg L<sup>-1</sup> aralığında çizilen kalibrasyon eğrilerinden hesaplanmıştır. GC-MS'den alınan veriler cihazın kendi yazılım programında her bir bileşik için kalibrasyon grafikleri çizilerek; eğri denklemleri, korelasyon katsayısı, gibi veriler değerlendirildi. Bu değerlendirmeler yapılırken ayrıca iç standard kullanılarak korelasyon katsayılarındaki değişimler de incelenmiştir.

##### 7.8.4.1 Toprakta pestisit ekstraksiyonuna çözücü türü etkisi

Toprak örneklerinden çalışılan pestisitlerin ekstraksiyonu için aseton, heksan, metanol ve su seçilmiştir. Bu seçim yapılırken çalışılan pestisitlerin polariteleri ve apolar çözücülerdeki çözünürlükleri dikkate alınmıştır. Ekstraksiyonda su ile yapılan çalkalamalı ekstraksiyondan sonra önceki çalışmamızda optimizasyonu yapılmış DLLME tekniği uygulanmıştır. Tablo 7.16'da ekstraksiyon çözücü türü için ekstraksiyon geri kazanma değerleri verilmiştir.

Tablo 7.16: Toprakta pestisit ekstraksiyonuna çözücü türü etkisi

Pestisit	% Geri kazanım, N: 4,			
	Aseton	MeOH	Heksan	Su
Kloropirifos-metil	92,8 ± 7,8	84,7 ± 3,3	63,7 ± 10,7	11,4 ± 0,8
Fention	80,0 ± 9,9	88,8 ± 4,6	27,5 ± 4,8	11,0 ± 1,3
Penkonazol	63,2 ± 5,8	88,2 ± 5,6	9,5 ± 1,4	b
Triadimenol	62,5 ± 7,0	87,0 ± 8,7	58,4 ± 8,6	23,4 ± 3,0
Mayklobutanil	51,5 ± 2,9	74,4 ± 1,7	b	34,7 ± 6,1

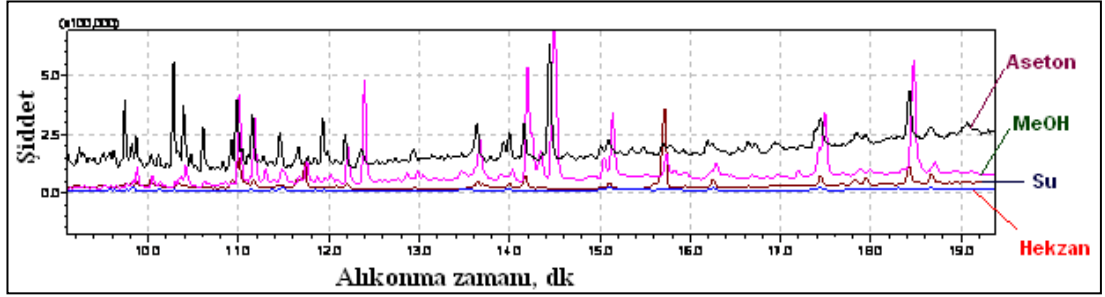
a; standart sapma.

b; geri kazanma değeri hesaplanamamıştır.

Tablo 7.16'ya göre, elde edilen geri kazanım değerlerine bakıldığında tüm pestisitler için en iyi değerlerin MeOH varlığında olduğu görülmektedir. Aseton ve metanol çözücülerindeki yüksek geri kazanma değerleri pestisitlerin bu çözücülerindeki çözünürlüklerinin oldukça yüksek olmasıyla açıklanabilir. Kloropirifos-metil, fention ve mayklobutanilin aseton ve metanol içindeki çözünürlüğü 20°C'de 193 g L<sup>-1</sup>'nin üzerindedir. Penkonazol için en yüksek çözünürlük asetonda ve triadimenol içinse

diklorometan olduğu bilinmektedir. Penkonazol pestisiti için suyla yapılan ekstraksiyonda geri kazanma değeri hesaplanamadı. Bunun sebebi ekstraksiyon saonrası geliştirilmiş DLLME tekniğinin bu pestisit için çalışmamasıdır (Bkz. 7.4). Bu sonuçlardan sonra ekstraksiyon çözücüsü olarak MeOH seçilmiştir.

Şekil 7.25’de de yapılan deneylerden elde edilmiş GC kromatogramları karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir.



Şekil 7.25: Ekstraksiyon çözücü türü etkilerinin karşılaştırmalı GC kromatogramları. (Ekstraksiyon sonrası  $0,05 \mu\text{g}$ 'dan  $1 \text{ mg L}^{-1}$ 'ye deriştirilen analitlere ait kromatogramlardır. Ekstraksiyon süresi; 1 saat, Ekstraksiyon çözücü hacmi; 5 mL, orbital çalkalayıcı devri; 900 rpm).

Şekil 7.25’de en yüksek pik alanının MeOH varlığında alınmış kromatogramda olduğu da görülmektedir.

Ayrıca ekstraksiyon sonrası yapılan santrifüj işleminden alınan ekstrakt (metanol) toprak partikülü içerebileceği düşünülerek yapılan süzme işleminde kullandığımız naylon filtrenin (NY) metanol fazına aldığımız analitleri tutup tutmadığına karar vermek için kör çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada analitler 5 mL metanol içine  $0,05 \mu\text{g}$  olacak şekilde eklendi, sonra bu model çözelti NY fitreden geçirildi ve toplanan metanol buharlaşması için bekletildi. Kalıntı  $50 \mu\text{L}$  heksan içine alındıktan sonra GC-MS ile analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 7.17’de verilmiştir.

Tablo 7.17: Naylon (NY) şırınga filtrede analitlerin altkonması (Ekstraksiyon çözücüsü; MeOH, Ekstraksiyon çözücü hacmi; 5 mL, orbital çalkalayıcı devri; 900 rpm).

	Analitler				
	Kloropirifos- metil	Fention	Penkonazol	Triadimenol	Mayklobutanil
% Geri Kazanım (R) N: 4	$102,7 \pm 6,4$	$94,3 \pm 2,3$	$99,7 \pm 4,9$	$99,0 \pm 4,6$	$104,7 \pm 4,2$

Tablo 7.17’den görüldüğü gibi, elde edilen geri kazanım değerleri kantitatifdir. Yani NY filtre bileşikleri tutmamaktadır.

#### 7.8.4.2 Ekstraksiyon verimine ekstraksiyon süresinin etkisi

Ekstraksiyon çözücüsü belirlendikten sonra ekstraksiyon süresi çalışılmıştır. Bunun için MeOH varlığında 30 dakika; 1; 1,5; 2 ve 2,5 saat çalkalama süreleri çalışıldı. Tüm zaman dilimlerinde orbital çalkalayıcının devri 900 rpm'de sabit tutulmuştur. Tablo 7.18'de ekstraksiyon süresi için ekstraksiyon geri kazanma değerleri verilmiştir.

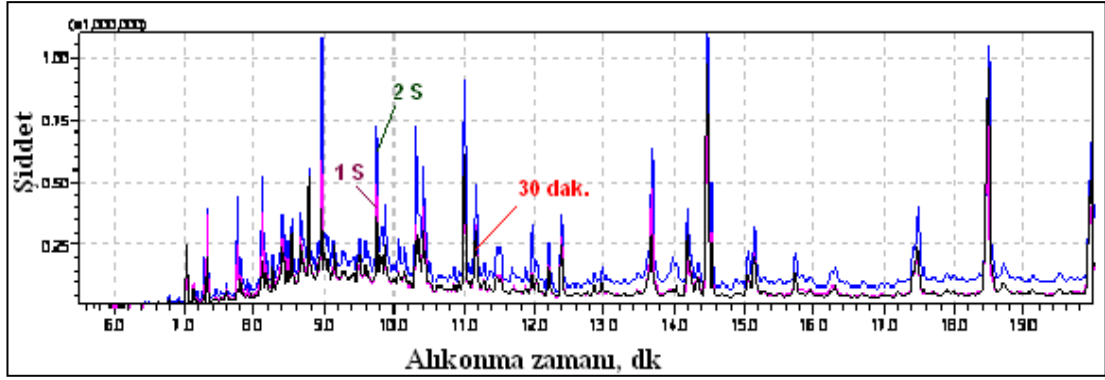
Tablo 6.18: Topraktan pestisit ekstraksiyon verimine süresinin etkisi.

Pestisit	% Geri kazanım, N: 4,				
	0,5 saat	1 saat	1,5 saat	2 saat	2,5 saat
Kloropirifos-metil	52,9 ± 3,2	77,6 ± 1,6	84,5 ± 6,2	92,0 ± 7,8	85,7 ± 3,1
Fention	45,7 ± 4,1	72,4 ± 0,4	79,4 ± 1,2	86,0 ± 1,3	81,3 ± 5,6
Penkonazol	50,9 ± 2,9	74,4 ± 1,6	77,8 ± 1,6	95,6 ± 1,6	95,7 ± 1,5
Triadimenol	46,2 ± 2,3	85,3 ± 1,1	76,6 ± 1,6	93,7 ± 2,7	94,1 ± 3,2
Mayklobutanil	53,1 ± 4,0	74,1 ± 1,6	77,8 ± 1,8	79,3 ± 2,0	71,0 ± 1,2

a; standart sapma

Tablo 7.18'e göre, yapılan ekstraksiyon süresi taramasında orbital çalkalama süresinin artışı ile tüm pestisitler için geri kazanma değerlerinde önemli bir artış olduğu görülmüştür. Bu durumu çalkalama süresi ile pestisitlerin metanol içindeki dağılma dengesinin değişimi ile açıklanabilir. Çalkalama süresi arttıkça ekstrakte edilen pestisit miktarı artmıştır. Ancak dağılma dengesinin kurulduğu çalkalama süresi sonrasında ekstraksiyon geri kazanım değerlerinde önemli bir değişim olmamıştır. En yüksek geri kazanım değerlerine dağılma dengesinin kurulduğu 2 saatlik çalkalama süresinde ulaşıldı. 2,5 saat çalkalama süresi ile 2 saat süredeki ekstraksiyon verimlerinin çok farklı çıkmaması, ekstraksiyon süresi için 2 saatin uygun olduğunu göstermiştir. Bundan sonraki çalışmalarda ekstraksiyon süresi 2 saat olarak çalışılmıştır.

Şekil 7.26'da ekstraksiyon sonrası 0,05 µg'dan 1 mg L<sup>-1</sup>'ye deriştirilen analitlere ait GC kromatogramları karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Deneylerde ekstraksiyon çözücüsü; MeOH, ekstraksiyon çözücü hacmi; 5 mL, orbital çalkalayıcı devri; 900 rpm'dir.



Şekil 7.26: Ekstraksiyon süresinin karşılaştırmalı GC kromatogramları.

Şekil 7.26'daki kromatogramdan ekstraksiyon süresinin artışı ile analitlerin pik alanında da artış olduğu görülmektedir. En yüksek pik alanları 2 saat çalkalam süresi sonunda elde edilmiştir.

#### 7.8.4.3 Pestisit ekstraksiyonuna çalkalayıcı devrinin etkisi

Ekstraksiyon çözücü türü ve süresi tarandıktan sonra orbital çalkalayıcı devrinin etkisi araştırıldı. Bunun için 500, 700 ve 900 rpm'de devirler tarandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 7.19'da verilmiştir.

Tablo 7.19: Toprakta pestisit ekstraksiyonuna çalkalayıcı devrinin etkisi (Ekstraksiyon çözücüsü; MeOH, Ekstraksiyon çözücü hacmi; 5 mL, Ekstraksiyon süresi; 2 saat).

Pestisit	% Geri kazanım, N: 4,		
	500 rpm	700 rpm	900 rpm
Kloropirifos-metil	33,1 ± 2,0	58,9 ± 3,0	92,0 ± 7,8
Fention	36,8 ± 1,2	60,0 ± 2,2	86,0 ± 1,3
Penkonazol	44,5 ± 3,0	61,7 ± 2,9	95,6 ± 1,6
Triadimenol	54,6 ± 1,0	79,5 ± 5,0	93,7 ± 2,7
Mayklobutanil	51,5 ± 3,4	69,0 ± 6,4	79,3 ± 2,0

a; standart sapma

Tablo 7.19'deki veriler değerlendirildiğinde orbital çalkalayıcının devrinin ekstraksiyon verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Orbital çalkalayıcı devrinin artışı ile geri kazanma değerlerinde de önemli derecede artmıştır. Çalkalama devri 900 rpm'de en yüksek geri kazanma değerlerine ulaşıldığı için sonraki çalışmaların bu hızda yapılmasına karar verildi.

Yukarıdaki bulgular ışığında çalkalamalı ekstraksiyona ait optimizasyon sonuçları Tablo 7.20'de özetlenmiştir.

Tablo 7.20: Toprak örneklerinden pestisit ekstraksiyonu için optimum değişkenler.

Taranan Parametreler	Sonuç
Ekstraksiyon çözücüsü	MeOH
Ekstraksiyon Süresi	2 saat
Orbital çalkalayıcı devri	900 rpm

### 7.8.5 Çalkalamalı ekstraksiyon yönteminin analitik performansı

Geliştirilen yöntemin analitik performansı için çevresel toprak örnekleri kullanılarak öncelikle her bir bileşiğe ait deriştirme sonrası ( $20\text{--}4000 \mu\text{g L}^{-1}$ ) ve deriştirme öncesi ( $0,2\text{--}40 \mu\text{g}^{-1}\text{L}$ ) derişim aralığında kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. GC-MS'den alınan veriler cihazın kendi yazılım programında her bir bileşik için kalibrasyon grafikleri çizilerek; eğri denklemleri, korelasyon katsayısı verileri değerlendirildi. Bu değerlendirmeler yapılırken ayrıca iç standart kullanılarak korelasyon katsayılarındaki değişimlerde incelenmiştir. Kalibrasyonlardan deriştirme sonrası elde edilen eğrinin deriştirme öncesi elde edilen eğriye oranlayarak deneysel deriştirme faktörü hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar hem iç standart kullanarak, hem de iç standart kullanmadan hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalar deneysel deriştirme faktörüyle teorik deriştirme faktörü arasındaki sonuçların uyumlu olduğunu göstermiştir. Sadece fention bileşiği için elde edilen sonuçlardan tekrarlanabilirliğin iyi olmadığı sonucuna varıldı. Deneysel deriştirme faktörü ise Ekstarksiyon çözücü hacminin (5 mL) uçurma sonrası heksan fazına alınan hacme (50  $\mu\text{L}$ ) oranlanarak bulunmuştur. Elde edilen kalibrasyon denklemleri, deneysel ve teorik zenginleştirme faktörleri, LOD ve LOQ değerleri Tablo 7.21'de verilmiştir.

Yönteme ait gözlenebilme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) değerleri kalibrasyon eğrileri çizildikten sonra hesaplandı. Bu hesaplama için 16 tane kör çalışma yapılmış, her bir çalışmanın kalibrasyon eğrisine karşılık gelen analit derişimleri ve standart sapmaları hesaplandı. Ortalama derişim değeri, standart sapmasının 3 katı ile toplanarak gözlenebilme sınırı ( $S/N=3$ ), ortalama derişim değeri ve standart sapmasının 10 katı ile toplanarak da tayin sınırı (LOQ) bulundu ( $S/N=10$ ). Daha sonra elde edilen sonuçlar teorik zenginleştirme faktörüne bölündü (Tablo 7.21).



Tablo 7.21: Çalkalamalı ekstraksiyonda tayini yapılan pestisitlere ait analitik veriler.

Analitler	Kalibrasyon denklem eşitliği (İ.S kullanarak)			Kalibrasyon denklem eşitliği (İ.S kullanmadan)				LOD ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) (S/N=3)	LOQ ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) (S/N=10)
	Direkt kalibrasyon eğrisi	Ekstraksiyon sonrası kalibrasyon eğrisi	Deneysel deriştirme faktörü	Direkt kalibrasyon eğrisi	Ekstraksiyon sonrası kalibrasyon eğrisi	Deneysel deriştirme faktörü	Teorik deriştirme faktörü		
Kloropirifos-metil	$y=0,33x-2,8X10^{-3}$ ( $r^2$ ; 0,9986)	$y=31,54x-2,3X10^{-2}$ ( $r^2$ ; 0,9955)	95,6	$y=2,7X10^5x-4460$ ( $r^2$ ; 0,9993)	$y=2,5X10^7x-4550$ ( $r^2$ ; 0,9990)	92,6	100	0,26	0,85
Fention	$y=0,54x-6,7X10^{-3}$ ( $r^2$ ; 0,9990)	$y=36,20x-1,5X10^{-2}$ ( $r^2$ ; 0,9962)	67,0	$y=4,0X10^5x-5480$ ( $r^2$ ; 0,9990)	$y=3,1X10^7x-116965$ ( $r^2$ ; 0,9937)	77,5	100	0,32	1,05
Penkonazol	$y=0,37x-5,1X10^{-3}$ ( $r^2$ ; 0,9992)	$y=37,52x+7,3X10^{-2}$ ( $r^2$ ; 0,9986)	101,4	$y=2,9X10^5x-2428$ ( $r^2$ ; 0,9987)	$y=3,1X10^7x-73325$ ( $r^2$ ; 0,9960)	107,0	100	0,25	0,82
Triadimenol	$y=0,42x+1,0X10^{-2}$ ( $r^2$ ; 0,9982)	$y=43,42x+0,24$ ( $r^2$ ; 0,9966)	103,3	$y=3,5X10^5x-2584$ ( $r^2$ ; 0,9988)	$y=3,5X10^7x-275413$ ( $r^2$ ; 0,9930)	100,0	100	0,16	0,54
Mayklobutanil	$y=0,33+2,4X10^{-3}$ ( $r^2$ ; 0,9994)	$y=29,90x+0,17$ ( $r^2$ ; 0,9981)	91,0	$y=2,7X10^5x-3636$ ( $r^2$ ; 0,9984)	$y=3,1X10^7x-177803$ ( $r^2$ ; 0,9972)	114,8	100	1,14	3,8

### 7.8.6 Gerçek örnek analizi

Toprak örneklerinden, bağıcılıkta kullanılan bazı pestisitlerin tayinine yönelik metot optimizasyon çalışmasından sonra, yöntem gerçek toprak örneklerine uygulandı. Pilot bölge olarak seçmiş olduğumuz bağların birincisinden 5 ayrı noktadan ve farklı 3 derinlikten örnekleme yaparken, ikinci alanımızdan 3 ayrı nokta ve 3 derinlikten örnekleme yapılmıştır. Örneklemler her bir noktada. Her iki alan için 0, 10 ve 20 cm derinliklerden alındı.

Örnekleme 2009 yılında farklı 3 zamanda (2 Mayıs, 25 Mayıs ve 3 Eylül) yapıldı. Pilot bölgemizin ilaçlama zaman dilimleri dikkate alınarak örnekler toplanmıştır. İlk örnekleme ilaçlamadan önce 2 Mayıs 2009'dur. İlaçlama sonralarında 25 Mayıs ve 3 Eylül 2009'da örnekleme yapılmıştır. İçerdikleri etken maddeye göre kullanılan ticari ilaçların uygulama oranları sırasıyla, penkonazol için  $3,75 \text{ mg m}^{-2}$ , triadimenol için  $7,5 \text{ mg m}^{-2}$  ve mayklobutanil içinde  $2,75 \text{ mg m}^{-2}$ 'dir. Tüm örneklere optimizasyonu yapılmış olan çalkalamalı ekstraksiyon yöntemi uygulandı. Ekstraksiyon sonrası yapılan analiz sonunda örneklerde organofosfor pestisitlerden kloropirifos- metil ve fention bileşiğinin tayin sınırının altında kaldığı için tayin edilmemiştir. Fungusitlerden penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil bileşiklerine ait sonuçlar her bir alan, derinlik ve farklı zamanlar için Tablo 7.22-7.27'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde genel olarak derinlikle pestisit konsantrasyonunun azaldığı görülmüştür. Ayrıca alanlara ait her bir noktaya ait örneklerin sonuçlarının bazılarında farklılıklar gösterdiği bulundu. Bunun nedeninin ilaçlama esnasında alanların homojen olarak ilaçlanamadığından kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Bağlarda ilaçlama direkt üzüm salkımları, yaprak ve gövdelerine doğru yapılır. Bundan dolayı toprak yüzeyinde sadece o bölgelerden taşınan pestisit kalıntıları bir birikmeye neden olabilir. Bu da her zaman homojen olamaz.

Tablo 7.22: Alan 1 için penkonazol pestisitinin analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>, (N:3)).

Örnekleme noktası	Zaman								
	2 Mayıs 2009			25 Mayıs 2009			3 Eylül 2009		
	Derinlik (cm)			Derinlik (cm)			Derinlik (cm)		
	0	10	20	0	10	20	0	10	20
1	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.03	0.08 ± 0.01	0.61 ± 0.04	0.14 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.60 ± 0.05	0.43 ± 0.02	0.38 ± 0.01
2	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.70 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.53 ± 0.03	0.24 ± 0.02	0.14 ± 0.01
3	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.81 ± 0.06	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.52 ± 0.05	0.32 ± 0.03	0.23 ± 0.01
4	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.57 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.56 ± 0.05	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.01
5	0.12 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.64 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.58 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.19 ± 0.01

Tablo 7.23: Alan 1 için triadimenol pestisitinin analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>, (N:3)).

