



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KATI-FAZ EKSTRAKSİYON
VE GAZ KROMATOĞRAFİK METOTLARLA
GIDA ÖRNEKLERİNDE PESTİSİT ANALİZLERİ

Neslihan ÇALLI ALTUN

Prof. Dr. Şeref GÜÇER
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA-2007

T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KATI-FAZ EKSTRAKSİYON
VE GAZ KROMATOĞRAFİK METOTLARLA
GIDA ÖRNEKLERİNDE PESTİSİT ANALİZLERİ

Neslihan ÇALLI ALTUN

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BU TEZ U. Ü. ARAŞTIRMA FONU F-2006/65 NOLU PROJE İLE DESTEKLENMİŞTİR.

Bu tez 17/10/2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şeref GÜÇER
(Danışman)

Prof. Dr. Mahir ALKAN

Prof. Dr. Cevdet DEMİR

Prof. Dr. Necati BEŞİRLİ

Prof. Dr. Fikri BAŞOĞLU

ÖZET

Sebze ve meyvelerdeki pestisit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi, pestisitlerin canlı sağlığına ve çevreye olan zararlı etkileri nedeniyle oldukça önemlidir. Bu amaçla, kiraz ve biber örneklerinde yaygın olarak kullanılan organofosforlu pestisit kalıntı düzeylerinin saptanmasına yönelik yeni bir katı-faz ekstraksiyon yöntemi geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Pestisitlerin tayini gaz kromatografisi tekniği ile FPD ve NPD kullanılarak gerçekleştirilmiş ve doğrulama çalışmaları GC-MS ile yapılmıştır. Standart örnek hazırlama metodu geliştirilmesi yönünde yapılan iyileştirme çalışmalarında; aseton yerine etil asetat, PSA yerine C-18 ve NH₂ kolonlarının kullanımı ile önerilen metot başarıyla uygulanmıştır.

İlaçsız kiraz ve biber örneklerinde geri kazanım çalışmaları ile diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl kalıntı düzeylerinin tespiti gerçekleştirilmiştir. Standart metot olan Luke metodunda 10 ve 250 µg/kg konsantrasyondaki diazinon için sırasıyla % 74 ve % 84, chlorpyrifos-methyl için % 73 ve % 84, parathion-methyl için % 72 ve % 84 ve chlorpyrifos-ethyl için % 73 ve % 81 ortalama geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Geliştirilen otomatik katı-faz ekstraksiyon C-18 metodunda 10 ve 250 µg/kg konsantrasyonda elde edilen ortalama geri kazanım değerleri ise diazinon için sırasıyla % 86 ve % 96, chlorpyrifos-methyl için % 85 ve % 96, parathion-methyl için % 85 ve % 96 ve chlorpyrifos-ethyl için % 86 ve % 96 olmuştur. Ortalama bağıl standart sapma değerleri Luke metodunda % 8'den büyük, otomatik katı-faz ekstraksiyon C-18 metodunda ise % 8'den küçük olarak bulunmuştur. Luke metodunda elde edilen LOQ değerleri diazinon için 6,8 µg/kg, chlorpyrifos-methyl için 7,0 µg/kg, parathion-methyl için 7,1 µg/kg ve chlorpyrifos-ethyl için 6,8 µg/kg olmuştur. Otomatik katı-faz ekstraksiyon C-18 metodunda diazinon için 3,1 µg/kg, chlorpyrifos-methyl için 3,3 µg/kg, parathion-methyl için 3,1 µg/kg ve chlorpyrifos-ethyl için 3,2 µg/kg LOQ değerleri bulunmuştur. Geliştirilen otomatik katı-faz ekstraksiyon C-18 analitik metodunun belirsizliği ortalama % 10 olarak elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, kiraz, biber, katı-faz ekstraksiyon, otomasyon, GC-FPD, GC-NPD, GC-MS

ABSTRACT

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

Pesticide determination was carried out with GC-FPD, GC-NPD and confirmation was done by using GC-MS. During the standard sample preparation, instead of acetone, ethyl acetate was used. In same way PSA was replaced by C-18 and NH₂ columns.

Recovery studies have led to determination of diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl and chlorpyrifos-ethyl residue levels with blank pepper and cherry samples. With Luke which is standard method for the concentration of 10 µg/kg and 250 µg/kg diazinon, average recovery was 74% and 84%, respectively. Recovery was also found 73% and 84% for chlorpyrifos-methyl, 72% and 84% for parathion-methyl and 73% and 81% for chlorpyrifos-ethyl, respectively with using the Luke method. Furthermore by using developed C-18 automated solid-phase extraction, for 10 µg/kg and 250 µg/kg concentrations recovery values were found 86% and 96% for diazinon, 85% and 96% for chlorpyrifos-methyl, 85% and 96% for parathion-methyl and finally 86% and 96% for chlorpyrifos-ethyl, respectively. Average relative standard deviation was found bigger than 8% in Luke method, and smaller than 8% in C-18 automated solid-phase extraction method. LOQ values for Luke method were 6,8 µg/kg for diazinon, 7,0 µg/kg for chlorpyrifos-methyl, 7,1 µg/kg for parathion-methyl and 6,8 µg/kg for chlorpyrifos-ethyl, respectively. LOQ values for C-18 automated solid-phase extraction method were found as follows; 3,1 µg/kg for diazinon, 3,3 µg/kg for chlorpyrifos-methyl, 3,1 µg/kg for parathion-methyl and 3,2 µg/kg for chlorpyrifos-ethyl, respectively. Uncertainty for the developed C-18 automated solid-phase extraction was found as 10 %.

Key Words: Pesticide, cherry, pepper, solid-phase extraction, automation, GC-FPD, GC-NPD, GC-MS

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ ONAY SAYFASI	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
KISALTMALAR DİZİNİ	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XX
SİMGELER DİZİNİ	XXV
GİRİŞ	1
1. KAYNAK ÖZETLERİ VE KURAMSAL TEMELLER.....	3
1.1. Pestisitlerin Genel Anlamı ve Çeşitleri	3
1.2. Pestisitlerin Tarihçesi	4
1.3. Pestisit Kullanımının Nedenleri	5
1.4. Dünyada ve Türkiye’de ve Pestisit Kullanım Miktarları	6
1.5. Pestisitlerin Zararları	10
1.5.1. Pestisitlere karşı dayanıklılık oluşumu	10
1.5.2. Hedef olmayan organizmalar üzerine etkisi	11
1.5.3. İnsanlar üzerine etkileri	11
1.5.4. Çevre üzerine etkileri	12
1.5.5. Gıdalardaki pestisit kalıntısı	14
1.6. Pestisit Kalıntı Sorunu ve Nedenleri	15
1.7. Türkiye ve Dünyada Maksimum Pestisit Kalıntı Limitleri	15
1.8. Gıda Örnekleri ve Pestisit	16
1.8.1. Kiraz örneği	16
1.8.2. Biber örneği	17
1.9. Pestisit Kalıntı Analizinde Kullanılan Metotlar	18

1.10.	Pestisit Kalıntı Analizinde Kullanılan Ekstraksiyon Metotları ile İlgili Bilgiler	21
1.10.1.	Ekstraksiyonda kullanılan kimyasal maddeler	22
1.10.2.	Sıvı-sıvı ekstraksiyon	23
1.10.3.	Katı-faz ekstraksiyon	24
1.10.3.1.	Katı-faz ekstraksiyon kolon dolgu maddeleri ve çözücüleri	26
1.10.3.2.	Katı-faz ekstraksiyon metodunda maddelerin ayrılma prensipleri	27
1.10.3.3.	Katı-faz ekstraksiyon metodunun başlıca kullanım yerleri	29
1.10.3.4.	Katı-faz ekstraksiyon metodunda otomasyonun kullanılması	
1.11.	Pestisit Kalıntı Analizinde Kullanılan Tayin Metotları ile İlgili Bilgiler	32
1.11.1.	Gaz kromatografisi	33
1.11.1.1.	Temel ilkeleri	33
1.11.1.2.	GC düzeneği	33
1.11.1.3.	Taşıyıcı gaz	34
1.11.1.4.	Numune enjeksiyon sistemi	34
1.11.1.5.	Kolonlar ve durgun fazlar	35
	a) Kapiler (kılcal) kolonlar	35
	b) Durgun faz	36
	c) Yaygın kullanılan durgun fazlar	37
	d) Film kalınlığı	38
1.11.1.6.	Kolon fırını	38
1.11.1.7.	Dedeksiyon sistemleri	38
	a) Alev fotometrik dedektör (FPD)	38
	b) Azot fosfor dedektörü (NPD)	39
1.11.1.8.	Gaz kromatografi uygulamaları	39
	a) Kalitatif analiz	40
	b) Kantitatif analiz	40
	c) Gaz kromatografi ile spektroskopik yöntemlerin birlikte kullanımı	40
1.11.2.	Kütle spektrometresi	41
1.11.2.1.	Kütle spektrometresi düzeneği	42
1.11.2.2.	Numune giriş sistemleri	43
1.11.2.3.	İyon kaynakları	44

a) Elektron impakt kaynağı	44
b) Elektron impakt spektrumlan	45
c) İzotop pikleri	47
d) Çarpışma ürün pikleri	47
e) Elektron impakt kaynaklarının üstünlük ve sakıncaları	47
1.11.2.4. Kütle analizörleri	48
1.11.2.5. Moleküler kütle spektrometresinin uygulamaları	49
1.11.2.6. Kütle spektrometresinin kantitatif uygulamaları	50
1.12. Veri Değerlendirmesi – Kemometri	51
2. MATERYAL VE YÖNTEM	53
2.1. Materyal	53
2.1.1. Pestisit kalıntı analizi için örnek alma ve saklama	53
2.1.2. Çalışmada kullanılan ve tayin edilen pestisitler	53
2.1.2.1. Diazinon	53
2.1.2.2. Chlorpyrifos-methyl	54
2.1.2.3. Parathion-methyl	55
2.1.2.4. Chlorpyrifos-ethyl	56
2.1.3. Çalışmada kullanılan aletler	56
2.1.3.1. Gaz kromatografisi	56
2.1.3.2. Kütle spektrometresi	58
2.1.3.3. Gilson ASPEC XL SPE otomasyon cihazı	59
2.1.3.4. Evaporatör	59
2.1.3.5. Blender	59
2.1.3.6. Derin dondurucu	59
2.1.3.7. Terazı	59
2.1.3.8. Santrifüj	59
2.1.4. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözeltiler	59
2.1.4.1. Kimyasallar	59
a) Pestisit standartları	60
b) Analitik saflıktaki kimyasallar	60
c) SPE kartuşları	61
d) Sarf malzemeler	61

2.1.4.2. Çözeltiler	61
a) Pestisit çözeltileri	61
2.2. Yöntem	62
2.2.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon	62
2.2.1.1. Luke metodu	62
2.2.2. Katı-faz ekstraksiyon	64
2.2.2.1. Aseton ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon	64
(Aseton SPE-PSA)	
2.2.2.2. Etil asetat ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon	66
(Etil asetat SPE-PSA)	
2.2.3. Otomatik katı-faz ekstraksiyon – Gilson ASPEC XL	68
2.2.3.1. C ₁₈ , NH ₂ ve PSA temizleme	68
3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI	70
3.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Analizleri	70
3.1.1. Luke metodu sonuçları	71
3.1.1.1. Doğrusallık çalışmaları	71
3.1.1.2. Belirleme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ)	
sonuçları	72
3.1.1.3. Geri kazanım sonuçları	73
3.1.1.4. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik	73
3.1.1.5. Luke metodu validasyon raporları	74
3.1.1.6. Luke metodu GC-NPD ve GC-MS kromatogramları	76
3.2. Katı-Faz Ekstraksiyon Analizleri	84
3.2.1. Aseton ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon (Aseton SPE-PSA)	
metodu sonuçları	84
3.2.1.1. Doğrusallık çalışmaları	84
3.2.1.2. LOD ve LOQ sonuçları	86
3.2.1.3. Geri kazanım sonuçları	86
3.2.1.4. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik	87
3.2.1.5. Aseton ile temizleme amaçlı SPE (Aseton SPE-PSA) metodu	
validasyon raporları	88

3.2.1.6. Aseton ile temizleme amaçlı SPE (Aseton SPE-PSA) metodu GC-NPD ve GC-MS kromatogramları	90
3.2.2. Etil asetat ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon (Etil asetat SPE- PSA) metodu sonuçları	97
3.2.2.1. Ön işlemin optimize edilmesi	98
3.2.2.2. Katı- faz ekstraksiyon temizleme işleminin optimize edilmesi	
3.2.2.3. Doğrusallık çalışmaları	102
3.2.2.4. LOD ve LOQ sonuçları	103
3.2.2.5. Geri kazanım sonuçları	104
3.2.2.6. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik	104
3.2.2.7. Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE (Etil asetat SPE-PSA) metodu validasyon raporları	105
3.2.2.8. Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE (Etil asetat SPE-PSA) metodu GC-FPD ve GC-MS kromatogramları	107
3.3. Otomatik Katı-Faz Ekstraksiyon Analizleri	115
3.3.1. Otomatik katı-faz ekstraksiyon metodu sonuçları	115
3.3.1.1. Otomatik katı-faz ekstraksiyon ön işlemin optimize edilmesi	
3.3.1.2. Otomatik katı- faz ekstraksiyon temizleme işleminin optimize edilmesi	117
3.3.1.3. Doğrusallık çalışmaları	119
a) GC-FPD çalışmaları	119
b) GC-NPD çalışmaları	123
3.3.1.4. LOD ve LOQ sonuçları	126
a) GC-FPD çalışmaları	127
b) GC-NPD çalışmaları	127
3.3.1.5. Geri kazanım sonuçları	128
a) GC-FPD çalışmaları	128
b) GC-NPD çalışmaları	130
3.3.1.6. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik	131
a) GC-FPD çalışmaları	131
b) GC-NPD çalışmaları	133
3.3.1.7. Otomatik katı-faz ekstraksiyon metodu validasyon raporları	134

a) GC-FPD çalışmaları	135
b) GC-NPD çalışmaları	137
3.3.1.8. Otomatik katı-faz ekstraksiyon metodu GC-FPD, GC-NPD ve GC-MS kromatogramları	139
a) GC-FPD kromatogramları	139
b) GC-NPD kromatogramları	144
c) GC-MS kromatogram ve spektrumları	157
3.4. Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması	167
3.5. Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Kiraz ve Biber Örneklerindeki Pestisit Kalıntı Analiz Sonuçları	170
4. TARTIŞMA	172
4.1. Doğrusallık Sonuçlarının Karşılaştırılması	172
4.2. LOD ve LOQ Sonuçlarının Karşılaştırılması	175
4.3. Geri Kazanım Sonuçlarının Karşılaştırılması	184
4.4. Tekrarlanabilirlik Sonuçlarının Karşılaştırılması	197
4.5. Kromatogramların ve Katı-Faz Ekstraksiyon Temizleme Kartuşlarının Karşılaştırılması	208
4.6. Kemometrik Metot ile Optimizasyon Çalışmaları	220
4.7. Geliştirilen Analitik Metodun Sağladığı İmkanlar	220
SONUÇ	225
KAYNAKLAR	227
EKLER	241
EK-1: Diazinon ölçüm belirsizliğinin hesaplanması	241
EK-2: Chlorpyrifos-ethyl ölçüm belirsizliğinin hesaplanması	247
EK-3: Parathion-methyl ölçüm belirsizliğinin hesaplanması	252
EK-4: Chlorpyrifos-methyl ölçüm belirsizliğinin hesaplanması	257
EK-5: GC-FPD, GC-NPD, GC-MS ve Gilson ASPEC XL SPE otomasyon cihazı	262
TEŞEKKÜR	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR DİZİNİ

AA	-	Atomik Absorbsiyon
A.B.	-	Avrupa Birliği
ABD	-	Amerika Birleşik Devletleri
ADI	-	Kabul edilebilir günlük alım
ASE	-	Otomatik solvent ekstraksiyonu
DSPE	-	Dispersif katı-faz ekstraksiyon
EI	-	Elektron impakt
FAO	-	(Food and Agricultural Organization of the United Nations) Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FAB	-	Hızlı atom bombardmanı
FD	-	Alan desorpsiyonu
FI	-	Alan iyonlaştırma
FPD	-	Alev fotometrik dedektör
FSOT	-	Erimiş-silis açık borusal kolon
GC	-	Gaz kromatografi
GCB	-	Grafize karbon siyahı
GC-MS	-	Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi
GLC	-	Gaz-sıvı kromatografi
GPC	-	Jel permation kromatografi
GSC	-	Gaz-katı kromatografi
HPLC	-	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
IUPAC	-	Uluslararası Kuramsal ve Uygulamalı Kimya Birliği
LD₅₀	-	Ağız yolu ile akut LD50 deyiminden, deneme sıçanlarına ağız yoluyla bir defada verildiği zaman bunların %50'sini öldüren ve deneme hayvanının vücut ağırlığının her kilogramı için miligram olarak ifade edilen o ilacın etkili madde miktarı
LLE	-	Sıvı-sıvı ekstraksiyon
MALDI	-	Matriks yardımcı desorpsiyon iyonlaştırma
MRL	-	Maksimum kalıntı limitleri

