

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**KATI FAZ EKSTRAKSİYONU İLE BAZI
PESTİSİTLERİN ÖNDERİŞTİRİLMESİ VE TAYİNLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EZGİ ERSİN

DENİZLİ, ARALIK - 2020

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**KATI FAZ EKSTRAKSİYONU İLE BAZI
PESTİSİTLERİN ÖNDERİŞTİRİLMESİ VE TAYİNLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EZGİ ERSİN

DENİZLİ, ARALIK - 2020

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri koordinasyon Birimleri (PAUBAP) tarafından 2019FEBE010 nolu proje ile desteklenmiştir.

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.

EZGİ ERSİN

ÖZET

**KATI FAZ EKSTRAKSİYONU İLE BAZI PESTİSİTLERİN
ÖNDERİŞTİRİLMESİ VE TAYİNLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
EZGİ ERSİN
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. AYŞEN HÖL)

DENİZLİ, ARALIK - 2020

Bu çalışmada, kromatografik tayinleri öncesi dört tane triazin herbisitinin (atrazin, simazin, atrazin deizopropil ve atrazin desetil) önderiştirilmesi için adsorban olarak klorür katkılı polipirolün (PPyCl) kullanıldığı yeni bir katı faz ekstraksiyon (SPE) yöntemi geliştirildi. SPE yöntemi ile analitlerin önderiştirilmesi için çözelti pH'sı, eluent türü ve hacmi, numune hacmi gibi değişkenler optimize edildi. pH 5'e tamponlanan analit çözeltisi, 0,5 g PPyCl ile doldurulmuş bir kolonda alıkondu ve 10 mL aseton ile elüe edildi. Elüent, azot gazı varlığında uçuruldu ve kalıntıya 500 µL metanol ilave edildi. Bu çözeltiden alınan 10 µL'lik örnek, HPLC sistemine enjekte edildi. Analitler, sabit faz olarak ODS-3 C18 kolonu ve mobil faz metanol:su (75:25) karışımı kullanılarak 0,9 mL dk-1 akış hızında HPLC-DAD ile tayin edildi. Geliştirilen yöntemin bazı yiyecek ve atık su örneklerindeki pestisit kalıntılarının tayinine uygulanabileceği öngörüldü.

ANAHTAR KELİMELEER: Pestisit, Klorür katkılı polipirol, Katı faz Ekstraksiyonu, Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ABSTRACT

THE PRECONCENTRATION AND DETERMINATION OF SOME PESTICIDES BY SOLID PHASE EXTRACTION

MSC THESIS

EZGİ ERSİN

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY**

(SUPERVISOR:ASSOC. PROF. DR. AYSEN HÖL)

DENİZLİ, DECEMBER 2020

In this study, a new solid phase extraction (SPE) method using chloride-added polypyrrole (PPyCl) as adsorbent was developed for the preconcentration of four triazine herbicides (atrazine, simazine, atrazine deisopropyl and atrazine desetyl) before chromatographic determinations. With the SPE method, variables such as solution pH, eluent type and volume, sample volume were optimized for the preconcentration of analytes. The analyte solution buffered to pH 5 was retained in a column filled with 0,5 g PPyCl and eluted with 10 mL acetone. The eluent was evaporated in the presence of nitrogen gas and 500 μ L methanol was added and 10 μ L of this sample was injected into HPLC. Analytes were determined by ODS-3 C18 column as the stationary phase by using the mobile phase methanol and water (75:25) mixture in 0,9 mL min⁻¹ flow rate by HPLC-DAD. It was found that the research method could be applied to determination pesticide residues in some food and wastewater samples.

KEYWORDS: Pesticide, Polypyrrole-Chloride, Solid Phase Extraction, High Performance Liquid Chromatography

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Genel Bilgi	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1 Pestisitler	3
2.2 Pestisit Kullanımlarının Tarihçesi	3
2.3 Türkiye’de Pestisit Kullanımı.....	4
2.4 Pestisitlerin Çevreye Etkisi	5
2.5 Pestisitlerin Sınıflandırılması	6
2.5.1 Triazinler.....	7
2.6 Tayini yapılan herbisitler ve özellikleri.....	7
2.7 Pestisit tayininde kullanılan metotlar	10
2.7.1 Katı Faz Ekstraksiyonu	10
2.7.1.1 Katı faz ekstraksiyonu ile Pestisit Tayini Çalışmaları	11
2.7.1.2 Polipirol.....	16
2.7.2 Manyetik Katı Faz Ekstraksiyonu.....	17
2.7.2.1 Manyetik katı faz ekstraksiyonu (MKFE) ile Pestisit Tayini Çalışmaları	18
3. KROMATOGRAFI.....	21
3.1 Kromatografik metotların sınıflandırılması.....	21
3.2 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	22
3.2.1 HPLC Cihazı.....	23
3.2.1.1 Hareketli faz seçimi.....	24
3.2.1.2 Pompa sistemleri ve numune enjeksiyon sistemi.....	25
3.2.1.3 Kolonlar.....	26
3.2.1.4 Dedektörler.....	27
3.2.1.5 Dağılma Kromatografisi.....	28
3.2.2 Ters faz (reversed phase: RP) dağılma kromatografisi	28
3.2.2.1 RP-HPLC ile Pestisit Tayini Çalışmaları.....	29
4. MATERYAL VE METOD	32
4.1 MATERYAL	32
4.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
4.1.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar	33
4.1.2.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi	33
4.1.2.2 Diğer Aletler.....	34
4.2 METOD.....	34

4.2.1	Manyetik Katı Faz Ekstraksiyonu (MKFE) ile Pestisitlerin Önderiştirilmesi	34
4.2.1.1	Fe ₃ O ₄ sentezi	34
4.2.1.2	8-Hidroksikinolin-Fe ₃ O ₄ manyetik parçacık sentezi	35
4.2.1.2.1	8-Hidroksikinolin-Fe ₃ O ₄ manyetik parçacık kullanımıyla pestisit tayini.....	35
4.2.1.3	Fe ₃ O ₄ -polipirol sentezi	36
4.2.1.3.1	Fe ₃ O ₄ -polipirol manyetik parçacık kullanımıyla pestisit tayini.....	36
4.2.2	Katı Faz Ekstraksiyonu ile Pestisitlerin Önderiştirilmesi	37
4.2.2.1	Klorür Katkılı Polipirol Sentezi	37
4.2.2.2	Klorür katkılı polipirol kullanımıyla pestisit tayini	37
5.	BULGULAR	39
5.1	Kromatografik Şartların Optimizasyonu	39
5.1.1	Hareketli Faz Bileşiminin Etkisi	39
5.1.2	Hareketli Faz Akış Hızının Etkisi	41
5.2	SPE Yönteminin Optimizasyonu ve Bulgular	44
5.2.1	pH Etkisi	44
5.2.2	Adsorplayıcı Miktarının Etkisi	45
5.2.3	Elüent Akış Hızının Etkisi	46
5.2.4	Elüent Hacmi Etkisi	47
5.2.5	Örnek Hacmi Etkisi	48
5.2.1	Yabancı İyon Etkisi	49
5.1	Yöntemin Analitik Değerlendirilmesi	49
6.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	52
7.	KAYNAKLAR.....	55
8.	ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1:	Türkiye’de toplam pestisit kullanımı	4
Şekil 2.2:	Pestisitlerin çevreye etkisi	5
Şekil 2.3:	Çalışmada tayinleri gerçekleştirilen herbisitlerin açık yapıları	8
Şekil 2.4:	Katı faz ekstraksiyonu işlem basamakları	11
Şekil 2.5:	Polipirolün kimyasal yapısı	16
Şekil 2.6:	Manyetik katı faz ekstraksiyonu işlem basamakları	18
Şekil 3.1:	Yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazının şematik gösterimi	24
Şekil 3.2:	Örnek bir kolonun tanımlaması	27
Şekil 3.3:	Diyod array dedektörün çalışma prensibi	28
Şekil 5.1:	Hareketli faz bileşimi (A) MeOH:H ₂ O (60:40), (B) MeOH:H ₂ O (70:30), (C) MeOH:H ₂ O (75:25), (D) MeOH:H ₂ O (80:20), (E) MeOH:H ₂ O (85:15) olduğunda elde edilen kromatogramlar	40
Şekil 5.2:	Analitlerin alıkonmasına hareketli fazdaki Metanol miktarının etkisi	41
Şekil 5.3:	Akış hızı 0,8 (A), 0,9 (B), 1,0 (C), 1,1 (D) ve (E)1,2 mL dk-1 olduğunda elde edilen kromatogramlar	42
Şekil 5.4:	Analitlerin alıkonma zamanlarına hareketli faz akış hızının etkisi	43
Şekil 5.5:	Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına pH Etkisi	44
Şekil 5.6:	Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına katı faz miktarının etkisi	45
Şekil 5.7:	Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına elüent akış hızının etkisi	46
Şekil 5.8:	Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına elüent hacminin etkisi ...	47
Şekil 5.9:	Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına örnek hacminin etkisi	48
Şekil 5.10:	Atrazin deizopropil’e ait kalibrasyon doğrusu	50
Şekil 5.11:	Atrazin desetil’e ait kalibrasyon doğrusu	50
Şekil 5.12:	Simazin’e ait kalibrasyon doğrusu	51
Şekil 5.13:	Atrazine’e ait kalibrasyon doğrusu	51

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1: Pestisit adı, etkiledikleri canlı türü ve örnekleri	6
Tablo 2.2: Atrazin herbisitine ait tespit limit değerleri	8
Tablo 2.3: Simazin herbisitine ait tespit limit değerleri	9
Tablo 3.1: Kolon Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması	22
Tablo 4.1: Tayini yapılan pestisitlerin molekül yapıları ve mol kütlesi	32

SEMBOL LİSTESİ

μg	:	Mikrogram
μL	:	Mikrolitre
μm	:	Mikrometre
cm	:	Santimetre
dk	:	Dakika
k'	:	Kapasite faktörü
kg	:	Kilogram
g	:	Gram
mg	:	Miligram
ng	:	Nanogram
mL	:	Mililitre
L	:	Litre
mm	:	Milimetre
MΩ	:	Miliohm
$^{\circ}\text{C}$:	Santigrat derece
r^2	:	Korelasyon katsayısı
Rs	:	Kolon ayırma gücü
rpm	:	Dakikadaki Devir Sayısı

KISALTMALAR

EPA	:	Birleşik Devletler Çevre Koruma Kurumu
MCL	:	Maksimum Kirlilik Seviyesi
HPLC	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GC-MS	:	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
LC-MS/MS	:	Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi
SPE	:	Katı faz ekstraksiyonu
PPy	:	Polipirol
DDT	:	Dikloro Difenil Trikloroetan
BHC	:	Benzen heksaklorür
LLE	:	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
SPME	:	Katı faz mikro ekstraksiyon
MSPE	:	Manyetik katı faz ekstraksiyonu
DEA	:	Atrazin desetil
DIA	:	Atrazin deizopropil
MRL	:	Maksimum Kalıntı Limiti
HPLC/DAD	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Fotodiyot Dedektör
GC/FID	:	Gaz Kromatografisi-Alev Fotometri Dedektör
HPLC-UV	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Ultraviyole Dedektör
MWCNT	:	Çok duvarlı karbon nanotüpler
MKFE	:	Manyetik katı faz ekstraksiyonu
RDS	:	Standart Sapma Değeri
LOD	:	Gözlenebilme sınırı
LOQ	:	Tayin Sınırı
MNP	:	Manyetik nanoparçacık
MSPD	:	Matris Katı Faz Dağılımı
DLLME	:	Sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon
MDMSPE	:	Manyetik Dispersif Mikrokatı Faz Ekstraksiyonu
MIP	:	Moleküler Baskılı Polimer
LC-MS / MS	:	Sıvı Kromatografi-Tandem Kütle Spektrometrisi
UE	:	Ultrasonik Ekstraksiyon
SE	:	Soxhlet Ekstraksiyon
SFC	:	Süperkritik akışkan kromatografi
RP	:	Ters faz dağılım kromatografi
USAE	:	Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon
MeOH	:	Metanol
SDS	:	Sodyum dodesil sülfat
ACN	:	Asetonitril

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi çalışması boyunca desteğini ve ilgisini hiçbir zaman eksik etmeyen, yardımlarını fazlasıyla gördüğüm ve en önemlisi Analitik Kimya'ya farklı açılardan bakmamı sağlayan danışman hocam Doç. Dr. Ayşen HÖL'e sonsuz şükran, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında birlikte çalıştığım Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarı'ndaki arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

2019FEBE010 no'lu Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümündeki tüm kıymetli hocalarıma bana olan katkıları için teşekkür ederim.

Bana maddi ve manevi tüm desteklerini veren, bugünlere gelmemi sağlayan ve her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Son olarak her zaman beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen eşim Soner ERSİN'e teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

1.1 Genel Bilgi

Besin maddelerinin üretimi, tüketimi, depolanmaları ve taşınmaları esnasında besinlere zarar veren mikroorganizma ve zararlıları uzaklaştırmak veya yok etmek amacıyla kullanılan, kimyasal ya da biyolojik ürünlerin tümüne pestisit adı verilmektedir. Pestisitler, bitkilerin büyümesini düzenlemek, besinlere veya doğrudan insan ve hayvanlara hastalık etmeni taşıyan halk sağlığı zararlılarını kontrol etmek amacıyla da kullanılmaktadır. Pestisitler kullanıldıkları zararlı grubuna göre herbisitler, insektisitler ve fungusitler olarak sınıflandırılmaktadır. Bunlardan herbisitler, yabancı otları öldürmek veya normal gelişimini önlemek için kullanılan kimyasallardır.

Triazin herbisitleri, 1950'lerin başından beri yaygın olarak kullanılan herbisitlerden birisidir. Triazin herbisitleri, çeşitli tarımsal ürünlerdeki yabancı otları kontrol etmek için kullanılmaktadır. Hem Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) hem de Avrupa Birliği triazin herbisitlerini önemli kirletici kimyasallar olarak belirtmiştir. Bu herbisitler, yüksek kimyasal kararlılık ve suda çözünürlükleri nedeniyle su ortamına kolayca girebilmekte ve uzun bir süre boyunca orada var olabilmektedir. Bu durum çevrede büyük herbisit kalıntılarının olmasına neden olmaktadır (Lei ve diğ. 2017). Triazin herbisitlerin çevrede kontrolü özellikle içme suyu kaynağındaki sular açısından büyük önem taşımaktadır. EPA tarafından oluşturulan Ulusal Temel İçme Suyu Düzenlemeleri, atrazin ve simazin için maksimum kirlilik seviyesini (MCL) sırasıyla 3 ve 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlemiştir (Yan ve diğ. 2020). Triazinlerin çoğunun, kanser, endokrin bozulması ve doğum kusurları gibi potansiyel sağlık tehlikeleri kanıtlanmış olup, şüphelenilen triazinler toksisiteleri nedeniyle büyük endişe kaynağı olarak kabul edilmektedirler. Bu nedenle gıdalar, çevresel ve biyolojik numuneler gibi karmaşık numunelerde triazinlerin tayini

oldukça önemlidir. Tayinleri için hızlı, basit, etkili önderiştirme tekniği ile birlikte doğru analitik yöntem ve hassasiyete sahip kromatografik teknolojilerin oluşturulması gerekmektedir.

Triazin herbisitlerinin belirlenmesinde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), kapiler elektroforez, sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) gibi yöntemler kullanılmıştır (Wang ve diğ. 2011). Bu tekniklerle aletsel tayinleri öncesi, herbisitleri kompleks matrikslerden ekstrakte etmek, ayırmak ve deriştirme için örnek hazırlama basamağı önem taşımaktadır. Genel olarak, numune önderiştirme teknikleri arasında çözücü bazlı ekstraksiyon ve adsorban bazlı ekstraksiyon teknikleri kullanılmaktadır. Bu tekniklerden katı faz ekstraksiyonu (SPE) oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Bilindiği gibi, katı faz ekstraksiyon tekniğinin performansı hem sorpsiyon kapasitesine hem de sorpsiyon/desorpsiyon kinetiğine bağlıdır (Li ve diğ. 2020). SPE sorbenti ekstraksiyon verimliliğini ve analiz hassasiyetini doğrudan etkilendiği için yeni sorbent materyaller geliştirilmesi ve böylelikle SPE'nin ekstraksiyon performansının iyileştirilmesi için sürekli çaba sarf edilmiştir.

Son zamanlarda birçok polimer adsorban olarak kullanılmaya başlanmıştır. Adsorplayıcı olarak en çok kullanılan iletken polimerlerden birisi de polipirol (PPy) dir. PPy'nin bir adsorban olarak uygulanması PPy'nin çeşitli katkı maddeleri ile değiştirilebilen fiziksel, kimyasal veya elektriksel özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Sönmez 2010).

Bu tez çalışmasında, triazin herbisitlerin yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile tayinleri öncesi SPE yöntemi ile önderiştirilmesinde, klorür ile katkılanması yoluyla polipirol-esaslı yeni bir adsorban sentezlenmiştir. Sentezlenen bu adsorbanın pestisit kalıntı analizlerinde kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla, adsorbanın, adsorpsiyon performansı ve çeşitli çözelti pH koşulları altında seçiciliği araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Pestisitler

Günümüzde, insan nüfusunun hızlı ve kontrolsüz bir şekilde artması sonucu, dünya ülkelerini ilgilendiren önemli sorunlardan birisi de beslenme sorunudur. Bu sorunun önlenmesi için gıda sektörü birim alandan elde edilecek ürün miktarını ve kalitesini arttırmaya çalışmaktadır. Dünyada çok az bulunan ekilebilir tarım arazilerinde verimliliği arttırmak için tarımda ürüne zarar verenlere karşı mekanik, fiziksel, biyolojik, biyoteknik, kimyasal ve entegre yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler içinde en çok kullanılanı, kimyasal yöntemdir. Çünkü kimyasal yöntemler en yüksek etkiye sahiptir. Bu durum hızlı sonuç vermesinin yanında kontrollü kullanıldığında ekonomik açıdan avantaj sağlar. Kimyasal mücadelede pestisit adı verilen yapay zirai ilaçlar kullanılmaktadır.

Pestisit yabancı kaynaklı bir kelime olup pest=zararlı, cide=öldürücü olmak üzere zararlı öldürücü anlamına gelmektedir. Pestisitler genel olarak tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen böcek, kemirgen, mantar, ot ve mikroorganizmaların yok edilmesi veya kontrol altına alınmasını sağlayan kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanlar olarak tanımlanır. Pestisitlerin kullanılmasıyla ürün verimliliğinde önemli ölçüde artışlar görülmesine rağmen, uzun süre bozulmadan suda, toprakta, meyve ve sebzeler üzerinde kalarak insan ve çevre sağlığı açısından birçok soruna neden olmaktadır.

2.2 Pestisit Kullanımlarının Tarihçesi

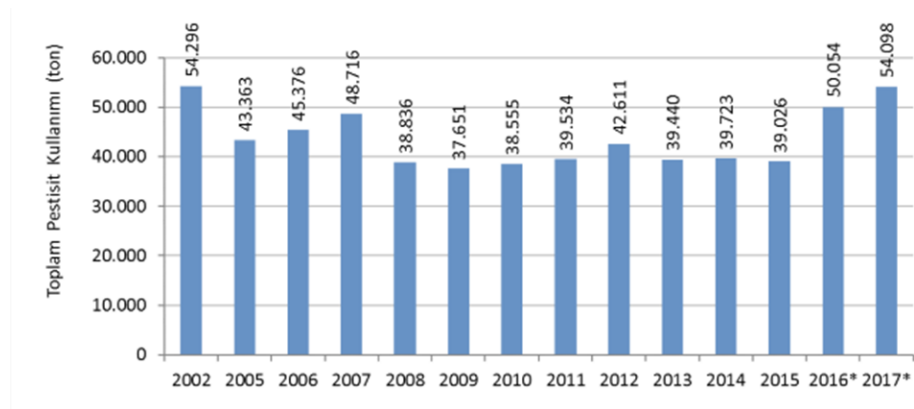
Pestisitlerin tarihsel gelişimine bakıldığında Roma ve eski Yunan'dan beri süregelen, ancak 19 yüzyılın sonlarına doğru yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Atabey 2016). 1945'ten sonra tarımsal ürünlerdeki hastalığın, zararlı ve yabancı otların kimyasal mücadelesinde önemli gelişmeler olmuştur. İlk pestisitler

fungisit ve insektisit olarak kullanılan arsenik, bakır ve demir, fungusit olarak kullanılan kükürtün basit tuzları gibi inorganik maddelerdir.

2.3 Türkiye’de Pestisit Kullanımı

Türkiye’de pestisit kullanımı, 1945 yılında organoklorin pestisitlerin kullanılmasıyla başlamıştır. 1950’lerde her türlü zararlıya karşı dikloro difenil trikloroetan (DDT) kullanılmaya başlanmıştır. 1960 yılında 2,4-diklorofenoksiasetikasit gibi karboksilik asitler, triazin ve diğer nitrojen bazlı bileşiklerin pestisit olarak kullanılması yaygınlaşmıştır. 1978’den sonra pestisitlerin kullanılması sınırlandırılmıştır. 1971- 1989 yılları arasında 11 organik klorlu pestisit (aldrin, endrin, DDT, dieldrin, benzen heksaklorür (BHC)) kullanımı yasaklanmıştır. Bu organik klorlu pestisitlerin yasaklanmasıyla endosülfanın kullanımı artmıştır.