Örnekleme noktası	Zaman								
	2 Mayıs 2009			25 Mayıs 2009			3 Eylül 2009		
	Derinlik (cm)			Derinlik (cm)			Derinlik (cm)		
	0	10	20	0	10	20	0	10	20
1	0.74 ± 0.03	0.53 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.96 ± 0.12	0.70 ± 0.03	0.67 ± 0.06
2	0.34 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.30 ± 0.03	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	1.01 ± 0.13	0.39 ± 0.02	0.38 ± 0.02
3	0.32 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.68 ± 0.06	0.26 ± 0.03	0.16 ± 0.02	1.37 ± 0.11	0.66 ± 0.04	0.36 ± 0.01
4	0.39 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.64 ± 0.03	0.42 ± 0.02	0.26 ± 0.01	1.33 ± 0.06	0.30 ± 0.02	0.27 ± 0.01
5	0.39 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.54 ± 0.02	0.25 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.97 ± 0.12	0.49 ± 0.02	0.35 ± 0.02

Tablo 7.24: Alan 1 için mayklobutanil pestisitinin analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>, (N:3)).

Örnekleme noktası	Zaman								
	2 Mayıs 2009			25 Mayıs 2009			3 Eylül 2009		
	Derinlik (cm)			Derinlik (cm)			Derinlik (cm)		
	0	10	20	0	10	20	0	10	20
1	0.67 ± 0.06	0.56 ± 0.04	0.12 ± 0.01	0.28 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.50 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.44 ± 0.01
2	0.34 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.50 ± 0.03	0.44 ± 0.03	0.31 ± 0.03
3	0.46 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.64 ± 0.03	0.46 ± 0.05	0.44 ± 0.02
4	0.33 ± 0.04	0.25 ± 0.03	0.06 ± 0.01	0.47 ± 0.04	0.29 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.55 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.23 ± 0.02
5	0.30 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.59 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.28 ± 0.03

Tablo 7.25: Alan 2 için penkonazol pestisitinin analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>, (N:3)).

Örnekleme noktası	Zaman								
	2 Mayıs 2009			25 Mayıs 2009			3 Eylül 2009		
	Derinlik (cm)			Derinlik (cm)			Derinlik (cm)		
	0	10	20	0	10	20	0	10	20
1	0.31 ± 0.01	0.29 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.43 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.01	1.23 ± 0.15	0.57 ± 0.03	0.24 ± 0.02
2	0.32 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.57 ± 0.03	0.28 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.49 ± 0.04	0.35 ± 0.02	0.32 ± 0.03
3	0.36 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.53 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.96 ± 0.12	0.44 ± 0.04	0.24 ± 0.02

Tablo 7.26: Alan 2 için triadimenol pestisitinin analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>, (N:3)).

Örnekleme noktası	Zaman								
	2 Mayıs 2009			25 Mayıs 2009			3 Eylül 2009		
	Derinlik (cm)			Derinlik (cm)			Derinlik (cm)		
	0	10	20	0	10	20	0	10	20
1	0.45 ± 0.03	0.37 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.48 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.52 ± 0.05	0.45 ± 0.02	0.24 ± 0.02
2	0.46 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.45 ± 0.04	0.37 ± 0.03	0.23 ± 0.01	0.67 ± 0.04	0.67 ± 0.07	0.52 ± 0.01
3	0.45 ± 0.03	0.32 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.24 ± 0.01	1.10 ± 0.15	0.60 ± 0.02	0.33 ± 0.04

Tablo 7.27: Alan 2 için mayklobutanil pestisitinin analiz sonuçları (mg kg<sup>-1</sup>, (N:3)).

Örnekleme noktası	Zaman								
	2 Mayıs 2009			25 Mayıs 2009			3 Eylül 2009		
	Derinlik (cm)			Derinlik (cm)			Derinlik (cm)		
	0	10	20	0	10	20	0	10	20
1	0.42 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.41 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.27 ± 0.01	0.87 ± 0.08	0.49 ± 0.03	0.34 ± 0.01
2	0.45 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.44 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.61 ± 0.08	0.53 ± 0.02	0.42 ± 0.01
3	0.46 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.43 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.55 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.34 ± 0.02

### 7.8.7 Analiz Sonuçlarının İstatistiği

Elde edilen verilerin çok farklı değişkenlere bağlı olması sebebiyle istatistiksel yaklaşımla verilerin değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür. Bu çalışma için üç farklı değişken dikkate alınmıştır. Bu değişkenler sırasıyla örneklem noktası, örneklem zamanı ve örneğin kaç cm derinden alındığını gösteren derinliktir. Örneklem noktaları her iki alan için eşit sayıda seçilemediğinden alan değişkeni çalışmada sadece ANOVA analizi ile tüm veriler kullanılarak değerlendirmeye alınmış ve alanlar arasında genel bir farklılığın olup olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle alan ile diğer değişkenlerin etkileşiminin önemi ortaya konulmamıştır.

Tüm verilerin istatistik sonuçları MİNİTAB 15 ve SAS istatistik paket programları (The SAS System for Windows 9.0 SAS Institute, ABD) kullanılarak elde edilmiştir. Çoklu karşılaştırma yöntemleri genel olarak varyans analizi (ANOVA) sınıfında yer aldığı için istatistik analizinde ilk basamak olarak ANOVA analizi yapılmıştır. ANOVA işlemlerinde çeşitli popülasyon ortalamaları arasındaki farklılıklar, varyansların karşılaştırılması ile tayin edilir (Skoog ve diğ., 2004). Elde edilen ANOVA sonuçları her bir pestisit için Tablo 7.28-7.30'da verilmiştir.

Tablo 7.28: Penkonazol pestisiti için ANOVA sonuçları (S.D.; serbestlik derecesi).

Kaynak	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-değeri	P-değeri
Alan	1	0,396	0,396	245,68	< 0,0001
Bölge (örnekleme noktası)	4	0,135	0,033	21,06	< 0,0001
Alan*Bölge	2	0,001	0,0008	0,51	0,6015
Derinlik	2	4,021	2,010	1247,21	< 0,0001
Alan*Derinlik	2	0,042	0,021	13,01	< 0,0001
Bölge*Derinlik	8	0,094	0,011	7,32	< 0,0001
Alan*Bölge*Derinlik	4	0,149	0,037	23,18	< 0,0001
Zaman	2	2,295	1,147	711,87	< 0,0001
Alan*Zaman	2	0,214	0,107	66,55	< 0,0001
Bölge*Zaman	8	0,451	0,056	35,03	< 0,0001
Alan*Bölge*Zaman	4	0,127	0,032	19,78	< 0,0001
Derinlik*Zaman	4	1,109	0,277	172,01	< 0,0001
Alan*Derinlik*Zaman	4	0,483	0,120	74,92	< 0,0001
Bölge*Derinlik*Zaman	16	0,222	0,014	8,63	< 0,0001
Alan*Bölge*Derinlik*Zaman	8	0,256	0,032	19,86	< 0,0001

Tablo 7.29: Triadimenol pestisiti için ANOVA sonuçları (S.D.; serbestlik derecesi).

Kaynak	S.D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-değeri	P-değeri
Alan	1	0,027	0,027	12,40	0,0006
Bölge	4	0,169	0,042	18,94	< 0,0001
Alan*Bölge	2	0,386	0,193	86,39	< 0,0001
Derinlik	2	5,266	2,633	1176,79	< 0,0001
Alan*Derinlik	2	0,166	0,083	37,26	< 0,0001
Bölge*Derinlik	8	0,442	0,055	24,74	< 0,0001
Alan*Bölge*Derinlik	4	0,051	0,012	5,70	0,0003
Zaman	2	4,045	2,022	904,03	< 0,0001
Alan*Zaman	2	0,438	0,219	97,94	< 0,0001
Bölge*Zaman	8	0,827	0,103	46,23	< 0,0001
Alan*Bölge*Zaman	4	0,391	0,097	43,77	< 0,0001
Derinlik*Zaman	4	0,945	0,236	105,62	< 0,0001
Alan*Derinlik*Zaman	4	0,168	0,042	18,78	< 0,0001
Bölge*Derinlik*zaman	16	0,710	0,044	19,84	< 0,0001
Alan*Bölge*Derinlik*Zaman	8	0,183	0,022	10,23	< 0,0001

Tablo 7.30: Mayklobutanil pestisiti için ANOVA sonuçları (S.D.; serbestlik derecesi).

Kaynak	S. D.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-değeri	P-değeri
Alan	1	0,158	0,158	92,77	< 0,0001
Bölge	4	0,087	0,021	12,87	< 0,0001
Alan*Bölge	2	0,060	0,030	17,79	< 0,0001
Derinlik	2	2,247	1,123	659,47	< 0,0001
Alan*Derinlik	2	0,004	0,002	1,39	0,2536
Bölge*Derinlik	8	0,108	0,013	7,99	< 0,0001
Alan*Bölge*Derinlik	4	0,022	0,005	3,23	0,0143
Zaman	2	1,120	0,560	328,73	< 0,0001
Alan*Zaman	2	0,238	0,119	69,88	< 0,0001
Bölge*Zaman	8	0,388	0,048	28,52	< 0,0001
Alan*Bölge*Zaman	4	0,143	0,035	21,03	< 0,0001
Derinlik*Zaman	4	0,194	0,048	28,53	< 0,0001
Alan*Derinlik*Zaman	4	0,075	0,018	11,04	< 0,0001
Bölge*Derinlik*zaman	16	0,215	0,013	7,92	< 0,0001
Alan*Bölge*Derinlik*Zaman	8	0,166	0,020	12,22	< 0,0001

ANOVA tabloları incelendiğinde penkonazol pestisiti için (Tablo 7.28) alan\*bölge etkileşiminin, mayklobutanil (Tablo 7.30) pestisitinde ise alan\*derinlik arasındaki etkileşimin önemli olmadığı ( $p>0,05$ ), diğer değişkenlerin önemli olduğu bulundu ( $p<0,05$ ). Triadimenol pestisiti için (Tablo 7.29) ise tüm değişkenler arasındaki tekli ve çoklu etkileşimlerin önemli olduğu bulundu ( $p<0,05$ ). Tablo 7.28-7.30'da görülen

kareler ortalaması, kareler toplamının, karşılık gelen serbestlik derecesine bölerek gruplar arası ve gruplar içi değişimlerin tahminleridir.

İkinci olarak pestisit konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon olup olmadığını görmek için Pearson basit korelasyon testi kullanıldı (Miller and Miller, 2005). Elde edilen korelasyon katsayıları Tablo 7.31’de verilmiştir.

Tablo 7.31: Penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil pestisitleri arasındaki Pearson korelasyon (r) katsayıları.

	Penkonazol	Triadimenol	Mayklobutanil
Penkonazol	1,000	0,610	0,660
Triadimenol		1,000	0,744
Mayklobutanil			1,000

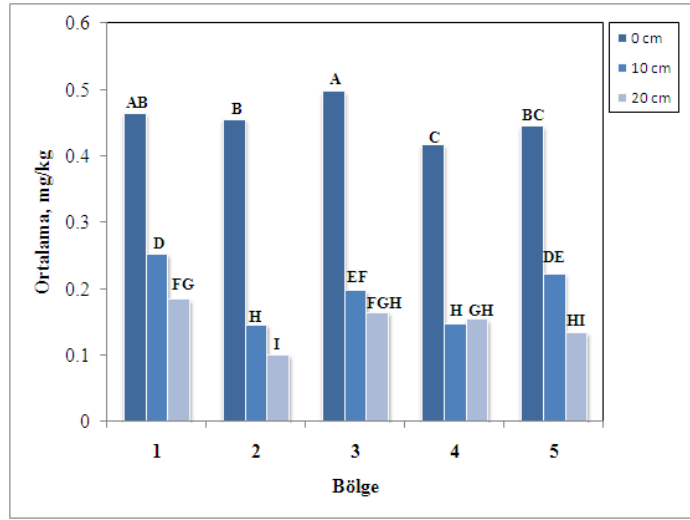
Tablo 7.31 incelendiğinde tüm pestisitler arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlar arasındaki bu korelasyon önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

ANOVA sonuçlarına göre çoklu etkileşimlerin önemli çıkmasından dolayı üçüncü basamak olarak Duncan çoklu karşılaştırma testleri yapılmıştır. Bu test sıraya dizilmiş ortalamalar arasındaki farklılıkları, ortalamaların sıralamadaki konumunu dikkate alarak değerlendirmeyi amaçlayan çoklu karşılaştırma testidir. Artan farklı doz düzeylerine sahip denemelerde ya da faktör (değişkenler) seviyelerinin artarak denendiği denemelerde ve faktör düzeyi sıralamasının değerlendirilmesinde kullanılır (Özdamar, 2004). Duncan testi ikili etkileşimler dikkate alınarak her bir alan için yapıldı. Test, SAS istatistik programı ile gerçekleştirildi, ancak SAS istatistik programı Duncan test sonuçlarına ait harfleri üretilmediği için PDGLM800 MACRO (Saxton A.M., The University of Tennessee, Knoxville, TN, ABD) programı kullanılmak suretiyle harfler elde edilmiştir. Bu test için harflerin önemi değişken gruplarının belirlenmesinde kullanılmasıdır. Aynı harfler ya da harf gruplarının olması karşılaştırılan değişkenlerin hangi gruplar içinde yer aldığını gösterir. Aşağıda verilecek olan ikili etkileşim sonuçları, Duncan test sonuçlarına göre hazırlanmıştır. Duncan test sonuçları ile birlikte MINITAB istatistik programı kullanılarak her bir pestisite ait kontor plotlar da verilmiştir.

Bölge-Derinlik Etkileşimi; Duncan test analiz sonucunda üretilmiş harf ya da harfler pestisit derişimlerinin birbirlerine ne ölçüde yakın olduğunu göstermektedir.

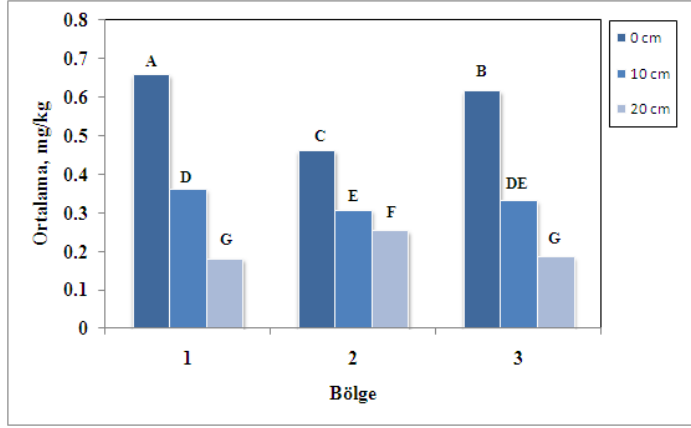


Penkonazol içeren pestisit için bölge\*derinlik etkileşiminin Duncan test analiz sonucu alan 1 ve alan 2 için sırasıyla Şekil 7.27 ve 7.28’de verilmiştir.



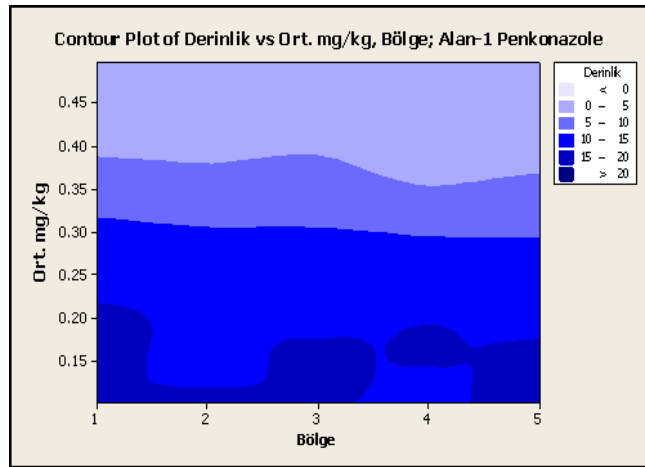
Şekil 7.27: Alan 1’de Penkonazol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Alan 1 için 5 ayrı noktadan (bölge) örnekleme yapıldığı için şekilde 5 bölge gösterilmiştir. Bölge-derinlik etkileşim değerleri hesaplanırken tüm örneklem zamanlarının ortalaması dikkate alınarak yapılmaktadır. Şekil 7.27 incelendiğinde genel olarak derinliğin artışı ile pestisit konsantrasyonunun da bir düşme eğilimi görülmektedir. Genel eğilim beklendiği gibi derine inildikçe penkonazol derişimi azalmaktadır. Ancak 3 ve 4 nolu bölgelerde yüzeyde konsantrasyon yüksek iken 10 ve 20 cm derinliklerde bulunan derişimler birbirine yakın çıkmıştır. Bu farklılığın olası nedenleri arasında Alan 1’in topografik yapısı, toprak bileşimi ve dokusu. ilaçlama sırasında rüzgârın yönü gibi faktörler sayılabileceği gibi örneklem alımından kaynaklanabilecek varyasyonlar da olabilir. 1 ve 3 numaralı bölgelerin yüzeyinden alınan örneklerde penkonazol konsantrasyonu benzer bulunmuştur, yani bu örneklem arasında fark yoktur ( $p>0,05$ ). Alan 1 için 10 cm derinlikten alınan toprak örneklerinde 1 ve 5 numaralı bölgelerde penkonazol konsantrasyonu aynı ( $p>0,05$ ) iken 2, 3 ve 4 numaralı bölgelerdeki pestisit konsantrasyonu 1 nolu bölgeden daha düşük olduğu ( $p<0,05$ ) görülmüştür. 20 cm derinlikten alınan örnekte 1, 3, 4 ve 5 nolu bölgelerin derişimleri yaklaşık olarak aynı bulunmuştur. 2 numaralı bölgeden 20 cm derinlikten alınan örneğin derişimi en düşük bulunmuştur. Bu sonuçlardan pestisit dağılımı penkonazol için kısmen derinliklerde benzer özellik gösterdiği söylenebilir.

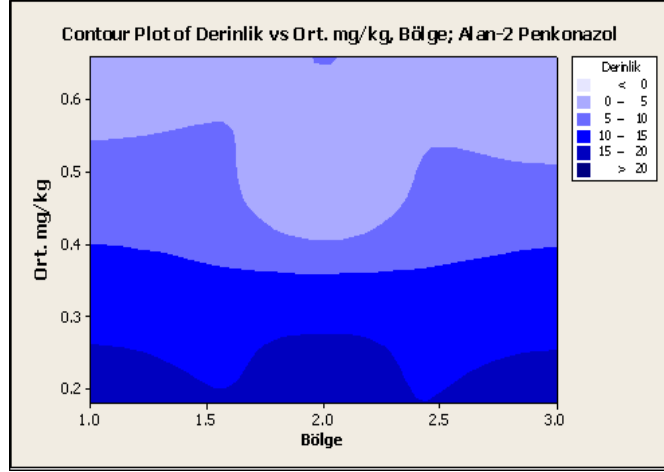


Şekil 7.28: Alan 2’de Penkonazol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Şekil 7.28 incelendiğinde her bir bölgeden elde edilen verilerin harflendirmelerine bakıldığında tüm örneklem bölgelerinin birbirlerinden farklı olduğu ve etkileşimlerin önemli olduğu söylenebilir ( $p < 0,05$ ). Tüm örneklemeler için derinliğin artmasıyla pestisit konsantrasyonundaki azalma eğilimini de Alan 2’de de görmekteyiz. Derinlikle\*bölge etkileşimini farklı olarak kontor eğrilerinden de izleyebiliriz. Penkonazol pestisitinin kontor plotları her iki alan için Şekil 7.29 ve 7.30’da verilmiştir.



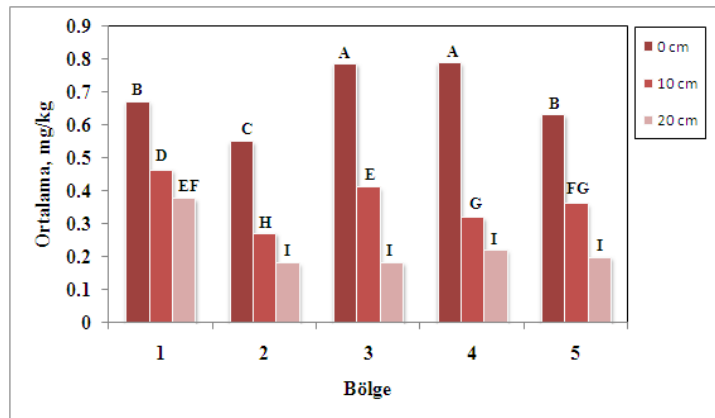
Şekil 7.29: Alan 1’de Penkonazol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Kontor plot sonucu.



Şekil 7.30: Alan 2’de Penkonazol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Kontor plot sonucu.