MSPD	–	Matriks katı-faz dispersiyonu
NMR	–	Nükleer Manyetik Rezonans
NPD	–	Azot fosfor dedektörü
PAH	–	Poli aromatik hidrokarbon
PCB	–	Polikloro bifenil
PD	–	Plazma desorpsiyonu
PLE	–	Basıncılı sıvı ekstraksiyon
PSA	–	Primer sekonder amin
PS-DVB	–	Poli stiren-divinil benzen
SAX	–	Kuvvetli anyonik değişimi
SCAN	–	Tarama modu
SCX	–	Kuvvetli anyonik değişimi
SCOT	–	Destek-kaplı açık borusal kolon
SFE	–	Super kritik sıvı ekstraksiyonu
SIM	–	Seçici iyon izleme
SIMS	–	İkincil iyon kütle spektrometri
SPE	–	Katı-faz ekstraksiyon
SPME	–	Katı-faz mikro ekstraksiyon
WCOT	–	Duvar-kaplı açık borusal kolon
WHO	–	(World Health Organization) Dünya Sağlık Örgütü
T	–	Tekrarlanabilirlik
TS	–	Termosprey iyonlaştırma
TÜ	–	Tekrar üretilebilirlik
USEPA	–	(United States Environmental Protection Agency) Birleşmiş Milletler Çevre Koruma Örgütü

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.2.1. Pestisitlerin kimyasal sınıflandırılması, biyolojik aktiviteleri ve temel analiz metotları.....	3
Çizelge 1.4.1. Türkiye'de yıllara göre pestisit tüketimi (kg)*	8
Çizelge 1.4.2. AB ülkelerinde 1993-1995 tüketimlerine göre hektara isabet eden ortalama pestisit miktarları	8
Çizelge 1.9.1. Farklı örnek matrislerinde pestisit kalıntı analizinde kullanılan metotlar	18
Çizelge 1.10.3.1.1. Katı-faz ekstraksiyon kolon dolgu maddeleri	26
Çizelge 1.10.3.1.2. Katı-faz ekstraksiyon metodunda kullanılan çözücüler	27
Çizelge 1.10.3.3.1. Önemli SPE dolgu maddelerinin kullanıldığı analizler	30
Çizelge 1.11.1.5.1. Çeşitli kolon tiplerinin özelliklerinin karşılaştırılması	36
Çizelge 1.11.1.5.2. Gaz kromatografisinde kullanılan yaygın durgun fazlar	37
Çizelge 1.11.2.3.1. Moleküler kütle spektroskopide kullanılan iyon kaynakları	44
Çizelge 1.11.2.3.2. Bir elektron impakt kaynağındaki bazı tipik reaksiyonlar	46
Çizelge 1.11.2.3.3. Bazı elementlerin izotoplarının bağıl bollukları	47
Çizelge 2.1.3.1.1. Thermo Finnigan Trace GC çalışma şartları	57
Çizelge 2.1.3.1.2. Agilent 6890 GC-NPD çalışma şartları	57
Çizelge 2.1.3.2.1. Agilent 6890N GC-5973 Network MSD çalışma şartları	58
Çizelge 2.1.3.2.2. SIM modunda çalışılan pestisitlere ait iyonlar	58
Çizelge 2.1.4.1.1. Çalışmada kullanılan pestisitlerin katalog numaraları, saflık değerleri ve saklama sıcaklıkları	60
Çizelge 3.1. Pestisitlerin GC-FPD, GC-NPD ve GC-MS alıkonma zamanları	70
Çizelge 3.1.1.1.1. Luke metodu kalibrasyon grafiği verileri	71
Çizelge 3.1.1.2.1. Luke metodu LOD-LOQ değerleri	72
Çizelge 3.1.1.3.1. Luke metodu ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri	73

Çizelge 3.1.1.4.1. Luke metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	74
Çizelge 3.1.1.5.1. Luke metodu diazinon validasyon raporu	74
Çizelge 3.1.1.5.2. Luke metodu chlorpyrifos-methyl validasyon raporu	75
Çizelge 3.1.1.5.3. Luke metodu parathion-methyl validasyon raporu	76
Çizelge 3.1.1.5.4. Luke metodu chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu	76
Çizelge 3.2.1.1.1. Aseton SPE-PSA metodu kalibrasyon grafiği verileri	85
Çizelge 3.2.1.2.1. Aseton SPE-PSA metodu LOD-LOQ değerleri	86
Çizelge 3.2.1.3.1. Aseton SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağlı standart sapma değerleri	87
Çizelge 3.2.1.4.1. Aseton SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	87
Çizelge 3.2.1.5.1. Aseton SPE-PSA metodu diazinon validasyon raporu	88
Çizelge 3.2.1.5.2. Aseton SPE-PSA metodu chlorpyrifos-methyl validasyon raporu	88
Çizelge 3.2.1.5.3. Aseton SPE-PSA metodu parathion-methyl validasyon raporu	89
Çizelge 3.2.1.5.4. Aseton SPE-PSA metodu chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu	89
Çizelge 3.2.2.1. Katı-faz ekstraksiyon kartuşları ile yapılan ön denemelerde yükleme ve elüsyon kısımlarında elde edilen pestisit yüzdeleri	97
Çizelge 3.2.2.1.1. Kemometrik olarak örnek miktarı, çözücü miktarı, Na ₂ SO ₄ ve NaHCO ₃ miktarları için düzenlenen deneysel plan ve sonuçlar	99
Çizelge 3.2.2.1.2. Örnek miktarı, çözücü miktarı, Na ₂ SO ₄ ve NaHCO ₃ miktarları için belirlenen deneysel çalışma şartları	99
Çizelge 3.2.2.2.1. Kemometrik olarak örnek yükleme miktarı ve EtOAc elüsyon miktarı için düzenlenen deneysel plan ve sonuçlar	101
Çizelge 3.2.2.2.2. Kartuşa yüklenen örnek miktarı ve EtOAc elüsyon miktarı için belirlenen deneysel çalışma şartları	101
Çizelge 3.2.2.3.1. Etil asetat SPE-PSA metodu kalibrasyon grafiği verileri	102

Çizelge 3.2.2.4.1. Etil asetat SPE-PSA metodu LOD-LOQ değerleri	103
Çizelge 3.2.2.5.1. Etil asetat SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri	104
Çizelge 3.2.2.6.1. Etil asetat SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik değerleri (TÜ)	105
Çizelge 3.2.2.7.1. Etil asetat SPE-PSA metodu diazinon validasyon raporu	105
Çizelge 3.2.2.7.2. Etil asetat SPE-PSA metodu chlorpyrifos-methyl validasyon raporu	106
Çizelge 3.2.2.7.3. Etil asetat SPE-PSA metodu parathion-methyl validasyon raporu ..	106
Çizelge 3.2.2.7.4. Etil asetat SPE-PSA metodu chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu..	107
Çizelge 3.3.1.1.1. Otomatik SPE ön işleminde kemometrik olarak örnek miktarı, çözücü miktarı, Na ₂ SO ₄ ve NaHCO ₃ miktarları için düzenlenen deneysel plan ve sonuçlar ...	116
Çizelge 3.3.1.1.2. Otomatik SPE ön işleminde örnek miktarı, çözücü miktarı, Na ₂ SO ₄ ve NaHCO ₃ miktarları için belirlenen deneysel çalışma şartları	116
Çizelge 3.3.1.2.1. Otomatik SPE temizleme işleminde kemometrik olarak örnek yükleme miktarı, EtOAc elüsyon miktarı ve akış hızı için düzenlenen deneysel plan ve sonuçlar	118
Çizelge 3.3.1.2.2. Otomatik SPE temizleme işleminde kartuşa yüklenen örnek miktarı, EtOAc elüsyon miktarı ve akış hızı için belirlenen deneysel çalışma şartları	118
Çizelge 3.3.1.3.1. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD diazinon kalibrasyon grafiği verileri	120
Çizelge 3.3.1.3.2. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-methyl kalibrasyon grafiği verileri	120
Çizelge 3.3.1.3.3. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD parathion-methyl kalibrasyon grafiği verileri	120
Çizelge 3.3.1.3.4. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-ethyl kalibrasyon grafiği verileri	121
Çizelge 3.3.1.3.5. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD diazinon kalibrasyon grafiği verileri.....	123

Çizelge 3.3.1.3.6. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-methyl kalibrasyon grafiği verileri	124
Çizelge 3.3.1.3.7. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD parathion-methyl kalibrasyon grafiği verileri	124
Çizelge 3.3.1.3.8. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-ethyl kalibrasyon grafiği verileri	124
Çizelge 3.3.1.4.1. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD LOD-LOQ değerleri	127
Çizelge 3.3.1.4.2. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD LOD-LOQ değerleri.....	127
Çizelge 3.3.1.5.1. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu FPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri	128
Çizelge 3.3.1.5.2. Otomatik SPE-NH ₂ metodu FPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri	129
Çizelge 3.3.1.5.3. Otomatik SPE-PSA metodu FPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri	129
Çizelge 3.3.1.5.4. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu NPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri.....	130
Çizelge 3.3.1.5.5. Otomatik SPE-NH ₂ metodu NPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri	130
Çizelge 3.3.1.5.6. Otomatik SPE-PSA metodu NPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri	131
Çizelge 3.3.1.6.1. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	132

Çizelge 3.3.1.6.2. Otomatik SPE-NH ₂ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	132
Çizelge 3.3.1.6.3. Otomatik SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	133
Çizelge 3.3.1.6.4. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	133
Çizelge 3.3.1.6.5. Otomatik SPE-NH ₂ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	134
Çizelge 3.3.1.6.6. Otomatik SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	134
Çizelge 3.3.1.7.1. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD diazinon validasyon raporu	135
Çizelge 3.3.1.7.2. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-methyl validasyon raporu	135
Çizelge 3.3.1.7.3. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD parathion-methyl validasyon raporu	136
Çizelge 3.3.1.7.4. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu	136
Çizelge 3.3.1.7.5. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD diazinon validasyon raporu	137
Çizelge 3.3.1.7.6. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-methyl validasyon raporu	137
Çizelge 3.3.1.7.7. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD parathion-methyl validasyon raporu	138
Çizelge 3.3.1.7.8. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu.....	138

Çizelge 3.5.1. Kiraz ve biber örneklerinde farklı ekstraksiyon metotları ile belirlenen pestisit analiz sonuçları	170
Çizelge 4.1.1. Pestisitlere ait analitik çalışma bölgeleri	172
Çizelge 4.1.2. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait r^2 değerleri	173
Çizelge 4.1.3. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait r^2 değerleri	174
Çizelge 4.1.4. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerine ait r^2 değerleri	174
Çizelge 4.2.1. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait LOD ve LOQ değerleri	176
Çizelge 4.2.2. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait LOD ve LOQ değerleri	177
Çizelge 4.2.3. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerine ait LOD değerleri	179
Çizelge 4.2.4. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerine ait LOQ değerleri	179
Çizelge 4.2.5. Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliği maksimum kalıntı limitleri ve otomatik SPE metotlarında elde edilen ortalama LOQ değerleri	182
Çizelge 4.3.1. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları	184
Çizelge 4.3.2. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları	185
Çizelge 4.3.3. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları	187
Çizelge 4.3.4. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları	188
Çizelge 4.3.5. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 10 ppb geri kazanım değerleri	191
Çizelge 4.3.6. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 250 ppb geri kazanım değerleri	191
Çizelge 4.3.7. Pestisit kalıntı analizlerinde çalışılan konsantrasyona göre elde edilmesi gereken ve otomatik SPE metotlarında elde edilen geri kazanım aralıkları	193

Çizelge 4.4.1. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri	197
Çizelge 4.4.2. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri	198
Çizelge 4.4.3. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri	200
Çizelge 4.4.4. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri	201
Çizelge 4.4.5. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) değerleri	203
Çizelge 4.4.6. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) değerleri	204
Çizelge 4.4.7. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri	204
Çizelge 4.4.8. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri.....	204
Çizelge 4.4.9. Pestisit kalıntı analizlerinde konsantrasyona göre elde edilmesi gereken ve otomatik SPE metotlarında elde edilen tekrarlanabilirlik değerleri	207
Çizelge 4.7.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) ve katı-faz ekstraksiyon (SPE) metotlarının karşılaştırılması.....	221
Çizelge 4.7.2. Elle yapılan SPE ve otomasyon cihazlarının karşılaştırılması	223

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.4.1. Dünyadaki pestisit satış tutarının yıllara göre değişimi.....	6
Şekil 1.4.2. Ürünlere göre dünyada tarım ilaçları kullanımı	7
Şekil 1.4.3. Türkiye’de ürünlere göre tarım ilaçları kullanımı	9
Şekil 1.5.4.1. Pestisitlerin toprak-bitki sistemindeki davranışları	14
Şekil 1.10.1.1. Sebze/meyve örneğinden pestisitlerle birlikte ekstrakte edilen matriks bileşenlerinin miktarı	23
Şekil 1.10.3.1. SPE kolonunun yapısı, mikro plakalar, kolon ve diskler ve vakum manifoldu	24
Şekil 1.10.3.2. (a) ve (b) SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri	25
Şekil 1.10.3.2.1. Analiz edilecek örneğin özelliğine göre seçilmesi gereken SPE ayırım tekniği	29
Şekil 1.11.1.2. Gaz kromatografisinin temel bileşenleri	33
Şekil 1.11.1.4. Gaz kromatografisi enjeksiyon bloğu	35
Şekil 1.11.1.8.1. Gaz kromatografi/kütle spektrometrenin şematik gösterimi	41
Şekil 2.11.2.1.1. Bir kütle spektrometrenin bileşenleri	42
Şekil 1.11.2.2.1. Bir jet ayırıcının şeması	43
Şekil 1.11.2.3.1. Elektron impakt kaynağının yapısı	45
Şekil 1.11.2.4.1. Kuadropol kütle spektrometresi	48
Şekil 2.1.2.1.1. Diazinon’ un kimyasal yapısı	54
Şekil 2.1.2.2.1. Chlorpyrifos-methyl’ in kimyasal yapısı	55
Şekil 2.1.2.3.1. Parathion-methyl’ in kimyasal yapısı	55
Şekil 2.1.2.4.1. Chlorpyrifos-ethyl’ in kimyasal yapısı	56
Şekil 2.2.1.1.1. Luke metodu	63
Şekil 2.2.2.1.1. Aseton-SPE ön işlemi	64
Şekil 2.2.2.1.2. Aseton-SPE PSA temizleme işlemi	65
Şekil 2.2.2.2.1. Etil asetat-SPE ön işlemi	66
Şekil 2.2.2.2.2. Etil asetat-SPE PSA temizleme işlemi	67
Şekil 2.2.3.1.1. Etil asetat otomatik SPE-ön işlemi	68
Şekil 2.2.3.1.2. Etil asetat otomatik SPE-C ₁₈ , NH ₂ , PSA temizleme işlemi	69

Şekil 3.1.1.1.1. Luke metodu diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri	72
Şekil 3.1.1.6.1. Luke metodu GC- NPD kromatogramları	79
Şekil 3.1.1.6.2. Luke metodu GC- MS kromatogram ve spektrumları	81
Şekil 3.1.1.6.3. Luke metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı	82
Şekil 3.1.1.6.4. Luke metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları	83
Şekil 3.2.1.1.1. Aseton SPE-PSA metodu diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri	85
Şekil 3.2.1.6.1. Aseton SPE-PSA metodu GC- NPD kromatogramları	92
Şekil 3.2.1.6.2. Aseton SPE-PSA metodu GC- MS kromatogram ve spektrumları	94
Şekil 3.2.1.6.3. Aseton SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı	94
Şekil 3.2.1.6.4. Aseton SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları	96
Şekil 3.2.2.3.1. Etil asetat SPE-PSA metodu diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri	103
Şekil 3.2.2.8.1. Etil asetat SPE-PSA metodu GC-FPD kromatogramları	110
Şekil 3.2.2.8.2. Etil asetat SPE-PSA metodu GC- MS kromatogram ve spektrumları	112
Şekil 3.2.2.8.3. Etil asetat SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-FPD kromatogramı.....	112
Şekil 3.2.2.8.4. Etil asetat SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları	114
Şekil 3.3.1.3.1. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD diazinon doğrusallık grafikleri	121
Şekil 3.3.1.3.2. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-methyl doğrusallık grafikleri	122
Şekil 3.3.1.3.3. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD parathion-methyl doğrusallık grafikleri	122
Şekil 3.3.1.3.4. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri	123
Şekil 3.3.1.3.5. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD diazinon doğrusallık grafikleri.....	125