1980’lerden bugüne kadar Türkiye’de pestisit kullanımı her yıl az ya da çok artmıştır. Son zamanlardaki artışlar dikkat çekmektedir. Ülkemizdeki son yıllardaki pestisit kullanımı Şekil 2.1’de verilmiştir.



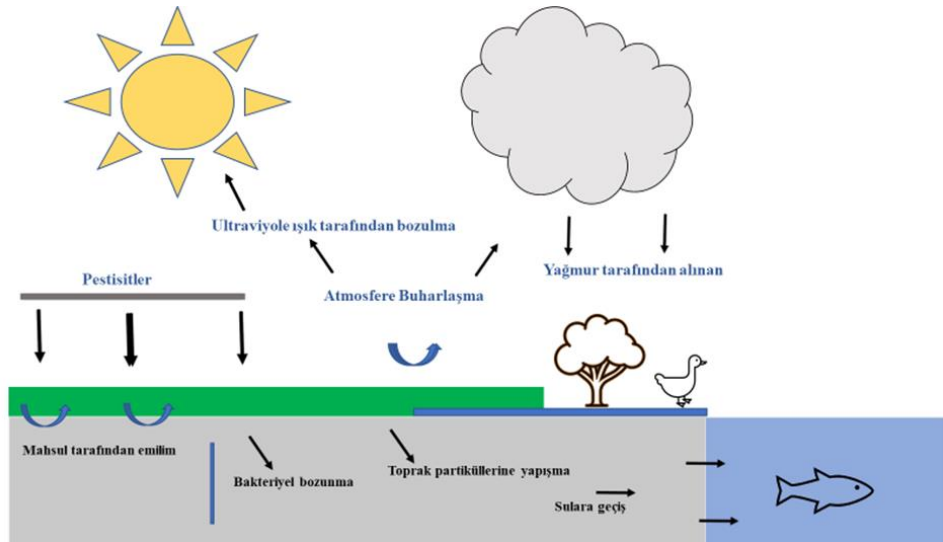
Şekil 2.1: Türkiye’de toplam pestisit kullanımı (ton) (Url-1)

Şekil 2.1’de görüldüğü gibi 2002-2015 yılları arasında ülkemizde pestisit kullanımı azalmıştır. 2017 yılında ise toplam tarım ilacı kullanım miktarı, 2016 yılına

göre %8,08 artış göstererek 54.098'e yükselmiştir. Bu artışın nedeni, tarımsal üretimi ve verimi artırmak için pestisit kullanımını da artmış olabilir.

2.4 Pestisitlerin Çevreye Etkisi

Pestisitler, püskürtülerek uygulanması sırasında meteorolojik etkenlerle sürüklenmekte ve ulaştıkları yerlerde çevre sorunlarına neden olabilmektedirler. Bazı pestisitler fotokimyasal parçalanmaya uğramakta, parçalanma ürünleri ana pestisitten daha toksik maddelere dönüşebilmektedir. Havaya karışan pestisit yağmur, sis ve kar suları gibi etkenlerle tekrar yeryüzüne dönmekte, hedef olmayan bitki ve organizmalara ulaşmakta ve bunlarda kalıntıya neden olabilmektedir. Toprakta tutunan pestisitler, güneş ışınları, bitki, toprak mikroorganizmaları ve diğer organizmaların etkisiyle degradasyona uğramaktadır. Meteorolojik etkenlerle toprakta tutunan pestisitler, deniz, nehir ve göl sularını kirletebilmektedir. Bu nedenle pestisitler, kullanıldıkları bölgede zarar oluşturmakla kalmayıp birçok yolla doğanın dengeli sirkülasyonu içinde kendine yer edinmektedir, böylece ulaşabildikleri her noktaya ulaşmalarından dolayı çevreye zarar verme potansiyeline sahiptirler. (Gebrehiwot 2019), (Yavuzarslan 2019).



Şekil 2.2: Pestisitlerin çevreye etkisi (Agrawal ve diğ. 2010)

2.5 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler görünüş, fiziksel yapı ve formülasyon şekillerine göre, etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile bunların biyolojik periyotlarına, içerdikleri aktif maddenin tür ve grubuna göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadırlar. Bunlardan en çok kullanılan sınıflandırma şekilleri ise kullanıldıkları zararlı gruplarına ve içerdikleri aktif madde türüne göre yapılan sınıflandırmalardır (Akdoğan 2011), (Atabey 2016), (Tunçdemir 2016), (Çakır 2017).

Tablo 2.1: Pestisit adı, etkiledikleri canlı türü ve örnekleri

Pestisit Adı	Etkiledikleri canlı türü	Örnekler
İnsektisit	Böcek öldürücü	Aldicarb, karbaril, imidacloprid
Fungusit	Mantar öldürücü	Klorotalonil, tiyabendazol
Herbisitler	Yabancı ot öldürücü	Atrazin, glifosat, parakuat, alaklor
Akarasitler	Örümcek öldürücü	Bifenazat, klorpirifos, permetrin
Bakterisitler	Bakteri öldürücü	Bakır kompleksleri
Rodentisitler	Kemirgen öldürücü	Varfarin
Nemasitler	Nematod öldürücü	Aldicarb, Etoprofos
Algisit	Yosun öldürücü	Bakır sülfat, oksiflorfen, diuron
Avenisit	Kuş öldürücü veya kaçırıcı	Avitrol (aminopiridin), strikinin
Repellent	Zararlı türleri kaçırıcı	Metiyokarb
Atrankant	Zararlı türleri kendine çeken	Feromon
Fungostatik	Mantarların faaliyetlerini durduran	
Molluskisitler	Sümüklü böcek öldürücü	
Afisitler	Yaprak biti öldürücü	

Bu tez çalışmasında tayini yapılan pestisitler, herbisit sınıfında bulunan, atrazin, simazin, atrazin desetil ve atrazin deizopropildir. Bu herbisitlerle ilgili açıklamalar aşağıda verilmiştir.

2.5.1 Triazinler

Triazin herbisitleri, zirai ürünlerdeki yabancı otları kontrol etmek için dünya çapında yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Bu durum çevrede fazla miktarlarda kalıntıların olmasıyla sonuçlanmaktadır. Çoğu triazinler, kanıtlanmış veya şüphelenilen toksisiteleri nedeniyle büyük endişe kaynağı olarak kabul edilirler ve kanserler, endokrin bozulma ve doğum kusurları gibi potansiyel sağlık tehlikeleri oluşturabilirler. Hem Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı hem Avrupa Birliği, triazin herbisitlerini yoğun bir şekilde izlenmesi gereken önemli kimyasal kirleticiler olarak belirtmiştir. Bu nedenle bu bileşiklerin tayini için etkili bir analitik yöntem ve bunun için de hızlı, hassas ve aletsel tekniklerle birlikte kullanılabilen verimli numune önderiştirme tekniklerinin geliştirilmesi gerekir.

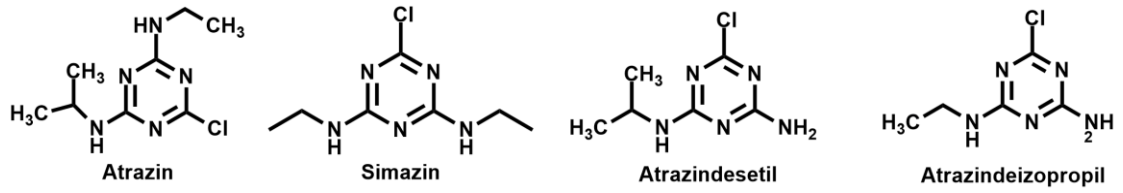
Bu tez çalışmasında triazin grubu herbisitlerinden simazin, atrazin, atrazin desetil ve atrazin deizopropilin HPLC ile tayinleri öncesi yeni bir önderiştirme tekniği geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2.6 Tayini yapılan herbisitler ve özellikleri

Atrazin (2-kloro-4-etilamino-6-izopropilamino-s-triazin), tarımda yaygın olarak kullanılan bir tür herbisit olan triazinlerin bir üyesidir. Orta derecede kalıcı bir herbisit olarak kabul edilmektedir. Yüzey ve yer altı sularında kalıntıların varlığını önlemek için farklı fizikokimyasal özelliklere sahip topraklarda sorpsiyon ve desorpsiyon özellikleri üzerine araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çevreye ve insan sağlığına etkilerinden dolayı eser miktardaki atrazin miktarının bulunması için hassas ve hızlı analitik yöntemler geliştirmek oldukça önemlidir (Jeannette Espinoza 2003). Tablo 2.2’de atrazin herbisitine ait tespit limit değerleri verilmiştir.

Çevrede atrazin ve bozunma ürünlerinin varlığı, insan sağlığına olan zararları nedeniyle endişe kaynağı olmuştur. Ortamdaki atrazin herbisitinin bozunma ürünleri arasında atrazin desetil (2-kloro-4-amino-6-izopropilamino-1,3,5-triazin, DEA), atrazin deizopropil (2-kloro-4-amino-6-etilamino-1, 3,5-triazin, DIA, didealkilatrazin (2-kloro-4,6-diamino-1,3,5-triazin) ve hidroksiatrazin (2-etilamino-4-izopropilamino-6-hidroksi1,3,5-triazin) bulunmaktadır. Bu bileşikler, toprakta düşük

bir absorpsiyona sahiptir (Ma ve diğ. 2003). Şekil 2.3'te bu çalışmada tayinleri gerçekleştirilen herbisitlerin açık yapıları verilmiştir.



Şekil 2.3: Çalışmada tayinleri gerçekleştirilen herbisitlerin açık yapıları (Amadori ve diğ. 2013)

Tablo 2.2: Atrazin herbisitine ait tespit limit değerleri (Url-2)

MRL'nin Uygulanacağı Ürün ve Ürün Grupları	Atrazin(mg kg ⁻¹)
Taze veya dondurulmuş meyveler; sert kabuklu meyveler	0,05
Taze veya dondurulmuş sebzeler	0,05
Yağlı tohumlar ve yağlı meyveler	0,05
Tahıllar	0,05
Çay, kahve, bitkisel infüzyonlar, kakao ve keçiboynuzu	0,1
Şerbetçi out	0,1
Baharat	0,1
Şeker bitkileri	0,05
Bal ve diğer arıcılık ürünleri	0,05

Simazin, yaygın olarak kullanılan triazin herbisitlerinden biridir. Avrupa Birliği ülkelerinde yasaklanmış olmasına karşın, hala Amerika Birleşik Devletleri'nde simazin kullanımı devam etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nin içme suyu yönetmeliklerine göre simazinin tolere edilebilir limit değeri 4 µg L⁻¹'dir (Guan ve diğ. 2018). Tablo 2.3'te simazin herbisitine ait tespit limit değerleri verilmiştir.

Tablo 2.3: Simazin herbisitine ait tespit limit değerleri (Url-2)

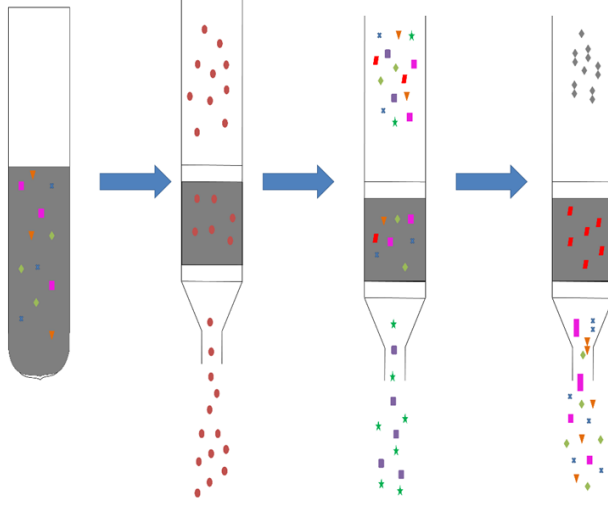
MRL'nin Uygulanacağı Ürün ve Ürün Grupları	Simazin(mg kg ⁻¹)
Turunęgiller	0,01
Sert kabuklu meyveler	0,02
Yumuşak çekirdekli meyveler	0,01
Sert çekirdekli meyveler	0,01
• Kayısı	0,01
• Kiraz	0,25
• Şeftali	0,01
Üzümsüler ve küçük meyveler	
• Sofralık üzüm	0,2
• Şaraplık üzüm	0,01
Çilek	0,01
Kamışsı meyveler	0,01
Yaban mersini ve diğ.	0,01
Kızılcık	0,25
Çeşitli meyveler	0,01
Köklü ve yumrulu sebzeler	0,01
Soğanlı sebzeler	0,02
Meyveli sebzeler	0,01
Lahana sebzeler (brassica kökleri ve brassica yavru yaprak bitki ürünleri hariç)	0,01
Yapraklı sebzeler, otlar ve yenilebilir çiçekler	0,01
Baklagil sebzeleri (taze)	0,01
Saplı sebzeler	0,01
Mantarlar, Yapraklı kara yosunları ve likenler	0,01
Baklagiller	0,01
Yağlı tohumlar	0,01
Yağlık zeytin	0,01
Palm çekirdeği	0,02
Palm meyvesi	0,02
Diğerleri	0,05
Tahıllar	0,01
Çay, kahve, bitkisel infüzyonlar, kakao ve keçiboynuzu	0,05
Şerbetçi out	0,05
Baharat	0,05
Hayvansal ürünler (Kara hayvanları)	0,01

2.7 Pestisit tayininde kullanılan metotlar

Ekstraksiyon, bir çözücü içerisindeki bir maddeyi başka bir çözücü içine alma işlemidir. Ekstraksiyon işlemi en yaygın kullanılan zenginleştirme işlemlerinden biridir. Bunun nedeni kolay uygulanabiliyor olmasıdır. Ekstraksiyon ile zenginleştirme işleminde genellikle su ve organik çözücü fazlar kullanılmaktadır. Pestisit kalıntı analizlerinde ekstraksiyon işleminde farklı pestisit gruplarının aynı anda tek bir yöntemle ayırmak oldukça zordur. Bunun nedeni, pestisitlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin birbirlerinden farklı olmaları ve matris içerisinde herbir pestisit farklı davranış gösteriyor olmalarıdır. Pestisit analizlerinde en etkili yaklaşım, çoklu-kalıntı analiz yöntemlerini kullanmaktır. Bu analizi kolaylaştırmak ve ekstraksiyon verimini arttırmak için çeşitli ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Çoklu pestisit kalıntı analizlerinde kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden bazıları sıvı-sıvı ekstraksiyonu, QuEChERS, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, katı faz ekstraksiyonu, katı faz mikroekstraksiyon ve stir bar ekstraksiyonudur (Amadori ve diğ. 2013).

2.7.1 Katı Faz Ekstraksiyonu

Triazinlerin tayininde en çok kullanılan kromatografik yöntemler yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve gaz kromatografisidir, ancak eser düzeydeki herbisitlerin tayininde önderiştirme işlemi olmadan enstrümantal duyarlılık ve seçicilik yetersizdir (Zhao ve diğ. 2008). Bu nedenle toprakta ve gıdadaki eser düzeyde triazin tayini için sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE), mikrodalga destekli ekstraksiyon, katı faz ekstraksiyon (SPE), katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) ve sıvı faz mikroekstraksiyon gibi önderiştirme yöntemleri geliştirilmiştir. LLE kolay ve basit bir önderiştirme işlemi olmasına rağmen, zaman alıcı ve çok aşamalı bir önderiştirme yöntemidir. SPE'nin LLE'ye göre avantajı kısa analiz süresi ve daha az organik çözücü kullanılmasıdır (See ve diğ. 2010).



Şekil 2.4: Katı faz ekstraksiyonu işlem basamakları

SPE yönteminde, adsorban seçimi, analitlerin daha yüksek zenginleştirme verimliliğini elde etmek için en önemli faktördür. Triazin herbisitlerin ve diğer çevresel kirleticilerin zenginleştirilmesinde adsorban olarak C8, C18, PS-DVB polimer, politetrafloroetilen ve karbon nanotüpler gibi çeşitli farklı hidrofobik malzemeler kullanılmaktadır. Bu çalışmada da adsorban olarak polipirol kullanılmıştır.

2.7.1.1 Katı faz ekstraksiyonu ile Pestisit Tayini Çalışmaları

Örnek hazırlama tayin sınırını etkileyen en önemli basamaktır. Aletsel tayin öncesi örnekler, ayırma ve önderiştirme işlemine tabii tutulurlar. Bu ayırma ve önderiştirme yöntemlerinden birisi olan katı faz ekstraksiyonu yöntemi, farklı şekillerde, pestisitlerin tayininde kromatografik yöntemlerle birlikte kullanılmaktadır. Aşağıda SPE yönteminin pestisit tayininde kullanımı ile ilgili literatürden bazı örnekler verilmiştir.

Ne'lieu ve diğ. (2000), sulu çözeltilerdeki atrazinin önderiştirilmesinde, oktadesil ve katyon değıştirici reçinelerin katı faz ekstraksiyonunda kullanımı araştırmışlardır. Tutunma ve elüsyon aşamaları için, deneysel parametreler optimize edilmiştir. Artan polariteye göre bileşiklerin iki grup halinde fraksiyonlanabilmesi için her fazın sırayla alımını sağlayan bir yöntem verilmiştir. İlk olarak, oktadesil destek üzerinde pestisitler, hidroksiatrazinler ve çoğı klorotriazinler daha sonra da

monodealkillenmiş hidroksiatrazinler, amelin ve amelitler katyon değiştirici ile ayrılmıştır. Bu ikili prosedür deneylerde başarıyla uygulanmış ve 14 atrazin ozonlama ürünlerinde miktarı ve U-Ring C etiketli atrazin deneylerinde verimli şekilde kullanılmıştır.

Trajkovska ve diğ. (2001), su örneklerinde simazin, atrazin ve propazinin belirlenmesi için Envi-carb katı faz ekstraksiyonu tüpleri geliştirmişlerdir. Herbisitler HPLC/DAD ve GC/FID'da analiz edilmiştir. Simazin, atrazin ve propazinin geri kazanımları sırasıyla %101, %99 ve %96 bulunmuştur. Kolonda gözlenebilme sınırları simazin, atrazin ve propazin için sırasıyla 4,00, 8,00, 10,00 ng'dır. Tayin edilen bu bileşikler için korelasyon katsayıları 0,9828-0,9988 aralığında bulunmuştur.

Zhao ve diğ. (2008), çevresel su numunelerinde triazin herbisitlerinden atrazin ve simazinin eser miktarlarının tayini için katı faz ekstraksiyonunda adsorban olarak bambu kömürü kullanmışlar ve analitleri içeren örnekleri HPLC–UV ile analiz etmişlerdir. Ekstraksiyon verimliliğini etkileyen elüent türü ve hacmi, örnek akış hızı, pH ve numune hacmi gibi parametreler optimize edilmiştir. Optimum koşullar altında, atrazin ve simazin için sırasıyla korelasyon katsayıları sırasıyla 0,9991 ve 0,9982, bağıl standart sapmaları %8,3 ve %8,7 olarak bulunmuştur. Önerilen metot, musluk suyu ve yeraltı suyu örneklerinin analizine başarıyla uygulanmıştır. Geri kazanım değerleri %75,2-107,1 aralığında elde edilmiştir.

Al-Degs ve diğ. (2009) musluk suyu ve sulama amaçlı kullanılan rezervuar sularında üç toksik böcek ilacının tayini için katı faz ekstraksiyonu yönteminde adsorban olarak çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT) kullanmıştır. Çalışmada, örnek çözelti pH'sı, elüent akış hızı, elüent hacmi ve örnek hacmi gibi bazı parametrelerin ekstraksiyon verimliliği üzerine etkisi incelenmiştir. Önerilen yöntemde atrazin, metidatyon ve propoxur için gözlenebilme sınırları sırasıyla 3, 2 ve 3 $\mu\text{g L}^{-1}$, doğrusal çalışma aralıkları ise 5–30, 3–60, ve 5–40 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Yöntemin bağıl standart sapma değerleri %5'in altındadır. Musluk suyunda pestisitlerin geri kazanım değerleri %95'ten 104'e çıkarılmış olup ve bağıl standart sapma değerlerinin (RDS) %1'den %3'e değiştiği görülmüştür. Rezervuar suyunda geri kazanım değerleri daha düşük bulunmuştur (%84-93).

Katsumata ve diğ. (2010), su örneklerinde atrazin ve simazini tayin etmek için adsorban olarak çok duvarlı karbon nanotüplerin kullanıldığı katı faz ekstraksiyonu yöntemi geliştirmiş ve analitleri gaz kromatografisi- kütle spektrometresi (GC/MS) ile tayin etmişlerdir. Örnek hacmi 200 mL olduğu durumda atrazin ve simazin için zenginleştirme faktörleri sırasıyla 3900 ± 250 ve 4000 ± 110 bulunmuştur. Yöntemde analitlerin gözlenebilme (LOD) sınırları 2,5 ve 5,0 pg mL⁻¹ ve doğrusal çalışma aralığı 0,1 -1 ng mL⁻¹ dir. Bağlı standart sapma değerleri atrazin ve simazin için sırasıyla %6,9 ve %3,0 olup, geliştirilen yöntem çevresel su örneklerine uygulanmıştır.