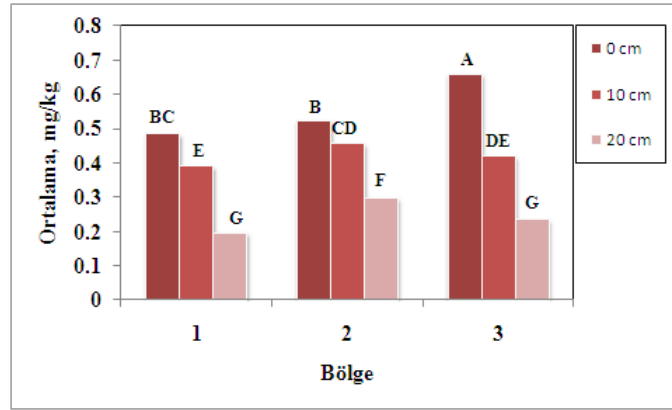
Şekil 7.29 ve 7.30’da koyu renkli alan 20 cm derinlikten alınan örneklemelere ait sonuçları göstermektedir. Kontor plotlara göre derinliğin artışıyla pestisit konsantrasyonundaki azalma görülmektedir. Farklı zamanlarda alınan örneklerin ortalaması göz önüne alındığında, yüzeyden alınan örneklerin (0 cm) Alan 2’de ait üç farklı zamanda (2 Mayıs, 25 Mayıs ve 3 Eylül). 1 nolu örnekleme noktasında 0,658 mg kg<sup>-1</sup>, 2 nolu örnekleme noktasında 0,461 mg kg<sup>-1</sup> ve 3 nolu örnekleme noktasında 0,616 mg kg<sup>-1</sup> bulunmuştur. Yine Alan 2 için. 20 cm derinlikte ise. 1 nolu örnekleme noktasında 0,181 mg kg<sup>-1</sup>, 2 nolu örnekleme noktasında 0,253 mg kg<sup>-1</sup> ve 3 nolu örnekleme noktasında 0,185 mg kg<sup>-1</sup> olduğu görülmüştür.

Triadimenol pestisiti için bölge\*derinlik etkileşiminin Duncan test analiz sonucu alan 1 ve alan 2 için ayrı ayrı Şekil 7.31 ve 7.32’de verilmiştir.



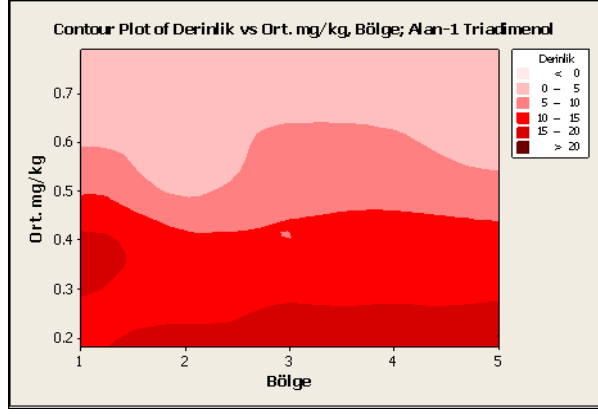
Şekil 7.31: Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Triadimenol pestisitinin Alan 1 içindeki derişim değerlerine bakıldığında 20 cm derinlikten alınan örneklerin 2, 3, 4 ve 5 numaralı bölgelerde pestisit derişimi azalmıştır ve aralarında önemli bir fark olmadığı bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Ancak yüzeyden ve 10 cm derinlikten alınan örneklerin bölgeler arasında farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. Yüzeyden alınan örneklerden en yüksek derişim 3 farklı zamanda yapılan örnekleme sonuçlarının ortalaması. 3 nolu örnekleme noktasında  $0,787 \text{ mg kg}^{-1}$  ve 4 nolu örnekleme noktasında  $0,790 \text{ mg kg}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

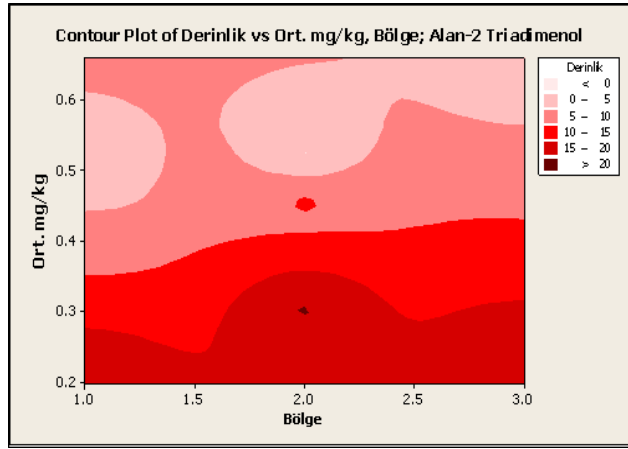


Şekil 7.32: Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Şekil 7.32’de yüzeyden alınan örneklerden 1 ve 2 numaralı bölgelerin benzer derişime sahip olduklarını görmekteyiz. 10 cm’lik derinlik için 2 ve 3 numaralı bölgeler ile 20 cm’lik derinlikte 1 ve 2 numaralı bölgelerdeki örnekleme arasında önemli bir farkın olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Yüzeyden alınan örneklerdeki en yüksek pestisit derişimi 2 Mayıs, 25 Mayıs ve 3 Eylül tarihlerindeki sonuçların ortalaması alındığında  $0,660 \text{ mg kg}^{-1}$  olarak 3 nolu bölgede tayin edilmiştir. Şekil 7.51 ve 7.52’deki verilere bakıldığında derinliğin artışıyla pestisit konsantrasyonunun düştüğü görülmektedir. Bu durumu kontor plotlardan da görebiliriz. Triadimenol pestisitine ait kontor plotlar Şekil 7.33 ve 7.34’te verilmiştir.

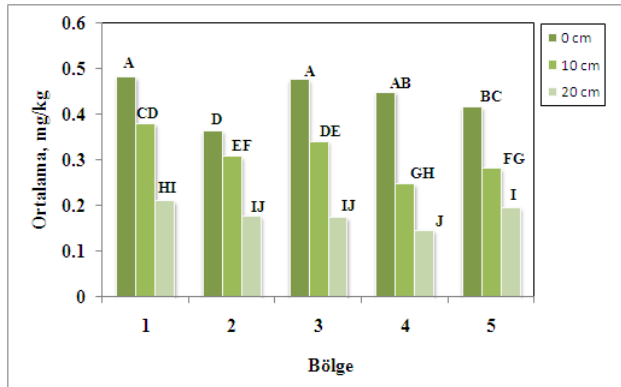


Şekil 7.33: Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Kontor plot sonucu.



Şekil 7.34: Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Kontor plot sonucu.

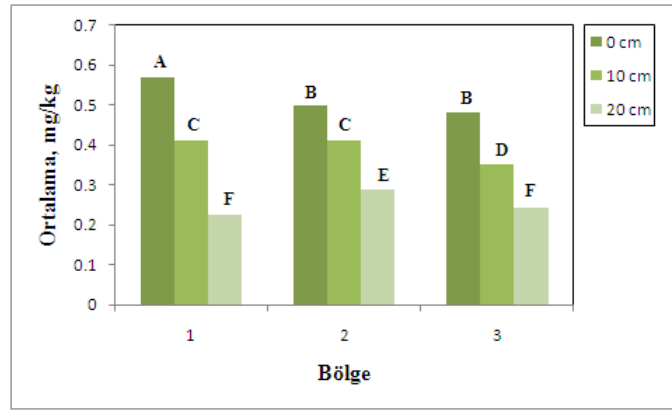
Bölge\*derinlik etkileşiminin mayklobutanil pestisiti Duncan test analiz sonucu alan 1 için Şekil 7.35’e verilmiştir.



Şekil 7.35: Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Şekil 7.35'i incelediğimizde, yüzeyden alınan örneklemeler için 1. 3 ve 4 nolu bölgelerdeki pestisit derişimi benzerlik ( $p>0,05$ ) gösterirken 4 ile 5 nolu bölgeler diğerlerinden farklı derişimlere sahiptirler ( $p<0,05$ ). Farklı zamanlarda yüzeyden alınan örneklerin (0 cm) ortalaması dikkate alındığında en düşük derişim 2 nolu bölge için  $0,365 \text{ mg kg}^{-1}$  olarak bulunmuştur. 20 cm derinlikte yapılan örneklemelerde ise hemen hemen tüm bölgeler için önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ).

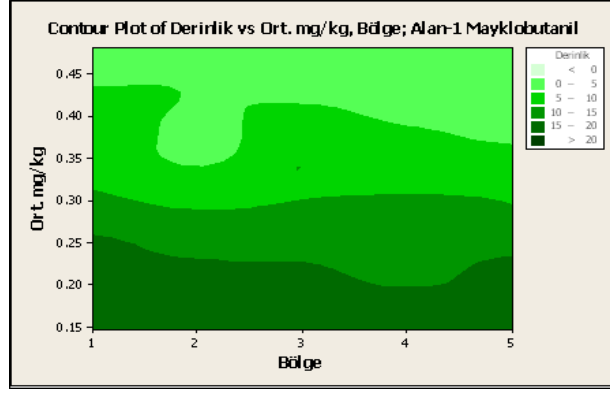
Bölge\*derinlik etkileşiminin mayklobutanil pestisiti Duncan test analiz sonucu alan 2 için Şekil 7.36'da verilmiştir.



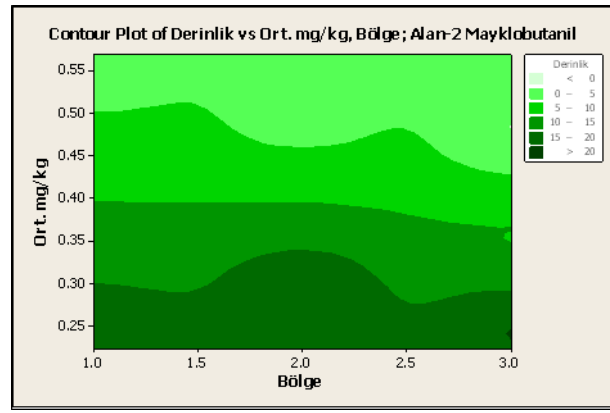
Şekil 7.36: Alan 2'de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Mayklobutanil pestisitinin Alan 2'deki dağılımına bakacak olursak, yüzeyden alınan örneklerden 2 ve 3 numaralı bölgelerin benzer derişimler gösterdiğini söyleyebiliriz. 10 cm'lik derinlikte ise 1 ile 2 numaralı bölgelerin ve 20 cm'lik derinlikte 1 ile 3 numaralı bölgelerde pestisit derişimlerinin yakın olduğu bulunmuştur.

Alan 1 ve 2'deki mayklobutanil dağılımının diğer pestisitler gibi kontor plotları incelendiğinde derinliğin artışıyla pestisit derişiminde azalma olduğu görülmüştür. Bu durum Şekil 7.37 ve 7.38'de görülmektedir.

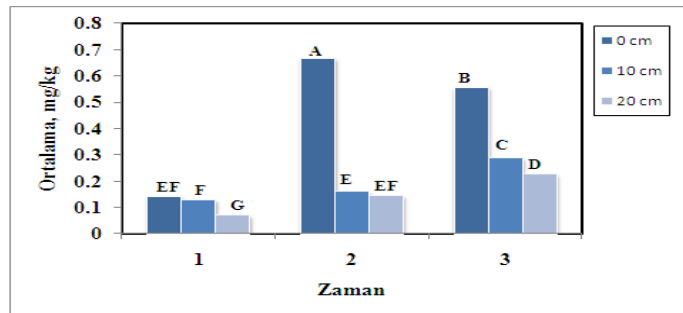


Şekil 7.37: Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Kontor plot sonucu.



Şekil 7.38: Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Derinlik Kontor plot sonucu.

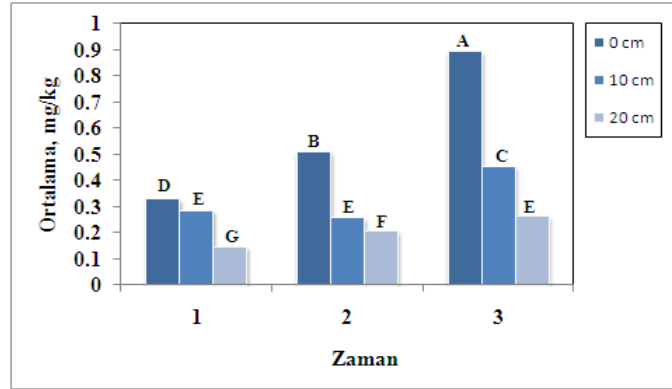
*Derinlik-Zaman Etkileşimi;* Derinlik-zaman etkileşiminde 3 farklı derinlikle, 3 farklı zamanda (2 Mayıs (1), 25 Mayıs (2) ve 3 Eylül (3) ) yapılan örnekleme lerde pestisit derişimlerinin nasıl değiştii tartışıldı. Burada sonuçlar her bir pestisit in Alan 1 ve 2’de ayrı ayrı tüm örnekleme bölgelerinden elde edilmiş derişimlerin ortalaması alınarak değerlendirmeler yapılmıştır. Şekil 7.39-7.40’da penkonazol pestisiti için Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları verilmiştir.



Şekil 7.39: Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:15, 1; 2 Mayıs, 2; 25 Mayıs, 3; 3 Eylül).

Şekil 7.39 incelendiğinde yüzeyden alınan örneklerden sadece 2 Mayıs tarihinde yapılan örnekteki penkonazol pestisit derişimi düşük çıkmıştır. Yüzeyden alınan örnekler kıyaslandığında 2 ve 3. zamanlardaki örneklemlerin konsantrasyon değerleri daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Tüm derinlikler göz önüne alındığında, 3. zamanda yapılan örneklerde pestisit derişiminin 1. ve 2. zamanlardan farklı olduğu Şekil 7.39'daki harflerden de görülmektedir. Tüm örneklem bölgelerinin sonuçlarının ortalaması göz önüne alındığında, en yüksek pestisit derişimi 25 Mayıs'ta yapılan örneklemede karşımıza çıkmaktadır ve değeri  $0,668 \text{ mg kg}^{-1}$ 'dir.

Alan 2 için penkonazol pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu Şekil 7.40'da verilmiştir.

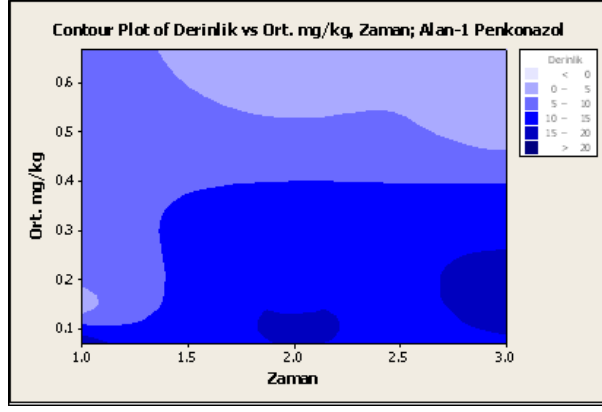


Şekil 7.40: Alan 2'de penkonazol pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:15, 1; 2 Mayıs, 2; 25 Mayıs, 3; 3 Eylül).

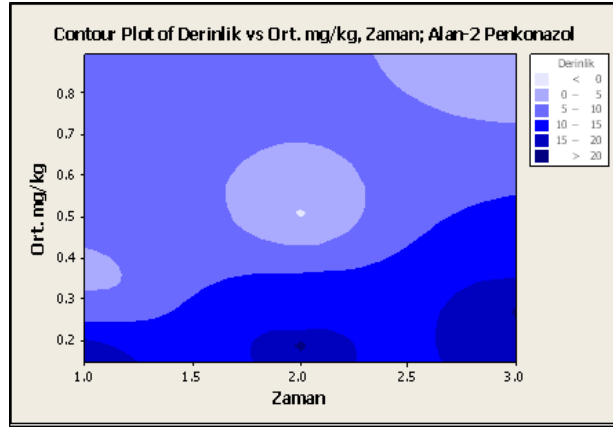
Alan 2 için bakılacak olursa (Şekil 7.40), ilk örnekleme tarihiyle son örnekleme tarihlerinden elde edilen harfler penkonazolün yüzeyden alınan topraklardaki derişiminin arttığını göstermiştir. Bu eğilimin çok farklı olamamakla birlikte 10 ve 20 cm derinliklerde de görülmektedir. Bu sebeple zaman-derinlik etkileşimlerinin önemli olduğu söylenebilir ( $p<0,05$ ). Bu beklenen bir sonuç olarak değerlendirildi. Çünkü pilot bölgeden 2 Mayıs'ta alınan örneklerin ilaçlama öncesinde 25 Mayıs ve 3 Eylül tarihlerindeki örneklemlerin ilaçlama sonrasında alınmasından kaynaklanmaktadır. Özellikle 3 Eylülde yapılan örneklerin pestisit derişiminin yüksek çıkması, o dönemde metre küp başına yapılan ilaçlama miktarının yüksek olmasındandır. Son ilaçlama döneminde özellikle mantar oluşumunu engellemek için ilaçlamanın iki kez arka arkaya yapıldığı bilinmektedir.

Alan 1 ve 2 için penkonazol pestisit derişiminin derinlikle zaman arasındaki ilişki kontor plotlarda da görülmektedir (Şekil 7.41-7.42).





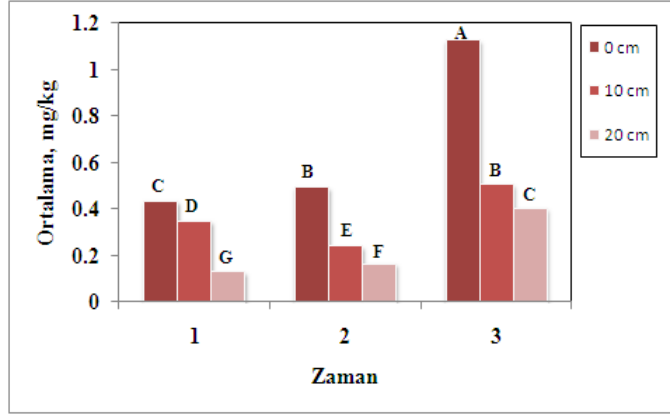
Şekil 7.41: Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için Derinlik\*zaman Kontor plot sonucu.



Şekil 7.42: Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için Derinlik\*zaman Kontor plot sonucu.

Şekil 7.41 ve 7.42 incelendiğinde koyu renkli alanların derinliğin artışıyla tüm zaman dilimlerinde pestisit derişimlerinin düştüğünü göstermektedir. 3 Eylül tarihinde yapılan örnekleme sonuçlarındaki penkonazol derişiminin daha yüksek olduğuda görülmektedir. Bu tarihteki penkonazol pestisit derişimi yüzeyden alınan örneklemede tüm örnekleme noktalarının ortalaması dikkate alındığında Alan 2 için  $0,894 \text{ mg kg}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Alan 2’deki pestisit derişimleri tüm derinlikler için farklı zamanlarda Alan 1’e göre daha yüksek çıkmıştır. Bunun çok farklı nedenleri olabilir. Bu nedenlere yukarıda değinilmiştir.

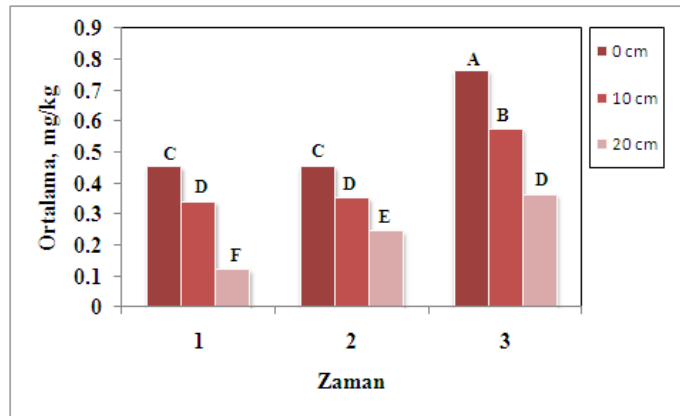
Triadimenol pestisit derişiminin zamana bağlı olarak toprak örneklerindeki değişimi Şekil 7.43 ve 7.44’de verilmiştir.



Şekil 7.43: Alan 1’de triadimenol pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:15. 1; 2 Mayıs. 2; 25 Mayıs. 3; 3 Eylül).

Şekil 7.43’e göre Duncan testinin vermiş olduğu harfler incelendiğinde Alan 1’deki tüm örneklem noktalarından elde edilen derişimlerin ortalaması alındığında, 2 Mayısta yüzeyden yapılan örneklem sonucu ile 3 Eylül’de 20 cm’den yapılan örneklem sonuçları yakın derişimler göstermiştir ( $p>0,05$ ). Bu derişim değerleri sırasıyla  $0,495 \text{ mg kg}^{-1}$  ve  $0,364 \text{ mg kg}^{-1}$ ’dir. Aynı şekilde pestisit derişimi bakımından 25 Mayısta yüzeyden yaptığımız örnekleme ile 3 Eylül’de 10 cm derinlikten yapılan örnek derişimleri benzerlik gösterdiği bulundu. Ancak 3 Eylül 2009 tarihinde yüzeyden alınan örnek triadimenol derişimi  $1,128 \text{ mg kg}^{-1}$  olarak bulundu. Yüzeyden alınan örneklerin farklı zamanlarda önemli değişiklikler gösterdiği Şekil 7.43’de görülmektedir ( $p<0,05$ ).