Şekil 3.3.1.3.6. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-methyl doğrusallık grafikleri.....	125
Şekil 3.3.1.3.7. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD parathion-methyl doğrusallık grafikleri	126
Şekil 3.3.1.3.8. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri	126
Şekil 3.3.1.8.1. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu GC-FPD blank kiraz kromatogramları	140
Şekil 3.3.1.8.2. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu GC-FPD blank biber kromatogramları	141
Şekil 3.3.1.8.3. Otomatik SPE-PSA metodu GC-FPD kromatogramları	143
Şekil 3.3.1.8.4. Otomatik SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-FPD kromatogramı	143
Şekil 3.3.1.8.5. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu GC-NPD kromatogramları	148
Şekil 3.3.1.8.6. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı	148
Şekil 3.3.1.8.7. Otomatik SPE-NH ₂ metodu GC-NPD kromatogramları	152
Şekil 3.3.1.8.8. Otomatik SPE-NH ₂ metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı	153
Şekil 3.3.1.8.9. Otomatik SPE-PSA metodu GC-NPD kromatogramları	156
Şekil 3.3.1.8.10. Otomatik SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı	157
Şekil 3.3.1.8.11. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu GC-MS kromatogram ve spektrumları	159
Şekil 3.3.1.8.12. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları	161
Şekil 3.3.1.8.13. Otomatik SPE-NH ₂ metodu GC-MS kromatogram ve spektrumları	163
Şekil 3.3.1.8.14. Otomatik SPE-NH ₂ metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları.....	164
Şekil 3.3.1.8.15. Otomatik SPE-PSA metodu GC-MS kromatogram ve spektrumları	166

Şekil 3.3.1.8.16. Otomatik SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları	167
Şekil 4.2.1. EtOAc SPE-PSA ve otomatik SPE metotları FPD LOD ve LOQ değerleri	176
Şekil 4.2.2. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD LOD ve LOQ değerleri	178
Şekil 4.2.3. Luke, aseton SPE-PSA ve otomatik SPE-PSA temizleme metodu GC-NPD LOD kromatogramları	178
Şekil 4.2.4. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD LOD değerleri	180
Şekil 4.2.5. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD LOQ değerleri	180
Şekil 4.2.6. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu FPD ve NPD LOD kromatogramları	181
Şekil 4.2.7. Otomatik SPE metodu GC-MS kromatogramları	182
Şekil 4.3.1. EtOAc SPE-PSA ve otomatik SPE metotları FPD 10 ppb geri kazanım değerleri	186
Şekil 4.3.2. EtOAc SPE-PSA ve otomatik SPE metotları FPD 250 ppb geri kazanım değerleri	186
Şekil 4.3.3. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 10 ppb geri kazanım değerleri	189
Şekil 4.3.4. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 250 ppb geri kazanım değerleri	189
Şekil 4.3.5. Luke, aseton SPE-PSA ve otomatik SPE-PSA metodu GC-NPD 250 ppb geri kazanım kromatogramları	190
Şekil 4.3.6. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 10 ppb kiraz geri kazanım değerleri	192
Şekil 4.3.7. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 250 ppb kiraz geri kazanım değerleri	192
Şekil 4.3.8. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu FPD ve NPD 250 ppb geri kazanım kromatogramları	193
Şekil 4.4.1. EtOAc-SPE PSA ve otomatik SPE metotları FPD 10 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri	199
Şekil 4.4.2. EtOAc-SPE PSA ve otomatik SPE metotları FPD 250 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri	199

Şekil 4.4.3. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 10 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri	202
Şekil 4.4.4. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 250 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri	203
Şekil 4.4.5. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 10 ppb kiraz tekrarlanabilirlik değerleri	205
Şekil 4.4.6. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 250 ppb kiraz tekrarlanabilirlik değerleri	206
Şekil 4.4.7. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 10 ppb kiraz tekrar üretilebilirlik değerleri	206
Şekil 4.4.8. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 250 ppb kiraz tekrar üretilebilirlik değerleri	207
Şekil 4.5.1. Luke metodu GC-NPD blank ve LOD kromatogramları	208
Şekil 4.5.2. Aseton ile SPE-PSA metodu GC-NPD blank ve LOD kromatogramları	209
Şekil 4.5.3. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu GC-FPD blank kiraz kromatogramları	210
Şekil 4.5.4. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu GC-FPD blank biber kromatogramları	210
Şekil 4.5.5. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu GC-FPD LOD kromatogramları	211
Şekil 4.5.6. Otomatik SPE metodu ön işlem GC-NPD blank kiraz kromatogramı.	212
Şekil 4.5.7. Otomatik SPE metodu ön işlem GC-NPD blank biber kromatogramı	212
Şekil 4.5.8. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA temizleme metodu GC-NPD blank kiraz kromatogramları	213
Şekil 4.5.9. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu GC-NPD blank biber kromatogramları	213
Şekil 4.5.10. Otomatik SPE C ₁₈ , NH ₂ ve PSA metodu GC-NPD LOD kromatogramları	214
Şekil 4.5.11. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu GC-NPD blank kiraz kromatogramı	216
Şekil 4.5.12. Otomatik SPE-C ₁₈ metodu GC-NPD blank biber kromatogramı	217
Şekil 4.5.13. Pestisitlerin scan modundaki GC-MS kromatogram ve spektrumları	219

SİMGELER DİZİNİ

C	-	Konsantrasyon
C₁₈	-	Oktadesil silan
C₈	-	Oktil
Cl	-	Kimyasal iyonlaştırma
—CN	-	Siyano
—CO	-	Karbonil
—COHCOH	-	Diol
—C₆H₅SO₃H—	-	Aromatik sülfonik asit
—C₆H₅	-	Fenil
—C₃H₆CN	-	Siyanopropil
—C₃H₆CF₃	-	Trifloropropil
DCM	-	Diklor metan
EtOAc	-	Etil asetat
MeCN	-	Asetonitril
MeOH	-	Metanol
MgSO₄	-	Magnezyum sülfat
m/z	-	kütle/yük
NaCl	-	Sodyum klorür
NaHCO₃	-	Sodyum bikarbonat
—NH₂	-	Amino
Na₂SO₄	-	Sodyum sülfat
—OH	-	Hidroksil
—R	-	Alkil

GİRİŞ

Sebze ve meyvelerdeki hastalık ve zararlılarla mücadele amacıyla kullanılan pestisitlerin insan sağlığına olan zararlı etkileri bilinmektedir (Zawiyah ve ark. 2007). Bu nedenle birçok ülke ve uluslararası organizasyon, gıda maddelerinde müsaade edilebilen maksimum kalıntı limitleri (MRL) oluşturma çalışması içindedirler. Bunlar değişik yönetmeliklerde yer almış ve uygulamaya konulmuştur. Ürünlerdeki maksimum kalıntı düzeyleri farklı tarım ve iklim koşulları altında olması nedeniyle ülkeden ülkeye farklılık gösterir (Torres ve ark.1997). Bu kapsamda, pestisit kalıntı analizleri üzerinde yoğun metot geliştirme ve uygulamada olan denetim çalışmaları sürdürülmektedir (Shuling ve ark. 2007).

En çok, taze olarak tüketilen sebze ve meyvelerde sorun olarak görünen ve parçalanması tamamlanmadan piyasaya sürülen ürünlerdeki pestisit düzeylerinin belirlenmesi güncel analitik problemler arasında yer almaktadır. Pestisit kalıntı analizlerinde kullanılan rutin sıvı-sıvı ekstraksiyon metotları, çözücü tüketiminin fazla ve zaman alıcı olması açısından analiz sayısı itibarıyla sınırlamalar getirmektedir (Oliva ve ark.2000). Ayrıca uzun örnek hazırlama sürecindeki çok sayıda basamaklı işlemler hatalara neden olmakta ve kesinliği düşürmektedir (Kristenson ve ark.2001). Bunun dışında fazla çözücü kullanımı da çevre kirliliğine sebep olmakta ve laboratuvar personelinin sağlığına zarar verebilmektedir. Pestisit kalıntı tayininde kullanılan ve kullanılacak doğru ve kesin metotların geliştirilmesinde bu etkenler önemli yer tutmaktadır (Tekel ve Hatrik 1996).

Bu açıdan bakıldığında değinilen sorunların giderilmesinde hızlı, otomasyona elverişli, az kimyasal kullanarak çevre ve laboratuvar güvenliği sağlayan yeni analitik yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. (Dabrowski ve ark.2002).

Sebze ve meyvelerdeki pestisit kalıntı analizlerinde referans olarak tavsiye edilen ve en çok kullanılan teknik NPD, FPD ve ECD gibi farklı seçici dedektörlerle birlikte kullanılan gaz kromatografisidir. Pestisit kalıntısının kimlik doğrulaması genellikle seçici iyon tarama modunda kütle spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilir (Albero ve ark.2005).

Çalışmada; ¼lkemiz sebze ve meyve ihracatında ve halkımızın beslenmesinde ¼nemli yer tutan ve ¼ok t¼ketilen kiraz ve biber ¼rneklerindeki pestisit kalıntı tayininde kullanılabilir, değinilen istekleri karşılayabilecek yeni bir uyarlanmış metot geliştirilmesi ¼zerinde durulmaktadır. Bunun i¼in ¼rnek hazırlama işlemlerinde katı-faz ekstraksiyon tekniklerinin kullanılmasıyla uygulanan metoda se¼icilik kazandırılmaya ¼alıřılmakta, otomasyon basamağı optimize edilerek g¼n i¼inde yapılan analiz sayısını artıran metot uygulamaya sokulmaktadır.

1. KAYNAK ÖZETLERİ VE KURAMSAL TEMELLER

1.1. Pestisitlerin Genel Anlamı ve Çeşitleri

Tarımsal ürünleri, hastalık, zararlı ve yabancı otlardan korumak için kullanılan her türlü kimyasal bileşiğe pestisit denilmiştir. Pestisit, herhangi bir istenmeyen canlının (pest) yayılmasını engelleyen, uzaklaştıran ya da ondan koruyan her türlü bileşik ya da bileşikler karışımı olarak bilinmektedir (Tiryaki 2006).

Pestisitler etkiledikleri canlı grubuna göre; insektisit (böcekleri öldüren), akarisit (akarları öldüren), nematisit (nematodları öldüren), mollussit (yumuşakçaları öldüren), rodentisit (kemirgenleri öldüren), avisit (kuşları öldüren), afisit (yaprak bitlerini öldüren), fungusit (fungusları öldüren), bakterisit (bakterileri öldüren), herbisit (otları öldüren) ve algisit (algleri öldüren) şeklinde sınıflandırılmaktadır (Kaygısız 2003).

Pestisitler; formülasyon şekillerine göre, kullanma tekniğine göre, etki şekillerine göre, bileşimindeki etkili madde grubuna göre v.s. gibi çeşitli şekillerde de sınıflandırılabilir; fakat bileşimindeki etkili madde grubuna göre sınıflandırma en bilimsel olan bir sınıflandırmadır (Öztürk 1997). Çizelge 1.2.1.'de pestisitlerin kimyasal sınıflandırılması, biyolojik aktiviteleri ve en tipik grup temsilcileri görülmektedir (Greve 1998).

Çizelge 1.2.1. Pestisitlerin kimyasal sınıflandırılması, biyolojik aktiviteleri ve temel analiz metotları

Kimyasal sınıf	Biyolojik aktivite	Pestisit sayısı	Tipik temsilci	Analiz metodu
İnorganik bileşikler	Fungisit	7	Sülfür	LC
Organokalaylı bileşikler	Fungisit	5	Fentin	GC-FPD
Organofosforlu bileşikler	İnsektisit, akarisit	76	Parathion, diazinon	GC-FPD
Diğerleri	İnsektisit, akarisit	4	Glyphosate	LC

Çizelge 1.2.1. (Devam) Pestisitlerin kimyasal sınıflandırılması, biyolojik aktiviteleri ve temel analiz metotları

Organoazotlu bileşikler				
N-metilkarbamatlar	İnsektisit, akarisit	12	Aldicarb	LC
Dinitro bileşikleri	Herbisit, fungusit	6	Dinoseb	LC
Ditiyokarbamatlar	Fungisit	9	Maneb,zineb	LC
Benzimidazole türevleri	Fungisit	4	Carbendazim, thiabendazole	LC
Aromatik amin türevleri	Herbisit	22	Diuron, isoproturon	LC
Triazinler	Herbisit	9	Atrazine, Simazine	GC-NPD
Quatlar	Büyümeyi düzenleyici, herbisit	6	Paraquat, diquat	LC
Diğerleri	Herbisit, fungusit	91	Bentazon metolachlor, metazachlor	GC-NPD ve LC
Organohalojen bileşikleri				
Piretroidler	İnsektisit,	12	Permethrin	GC-ECD
Karboksilik asitler	Herbisit	9	Mecoprop, diclorprop	LC
Diğerleri	İnsektisit, fungusit	44	DDT, iprodione	GC-ECD
Organosülfürlü bileşikler				
Diğerleri	Büyümeyi düzenleyici, insektisit	11	Dikegulac	LC
Fumigantlar	İnsektisit, nematisit	10	Methyl bromide	GC-ECD

KAYNAK: GREVE, P. 1988. Analytical Methods for Residues of Pesticides, 5th ed., SDU Publishers, The Hague, The Netherlands, Ministry of Welfare, Health and Public Affairs.

1.2. Pestisitlerin Tarihçesi

Pestisitlerin kullanımı çok eski tarihlere dayanmaktadır. M.Ö. 1500'lere ait bir papirüs üzerinde bit, pire ve eşek arılarına karşı insektisitlerin hazırlanışına dair kayıtlar bulunmuştur. 19.yy' da zararlılara karşı inorganik pestisitler kullanılmış, 1940'lardan sonra pestisit üretiminde organik kimyadan faydalanılmış, DDT ve diğer insektisit ve herbisitler keşfedilmiştir. Bugüne kadar 6000 kadar sentetik bileşik patent almasına

karşın, bunlardan 600 kadarı ticari kullanım olanağı bulmuştur. Formülasyon olarak 30.000 ton civarında olan pestisit tüketimimizde en yoğun kullanılan gruplar sırasıyla herbisitler, insektisitler ve fungusitler olarak belirtilmektedir (Yücel 2006).

1.3. Pestisit Kullanımının Nedenleri

Dünya nüfusunun hızla artmasına karşın yüzölçümünün değişmemesi, erozyon gibi doğal afetler ve yeni yerleşim yerleri, yeni fabrikalar kurulması ile tarıma elverişli alanların giderek azalması günümüz dünyasının en önemli sorunlarından biri olarak görülmektedir. Diğer taraftan, FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)'nun raporlarına göre, dünya nüfusunun % 40'ı yeterli derecede beslenememekte, hatta açlığa bağlı nedenlerle her yıl 20 milyon insan ölmektedir. Yine FAO'nun raporlarına göre her yıl, başta tahıl olmak üzere bu insanlara 15-20 milyon ton gıda maddesi gerekmektedir. Dünyanın yüzölçümü sınırlı olduğundan bu ihtiyacı karşılayacak üretim için yeni alanların tarıma açılması mümkün değildir. O halde yapılacak iş, birim alandan elde edilecek ürün miktarını arttırmaktır (Dağ ve ark. 2004).

Bu yollardan olan tarımsal mücadele ile bir yandan ürünü ve kalitesini arttırmak bir yandan da ekonomiklik hedeflenmektedir. Tarımsal mücadele; bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların zararlı etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunması ve üründeki kalitenin artırılmasıdır. Bu amaca ulaşabilmek için, tarımsal mücadelenin entegre mücadele (entegre zararlı yönetimi) görüşüne uygun olarak yürütülmesi gerekmektedir. Entegre zararlı yönetimi dendiğinde ise; tarımsal mücadelede bilinen tüm yöntemlerden yararlanan, insan ve çevre sağlığına olumsuz etkileri en az olanların uygulanmasına yönelik çalışmalar anlaşılmaktadır (Delen ve ark.2005).