Akdoğan ve diğ. (2013), sulu numunelerdeki bazı herbisitlerin tayini için katı faz ekstraksiyonunda Amberlite XAD-4 reçinesini adsorban olarak kullanmıştır. Simazin, atrazin ve diğer pestisitler için optimum şartlar 0,75 g reçine, pH 3,0; elüent hacmi 3,0 mL; 1,0 mL dk⁻¹ elüent akış hızı ve 4,0 mL dk⁻¹ örnek akış hızı olarak belirlenmiştir. Katı fazda alıkonan herbisitler 1 mL dk⁻¹ akış hızında metanol ile elüe edilmiştir. Elüe edilen çözeltideki analitler hareketli faz olarak su (pH: 4,7, fosforik asit) ve metanol (35:65) karışımının kullanıldığı HPLC-DAD sisteminde (220 nm dalga boyu) 1 mL dk⁻¹ akış hızında belirlenmiştir. Herbisitler için, gözlenebilme sınırı 0,084-0,121 µg L⁻¹, zenginleştirme faktörü 1000 ve doğrusal çalışma aralığı 0,5-20 mg L⁻¹ dir. Simazin, atrazin ve diğer herbisitlerin kantitatif geri kazanım değerleri %99,6-104,8 ve bağlı standart sapma değerleri (RSD) %2,2-4,8 ve %2,8-4,7 aralığında bulunmuş olup geliştirilen yöntem atık su, elma suyu ve kırmızı şarap örneklerine uygulanmıştır.

Velkoska-Markovska ve Petanovska-Ilievska (2013), elma sularındaki dört pestisit (atrazin, malathion, fenitrothion ve parathion) kalıntılarının eşzamanlı tayinlerini ters faz HPLC ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada pestisitlerin zenginleştirilmesi için Supelclean ENVI-18 SPE tüpleri kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemde LiChrospher 60 RP-select B (125 mm x 4 mm, 5 µm, Merck) kolon kullanılmış, kolon fırın sıcaklığı 25°C, akış hızı 1,0 mL dk⁻¹ ve ultraviyole dedektör ile 220 nm ve 270 nm'de çalışılmıştır. Asetonitril/su (55/47 V/V) hareketli faz olarak kullanılmıştır. Elma suyu örneklerinde araştırılan pestisitlerin geri kazanım değerleri %94,2-117,2 aralığında bulunmuştur.

Rodríguez-González ve diğ. (2015), midyedeki dokuz triazinin belirlenmesi için matris katı faz dağılımı (MSPD) esaslı bir yöntemi, ekstraksiyon için kullanılan sorbentler açısından optimize etmişlerdir. Geri kazanım değerleri %79-99 arasında ve tüm bileşikler için tekrarlanabilirlik %16'nın altında bulunmuştur. Korelasyon katsayısı $\geq 0,9993$ ve gözlenebilme sınırı değerlerinin 0,10- 0,18 mg kg⁻¹ kurutulmuş örnek arasında değiştiği görülmüştür. Yöntem Galiçya'daki midye örneklerinin analizine uygulanmıştır.

Piao ve diğ. (2019), yer fıstığı numunelerindeki triazin herbisitlerini belirlemek için matris katı faz dispersiyonu ve oyuk fiber sıvı faz mikro ekstraksiyonu olmak üzere iki ekstraksiyon yöntemi uygulamıştır. Sonuçlar, belirlenen yöntemin yüksek ekstraksiyon verimliliğine sahip olduğunu göstermiştir. Optimal koşullar altında, triazin herbisitleri için gözlenebilme sınırı 0,05 ile 1,71 µg kg⁻¹ aralığında bulunmuştur. Ayrıca, %80,4-120,0 aralığında geri kazanım değerleri bulunmuştur. Standart sapma değerleri %8,9 veya daha düşük düzeydedir. Önerilen bu yöntem, katı yağ örneklerindeki triazinin ayrılmasında, zenginleştirmesinde ve saflaştırılmasında kullanılmıştır.

Er ve diğ. (2019), 4-tert oktilfenol ve atrazinin önderiştirilmesi için dispersif katı faz ekstraksiyonunda manyetik Fe₃O₄/grafen oksit kompozitini sorbent olarak kullanmışlardır. Manyetik Fe₃O₄/grafen oksit kompoziti sentezi birlikte çöktürme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir ve sentezlenen manyetik kompozit farklı yöntemlerle karakterize edilmiştir. Dispersif katı faz ekstraksiyon yönteminde karıştırma zamanı, tampon pH'sı; sorbent miktarı, karıştırma süresi, eluent hacmi ve tampon hacmi parametreleri optimize edilmiştir. Optimum koşullarda, analitlerin belirlenmesi gaz kromatografisi-kütle spektrometri ile gerçekleştirilmiştir. Korelasyon katsayıları (R² 0,929), gözlenebilme sınırı değerleri 4-tert oktilfenol için 1,23 ng mL⁻¹, atrazin için 6,81 ng mL⁻¹ olarak bulunmuştur. Bağıl standart sapma değerleri \leq %6,2, geri kazanım değerleri %96,3-112,6 bulunmuş, önerilen yöntem musluk suyu, nehir suyu ve atık su örneklerine uygulanmıştır.

Xiaohui ve diğ. (2020), çevresel sularındaki triazin herbisitlerini tespit etmek için ekstraksiyon fazı olarak polibenzimidazolün kullanıldığı katı fazlı mikro ekstraksiyon (SPME) yöntemini, termal desorpsiyon ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (SPME/TD-GC-MS) ile birleştirmişlerdir. Gözlenebilme sınırları

0,0013–0,010 $\mu\text{g L}^{-1}$ aralığında ve bağıl standart sapma değerleri (RSD) <8,7% olarak bulunmuş olup geliştirilen yöntem musluk suyu, havuz suyu ve nehir suyu numunelerine uygulanmıştır. Triazin herbisitlerinin geri kazanımları %70,5 ile 103,5 arasında ve bağıl standart sapma değerleri %0,1 ile 8,7 arasında bulunmuştur.

Aguilar-Arteaga1 ve diğ. (2020), atrazin ve simazinin tayini için dağıtıcı sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon (DLLME) ve manyetik dispersif mikro katı faz ekstraksiyonunu (MDMSPE) birleştiren yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Önerilen metot farklı alkil veya fenil gruplarıyla fonksiyonlandırılan manyetitlerin kullanımını içermektedir. Manyetik adsorbanlar, mikrodalga yardımıyla desteklenen solvotermal yöntemle sentezlenmiştir. Atrazin ve simazinin önderiştirilmesinde bu manyetik adsorbanlar kullanılmıştır. Analitlerin kantitatif tayinleri, HPLC-DAD ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada en yüksek geri kazanımlar (>%95), pH 5, 50 mg fenil grubu, ekstraksiyon çözücüsü olarak karbon tetraklorür ve dispersif çözücü olarak metanol kullanıldığında elde edilmiştir. Simazin ve atrazin için gözlenebilme sınırları sırasıyla 13,16 ve 13,86 ng L^{-1} , kantitatif tayin sınırları 43,89 ve 46,19 ng L^{-1} ve tekrarlanabilirlik %5 olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntemin, çevre ve insan sağlığı için tehlikeli olan iki herbisit için basit, kolay ve düşük maliyetli olduğu görülmüştür.

Wua ve diğ. (2021) pestisitlerin düzensiz kullanımdan kaynaklı Çin'de yetiştirilen tatlı patateslerde herbisit kalıntısı tayini için yeni metot geliştirmişlerdir. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ve katı faz ekstraksiyonu metotlarını kullanarak tatlı patateslerdeki atrazin ve bozunma ürünlerini HPLC-DAD ile tayin etmişlerdir. Çalışmada adsorban madde olarak moleküler baskılı polimer (MIP) kullanılmıştır. Yöntem performansı değerlendirilmiş ve geri kazanımlar %79,2-103,8 aralığında bulunmuştur. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında yöntemin, hassasiyet, doğruluk ve kesinlik açısından iyi performans gösterdiği görülmüştür. Bu yöntemin kalıntı analizlerinde kullanılabileceği öngörülmüştür.

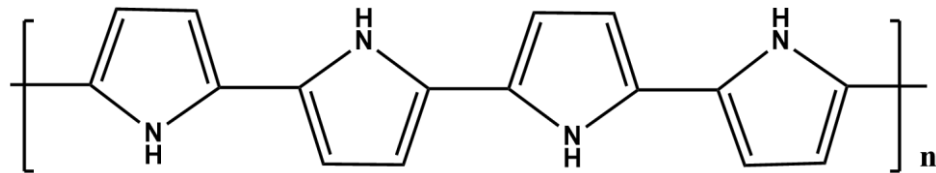
Shin ve diğ. (2021), balık ürünlerinde çoklu pestisit kalıntılarının aynı anda belirlenmesi için dispersif-katı faz ekstraksiyonu ve sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS / MS) tekniklerini kullanarak yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Örnekler QuEChERS (hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli) prosedürüne göre hazırlanmıştır. Önerilen yöntemde geri kazanım değerleri %70-125

arasında, bağıl standart sapma %20'nin altında ve gözlenebilme sınırları $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ 'den düşük bulunmuştur. Metot Kore'deki yerel pazarlardan alınan taze balık ve karides örneklerindeki (n=78) pestisit kalıntı seviyelerini araştırmak için kullanılmıştır. 66 pestisit için 10 örnek pozitif olarak belirlenmiştir. (%12,8).

Kunene ve diğ (2020), yaygın olarak kullanılan beş triazin pestisitinin analizi için, ultrasonik ekstraksiyon (UE) ve soxhlet ekstraksiyonu (SE) yöntemlerinin ardından katı faz ekstraksiyonunu SPE kullanarak yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Analitlerin geri kazanımını arttırmak için yöntemin uygulamasından önce SE için ekstraksiyon çözücüsü ve şartlandırma çözücüsü, UE için ise ekstraksiyon çözücüsü, ekstraksiyon çözücüsü hacmi ve ekstraksiyon süresi gibi bazı parametreler optimize edilmiştir. Analitlerin geri kazanım değerleri UE ve SE için sırasıyla %70-100 ve %71-87 bulunmuştur. Analitlerin gözlenebilme ve tayin sınırları UE için $1,0-2,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ve $3,2-6,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ iken SE için $0,092-0,220 \mu\text{g kg}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bütün metotlarda bağıl standart sapma değerleri <%10 olarak bulunmuş, önerilen yöntem sediment ve toprak numunelerine uygulanmıştır.

2.7.1.2 Polipirol

Polipirol (PPy), kolay sentezlenebilme özelliğinden dolayı en çok araştırılan iletken polimerlerden biridir. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonunda toz filmler elde edilirken, kimyasal polimerizasyonunda çökelek halinde, toz, jel, koloidal halde dağılmış veya bir materyel üzerine kaplanmış halde polimer elde edilebilir (Sönmez 2010). Polipirolün kimyasal yapısı Şekil 2.5 de verilmiştir.



Şekil 2.5: Polipirolün kimyasal yapısı

Polipirol 1916'da Angeli tarafından hidrojen peroksit kullanılarak sentezlenmiştir. İyon değiştirme yeteneğine de sahip olan polipirol birçok alanda kullanılmaktadır. Bunların başında kompozit materyaller, membranlar, mikroelektronik cihazlar, pil, elektronik araçlar, biosensörler ve adsorban olarak kullanımları örnek verilebilir.

PPy gibi iletken polimerlerin, elektron uzaklaştırma ve katılmaya izin vermesi gibi özellikleri iletken polimerleri ilgi çekici hale getirmiştir. Kimyasal veya diğer yükseltgenmeler ile polimerde yükler oluşur ve bu yükler polimerdeki birçok monomer birimine delokalize olur. Bu yükler aynı zamanda geometrinin daha enerjik konformasyonlara dönüşerek rahatlamasını sağlar.

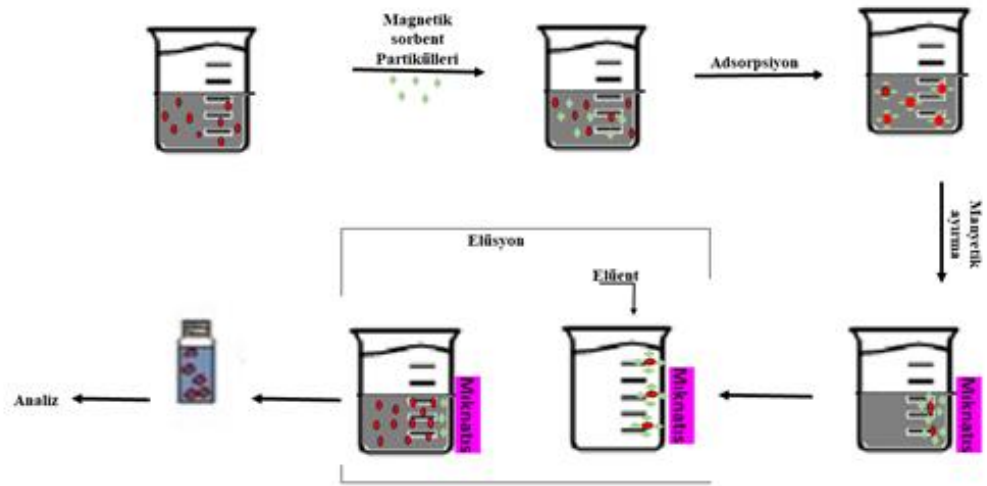
İletken polimerlerin anyonlarla kimyasal olarak yükseltgenmesine veya kationlarla indirgenmesine katkılama işlemi, polimer yapısına katılan anyon veya katyona da "katkılama maddesi" denir. Katkılama maddeleri iletken polimere sentez sırasında immobilize olabildikleri gibi aynı zamanda sentezden sonra kimyasal veya elektrokimyasal olarak da yapıya katılabilirler. Katkı maddeleri Cl , ClO_4^{-2} veya Na^+ gibi küçük anyonlar oldukları gibi polielektrolit olarak adlandırılan poli(stiren sülfonik asit) ve poli(vinil sülfonik asit) gibi büyük polimerik türler de olabilir (Ercan 2006, Sönmez 2010).

PPy'nün çeşitli katkı maddeleri ile katkılanmasıyla fiziksel, kimyasal veya elektriksel özelliklerinde değişimler olmaktadır. Bu nedenle farklı maddelerle katkılandırılmış polipirol adsorban olarak yaygın şekilde kullanılmaya başlamıştır. Bu tez çalışmasında da SPE yönteminde klorür katkılı polipirol adsorban olarak kullanılmıştır.

2.7.2 Manyetik Katı Faz Ekstraksiyonu

Manyetik katı faz ekstraksiyonu (MSPE), son yıllarda organik ve inorganik analitlerin ayrılması ve önderiştirilmesi için adsorban maddesinin hem nano boyutta hem de manyetik özelliğinin eş zamanlı kullanıma dayanan bir ekstraksiyon yöntemidir. Adsorban, analitleri içeren çözeltiye ilave edilerek, adsorban

parçacıklarının yüzeyinde adsorplanır. Nanoparçacıkların analitlerle doğrudan teması katı yüzeylerde seçici adsorpsiyona neden olur. Katı fazda tutunan analitler, numunenin santrifüjlenmesi veya filtrelenmesine gerek kalmadan ekstraksiyon kabının dışına yerleştirilen mıknatıs yardımıyla çözeltilerden ayrılır ve böylelikle ekstraksiyon süresinde bir azalma görülür. Adsorbent yüzeyinden analitin desorpsiyonu uygun bir çözücü kullanılarak gerçekleştirilir. Adsorbent ile analitleri ayırmak için uygun elüent türü seçilir ve tekrar kabın çevresine yaklaştırılan mıknatıs yardımıyla ayırma gerçekleştirilir (Wierucka ve Biziuk 2014; Taghvi ve Hamishekar 2017).



Şekil 2.5: Manyetik katı faz ekstraksiyonu işlem basamakları (Wierucka ve Biziuk, 2014)

2.7.2.1 Manyetik katı faz ekstraksiyonu ile Pestisit Tayini Çalışmaları

Pestisitlerin tayininde manyetik katı faz ekstraksiyonunun kullanıldığı literatürde yer alan bazı çalışmalar aşağıda belirtilmiştir.

Zhao ve diğ. (2011), çevresel sulardaki bazı triazin herbisitlerini (atrazin, prometon, propazin ve prometrin) tayin etmek için adsorbent olarak grafen kaplı Fe_3O_4 manyetik nanopartiküllerinin kullanıldığı manyetik katı faz ekstraksiyonu yöntemi geliştirmiş ve yüksek performanslı sıvı kromatografi-diyot algılamalı dedektör (HPLC-DAD) ile tayin etmişlerdir. Ekstraksiyon verimliliği için, örnek

çözelti pH'ı, MNP miktarı, ekstraksiyon süresi koşullarının etkisi gibi bazı parametreler optimize edilmiştir. Optimizasyondan sonra, tüm analitler için doğrusal çalışma aralıkları 0,1-50,0 ng mL⁻¹ olarak bulunmuştur. Yöntemde analitlerin gözlenebilme (LOD) sınırları 0,025- 0,040 ng mL⁻¹ dir. Bağlı standart sapma (RSD) <%5,2 olup geliştirilen yöntem farklı su numunelerindeki (göl, nehir ve rezervuar) triazin herbisitlerinin tayinine uygulanmıştır.

Tian ve diğ. (2013), içeceklerdeki pestisitlerin (metalaksil, dimetomorf, kresoksim-metil, siprodinil ve pirimetanil) önderiştirilmesinde adsorban olarak manyetik Fe₃O₄ ve karboksilopiller [5] arenin birlikte kullanımına dayalı bir manyetik katı faz ekstraksiyonu yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada, çözelti pH'sı, MNP miktarı, ekstraksiyon ve desorpsiyon süreleri ve elüent türü gibi bazı parametreler optimize edilmiştir. Pestisitlerin tayini HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Pestisitler için kantitatif geri kazanım değerleri %70,6-106,8 ve gözlenebilme sınırı değerleri ise 5,0-11,3 ng mL⁻¹ aralığında bulunmuştur.

Liang ve diğ. (2018), pirinç örneklerindeki bazı herbisitleri (terbütihazin, sekbumeton, terbumeton, atraton, atrazin, prometon ve trietazin) tayin etmek adsorban olarak MOF ile fonksiyonlandırılmış manyetik grafen oksit/silika (Fe₃O₄@SiO₂-GO/MIL-101(Cr)) kompozitinin kullanıldığı bir manyetik katı faz ekstraksiyonu yöntemi geliştirmiş ve herbisitleri HPLC ile tayin etmişlerdir. Herbisitler için kantitatif geri kazanım değerleri %83,9–103,5 ve gözlenebilme (LOD) sınır değerleri 0,010–0,080 µg kg⁻¹ aralığında bulunmuştur.

Ma ve diğ. (2018), çevresel su numunelerinde heterosiklik pestisitlerin (karbendazim, triadimefon, klorfenapir ve fenproksimat) tayini için adsorban olarak metal-organik çerçevelerden (MOFs) manyetik MOF-5'in kullanıldığı manyetik katı faz ekstraksiyon yöntemi geliştirmiş ve analitleri HPLC ile tayin etmişlerdir. Tüm analitler için doğrusal çalışma aralıkları 0,3-500,0 g L⁻¹ olarak bulunmuştur. Yöntemde analitlerin gözlenebilme (LOD) sınırları 0,04–0,11 g L⁻¹'dir.

Senosy ve diğ. (2020), su, bal ve meyve suyu örneklerindeki triazol fungusitlerinin tayin edilmesi için manyetik katı faz ekstraksiyonunda adsorplayıcı olarak zeolit imidazolat çerçeve-8 (ZIF-8) ile fonksiyonlandırılmış manyetik grafen oksit (Fe₃O₄ @ APTES-GO / ZIF-8) kompoziti kullanmışlardır. Önerilen yöntemin

optimizasyonundan sonra, tüm triazol fungusitler için doğrusal çalışma aralıkları 1-100 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Triazol fungusitlerin gözlenebilme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 0,014-0,109 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 0,047-0,365 $\mu\text{g L}^{-1}$ dir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında yöntemin, eser miktardaki triazol fungusitleri için iyi performans gösterdiği görülmüştür.

3. KROMATOGRAFI

Kromatografi, kompleks karışımlarda bulunan birbirine yakın özellikteki bileşenlerin ayrılması, teşhis edilmesi ve tayini için yaygın olarak kullanılan bir analitik yöntemdir. Bir başka deyişle kromatografi, sıvı veya gaz haldeki bir hareketli fazda bulunan karışımdaki bileşenlerin, durgun fazdan geçme hızlarına bağlı olarak ayrıldıkları bir metottur. Kromatografi 1903 yılında Rus kimyacı ve botanikçisi Michael Tswett tarafından keşfedilmiştir. Tswett, çözeltileri kalsiyum karbonat (CaCO_3) içeren ince bir kolondan geçirerek ksantofil ve klorofil gibi bitki pigmentlerini birbirinden ayırmak için bu tekniği kullandı. Ayrılan pigmentler kolonda çeşitli renklerde görüldükleri için Yunanca renk anlamına gelen chroma ve yazmak anlamına gelen graphein sözcüklerini birleştirerek yöntemine kromatografi adını verdi (Gökmen 2016).