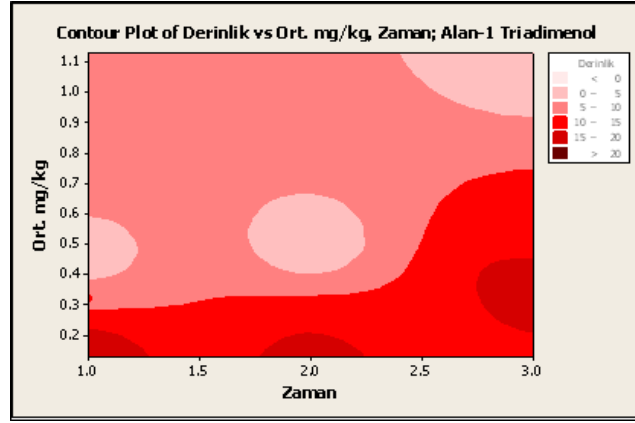
Alan 2 için triadimenol pestisit değerleri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu Şekil 7.44’te verilmiştir.



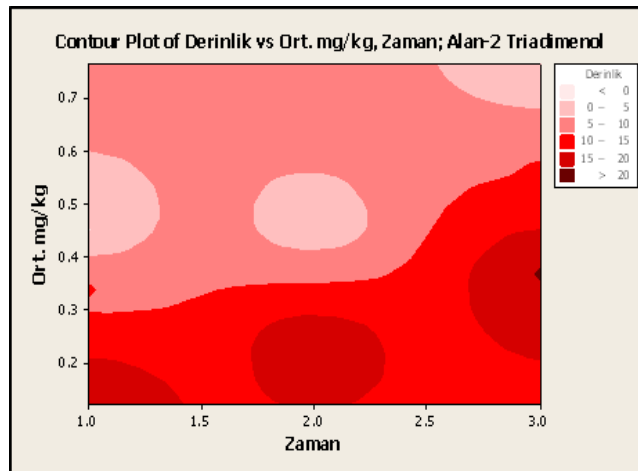
Şekil 7.44: Alan 2’de triadimenol pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:15, 1; 2 Mayıs, 2; 25 Mayıs, 3; 3 Eylül).

Şekil 7.44'ten görüldü gibi, Alan 2 için triadimenol pestisit derişimindeki değişime bakıldığında, 2 ve 25 Mayıs tarihlerinde yapılan örneklemlerin yüzeydeki derişimleri benzerlik gösterirken ( $p>0,05$ ) en yüksek derişim Alan 1'de olduğu gibi 3 Eylül tarihinde bulundu ( $p<0,05$ ). İki ve 25 Mayısta 10 cm derinlikteki pestisit derişimi ile de 3 Eylülde 20 cm derinlikten elde edilen pestisit derişimi benzer bulundu. Bu tarihlerdeki pestisit derişimleri tüm örnekleme bölge değerlerinin ortalaması göz önüne alındığında sırasıyla  $0,340 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $0,353 \text{ mg kg}^{-1}$  ve  $0,364 \text{ mg kg}^{-1}$ 'dir.

Şekil 7.45 ve 7.46'da triadimenol pestisiti için elde edilmiş kontor plotlar verilmiştir. Her iki alan içindeki triadimenol pestisit derişiminin zaman ve derinlikle nasıl değiştiğini kontor plotlarla incelendiğinde, derinlikle pestisit derişiminin azaldığını ve pestisit derişiminin en yüksek olduğu zamanın 3 Eylül olduğu bulundu.

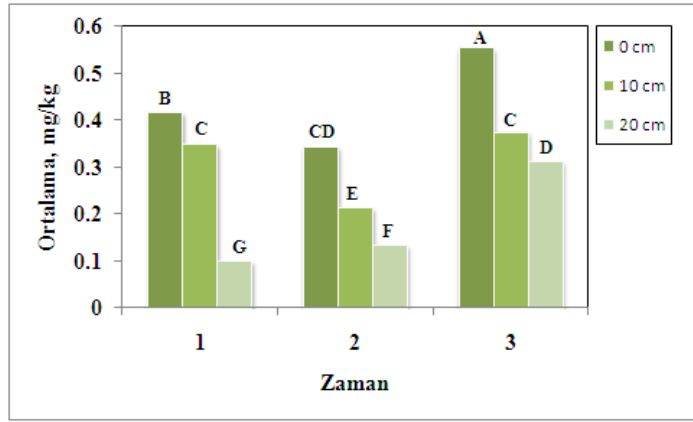


Şekil 7.45: Alan 1'de triadimenol pestisit verileri için Derinlik\*zaman Kontor plot sonucu.



Şekil 7.46: Alan 2'de triadimenol pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Kontor plot sonucu.

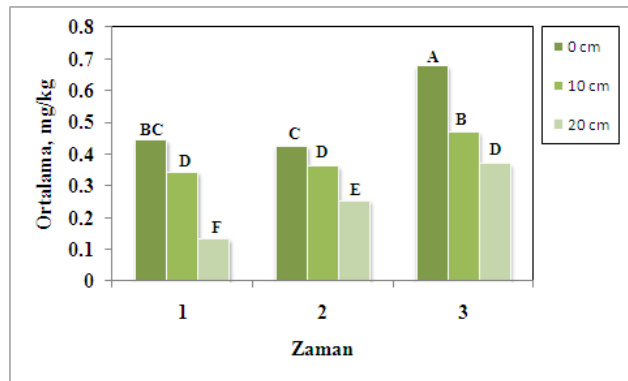
Toprak örneklerindeki mayklobutanil pestisit derişiminin zaman ve derinlikle değişimi Şekil 7.47-7.48’de verilmiştir.



Şekil 7.47: Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:15, 1; 2 Mayıs, 2; 25 Mayıs, 3; 3 Eylül).

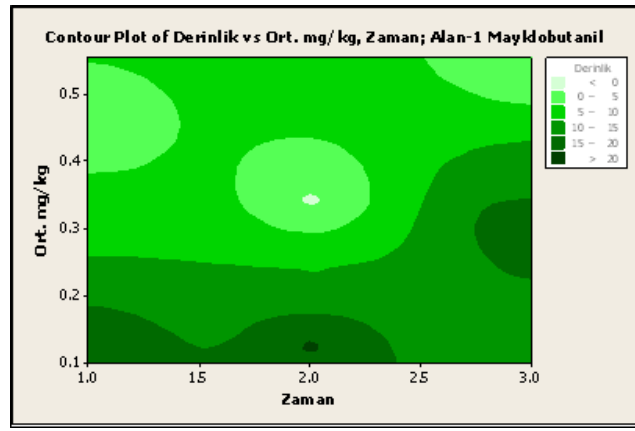
Alan 1 içinde mayklobutanil pestisit derişimindeki değişim 2 Mayıs ve 3 Eylül tarihlerindeki 10 cm’lik derinlikler ile 25 Mayısta yapılan örnek derişimiyle benzerlik gösterdiği görülmektedir. 20 cm derinlikten yapılan örneklemelerin her üç zaman için farklı değerler verdiği bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Tüm örneklem bölgelerinin ortalaması göz önüne alındığında, triadimenol pestisitinde olduğu gibi burada da 3 Eylül tarihine ait yüzeyden alınan örnek derişimi  $0,554 \text{ mg kg}^{-1}$  olarak en yüksek bulunmuştur. Genel olarak derinlikle zaman arasındaki ilişkinin önemli olduğunu Şekil 7.47’de verilen harflerden görebiliriz ( $p<0,05$ ).

Şekil 7.48’de Alan 2 için mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu görülmektedir.

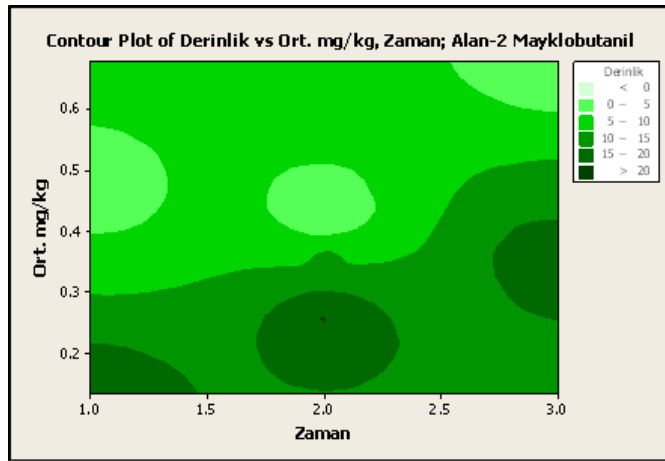


Şekil 7.48: Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:15, 1; 2 Mayıs, 2; 25 Mayıs, 3; 3 Eylül).

Şekil 7.48'e göre, Alan 2'de de mayklobutanil pestisit derişiminin 2 ve 25 Mayıs tarihlerinde yüzeyden alınan toprak örnekleri ile 3 Eylülde 10 cm derinlikten alınan örnekle yakın derişimler bulunmuştur. Bu derişimler sırasıyla 0,444 mg kg<sup>-1</sup>; 0,426 mg kg<sup>-1</sup> ve 0,470 mg kg<sup>-1</sup>'dir. 20 cm derinlikte alınan örneklerin Alan 1'deki gibi farklı derişimlerde olduğu bulundu. Genel olarak mayklobutanil pestisit derişiminin her üç zamanda da derinliğin artışıyla azaldığı görülürken zaman-derinlik etkileşiminin önemli olduğunu da göstermektedir (p<0,05). Ayrıca en yüksek derişimin 3 Eylül tarihinde yüzeyden yapılan örnekten elde edildiği de Şekil 7.49-7.50'de kontor plotlardan da görülmektedir.



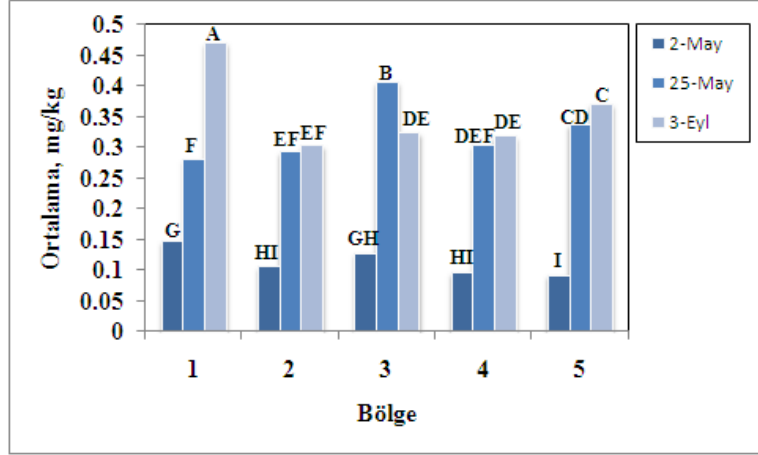
Şekil 7.49: Alan 1'de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik\*zaman Kontor plot sonucu.



Şekil 7.50: Alan 2'de mayklobutanil pestisit verileri için Derinlik\*zaman Kontor plot sonucu.

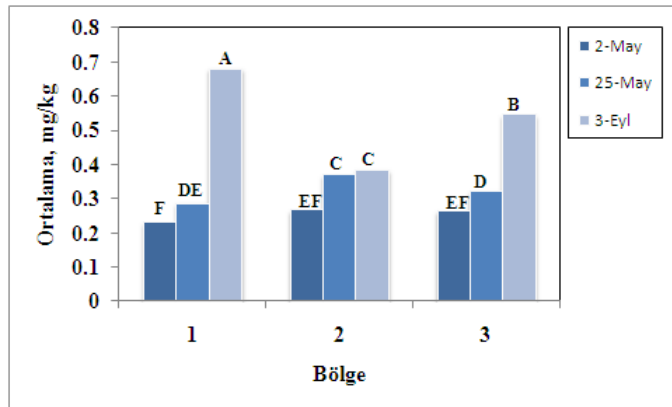
*Bölge-Zaman Etkileşimi;* Bu kısımda alan 1 ve 2 için ayrı ayrı farklı noktalardan alınan örneklerin örnekleme zamanlarının değişimiyle elde edilen derişimler karşılaştırılmıştır. Bölge-zaman etkileşimini açıklarken farklı derinliklerden elde

edilen sonuçların ortalamaları dikkate alınmıştır. Şekil 7.51 ve 7.52’de penkonazol pestisit için elde edilen verilerin Duncan çoklu karşılaştırma sonuçlarını görmekteyiz. Genel olarak şekiller incelenecek olursa 3 Eylül tarihinde yapılan örneklemlerde pestisit derişiminin daha yüksek olduğu görülmektedir.



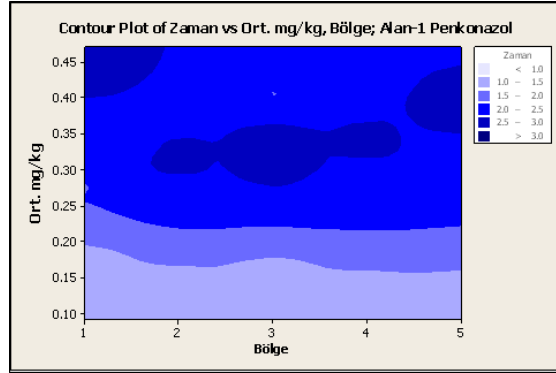
Şekil 7.51: Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için Bölge\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Şekil 7.51’e bakılınca, 2 Mayıs tarihindeki örneklem bölgelerinden 2., 3. ve 4. bölgelerde pestisit derişimleri birbirine yakın bulunmuştur. Bu bölgelerin bölge-zaman etkileşimi bakımından birbirinden çok farklı olmadığı söylenebilir ( $p>0,05$ ). 25 Mayısta yapılan örneklemlerde sadece 3 ile 5. bölgelerinin diğer bölgelerden pestisit derişimi bakımından farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Penkonazol pestisit derişimi genel olarak 3 Eylül tarihinde yapılan örneklemlerde en yüksek değerlerde bulunmuştur. Bu da bize zamanla bölgeler arasındaki etkileşimlerin penkonazol pestisit için önemli olduğunu ortaya koymaktadır ( $p<0,05$ ).

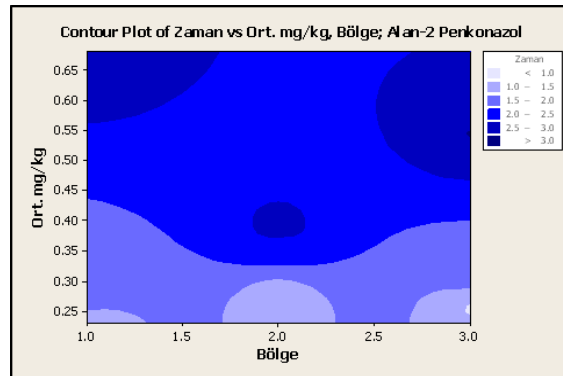


Şekil 7.52: Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için Bölge\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Alan 2 için penkonazol pestisit derişimi genel olarak 3 Eylül tarihinde daha yüksek tespit edildi. Bunun sebebini yukarda vurguladığımız gibi bu tarihteki örneklemenin ilaçlama sonrasına gelmesinden kaynaklandığını söylemiştik. Duncan harfleri incelendiğinde 2. bölgeden alınan 25 Mayıs ile 3 Eylül tarihlerindeki örnek derişimleri arasında tüm derinliklerin ortalaması alındığında önemli bir fark olmadığı ( $p>0,05$ )  $0,370 \text{ mg kg}^{-1}$  ve  $0,384 \text{ mg kg}^{-1}$  değerlerinden görülmektedir. Üç Eylül tarihindeki örneklemelelerde pestisit derişimlerinin birbirlerinden farklı olduğu söylenebilir. İstatistiksel olarak bu üç bölgenin birbirlerinden farklı davrandığını görmekteyiz ( $p<0,05$ ). En yüksek pestisit derişimi, 3 Eylül tarihinde 1. bölgedeki tüm derinliklerin ortalaması dikkate alındığında  $0,681 \text{ mg kg}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Elde edilen veriler birde kontor plotlar çizilerek incelendiğinde örnekleme zamanı 2 Mayıstan 3 Eylül tarihleri arasında pestisit derişiminin artma yönünde olduğu görüldü. Çalıştığımız pilot bölgedeki ilaçlama zaman dilimine göre örnekleme yapıldığı için beklenen sonuçlar bulunmuştur. Şekil 7.53 ve 7.54’de penkonazol için kontor plotlar gösterilmiştir.



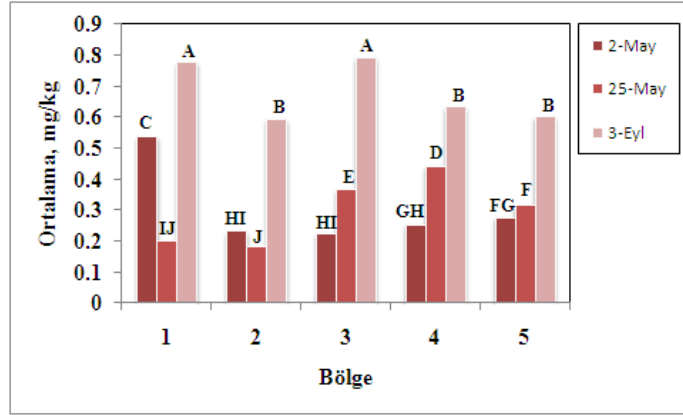
Şekil 7.53: Alan 1’de penkonazol pestisit verileri için bölge\*zaman Kontor plot sonucu. (Zaman; (1); 2 Mayıs. (2); 25 Mayıs. (3); 3 Eylül)



Şekil 7.54: Alan 2’de penkonazol pestisit verileri için Bölge\*Zaman kontor plot sonucu. (Zaman; (1); 2 Mayıs. (2); 25 Mayıs. (3); 3 Eylül)

Şekil 7.53 ve 7.54'deki kontor plotlarda koyu renkli alanlar 3 Eylül tarihinde yapılan örneklem sonuçlarını göstermektedir. Buradan da görüldüğü gibi 3 Eylül tarihindeki örneklem derişimleri en yüksek değerlerdedir.

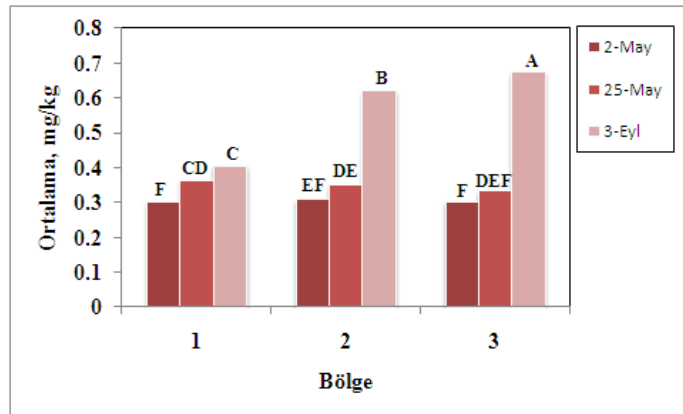
Triadimenol pestisit derişiminin örnekleme bölgelerinde zamana bağlı olarak değişimi Şekil 7.55 ve 7.56'da verilmiştir.



Şekil 7.55: Alan 1'de triadimenol pestisit verileri için bölge\*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

3 Eylül tarihinde yapılan örnekleme alanlarından 1 ile 3. bölgeler ve 2, 4 ile 5. bölgeler yakın derişimlere sahiptirler ( $p>0,05$ ). 2 Mayıs tarihinde yapılan ilk örneklemede alan 1 içinde en düşük triadimenol derişimleri gözlenmiştir. Yine penkonazol pestisiti gibi triadimenol derişimi 3 Eylül tarihinde yapılan örnekleme alanlarında en yüksek değerlerde çıkmıştır.

Alan 2 için triadimenol derişiminin örnekleme bölgesi ile zaman değişimini Şekil 7.56'da verilmiştir.

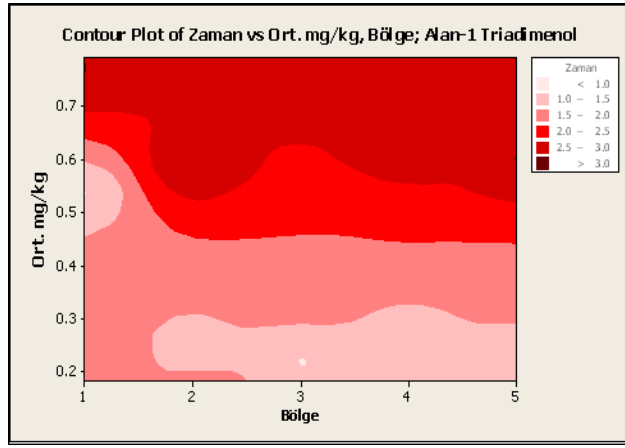


Şekil 7.56: Alan 2'de triadimenol pestisit verileri için Bölge\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

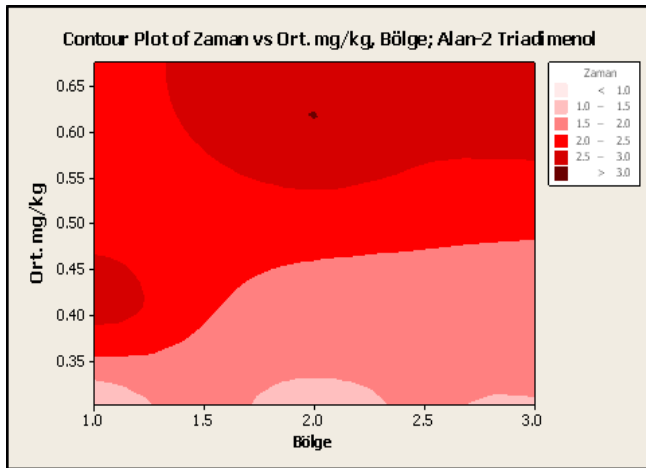


Genel olarak pestisit derişiminin ilaçlamann yapıldığı tarihlerde yüksek değerde tespit edilmiştir. Sadece 25 Mayıs'ta 2. ve 3. Bölgelerin örnekleri arasında önemli bir farklılığın olmadığı ( $p>0,05$ ). 3 Eylül tarihinde yapılan örnekleme için pestisit derişimleri tüm bölgeler için farklılık gösterdiği Duncan harflendirmelerinden görülmektedir ( $p<0,05$ ).