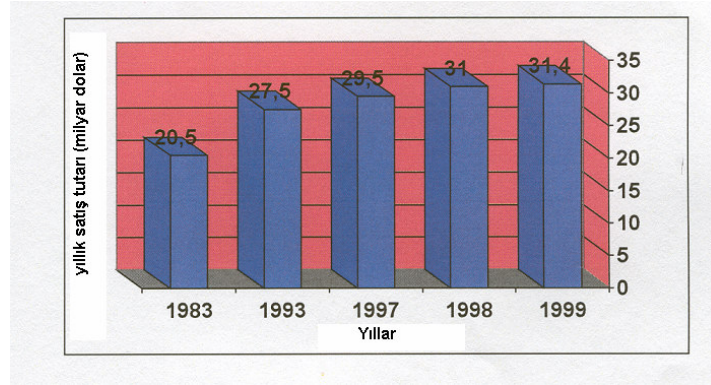
Tarımsal mücadele değişik yöntemleri içermektedir. Bu yöntemlerden birisi de tarım ilaçlarının (pestisitlerin) kullanıldığı kimyasal mücadeledir ve tüm mücadele yöntemleri arasında en fazla kullanılanıdır. Çünkü, kimyasal mücadele yüksek etkinliğe sahiptir, hızlı sonuç verir, bilinçli ve kontrollü kullanıldığında ekonomiktir ve ürünü toksin salgılayan organizmalardan da koruyabilir (De Waard ve ark.1993, Ragsdale 1994).

Kısaca özetlenen bu avantajlar, kimyasal mücadelenin modern bitki korumada uygulanması gereken bir yöntem olma özelliğini günümüzde de sürdürmesinin en önemli nedenidir.

Ülkemizde hiç tarım ilacı kullanılmadığı takdirde ortalama ürün kaybı oranının %65 olacağı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar bugün tarım ilacı kullanılmasına rağmen ürün kaybının %35 olarak hala devam ettiği doğrultusundadır (Öztürk 1997). Bazı hastalık ve zararlılara karşı son yıllarda bulunan dayanıklı pestisit çeşitleri yine de gerekli sonucu sağlayamamıştır. Ayrıca gübreleme, sulama, toprak işleme vb. verimi arttırıcı kültürel yöntemler bazı bitkilerde hastalık ve zararlıların daha da artmasına neden olmuştur. Bu sebeplerden dolayı, tarım ilaçları bugün bütün dünyada kullanılmasından vazgeçilemeyecek maddeler olarak kabul edilmektedir (Dağ ve ark. 2004).

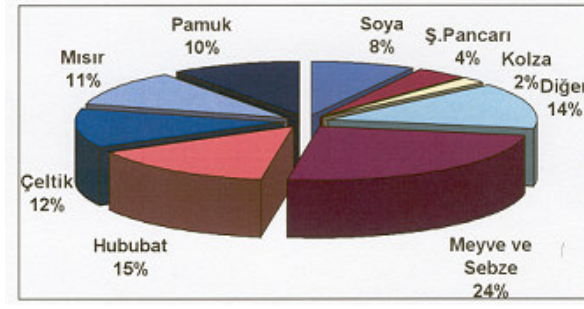
1.4. Dünyada ve Türkiye’de Pestisit Kullanım Miktarları

Dünyada tarım ilacı üretimi 3 milyon ton civarındadır. Pestisitlerin yıllık satış tutarı ise 25-30 milyar dolar arasında değişmektedir. Şekil 1.4.1.’de görüldüğü üzere dünya pestisit pazarı 1998’de 1993’e göre %2.5’luk yıllık büyüme ile 31 milyar dolara ulaşmıştır. 1999’da ise 1998’e göre %1’den daha az bir büyüme olmuştur (Dağ ve ark. 2004).



Şekil 1.4.1. Dünyadaki pestisit satış tutarının yıllara göre değişimi

KAYNAK: DAĞ, S.S., V.T.AYKAÇ, A.GÜNDÜZ, M. KANTARCI ve N. ŞİŞMAN. 2004. <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler.933-958>, Erişim tarihi: 17.3.2005. Konu: Türkiye’de Tarım İlaçları Endüstrisi ve Geleceği.



Şekil 1.4.2. Ürünlere göre dünyada tarım ilaçları kullanımı

KAYNAK: DAĞ, S.S., V.T.AYKAÇ, A.GÜNDÜZ, M. KANTARCI ve N. ŞİŞMAN. 2004.
<http://www.zmo.org.tr/etkinlikler.933-958>, Erişim tarihi: 17.3.2005. Konu: Türkiye’de Tarım İlaçları Endüstrisi ve Geleceği.

Dünyada yetiştirilen ürünlere göre tarım ilaçları pazarına baktığımızda ise en önemli ürün gruplarının meyve-sebze (%25) ve hububat olduğu (%15) Şekil 1.4.2.’de görülmektedir. Bunların yanında çeltik (%12), mısır (%11), pamuk (%10)’da önemli ürün grupları olarak dikkati çekmektedir (Dağ ve ark. 2004).

Ülkemizdeki genel kanı dünyada tarım ilacı kullanımının terk edilmesine rağmen ülkemizde kullanımına devam edildiği şeklindedir. Dünyada tarım ilacı kullanımının yerine biyolojik mücadele, organik tarım, alternatif tarım, ekolojik tarım teknolojilerin yer aldığı yöntemlerin kullanılmasına başlanmışsa da, halihazırda genel tarımsal mücadele yöntemleri içerisinde tarım ilaçları dışında kullanılan yöntemlerin payı dünyanın en gelişmiş ülkesinde bile %5’i geçmemektedir (Dağ ve ark. 2004).

Türkiye’de ise 1999 sonu itibariyle 2000’e yakın ruhsatlı ilaç olup bunlar içerisinde yer alan teknik madde sayısı 300 civarındadır. Bunların 16 tanesi ülkemizde üretilmekte olup, diğerleri ithal edilmekte veya hazır ilaç olarak ülkemize girmektedir (Dağ ve ark. 2004).

Türkiye’de pestisit kullanımını gerçek biçimiyle ortaya koyabilmek için, ülkedeki pestisit tüketim miktarlarının ve tüketilen pestisitlerin niteliklerinin üzerinde durulması gerekmektedir. Bu konu beraberce incelenirse, ülkenin pestisit kullanımı değerlendirilmiş olur (Delen ve ark.2005).

1979’dan 2002’ye kadar, etkiledikleri canlı gruplarına göre pestisitlerin tüketimleri Çizelge 1.4.1.’de özetlenmiştir.

Çizelge 1.4.1. Türkiye’de yıllara göre pestisit tüketimi (kg)

Pestisit Grupları	1979	1987	1994	1996	2002
İnsektisitler	2.287.658	3.303.446	2.064.991	3.027.380	2.250.898
Akarisitler	203.107	240.360	192.279	223.857	296.809
Yağlar	1.594.526	2.147.106	2.147.106	2.871.160	2.428.238
Fumigant ve Nematisitler	315.665	322.227	530.738	1.076.661	1.559.489
Rodentisit ve	5.600	2.124	2.509	3.268	1.794
Fungisitler	1.537.315	2.611.960	2.201.406	2.951.191	1.964.292
Herbisitler	2.451.977	3.495.044	3.902.588	3.643.971	3.697.397
TOPLAM	8.395.848	12.112.267	10.871.792	13.797.488	12.198.917

KAYNAK: DELEN, N., E. DURMUŞOĞLU, A. GÜNCAN, N. GÜNGÖR, C.TURGUT ve A. BURÇAK. 2005. www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/030nafizdelen.pdf,

Çizelge 1.4.1’de görüldüğü gibi, 1979’da 8.395.84 kg olan tüketim, 2002’de 12.198.917 kg’a ulaşmıştır. 22 yıllık sürede ekonomik duruma, hastalık ve zararlıların değişmesine göre, tüketim bazı inişler ve çıkışlar göstermekle birlikte, tüketimde %45,29’luk bir artış olmuştur. Bu da, ortalama %2,05’lik yıllık artışı göstermektedir.

Türkiye’nin pestisit tüketimi AB ülkeleriyle karşılaştırılacak olursa, AB ülkelerinin 1993-1995 yılı ortalamalarına göre hektara düşen pestisit tüketimleri Çizelge 1.4.2.’de görülmektedir (Oskam ve ark.1997).

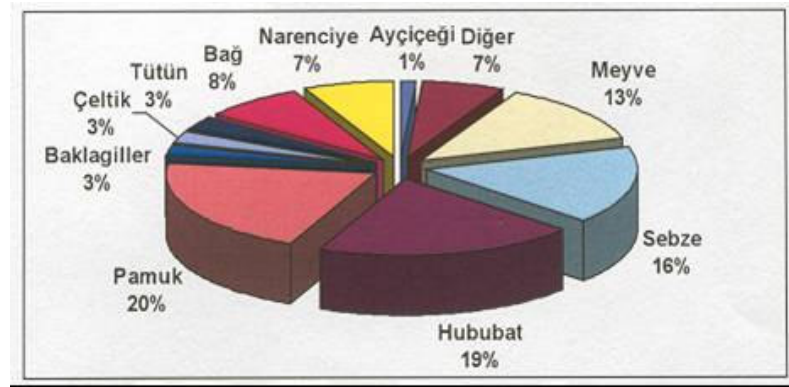
Çizelge 1.4.2. AB ülkelerinde 1993-1995 yılı tüketimlerine göre hektara düşen ortalama pestisit miktarları

Ülkeler	Pestisit tüketimi (kg/ha)
Almanya	2,6
Avusturya	4,0
Belçika	1,2
Danimarka	1,7
Finlandiya	1,2
Fransa	5,6
Hollanda	13,8
İngiltere	6,4
İrlanda	8,0
İspanya	2,3
İsveç	4,4
İtalya	9,3
Lüksembourg	4,4
Portekiz	6,0
Yunanistan	13,5

KAYNAK: DELEN, N., E. DURMUŞOĞLU, A. GÜNCAN, N. GÜNGÖR, C.TURGUT ve A. BURÇAK. 2005. www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/030nafizdelen.pdf,

Çizelge 1.4.2’de görüldüğü gibi, Hollanda ve Yunanistan AB’nin en yoğun, Belçika ve Finlandiya ise en az pestisit tüketen ülkeleridir. Türkiye’nin tüketimi ise, yıllara göre hektara 400-700 g düzeyindedir. Hektara düşen etkili madde miktarı 1993-1999 döneminde en düşük değere 490 g ile 1994’de ve en yüksek değere de 706 g ile 1997’de ulaşmıştır (Turabi, 2004). Bu değerler, Türkiye’nin AB ülkelerine göre oldukça az pestisit tükettiğini göstermektedir.

Türkiye’de birim alana kullanılan ilaç miktarı gelişmiş ülkelere göre çok düşük düzeyde kalmaktadır. Ülkemizde hektar başına kullanılan ilaç miktarı 0.5 kg. iken bu miktar Fransa ve Almanya’da 4.4 kg., İtalya’da 7.6 kg., Hollanda’da 17.5 kg., Yunanistan’da 6.0 kg., Belçika’da 10.7 kg.’dır. Diğer bir deyişle Türkiye’ye kıyasla Fransa ve Almanya’da 9, İtalya’da 15, Hollanda’da 35, Yunanistan’da 12, Belçika’da 21, ABD’de 15, İsviçre ve Japonya’da 17 kat daha fazla ilaç tüketilmektedir (Dağ ve ark. 2004).



Şekil 1.4.3. Türkiye’de ürünlere göre tarım ilaçları kullanımı

KAYNAK: DAĞ, S.S., V.T.AYKAÇ, A.GÜNDÜZ, M. KANTARCI ve N. ŞİŞMAN. 2004. <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler.933-958>, Erişim tarihi: 17.3.2005. Konu: Türkiye’de Tarım İlaçları Endüstrisi ve Geleceği.

Şekil 1.4.3.’de görüldüğü gibi Türkiye’de tarım ilaçları sektörünün en önemli bölümü olan insektisit satışlarının %20’i pamuk, %29’u ise sebze-meyve pazarında yer almaktadır. İsektisit satışlarında %40 ile organik fosforlular en büyük pazardır. Başlıca organik fosforlu aktif maddeler chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, diazinon, dichlorvos, dimethoate, malathion, methamidophos, methidathion, monocrotophos ve parathion methyl’dir. İsektisit satışlarının %21’ni sentetik piretroidler kapsamakta olup en önemlileri arasında cypermethrin, lambda cyhalothrin, tralomethrin, zeta-cypermethrin

ve alpha-cypermethrin yer almaktadır. Karbamatlar geniş kullanım alanı bulmakta olup carbosulfan, carbaryl, furathiocarb en önemlileridir (Dağ ve ark. 2004).

1.5. Pestisitlerin Zararları

Pestisitlerin çoğu zehirli kimyasal maddeler olduğu için insan ve hayvan sağlığı ile doğal dengeye zarar verebilmekte ve çevre kirliliği problemleri yaratabilmektedir. Teknik tavsiye ve talimatlara uyulmadan kullanılan pestisitler tüketime sunulan ürünler üzerinde kalıntı bırakmakta ve hem halkımızın sağlığı açısından hem de ihracat ürünlerimizin kalitesi bakımından problemler oluşturabilmektedir (Anonim 2004 a).

Yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımı sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada, kullanılan pestisit kendisi ya da parçalanma ürünleri kalabilmekte, hedef olmayan diğer organizmalar ve insanlar üzerinde olumsuz etkileri görülmektedir. Pestisit kalıntılarının önemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Pestisitlerin bazılarının zehirli etkileri bulunmazken; bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuca etkileri bulunmuştur. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu nedenle 1960 yılında FAO ve WHO “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi”ni kurmuşlar ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapılmış, bilimsel araştırma verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır. Ülkemizde de tarımsal ürünlerde kullanılan pestisitlerin gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum miktarları ürün ve ilaç bazında belirlenmiştir (Yücel 2006).

1.5.1. Pestisitlere karşı dayanıklılık oluşumu

Zararlı ve hastalıkların, kullanılan pestisitlere karşı zamanla dayanıklılık kazandıkları bilinmektedir. Dayanıklılığın pratikteki anlamı hastalık ve zararlıların daha önce kendilerine karşı başarıyla uygulanan zehirli maddelerden artık etkilenmedikleridir. 1970’de dayanıklı olarak saptanan tür sayısı 244 iken, 1980’de bu sayı 428’e yükselmiştir. Zararlılarında meydana gelen çeşitli tipteki dayanıklılıklar sonucunda, pestisit etkinliğindeki azalmayı aşmak için daha yüksek dozlarda

uygulama gerekmekte, bu da hem maliyetin artmasına ve ürün veriminde azalmalara yol açmakta, hem de üründe kalıntı miktarının ve çevrede kirliliğin artmasına neden olmaktadır (Yücel 2006).

1.5.2. Hedef olmayan organizmalar üzerine etkisi

Hemen hemen bütün insektisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmez, omurgalı ve omurgasız diğer organizmaları da etkilerler. Zararlı etkilerin şiddeti; insektisit ve formülasyonun tipine, uygulama şekline ve tarımsal arazinin tipine bağlı olarak değişmektedir (Yıldız 2005). En genel yan etkiler aşağıda sıralanmıştır.

1. Arılar, kuşlar ve balıklar, mikroorganizmalar ve omurgasızlar gibi hedef olmayan organizmalarda ölümler,
2. Kuş, balık ve diğer organizmalarda üreme potansiyelinin azalması,
3. Hedef olmayan organizmalarda dayanıklılık oluşması sonucu insanlara hastalık taşıyan böcek ve parazitlerin kontrolden çıkması,
4. Ekosistemin yapısının ve türlerinin sayılarının değişmesi gibi uzun dönemli etkiler.