Kromatografik uygulamalarda durgun (sabit) ve hareketli faz bulunur. Bir kolon içinde veya düz yüzeyde tutturulmuş faza 'durgun faz' adı verilir. Kromatografide durgun fazın üzerinden veya arasından geçen ve analiti de içeren faza 'hareketli faz' adı verilir. Bileşenlerin hareketli veya sabit fazda farklı oranlarda dağılması veya çözünmesi bu fazların özelliklerinin seçilmesinde temel alınır. Ayrım sırasında numune içerisindeki bileşenler ile sabit faz arasında bazı fiziksel ve kimyasal etkileşimler olmaktadır. Bu etkileşimlere örnek olarak çözünürlük, elektron çifti alıcı-verici etkileşimler, iyonik etkileşimler ve hidrojen bağı oluşumu gibi etkileşimler verilebilmektedir. (Gümüştaş 2009).

3.1 Kromatografik metotların sınıflandırılması

Kromatografik yöntemler, ortamın fiziksel durumuna göre ikiye ayrılır. Kolon kromatografide durgun faz bir kolonda tutulur ve hareketli faz basınç altında veya yerçekimin etkisiyle bu durgun faz arasından geçmeye zorlanır. Gaz ve yüksek basınçlı sıvı kromatografileri kolon kromatografiye örnektir. Düzlemsel kromatografide ise, durgun faz düz bir yüzeyde veya bir kâğıdın gözenekleri arasına tutturulur ve bu durumda hareketli faz durgun faz arasında kılcal etki veya yerçekimi

etkisiyle hareket eder. İnce tabaka ve kâğıt kromatografileri düzlemsel kromatografi çeşitleridir. Sıvı kromatografisi, hem kolonda hem de düz yüzeyler üzerinde gerçekleştirilir. Gaz kromatografisi ve süper kritik akışkan kromatografisi sadece kolonda gerçekleştirilir. Kolonun iç yüzeyinde hareketli faz bulunur.

Kromatografik yöntemlerin daha temel bir sınıflandırılması, kullanılan durgun ve hareketli fazların tiplerine ve fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelerin cinsine göre yapılır. Hareketli faz gaz ise gaz kromatografisi, sıvı ise sıvı kromatografisi, süper kritik akışkan ise süperkritik akışkan kromatografisi adını alır.

Tablo 3.1: Kolon Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması (Skoog ve diğ. 2013)

Genel Sınıflandırma	Özel Yöntem	Durgun Faz	Denge Türü
1. Gaz kromatografisi (GC)	a. Gaz-sıvı kromatografisi (GLC)	Bir katı yüzeye adsorplanmış veya bağlanmış sıvı	Gaz veya sıvı arasında dağılma
	b. Gaz-katı	Katı	Adsorpsiyon
2. Sıvı kromatografisi (LC)	a. Sıvı- sıvı veya dağılma	Bir katı yüzeye adsorplanmış veya bağlanmış sıvı	Birbiri ile karışmayan iki sıvı arasında dağılma
	b. Sıvı- katı veya adsorpsiyon	Katı	Adsorpsiyon
	c. İyon değişimi	İyon değiştirici reçine	İyon değişimi
	d. Boyut ayırma	Polimer katının gözeneklerindeki sıvı	Dağılma/eleme
	e. Afinite	Bir katı yüzeye bağlanmış özel bir sıvı	Sıvı ve hareketli sıvı yüzeyi arasında dağılma
3. Süperkritik akışkan kromatografisi (SFC)		Bir katı yüzeye bağlanmış organik türler	Süperkritik akışkan ile bağlı yüzey arasında dağılma

3.2 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) birçok alanda kalitatif ve kantitatif analizler için kullanılan analitik yöntemlerden birisidir. Bu yöntem, uçucu

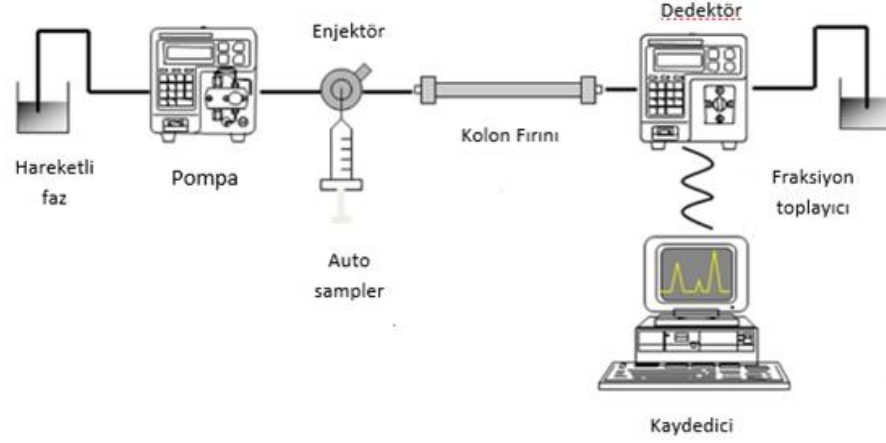
olmayan, polar, yüksek molekül kütlesine sahip ve termal olarak kararsız bileşiklerin ayrılmasında tercih edilen bir ayırma tekniğidir.

HPLC metodunun genel uygulamaları, klinik ve adli tıp çalışmalarında zehirler, uyuşturucu ilaçlar, kandaki alkol miktarının belirlenmesi, çevresel kirleticiler olarak bilenen pestisitler, herbisitler ve fenollerin kantitatif tayinleri, biyokimyasal örneklerdeki amino asitler, karbonhidratlar, lipidler ve proteinlerin miktarının belirlenmesi, gıda maddelerinde antioksidanlar, aflatoksinlerin ve katkı maddelerinin kantitatif tayinleri, sentetik yan ürün veya bozunma ürünleri düzeylerinin ölçülmesi, polimerlerin ayrılması ve molekül ağırlıklarına göre tayinleridir.

Sıvı kromatografisi birbirlerini destekleyen ve tamamlayan ayırma metotlarını içerir. Bu metotlar: (1) dağılma (sıvı-sıvı) kromatografi, (2) iyon değiştirme kromatografi, (3) adsorpsiyon (sıvı-katı) kromatografi ve (4) boyut eleme (jel filtrasyon) kromatografidir (Höl 2011).

3.2.1 HPLC Cihazı

HPLC, analitik ayırma teknikleri amacı ile en yaygın kullanılan cihazdır. HPLC cihazları genel olarak mobil faz (çözücü) şişeleri, degasser, pompa, enjektör, kolon, dedektör ve kaydediciden oluşur. Şekil 3.1’te tipik bir HPLC cihazının şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 3.1: Yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazının şematik gösterimi (Url-3)

3.2.1.1 Hareketli faz seçimi

HPLC’de kullanılacak hareketli faz, uygun bir sabit fazla etkileşime girmeyecek, hızlı ve mümkün olduğunca etkili ayırma yapabilecek özellikte olmalıdır. Hareketli faz seçiminde, saflık, viskozite, kaynama noktası, kırılma indisi, UV geçirgenlik, analitlere karşı inertlik, korozyon direnci, çevreye etkisi ve maliyet gibi kriterler dikkate alınmalıdır.

HPLC’de hareketli faz olarak sabit bileşimli tek bir çözücü kullanılarak yapılan ayırmaya izokratik elüsyon, analiz sırasında polarlıkları birbirinden farklı iki veya bazen daha fazla çözücü sistemleri kullanılarak ve bileşiminde değişiklik yapılan ayırmaya da gradiyent elüsyon denir. İzokratik elüsyon ile kıyaslandığında, ayırma gücünün arttığı ve daha etkin ayırma sağladığı görülür. Elüsyonda pH, polarite ve iyonik kuvvetlerin değiştirilmesi ile ayırıcılık daha iyi hale getirilebilir ya da analiz süresi kısaltılabilir. Hareketli fazlarla ilgili olarak unutulmaması gereken bir diğer nokta da hareketli fazda kullanılan çözücülerin birbirleri içinde karışabilir olması gerektiğidir (Akdoğan 2011).

3.2.1.2 Pompa sistemleri ve numune enjeksiyon sistemi

Bir HPLC pompasının kalitesi, sağladığı akış hızının düzenliliğiyle belirlenir. Dalganan akış hızı dedektör titreşimleri yapar. Bu titreşimler de sinyalleri etkiler (Gündüz 2015). Bu nedenle HPLC pompasında bulunması gereken özellikler şunlardır;

1. 400 atm'e kadar basınç oluşturabilmeli,
2. Puls içermeyen basınç çıkışı bulunmalı,
3. Analitik uygulamalar için akış hızı 0,1'den 10 mL dk⁻¹'ya kadar ayarlanabilmeli,
4. Sıvı akış hızının tekrarlanabilirliği %0,5 veya daha iyi olmalı,
5. Çözücülerin korozyon etkisine karşı dayanıklı olmalı ve yedek parçalarının kolay bulunabilir olması gerekir.

HPLC'de çalışma prensiplerine bağlı olarak pompalar üçe ayrılır. Bunlar; pistonlu (silindir yollu) pompalar, şırınga veya sürgülü pompalar ve pnömatik veya sabit basınç pompalarıdır.

HPLC'de kullanılan pistonlu pompalar, iç hacminin küçüklüğü, yüksek çıkış basıncı (10000 psi' ye kadar), gradiyent elüsyona uyarlanmasının kolay olması, kolon geri basıncından ve çözücü viskozitesinden bağımsız akış hızına sahip olmaları sebebiyle en çok tercih edilen pompadır.

Numune enjeksiyon sistemi, yüksek performanslı sıvı kromatografisinde analitin kolon dolgu maddesine gönderilmesinin tekrarlanabilirliğini ve ölçümlerdeki kesinliği belirleyen faktördür. Aşırı analit yüklenmiş kolonlarda görülen bant genişlemesi de kesinliği olumsuz yönde etkiler. Bu nedenle, kullanılan analit hacimleri oldukça küçük olmalıdır ve analit sisteme verilirken sistem basıncını düşürmemesi gerekir.

3.2.1.3 Kolonlar

Sıvı kromatografik kolonları ayırma işleminin gerçekleştiği yer olduğundan HPLC'nin en önemli parçasıdır ve çoğunlukla kimyasal korozyona karşı inert ve HPLC basıncına dirençli paslanmaz çelik borulardan imal edilir. Pek çok üretici tarafından üretilen analitik kolonların iç çapı genellikle 2-5 mm, preparatif çalışmalarda ise iç çapları 10-25,4 mm arasında değişmektedir. Durgun fazın partikül boyutları 10 µm veya daha düşük kullanılırsa kolonlar 5, 10, 15 ya da 25 cm uzunluğunda olabilir.

Sıvı kromatografisinde kullanılan en yaygın kolon dolgu maddeleri silikat esaslıdır. Silika esaslı maddeler doğrudan dolgu maddesi olarak kullanıldığı gibi bir katı yüzeyine fiziksel veya kimyasal bağlarla bağlanmış filmle kaplanabilir. Kolonlarda silika tercih edilmesinin bir diğer nedeni silikanın gözenekli yapısıdır, normal şartlarda gözenek boyutuyla yüzey alanı arasında ters orantı vardır (Url-4). Küçük gözenek boyutları daha çok yüzey alanı sağlarken, dolgu maddesi, silika yüzeyine ligandların daha kontrollü şekilde bağlanmasına olanak verir. Silika esaslı kolonların sıcaklık etkisinde çözünmeye uğraması ve çalışma pH aralığının dar olması dezavantajlarıdır (Çiftçi 2007). Bu nedenle silika temelli sabit fazlara organik polimerler sentezlenerek modifiye edilmekte, kimyasal ve termal yönden daha kararlı yapı kazandırılmaktadır. Bu amaçla da alümina parçacıkları, gözenekli polimer parçacıkları, poröz grafit esaslı destek maddeler ve iyon değiştirici reçineler de dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır.

Kolon seçimi esnasında kolon dolgu maddeleri ve karakteristikleri, partikül boyutu ve şekli, por çapı, fonksiyonel grupların bağlanma şekilleri, karbon yükü, end-capped özelliği, silika saflığı gibi bazı terim ve parametreler sıklıkla kullanılmaktadır (Dinçel ve Eser 2018).

Aşağıda bir kolonun partikül büyüklüğü, por çapı ve sabit faz türünü gösteren tanımlaması verilmiştir.



Şekil 3.2: Örnek bir kolonun tanımlanması

3.2.1.4 Dedektörler

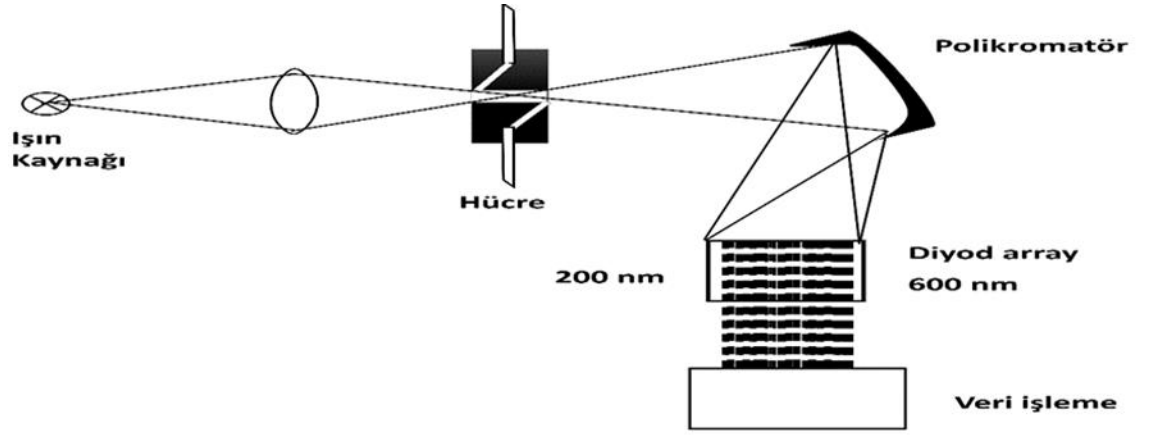
Dedektör sıvı kromatografisinde, kolondan çıkan analitlerin derişimini ölçen kısımdır. İdeal bir dedektör yüksek duyarlılık, geniş çalışma aralığı, kararlı ve tekrarlanabilirliğinin iyi olması, sıcaklık ve basınç değişimlerinden etkilenmemesi, bant genişleme etkisinin küçük olması, akış hızından bağımsız hızlı cevap verebilmesi, ucuz ve kullanımı kolay olması gibi özelliklere sahip olmalıdır.

HPLC’de kullanılan dedektörler; refraktif indeks (RI) dedektörler, ultraviyole (UV) dedektörler, floresans dedektörler (FL), elektrokimyasal dedektörler (EC), kondüktometrik dedektörler (CD) ve kütle spektrometrik dedektörler (MS) dir.

Çalışmada UV dedektör çeşitlerinden birisi olan diyot array dedektör (DAD) kullanıldığından, sadece bu dedektörden bahsedilecektir.

Diyot array dedektör:

Örnek akış hücresinden geçerken birçok değişik dalga boyunda sürekli ölçüm alabilen dedektörlerdir. En önemli avantajları, analiz için gerçek dalga boyunun seçimine olanak sağlamasıdır. Bu özellikle ayrılan bileşik hakkında hiçbir bilgi olmaması durumunda önemlidir. İkinci olarak ise; pik saflığı probleminin çözülmesinde yararlanır. Birçok durumda pik şekli, örnekte bir veya birden fazla bileşğin olup olmaması hakkında bir bilgi veremez. Böyle bir durumda absorbans farklanmasından yararlanılarak pikin içeriği hakkında bilgi sahibi olunabilir. UV dedektörler genelde yaklaşık olarak 10^{-8} veya 10^{-9} g mL⁻¹ duyarlılığında sonuç verirler. Şekil 3.3’te çalışma prensibi verilmiştir.



Şekil 3.3: Diyod array dedektörün çalışma prensibi (Höl 2011)

3.2.1.5 Dağılma Kromatografisi

HPLC’de kullanılan dört sıvı kromatografisi yönteminden en yaygın kullanılanı dağılma kromatografisidir. Bu yöntem sıvı-sıvı kromatografisi ve sıvı bağlı faz kromatografisi olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir. Sıvı-sıvı dağılma kromatografide durgun faz, katı yüzeyine fiziksel adsorpsiyonla; bağlı faz dağılma kromatografide ise kimyasal bağlarla tutturulur. Önceleri sıvı-sıvı dağılma kromatografisi yaygın iken, şimdi kararlı özelliğinden dolayı daha çok sıvı bağlı faz dağılma kromatografisi kullanılmaktadır. Sabit faz ile hareketli fazın polarite farklılıklarına göre dağılma kromatografisi normal faz dağılma kromatografisi ve ters faz dağılma kromatografisi olmak üzere ikiye ayrılır. Bu çalışmada pestisitlerin tayini için ters faz dağılma kromatografisi yöntemi kullanılmıştır.

3.2.2 Ters faz (reversed phase: RP) dağılma kromatografisi

Ters faz dağılma kromatografide sabit faz apolar, (silikajel-polimer ve üzerine bağlanmış C18, oktil veya fenil grupları, metil, etil ve $-NH_2$ gruplu dolgu maddeleri) hareketli faz ise polar (metanol, asetonitril, tetrahidrofuran gibi güçlü organik çözücülerin zayıf çözücü olan sulu veya tamponlanmış, pH ayarlı yapılmış karışımları) olan bir çözücüdür. Yüksek polariteye sahip analit kolondan ilk çıkar. Bunun nedeni, benzer özelliklere sahip maddelerin birbiri içinde dağılmasından

dolayı yüksek polariteye sahip analitin hareketli fazda iyi çözünmesidir. Yine bu özellik sebebiyle polar analit apolar sabit fazla az etkileştiği için kolonda kısa süre tutunabilir.

Analitlerin alıkonma zamanlarını kısaltmak veya arttırmak için hareketli fazın polaritesi değiştirilebilir. Alıkonma zamanını kısaltmak için hareketli fazın polaritesi azaltılır. Alıkonma zamanını arttırmak için hareketli fazın polaritesi artırılır (url-5).

3.2.2.1 RP-HPLC ile Pestisit Tayini Çalışmaları

Pestisitlerin tayininde ters faz-HPLC yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Aşağıda bununla ilgili olarak literatürden bazı örnekler verilmiştir:

Pinto ve diğ. (2000), sulardaki bazı triazin kalıntılarının belirlenmesi için C18 katı faz ekstraksiyon kartuşları kullanarak yeni bir yöntem geliştirmiştir. Analitler sabit faz olarak C18 kolonu ve mobil faz olarak su (pH: 4,6, fosforik asit) ve metanol (40:60) karışımı kullanılarak, 0,8 mL dk⁻¹ akış hızında HPLC-UV (230 nm dalga boyu) ile belirlenmiştir. Ekstraksiyon ve ayırma koşulları optimize edildikten sonra yöntem, sudaki atrazin, simazin, siyanazin ve ametrinin belirlenmesi için uygulanmıştır.

Imran ve Aboul-enein (2001), triazin pestisitlerinin (ametrin, atrazin, siyanazin ve simazin) ayrılması ve tanımlanması için HPLC-DAD yöntemini kullanmışlardır. Çalışma kolonu olarak Nova Pak C18 kolonu (150 × 3.9mm), mobil faz olarak pH'ı asetik asit ile 4,5'a tamponlanmış su ve asetonitril (35:65) karışımı kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 1 mLdk⁻¹ olup analitler 250 nm dalga boyunda tayin edilmiştir. Pestisitler için ayırma faktörü (α) değerleri 1,49-5,32 aralığında ve rezolüsyon (Rs) değerleri 1,18-2,99 arasında bulunmuştur. Geliştirilen HPLC yöntemi, toprak numunelerindeki pestisitlerin derişimlerini belirlemek için kullanılmıştır. Toprak numunelerindeki pestisitlerin geri kazanım değerleri %50, standart sapma değerleri 0,01-0,02 ve gözlenebilme sınırı 0,5-1,0 µg mL⁻¹ aralığında bulunmuştur.

Melo ve diğ. (2005), domateslerdeki altı pestisit (tebuthiuron, diuron, simazin, atrazin ve ametrin ve benomil) önderiştirilmesinde adsorban olarak silika bazlı C18 (oktadesil) ve NH₂'in (aminopropil) kullanıldığı katı faz ekstraksiyon (SPE) yöntemi geliştirmiştir. Pestisitler HPLC ile tayin edilmiştir. HPLC'de Purospher RP-18 5 µm kolonu, mobil faz olarak %0,01 sulu NH₄OH (pH: 8,4) ve asetonitril (35:65) karışımı kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 0,7 mL dk⁻¹ olup analitler 235 nm dalga boyunda tayin edilmiştir.

Wang ve diğ. (2011), su ve toprak örneklerinde beş triazin herbisit (simazin, atrazin, prometon, ametryn ve prometryn) belirlenmesi için dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) yöntemi geliştirmiş ve HPLC ile tayin etmişlerdir. Su numunelerine doğrudan DLLME yöntemi uygulanmıştır. Toprak örneklerinde ise analitler ilk önce su-metanol (99:1, h/h) ile ekstrakte edilmiştir. DLLME ekstraksiyon yönteminde, ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform, dispersif çözücüsü olarak da asetonitril kullanılmıştır. Optimum koşullar altında, DLLME'nin zenginleştirme faktörleri 183-221 aralığında değişiklik göstermiştir. Geliştirilen yöntemin doğrusal çalışma aralıkları, su numunesi analizi için sırasıyla 0,5-200 ng mL⁻¹ ve toprak numuneleri için 1-200 ng g⁻¹ olarak bulunmuştur. Önerilen yöntemde su ve toprak numuneleri için gözlenebilir sınır değerleri 0,05-0,1 ng mL⁻¹ 0,1-0,2 ng g⁻¹ aralığında değiştiği görülmüştür.