Kontor plot diagramları incelenirse, penkonazol pestisitinde olduğu gibi koyu renkli bölgelerde pestisit derişiminin yüksek olduğu görülmektedir. Alan 1 ve 2 için kontor plotlar Şekil 7.57 ve 7.58'de verilmiştir.

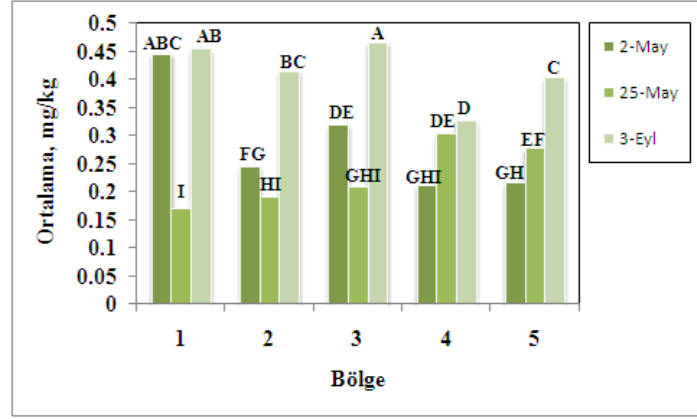


Şekil 7.57: Alan 1'de triadimenol pestisit verileri için Bölge\*Zaman Kontor plot sonucu. (1; 2 Mayıs. 2; 25 Mayıs. 3; 3 Eylül)



Şekil 7.58: Alan 2'de triadimenol pestisit verileri için Bölge\*Zaman Kontor plot sonucu. (1; 2 Mayıs. 2; 25 Mayıs. 3; 3 Eylül)

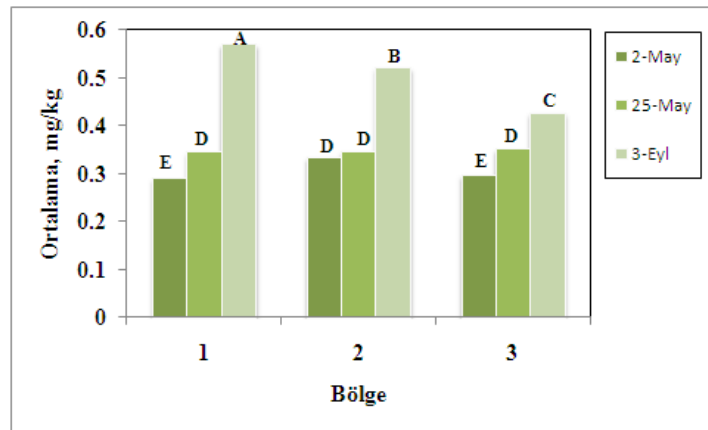
Bölge-zaman etkileşiminde mayklobutanil pestisit verilerine ait Duncan harf sonuçları Şekil 7.59 ve 7.60'da verilmiştir.



Şekil 7.59: Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Alan 1’de mayklobutanil pestisit derişiminin genel olarak 3 Eylül tarihinde yapılan örneklemlerde en yüksek çıktığını Şekil 7.59’da görülmektedir. 2 Mayısta yapılan örneklemlerden 1. bölge sonucu diğer bölgelerden oldukça farklıdır ( $p<0,05$ ). Ancak, genel olarak mayklobutanil pestisitide diğer pestisitlerle benzer bir eğilim gösterdiği söylenebilir.

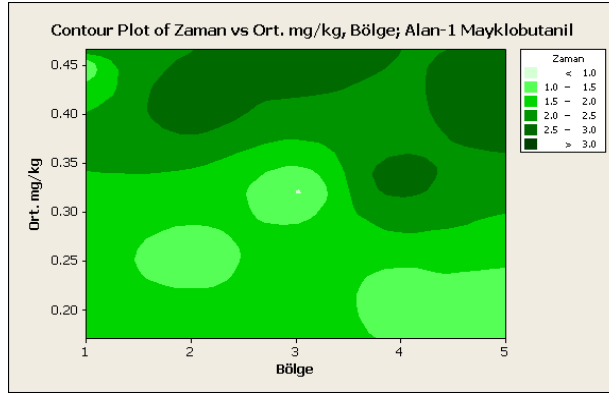
Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için bölge\*zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu Şekil 7.60’da verilmiştir.



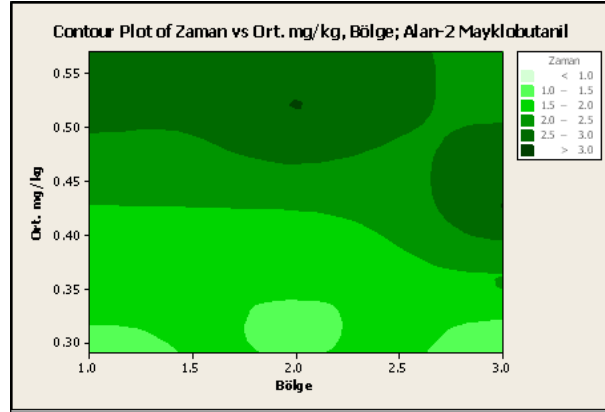
Şekil 7.60: Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Zaman Duncan çoklu karşılaştırma test sonucu (N:9).

Şekil 7.60’a bakıldığında, mayklobutanil pestisiti alan 2’de 25 Mayıs’ta 1. Bölge, 2 ve 25 Mayıs’ta 2. bölge ile 25 Mayıs’ta 3. bölgeden alınan örnek derişimleri farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ). 3 Eylül tarihinde yapılan örneklemlerde tüm bölgelerin derişim değerleri tüm derinliklerin ortalamaları göz önüne alındığında birbirlerinden farklılık gösterirken en yüksek değerler olarak karşımıza çıkmaktadır ( $p<0,05$ ). Bu değerler sırasıyla  $0,570 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $0,521 \text{ mg kg}^{-1}$  ve  $0,427 \text{ mg kg}^{-1}$ ’dir. Mayklobutanil

pestisitinin bölge-zaman etkileşimlerine ait kontor plotlar da Şekil 7.61 ve 7.62’de verilmiştir.



Şekil 7.61: Alan 1’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Zaman Kontor plot sonucu. (1; 2 Mayıs, 2; 25 Mayıs, 3; 3 Eylül).



Şekil 7.62: Alan 2’de mayklobutanil pestisit verileri için Bölge\*Zaman Kontor plot sonucu. (1; 2 Mayıs, 2; 25 Mayıs, 3; 3 Eylül).

Genel olarak kontor plotlara bakıldığında her iki alan için 3 Eylül tarihinde yapılan örneklemlerde mayklobutanil derişimi en yüksek değerdedir. Koyu alanlı bölgeler 3 Eylül tarihini göstermetedir.

### 7.8.8 Çalkalamalı ekstraksiyon yönteminin litaratürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılması

Toprak örneklerindeki bazı pestisitlerin ekstraksiyonunda optimizasyonu yapılmış çalkalamalı ekstraksiyon tekniği ile literatürde yapılmış diğer ekstraksiyon çalışmaları karşılaştırılmıştır (Tablo 7.32). Karşılaştırmada kullanılan ekstraksiyon tekniği, ekstraksiyon süresi (ES), ekstraksiyon çözücüsü, gözlenebilme sınırı (LOD), geri kazanım değerleri (%R) ve bağıl standart sapma (% BSS) değerleri dikkate alınmıştır.

Tablo 7.32: Çalkalamalı ekstraksiyon tekniğiyle toprak örneklerinde bazı pestisitlerin ekstraksiyonunun literatürde kullanılan diğer tekniklerle karşılaştırılması.

Metod	Ekstraksiyon tekniği	E.S (dak)	Eks. Çözücüsü	% R	Lineer aralık ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	% BSS	Kaynaklar
LC-ESI-MS	Titreşimli	20	MeOH:H <sub>2</sub> O (4:1. v/v)	60,0-98,0	5-100	0,5-2,5	4,5-11,0	(Vega ve diğ., 2005)
GC-MS	PSWE	10	H <sub>2</sub> O:ACN (4:1. v/v)	5,5-131,2	25-155	0,002-4,7	3,2-28,7	(Rodil ve Popp, 2006)
HPLC-UV	MAME	2	Genapol-080 ve pole surfaktan	84,7-92,7	0,1-25 <sup>a</sup>	0,2-95 <sup>a</sup>	0,4-2,6	(Padrón-Sanz ve diğ., 2005)
GC-ECD	HLLME	~35	CCl <sub>4</sub>	98,5-103,9	0,05-40	0,01-0,04	2,3-9,6	(Wang ve diğ., 2008)
GC-MS	SBWE	90	H <sub>2</sub> O	78,3-107,9	10-1000 <sup>a</sup>	3,2-137,1	2,3-18,5	(Richter ve diğ., 2003)
GC-MS-MS	QuEChERS	~40	ACN:HAc (99:1. v/v)	-	0,6-300	0,2-2,4	3-20	(Rashid ve diğ., 2010)
GC-ECD	Çalkalamalı	135	Siklohekzan:Aseton (1:1. v/v)	52,0-92,0	-	0,05-0,40	1,0-9,0	(Ssebugere ve diğ., 2010)
GC-MS	LDMHLLME	~26	n-Hekzan	-	5,0-2500	0,13-0,26	6,0-9,0	(Hassan ve diğ., 2010)
GC-MS	Çalkalamalı	123	MeOH	79,3-95,6	0,20-40 <sup>a</sup>	0,16-1,14	1,5-8,4	Önerilen teknik

<sup>a</sup>;  $\mu\text{g L}^{-1}$ . PSWE; Basıncılı süperkritik su ekstraksiyonu. MAME; Mikrodalga çözünürleştirme kolloit ekstraksiyon. HLLME; Homojen sıvı-sıvı ekstraksiyon. SBWE; Süper kritik su ekstraksiyonu. LDMHLLME; Düşük yoğunluklu minyatürleştirilmiş homojen sıvı-sıvı ekstraksiyon. LC-ESI-MS; Sıvı kromatografi-Elektrosprey iyonlaştırma-kütle spektrometre. Hac; Asetik asit.

Tablo 7.32'ye bakıldığında geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirliğinin Padrón-Sanz ve ark. (2005) çalışmaları hariç diğerlerinden daha iyi olduğu görülmektedir. Yöntemin gözlenebilirlik sınırı Padrón-Sanz ve ark. (2005), Wang ve ark. (2008) ve Ssebugere ve ark. (2010) nin yöntemleriyle yarışabilirken diğer yöntemlerden daha iyi bulunmuştur. Yöntemin uygulanmasının basitliği, tekrarlanabilirliğinin iyi olması, düşük gözlenebilirlik sınırı ve yüksek geri kazanım değerleri ile geliştirilen teknik literatürdeki diğer çalkalamalı teknik olan Ssebugere ve ark.'nın (2010) çalışmasından çok daha iyidir. Yöntemin diğer bir avantajı, PSWE, MAME, SBWE gibi örnek hazırlama tekniği gerektirmemesidir.

## 8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Pestisit tayininde kullanılan önderiştirme yöntemlerinin temel amacı, tayin tekniğine göre daha düşük analit derişimlerinin tayin edilebilirliği ve matriks bileşenlerden analitin etkin ayrılmasını sağlamaktır. Bu amaçla, sıvı sıvı ekstraksiyonu, katı faz ekstraksiyonu, bulutlanma noktası ekstraksiyonu, süper kritik akışkan ekstraksiyonu, süper ısıtılmış sıvı su ekstraksiyonu gibi sıkça başvurulan teknikler kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, mezotrin, simazin ve atrazin herbisitlerinin bazı sebze, su ve sediment örneklerindeki kalıntı düzeylerinin tayini ile bağcılıkta kullanılan bazı organofosfor insektisitler (kloropirifos-etil, kloropirifos-metil, fention) ile azole grup fungusitlerin (triadimenol, penkonazol ve mayklobutanil) kalıntı tayinleri için yöntem geliştirme çalışmaları yapıldı. Bağcılıkta kullanılan pestisit çalışmaları kendi içinde iki alt başlıkta ele alındı. Bunlardan ilki su örneklerindeki pestisit kalıntı tayinleri için DLLME yönteminin optimizasyon çalışmalarını kapsarken, ikinci kısmında ise toprak örnekleri için geliştirilen çalkalamalı ekstraksiyon yönteminden oluşmaktadır. Bu üç çalışmaya ait sonuçlar aşağıda ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır.

**I. Bölüm: HPLC ile mezotrin, simazin ve atrazin herbisitlerinin tayininde** örnek hazırlama tekniği olarak soxhlet, katı faz ve çalkalamalı ekstraksiyon yöntemleri kullanıldı. Bazı sebze, su ve sediment örneklerindeki mezotrin, simazin ve atrazin herbisit kalıntı düzeylerinin tayinleri için HPLC-DAD sistemi kullanıldı. Kalıntı analizlerine geçmeden önce çalışılan herbisitlerin HPLC-DAD sisteminde ayrılabilirlikleri incelendi. Bu amaçla simazin ve atrazin için geliştirilen HPLC çalışma şartları mezotrin için de denendi. Atrazin ve simazin için HPLC'de ayrılabilirliği, ters faz C<sub>18</sub> kolonda dalga boyu 222 nm'de MeOH:Su (1:1, v/v) varlığındaki hareketli faz ve hareketli faz akış hızı; 0,8 ml/dakika seçildiği şartlarda sağlanmıştı (Baranowska ve diğ., 2006). Yapılan çalışma sonunda HPLC'de simazin ile atrazinin alıkonma zamanları sırasıyla 4,59 ve 8,11 dakika olarak bulunmuştur (Şekil 6.2). Bu çalışmada ilk defa simazin ve atrazin varlığında mezotrininde eşzamanlı olarak ayrılabilirliği araştırıldı. Ters faz C<sub>18</sub> kolon ile yapılan çalışmalarda polar bileşiklerin uygun bir hareketli faz seçimi ile kolondan her zaman önce çıktığı

bilinmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda üç herbisitinin HPLC çalışma şartları için 0.8 mL/dak akış hızında izokrotik elusyon yapılarak ayrılabilirlikleri incelendi. Hareketli faz olarak MeOH:Su (1:1, v/v) ve % 0.05 TFA içeren MeOH:Su (1:1, v/v) karışımları denendi. HPLC-DAD sistemine 20 µg mL<sup>-1</sup> derişimde mezotrin, simazin ve atrazin karışımını içeren standard çözelti enjekte edilerek 222 nm dalga boyunda kromatogramlar alındı. Her iki hareketli faz oranlarında herbisitler birbirinden ayrılmışlardır. MeOH:Su (1:1, v/v) hareketli faz ile elde edilen alıkonma zamanları mezotrin, simazin ve atrazin için sırasıyla 3,29; 4,59 ve 8,11'dir (Şekil 6.2). % 0,05 TFA içeren MeOH:Su (1:1, v/v) hareketli fazında ise alıkonma zamanları sırasıyla 3,01; 4,67 ve 8,35 olarak görüldü (Şekil 6.3). Bunun nedenini muhtemelen TFA'nın simazin ve atrazindeki -N-H gruplarındaki azot atomları üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftlerini protonlamış olmasıdır. Bu durum azda olsa bileşiklerin polaritelerini değiştirmiş olabilir. Ayrıca hareketli faza TFA ilavesi ile piklerde kuyruklanma (tailing) görüldü. Bunun yanı sıra bu hareketli fazda mezotrin ve simazinin tekrarlanabilirliklerinin iyi olmaması nedeniyle çalışmada hareketli faz bileşimi MeOH:Su (1:1, v/v) seçildi. Fotodiyot array dedektörün (DAD) özelliğine bağlı olarak her bir bileşik için maksimum dalga boyu taraması yapıldı. Tarama sonunda analitlerin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyları mezotrin için 254 nm, atrazin ve simazin için ise 222 nm olarak belirlendi (Tablo 6.1). Çalışmada üç bileşiğin aynı ortamda ve aynı şartlarda tayinleri amaçlandığından kromatogramlar 222 nm'de alındı.

Yöntemin analitik değerlendirmesinde gözlenebilme sınırı (LOD), kantitatif tayin sınırı (LOQ), korelasyon katsayısı ve kalibrasyon eğrileri incelenmiştir. Elde edilmiş kalibrasyon doğruları kullanılarak yöntemin LOD ve LOQ değerleri hesaplandı. Sediment, sebze ve su örneklerinde LOD değerleri sırasıyla mezotrin için 0,10; 0,06 ve 0,08 µg mL<sup>-1</sup>; simazin için 0,03; 0,06 ve 0,04 µg mL<sup>-1</sup>; atrazin için 0,04; 0,05 ve 0,10 µg mL<sup>-1</sup> olarak hesaplandı (Tablo 6.2). Ayrıca, sonuçların doğruluğu için gerçek örneklere (sediment, su ve sebze ) standart ekleme de yapıldı. Yapılan çalışmalarda mezotrin, simazin ve atrazin için sırasıyla geri kazanma değerleri % 70,0-97,0, % 82,5-95,0 ve % 77,5-90,0 aralıklarında bulundu (Tablo 5.3). Çalışmada yüzde bağıl standard sapma değerleri ≤ % 6,5'tir.

Sediment, su ve sebze örnekleri için farklı örnek hazırlama teknikleri kullanıldı. Su örneklerinin ekstraksiyonu disk katı faz ve katı faz ekstraksiyon kolonları ile yapıldı

(Şekil 6.1). Katı faz ekstraksiyonunda(SPE) kullanılan kolon dolgusu C<sub>18</sub> (oktadesil)'dir. C<sub>18</sub> katı faz seçilmesinin nedeni çalışılan herbisitlerin apolar karakterde olmalarıdır. SPE mekanizması ters faz temeline dayanır. Bu yöntemde tutunma apolar etkileşimler ve Van der Waals kuvvetleri ile açıklanabilir. Disk katı faz ekstraksiyon kolonunun katı faz ekstraksiyon kolonundan farkı, ekstraksiyon işleminin 9 kat daha hızlı gerçekleşmesi, partikül boyutu ve kolon boyutudur. Her iki SPE sonuçlarına göre disk katı faz ekstraksiyonu ile katı faz ekstraksiyon kolonu sonuçların aynı olmadığı görüldü. Pamukkale ve Karahayıt (kırmızı su) su örneklerinin disk katı faz ekstraksiyonu yardımıyla alınan kromatogramlar ile su örneklerinin sadece mezotrin herbisitini içerdikleri belirlendi (Şekil 6.4, Şekil 6.5). Disk katı faz ekstraksiyonu kromatogramındaki pikin mezotrin olduğundan emin olmak için ekstraktların türev spektrumları da incelendi. İkinci türev spektrumunun en karakteristik özelliği türevsiz spektrumundaki pikin ters yönde pik şeklinde ortaya çıkmasıdır. Aynı zamanda pozitif bantlar oluşabilir. Ancak negatif bantta gözlenen değişim dikkate alınır. Bu bağlamda Şekil 6.6 ve 6.7'de verilen türev spektrumları ile standarda ait spektrum karşılaştırıldığında her iki termal su örneğinde de mezotrinin bulunduğu anlaşıldı. Yapılan tayinlerden Pamukkale su örneğinin 2,403±0,102 µg mL<sup>-1</sup>, kırmızı su örneğinin ise 4,963±0,524 µg mL<sup>-1</sup> mezotrin ve 0,804±0,103 µg mL<sup>-1</sup> atrazin içerdiği bulundu. Mezotrin için Avrupa Birliği (EU) Maksimum Kalıntı değeri su örnekleri için herhangi bir değer belirtilmemesine karşın sebze ve meyve örneklerinde 0.05 mg kg<sup>-1</sup> olarak verilmiştir (Reg. (EC) No 149/2008). Genel olarak atrazin için ise bu değer 10<sup>-4</sup> ile 10 mg L<sup>-1</sup> aralığında verilmiştir (Gabaldón ve diğ., 2010). Buna göre kırmızı su örneğinde bulunan atrazin değerinin EU'nun Maksimum Kalıntı Limitini (MRLs) aşmadığı görüldü.