1.5.3. İnsanlar üzerine etkileri

Pestisitlerin zehirli olması nedeniyle kullanımları sırasında meydana gelebilecek potansiyel zararlardan sakınmak gerekir. İnsanların pestisitlere maruz kalması mesleki zehirlenmeler veya kaza ile meydana gelebilmektedir. Her iki tür zehirlenmenin ana nedenleri:

1. Halkın bu konuda yetersiz eğitime sahip olması ve pestisitlerin toksisite potansiyellerinin bilinmemesi,
2. Uygun olmayan koşullarda depolama,
3. Kaza ile saçılma sonucu gıdalara bulaşma,
4. Dikkatsiz yükleme ve taşıma,
5. Yıkanmamış pestisit kaplarının kullanımı,

6. Genel bakım ve atık değerlendirme işlemleri olarak sıralanabilir.

Mesleki zehirlenmeler, üretim, formülasyon hazırlama, taşıma, yükleme ve uygulama sırasında deri ve solunum yoluyla maruz kalma akut zehirlenme olarak tanımlanabilir. Daha çok organik fosforlu ve karbamatlı pestisitler bu tip zehirlenmeye neden olurlar. Bunlar vücutta kolin esteraz enzimini inhibe ederek asetil kolin birikimine yol açarlar. Kaza ile meydana gelen zehirlenmelerde, pestisitlerin yaprak ve topraktaki kalıntıları veya onların zehirli dönüşüm ürünleriyle temas sonucu hastalıklar meydana gelebilmektedir. Aşırı dozlarda alınmadıkça organik klorlu pestisitlerin insanlara akut zehirlilikleri enderdir. Bu bileşikler daha çok kronik zehirlenmeler meydana getirmektedir. Sinir sistemini etkiler ve karaciğere zarar verirler.

Son yıllarda ilaçların besin maddelerindeki kalıntılarının insanlar için kronik toksisitesi iki şekilde ele alınmaktadır:

Kabul edilebilir günlük alım (Acceptable Daily Intake-ADI): Bir kişinin bir günde alabileceği kabul edilebilir günlük ilaç miktarını mg/kg olarak ifade eden değerdir.

Maksimum kalıntı limitleri (Maximum Residue Limits-MRL): Gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen en fazla ilaç miktarını (mg/kg) ifade eden değerdir. “Codex Alimentarius”, USEPA (Birleşmiş Milletler Çevre Koruma Örgütü) gibi kuruluşların bu değerleri içeren listeleri mevcuttur. Bu miktarlar tarımsal ürünlerimizin dış pazarlarda yer bulabilmesi bakımından da önemlidir. Tolerans miktarını aşan değerlerde pestisit kalıntısı tespit edilen tarımsal ürünler alıcı ülkeler tarafından geri çevrililmektedir. Bazı pestisitlerin insanlarda mutajenik, teratojenik ve kanserojen etkilerinin de olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla saptanmıştır (Yücel 2006).

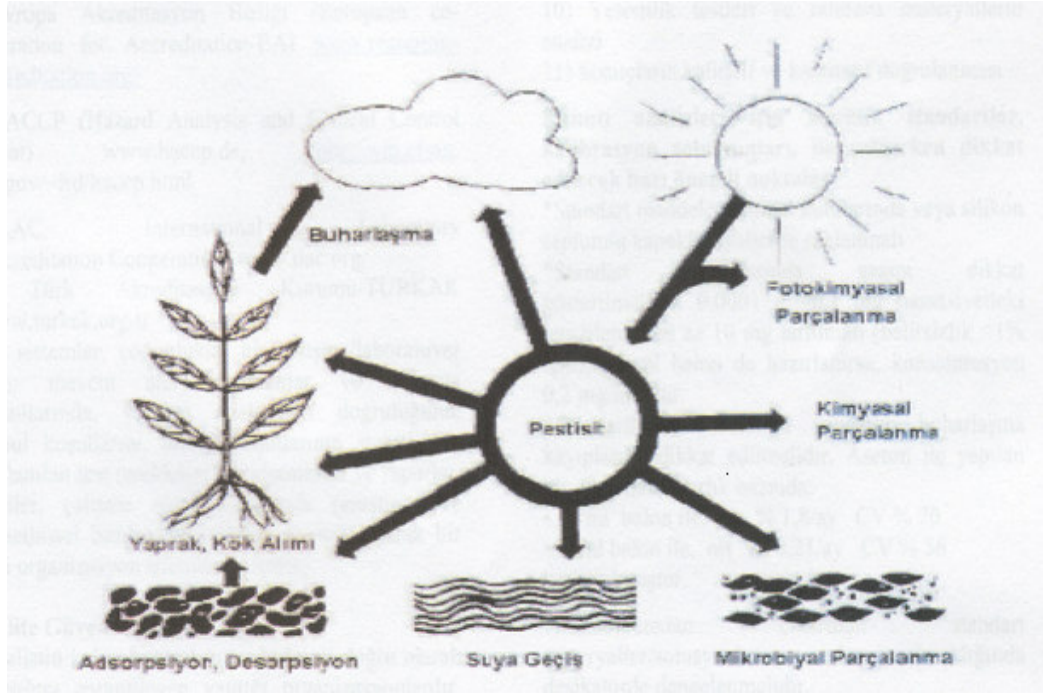
1.5.4. Çevre üzerine etkileri

Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere uygulanan pestisitler havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır. Bir pestisitinin çevredeki hareketlerini kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi, uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir.

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

Toprak ve bitki uygulamalarından sonra toprak yüzeyinde kalan pestisitler, yağmur suları ile yüzey akışı şeklinde veya toprak içerisinde aşağıya doğru yıkanmak suretiyle taban suyu ve diğer su kaynaklarına ulaşabilirler. Eğim, bitki örtüsü, formülasyon, toprak tipi ve yağış miktarına bağlı olarak taşınan pestisitler, bu sularda balık ve diğer omurgasız su organizmalarının ölmesine; bu organizmalardaki pestisit kalıntısının insanların gıda zincirine girmesi ve kirlenmiş suların içilmesiyle kronik toksisitenin oluşmasına neden olurlar.

Şekil 1.5.4.1.'de pestisitlerin toprak-bitki sistemindeki davranışları gösterilmiştir. Toprağa geçen pestisitler güneş ışınlarının etkisiyle fotokimyasal parçalanmaya; bitki, toprak mikroorganizmaları ve diğer organizmaların etkisiyle biyolojik parçalanmaya uğramakta; toprak katı maddeleri (kil ve organik madde) tarafından adsorlanıp desorplanmakta veya kimyasal parçalanmaya uğramaktadırlar. Toprak içine geçmiş pestisitler su vasıtasıyla toprak yüzeyine taşınmakta ve buradan havaya karışabilmektedir. Toprağın yapısı, kil tipi ve miktarı, organik madde içeriği, demir ve alüminyum oksit içeriği, pH'ı ve toprakta var olan baskın mikroorganizma türleri tüm bu olayları etkileyen faktörlerdir. Toprakta pestisit tutulmasıyla, hareketi ve biyolojik alımı engellenmekte ve çeşitli şekillerde parçalanması ile ya zehirli özelliğini kaybetmekte ya da daha zehirli metabolitlere dönüşebilmektedir. Pestisit kendisinin ya da zehirli parçalanma ürünlerinin hedef olmayan yerleri veya organizmaları kirletmesi istenmediğinden tüm bu olayların bilinmesi ve incelenmesi önem taşımaktadır (Fuhr 1991).



Şekil 1.5.4.1. Pestisitlerin toprak-bitki sistemindeki davranışları

KAYNAK: FUHR, F. 1991. Radiotracers in Pesticide Studies, Advantages and Limitations. Ciencia e Cultura, 43, 211-216.

1.5.5. Gıdalardaki pestisit kalıntısı

Kimyasal mücadele, belirtilen riskler nedeniyle titizlikle yapılması gereken bir iştir. Bu riskleri minimuma indirmek için uygulama sırasında gerekli her türlü önlem alınmalıdır (Yücel 2006).

Bitkinin direkt yolla veya toprakta kalan pestisiti kendi bünyesine alması ve bu bitkilerin insan gıdası veya hayvan yemi olarak kullanılması sonucunda pestisitler insanların gıda zincirine girmektedirler.

İnsanları pestisit kalıntılarının zararlı etkilerinden korumak için, gıda maddelerinin üretiminden tüketimine kadar geçirdiği her safhada denetlenmesi gerekmektedir. Tarım ürünlerimizin başta Avrupa Birliği ülkelerinde olmak üzere gelişmiş ülkelerde pazar bulabilmesi ve pazar payını arttırabilmesinin ilk koşulu, o ülkelerin standartlarına uygun olmasıdır. A.B. ve diğer gelişmiş ülkelerde çevre ve insan sağlığına verilen önem

nedeniyle standartlarına uygun olmayan tarım ürünlerinin sınırlarından içeri girmesini istememektedirler. Özellikle gelişmiş ülkeler kendi ürünlerinde ve ithal ürünlerde bulunabilecek pestisitlerin maksimum limitlerini belirlemiş ve ilgili yönetmeliklerle sıkı bir şekilde denetimini yapmaktadırlar (Bekbolet 1991).

1.6. Pestisit Kalıntı Sorunu ve Nedenleri

Ülkemizde yetiştirilen tarımsal ürünlerdeki pestisit kalıntı sorunu, üretici ve tüketicilerin eğitim noksanlığından kaynaklanmaktadır. Kalıntı sorununa çözüm getirebilmek için sorunun kaynaklarının bilinmesi gerekmektedir. Kalıntı sorunu; aşırı doz uygulamaları, son ilaçlama ve hasat tarihlerine uymama, amaç dışı pestisit kullanımı ve ilaçlama aletlerindeki yetersizlik gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır. İlk üç sorun eğitim ve denetim çalışmaları ile, ilaçlama aletlerindeki yetersizlik ise bu konuda yapılacak araştırmalar ve geliştirilmiş yeni ilaçlama tekniklerinin ülkemize kazandırılması ile çözümlenebilir (Duru 2002).

Türkiye’de ilaç tüketimi bazı ülkelere göre az olmasına rağmen kullanımdaki bilinçsizlik sorun oluşturmaktadır. Üreticinin; çevre için daha az zehirli olan ilacı seçip, gerekli dozda, uygun aletle, doğru zamanda kullanması ve son ilaçlama ile hasat arasında geçmesi gereken süreye uyması halinde pestisit kalıntı sorunu engellenebilir.

Üründe kalabilecek pestisit kalıntı miktarı çok çeşitli faktörlere bağlıdır. Kalıntıyı etkileyen bu faktörler; uygulamanın yapıldığı bitki çeşidi, etkili maddenin kimyasal yapısı ve özellikleri, kullanım dozu ve tekrarı, etkili maddenin formülasyonu, uygulama ile hasat arasındaki geçen süre, uygulama anında /sonunda çevre ve iklim koşulları ve hasattan tüketime kadar uygulanan işlemler şeklinde sıralanabilir (Tiryaki 2006).

1.7. Türkiye ve Dünyada Maksimum Pestisit Kalıntı Limitleri

Gıda örneklerindeki pestisit miktarlarını değerlendirirken, dünyada en çok Avrupa birliği direktifleri (<http://europe.eu.int/comm/food/fs/ph-ps/pest/index-en.htm>, 2004) ve Kodex Alimentarius (<http://faostat.fao.org>, 2004) maksimum kalıntı limitleri, ülkemizde ise Ocak 2005 tarih 11-25697 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan “Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Maksimum Bitki Koruma Ürünleri Kalıntı Limitleri Tebliği” (Anonim

2005a) kullanılmaktadır.

1.8. Gıda Örnekleri ve Pestisit

1.8.1. Kiraz örneği

Türkiye 42,5 milyon ton yaş meyve ve sebze üretimi ile dünyanın önemli üretici ülkelerinden birisi konumundadır. Ülkemiz rakamsal olarak önemli bir üretici ülke görünümünde olmakla birlikte, ihracatın üretime oranı %3.7 civarındadır. Bunun en önemli nedenleri, ürünlerin uluslararası piyasalarda talep edilen çeşitlere uygun miktarda ve kalitede olmaması, ürünlerin gıda sanayinde hammadde olarak kullanılması ve daha çok yurt içinde tüketilmesidir. Son yıllarda tüketiciler yüksek kaliteli, güvenilir ve farklı çeşitlerde ürün talep etmektedir. Ayrıca ürünlerin çevre dostu üretim teknikleri ile üretilmiş olması da talebi etkileyen başka bir faktördür (Anonim 2004 c).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün 2002 yılı istatistiklerine göre; dünyada 471.4 milyon ton olan toplam meyve üretiminde 68.4 milyon tonla birinci olan Çin'i, 48.6 milyon tonla Hindistan, 34.5 milyon tonla Brezilya takip ederken, Türkiye yaklaşık 11 milyon tonluk üretimle 11'inci sırada yer almaktadır (http://www.tarim.gov.tr/sanal_kutuphane3/TR7_orta_anadolu_bol_master_plani,2007).

Kiraz dünyada geniş bir yayılım göstermesine rağmen; A.B.D, Türkiye, Fransa, İtalya en önemli üretici ülkelerdendir. Türkiye üretim miktarı açısından A.B.D' den sonra 2.sırada gelmektedir. Kiraz, ülkemizin her yöresinde az çok yetiştirilmekle beraber; temel geçim kaynağı olan illerimiz Manisa, İzmir, Afyonkarahisar, Isparta, Bursa, Kocaeli, Sakarya, Konya, Artvin, Zonguldak, Kastamonu ve Amasya'dır (Şevik 2004). 2004 verilerine göre Bursa'daki meyve veren ağaç sayısı 445.416 adet olup 12.091 ton ürün elde edilmiştir (Anonim 2004 b). Türkiye'de yıllık 200.000 ton'un üzerinde olan kiraz üretiminin yaklaşık 30.000 ton'luk bölümü son yıllarda artan bir seyirle ihraç edilmektedir. Önümüzdeki yıllarda da bu gelişmeyi izleyeceği tahmin edilen kiraz üretimi ve dolayısıyla ihracatında en önemli nokta sağlıklı ve güvenilir bir üretimdir (Çalı 2004).

Kiraz, ülkemiz ekonomisi ve halkımızın beslenmesi için önemli bir meyvedir. 2007 yılı verilerine göre Türkiye'de bulunan ve meyve veren 9.385.000 kiraz ağacından

yılda yaklaşık 280.000 ton ürün elde edilmekte ve bu ürünün yaklaşık 30.000 tonu ihraç edilmektedir (<http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do>, 2007).

Kiraz Ege, Marmara ve İç Anadolu Bölgeleri başta olmak üzere, ülkemizin bütün bölgelerinde yetiştirilmektedir. Kiraz bahçelerinde verimi olumsuz etkileyen pek çok hastalık, zararlı ve yabancı ot türü bulunmaktadır. Bunların en önemlileri; kiraz sineği, elma yaprak bükeni, tomurcuk tırtılları, akarlar, monilya ve yaprak lekesi hastalığıdır (<http://www.tagem.gov.tr/YAYINLAR/kiraz/icindekiler.htm>, 2007).

Daha fazla ve kaliteli ürün elde etmek için bu hastalık ve zararlılarla mücadele büyük önem taşımaktadır. Diazinon, malathion, fenitrothion, bromopropylate, endosulfan, dichlorvos, bromophos, carbaryl, chlorpyrifos ve parathion bu mücadelede kullanılan etkili maddelerden bazılarıdır.

1.8.2. Biber örneği

FAO 2002 verilerine göre Çin, toplam sebze üretiminde 368.6 milyon ton ile dünya üretiminin % 47.7'sini tek başına karşılayarak birinci olurken, Hindistan 68.1 milyon tonla ikinci, A.B.D. 35.5 milyon tonla üçüncü, Türkiye 24.8 milyon ton sebze üretimiyle dördüncü sırada yer almaktadır. Dünya nüfusunun sadece %1.1'ini oluşturan Türkiye, dünya sebze üretiminin %3.2'sini, meyve üretiminin ise %2.3'ünü karşılamaktadır(http://www.tarim.gov.tr/sanal_kutuphane3/TR7_orta_anadolu_bol_mas_ter_plani, 2007).

2001 yılında yaş sebze ihracatında en önemli ürünlerimiz domates, biber ve soğan olurken; biber ihracatımız 40.201 ton ile 19.652 milyon dolar olarak gerçekleşmiştir. Akdeniz bölgesi biber yetiştiriciliğinin en yoğun yapıldığı bölgemizdir. Bütün kıyı boyunca yıllık sıcaklık ortalaması 18 °C olduğundan iki üretim döneminde de yetiştiricilik yapılmaktadır. Ege bölgesinin hemen hemen her ilinde sebzeçilik yapılmaktadır ve iklim özellikleri nedeniyle domates, biber ve hıyar üretimi daha fazladır. Marmara bölgesinde de ağırlıklı olarak domates, biber, patlıcan, fasulye yetiştirilmektedir (Şeniz ve ark. 2005).

Ülkemiz sebze yetiştiriciliğinde oldukça önemli bir yer teşkil eden sivri biber Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre 2005 yılında 1.429.000 ton üretilmiştir (<http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do>, 2007). Biber Akdeniz bölgesi başta olmak üzere,

Ege, Marmara, Güneydoğu Anadolu bölgelerinde de yetiştirilmektedir (Şeniz ve ark. 2005). Biber yetiştiriciliğinde verimi olumsuz etkileyen kökboğazı yanıklığı hastalığı, yaprak küfü hastalığı, biber mozaik virüsü, solgunluk (fusarium) hastalığı gibi çeşitli hastalıklar ve diğer sebzelerde de görülen beyaz sinek, kırmızı örümcek, trips, yaprak biti ve pireleri gibi zararlılar bulunmaktadır.