Drăguş ve diğ. (2014) toprak örneklerindeki yedi herbisit (simazin, prometon, atrazin, ametryn, propazin, prometryn, terbutryn) ayrılması ve önderiştirilmesi için katılaştırılmış yüzen organik damla esaslı dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (SFO-DLLME) ve ultrasonik destekli ekstraksiyon (USAE) yöntemini geliştirmiş ve HPLC-UV (220nm) ile tayin etmişlerdir. Ekstraksiyon verimliliği için pH, iyonik güç ve ekstraksiyon çözücüsü gibi bazı parametreler optimize edilmiştir. Geliştirilen yöntemde, gözlenebilir sınırı değerlerinin 0,19-0,68/0,62-2,06 µg kg⁻¹, zenginleştirme faktörlerinin 176-247 arasında değiştiği görülmüştür.

Rosmalina ve diğ. (2019), karbamat insektisitinin toprak örneklerindeki kalıntılarının belirlenmesi için çalkalama ekstraksiyonu ve SPE yöntemi ile birlikte ters faz HPLC yöntemini kullanmışlardır. Yöntemde karbofuran ve karbar tayini için C-18 kolon, hareketli faz olarak asetonitril-su ve ultraviyole dedektör kullanmıştır.

Pengalengan toprak numunesinde karbofuran ve karbar için geri kazanım değerleri %80,53-82,06 ve standart sapma değerleri %3,78 ve 4,51 aralığında bulunmuştur. Topraktaki karbofuran ve karbaril, yağmursuz mevsimde Pangalengan ve Lembang'dan alınan her iki örnek için sırasıyla 0,3350 ve 0,2958 $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlenirken, yağmurlu mevsimde bu bileşiklerin hiçbiri saptanmamıştır. Bu, karbamat insektisitlerin yağmurlu mevsimde yağmur suyuyla veya ortamdaki bozulma yollarıyla topraktan yıkandığını göstermiştir.

Özzybek ve diğ. (2020), bitki çayları, kurutulmuş yaban mersini ve kızılçık örneklerinde HPLC-UV ile eser miktardaki buturon tayini için yeni bir yöntem geliştirmiştir. Çalışmada analitik dalga boyu, mobil faz oranları, mobil faz akış hızı ve enjeksiyon hacmi gibi bazı parametreler optimize edilmiştir. Optimum koşullar altında, gözlenebilme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 9,5 ve 32 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Önerilen yöntemde buturon çalışma aralığı 0,05 ile 168 mg kg^{-1} olup en düşük derişim için bağıl standart sapma %7,2 olarak bulunmuştur. Bitkisel çay, kurutulmuş yaban mersini ve kızılçık örnekleri için geri kazanım değerleri %88 ile %118 arasında bulunmuştur.

Özdoğan ve diğ. (2020), HPLC-UV ile mısır unu ve kurutulmuş domates çorbası örneklerinde atraton tayinini gerçekleştirmişlerdir. Atraton tayininde C18 kolon, mobil faz olarak da 70:30 su (pH 6,0 asetat tamponu) ve asetonitril kullanılmıştır. (220 nm dalga boyu). Gözlenebilme sınırı 0,10 mg L^{-1} , korelasyon katsayısı (R^2) 0,9997 ve bağıl standart sapma %3,9 olarak bulunmuştur. Geri kazanım değerleri %90 ve 108 olarak bulunmuştur.

4. MATERYAL VE METOD

4.1 MATERYAL

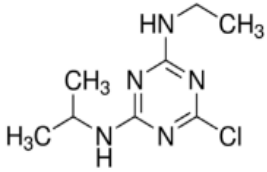
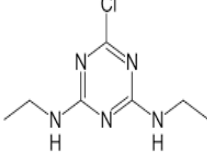
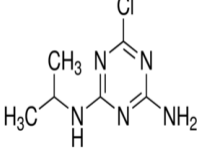
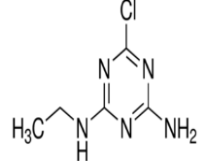
4.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma boyunca çözeltilerin hazırlanması ve seyreltilmesi aşamalarında ters ozmosla elde edilen, direnci en az 18 MΩ olan ultra saf su kullanılmıştır. Kromatografik saflıkta aseton ve metanol (MeOH) SigmaAldrich firmasından, FeCl₃.6H₂O Merck firmasından, %99 pirol Alfa Aesar firmasından satın alınmıştır.

Atrazin (2-klor-4-etilamin-6-izopropilamin-1,3,5-triazin), simazin(2,4-Bis(etilamin)-6-klor-1,3,5-triazin), atrazin desetil(2-Amin-4-klor-6-izopropilamin-1,3,5-triazin) ve atrazin deizopropil (2-Amin-4-klor-6-etilamin-1,3,5-triazin) pestisit standartları Dr. EhrenstorferGmbH (Almanya) firmasından alındı.

Stok standart çözeltiler, pestisit derişimleri 10 mg L⁻¹ olacak şekilde gerekli miktarların metanolde çözülmesiyle ayrı ayrı hazırlandı. 2 mg L⁻¹ derişimindeki ara stok çözeltiler, bu stok çözeltilerden metanol ile seyreltilerek hazırlandı. Çalışma çözeltileri, bu stoktan seyreltme ile günlük olarak hazırlanmış ve +4°C 'de saklanmıştır. Tayini yapılan pestisitlerin şekilleri ve mol kütleleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1: Tayini yapılan pestisitlerin molekül yapıları ve mol kütleleri

	Atrazin	Simazin	Atrazin desetil	Atrazin deizopropil
Yapı				
Mol kütleleri, g mol ⁻¹	215,68	201,65	187,68	173,68

Tampon çözeltilerinin hazırlanması;

pH 4 Tamponu: 27,2 g $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ az miktar suda çözüldü. Üzerine 57,6 mL derişik CH_3COOH eklenip hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 5 Tamponu: 23,6 g $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ az miktar suda çözüldü. Üzerine 5,7 mL derişik CH_3COOH eklenip hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 6 Tamponu: 20,4 g $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ az miktar suda çözüldü. Üzerine 0,5 mL derişik CH_3COOH eklenip hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

4.1.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar

4.1.2.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

Bu çalışmada pestisitlerin tayinleri Shimadzu LC-20AD pompa, SPD-M20A model foto diyot arraydedektörü (DAD), SIL-20A model otomatik örnekleyici, CTO-20A model kolon fırını, DGU-20A5 model degazör içeren HPLC sistemi (Shimadzu, Kyoto, Japan) ile gerçekleştirildi. Analitik kolon olarak 4,6 mm iç çap, 250 mm uzunluk, 5- μm partikül boyutuna sahip Inertsil ODS-3 kolonu (GL Sciences, Japan) kullanıldı.

HPLC/DAD dedektörü ile spektrum taraması sonucu, dalga boyları atrazin ve atrazin desetil için 214 nm, simazin için 219 nm, atrazin deizopropil 210 nm olarak belirlendi. Kromatogramların anlaşılır olması için çalışmada için tek bir dalga boyunda, 214 nm'de alınan kromatogramlar gösterildi. Kromatografik analizde atrazin deizopropil, atrazin desetil, simazin ve atrazin alıkonma zamanları sırasıyla 3,36, 3,78, 4,81 ve 5,82 dk. olarak belirlendi. (Hareketli faz bileşimi: %75:25 MeOH:H₂O, akış hızı: 0,9 mL dk⁻¹)

4.1.2.2 Diğer Aletler

Tartım işlemleri PRECISA XB 220A marka ± 0.0001 g duyarlıktaki analitik terazi ile yapılmıştır. Çözeltilerin pH ölçümü için WTW 720 marka pH metre kullanılmıştır. Hareketli fazdaki çözünmüş oksijenin uzaklaştırılması için Bandelin Sonarex marka ultrasonik banyo kullanılmıştır. Çözeltilerin karıştırılmasında VELP Scientifica marka vorteks kullanılmıştır.

Herbisitlerin önderiştirilmesi için boş katı faz ekstraksiyon tüpleri (6 mL) kullanılmıştır. Boş polipropilen katı faz ekstraksiyon tüpleri Supelco firmasından satın alınmıştır. Tüplerin alt kısmına cam pamuğu yerleştirilmiştir.

4.2 METOD

4.2.1 Manyetik Katı Faz Ekstraksiyonu ile Pestisitlerin Önderiştirilmesi

Manyetik katı faz ekstraksiyonu yönteminde öncelikle Fe_3O_4 sentezi yapılmıştır. Sentezlenen bu manyetit farklı maddeler ile kaplanmış ve kaplanan bu manyetitlerin pestisitlerin önderiştirilmesinde adsorban olarak kullanımı araştırılmıştır.

4.2.1.1 Fe_3O_4 sentezi

0,3 mol $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve 0,011 mol $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ tartıldı. Üzerine 400 mL saf su eklenerek, çözünmesi sağlandı. Manyetik karıştırıcılı ısıtıcıyla $80^\circ C$ 'ye ısıtıldı. Çözelti sıcaklığı $80^\circ C$ 'ye ulaştığında üzerine 20 mL %25'lik amonyak çözeltisinden ilave edildi. Bu halde karıştırma hızı 1000 rpm'i geçmeyecek şekilde 5 dakika daha karıştırma işlemi yapıldı. Oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Son olarak siyah çözelti elde edildi ve oluşan bu siyah çözelti miknatis yardımıyla 4 defa 100 mL saf suyla yıkandı. $70^\circ C$ ' de 10 saat etüvde kurutuldu (Tahmasebi ve diğ. 2013).

4.2.1.2 8-Hidroksikinolin-Fe₃O₄ manyetik paracak sentezi

Bölüm 4.2.1.1.1'deki prosedüre göre sentezlenen Fe₃O₄'ten 0.5 g alınarak, 125 mg sodyum dodesil sülfat (SDS) içeren 50 mL'lik çözeltiye ilave edildi. Çözelti pH'sı, 4 M hidroklorik asit ile 2,5 yapıldı ve 10 dakika boyunca manyetik çalkalayıcı ile karıştırıldı. Üstteki sulu faz boşaltıldı ve SDS kaplı Fe₃O₄, su ile iyice yıkandı. Daha sonra 50 mL deiyonize su ve 50 mL oksim çözeltisi eklendi. Çözelti 4 saat vortekste çalkalandı ve daha sonra manyetik oksit bir mıknatıs ile ayrıldı ve deiyonize su ile yıkandı. Örnekler oda sıcaklığında kurutuldu (Tan ve diğ. 2015).

4.2.1.2.1 8-Hidroksikinolin-Fe₃O₄ manyetik paracak kullanımıyla pestisit tayini

Öncelikle 10 mg 8-hidroksi kinolin-Fe₃O₄ tartılarak cam viallere alındı. 2 mL balon jodede içerisinde her bir herbisit derişimi (atrazin, simazin, atrazin deizopropil, atrazin desetil) 400 µg L⁻¹ olan model çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu çözelti cam vialdeki 10 mg 8-hidroksi kinolin-Fe₃O₄ üzerine eklenerek 5 dakika vortekste çalkalandı. Viale yaklaştırılan mıknatıs yardımıyla analitler katı fazda tutunurken sulu faz mikropipetle ayrıldı. Katı fazda tutunan analitler viallere ilave edilen 250 µL MeOH ile elüe edildi ve tekrar vialde yaklaştırılan mıknatıs yardımıyla katı faz ve sulu faz birbirinden ayrıldı. Ayrılan sulu fazdan alınan 10 µL otomatik örnekleyici ile HPLC' ye enjekte edildi. Hareketli faz %75:25 MeOH:H₂O, akış hızı 1 mL dk⁻¹dir.

Analiz sonunda elde edilen kromatogramlarda herbisitlere ait herhangi bir pik görülmemiştir. Bu nedenle diğher tüm parametreler aynı kalacak şekilde elüent türü değıştirilmiş ve 250 µL asetonitril kullanılarak çalışma tekrarlanmıştır. Elüent olarak asetonitril kullanıldığında da kromatogramlarda analitlere ait herhangi bir pik gözlenmemiştir. Sonrasında kullanılan katı faz miktarı da artırılmış fakat herbisitlerin geri kazanım değıerleri oldukça düşük bulunmuştur. Bu nedenle, deneylerde katı faz olarak 8 hidroksikinolin-Fe₃O₄ manyetik nanokompozit yerine başka bir nanokompozit türü olan Fe₃O₄-polipirol manyetik parçacığının denenmesine karar verilmiştir.

4.2.1.3 Fe₃O₄–polipirol sentezi

Bölüm 4.2.1.1'deki prosedüre göre sentezlenen Fe₃O₄ havanda kum gibi ezildi. Bir behere alınan 1 g Fe₃O₄ üzerine 10 mL asetonitril eklendi ve ağzı parafilmle kapatılarak, ultrasonik banyoda 10 dakika bekletildi. Bu esnada 0,048 g KMnO₄ tartılıp asetonitril ile çözülerek 50 mL'lik çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyodan alınan Fe₃O₄ üzerine 1,7 mL pirol ilave edilerek çözelti manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırma hızı 500 rpm'i geçmeyecek şekilde 15 dakika karıştırıldı. Sonra hazırlanan 50 mL KMnO₄ çözeltisi yavaş yavaş (20-25 dk.) olacak şekilde damlatıldı. KMnO₄ eklendikten sonra 3 saat karıştırmaya bırakıldı. Devamında mıknatıs yardımıyla Fe₃O₄-polipirol beherin kenarına tutturularak üstteki faz döküldü. 3 kez 50-60 mL saf su ile, 3 kez 50-60 mL etanol ile yıkandı. 70 °C'de 5 saat etüvde kurutuldu (Zhang ve diğ. 2006).

4.2.1.3.1 Fe₃O₄–polipirol manyetik parçacık kullanımıyla pestisit tayini

Öncelikle 10 mg Fe₃O₄-polipirol tartılarak cam vialde 2 mL balon jodede içerisinde her bir herbisit derişimi (atrazin, simazin, atrazin deizopropil, atrazin desetil) 400 µg L⁻¹ model çözelti eklendi. Hazırlanan bu çözelti cam vialdeki 10 mg Fe₃O₄-polipirol üzerine eklenerek 5 dakika vortekste çalkalandı. 5 dakika bekledikten sonra vialde yaklaştırılan mıknatıs yardımıyla analitler katı fazda tutunurken sulu faz mikropipetle ayrıldı. Katı fazda tutunan analitler viallere ilave edilen 250 µL ACN ile elüe edildi ve tekrar vialde yaklaştırılan mıknatıs yardımıyla katı faz ve sulu faz birbirinden ayrıldı. Ayrılan sulu fazdan alınan 10µl otomatik örnekleyici ile HPLC'ye enjekte edildi. Hareketli faz%75:25 MeOH:H₂O olup akış hızı 1 mL dk⁻¹dir.

Analiz sonunda elde edilen kromotogramlarda herbisitlere ait herhangi bir pik görülmedi. Bu nedenle elüent türü MeOH olarak değiştirildi. Elüent türünün değiştirilmesine rağmen, kromotogramda herbisitlere ait herhangi bir pik gözlenmemiştir. Adsorplayıcı miktarı arttırılarak deneyler tekrarlandığında da herbisitlerin geri kazanım değerleri oldukça düşük bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlardan herbisitlerin önderiştirilmesinde, 8-hidroksikinolin ve polipirol kaplı Fe_3O_4 'ün adsorban olarak kullanıldığı manyetik katı faz ekstraksiyonu yönteminin uygun olmadığı görülmüştür. Bu nedenle herbisitlerin önderiştirilmesinde manyetik SPE yöntemi yerine kolon tekniğinin kullanıldığı yeni bir katı faz ekstraksiyon yöntemi geliştirilmesine karar verilmiştir.

4.2.2 Katı Faz Ekstraksiyonu ile Pestisitlerin Önderiştirilmesi

Katı faz ekstraksiyonu ile pestisitlerin önderiştirilmesinde öncelikle adsorplayıcı madde sentezi yapılmıştır. Bu çalışmada adsorplayıcı olarak kullanılan klorür katkılı polipirolün pestisitlerin önderiştirilmesinde kullanılabilirliği araştırılmıştır.

4.2.2.1 Klorür Katkılı Polipirol Sentezi

Klorür katkılı polipirol (PPyCl) kimyasal oksidasyon polimerizasyonu metodu ile sentezlendi. Polimerizasyon sulu ortamda gerçekleştirildi. 150 mL $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (0,05 mol) çözeltisi hazırlanarak bu çözelti üzerine damla damla 1,75 mL (0,025 mol) pirol (monomer) çözeltisi eklenerek manyetik karıştırıcı üzerinde 3 saat karıştırıldı. Polimerizasyon bittikten sonra oluşan siyah tanecikler süzülerek önce su daha sonra metanol ve tekrar su ile yıkanarak 18 saat boyunca 40 °C'de etüvde kurutuldu (X. Hang 2005, Sönmez 2010).

Sentezlenen PPyCl istenilen miktarlarda tartılarak, katı faz ekstraksiyon tüplerine dolduruldu.

4.2.2.2 Klorür katkılı polipirol kullanımıyla pestisit tayini

Önderiştirme çalışmaları model çözeltiler kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla öncelikle Bölüm 4.2.1.1'deki prosedüre göre sentezlenen PPyCl'den istenilen miktarda tartılarak, boş katı faz ekstraksiyon tüplerine dolduruldu. 2 mL içerisinde her bir herbisit derişimi $400 \mu g L^{-1}$ olan çözeltilere 1 mL pH:5 asetat tamponu eklendi.

Kolonu şartlandırmak için vakum altında 2 mL pH:5 tamponu geçirildi. Bu işlem her deriştirme öncesi tekrarlandı. Şartlandırılan kolondan analitleri içeren çözelti geçirildi ve 10 mL aseton ile elüe edildi. Elde edilen elüasyon çözeltisi N₂ gazı varlığında buharlaştırıldı ve kuru tortu 500 µL MeOH ile tekrar elüe edildi. Elde edilen bu çözeltiden alınan 10 µL'lik kısım HPLC'ye enjekte edildi. Hareketli faz %75:25 MeOH:H₂O karışımı olup hareketli faz akış hızı 0,9 mL dk⁻¹dir.

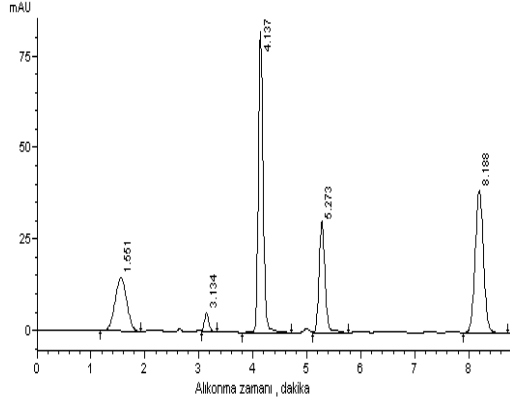
5. BULGULAR

5.1 Kromatografik Şartların Optimizasyonu

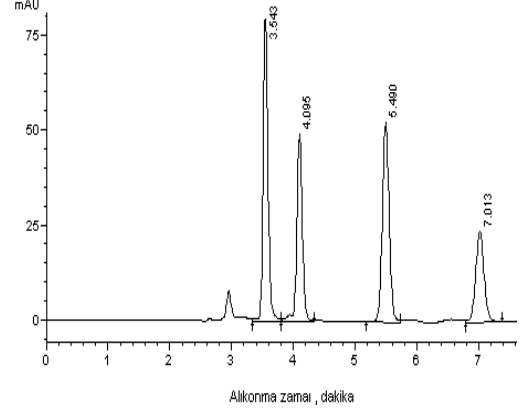
Kromatografik herbisit tayini için öncelikle herbisitlerin alıkonma zamanlarının belirlenmesine çalışıldı. Öncelikle 1 mL dk⁻¹ akış hızında ve % 75 Metanol: %25 H₂O(v/v) içeren hareketli fazda atrazin, simazin, atrazin desetil ve atrazin deizopropil herbisitlerinin Inertsil ODS-3 kolonda alıkonma zamanları belirlendi. Bunun için farklı derişimlerde analitleri içeren çözeltilerden alınan 10 µL çözeltiler otomatik örnekleyici ile HPLC'ye enjekte edildi ve artan derişimle birlikte pik alanlarının artmasından yararlanılarak piklerin hangi analite ait olduğu belirlendi. Elde edilen kromatogramlarda ilk gelen pikin atrazin deizopropil, ikinci pikin atrazin desetil, 3. pikin simazin ve son pikin ise atrazine ait olduğu bulunmuştur.

5.1.1 Hareketli Faz Bileşiminin Etkisi

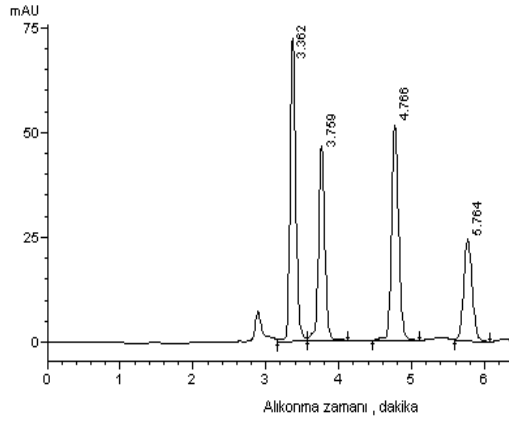
Kromatografik kolonda ayırmayı iyileştirmek için yapılan işlemlerden biri, hareketli faz bileşimini değiştirmektir. Çünkü bir kolonun ayırma gücünü arttırmak için yararlanılan parametrelerden biri olan kapasite faktörü, k', hareketli fazın bileşimine bağlıdır. Bunun için çalışmada analitlerin alıkonmasına hareketli fazdaki metanol yüzdesinin etkisi incelendi. Metanol yüzdesi 60, 70, 75, 80, 85 olacak şekilde değiştirildi ve elde edilen kromatogramlar incelendi. Hareketli faz akış hızı 1 mL dk⁻¹'dir.