Sebze örnekleri Soxhlet, sediment örnekleri çalkalamalı ekstraksiyon tekniği ile ekstrakte edildi. Sebze ve sediment örneklerinin ekstraksiyonunda kloroform kullanıldı. Ekstraktların HPLC'ye enjeksiyon öncesinde deriştirme ve ortam bileşenlerinden ayrılması amacıyla katı faz ekstraksiyonu yapıldı. SPE kartuşu olarak hem polar hemde apolar bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan aromatik sülfonik asit (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>SO<sub>3</sub>H) ile çalışıldı. Sediment örneklerinden sadece kırmızı su sediment örneğinde 0,282 ± 0,024 µg g<sup>-1</sup> derişimde mezotrin tespit edildi. Yapılan tayinlerde sebze örneklerine ait HPLC kromatogramları tek tek incelenmiş ve hiçbirinin mezotrin içermediği bulundu (Şekil 6.10-13, Şekil 6.15, Şekil 6.17-18). Pırasa,

maydanoz ve ısırgan otunda sırasıyla  $0,025\pm0,003 \mu\text{g g}^{-1}$ ;  $0,115\pm0,004 \mu\text{g g}^{-1}$  ve  $0,744\pm0,063 \mu\text{g g}^{-1}$  derişim seviyelerinde simazin herbisiti tespit edildi (Tablo 6.6). Avrupa Birliğinin (EU) simazin için belirlediği MRLs  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ 'dir (Reg. (EC) No 839/2008), bu değer henüz yayınlanmamış kalıntı değerlerinde  $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$  düzeyine çekilmiştir (Reg. (EU) No 310/2011). Isırgan otunda tespit edilen değer MRLs değerinin üzerindedir. Brokoli ve ıspanak örneklerinden elde edilen HPLC kromatogramları incelendiğinde örneklerin hem simazin hem de atrazin içerdiği görüldü (Şekil 6.13, Şekil 6.15). Brokoli ve ıspanak örneğinde simazin ile atrazin derişimleri sırasıyla  $0,820\pm0,110 \mu\text{g g}^{-1}$  ve  $0,197\pm0,017 \mu\text{g g}^{-1}$  ile  $0,050 \pm 0,005 \mu\text{g g}^{-1}$  ve  $0,065 \pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$ 'dir. Her iki değer de Avrupa Birliği Direktifleri'nin önerdiği değerlerin üzerindedir. Gelincik ve afyon örneklerinde mezotrin, simazin ve atrazin içeriklerine rastlanmamıştır (Şekil 6.17 ve 18). Türk Gıda Kodeksi'ne göre sebze örneklerinde mezotrin, simazin ve atrazin için MRLs değerleri sırasıyla  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  ;  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ 'dir (Resmi Gazete; 21.01.2011-27822, Tebliğ No: 2011/2).

Ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması için ölçüm belirsizliğinin hesabı önemlidir. Bu bağlamda son olarak yöntem belirsizlik testleri yapıldı. Bunun için Şekil 4.2'de verilmiş belirsizlik kaynakları tek tek hesaplanarak her bir örnekteki mezotrin, simazin ve atrazine ait % 95 güven düzeyinde belirsizlikler hesaplandı. Yapılan hesaplamalarda tün analitler için belirsizliğin % 10'un altında olduğu görüldü. En yüksek belirsizlik ise % 7,33 ile pırasa örneğindeki simazin içeriği için bulundu (Tablo 6.7).

Ayrıca yöntem, son zamanlarda yapılmış literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldı. Tablo 6.8'e bakıldığında önerilen metodun diğer yöntemlerden en önemli farklılıklarının hareketli faz bileşimi, uygulanan matriks ortamının zenginliği ve atrazin, simazin ile mezotrinin aynı ortamda tayin edilebilmeleridir. Bunun yanında analiz süresi bakımından da iyi olduğu görüldü.

**II. Bölüm: su örneklerindeki bazı organofosfor ve azole grup pestisitlerin DLLME ile önderiştirilmesi ve GC-MS ile tayinleri yapıldı.** Öncelikle OPPs (kloropirifos-metil, fention, kloropirifos-etil) ve azole (penkonazol, triadimenol, mayklobutanil) grup pestisitlerin tayini için GC-MS çalışma şartları optimize edildi.  $10 \text{ mg L}^{-1}$  derişimde model çözelti ile farklı kolon fırın sıcaklık denemeleri yapıldı. Pestisitlerin için en iyi ayırım  $70^{\circ}\text{C}$ 'den  $220^{\circ}\text{C}$ 'ye gradiyent sıcaklık programı



kullanılarak gerçekleştirildi (Tablo 7.3). Tablo 7.4'te, analitlere ait analiz süresinin iç standartla birlikte 14,22 dakika olduğu görülmektedir. Yeni kolon fırın sıcaklık programının (Tablo 7.3) analiz süresi bakımından Tablo 7.1'deki çalışma şartlarından daha uygun olduğu görüldü. Bundan sonraki önderiştirme çalışmalarında, Tablo 7.3'teki sıcaklık programı kullanılarak çalışılan analitlerin tayinleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca MS spektrumlarından seçimli iyon modu çalışmaları için kullanılacak doğrulama iyonları da belirlendi (Tablo 7.4). Tablo 7.3'teki sıcaklık programı kullanılarak  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişiminde pestisit karışımı için kolon verimliliğinin belirlenmesine yönelik kolon ayırma gücü ( $R_s$ ) ve teorik plaka sayısı değerleri hesaplandı. Teorik plaka sayılarının yüksek çıkması TRB-5ms kolon veriminin iyi olduğunu gösterdi. Ayırma gücünün de tüm analitler için 1,5'in üzerinde olduğu bulundu. Bu da pestisit karışımının TRB-5ms kolonda ayırımının iyi olduğunu gösterdi (Tablo 7.5). Ayrıca elde edilen kütle spektrumları tüm analitler için ayrı ayrı değerlendirilerek MS'deki kopmaların bağıl bolluk oranları da incelendi (Şekil 7.4-7.9).

Kantitatif analiz için, DLLME yöntemine geçmeden önce optimize edilmiş GC-MS çalışma şartlarında her bir bileşik için kalibrasyon grafikleri çizilerek; eğri denklemi, korelasyon katsayısı, cevap faktörü gibi veriler değerlendirilerek kalibrasyon eğrisi içerisinde inilebilecek en düşük derişimler bulundu. Derişimlerin  $1,24-8,70 \mu\text{g L}^{-1}$  aralığında değışiklik gösterdiği görüldü (Tablo 7.7).

GC-MS'de kolon fırın sıcaklık programının optimize edilmesinden sonra DLLME yönteminin optimizasyonuna geçildi. Optimizasyon Placket-Burmann deney tasarımı kullanılarak sağlandı. İki seviyeli deneysel tasarımlardan kısmi faktöryel tasarım tekniğı olan Placket-Burmann tasarımı için 5 değışken (ekstraksiyon çözücü hacmi, dispersif çözücü hacmi, örnek hacmi, ekstraksiyon süresi ve santrifüj devri) seçilerek tasarım matrisi belirlendi. Tasarım matrisini belirlerken MINITAB 13.0 istatistik paket programı kullanıldı. Tasarım  $2^{5-2}$  ve bir merkezi nokta seçimiyle toplam 9 deney yapılmasını öngördü. Tasarımda seçilen değışkenlerin alt (-) ve üst (+) seviye değerleri sırasıyla şöyledir. Ekstraksiyon çözücü hacmi; (-) 40  $\mu\text{L}$ -(+) 80  $\mu\text{L}$ , dispersif çözücü hacmi; (-) 0,5 mL-(+) 1 mL, örnek hacmi; (-) 5 mL-(+) 10 mL, Ekstraksiyon süresi; (-) 2 dak-(+) 5 dak, ve santrifüj devri; (-)3500 rpm-(+) 4500 rpm'dir (Tablo 7.8). Deneylerde ekstraksiyon çözücüsü olarak klorobenzen, dispersif çözücü olarak da asetonitril (ACN) kullanıldı. DLLME yöntemi optimizasyonunda

türetilen tasarım matrisindeki deneyler model çözeltiler kullanılarak gerçekleştirildi. Model çözeltilerden elde edilen geri kazanma değerleri kullanılarak tasarım matrisi sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. Tayini yapılan pestisitler için geri kazanma değerleri % 16,2 -105,6 aralığındadır (Tablo 7.9). Tüm pestisitler için en yüksek geri kazanma değerleri Tablo 7.8'de verilmiş tasarım matrisindeki 7 numaralı deneyden elde edildi. Çalışılan pestisitlerden sadece penkonazol için geri kazanma değeri hesaplanamadı. Şekil 7.11'de kör çözeltilerin GC-MS kromatogramları incelendiğinde, penkonazol'un 11,11. dakikadaki alıkonma zamanında gözlenen pik ile safsızlık veya matristen tanımlanamayan bir başka madde piki ile çakıştığı görüldü. Safsızlık ya da matris kaynaklı bu pik penkonazolün pik alanında değişikliğe neden olduğundan bu pestisite ait geri kazanım değeri de hesaplanamadı. Geri kazanma değerleri MINITAB istatistik programında % 5 önem seviyesinde değerlendirilerek Pareto ve etkileşim diyagramları elde edildi (Şekil 7.12-7.21).

Pareto diyagramlara göre değişkenlerin belirlenen düzeyleri için % 5 önem seviyesinde etki değerlerinin düşük olduğu bulundu. Ancak etkileşim diyagramları incelendiğinde en yüksek geri kazanım değerlerine merkezi nokta seçimiyle yapılan deneylerde ulaşıldı (Tablo 7.8'de yedi numaralı deney). Optimizasyon değerleri: ekstraksiyon çözücü hacmi; 60 µL, dispersif çözücü; 0,75 mL, örnek hacmi; 7,5 mL, ekstraksiyon süresi; 3,5 dakika ve santrifüj devri; 4000 rpm'dir. Optimize edilmiş şartlarda kantitatif elde edilen geri kazanım değerleri kloropirifos-metil, fention, kloropirifos-etil, triadimenol ve mayklobutanil için sırasıyla % 99,0, 97,7, 95,7, 97,7 ve 103,3'dür (Şekil 7.10). Optimum şartlarda ekstraksiyon çözücüsü karbondetriklorür ve dispersif çözücü MeOH kullanılarak ta deneyler tekrarlandı. Ancak sonuçların tüm analitler için kantitatif olduğu ekstraksiyonda çözücü klorobenzen ve dispersif çözücü ACN olarak seçildi (Tablo 7.10).

Model çalışmada DLLME'de tuz derişiminin geri kazanımlar üzerine olan etkisi çalışıldı. Tuz etkisi % 0-5 NaCl (w/v) aralığında değerlendirildi. Tuz ilavesi % 4'e kadar analitlerin ekstraksiyonu üzerinde önemli bir etkisi olmadığı görüldü (Şekil 7.22). % 5 tuz ilavesinde ise triadimenol ve mayklobutanil pestisitlerinin geri kazanma yüzdelerinin yükseldiği görüldü.

DLLME yönteminin en büyük avantajlarından biri yüksek zenginleştirme faktörlerine sahip olmasıdır. Bizim geliştirdiğimiz yöntemde teorik zenginleştirme

faktörü 136, deneysel zenginleştirme faktörleri ise 112 ile 132 aralığında hesaplandı (Tablo 7.12). Gözlenebilir sınırları kloropirifos-metil, fention, kloropirifos-etil, triadimenol ve mayklobutanil için sırasıyla 54,2; 48,8; 68,7; 53,3 ve 63,6 ng L<sup>-1</sup> olarak bulundu.

Geliştirilen DLLME yöntemi musluk suyu, ırmak ve artezyen su örneklerine uygulandı. Doğrudan çalışılan tüm su örneklerinde analit derişimleri gözlenebilir sınıra altında olduğundan tayin edilemedi. Yöntemin doğruluğunu kontrol etmek için çalışılan tüm örneklere 3, 6 ve 9 µg L<sup>-1</sup> derişimlerde analit ekleme yapıldı (Tablo 7.13). Geri kazanım değerleri % 89,3 ile 110,4 aralığındadır.

Tablo 7.14'te azole grup pestisitleri için yöntem literatürdeki benzer çalışmalardan LOD, % BSS ve analiz süreleri bakımından daha iyi olduğu görüldü. Organofosfor (OPPs) pestisitlerin tayini için yapılan diğer çalışmalarda da Tablo 7.15'de özetlenmiştir. Tablo 7.15'e bakıldığında geliştirilen yöntemin diğer zenginleştirme yöntemlerinden daha avantajlı ve yüksek bir doğruluğa sahip olduğu görüldü.

Su örnekleri için yöntem çalışması tamamlandıktan sonra toprak örneklerindeki bazı pestisitlerin tayini için yeni bir ekstraksiyon yöntemi çalışıldı. Yöntem kloropirifos-metil, fention, penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil pestisitlerinin tayininde kullanıldı. Toprakta analitlerin ekstraksiyonu çalkalamalı ekstraksiyon ile yapıldı. Ekstraksiyon üzerine; ekstraksiyon çözücü türü, ekstraksiyon süresi ve çalkalama devri etkileri incelendi. Model çalışmalarda çalışılan pestisitler yönünden temiz toprak örneği kör olarak alındı. Toprak örneğine 0.05 µg standart pestisit karışımı ilave edilerek deneyler yapıldı. Çalışmalarda hem iç standart kullanılarak hem de iç standartsız kalibrasyon eğrileri üzerinden geri kazanım değerleri hesaplandı. İç standart olarak trifenilfosfat (TPP) kullanıldı.

Çalkalamalı ekstraksiyonda ekstraksiyon çözücüsü olarak aseton, MeOH, heksan ve su kullanıldı. Su ile yapılan ekstraksiyon işleminden sonra bölüm 7.4'de geliştirilen DLLME yöntemi ile % geri kazanımlar hesaplandı. Analitler için en yüksek % geri kazanım değerleri MeOH ile yapılan ekstraksiyondan elde edildi. Bir saat çalkama sonunda elde edilen ekstraksiyonun % geri kazanım değerleri kloropirifos-metil, fention, penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil için sırasıyla 84,7; 88,8; 88,2; 87,0 ve 74,4'dür. Yüzde bağıl standart sapma ise % 2,2-6,3 aralığında değişmektedir (Tablo 7.16).

Ekstraksiyon süresi etkisi, 0,5-2,5 saat aralığında incelendi. En yüksek geri kazanımlar 2 saat çalkalama süresinde elde edildi. Bunlardan kloropirifos-metil (% 92,0), penkonazol (95,6) ve triadimenol (93,7) pestisitlerinde kantitatif sonuçlar elde edildi (Tablo 7.18). Yüzde bağıl standart sapma değerleri sırasıyla % 8,4, 1,7 ve 2,9'dur. Fention ve mayklobutanil için geri kazanımlar sırasıyla % 86,0 ve 79,3'tür. 2,5 saatlik çalkalama süresinde penkonazol ve triadimenol pestisileri hariç diğerlerinin geri kazanımlarında % 5 civarında düşüş oldu. Bu nedenle çalkalama süresi 2 saat olarak belirlendi.

Ekstraksiyon çözücüsü ve süresi belirlendikten sonra çalkalayıcı devri optimize edildi. Bunun için 500, 700 ve 900 rpm'de denemeler yapıldı. En yüksek geri kazanma değerlerine 900 rpm'de ulaşıldığı için çalkalama devri 900 rpm olarak seçildi. Elde edilen yüzde geri kazanım değerleri % 79,3-92,0 yüzde bağıl standart sapma değerleri 1,7-8,4 aralığındadır (Tablo 7.19).

Yapılan çalışmalar sonunda çalkalamalı ekstraksiyon yöntemi için en uygun şartlar; ekstraksiyon çözücüsü MeOH, ekstraksiyon süresi 2 saat ve çalkalam devri 900 rpm olarak belirlendi.

Yöntemin analitik değerlendirmesinde zenginleştirme faktörleri deneysel ve teorik olarak hesaplandı. Deneysel zenginleştirme faktörü iç standart kullanılarak % 95,6-103,3 aralığında bulunurken iç standart kullanmadan % 77,5-114,8 aralığında çıktı (Tablo 7.21). Teorik zenginleştirme faktörü analitler 5 mL'den 50 µL'ye alındığı için 100'dür. Gözlenebilme sınırı kloropirifos-metil, fention, penkonazol, triadimenol ve mayklobutanil için sırasıyla 0,26; 0,32; 0,25; 0,16 ve 1,14 µg kg<sup>-1</sup>'dir.

Yukarıda optimizasyonu yapılan çalkalamalı ekstraksiyon yöntemi pilot bölgemizden toplanan bağ topraklarının analizlerinde uygulandı. Pilot bölge olarak seçmiş olduğumuz bağların birincisinden 5 ayrı bölge ve farklı 3 derinlikten örnekleme yaparken, ikinci alanımızdan 3 ayrı bölge ve 3 derinlikten örnekleme yapılmıştır. Örnekleme her bir noktada her iki alan için 0, 10 ve 20 cm derinliklerden alındı. Pilot bölgedeki örnekleme ilaçlama öncesi (2 Mayıs 2009) ve sonrası (25 Mayıs 2009 ve 3 Eylül 2009) tarihlerinde yapıldı. Elde edilen analiz sonuçları Tablo 7.22-7.27'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde genel olarak derinlikle pestisit derişiminin azaldığı görülmüştür. Ayrıca alanlara ait her bir noktaya ait örneklerin sonuçlarının bazılarında farklılıklar olduğu bulundu. Bunun nedeninin

ilaçlama esnasında alanların homojen olarak ilaçlanmadığından kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Bağlarda ilaçlama direk üzüm salkımları, yaprak ve gövdelerine doğru yapılır. Bundan dolayı toprak yüzeyinde sadece o bölgelerden taşınan pestisit kalıntıları bir birikmeye neden olabilir. Bu da her zaman homojen olamaz. Elde edilen sonuçlar varyans analizi (ANOVA) ve Duncan testi kullanılarak yorumlandı.

İstatistiki testlerde örnekleme alanları ile bölge, zaman ve derinlik ilişkileri tartışıldı. Tüm verilerin istatistiği MINITAB 15 ve SAS istatistik paket programlar kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen ANOVA sonuçlarından penkonazol pestisiti için alan\*bölge, mayklobutanil içinde alan\*derinlik ikili etkileşiminin önemli olmadığı ( $p>0,05$ ) görüldü. Diğer değişkenlerin ikili, üçlü ve dörtlü etkileşimlerinin önemli olduğu ( $p<0,05$ ) belirlendi.

## KAYNAKLAR

- Acero, L. J., Benitez, J. F., Real, J. F., and Gonzales, M.,** 2007: Chlorination of organophosphorus pesticides in natural waters, *Journal of Hazardous Materials*, **153 (1-2)**, 320-328.
- Andreu, V., and Picó, Y.** 2004: Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods, *Trends in Analytical Chemistry*, **23**, 10–11.
- Anonim,** 2001: Kimya Sanayii (Tarım İlaçları), Özel İhtisas Komisyonu Raporu, *DPT*, Ankara.
- Anonim,** 2005a: Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Maksimum Bitki Koruma Ürünleri Kalıntı Limitleri Tebliği. Ocak 2005 (Tebliğ No:2004/42), Resmi Gazete 11, Sayı:25697.
- Anonim,** 2008:<http://www.zmo.org.tr/>Erişim tarihi: 05.01.2011. Tarım İlaçları (Pestisit)' nın Kalıntıları ve Çevreye Olan Etkileri.
- Aramendía, M. A., Borau, V., Lafont, F., Marinas, A., Marinas, J. M., Moreno, J. M., and Urbano, F. J.,** 2007: Determination of herbicide residues in olive oil by gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Food Chemistry*, **105**, 855-861.
- Bagheri, H., Ayazi, Z., and Babanezhad, E.,** 2010: A sol-gel-based amino functionalized fiber for immersed solid-phase microextraction of organophosphorus pesticides from environmental samples, *Microchemical Journal*, **94**, 1-6.
- Baranowska I, Barchańska H., and Pacak, A.,** 2006: Procedures of trophic chain samples preparation for determination of triazines by HPLC and metals by ICP-AES methods, *Environmental Pollution*, **143**, 206-211.
- Barchańska, H., and Baranowska, I.,** 2009: Procedures for analysis of atrazine and simazine in environmental matrices, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **200**, 53-84.
- Baytak, S., and Türker, R. A.,** 2006: Determination of lead and nickel in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry after column solid-phase extraction on Amborsorb-572 with EDTA, *Journal of Hazardous Materials*, **129 (1-3)**, 130-136.
- Beltran, J., Lopez, J. F., Cepria, O., and Hernandez, F.,** 1998: Solid-phase microextraction for quantitative analysis of organophosphorus pesticides in environmental water samples, *Journal of Chromatography A*, **880(1-2)**, 257-263.
- Berijani, S., Assadi, Y., Anbia, M., Hosseini, M. M-R., and Aghae, E.,** 2006: Dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection very simple, rapid and

sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water, *Journal of Chromatography A*, **1123**, 1–9.