1.9. Pestisit Kalıntı Analizinde Kullanılan Metotlar

Pestisit kalıntı analizinde farklı örnekler için kullanılmış ve literatüre geçmiş örnek hazırlama ve tayin metotları Çizelge 1.9.1.' de özetlenmektedir.

Çizelge 1.9.1. Farklı örnek matrislerinde pestisit kalıntı analizinde kullanılan metotlar

Örnek	Ekstraksiyon Metodu	Pestisit grubu	Tayin metodu	Kaynak
Sebze ve meyve	SPE C ₁₈ , GCB	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	TORRES 1997
Sebze ve meyve	SPE PS-DVB	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	STAJNBAHER 2003
Meyve suyu	SPE C ₁₈	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	ALBERO 2005
Şarap	SPE C ₁₈	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	SOLEAS 2000
Gıda örnekleri	SPE GCB,PSA, NH ₂ , SAX	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	SCHENCK 2000
Bebek mamaları	SPE PSA	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	HERCEGOVA 2005
Sebze	SPE C ₁₈	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	KUET 2004
Pirinç	SPE Florisil	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	PENGYAN 2006
Mısır	SPE Florisil	Organofosforlu, organoklorlu, karbamat ve piretroid	GC-MS	PENGYAN 2005
Sebze ve meyve	SPE SAX/PSA	Organofosforlu, organoklorlu, karbamat ve piretroid	GC-MS	HIRAHARA 2005
Sebze ve meyve	LLE	Organofosforlu	GC-MS	PATEL 2004
Arpa	LLE,SPE	Herbisit	GC-MS	DIEZ 2006
Üzüm, şarap	LLE	Organofosforlu	GC-MS	OLIVA 2000

Çizelge 1.9.1. (Devam) Farklı örnek matrislerinde pestisit kalıntı analizinde kullanılan metotlar

Sebze ve meyve	LLE	Organofosforlu, organoklorlu	GC-MS	GELSOMINO 1997
Kayısı ve şeftali	LLE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	LIAPIS 2003
Sebze	LLE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	ARREBOLA 2003
Sebze ve meyve	LLE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	VIDAL 2002
Sebze ve meyve	LLE, SPE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	SOJO 1997
Sebze ve meyve	LLE, SPE	Organoklorlu ve piretroid	GC-MS	ZAWIYAH 2006
Sebze ve meyve	LLE, SPE	Organoklorlu ve piretroid	GC-MS	ZAWIYAH 2007
Sebze	LLE	Organoklorlu	GC-MS	YENİSOY 2006
Zeytin işleme suyu	SPE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	RUBIO 2006
Ağaç yaprakları	SPE	Organoklorlu	GC-MS	BARRAIADA-PEREIRA 2004
Bal mumu	LLE, SPE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	JIMENEZ 2004
Sebze	LLE	Piretroid	GC-MS	MUCCIO 1997
Domates	LLE	Captan, Procymidone	GC-MS	CENGİZ 2007
Atık su	LLE, SPE	Herbisit	GC-MS	MAHARA 1998
Yağsız gıdalar	MSPD	Organoklorlu	GC	DOMOTOROVA 2005
İçme suyu	SPE	Organofosforlu	GC-MS	BALLESTOROS 2004
Yüzey suları	LLE, SPE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	WOLSKA 1999
Sebze	LLE	Herbisit	GC-MS	JOHNSON 1997
Toprak	LLE, SPE	Organofosforlu	GC-MS	DIAZ-CRUZ 2006
Su ve toprak	SPE	Organofosforlu	GC-MS	ZHU 2005
Pırasa	GPC,SPE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC	SHULING 2007
Sebze ve meyve	LLE, SPE	Organofosforlu	GC	BAI 2006
Sebze ve meyve	LLE	Organoklorlu	GC	SAEED 2001
Üzüm	LLE	Organoklorlu	GC	LEKKAS 2006
Çay	SPE, MSPD	Organoklorlu ve piretroid	GC	HU 2005

Çizelge 1.9.1. (Devam) Farklı örnek matrislerinde pestisit kalıntı analizinde kullanılan metotlar

Meyve	MSPD	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	KRISTENSON 2001
Tavuk	ASE, GPC	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	FRENINCH 2006
Avakado	PLE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	MORENO 2006
Bebek mamaları	SFE, ASE	Organofosforlu ve organoklorlu	GC-MS	CHUANG 2001
Sebze ve meyve	DSPE	Organofosforlu, organoklorlu, ve piretroid	GC-MS	ANASTASSIADES 2003
Yağlı gıdalar	DSPE	Organofosforlu, organoklorlu, ve piretroid	GC-MS	LEHOTAY 2005
Sebze ve meyve	DSPE	Organofosforlu, organoklorlu, ve piretroid	GC-MS ve LC-MS-MS	LEHOTAY 2005
Sebze ve meyve	DSPE	Organofosforlu, organoklorlu, ve piretroid	GC-MS	LEHOTAY 2005
Balık	SPE	Organoklorlu	GC-MS	HONG 2004
Tütün	LLE, SPE	Organoklorlu ve piretroid	GC-MS-MS	HAIB 2003
Yer altı suları	SPE	Organoklorlu	HPLC	D'ARCHIVIO 2006
Farklı gıda ürünleri	SPE	GC ile belirlenemeyen pestisitler	LC-MS-MS	HERNANDEZ 2006
Su	SPE	HPLC-DAD	VIGNA 2006
Sebze ve meyve	SPE	Neonikotinoid pestisitler	LC-MS	MUCCIO 2006
Sebze ve meyve	SPE	Organofosforlu	LC-MS-MS	MOL 2003
Meyve suyu	Solvent extraction	Carbaryl ve 1-naftol	HPLC-DAD	ÖZHAN 2003
Üzüm ve şarap	LLE, SPE	Benzoilüre pestisit	HPLC	MILLIADIS 1999
Beyaz üzüm	LLE, SPE	Fungisit	LC- DAD	OTERO 2003
Üzüm	SPE	Herbisit	HPLC	MELO 2004
Domates	SPE	Herbisit ve fungusit	HPLC	MELO 2005
Meyve ve sebze	LLE, SPE	Organofosforlu, organoklorlu, ve piretroid	GC-MS, LC-MS-MS	PANG 2006 a

Çizelge 1.9.1. (Devam) Farklı örnek matrislerinde pestisit kalıntı analizinde kullanılan metotlar

Bal,meyve suyu,şarap	LLE, SPE	Organofosforlu, organoklorlu ve	GC-MS LC-MS-MS	PANG 2006 b
Meyve suyu	MSPD	Herbisit	GC-MS	ALBERO 2004
Domates	MSPD	Endosulfan ve izomerleri	GC-MS	ALBERO 2003
Elma suyu	MSPD	Organofosforlu, organoklorlu, ve piretroid	GC-MS	CHU 2005
Sebze ve meyve	MSPD	Fungisit	GC-MS	NAVARRO 2002
Sebze	GPC, SPE	Organofosforlu, organoazotlu	GC-NPD, GC-FPD	UENO 2003
Sebze, meyve	GPC, SPE	Organofosforlu, organoazotlu ve piretroid	GC-MS	UENO 2004

1.10. Pestisit Kalıntı Analizinde Kullanılan Ekstraksiyon Metotları ile İlgili Bilgiler

Kimyasal analizi yapılacak; su, toprak ve hava gibi çevre örnekleri, gıda örnekleri, serum ve idrar gibi biyolojik örnekler genellikle aranan madde dışında birçok bileşenin yer aldığı karmaşık bir matris içerirler. Bu nedenle örnek hazırlama işlemi; özellikle yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi (GC- MS), atomik absorpsiyon (AA) gibi cihazlar yardımıyla yapılan analizler öncesinde uygulanması gereken çok önemli bir basamaktır (Shulamit 2005 ve Zief 2005).

Örnek hazırlama işlemi başlıca örneklerin istenmeyen bileşenlerden temizlenmesi (clean-up, Berkem ve Gültekin 2005) ve yoğunlaştırılması amacıyla yapılmaktadır. Temizleme işlemi ile analizin yanlış sonuçlanmasına neden olabilecek, aranan maddenin tespit edilmesini engelleyebilecek veya analiz cihazlarının kirlenmesine neden olabilecek kirliliklerin ve safsızlıkların matristen uzaklaştırılması sağlanır (Shulamit 2005 ve Stevenson 2000).

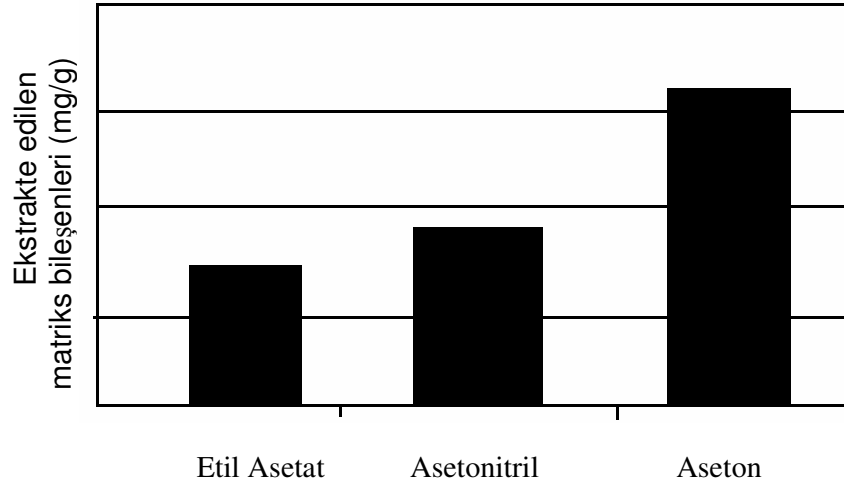
Analiz öncesi yapılması gereken örnek hazırlama basamağı, çoğu zaman zor, pahalı ve uzun süren bir işlem olduğu için kimyasal analiz yapan kişiler her zaman daha

pratik ve basit yöntem arayışı içindedirler (Shulamit 2005, Zief 2005 ve Rosenfeld 1999). Özellikle kromatografik sistemlerle çalışan araştırmacı ve uygulayıcılar ile yapılan bir araştırmada; örnek hazırlama yönteminin seçiminde numunenin özelliği başlıca etken olmakla birlikte, kolay uygulanabilir ve ucuz olmasının da önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Majors 2002). Kromatografik analizler öncesinde genellikle tek bir örnek hazırlama tekniği yeterli olmamakta birden fazla işlemin kullanılması gerekmektedir. Klasik olarak analizden önce; sıvı-sıvı ekstraksiyonu, bunu takiben buharlaştırma ve uygun çözücünün eklenerek tekrar seyreltilmesi işlemleri bir arada uygulanmaktadır (Majors 2002).

Örnek hazırlama işleminin basitleştirilmesi, zaman kaybının önlenmesi ve analiz maliyetinin azaltılması amacıyla, 1970'li yılların ortalarında klasik metotlara alternatif olarak yeni bir teknik olan katı-faz ekstraksiyon metodu (SPE) kullanılmaya başlanmıştır (Zief 2005, Pichon 2000, Poole 2000). Günümüzde en etkili örnek hazırlama yöntemlerinden olan SPE, özellikle ilaç ve diğer farmasotik maddelerin analizinde en fazla kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir (Stevenson 2000, Hennion 1999, Liljegren 2005).

1.10.1. Ekstraksiyonda kullanılan kimyasal maddeler

Pestisit analizinde yaygın olarak etil asetat, asetonitril ve aseton çözücülerini kullanılmaktadır. Kullanılacak çözücü analiti çözmeli ve analit çözücü içinde kararlı olmalıdır. Çözücü seçiminde önemli kriterlerden biri de, analitin yanında ekstrakte edilen matriks bileşenlerinin miktarıdır. Şekil 1.10.1.1'de görüldüğü gibi en az matriks bileşenini etil asetat, en çok ise asetonitril ekstrakte etmektedir.



Şekil 1.10.1.1. Sebze/meyve örneğinden pestisitlerle birlikte ekstrakte edilen matriks bileşenlerinin miktarı

KAYNAK: GRIFFITHS, T. 20-24 June 2005. Sample Extraction & Clean-up. Pesticide Residue Analysis Training, Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, YO41 1 LZ UK.

Pestisit analizinde kullanılan tuzlar polar analitlerin, su fazından organik faza geçiş işlemini artırmaktadır. NaCl ve NaHCO₃ yaygın olarak kullanılan tuzlardır. Çözücü ekstraktlarını kurutmak amacıyla susuz formdaki tuzlar kullanılmaktadır. MgSO₄'ın monohidrat ve heptahidrat formları oluşurken, Na₂SO₄'ın heptahidrat ve dekahidrat formları oluşmaktadır (Griffiths 2005).

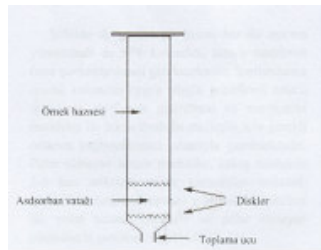
1.10.2. Sıvı-sıvı ekstraksiyon

Yıllardan beri sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) ve bunu takiben çözücülerin çeşitli şekillerde uzaklaştırılması, örnek hazırlamada en çok kullanılan yöntem olmuştur. Fakat geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulamalarının fazla miktarda çözücü harcaması, çok zaman alması ve yüksek maliyetli olması gibi dezavantajları vardır. Ayrıca bu yöntemler, ekstraksiyon sırasında emülsiyon faz oluşması, gerekli saflığa sahip olmayan ekstraktlar elde edilmesi, çözücülerin yeterince uzaklaştırılmaması ve duyarlı kantitatif sonuçlar elde edilememesi gibi istenmeyen durumlara da neden olabilmektedir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu dışında santrifüj etme, süzme, destilasyon, liyofilizasyon gibi diğer önemli ekstraksiyon metotları da benzer sakıncalara sahiptir.

1.10.3. Katı-faz ekstraksiyon

Sıvı-sıvı ekstraksiyon metotlarına alternatif olarak, 1970'li yılların ortalarında yeni bir teknik olan katı-faz ekstraksiyon (SPE) metodu kullanılmaya başlanmıştır. Bu yaklaşım, çeşitli tutucu maddelerin (adsorban) küçük, tek kullanımlık ekstraksiyon kolonlarına doldurularak pratik bir örnek hazırlama düzeneği tasarlanması esasına dayanmaktadır. Katı-faz ekstraksiyonu, günümüzde etkili bir örnek hazırlama yöntemi olarak birçok laboratuarda kullanılmaktadır. Katı-faz ekstraksiyon metodu, klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında daha hızlı, az çözücüye ihtiyaç duyan ve çok daha ucuz bir tekniktir. Bunun yanında katı-faz ekstraksiyonu ile daha temiz ekstrakt ve yüksek geri kazanım oranları elde edilebilmektedir (Yavuz ve Aksoy 2006).

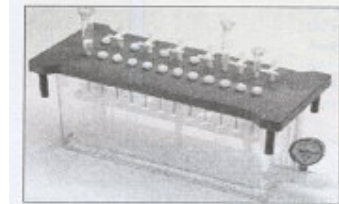
SPE yöntemi, sıvı örneklerinin istenmeyen bileşenlerden ayrılması (temizleme) ve örnek matriks yapısının değiştirilmesi amaçlarıyla hazırlanmış olan küçük tek kullanımlık kolon veya disklerden geçirilmesi esasına dayanmaktadır. Sıvı örneğin kolondan geçirilmesi, yerçekimi vasıtasıyla (manuel) gerçekleştirilebildiği gibi, zaman kaybının önüne geçmek amacıyla vakum manifoldları yardımıyla da yapılabilir. (Shulamit 2005, Zief 2005, Hennion 1999, Anonim 2004 d, <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3535a-ivb.pdf>, 2007). Şekil 1.10.3.1.'de klasik bir SPE kolonunun yapısı, çeşitli ticari SPE kolon ve diskleri ile vakum manifoldlu süzme düzeneği görülmektedir.