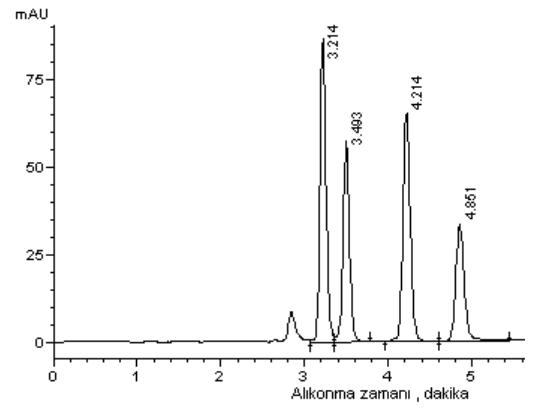
(A)



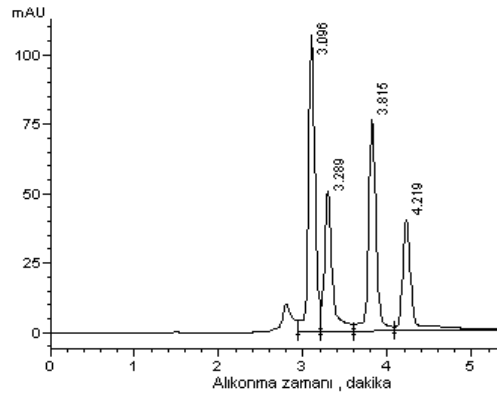
(B)



(C)

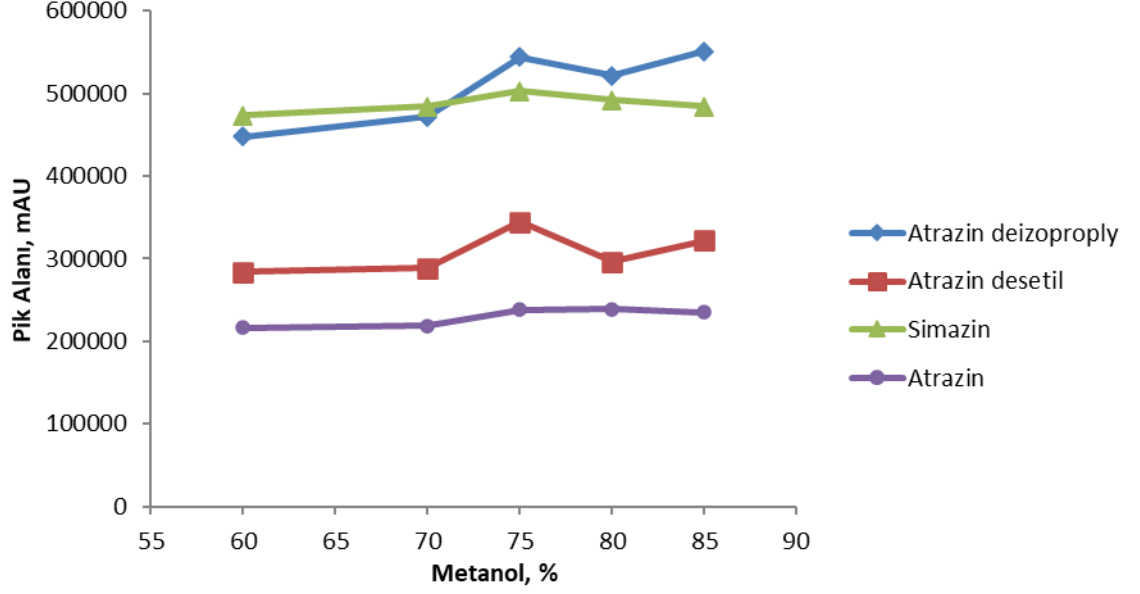


(D)



(E)

Şekil 5.1: Hareketli faz bileşimi (A) MeOH:H₂O (60:40), (B) MeOH:H₂O (70:30), (C) MeOH:H₂O (75:25), (D) MeOH:H₂O (80:20), (E) MeOH:H₂O (85:15) olduğunda elde edilen kromatogramlar (Akış hızı 1 mL dk⁻¹)

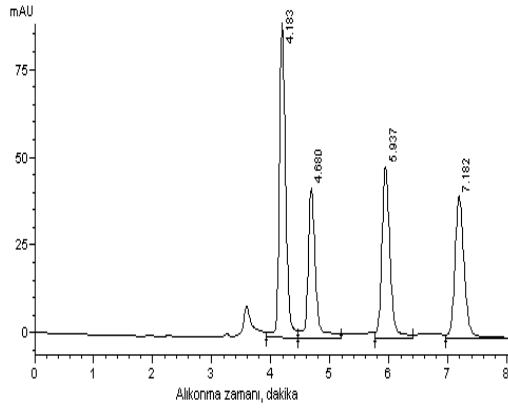


Şekil 5.2: Analitlerin alıkonmasına hareketli fazdaki Metanol miktarının etkisi (◆:Atrazin deizopropil, ■:Atrazin desetil, ▲:Simazin, ●:Atrazin) (n:4)

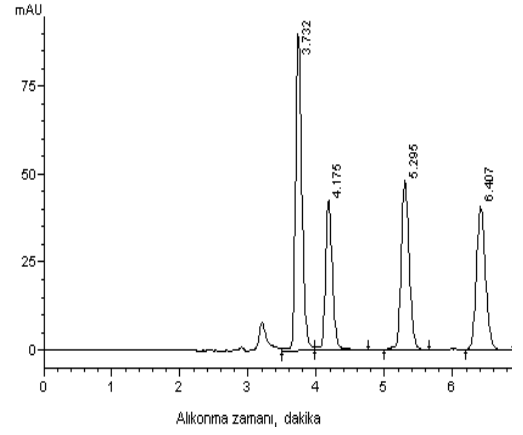
Hareketli faz bileşiminde metanol yüzdesi 60 olduğunda piklerin alıkonma zamanlarının uzadığı görülmüştür. (Şekil 5.1 A) Herbisitlerin alıkonma süresini kısaltmak için hareketli fazdaki MeOH yüzdesi artırıldığında atrazin deizopropil piki tamamlanmadan atrazin desetil piklerinin geldiği gözlemlendi (Şekil 5.1 D ve E). MeOH yüzdesi %70 olduğunda analitlerin pik alanlarında azalma gözlemlenmiştir (Şekil 5.1 B). Elde edilen bu verilerden en uygun hareketli faz bileşimi % 75 MeOH: % 25 H₂O olarak belirlenmiştir.

5.1.2 Hareketli Faz Akış Hızının Etkisi

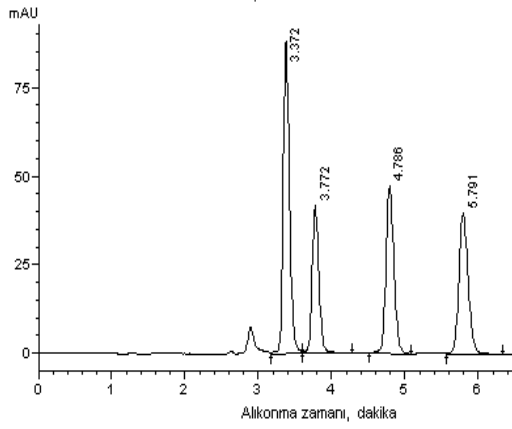
Kromatografi çalışmalarda optimize edilmesi gereken diğer bir değişken, hareketli fazın akış hızıdır. Çözeltinin akış hızının optimum hale getirilmesi, kromatografide kolonun ayırma gücünü arttıran faktörlerden birisidir. Atrazin deizopropil, atrazin desetil, simazin ile birlikte atrazin tayini için hareketli faz bileşimi %75 MeOH:%25 H₂O yapılarak hareketli fazın akış hızları 0,8; 0,9; 1,0; 1,1 ve 1,2mL dk⁻¹ olarak değiştirilmiş ve elde edilen kromatogramlar Şekil 5.3'te verilmiştir.



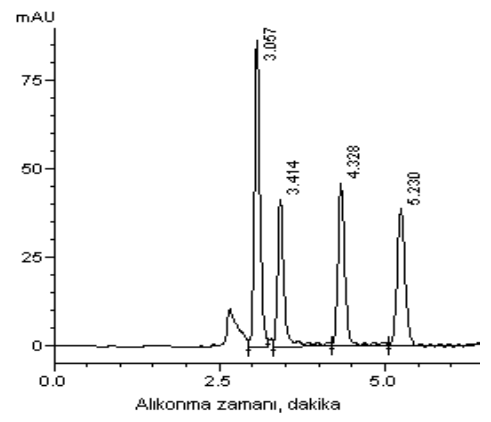
(A)



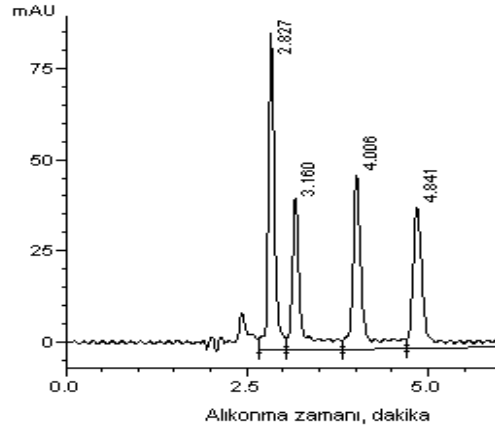
(B)



(C)



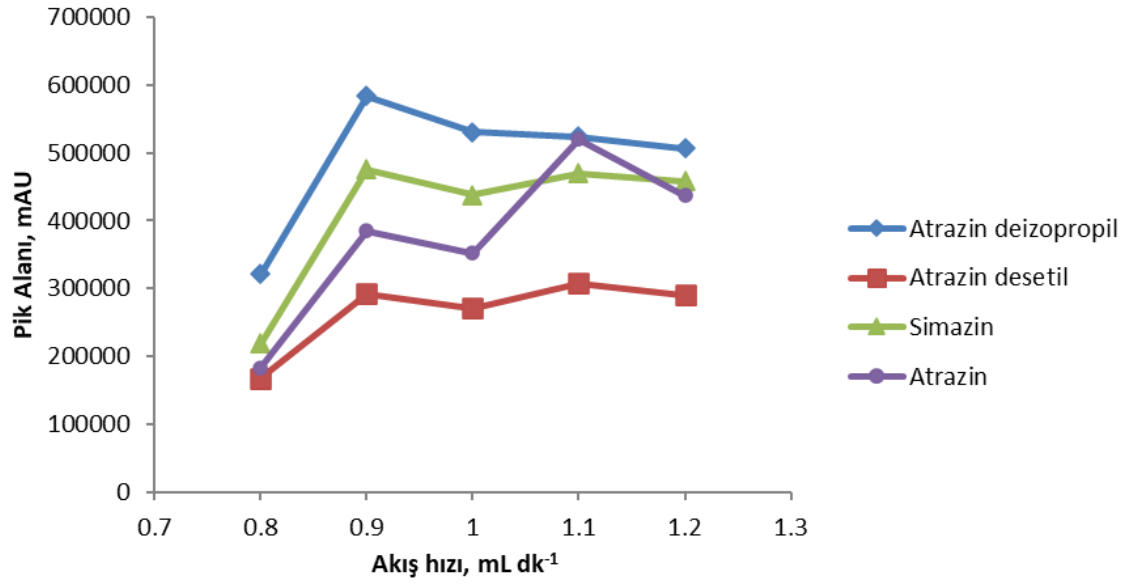
(D)



(E)

Şekil 5.3: Akış hızı 0,8 (A), 0,9 (B), 1,0 (C), 1,1 (D) ve (E)1,2 mL dk⁻¹ olduğunda elde edilen kromatogramlar (Hareketli faz %75 MeOH:%25 H₂O)

Hareket faz akış hızı 1,1 ve 1,2 mL dk⁻¹ olduğunda atrazin deizopropil piki tamamlanmadan atrazin desetil pikinin geldiği gözlenmiştir (Şekil 5.3 D-E). Hareketli faz akış hızı 0,8, 0,9 ve 1 mL dk⁻¹ yapıldığında elde edilen kromatogramlar incelendiğinde hareketli fazın akış hızının azalmasıyla analitlerin alıkonma sürelerinin arttığı ve analiz sürelerinin uzadığı görülmüş, fakat duyarlılık artmıştır. Şekil 5.4'te atrazin deizopropil, atrazin desetil, simazin ve atrazinin pik alanlarının hareketli faz akış hızı ile değişimi verilmiştir. Şekilden 0,9 mL dk⁻¹ akış hızında tüm analitlerin pik alanlarında artma olduğu görülmüştür.



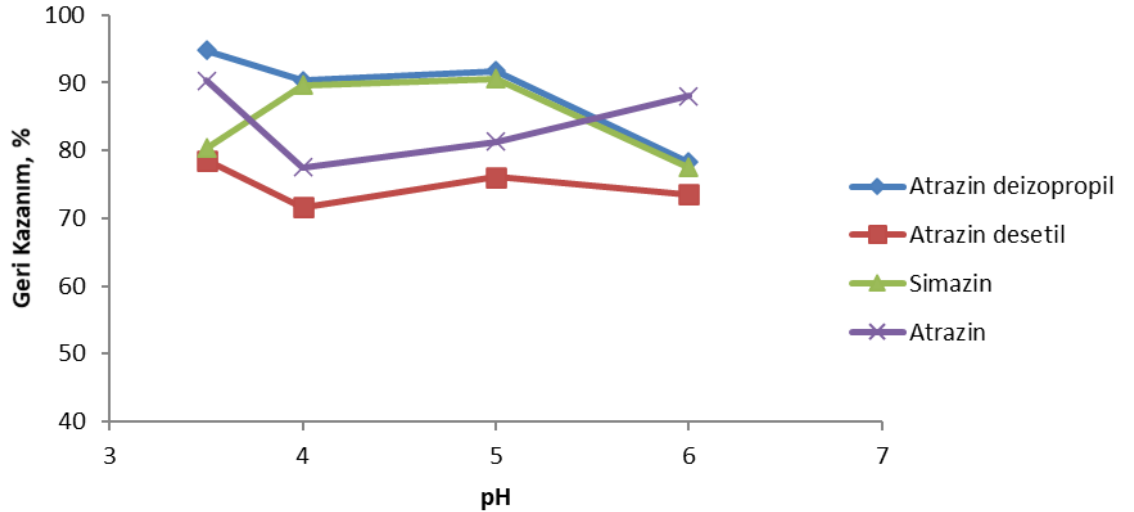
Şekil 5.4: Analitlerin alıkonma zamanlarına hareketli faz akış hızının etkisi (◆:Atrazin deizopropil, ■:Atrazin desetil, ▲:Simazin, ●:Atrazin) (n:4)

Elde edilen bu verilerden herbisitlerin HPLC ile tayini için en uygun akış hızı 0,9 mL dk⁻¹ olarak seçilmiştir ve bu akış hızında herbisitler için kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Belirlenen bu akış hızında atrazin deizopropil, atrazin desetil, simazin ve atrazinin alıkonma zamanları sırasıyla 3,732, 4,175, 5,296 ve 6,407 dakikadır.

5.2 SPE Yönteminin Optimizasyonu ve Bulgular

5.2.1 pH Etkisi

Katı faz ekstraksiyonunda ve herbisitlerin önderiştirilmesinde çözeltinin pH'ı önemli bir rol oynamaktadır. Bunun nedeni pH'nın adsorban malzemenin işlevselliğini etkilemesi ve herbisitlerin ayrışma sabiti (pKa'nın) çözeltinin pH'sına bağlı olmasıdır. Herbisitlerin klorür katkı polipirol esaslı kolon üzerine tutunmalarına pH etkisini incelemek için model çözeltilerin pH'ı tampon çözeltiler kullanılarak 3,5 ile 6 aralığında değiştirilmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 5.5'te gösterilmiştir.



Şekil 5.5: Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına pH Etkisi (◆:Atrazin deizopropil, ■:Atrazin desetil, ▲:Simazin, ●:Atrazin) (n:4)

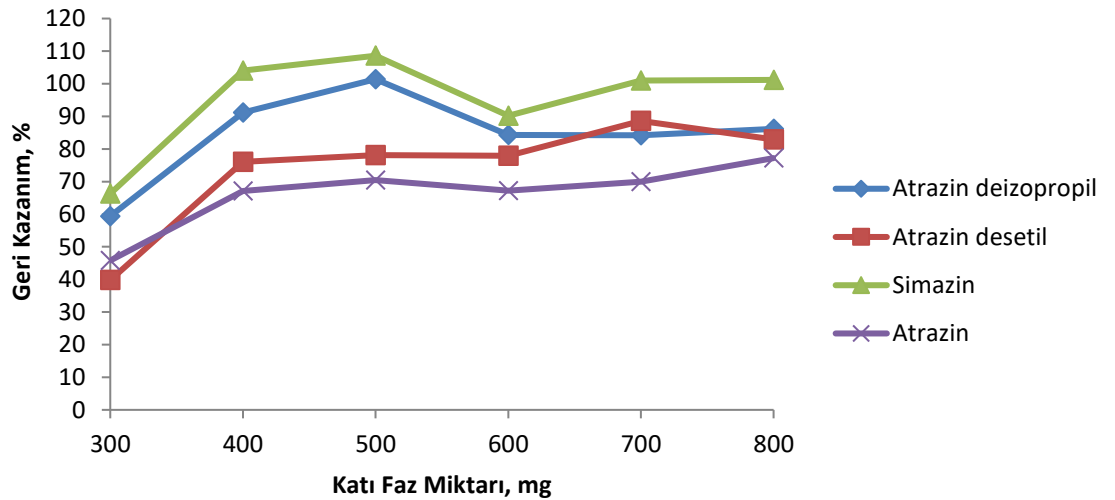
Şekilde görüldüğü gibi atrazin dışındaki diğer pestisitlerin geri kazanımında pH:5'ten sonra azalma gözlenmiştir. Bu durum artan pH'la birlikte PPy⁺Cl⁻'ün deprotonazasyonu nedeniyle PPy⁺'ün katyonik özelliğinin azalması ve böylece pestisitlere ilgisinin azalması ile açıklanabilir.

pH:5'te Atrazin deizopropil ve simazin için geri kazanım değerleri kantitatif (>%90) olmakla birlikte, atrazin ve atrazin desetil için geri kazanım değerleri %80 civarındadır. Kromatografik çalışmalarda analitlerin %80 civarında tayin

edilebilmesi de önem taşımaktadır ve kabul edilebilir bir değerdir. Bu nedenle dört farklı pestisit in eş zamanlı olarak tayin edilebilmesi için çalışmanın devamında asetik asit-asetat tampon çözeltisi kullanılarak, pH 5'te çalışılması uygun görülmüştür. Optimum pH:5 olarak belirlenmiştir.

5.2.2 Adsorplayıcı Miktarının Etkisi

Adsorban miktarı katı faz ekstraksiyonlarında önemli parametrelerden biridir. Herbisitlerin geri kazanımına katı faz miktarının etkisini incelemek amacıyla adsorplayıcı olarak kullanılan klor katkı polipirol miktarı 300-800 mg aralığında değiştirilerek katı faz kolonları hazırlanmış ve her bir pestisit derişimi $400 \mu\text{g L}^{-1}$ olan model çözeltiler eklenerek yöntem uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 5.6'da verilmiştir.

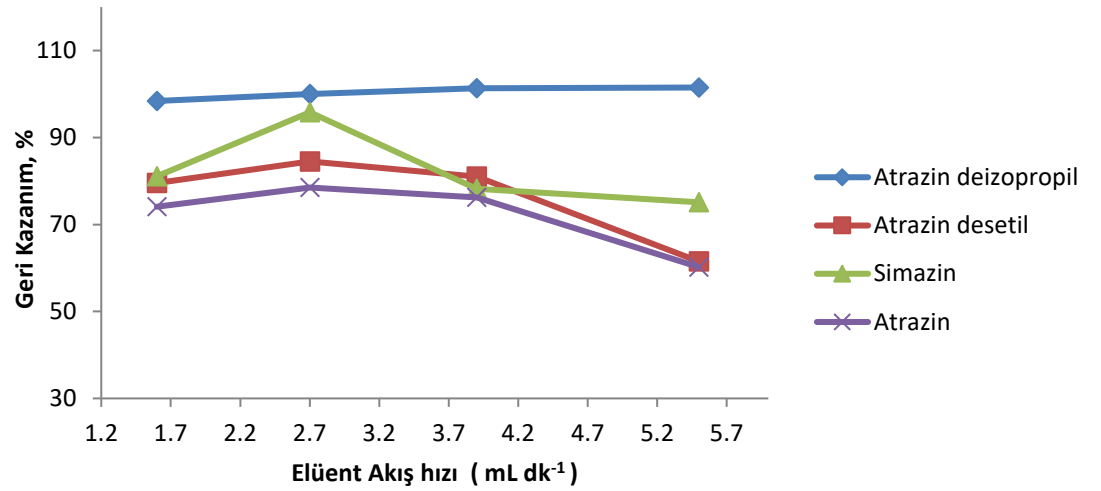


Şekil 5.6: Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına katı faz miktarının etkisi (◆:Atrazin deizopropil, ■:Atrazin desetil, ▲:Simazin, ●:Atrazin) (n:4)

Şekilde de görüldüğü gibi 500 mg PPyCl kullanımından sonra simazin ve atrazin deizopropil pestisitlerinin geri kazanım değerlerinde azalma olmuştur. Adsorpsiyon miktarındaki artış mevcut bağlanma yerlerinin işgal edilmesine yol açar ve partiküllerin etkileşimi nedeniyle birikme meydana gelir sonuç olarak yüzey alanı azalabilir, bu da adsorpsiyon kapasitesinin azalmasına neden olmaktadır (Ishtiaq ve diğ. 2020). Bu sonuçlar göz önünde bulundurularak bundan sonraki çalışmalara, 500 mg PPyCl dolgulı kolonla devam edilmesine karar verilmiştir.