- Bermúdez-Couso, A., Arias-Estévez, M., Nóvoa-Muñoz, C. J., López-Periago, E., Soto-González, B., and Simal-Gándara, J.,** 2007: Seasonal distributions of fungicides in soils and sediments of a small river basin partially devoted to vineyards, *Water Research*, **41**, 4515-4525.
- Bouaid, A., Ramos, L., Gonzalez, M. J., Fernández, P., and Cámara, C.,** 2001: Solid-phase microextraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in soil samples by gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, **939**, 13–21.
- Boucharat, C., Desauziers, V., and Le Cloirec, P.,** 1998: Experimental design for the study of two derivatization procedures for simultaneous GC analysis of acidic herbicides and water chlorination by-products, *Talanta*, **47**, 311–323.
- Braithwaite, A., and Smith, J.F.,** 1999: Chromatographic methods, Fifth edition, *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, Netherland.
- Brereton, G. R.,** 2006: Chemometrics, Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant, *John Willey & Sons. Inc.*, Chichester, England.
- Calhelha, C. R., Andrade, V. J., Ferreira, C. I., and Estevinho, M. L.,** 2006: Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process, *Food Microbiology*, **23**, 393-398.
- Camel, V.,** 2003: Solid phase extraction of trace elements, *Spectrochimica Acta Part B*, **58**, 1177–1233.
- Caro, E., Marcé, M. R., Borrull, F., Cormack, G. A. P., and Sherrington, C. D.,** 2006: Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of compounds from environmental and biological samples, *Trends in Analytical Chemistry*, **25 (2)**, 143-154.
- Chaabane, H., Vulliet, E., Joux, F., Lantoine, F., Conan, P., Cooper, J., and Coste, C.,** 2007: Photodegradation of sulcotrione in various aquatic environments and toxicity of its photoproducts for some marine micro-organisms, *Water Research*. **41**, 1781-1789.
- Chen, J., and Pawliszyn, B. J.,** 1995: Solid Phase Microextraction Coupled to High Performance Liquid Chromatography, *Analytical Chemistry*, **67**, 2530-2533.
- Chen, J., Duan, C., and Guan, Y.,** 2010: Sorptive extraction techniques in sample preparation for organophosphorus pesticides in complex matrices, *Journal of Chromatography B*, **878**, 1216–1225.
- Christian, D. G.,** 1994: Analytical Chemistry, Fifth Edition, *John Willey & Sons. Inc.*, , USA.
- Cortés-Aguado, S., Sánchez-Morito, N., Arrebola, F. J., and Frenich, G. A.,** 2008: Fast screening of pesticide residues in fruit juice by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry, *Food Chemistry*, **107**, 1314-1325.

- Čuš, F., Česnik, B. H., Bolta, V. Š., and Gregorčič, A.,** 2010: Pesticide residues in grapes and during vinification process, *Food Control*, **21**, 1512–1518.
- Çiftçi, H.,** 2007: Çeşitli Biyolojik ve Çevre Örneklerindeki Kobalt, Bakır, Nikel ve Demir gibi Eser Elementlerin Yüksek performanslı Sıvı Kromatografisi ile Tayini, *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Elazığ.
- Dagnac, T., Bristeau, S., Jeannot, R., Mouvet, C., and Baran, N.,** 2005: Determination of chloroacetanilides, triazines and phenylureas and some of their metabolites in soils by pressurized liquid extraction, GC-MS/MS, LC-MS and LC-MS/MS, *Journal of Chromatography A*, **1067**, 225-233.
- Delen, N., Durmusoglu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A.,** 2005: Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalması Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. Ankara, 3-7 Ocak.
- Dong, C., Zeng, Z., and Yang, M.,** 2005: Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS-SPME using polymethylphenylvinylsiloxane-coated fiber by GC-ECD, *Water Research*, **39**, 4204–4210.
- Durmuşoğlu, E., Tiryaki, O. ve Canhilal, R.,** 2005: Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Dayanıklılık Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. Ankara, 3-7 Ocak, 629-648.
- Đurović, R., Gajić-Umiljendić, J., and Đorđević, T.** 2009: Effects of Organic Matter and Clay Content in Soil on Pesticide Adsorption Processes, *Pestic. Phytomed.*, **24**, 51-57.
- Economou, A., Botitsi, H., Antoniou, S., and Tsipi, D.,** 2009: Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1216**, 5856-5867.
- Elçi, L., Soylak, M., Uzun, A., Büyükpatır, E., and Doğan, M.,** 2000: Determination of trace impurities in some nickel compounds by flame atomic absorption spectrometry after solid phase extraction using Amberlite XAD-16 resin, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **368 (4)**, 358-361.
- Elçi, L.,** 2005: Kimyada İstatistiksel Yöntemler Ders Notları, Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kınıklı, Denizli.
- Elçi, L., Arslan, Z., and Tyson, J. F.,** 2000: Flow injection solid phase extraction with Chromosorb 102: determination of lead in soil and waters by flame atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, **55**, 1109-1116.
- Erdik, E.,** 2005: Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, *Gazi Kitabevi*, Ankara, 531.



- Felix J, Doohan J D, and Bruins D.**, 2007: Differential vegetable crop responses to mesotrione soil residues a year after application, *Crop Protection*, **26**, 1395-1403.
- Freitas, L. G., Götz, C. W., Ruff, M., Singer, H. P., and Müller, S. R.**, 2004: Quantification of the new triketone herbicides, sulcotrione and mesotrione, and other important herbicides and metabolites, at the ng/L level in surface waters using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1028**, 277-286.
- Frenich, G., A., Vidal, M., L., J., Lopez, L., T., Aguado, C., S., and Salvador, M., I.**, 2004: Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1048**, 199-206.
- Fu, L., Liu, X., Hu, J., Zhao, X., Wang, H., and Wang, X.**, 2009: Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of triazophos and carbaryl pesticides in water and fruit juice samples, *Analytica Chimica Acta*, **632**, 289-295.
- Fu, L., Liu, X., Hu, J., Zhao, X., Wang, H., Huang, C., and Wang, X.**, 2009: Determination of two pesticides in soils by dispersive liquid-liquid microextraction combined with LC-fluorescence detection, *Chromatographia*, **70**, 1697-1701.
- Gabaldón, J. A., Maquieira, A., and Puchades, R.**, 2010: Rapid method for on-site determination of atrazine residues in water samples. Assay optimisation, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **82 (3)**, 133-144.
- Garcinunõa, R. M., Fernandez-Hernandob, P., and Camara, C.**, 2003: Evaluation of pesticide uptake by Lupinus seeds, *Water Research*, **37**, 3481-3489.
- Gilbert-López, B., García-Reyes, F. J., Fernández-Alba, R. A., and Molina-Díaz, A.**, 2010: Evaluation of two sample treatment methodologies for large-scale pesticide residue analysis in olive oil by fast liquid chromatography-electrospray mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1217**, 3736-3747.
- Haginaka, J.**, 2005: Selectivity of affinity media in solid-phase extraction of analytes, *Trends in Analytical Chemistry*, **24 (5)**, 407-415.
- Haib, J., Hofer, I., and Renaud, M. J.**, 2003: Analysis of multiple pesticide residues in tobacco using pressurized liquid extraction, automated solid-phase extraction clean-up and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1020**, 173-187.
- Haib, J., Hofer, I., and Renaud, M. J.**, 2003: Analysis of multiple pesticide residues in tobacco using pressurized liquid extraction, automated solid-phase extraction clean-up and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1020**, 173-187.
- Harvey, D.**, 2000: Modern Analytical Chemistry, *McGraw-Hill Companies*, USA.
- Hassan, J., Farahani, A., Shamsipur, M., and Damerchili, F.**, 2010: Rapid and simple low density miniaturized homogeneous liquid-liquid

- extraction and gas chromatography/mass spectrometric determination of pesticide residues in sediment, *Journal of Hazardous Materials*, **184**, 869–871.
- Hayes, T. B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. A., and Vonk, A.**, 2002: Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99**, 5476-5480.
- He, L., Wang, C., Sun, Y., Luo, X., Zhang, J., and Lu, K.**, 2009: Dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography for the determination of three carbamate pesticides in water samples, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **89-6**, 439-448.
- Hennion, M-C.**, 2000: Graphitized carbons for solid-phase extraction, *Journal of Chromatography A*, **885**, 73–95.
- Hernández-Borges, J., Cabrera, C. J., Rodríguez-Delgado, Á. M., Hernández-Suárez, M. E., and Víctor Galán Saúco, G. V.**, 2009: Analysis of pesticide residues in bananas harvested in the Canary Islands (Spain), *Food Chemistry*, **113**, 313–319.
- Hetherington, L.C., Sykes, D., M., Fussell, J., R., and Goodall, M., D.**, 2004: A multi-residue screening method for the determination of 73 pesticides and metabolites in fruit and vegetables using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **18**, 2443-2450.
- Huck, W., C. and Bonn, K.G.**, 2000: Recent developments in polymer-based sorbents for solid-phase extraction, *Journal of Chromatography A*, **885**, 51–72.
- Huertas-Pérez, F. J., García-Campaña, M. A., Gámiz-Gracia, L., González-Casado, A., and del Olmo Iruela, M.**, 2004: Sensitive determination of carbaryl in vegetal food and natural waters by flow-injection analysis based on the luminol chemiluminescence reaction, *Analytica Chimica Acta*, **524**, 161–166.
- Hyötyläinen, T., and Riekkola, M-L.**, 2008: Sorbent-and liquid-phase microextraction techniques and membrane-assisted extraction in combination with gas chromatographic analysis, *Analytica Chimica Acta*, **614**, 27-37.
- Ingelse, A., B., van Dam, J., C., R., Vreeken, J., R., Mol, J., G., H., and Steijger, M., O.**, 2001: Determination of polar organophosphorus pesticides in aqueous samples by direct injection using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **918**, 67-78.
- ISO/IEC Guide 99:2007**, International Vocabulary of Metrology - Basic and general concepts and associated terms (VIM).
- Jaipieam, S., Visuthismajarn, P., Sutheravut, P., Siriwong, W., Thoumsang, S., Borjan, M., and Robson, M.**, 2009: Organophosphate pesticide residues in drinking water from artesian wells and health risk

assessment of agricultural communities, Thailand, *Human and Ecological Risk Assessment*, **15**, 1304–1316.

- Jennigs, W., Mittlefehldt, E., and Stremple, P.**, 1997: Analytical Gas Chromatography, *Second Edition*, Academic Press, San Diego, California, USA.
- Jiang, H., Craig D. Adams, C. D., and Koffskey, W.**, 2005: Determination of chloro-*s*-triazines including didealkyltriazine using solid-phase extraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1064**, 219-226.
- Jiménez, J.J., Bernal, J.L., del Nozal, M.J., Toribio, L., and Arias, E.**, 2001: Analysis of pesticide residues in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with electron capture and nitrogen–phosphorus detection, *Journal of Chromatography A*, **919**, 147-156.
- Kasiotis, M. K., Souki, H., Tsakirakis, N. A., Carageorgiou, H., Theotokatos, A. S., Haroutounian, A. S., and Machera, K.**, 2008: Headspace solid phase micro extraction gas chromatographic determination of fenthion in human serum, *International Journal of Molecular Sciences*, **9**, 906-913.
- Kataoka H, Lord HL, and Pawliszyn J.**, 2000 Applications of solid-phase microextraction in food analysis, *Journal of Chromatography A*, **880** (1-2), 35-62.
- Kellner, R., Mermet, J-M., Otto, M., and Widmer, M. H.**, 1998: Analytical Chemistry, *WILEY-VCH Verlag GmbH*, Weinheim, Germany.
- Kellner, R., Mermet, J-M., Otto, M., Valcárcel, M., and Widmer, M. H.**, 2004: Analytical Chemistry, *Second Edition*, *WILEY-VCH Verlag GmbH*, Weinheim, Germany.
- Kennedy, R., E., Abell, T., M., Reynolds, J., and Wickman, D.**, 1994: A sampling and analytical method for the simultaneous determination of multiple organophosphorus pesticides in air, *American Industrial Hygiene Association Journal*, **55(12)**, 1172-1177.
- Khalili-Zanjani, R.M., Yamini, Y., Yazdanfar, N., and Shariati, S.**, 2008: Extraction and determination of organophosphorus pesticides in water samples by a new liquid phase microextraction–gas chromatography–flame photometric detection, *Analytical Chimica Acta*, **606**, 202-208.
- Khan, T. A. I., Riazuddin., Parveen, Z., and Ahmed, M.**, (2007) Multi-residue Determination of synthetic pyrethroids and organophosphorus pesticides in whole wheat flour using gas chromatography, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **79(4)**, 454-458.
- Kiziewicz, B., and Czczuga, B.**, 2002: Bioaccumulation of organochlorine pesticides in the trophic chain alga-freshwater fish, *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. **32(1)**, 41-51.
- Kitamura, S., Kadota, T., Yoshida, M., Jinno, N., ve Ohta, S.**, 2000: Whole-body metabolism of the organophosphorus pesticide, fenthion, in goldfish, *Carassiu auratus*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **126**, 259-266.

- Kitson, G. F., Larsen, S. B., and McEwen, N. C.,** 1996: Gas Chromatography and Mass Spectrometry, *Academic Press*, San Diego, California, USA.
- Komárek, M., Čadková, E., Chrástný, V., Bordas, F., and Bollinger, J.,** 2010: Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects, *Environment International*, **36**,138–151.
- Lambropoulou, A. D., and Albanis, A. T.,** 2007: Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **70**, 195–228.
- Lambropoulou, A.D., Psillakis, E., Albanis, A.T., and Kalogerakis, N.,** 2004: Single-drop microextraction for the analysis of organophosphorous insecticides in water, *Analytical Chimica Acta*, **516**, 205-211.
- Lee, K. E., Blazer, V. S., Denslow, N. D., Goldstein, R. M., and Tallmadge, P. J.,** 1999: Use of biological characteristic of common carp (*Cyprinus carpio*) to indicate exposure to hormonally active agents in selected Minnesota streams. 21999 *Water Resources Investigation Report* 00-4202.
- Lijun, H., Xianli, L., Hongxue, X., Chunjian, W., Xiuming, J., and Kui, L.,** 2009: Ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction followed high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water sample, *Analytica Chimica Acta*, **655**, 52-59.
- Liu, Y., Xu, Z., Wu, X., Gui, W., and Zhu, G.** 2010: Adsorption and desorption behavior of herbicide diuron on various Chinese cultivated soils, *Journal of Hazardous Materials*, **178**, 462-468.
- Lopez-Blanco, C. M., Blanco-Cid, S., Cancho-Grande, B., and Simal-Gandara, J.,** 2003: A pplication of single-drop microextraction and comparison with solid-phase microextraction and solid-phase extraction for the determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -endosulfan in water samples by gas chromatography–electron-capture detection, *Journal of Chromatography A*, **984**, 245-252.
- Luque de Castro, D. M., and Priego-Capote, F.,** 2010: Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography A*, **1217**, 2383–2389.
- Macherey-Nagel,** 2004: Sample Preparation, Solid Phase Extraction. In: *Macherey-Nagel Catalogue*, 184-241.
- Majors, E. R.,** 2002: Trends in Sample Preparation *LCGC North America*, **20 (12)**, 1098-1113.
- Mathialagan, T., and Viraraghavan, T.,** 2005: Biosorption of pentachlorophenol by fungal biomass from aqueous solutions: a factorial design analysis, *Environmental Technology*, **26 (5)**, 571-580.
- McCauley, A., Jones, C., and Jacobsen, J.** 2009: Soil pH and Organic Matter, *Nutrient Management Module*, 4449-8, 1-11.
- McMaster, C. M.,** 2005: LC/MS A Practical User’s Guide, Second Edition, *John Willey & Sons. Inc.*, Hoboken, New Jersey, USA.

- McMaster, C. M.**, 2007: GC/MS A Practical User's Guide, Second Edition, *John Willey & Sons. Inc.*, Hoboken, New Jersey, USA.
- Mendaš, G., Tkalčević, B., and Drevenkar, V.**, 2000: Determination of chloro- and methylthiotriazine compounds in human urine: extraction with diethyl ether and C18 solid-phase extraction for gas chromatographic analysis with nitrogen-selective and electron capture detection, *Analytica Chimica Acta*, **424**, 7-18.
- Meyer, R. V.**, 2000: Practical High-Performance Liquid Chromatography, Third Edition, *John Willey & Sons. Inc.*, Chichester, England.
- Miller, N. J., and Miller, C. J.**, 2005: Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Fifth Edition, *Pearson Education Limited*, Harlow, England.
- Mizuike, A.**, 1986: Preconcentration techniques for inorganic trace analysis, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **324 (7)**, 672-677.
- Moinfar, S., and Hosseini, M. M-R.**, 2009: Development of dispersive liquid-liquid microextraction method for the analysis of organophosphorus pesticides in tea, *Journal of Hazardous Materials*, **169**, 907-911.
- Nagaraju, D., and Huang, S-D.**, 2007: Determination of triazine herbicides in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction with gas chromatography-ion trap mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1161**, 89-97.
- Nguyen, D. T., Lee, H. M., and Lee, H. G.**, 2010: Rapid determination of 95 pesticides in soybean oil using liquid-liquid extraction followed by centrifugation, freezing and dispersive solid phase extraction as cleanup steps and gas chromatography with mass spectrometric detection, *Microchemical Journal*, **95**, 113-119.
- Nozal, J. M., Bernal, L. J., Jiménez, J. J., Martín, T. M., and Bernal, J.**, 2005: Determination of azolic fungicides in wine by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1076**, 90-96.
- Ojeda, B. C., and Rojas, S. F.**, 2009: Separation and Preconcentration by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Procedure, *Chromatographia*, **69(11-12)**, 1149-1159.
- Otto, M.**, 1999: Chemometrics, Statistic and Computer Application in Analytical Chemistry, *WILEY-VCH Verlag GmbH*, Weinheim, Germany.
- Öcimder, M., and Demirci, A.**, 2004: Gaz ve sıvı kromatografileri, *Bilim yayıncılık*, Kızılay-Ankara.
- Özdamar, K.**, 2004: Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizi, *Kaan Kitabevi*, Eskişehir.
- Pacáková, V., Štulík, K., and Jiskra, J.**, 1996: High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues, *Journal of Chromatography A*, **754**, 13-17.

- Padrón-Sanz, C., Halko, R., Sosa-Ferrera, Z., and Santana-Rodríguez, J. J.,** 2005: Combination of microwave assisted micellar extraction and liquid chromatography for the determination of organophosphorous pesticides in soil samples, *Journal of Chromatography A*, **1078**, 13–21.
- Pan, H., and Ho, W.,** 2004: Determination of fungicides in water using liquid phase microextraction and gas chromatography with electron capture detection, *Analytica Chimica Acta*, **527**, 61–67.
- Panagiotou, N. A., Sakkas, A. V., and Albanis, A. T.,** 2009: Application of chemometric assisted despersive liquid-liquid microextraction to the determination of personal care products in natural waters, *Analytica Chimica Acta*, **649**, 135-140.
- Pena-Pereira, F., Lavilla, I., and Bendicho, C.,** 2010: Liquid-phase microextraction approaches combined with atomic detection: A critical review, *Analytica Chimica Acta*, **669**, 1–16.
- Pichon, V.,** 2000: Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water, *Journal of Chromatography A*, **885**, 195–215.
- Pinto, I. M., Sontag, G., Bernardino, J. R., and Noronha, P. J.,** 2010: Pesticides in water and the performance of the liquid-phase microextraction based techniques, *Microchemical Journal*, **96**, 225–237.
- Poole C.F. , Gunatilleka A.D. , and Sethuraman R.,** 2000: Contributions of theory to method development in solid-phase extraction, *Journal of Chromatography A*, **885**, 17–39.
- Poole, F. C.,** 2003: New trends in solid-phase extraction, *Trends in Analytical Chemistry*, **22 (6)**, 362-373.
- Psillakis,E., and Kalogerakis, N.,** 2001: Solid-phase microextraction versus single-drop microextraction for the analysis of nitroaromatic explosives in water samples, *Journal of Chromatography A*, **938**, 113-120.
- Psillakis,E., and Kalogerakis, N.,** 2002: Developments in single-drop microextraction, *Trends in Analytical Chemistry*, **21(1)**, 53-63.
- Psillakis,E., and Kalogerakis, N.,** 2002: Developments in single-drop microextraction, *Trends in Analytical Chemistry*, **21(1)**, 53-63.
- Rashid, A., Nawaz, S., Barker, H., Ahmad, I., and Ashraf, M.,** 2010: Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1217**, 2933–2939.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M, M., Aghaee, E., Ahmadi, F., and Berijani, S.,** 2006: Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction, *Journal of Chromatography A*, **1116**, 1-9.
- Rezaee, M., Yamini, Y. And Faraji, M.,** 2010: Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method, *Journal of Chromatography A*, **1217**, 2342-2357.