SPE kolonunun yapısı



SPE kolon ve diskleri

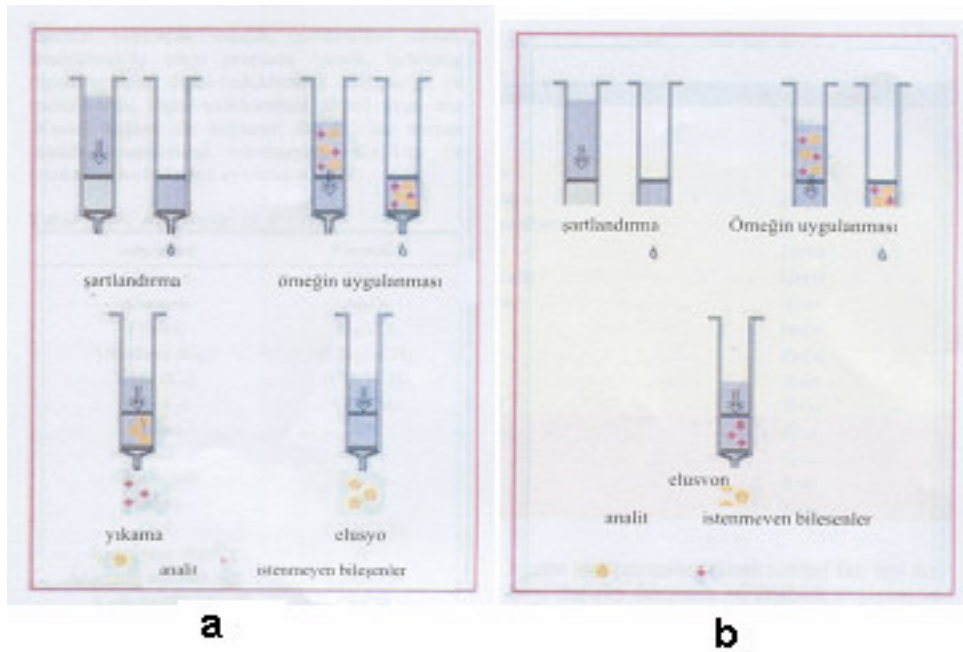


Vakum manifoldu

Şekil 1.10.3.1. SPE kolonunun yapısı, mikro plakalar, kolon ve diskler ve vakum manifoldu

KAYNAK: YAVUZ, O ve A. AKSOY. 2006. Örnek Hazırlamada Katı-faz Ekstraksiyon Metodu. F.Ü. Sağlık Bil.Dergisi, 20(3), 259-269.

SPE metodunda kolondan geçirilme sırasında örnek molekülleri ile tutucu madde arasında kimyasal bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşimden faydalanarak maddelerin ayrılma işlemi başlıca iki yolla gerçekleştirilir. Birinci yöntemde ilk aşamada, analiz edilecek bileşik tutucu maddeye bağlanarak kolon içinde tutulurken, çözelti ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmezler. Daha sonra istenmeyen bileşenler uygun yıkama çözeltisi ile uzaklaştırılır ve analiz edilecek bileşen tutucu maddeden uygun bir çözelti yardımıyla alınır (Şekil 1.10.3.2.a.). İkinci yöntemde ise, istenmeyen bileşenlerin tutucu madde ile etkileşimi söz konusudur. Özellikle atık yağlar gibi matriksden ayrılması zor olan maddelerin analizinde kullanılan bu yöntemde, matriksteki istenmeyen bileşenler tutucu madde tarafından sıkı şekilde bağlanırlar. Asıl aranan madde ise tutucu madde ile etkileşime girmez ve uygun çözelti yardımıyla toplanır. Bu yöntemde, kolon içerisindeki tutucu maddenin oluşturduğu katı faz filtre işlevi görmektedir (Şekil 1.10.3.2.b). (Shulamit 2005, Zief 2005, Anonim 2004 e, Haginaka 2005).



Şekil 1.10.3.2. (a) ve (b) SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri

KAYNAK: YAVUZ, O ve A. AKSOY. 2006. Örnek Hazırlamada Katı-faz Ekstraksiyon Metodu. F.Ü. Sağlık Bil.Dergisi, 20(3), 259-269.

Şekil 1.10.3.2.'de görüldüğü üzere, her iki ayırma yönteminde de SPE kolonundaki tutucu maddenin önce şartlandırılması gerekmektedir. Şartlandırma işlemi,

kolondan uygun çözelti geçirilerek tutucu maddenin aktif hale getirilmesi ve matriksteki maddeler ile tekrarlanabilir etkileşim için gerekli ortamın sağlanabilmesi amacıyla yapılmaktadır. Polar olmayan tutucu maddeler, kolon hacminin 1-2 katı miktarda suyla karışabilen metanol, tetrahidrofuran, isopropanol gibi polar çözücüler ile; polar tutucu maddeler ise polar olmayan çözücülerle şartlandırılmalıdırlar (Zief 2005, Anonim 2004 d).

1.10.3.1. Katı-faz ekstraksiyon kolon dolgu maddeleri ve çözücülere

SPE metodunda ayrılma işleminin gerçekleşmesi için kolondaki tutucu maddeler ve kullanılan çözücüler büyük önem taşımaktadır. Çizelge 1.10.3.1.1.'de SPE için dolgu maddeleri, Çizelge 1.10.3.1.2.'de ise SPE metodunda sıklıkla kullanılan çözücüler görülmektedir (Zief 2005, Hennion 1999, Anonim 2004 d).

Çizelge 1.10.3.1.1. Katı-faz ekstraksiyon kolon dolgu maddeleri

Kolon dolgu maddeleri	Formülü
Silika jel	SiOH
Alümina	Al ₂ O ₃
Florisil	MgSiO ₃
Oktadesil (C ₁₈)	—(CH ₂) ₁₇ CH ₃
Oktil (C ₈)	—(CH ₂) ₇ CH ₃
Etil (C ₂)	—CH ₂ CH ₃
Siyano	—CN
Fenil	—C ₆ H ₅
Sikloheksil	—C ₆ H ₁₁
Amino	—NH ₂
Diol	—COHCOH
Kuaterner amin	—N ⁺ (CH ₃) ₃
Aromatik sülfonik asit	—C ₆ H ₅ SO ₃ H
Karboksilik asit	—COOH

KAYNAK: YAVUZ, O ve A. AKSOY. 2006. Örnek Hazırlamada Katı-faz Ekstraksiyon Metodu. F.Ü. Sağlık Bil.Dergisi, 20(3), 259-269.

Çizelge 1.10.3.1.2. Katı-faz ekstraksiyon metodunda kullanılan çözücüler

Çözücü	Su ile karışabilme	Polarite
Hekzan	Hayır	apolar  polar
Isooktan	Hayır	
Petrol eteri	Hayır	
Sikloheksan	Hayır	
Karbon tetraklorür	Hayır	
Kloroform	Hayır	
Metilen klorür	Hayır	
Tetra hidrofuran	Evet	
Dietil eter	Hayır	
Etil asetat	Zayıf	
Aseton	Evet	
Asetonitril	Evet	
Isopropanol	Evet	
Metanol	Evet	
Su	Evet	
Asetik asit	Evet	

KAYNAK: YAVUZ, O ve A. AKSOY. 2006. Örnek Hazırlamada Katı-faz Ekstraksiyon Metodu. F.Ü. Sağlık Bil.Dergisi, 20(3), 259-269.

1.10.3.2. Katı-faz ekstraksiyon metodunda maddelerin ayrılma prensipleri

SPE metodunda maddelerin birbirinden ayrılması, analizi yapılacak maddenin molekülleri ile kolon dolgu maddesindeki etkin gruplar arasındaki moleküller arası etkileşimler sayesinde açıklanır.

Analizi yapılacak madde molekülleri kolon dolgu maddesindeki etkin gruplara iyonik, hidrojen, dipol-dipol, dipol-indüklenmiş dipol veya Van der Waals bağları ile bağlanır. Bu şekilde aranan madde ve matriksteki istenmeyen bileşikler birbirinden ayrılmış olur (Zief 2005).

SPE metodunda kromatografik yöntemlere benzer şekilde analiz edilecek madde, çözücü ve dolgu maddelerinin özelliklerine göre çeşitli ayırma mekanizmaları rol oynar. Belli başlı ayırma mekanizmaları olarak normal faz, ters faz ve iyon değişim (katyonik ve anyonik değişim) sayılabilir (Zief 2005, Anonim 2004 d, http://www.cobertassoc.com/solid_phase_extraction_guide.htm, 2007).

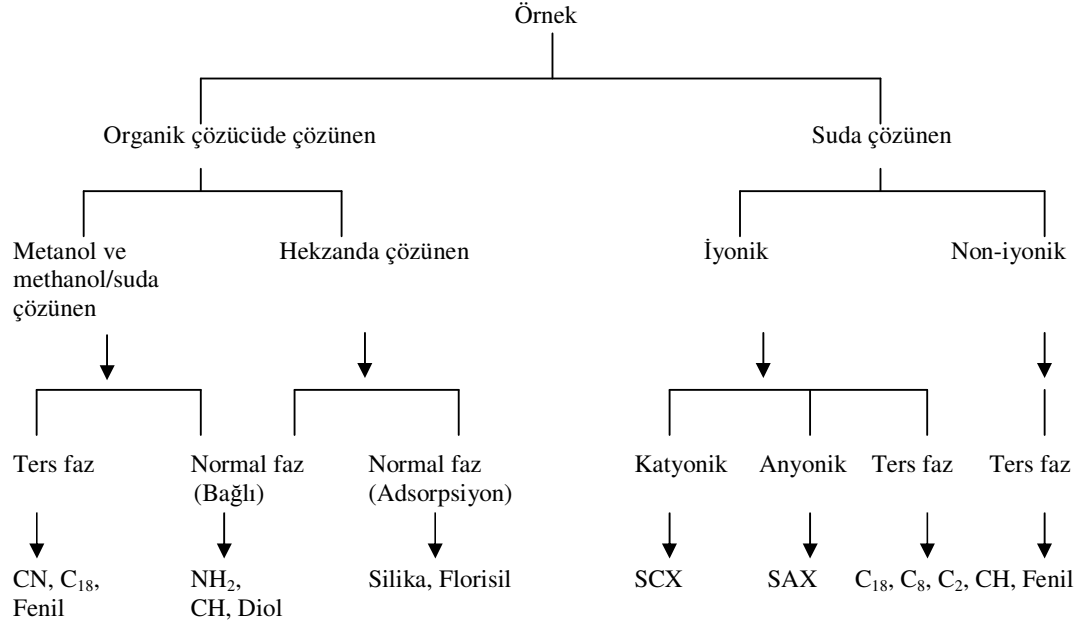
Normal faz; polar bileşiklerin polar olmayan matrikslerden ayrılması işlemidir. Şartlandırma aşaması polar olmayan çözücüler, toplama aşaması ise daha polar çözücüler yardımıyla gerçekleştirilir. Bu yöntemde en fazla kullanılan dolgu maddesi silikadır.

Florosil ise pestisitler için en uygun tutucu maddedir. Karbonhidratça zengin bazı aşırı polar örnekler için ise silika gibi tutucu maddelere çeşitli grupların eklenmesi ile elde edilen siyano, diol ve amino grubu dolgu maddeleri tercih edilmektedir. Bu maddelerdeki polar gruplar, polar olmayan organik çözücüler (hekzan/dietileter gibi) içerisindeki orta derecede polar olan örnek moleküllerini tutarlar (Zief 2005, http://www.cobertassoc.com/solid_phase_extraction_guide.htm, 2007).

Ters faz, dolgu madde polaritesinin örnek çözeltisinden daha düşük olduğu sistemdir. Oktadesil (C₁₈) bu teknik için en fazla kullanılan madde olmakla birlikte, oktil (C₈), sikloheksil, bütül, fenil ve siyano da çeşitli örnekler için seçici olmaları nedeniyle tercih edilirler. Ters faz, klinik ve çevresel örneklerdeki organik kalıntıların analizinde çok yaygın şekilde kullanılan bir ayırım tekniğidir (Zief 2005, http://www.cobertassoc.com/solid_phase_extraction_guide.htm, 2007).

İyon değişim, özellikle asit ve bazların matriksten elde edilmesi amacıyla kullanılan ve iki molekül arasındaki iyonların karşılıklı değişimi esasına dayanan bir tekniktir. SO₃⁻ ve N⁺(CH₃)₃ gibi etkin gruplar bağlanmış aşırı polar silika benzeri dolgu maddeleri iyon değişim için uygundur. SO₃⁻ grubu, örnek çözeltisinden aranan temel maddelerin ayrılması için kuvvetli katyonik değişimi (SCX), N⁺(CH₃)₃ grubu ise asitlerin bağlanması için kuvvetli anyonik değişimi (SAX) sağlamaktadır. İyon değişim tekniğinde pH, zıt yüklü olma, iyonik kuvvet, organik çözücünün özelliği ve örneğin kolondan geçiş hızı gibi faktörler önem taşımaktadır. Başarılı bir iyon değişiminin sağlanabilmesi için, tutucu madde ile analiz edilecek maddenin zıt yüklerde olması ve örnek çözeltisindeki zıt iyon yoğunluğunun düşük olması gerekmektedir (Zief 2005, http://www.cobertassoc.com/solid_phase_extraction_guide.htm, 2007).

Karışık matrikslerden analizi yapılacak maddelerin istenilen düzeyde ayrılarak, ideal bir örnek hazırlama basamağının gerçekleştirilmesi için doğru ayırım tekniğinin kullanılması çok önemlidir. Şekil 1.10.3.2.1. örneğin özelliğine göre seçilmesi gereken SPE ayırım tekniği gösterilmiştir.



Şekil 1.10.3.2.1. Analiz edilecek örneğin özelliğine göre seçilmesi gereken SPE ayırım tekniği

KAYNAK: YAVUZ, O ve A. AKSOY. 2006. Örnek Hazırlamada Katı-faz Ekstraksiyon Metodu. F.Ü. Sağlık Bil.Dergisi, 20(3), 259-269.

1.10.3.3. Katı-faz ekstraksiyon metodunun başlıca kullanım yerleri

SPE metodu sahip olduğu avantajlar sayesinde özellikle çevre ve gıda, analitik biyokimya, farmasotik, biyoanaliz, toksikoloji ve adli tıp, kozmetik, organik sentez vb. alanlarda günümüzde en fazla kullanılan örnek hazırlama metodlarından birisi haline gelmiştir (Zief 2005, Rossi 2000). Çizelge 1.10.3.3.1.'de belli başlı SPE dolgu maddelerinin hangi bileşiklerin analizinde kullanıldığı özetlenmiştir.

Çizelge 1.10.3.3.1. Önemli SPE dolgu maddelerinin kullanıldığı analizler

Dolgu maddesi	Uygulama
Oktadesil (C₁₈)	Polar olmayan bileşiklerin ters faz ekstraksiyonu: İlaçlar, asetaminofen, aminler, analjezikler, antiaritmikler, antikonvülzanlar, antiepileptikler, antibiyotikler, aromatikler, barbitüratlar, benzodiazepinler, kafein, karbonhidratlar, karboksilik asit, karotenoidler, kolesterol esterleri, esansiyel yağlar, yağ asitleri, gıda koruyucuları, fungusitler, hidrokarbonlar, hipnotikler, lidokain, yağlar, suda eriyen vitaminler, fenoller, fatelat esterleri, öncelikli öneme sahip kirleticiler (pestisitler, PAH'lar, PCB'ler), sedatifler, steroidler, sülfonamidler, yüzey gerilim düşürücüler, tetrasiklinler, teofilin, trisiklik antidepresanlar, trigliseridler
Oktil (C₈)	Orta derecede polar bileşiklerin ters faz ekstraksiyonu: Öncelikli öneme sahip kirleticiler (pestisitler, PAH'lar, PCB'ler) ve oktadesil (C ₁₈) tarafından güçlü şekilde tutulan bileşikler
Fenil (—C₆H₅)	Polar olmayan bileşiklerin ters faz ekstraksiyonu: Az tutulan hidrofobik bileşikler
Siyano (—CN)	Polar bileşiklerin normal faz ekstraksiyonu: Aminler, benzil alkol, suda eriyen vitaminler, PAH'lar, PCB'ler, pestisitler, fenoller, şeker alkolleri
Silika jel	Polar bileşiklerin adsorbsiyonu: Aflatoksinler, alkoller, aldehydler, alkoloidler, aminler, amino asitler, amfetaminler, antibiyotikler, antioksidanlar, aromatikler, barbitüratlar, karbonhidratlar, flavinoidler, herbisitler, heterosiklik bileşikler, hidrokarbonlar, hidrokortizon, indoller, insektisitler ve diğer pestisitler, ketonlar, yağlar, nitro-bileşikler, oligofeniller, organik asitler, peroksitler, fenoller, polipeptidler, porfirinler, steroidler, terpenler, doymamış bileşikler, vitaminler
Diol (—COHCOH)	Polar bileşiklerin normal faz ekstraksiyonu (silika jel'e benzer şekilde): Proteinler, peptidler, sıvı yüzey gerilim düşürücüler
Amino (—NH₂)	Zayıf anyon değişim ekstraksiyonu: Karbonhidratlar, gıda koruyucuları, nükleotidler, peptidler, sakkaridler, steroidler, şekerler, vitaminler
Diamino	Zayıf anyon değişim ekstraksiyonu: Amino asitler, metaller
Aromatik sülfonik asit (—C₆H₅SO₃H)	Güçlü katyon değişim ekstraksiyonu: Amino asitler, katekolaminler, hormonlar, nükleik asit bazları, nükleosidler, pürinler, piramidinler, suda eriyen vitaminler
Kuaterner amin [—N⁺(CH₃)₃]	Güçlü anyon değişim ekstraksiyonu: Antibiyotikler, siklik nükleotidler, nükleik asitler

KAYNAK: YAVUZ, O ve A. AKSOY. 2006. Örnek Hazırlamada Katı-faz Ekstraksiyon Metodu. F.Ü. Sağlık Bil.Dergisi, 20(3), 259-269.