5.2.3 Elüent Akış Hızının Etkisi

Model çözelti içerisindeki herbisitler klorür katkılı polipirol dolgulu kolon üzerinde tutunurlar. Her bir herbisit yapısı birbirinden farklı olduğu için tutunmaları için gereken süreler de birbirinden farklı olacaktır. Bu nedenle, örnek akış hızı bütün herbisitlerin tutunmasını sağlayacak kadar yavaş ve süre kaybından kaçınacak kadar hızlı olmalıdır. Bu amaçla pH'ı 5'e ayarlanmış 2 mL hacmindeki model çözeltiler, akış hızı dakikada 1,6, 2,7, 3,9 ve 5,5 mL olacak şekilde vakum yardımıyla kolondan geçirildi. Kolonda tutunan herbisitler 10 mL aseton ile elüe edildi. Elde edilen sonuçlar Şekil 5.7'de gösterilmiştir.

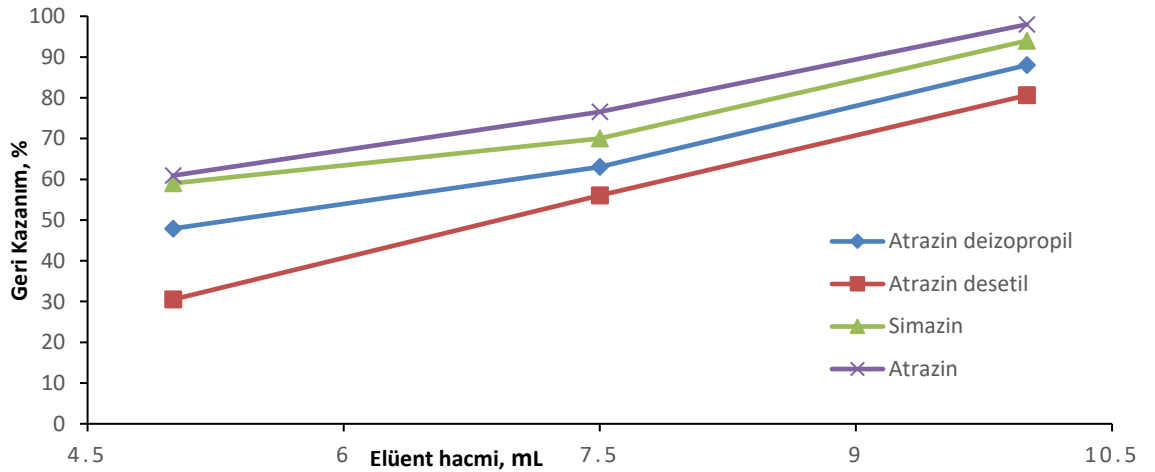


Şekil 5.7: Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına elüent akış hızının etkisi (◆:Atrazin deizopropil, ■:Atrazin desetil, ▲:Simazin, ●:Atrazin) (n:4)

Şekilden de anlaşılacağı gibi, akış hızının artmasıyla özellikle 5,5 ml dk⁻¹ akış hızı ile çalışıldığında atrazin deizopropil dışındaki diğer tüm herbisitlerin geri kazanım değerlerinde azalma gözlenmiştir. Bunun nedeni, akış hızı arttığında katkılı polipirol dolgulu kolon ile herbisitlerin temas süresinin kısa olmasıdır. Analiz süresinin kısa ve ekstraksiyon veriminin yüksek olması için en uygun elüent akış hızı 2,5 mL dk⁻¹ olarak belirlenmiştir.

5.2.4 Elüent Hacmi Etkisi

Herbisitlerin önderiştirilmesinde bir diğer önemli faktör de analitlerin geri alınacağı elüent çözeltilsinin hacmidir. Çalışmada elüent olarak kullanılan aseton miktarı 5, 7.5 ve 10 mL olarak değiştirilerek deneyler yapıldı. Önderiştirme yöntemlerinde değiştirme faktörünün yüksek olması için kullanılan elüent çözeltilsinin hacminin düşük olması istenir. Elüent olarak aseton kullanıldığında asetonun uçurulması ile çözeltili hacmini düşürülmesi yöntemleri uygulanmaktadır (Soylak ve Elçi 2000; Duran ve diğ, 2009, BerrinTopuz 2010). Bu amaçla analitleri içeren aseton çözeltilisi N₂ gazı ile uçuruldu ve son hacim MeOH ile 500 µL'ye tamamlandı. Bu çözeltiliden alınan 10 µL örnek HPLC'ye enjekte edildi. Elde edilen sonuçlar Şekil 5.8'de verilmiştir.



Şekil 5.8: Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına elüent hacminin etkisi (◆:Atrazin deizopropil, ■:Atrazin desetil, ▲:Simazin, ●:Atrazin) (n:4)

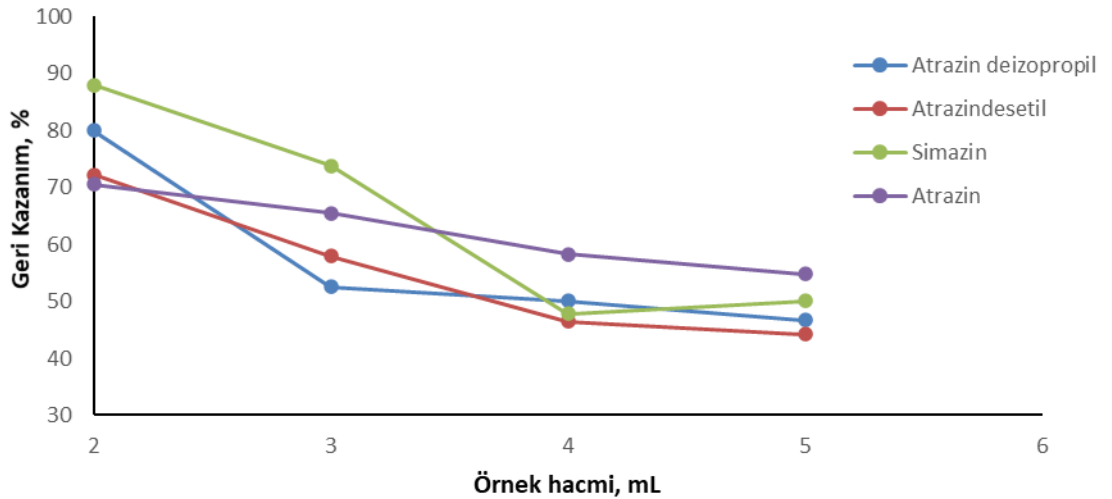
Şekil 5.8'de görüldüğü gibi pestisiteler için en yüksek geri kazanım değerleri 10 mL aseton kullanıldığında elde edilmiştir. Bu nedenle optimum aseton hacmi 10 mL olarak belirlenmiştir.

Önderiştirme yöntemlerinde deriştirme faktörünün yüksek elde edilmesi önemlidir. Bunun için örnek hacminin büyük, elüent hacminin küçük olması istendiğinden PPyCl reçinesi ile adsorplanan herbisitlerin asetonla elüasyonundan sonra azot gazı ile asetonun uçurulması işleminden sonra elüat üzerine 1, 0,5 mL ve

daha düşük hacimlerde metanol ilave edilmiştir. En yüksek geri kazanım değerleri 500 µL MeOH kullanıldığında elde edilmiştir. Böylelikle herbisitlerin katı faz ekstraksiyonu ile önderiştirilmesinde asetonla elüasyon ve asetonun uçurulması işlemlerinden sonra kullanılan optimum MeOH hacmi 500 µL olarak belirlenmiştir.

5.2.5 Örnek Hacmi Etkisi

Herbisitlerin polipirol katkılı kolonla önderiştirilmesinde örnek hacmi etkisi incelendi. Bunun için hazırlanan farklı hacimlerde model çözeltiler kullanıldı ve çözelti pH'ı asetat tamponu ile 5 yapıldı. Bu çözeltiler 2,5 mL dk⁻¹ akış hızı ile kolondan geçirildi ve aseton ile elüe edildi. Elüent buharlaştırılarak analitler 500 µL MeOH içerisine alındı. Geri kazanım değerleri Şekil 5.9'da verilmiştir.



Şekil 5.9: Simazin, atrazin ve türevlerinin geri kazanımına örnek hacminin etkisi (◆:Atrazin deizopropil, ■:Atrazin desetil, ▲:Simazin, ●:Atrazin) (n:4)

Şekilden de görüldüğü gibi örnek hacminin arttırılmasıyla herbisitlerin geri kazanım değerlerinde azalma gözlenmiştir, bu nedenle 5 mL den daha büyük hacimlerde çalışılmamıştır. En yüksek geri kazanım değeri 2 mL örnek hacmi kullanıldığında elde edilmiştir. Bu nedenle maksimum örnek hacmi 2 mL olarak alınmıştır.

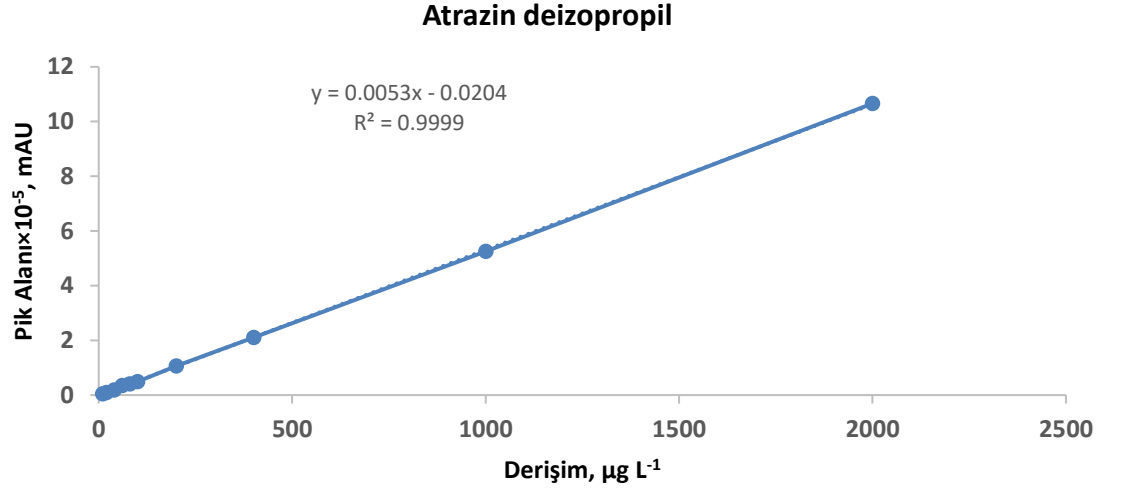
Bu durumda deneysel olarak bulunan zenginleştirme faktörü, en yüksek örnek hacmi olan 2 mL'nin en küçük son hacim olan 0,5 mL'ye bölünmesiyle hesaplandı ve zenginleştirme faktörü 4 olarak bulundu.

5.2.1 Yabancı İyon Etkisi

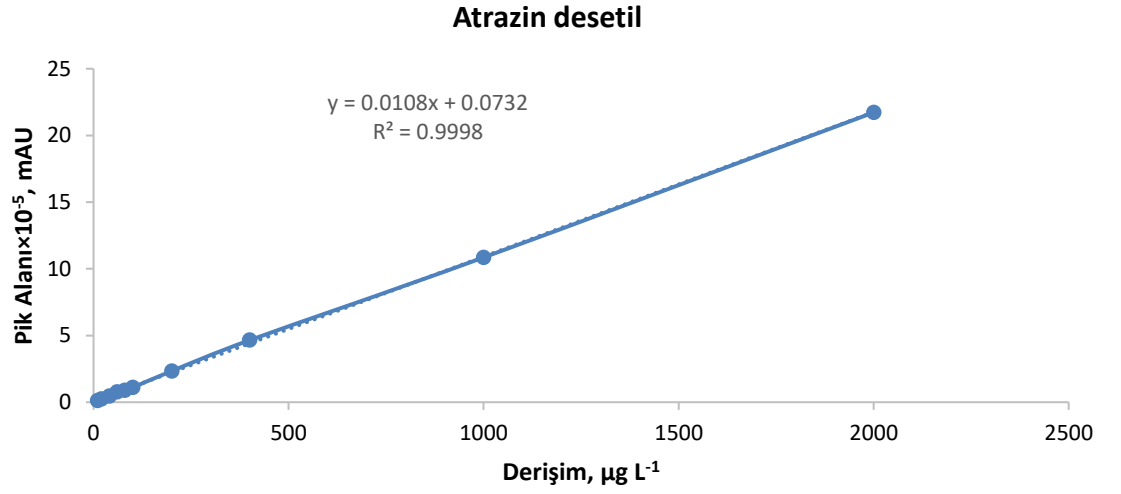
Bazı katyon ve anyonların SPE ile herbisitlerin ekstraksiyonuna etkileri incelendi. Na⁺, NaCl; Mg²⁺, MgSO₄; PO₄⁻³, Na₃PO₄; CO₃⁻², K₂CO₃ ve Ca⁺², CaCl₂ bileşikleri kullanılmıştır.

5.1 Yöntemin Analitik Değerlendirilmesi

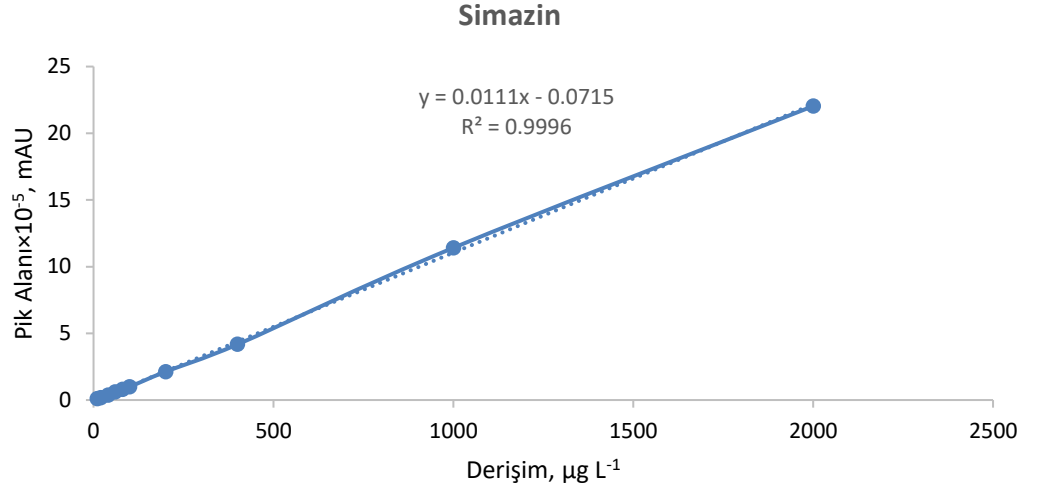
Belirlenen optimum koşullarda hareketli faz bileşimi ve akış hızında atrazin deizopropil, atrazin desetil, simazin ve atrazin için kalibrasyon eğrileri incelenmiştir. Bu çalışmalarda hareketli faz bileşimi MeOH:H₂O 75:25 ve akış hızı 0,9 mL dk⁻¹'dir. Analizlerin yapıldığı HPLC'de çalışma aralığını belirlemek için herbisitler için 10-2000 µg L⁻¹ derişim aralığında çözeltiler hazırlandı. Herbisitler HPLC ile tayin edildi. Kalibrasyon eğrileri her bir herbisitinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunda derişime karşı pik alanları grafiklerinin çizilmesiyle oluşturulmuştur. 200-900 nm aralığında dalga boyu taraması yapan DAD dedektör ile belirlenen dalga boyları atrazin ve atrazin desetil için 214 nm, simazin için 219 nm, atrazin deizopropil için 210 nm'dir. Her bir herbisite ait kalibrasyon doğruları Şekil 5.10-5.13'te verilmiştir.



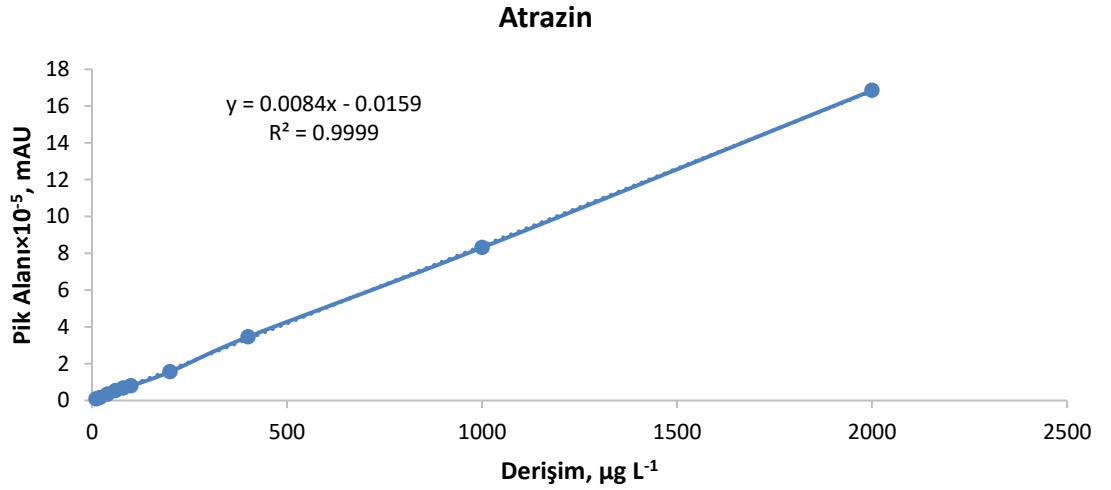
Şekil 5.10: Atrazin deizopropil'e ait kalibrasyon doğrusu (Dalga boyu:214 nm) (n:4)



Şekil 5.11: Atrazin desetil'e ait kalibrasyon doğrusu (Dalga boyu:210nm) (n:4)



Şekil 5.12: Simazin'e ait kalibrasyon doğrusu (Dalga boyu:219nm) (n:4)



Şekil 5.13: Atrazin'e ait kalibrasyon doğrusu (Dalga boyu 214nm) (n:4)

HPLC ile pestisitlerin tayininde tekrarlanabilirliklerin belirlenmesi için aynı ve farklı günlerde yapılan en az 10 ölçüm dikkate alınmış, pik alanları ve standart sapma değerleri belirlenmiştir. Tekrarlanabilirlikler % bağıl standart sapma cinsinden hesaplanmıştır. Simazin, atrazin, atrazin desetil ve atrazin deizopropil için % bağıl standart sapma değerleri sırasıyla 3.5, 4.5, 7.9 ve 2.6 olarak belirlenmiştir.

DeneySEL zenginleştirme faktörü en yüksek örnek hacminin en küçük son hacme bölünmesiyle hesaplanmış ve 4 olarak bulunmuştur.

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında çevremizde amaçsız, sınırsız, nerede ise kontrolsüz olarak atılan birkaç toksik kimyasal grubundan biri olan pestisitlerden triazin grubu herbisitlerinden atrazin, simazin, atrazin izopropil ve atrazin desetil eş zamanlı tayinleri için yeni bir analitik bir yöntem geliştirilmiştir. Pestisitlerin önderiştirilmesi için SPE yönteminde klorür katkılı polipirolün adsorban olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. PPyCl dolgulu kolonda önderiştirilen pestisitlerin tayinleri ters faz HPLC-DAD ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda tartışılmıştır.

I. RP- HPLC/DAD ile Pestisitlerin Tayini:

Pestisitlerin kromatografik tayini için öncelikle, çalışılan analitlerin Inertsil ODS-3 kolonda alıkonma zamanlarının belirlenmesine çalışılmıştır. Bunun için metanol:su (75:25) hareketli faz ve 1 mL dk⁻¹ akış hızında farklı derişimlerde analitleri içeren çözeltiler hazırlanarak HPLC'ye enjekte edildi. Artan derişimle pik alanlarının artmasından yararlanarak elde edilen kromatogramlarda ilk gelen pikin atrazin deizopropil, ikinci pikin atrazin desetil, 3. pikin simazin ve son pikin ise atrazine ait olduğu görülmüştür.