- Rezaei, F., Bidari, A., Birjandi, P. A., Hosseini, M. M-R., and Assadi, Y.,** 2008: Development of a dispersive liquid–liquid microextraction method for the determination of polychlorinated biphenyls in water, *Journal of Hazardous Materials*, **158**, 621–627.
- Richard, C., Halle, A., Brahmia, O., Malouki, M., and Halladja, S.,** 2007: Auto-remediation of surface waters by solar-light: Photolysis of 1-naphthol, and two herbicides in pure and synthetic waters. *Catalysis Today*. **124**, 82-87.
- Richard, C., Halle, A., Brahmia, O., Malouki, M., and Halladja, S.,** 2007: Auto-remediation of surface waters by solar-light: Photolysis of 1-naphthol, and two herbicides in pure and synthetic waters, *Catalysis Today*, **124**, 82-87.
- Richter, P., Sepúlveda, B., Oliva, R., Calderón, K., and Seguel, R.,** Screening and determination of pesticides in soil using continuous subcritical water extraction and gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **994**, 169–177.
- Ridgway, K., Lalljie, D. P. S., and Smith, M. R.,** 2007: Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods, *Journal of Chromatography A*, **1153**, 36–53.
- Rodil, R., and Popp, P.,** 2006: Development of pressurized subcritical water extraction combined with stir bar sorptive extraction for the analysis of organochlorine pesticides and chlorobenzenes in soils, *Journal of Chromatography A*, **1124**, 82–90.
- Ross, M. K., and Filipov, N. M.,** 2006: Determination of atrazine and its metabolites in mouse urine and plasma by LC-MS analysis, *Analytical Biochemistry*, **351**, 161-173.
- Salleh, H., S., Saito, Y., Kiso, Y., and Jinno, K.,** 2001: Solventless sample preparation procedure for organophosphorus pesticides analysis using solid phase microextraction and on-line supercritical fluid extraction/high performance liquid chromatography technique, *Analytica Chimica Acta*, **433**, 207-215.
- Salleh, H., S., Saito, Y., Kiso, Y., and Jinno, K.,** 2001: Solventless sample preparation procedure for organophosphorus pesticides analysis using solid phase microextraction and on-line supercritical fluid extraction/high performance liquid chromatography technique, *Analytica Chimica Acta*, **433**, 207-215.
- Sanagiab, M. M., Ghani, N. F. Y. A., Miskam, M., Ibrahim, W. A. W., and Aboul-Enein, H. Y.,** 2010: Analysis of organophosphorus pesticides in vegetable samples by hollow fiber liquid phase microextraction coupled with gas chromatography-electron capture detection, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **33**, 693–703.
- Sanz, P. C., Halko, R., Ferrera, S. Z., and Santana-Rodrigues, J. J.,** 2005: Combination of microwave assisted micellar extraction and liquid chromatography for the determination of organophosphorous pesticides in soil samples, *Journal of Chromatography A*, **1078**, 13-21.

- Sarafraz-Yazdi, A., and Amiri, A.**, 2010: Liquid-phase microextraction, *Trends in Analytica Chemistry*, **29(1)**, 1-14.
- Sawaya, N., W., Al-Awadhi, A., F., Saeed, T., Al-Omair, A., Husain, A., Ahmad, N., Al-Omirah, H., Al-Zenki, S., Khalafawi, S., Al-Otaibi, J., and Al-Amiri, H.**, 2000: Dietary intake of organophosphate pesticides in Kuwait, *Food Chemistry*, **69**, 331-338.
- Shaw, I., and Chadwick, J.**, 2002: Principles of Environmental Toxicology, *Taylor & Francis Ltd.*, London, UK.
- Sinha, N. S., Bhatnagar, K. V., Doctor, P., Toteja, S. G., Agnihotri, P. N., and R.L. Kalra, L. R.**, 2011: A novel method for pesticide analysis in refined sugar samples using a gas chromatography–mass spectrometer (GC–MS/MS) and simple solvent extraction method, *Food Chemistry*, **126**, 379–386.
- Skoog, A. D., Holler, J. F., and Nieman, A. T.**, 1998: Principles of Instrumental Analysis, 1. Baskıdan Çeviri, Editörler; Kılıç, E., Köseoğlu, F. ve Yılmaz, E., *Harcourt Brace & Company*, USA.
- Skoog, A. D., West, M. D., Holler, J. F., and Crouch, R. S.**, 1999: Fundamentals of Analytical Chemistry II, 7. Baskıdan Çeviri, Editörler; Kılıç, E. ve Yılmaz, E., *Thomson Brooks Cole*, USA.
- Smith, M. R.**, 2004: Understanding Mass Spectra: A Basic Approach, *Second Edition*, *John Wiley & Sons Inc.*, Hoboken, New Jersey, USA.
- Ssebugere, P., Wasswa, J., Mbabazi, J., Nyanzi, S. V., Kiremire, B. T., and Marco, J. A. M.**, 2010: Organochlorine pesticides in soils from south-western Uganda, *Chemosphere*, **78**, 1250–1255.
- Stalikas, C., Fiamegos, Y., Sakkas, V., and Albanis, A.**, 2009: Developments on chemometric approaches to optimize and evaluate microextraction, *Journal of Chromatography A*, **1216**, 175-189.
- Stevenson, D.**, 2000: Immuno-affinity solid-phase extraction, *Journal of Chromatography B*, **745**, 39–48.
- Tankiewicz, M., Fenik, J., and Biziuk, M.**, 2010: Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples, *Trends in Analytical Chemistry*, **29**, 1050-1063.
- Training in Metrology in Chemistry**, 2010: Principles and Applications of Metrology in Chemistry, Eğitim Notları, Tübitak MAM, Gebze, Kocaeli.
- Tran, A. T. K., Hyne, R. V., and Doble, P.**, 2007: Determination of commonly used polar herbicides in agricultural drainage waters in Australia by HPLC, *Chemosphere*, **67**, 944–953.
- Trösken, R.E., Bittner, N., and Völkel, W.**, 2005: Quantitation of 13 azole fungicides in wine samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1083**, 113-119.
- Tsiropoulos, G. N., Bakeas, B. E., Raptis, V., and Batistatou, S. S.**, 2006: Evaluation of solid sorbents for the determination of fenhexamid, metalaxyl-M, pyrimethanil, malathion and myclobutanil residues in



air samples Application to monitoring malathion and fenhexamid dissipation in greenhouse air using C-18 or Supelpak-2 for sampling, *Analytica Chimica Acta*, **573-574**, 209-215.

**United States Environmental Protection Agency**, 2001: Prevention, Pesticides and Toxic substances (7501C). June 4.

**Url-1** <<http://www.uzumsen.org>>, alındığı tarih 26.01.2009.

**Url-2** <<http://www.epa.gov>>, alındığı tarih 03.02.2009.

**Url-3**<<http://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>>,alındığı tarih 16.07.2007.

**Url-4** <<http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>>, alındığı tarih 29.02.2009.

**Url-5** <<http://npic.orst.edu/ppdmove.htm> >, alındığı tarih 17.01.2011.

**Url-6** <<http://extoxnet.orst.edu/pips> >, alındığı tarih 17.01.2011.

**Url-7** <<http://www.hdcchem.com/Penconazole.html> >, alındığı tarih 17.01.2011.

**Url-8**<<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/fung-nemat/tcmtbziram/triadimenol/fung-prof-triadimenol.html> >, alındığı tarih 17.01.2011.

**Url-9**<<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/478.htm>>,alındığı tarih 17.01.2011.

**Url-10** <<http://tr.wikipedia.org/wiki/Pestisit> >, alındığı tarih 27.01.2011.

**Url-11** <<http://www.tema.org.tr/CevreKutuphanesi/Tarim/Tarim.html>>, alındığı tarih 18.11.2010.

**Url-12** <[http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/index.cfm](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm) >, 2008.

**Vaccaro, S., Sobiecka, E., Contini, S., Locoro, G., Free, G., and Gawlik, M. B.**, 2007: The application of positive matrix factorization in the analysis, characterisation and detection of contaminated soils, *Chemosphere*, **69**, 1055–1063.

**Vega, A. B., Frenich, A. G., and Vidal, J. L. M.**, 2005: Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **538**, 117–127.

**Venkateswarlu, P., Mohan, R., K., Kumar, R. C., and Seshaiyah, K.**, 2007: Monitoring of multi-class pesticide residues in fresh grape samples using liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry, *Food Chemistry*, **105**, 1760-1766.

**Wang, X., Zhao, X., Liu, X., Li, Y., Fu, L., Hu, J., and Huang, C.**, 2008: Homogeneous liquid–liquid extraction combined with gas chromatography–electron capture detector for the determination of three pesticide residues in soils, *Analytica Chimica Acta*, **620**, 162–169.

**Wardencki, W., Curyło, J. and Namieśnik, J.**, 2007: Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **70**, 275–288.

**Watson H. D.**, 2001: Food Chemical Safety, Volume 1: Contaminants, First Edition, *CRC Press LLC*, New York, NY, USA.

- Wauchope, D. R., Yeh, S., Linders, B. H. J. J., Kloskowski, R., Tanaka, K., Rubin, B., Katayama, A., Kördel, W., Gerstl, Z., Lane, M., and Unsworth, B. J.** 2002: Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability, *Pest Management Science*, **58**, 419-445.
- Weber, B. J., Warren, L. R., Swain, R. L., and Yelverton, H. F.** 2007: Physicochemical property effects of three herbicides and three soils on herbicide mobility in field lysimeters, *Crop Protection*, **26**, 299–311.
- Wong, W. J., Hennessy, K. M., Hayward, G. D., Krynitsky, J. A., Cassias, I., And Schenck, J. F.,** 2007: Analysis of organophosphorus pesticides in dried ground ginseng root by capillary gas chromatography-mass spectrometry and -flame photometric detection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 1117-1128.
- Xiao-Huan, Z., Qiu-Hua, W., Mei-Yue, Z., Guo-Hong, X., and Zhi, W.,** 2009: Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **37 (2)**, 161-168.
- Xiong, C., Ruan, J., Cai, Y., and Tang, Y.,** 2009: Extraction and determination of some psychotropic drugs in urine samples using dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **49**, 572–578.
- Xu, L., Basheer, C., and Lee, K. H.,** 2009: Chemical reactions in liquid-phase microextraction, *Journal of Chromatography A*, **1216**, 701–707.
- Yalvaç, M.,** 2005: Göksu Deltası Sucul Ekosisteminde Endosülfan Ve Methamidophos Pestisitlerinin Kalıntı Düzeylerinin Araştırılması, *Doktora Tezi*, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Yavuz, O. ve Aksoy, A.,** 2006: Örnek hazırlamada katı faz ekstraksiyonu metodu, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, **20 (3)**, 259-269.
- Yu, L. Y., Wu, M. X., Li, N. S., Fang, H., Zhan, Y. H., and Yu, Q. J.,** 2006: An exploration of the relationship between adsorption and bioavailability of pesticides in soil to earthworm, *Environmental Pollution*, **141**, 428-433.
- Yücel, Ü.,** 2006: Pestisitlerin insan ve Çevre Üzerine Etkileri. *Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi*, Nükleer Kimya Bölümü, Ankara.
- Zhao, E., Zhao, W., Han, L., Jiang, S., and Zhou, Z.,** 2007: Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in watermelon and cucumber, *Journal of Chromatography A*, **1175**, 137–140.
- Zhao, R-S., Yuan, J-P., Jiang, T., Shi, J-B., and Cheng, C-G.,** 2008: Application of bamboo charcoal as solid-phase extraction adsorbent for the determination of atrazine and simazine in environmental water samples by high-performance liquid chromatography-ultraviolet detector, *Talanta*, **76**, 956–959.

- Zhou, Q., Pang, L., Xie, G., Xiao, J., And Bai, H.,** 2009: Determination of atrazine and simazine in environmental water samples by dispersive liquid–liquid microextraction with high performance liquid chromatography, *Analytical Sciences*, **25**, 73-76.
- Zhoua, Q., Xiao, J., and Dinga, Y.,** 2007: Sensitive determination of fungicides and prometryn in environmental water samples using multiwalled carbon nanotubes solid-phase extraction cartridge, *Analytica Chimica Acta*, **602**, 223-228.
- Zhu, X., Yang, J., Su, Q., Cai, J., and Gao, Y.,** 2005: Selective solid-phase extraction using molecularly imprinted polymer for the analysis of polar organophosphorus pesticides in water and soil samples, *Journal of Chromatography A*, **1092**, 161-169.
- Zief, M.,** 2005: Solid Phase Extraction for Sample Preparation. Phillipsburg: *JT Baker*.

## ÖZGEÇMİŞ



**Ad soyad** : Abdullah AKDOĞAN  
**E-mail** : [agdogan@pau.edu.tr](mailto:agdogan@pau.edu.tr)  
**İş adresi** : Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi  
Kimya Bölümü, P.O. 286,  
20070 Denizli-TURKİYE  
**Ev adresi** : Bursa Caddesi Yunusemre Mahallesi  
Pınar Apt. No:87 20070 Kınıklı/Denizli/TURKEY  
**Doğum tarihi ve yeri**: 20.11.1976 /Trabzon-Çaykara  
**Medeni hali** : Evli  
**Dili** : İngilizce

### EĞİTİM / ÖĞRETİM

**Kimya Lisans (1993-1997)** : Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi  
Kimya Bölümü Manisa

**Kimya Yüksek Lisans (1997-2000)** : “Kaliks[n]arenlerin Alkali, Toprak Alkali  
Metaller ile Bazı Geçiş Metal Komplekslerinin Sentezi ve Özelliklerinin  
incelenmesi” Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli

**Kimya Doktora (2005-.....)** : “ Bazı Pestisitlerin Kromatografik ayrılmaları ve  
Tayinleri” Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli

### DENEYİMLER

1997-1999: Özel sektörde farklı tekstil firmalarında işletme mühendisi olarak çalıştı.

1999-.....: Analitik kimya anabilim dalında Uzman, Pamukkale Üniversitesi, Kimya  
Bölümü, Denizli

## PROJELER

Proje ismi	Destekleyen kurum
Bazı pestisitlerin kromatografik ayrılmaları ve tayinleri (Yardımcı Araştırmacı)	PAÜ-BAP 2008FBE013
Denizlide bulunan bazı endemik bitkilerin uçucu yağlarının süper ısıtılmış su ile ekstraksiyonları, antimikrobiale ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi ve GC-MS ile analizleri (Yardımcı Araştırmacı)	PAÜ-BAP 2006FEF020
Denizli İl Merkezindeki Bazı Akar Kaynak Sularının Kimyasal Analizi (Yardımcı Araştırmacı)	PAÜ-BAP 2006FEF014

## YAYINLAR

Akdogan, A., Divrikli, Ü., and Elçi L, “Determination of Some Organophosphorus and Azole Group Pesticides in Water Samples by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled with GC-MS ” The Journal of AOAC International in press, (2011).

Elci, L., Divrikli, U., Akdogan, A., Hol, A., Cetin, A., and Soylak, M., “Selective extraction of chromium(VI) using a leaching procedure with sodium carbonate from some plant leaves, soil and sediment samples” Journal of Hazardous Materials, 173, 778–782, (2010).

Divrikli, U., Akdogan, A., and Elci, L., “Factorial design for multivariate optimization of preconcentration system for spectrophotometric phosphorus determination” Talanta, 79, 1287–1291, (2009).

Divrikli, U., Akdogan, A., Soylak, M., and Elci, L., “Solid-phase extraction of Fe(III), Pb(II) and Cr(III) in environmental samples on amberlite XAD-7 and their determinations by flame atomic absorption spectrometry” Journal Of Hazardous Materials, 149, 331-337, (2007).

Donat, R., Akdogan, A., Erdem, E. and cetisli, H., “Thermodynamics of Pb<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> adsorption onto natural bentonite from aqueous solutions” Journal of Colloid and Interface Science , 286, 43-52, (2005).

Celik, A., Kartal, A, A., Akdogan, A., and Kaksa, Y., “Determining the heavy metal pollution in Denizli(Turkey) by using Robinio pseudo-acacia L.”Environment International, 31, 105-112, (2005).

Akdogan, A., Deniz, T., M., Cebecioglu, S., Şen, A., and Deligöz, H. “ Liquid-Liquid extraction of transition metal cations by nine new azo derivatives Calix[n]Arene” Separation Science and Technology., 37(4), 973-980, (2002).

## ULUSLARARASI BİLDİRİLER

Akdogan A., Divrikli U., and Elci L., “Determination of Some Pesticides in Soils by Shaking Extraction Combined with Gas Chromatography - Mass Spectrometry”, Spectroscopy - Detective in Science, 15 June - 17 June 2011, Rostock-Germany (poster).

Akdogan A., Divrikli U., and Elci L., “Determination of Pesticide Residues in Water Samples by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction With Chemometric Approach Coupled With GC-MS”, ISEAC 36- 36th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, 5-9 October 2010, Rome- Italy (Sözlü).

Divrikli, U., Akdogan, A., Hol, A., Soylak, M., and Elci, L. “Determination of Chromium (VI) in Enviromental Samples by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Leaching with Sodium Carbonate”, ISEAC 36- 36th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, 5-9 October 2010, Rome- Italy (Poster).

Akdogan A., Divrikli U., And Elci L. “Determination of Pesticide Residues in Aqueous Samples by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Coupled with GC-MS” 5th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry (23-26 September 2009) Fatsa-Ordu/Turkey (poster).

Akdogan A., Baranowska I., Barchańska H., Divrikli U., And Elci L., “Determination Of Mesotrione, Simazine And Atrazine By HPLC Method In Thermal And Vegetable Samples From Denizli-Turkey”, 6th Aegean Analytical Chemistry Days ( 9 – 12 October 2008 ) Denizli/Turkey (Sözlü).

Divrikli, U., Akdogan, A., Soylak, M., and Elci, L., “Factorial Design for Multivariate Optimization of Preconcentration System for Phosphorus Determination by UV-Visible Spectrophotometer” 6th Aegean Analytical Chemistry Days ( 9 – 12 October 2008 ) Denizli/Turkey (Poster).

Akdogan A., Divrikli U., Soylak M., and Elci L., “Solid phase extraction of Fe(III), Pb(II) and Cr(III) on amberlite XAD-7 prior to their Atomic Absorption Spectrometric Determinations. ” 4th Aegean Analytical Chemistry Days ( 29 Sep. – 3 Octo. 2004 )Kusadası-Aydın/Turkey (poster).

## ULUSAL BİLDİRİLER

Akdoğan A., Divrikli Ü., ve Elçi L., “Ege Bölgesindeki Bazı Termal Çamurların Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi” 5. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 21-25 Haziran 2010, Erzurum (Poster).

Akdoğan A., Divrikli Ü., Elçi L., Baranowska I., ve Barchańska H., “Atrazin, Simazin ve Mezotrin Kalıntılarının HPLC-DAD ile Tayini”, ESAN2010, 1.Eser Analiz Çalıştayı, 22-25 Nisan 2010, Denizli (Sözlü).

Akdoğan A., Divrikli Ü., ve Elçi L., “ Bitki ve Toprak Örneklerinde Krom Türlemesi ve AAS ile Tayinleri” 21. Ulusal Kimya Kongresi, 23-27 Ağustos 2007, Malatya (Poster).

Arslan Kartal, A., Akdoğan, A., Höl, A., Divrikli, Ü., Elçi, L., “Denizli Şehiriçi Akarlarından Alınan Su Örneklerinin Kimyasal ve Fiziksel Özelliklerinin Yıllık ve

Mevsimsel Değişimi”, XX. Ulusal Kimya Kongresi, 4-8 Eylül 2006, Kayseri (Poster).

Divrikli, Ü., Akdoğan, A., Höl, A., Arslan Kartal A., Elçi, L., “Katı Faz Özütleme ile Fosfor Deriştirilmesinin Faktöriyel Dizayn ile Optimizasyonu”, XX. Ulusal Kimya Kongresi, 4-8 Eylül 2006, Kayseri (Sözlü).

Akdoğan, A., Divrikli, Ü., ve Elçi, L., “ Denizli İl Merkezinden Toplanan Sokak Tozlarında Ağır Metal Tayinleri” XIX. Ulusal Kimya Kongresi, 30 Eylül – 4 Ekim 2005, Kuşadası-İzmir (Poster).

Akdoğan, A., Divrikli Ü., ve Elçi, L., “Acıpayam İlçesinde Bazı Tarım Amaçlı Kullanılan Sulama Sularındaki Eser Metal İyon İçerikleri” I. Acıpayam Sempozyumu, 1-3 Aralık 2003, Acıpayam-Denizli (Sözlü).

Erdem, E., Zencir, S., ve Akdoğan, A., “Dodurgalar-Keloğlan Mağarasındaki Sarkıt ve Dikitlerin Kimyasal Yapısının Belirlenmesi” I. Acıpayam Sempozyumu, 1-3 Aralık 2003, Acıpayam-Denizli (Sözlü).

Akdoğan, A., ve Kaya, A., “Pamuklu Tekstil Materyalinin Peroksitli Ortamda Ağartılma reaksiyonları ve Katalitik etki” XVI. Ulusal Kimya Kongresi, 10-13 Eylül 2002, Konya (Sözlü).

Akdoğan, A., ve Deligöz, H., “Diazo Kenetli Kaliks [n] Arenler ile Geçiş Metallerinin Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu” XV. Ulusal Kimya Kongresi, 4-7 Eylül 2001, İstanbul (Poster).

### **ALDIĞI KURSLAR**

Principles and Applications of Metrology in Chemistry, TUBİTAK-UME, 21-22 October 2010, Gebze-Kocaeli, Turkey.

### **VERDİĞİ KURSLAR**

1. Ayşen HÖL, Abdullah AKDOĞAN, Aslıhan ARSLAN KARTAL, “Nikelin DLLME İle Önderiştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi İle Tayini”, 1. Eser Analiz Çalıştay, 22 Nisan 2010, Denizli.

2. Aslıhan ARSLAN KARTAL, Abdullah AKDOĞAN, Ayşen HÖL, “Bazı Klorofenollerin DLLME ile Önderiştirilmesi ve GC-MS Uygulaması”, 1. Eser Analiz Çalıştay, 22 Nisan 2010, Denizli.

### **KATILDIĞI SEMİNER**

1. ICP-MS / ICP-OES / AAS / MICROWAVE DIGESTION, 16 Mayıs 2007, İzmir.

2. Yeni Nesil HPLC Kolonları ve İleri Uygulamam Teknikleri, 8 Ocak 2009, İzmir.

### **ALDIĞI ÖDÜLLER**

En iyi sözlü sunum ikincisi, 1. Eser Analiz Çalıştay, 22 Nisan 2010, Denizli.