HPLC'de diyot array dedektör kullanıldığından herbisitler sisteme karışım şeklinde enjekte edilmiş ve 200-900 nm dalga boyu aralığında spektrumları alınmıştır. Her bir herbisitinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyları atrazin ve atrazin desetil için 214 nm, simazin için 219 nm, atrazin deizopropil 210 nm olarak belirlenmiştir. Kromatogramların anlaşılır olması için tezde sadece 214nm'de alınan kromatogramlar verilmiştir.

Kromatografik kolonda pestisitlerin ayırımını iyileştirmek amacıyla hareketli fazdaki metanol yüzdesi değiştirilmiştir (Şekil 5.1). Metanol miktarı %60 olduğunda analiz süresinin uzadığı (Şekil 5.1.A), MeOH yüzdesi %80 ve üzeri olduğunda ise piklerin üst üste çakıştığı gözlenmiştir (Şekil 5.1.D ve 5.1.E). Bu nedenle hareketli fazdaki optimum MeOH miktarı %75 olarak belirlenmiştir.

Çalışmada kromatografik yöntemde optimizasyonu yapılan bir diğer değişken, hareketli fazın akış hızıdır. Hareketli faz akış hızı 0,8; 0,9; 1,0; 1,1 ve 1,2 mL dk⁻¹ olarak değiştirilmiş ve elde edilen kromatogramlar Şekil 5.3'te verilmiştir. Şekil 5.3'te görüldüğü gibi hareketli faz akış hızı 1,1 ve 1,2 mL dk⁻¹ olduğunda atrazin deizopropil ve atrazin desetil pikleri birbirinden tam olarak ayrılmamıştır. Hareketli faz akış hızı 0,8, 0,9 ve 1 mL dk⁻¹ yapıldığında elde edilen kromatogramlar incelendiğinde hareketli fazın akış hızının azalmasıyla analitlerin alıkonma sürelerinin arttığı ve analiz sürelerinin uzadığı görülmüştür. 0,9 mL dk⁻¹ akış hızında tüm analitlerin pik alanlarında artma olduğundan optimum hareketli faz akış hızının 0,9 mL dk⁻¹ olarak belirlenmesine karar verilmiştir.

II. Adsorplayıcı olarak klorür katkılı polipirolün kullanıldığı SPE yöntemi ile Pestisitlerin Önderiştirilmesi:

Bu tez çalışmasında atrazin, simazin atrazin deizopropil ve atrazin desetilin önderiştirilmesi için adsorplayıcı olarak klorür katkılı polipirol kullanılmıştır. Tez kapsamında klorür katkılı polipirol, kimyasal oksidasyon polimerizasyonu metodu ile sentezlenmiştir. Literatür araştırmalarımıza göre eser metal iyonlarının tayininde kullanılan klorür katkılı polipirol, pestisitlerin önderiştirilmesi amacıyla bu çalışma ile ilk defa kullanılmıştır.

SPE yönteminde çözeltinin pH etkisini incelemek için, asetik asit/amonyum asetat tamponu kullanılarak çözeltinin pH'ı 3,5; 4; 5 ve 6 yapılmıştır. Değişen pH ile herbisitlerin geri kazanım değerleri Şekil 5.5'te verilmiştir. Sonuç olarak herbisitlerin geri kazanımları için en uygun pH 5.0 olarak belirlenmiştir.

Herbisitlerin geri kazanımları açısından kullanılan absorplayıcı miktarı da oldukça önemlidir. Bu amaçla 300-800 mg aralığında farklı miktarlarda klorür katkılı polipirol alınarak katı faz kolonları hazırlanmış ve analitleri içeren model çözeltiler kolondan geçirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 5.6'da verilmiştir. Şekilden anlaşılacağı gibi 500 mg PPyCl kullanımından sonra simazin ve atrazin deizopropil pestisitlerinin geri kazanım değerlerinde azalma olmuştur. Sonuçlar incelendiğinde pestisitlerin tayininde 500 mg PPyCl dolgulu kolonla devam edilmesine karar verilmiştir.

Elüent akış hızının pestisitlerin geri kazanımına etkisini incelemek için pH'ı 5'e ayarlanmış 2 mL hacmindeki model çözeltiler, akış hızı dakikada 1,6-5,5 mL olacak şekilde değiştirilerek çözeltiler vakum yardımıyla kolondan geçirilmiştir. Kolonda tutunan herbisitler 10 mL aseton ile elüe edilmiştir. Örnek akış hızının artmasıyla herbisitlerin geri kazanım değerlerinin azaldığı görülmüştür. (Şekil 5.7). Bunun nedeni, akış hızı arttığında klorür katkılı polipirol dolgulu kolon ile herbisitlerin temas süresinin kısalmasıdır. Analiz süresinin kısa ve ekstraksiyon veriminin yüksek olması için en uygun elüent akış hızı 2,5 mL dk⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Çalışmada deneysel zenginleştirme faktörü, en yüksek örnek hacmi olan 2 mL'nin en küçük son hacim olan 0,5 mL'ye bölünmesiyle hesaplanmış ve zenginleştirme faktörü 4 olarak bulunmuştur.

Yöntemde tekrarlanabilirlik % bağıl standart sapma cinsinden hesaplanmıştır. Simazin, atrazin, atrazin desetil ve atrazin deizopropil için % bağıl standart sapma değerleri sırasıyla 3.5, 4.5, 7.9 ve 2.6 olarak belirlenmiştir.

Optimize edilen SPE ile birleştirilmiş RP-HPLC/DAD yönteminin çeşitli gıda ve su örneklerinin analizine uygulanabileceği öngörülmüştür.

7. KAYNAKLAR

Agrawal A., Pandey, R. S., and Sharma B., “Water Pollution With Special Reference to Pesticide Contamination in India”, *J. Water Resource and Protection* 2, 432-448, (2010).

Aguilar-Arteaga, K., Hernández-Mera C., Díaz-Batalla L., Castañeda-Ovando A., Cruz-Pérez A. E., Barrado-Esteban E., & Carrillo-Cárdenas M., “Development of a dispersive liquid-liquid microextraction coupled with magnetic dispersive microsolid phase extraction for determination of triazines in wastewater samples”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 412:1203–1213 (2020).

Akdoğan, A. “Bazı Pestisitlerin Kromatografik Ayrılmaları ve Tayinleri”, Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Denizli, (2011).

Akdogan, A., Divrikli Ü., & Elci L., “Determination of Triazine Herbicides and Metabolites by Solid Phase Extraction with HPLC Analysis”, *Analytical Letters*, doi: 10.1080/00032719.2013.800542, (2013).

Al-Degs Y., Al-Ghouti M., and El-Sheikha A., “Simultaneous determination of pesticides at trace levels in water using multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extractant and multivariate calibration”, *Journal of Hazardous Materials* 169:128–135 (2009).

Amadori, M.F., Cordeiro, G.A., Rebouças, C.C., Peralta-Zamora, P.G. Marco T. Grassi, M.T. and Abate G., “Extraction Method for the Determination of Atrazine, Deethylatrazine, and Deisopropylatrazine in Agricultural Soil Using Factorial Design”, *J. Braz. Chem. Soc* 24:483-491 (2013)

Atabey, T. “Edirne Yöresinde Üretilen Pirinçlerde Pestisit Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimi Dalı, Tekirdağ, (2016).

Topuz, B. “Kompleks Yapıcı Polimer Sentezi ve bu Polimerin Sulu Ortamda Ağır Metal Zenginleştirilmesinde Kullanımının Araştırılması”, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Samsun, (2010)

Çakır, O. “Pestisit Tayini için Moleküler Baskılama Temelli Yüzey Plazmon Rezonans ve Kuvars Kristal Mikroterazi Sensörlerin Hazırlanması”, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Diyarbakır, (2017).

Çiftçi, H., “Çeşitli Biyolojik ve Çevre Örneklerindeki Kobalt, Bakır, Nikel ve Demir gibi Eser Elementlerin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Tayini”, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Elâzığ, (2007).

Dinçel, S.A., ve Eser, B., “Kromatografiye Giriş, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Kullanımında Basit İpuçları”, Journal of Health Services and Education; 2(2): 51-57 ISSN: 2636-8285, (2018).

Drăguş, A., Beldean-Galea, M.S., Coman, V., “Determination of triazine herbicides in soil samples by ultrasound-assisted extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet and HPLC-UV analysis”, Rev. Roum. Chim., 59(11-12), 1029-1036, (2014).

Duran, C., Senturk H. B., Elci, L., Soylak, M., Tufekci, M., “Simultaneous preconcentration of Co(II), Ni(II), Cu(II), and Cd(II) from environmental samples on Amberlit XAD-2000 column and determination by FAAS”, Journal of Hazardous Materials, 162:292–299, (2009)

Espinoza, J., “Determination of atrazine in aqueous soil extracts by high-performance thin-layer chromatography”, Journal of the Chilean Chemical Society, 48(19-23), (2003).

Er, E. Ö., Çağlak, A., Onkal Engin, G., ve Bakirdere, S., “Ultrasound-assisted dispersive solid phase extraction based on Fe₃O₄/reduced graphene oxide

nanocomposites for the determination of 4-tert octylphenol and atrazine by gas chromatography–mass spectrometry”, *Microchemical Journal* 146:423–428 (2019).

Ercan, B., “Polipirolün Elektrokimyasal Katı Faz Ekstraksiyon Kolonu Olarak Kullanımı”, Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, (2006).

Gebrehiwot, W H., “Bazı Pestisitlerin Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Eş Zamanlı Analizi”, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı, Ankara, (2019).

Gökmen, E., “Siyah Aspergillus Suşları Tarafından Kuru Üzüm Besiyerinde Okratoksin A (Ota) Oluşumunun İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, (2016).

Guan S. H., Huang, M. W., Li X., and Cai Q., “Determination of Atrazine, Simazine, Alachlor, and Metolachlor in Surface Water Using Dispersive Pipette Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry”, *Analytical Letters* 51:613–625, (2020).

Gümüştaş. M. “Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörü ve Kalsiyum Kanal Blokörü Kombinasyonu İlaçların Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Yöntemi ile Aynı Anda Analizi”, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Ankara, (2009).

Gündüz, T., “*Kromatografi ve Elektroforez*”, Ankara: Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti., (2015).

Hassaan, M. A., and Nemr A. E., “Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques”, *Egyptian Journal of Aquatic Research* 46:207–220, (2020).

Hang, X., “Selective adsorption behaviors of proteins on polypyrrole-based adsorbents”, *Separation and Purification Technology* 52:161–169, (2005).

Höl. A., “Bazı Metal ve Organometalik Bilesiklerin Kromatografik ve Spektroskopik Tayinleri”, Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Denizli, (2011).

Imran, A., & Aboul-Enein, H. Y., “Leaching of Triazine Pesticides in Loamy Soil and their Determination by Reversed Phase HPLC”, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, doi.org/10.1080/03067310108044251, (2001).

Ishtiaq, F, H. N. Bhatti, A.Khan, M Iqbal, and Abida Kausar., “Polypyrrole, polyaniline and sodium alginate biocomposites and adsorption-desorption efficiency for imidacloprid insecticide”, *International Journal of Biological Macromolecules* 147, 217–232, (2020).

Katsumata, H., Kojima, H., Kaneco, S., Suzuki, T., and Ohta, K., “Preconcentration of atrazine and simazine with multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction disk”, *Microchemical Journal* 96:348–351(2010).

Kunene, P. N., and Mahlambi, P. N., “Optimization and application of ultrasonic extraction and Soxhlet extraction followed by solid phase extraction for the determination of triazine pesticides in soil and sediment”, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 8:103665 (2020).

Lei, Y., Chen B., You L., He M., and Hu B., “Polydimethylsiloxane/MIL-100(Fe) coated stir bar sorptive extraction-high performance liquid chromatography for the determination of triazines in environmental water samples”, *Talanta* 175:158-167, (2017).

Li, G., Meng X., Wang J., Wang Q., Zhou J., and Wang C., “A low-cost and high-efficiency carbazole-based porous organic polymer as a novel sorbent for solid-phase extraction of triazine herbicides in vegetables” *Food Chemistry* 309:125618 doi:0.1016/j.foodchem.2019.125618, (2020).

Liang, L., Wang, X., Sun, Y., Ma, P., Li, X., Piao, H., Yanxiao Jiang, Y., and Song, D., “Magnetic solid-phase extraction of triazine herbicides from rice using metalorganic framework MIL-101(Cr) functionalized magnetic particles”, *Talanta*, 179:152-159, (2018).

Lucio F.C Melo, L. F.C., Carol H. Collinsb, C.H., Isabel C.S.F. Jardim, I. C.S.F., “High-performance liquid chromatographic determination of pesticides in tomatoes using laboratory-made NH₂ and C18 solid-phase extraction materials”, *Journal of Chromatography A*, 1073:75–81 (2005).

Ma, J., Wua, G., Li, S., Tana, W., Wang, X., Li, J., and Chenb, L., “Magnetic solid-phase extraction of heterocyclic pesticides in environmental water samples using metal-organic frameworks coupled to high performance liquid chromatography determination”, *Journal of Chromatography A*, 1553: 57–66, (2018).

Ma, W. T., Cai, Z., and Jiang, G.B., “Determination of atrazine, deethylatrazine and simazine in water at parts-per-trillion levels using solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry”, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 17:2707–2712 (2003).

Melo, L.F.C., Collins C.H., and C.S.F. Jardim I. C.S.F., “High-performance liquid chromatographic determination of pesticides in tomatoes using laboratory-made NH₂ and C18 solid-phase extraction materials”, *Journal of Chromatography A*, 1073:75–81 (2005).

Ne'lieu S., Stobiecki M., and Einhorn J., “Tandem solid-phase extraction of atrazine ozonation products in water”, *Journal of Chromatography A*, 866:195–201 (2000).

Özdoğan, N., Yener, B., Zaman, B. T., & Bakirdere, S., “Accurate and Sensitive Determination of Atraton in Dried Tomato and Corn Flour by HighPerformance Liquid Chromatography (HPLC) and Characterization of Its Stability in Gastric Conditions and by Ultraviolet Radiation”, *Analytical Letters*, vol. 53, no. 13, 2047–2059 (2020).

Özzeybek, G., Erarpat, S., & Bakirdere, S., “Simple, Sensitive, and Selective High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) Method for the Determination of Buturon in Herbal Tea, Dried Blueberry, and Cranberry Samples and Evaluation of Its Stability in Gastric Conditions”, *Analytical Letters*, vol. 53, no. 10, 1525–1535 doi.org/10.1080/00032719.2019.1710746, (2020).

Piao H., Jiang Y., Li X., Ma P., Wang X., Song D., and Sun Y., “Matrix solid-phase dispersion coupled with hollow fiber liquid phase microextraction for determination of triazine herbicides in peanuts”, *Journal of Separation Science*, 42:2123–2130. doi.org/10.1002/jssc.201801213 (2019).

Pinto G. M.F., and Isabel Cristina S.F. Jardim “Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method”, *Journal of Chromatography A*, 869:463–469 (2000).

Rosmalina, R. T., and Persulesy, A. E. “Determination of carbamate insecticide in soil by SPE reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC)”, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 277:12023 (2019).

Rodríguez-González, N., González-Castro, M.J., Beceiro-González, E., and Muniategui-Lorenzo, S., “Development of a Matrix Solid Phase Dispersion methodology for the determination of triazine herbicides in mussels”, *Food Chemistry* 173:391–396 (2015).

See, H.H., Sanagi, M.M., Wan Aini Wan Ibrahim, W. A.W., Naim, A.A., “Determination of triazine herbicides using membrane-protected carbon nanotubes solid phase membrane tip extraction prior to micro-liquid chromatography”, *Journal of Chromatography A*, 1217:1767–1772 (2010).

Senosy, I.A., Guo, H.M., Ouyang, M.N., Lu, Z.h., Zhong-HuaYang, Z.H., and Li, J.H., “Magnetic solid-phase extraction based on nano-zeolite imidazolate framework-8 functionalized magnetic graphene oxide for the quantification of residual fungicides in water, honey and fruit juices”, *Food Chemistry*, 325:126944, (2020).

Shin, D., Joohye Kim, J., and Kang H.S., “Simultaneous determination of multi-pesticide residues in fish and shrimp using dispersive-solid phase extraction with liquid chromatography–tandem mass spectrometry”, *Food Control* 120:107552 (2021).

Skoog, D.A., Holler, F.J., and Crouch, S.R, “Enstrümantal Analiz İlkeleri”, 6.baskı, Ankara: Bilim Yayıncılık, Sayfa N: 763, (2013).

Soylak, M., Elçi, L., “Solid phase extraction of trace metal ions in drinking water samples ”, Journal of Trace and Microprobe Techniques, 18:397-403, (2000)

Sönmez, S. “Klorür Katkılı Polipirolün Eser Düzeydeki Bakırın Katı Faz Ekstraksiyonunda Kullanımı”, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Denizli, (2010).

Taghvimi, A. and Hamishehkar, H., “Carbon coated magnetic nanoparticles as a novel magnetic solid phase extraction adsorbent for simultaneous extraction of methamphetamine and ephedrine from urine samples”, Journal of Chromatography B, 1041-1042, 113-119, (2017).

Tahmasebi, E., Yadollah Yamini, Y., Moradi, M. and Esrafilı, A., “Polythiophene-coated Fe₃O₄ superparamagnetic nanocomposite: Synthesis and application as a new sorbent for solid-phase extraction”, Analytica Chimica Acta 770: 68– 74 (2013).

Tan L., Wanga, J., Liua, Q., Sunb, Y., Zhanga, H., Wangc, Y., Jinga, X., Liua, J., and SongaaKey, D., “Facile preparation of oxine functionalized magnetic Fe₃O₄ particles for enhanced uranium (VI) adsorption”, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 466 85–91, (2015).

Tian, M., Chen, D., Sun, Y., Yang, Y., and Jia, Q., “Pillararene-functionalized Fe₃O₄ nanoparticles as magnetic solid-phase extraction adsorbent for pesticide residue analysis in beverage samples”, RSC Advances, 3, 22111-22119, doi.org/10.1039/C3RA43752C, (2013).

Trajkovska, V., Petrovska-Jovanovi S., and Cvetkovski M., “Development and optimization of a method for the determination of simazine, atrazine and propazine using solid-phase extraction and HPLC/GC”, J.Serb.Chem.Soc. 66(3) 199–204 (2001).

Tunçdemir, A. “Adıyaman İl Merkezinde Çiftçilerin Güvenli Pestisit Kullanımı ile İlgili Bilgi, Tutum, Uygulamaları ve Eğitimin Etkisi”, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Malatya, (2016).

url-1<<https://cevresehgostergeler.csb.gov.tr/tarim-ilaci-pestisit-kullanimi-i-85834>> 10.02.2020

url-2<<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2016/11/20161125M1-1.htm>>17.02.2020

url-3<<https://docplayer.biz.tr/335653-Kromatografi-nedir-hplc.html>> 19.03.2020

url-4<<http://www.antteknik.com/Upload/PressAntTeknik/en/analitik-laboratuvarlarda-hplc-kolonu-secimi/ab90e59e61dbcd12026bc1406f0074e0.pdf>> 22.03.2020

url5<https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/78812/mod_resource/content/0/HPLC.pdf>18.04.2020

Velkoska-Markovska M., and Petanovska-Ilievska, B., “Optimization and development of a SPE-HPLC-DAD method for the determination of atrazine, malathion, fenitrothion, and parathion pesticide residues in apple juice”, *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, Vol. 32, No. 2, 299–308, (2013).

Wang, C., Ji, S., Wu, Q., Wu, C., and Wang, Z., “Determination of Triazine Herbicides in Environmental Samples by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography”, *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 49, (2011).

Wierucka, M., & Biziuk, M., “Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples”, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 59, 50-58, (2014).

Wua, X., Shena, S., Yanb, H., Yanan Yuana, Y., and Chena, X., “Efficient enrichment and analysis of atrazine and its degradation products in Chinese Yam using accelerated solvent extraction and pipette tip solid-phase extraction followed by UPLC–DAD”, *Food Chemistry* 337:127752 (2021).

Yan X., Zhong D., Zhan Y., Li Y., and Wu D., “Polybenzimidazole Solid-Phase Microextraction Bar Combined with Thermal Desorption–Gas Chromatography for Determination of Triazine Herbicides in Environmental Waters” *Chromatographia* 83:249–260 (2020).

Yavuzarslan, M. Z. “Nar Kabuğundan Elde Edilen Aktif Karbon ile Meyve Suyundan Pestisit Adsorpsiyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta (2019).

Zhao G., Song S., Wang C., Wu Q., and Wang Z., “Determination of triazine herbicides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography using graphene-coated magnetic nanoparticles as adsorbent”, *Analytica Chimica Acta* 708:155– 159 (2011).

Zhao R.S., Yuan J., Jiang T., Shi J., Cheng C., “Determination of triazine herbicides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography using graphene-coated magnetic nanoparticles as adsorbent”, *Talanta* 76:956–959 (2008).

Zhang, X., Bai, R., and Tong, W.T., “Selective adsorption behaviors of proteins on polypyrrole-based adsorbents”, *Separation and Purification Technology* 52:161–169, (2006).

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ezgi ERSİN
Doğum Yeri ve Tarihi : TURGUTLU 12.04.1991
Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi
Elektronik posta :ezgi.canoz@hotmail.com

Konferans listesi :

Ezgi Canöz, Latif Elçi, Ayşen Höl, “Kurşun –APDC Çökeleği ile Krom Türlemesi” 5. Eser Analiz Kongresi, 2018 (Cumhuriyet Üniversitesi)