Çizelge 1.10.3.3.1.'de görüldüğü gibi, SPE bugün birçok farklı özellikteki bileşiklerin kimyasal analizinde tercih edilen bir metottur. Farmakoloji ve toksikoloji

bilimleri kapsamında gıda numuneleri; su ve toprak gibi çevresel; kan, serum ve idrar gibi biyolojik örneklerdeki kirleticiler ile ilaç ve zehir analizleri SPE'nun en önemli kullanım alanlarıdır (Stevenson 2000, Drummer 1999, Soriano 2001).

Gıdaların besin madde analizlerinin yanı sıra, içerdikleri kimyasal ve biyolojik kirleticilerin tespit edilmesinde SPE önemli bir örnek hazırlama metodudur. Özellikle fındık gibi mikotoksin kirliliği açısından önem taşıyan gıdalarda başta aflatoksinler ve diğer mikotoksinlerin, özellikle sebze ve meyve ile hemen hemen bütün bitkisel ürünler, bal, süt, peynir gibi hayvansal gıdalar ve bebek mamalarında pestisit ve PCB'lerin, et ve et ürünlerinde steroid hormon ve PAH'ların tespit edilmesi, bu alanda SPE metodunun kullanılmasına verilebilecek en önemli örneklerdir (Fuh 2004, Wardencki 2004).

SPE çevresel örneklerden en çok sudaki organik kirleticilerin analizinde kullanılmaktadır. Su içerisinde $\mu\text{g/L}$ (ppb) ve daha alt düzeylerde birçok organik kirletici bulunmaktadır ve bu maddelerin saptanabilmesi için çok düşük tespit limitlerine ulaşılması gerekmektedir. SPE metodu, sudaki kirleticilerin analizinde diğer örnek hazırlama yöntemlerine göre daha yoğun ve daha saf süzüntü oluşturabilmesi ve yüksek geri kazanım oranlarına sahip olması nedeniyle tercih edilmektedir. SPE'nin örnek hazırlama amacıyla kullanıldığı su kirleticileri arasında organik klorlu ve organik fosforlu pestisitler, PCB'ler, anilinler, fenolik bileşikler, organik azot ve nitro-aromatik maddeler sayılabilir (<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3535a-ivb.pdf>, 2007, Pichon 2000, Beney 1996, LeBlanc 2001, Liska 2000).

İdrar, kan, serum, safra, mide içeriği, karaciğer, beyin gibi biyolojik örneklerde ilaç düzeylerinin tespiti günümüzde SPE'nin en önemli kullanım alanlarından birisidir. Bilindiği gibi ilaç geliştirme aşamalarının önemli bir basamağı; ilaç ve metabolitlerinin vücut sıvılarındaki seviyelerinin tespit edilmesidir. Bunun yanında tedavi etkinliğinin takibi amacıyla da biyolojik örneklerde ilaç miktarının analizi önem taşımaktadır. Özellikle yüksek geri kazanımlara sahip olması, daha saf süzüntüler elde edilebilmesi ve çok sayıda örneğin kısa zamanda işlenmesine olanak verecek şekilde otomasyon sağlayabilmesi nedeniyle hemen hemen bütün ilaç ve benzeri maddelerin analizinde SPE yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanısıra son yıllarda pek çok tıbbi bitkinin ekstraksiyonunda da SPE yaygın olarak kullanılan bir yöntem haline gelmiştir (Haginaka 2005, Guliyev 2004, Venn 2005).

Zehirlenmelerde zehirleyici madde ile amaç dışı kullanılan opiat, kokain, amfetamin gibi ilaç ve diğer maddelerin belirlenebilmesi için bunların vücut sıvılarında tespit edilmesi gerekmektedir. Bu tip analizler, tam olarak ne arandığının bilinmemesi ve aranan maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin aşırı değişkenlik göstermesi nedeniyle oldukça zahmetli ve zaman alıcıdır. SPE metodu, diğer örnek hazırlama yöntemlerine göre sahip olduğu avantajların yanında özellikle polar, polar olmayan yapıda ve asidik, bazik veya nötral özellikte hemen her tür maddeye uygun tutucu maddeler bulunması nedeniyle toksikolojik analizlerde en fazla tercih edilen örnek hazırlama yöntemidir (Drummer 1999, Soriano 2001).

1.10.3.4. Katı-faz ekstraksiyon metodunda otomasyonun kullanılması

Otomasyonun SPE metodunda ilk olarak kullanıldığı 1989'dan günümüze kadar özellikle çevre ve gıda bilimleri, klinik ve analitik kimya, biyokimya, farmasotik biyoanaliz ve adli tıp alanlarında otomatik ve on-line SPE sistemleri yaygın şekilde kullanılmaktadır ve bütün SPE aşamaların otomatik şekilde programlanarak yapılabildiği sistemler de mevcuttur (Hennion 1999, Rossi 2000, Wardencki 2004).

1.11. Pestisit Kalıntı Analizinde Kullanılan Tayin Metotları ile İlgili Bilgiler

Kompleks karışımlarda bulunan birbirine yakın özellikteki maddeleri ayırmak için farklı kromatografi yöntemleri kullanılabilir. Bütün kromatografik ayırmalarda; numune gaz, sıvı veya bir süperkritik akışkan olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz, bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş kendisi ile karışmayan bir durgun faz içinden geçmeye zorlanır. Kromatografinin üç genel tipi sıvı kromatografi, gaz kromatografi ve süperkritik akışkan kromatografisidir. Gaz kromatografisinde uçucu bileşenler tayin edilebilmektedir (Heftmann 1983).

Pestisit analizlerinde en sık kullanılan tayin metotları arasında gaz kromatografisi yer almakla birlikte, özellikle son yıllarda sıvı kromatografisi de pestisit analizlerinde kullanılmaya başlamıştır.

1.11.1. Gaz kromatografisi

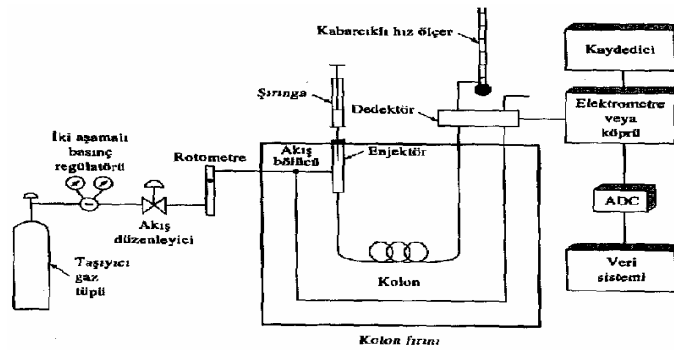
1.11.1.1. Temel ilkeleri

Gaz kromatografisinde (GC), buharlaştırılan numune kromatografik kolonun girişine enjekte edilir ve inert bir hareketli gaz faz ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz faz analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi, analiti kolon boyunca taşımaktır. İki tür gaz kromatografisi vardır: Gaz-katı kromatografisi (GSC), gaz-sıvı kromatografisi (GLC). Gaz-sıvı kromatografisi birçok alanda yaygın olarak kullanıldığı için adı genelde kısaltılır ve gaz kromatografisi terimi kullanılır (Jennings 1987).

Gaz-sıvı kromatografisi, analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine tutturulmuş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur. Gaz-sıvı kromatografisinin temeli ilk kez 1941 yılında Martin ve Syngge tarafından geliştirilmesine rağmen deneysel uygulanabilmesi on yıldan fazla bir zamanı almış ve 1955 yılında ilk gaz kromatografisi cihazı piyasaya çıkmıştır (Schill ve Freeman 1985).

1.11.1.2. GC düzeneği

Son yıllarda gaz kromatografisi cihazlarındaki en önemli gelişme, çok sayıda analiti kısa sürede ayırabilen kapiler (kılcal) kolonların kullanımları olmuştur. Bir gaz kromatografisinin temel bileşenleri Şekil 1.11.1.2.'de gösterilmiştir (Skoog ve ark. 1998).



Şekil 1.11.1.2. Gaz kromatografisinin temel bileşenleri

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

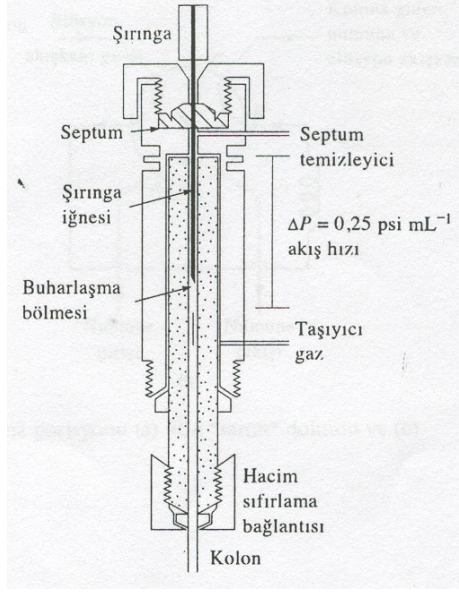
1.11.1.3. Taşıyıcı gaz

Gaz kromatografisi cihazlarında genellikle inert olan helyum, hidrojen ve azot taşıyıcı gaz olarak kullanılmakta ve gaz seçimi kullanılan detektör tipine göre yapılmaktadır. Taşıyıcı gaz tüpüne basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bağlanmaktadır. Ek olarak, su veya diğer safsızlıkları gidermek için gaz sisteminde moleküler elek bulunmaktadır.

Akış hızı kontrolü, normal olarak gaz silindirine bağlı iki basamaklı basınç regülatörleri ve kromatografa bağlı akış regülatörleri ile yapılır. Modern ticari kromatograflar akış hızını istenilen değerlere ayarlayabilen ve kontrol eden elektronik sistemlerle donatılmışlardır (Skoog ve ark.1998).

1.11.1.4. Numune enjeksiyon sistemi

Numune gaz kromatografisine uygun miktarda ve buhar halinde "bir defada" verilmelidir. Yavaş enjeksiyon veya fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olur. Sıvı veya gaz numune enjeksiyonunda, en yaygın yöntem sızdırmaz enjektörlerin kullanımındır. Enjeksiyon, silikon lastik diyaframdan veya bir septumdan yapılır. Septumun hemen arkasında, kolonun giriş ucunda hızlı buharlaştırıcı bölme bulunur. Enjeksiyonun yapıldığı bu kısım numune içinde kaynama noktası en büyük maddenin kaynama noktasından 50°C kadar yüksek sıcaklığa kadar ısıtılır. Şekil 1.11.1.4.'de bir enjeksiyon bölmesi şematik olarak gösterilmiştir. Normal analitik amaçlar için enjeksiyon hacmi, 0,1-20 µL arasında olabilir (Skoog ve ark.1998).



Şekil 1.11.1.4. Gaz kromatografisi enjeksiyon bloğu

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

1.11.1.5. Kolonlar ve Durgun Fazlar

Gaz kromatografisinde dolgulu ve kapiler kolonlar olmak üzere iki tür kolon kullanılır. Bugüne kadar çalışmaların büyük bir çoğunluğu dolgulu kolonlar ile gerçekleştirilmiştir. Ancak son zamanlarda dolgulu kolonlar, bazı özel uygulamalar hariç yerlerini daha verimli ve hızlı kapiler kolonlara terk etmektedirler.

Kromatografik kolonların boyları 2-50 m veya daha büyük olabilir. Paslanmaz çelikten, camdan, erimiş silisten veya teflondan kolonlar yapılabilir.

a) Kapiler kolonlar

Kapiler kolonlar, *duvar-kaplı açık borusal kolon* (WCOT) ve *destek-kaplı açık boru kolon* (SCOT) olarak ikiye ayrılır. Duvar-kaplı kapiler kolonlarda kolon duvarı, sıvı faz ile ince bir film halinde kaplanır. Destek-kaplı kolonlarda kolon duvarı 30 µm kadar kalınlıkta diatome toprağı gibi bir destek maddesiyle kaplanır. Bu kolonlara diğerlerine göre daha fazla sıvı faz

konulabildiği için kolon kapasitesi yükselebilir. SCOT kolonlarının ayırma verimi WCOT'lerden daha düşüktür ancak dolgulu kolonlardan daha yüksektir.

İlk WCOT kolon olan *erimiş silisten açık borsal kolonlar* (FSOT), içinde minimum düzeyde metal oksitler içeren silisten çekilirler ve dışarıdan kaplanan poliimid kaplama ile sağlamlaştırılırlar. Bu şekilde yapılan kolonlar daha esnektir ve 5-10 cm çapında halka sarımlar haline getirilebilirler. Silis açık borsal kolonların fiziksel dayanıklılık, numune bileşenlerine karşı inertlik, yüksek esneklik gibi birçok üstünlükleri vardır. Genellikle kullanılan silis kapiler kolonların iç çapları 320-260 µm kadardır ve birçok uygulamalarda normal WCOT cam kolonların yerini almışlardır. Çizelge 1.11.1.5.1.'de çeşitli kolon tiplerinin özellikleri karşılaştırılmıştır (Lee ve ark.1984).

Çizelge 1.11.1.5.1. Çeşitli kolon tiplerinin özelliklerinin karşılaştırılması

Özellik	Kolon tipi			
	FSOT	WCOT	SCOT	Dolgulu
Uzunluk, m	10-100	10-1000	10-1000	1-6
İç çap, mm	0,1-0,53	0,25-0,75	0,5	2-4
Verim, tabaka/m	2000-4000	1000-4000	600-1200	500-1000
Toplam tabaka sayısı	$(20-400) \times 10^3$	$(10-400) \times 10^3$	$(6-120) \times 10^3$	$(1-10) \times 10^3$
Numune miktarı, ng	10-75	10-1000	10-1000	$10-10^6$
Bağlı geri basınç	Düşük	Düşük	Düşük	Yüksek
Bağlı hız	Hızlı	Hızlı	Hızlı	Yavaş
Kimyasal inertlik	En iyi \longrightarrow En Kötü			
Esneklik	Evet	Hayır	Hayır	Hayır

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

b) Durgun faz

Gaz-sıvı kromatografi kolonlarındaki durgun sıvı faz, yüksek kaynama sıcaklığına (kaynama noktası kolon çalışma sıcaklığının en az 100°C üstünde olmalı) sahip olmalı, termal olarak kararlı ve inert olmalı, k' ve α sabitlerinin ayrılacak maddeler için uygun aralıkta olmasını sağlayabilir nitelikte çözücü özelliklerine sahip olmalıdır.

Kolonda uygun bir alıkonma zamanına ulaşabilmek için, ayrılacak maddeler durgun faz ile uyumlu olmalıdır. Genellikle, kromatografik çalışmada madde ve sıvı fazın polarlıklarının birbirine yakın olması istenir. Bu durumda alıkonma süresi, maddelerin kaynama noktalarına bağlı olur (Skoog ve ark. 1998).

c)Yaygın kullanılan durgun fazlar

Çizelge 1.11.1.5.2.'de dolgulu ve kapiler kolonlarda kullanılan durgun fazlar artan polarlıklarına göre sıralanmıştır(Skoog ve ark. 1998).

Çizelge 1.11.1.5.2. Gaz kromatografisinde kullanılan yaygın durgun fazlar

Agilent fazı	Durgun faz	Polarite	Uygun sıcaklık aralığı (°C)	Benzer seçicilikteki fazlar	Yaygın uygulamalar
HP-1ms, DB-1 ms, HP-1, DB-1	% 100 dimetil poli siloksan	Apolar	-60 - 25/350	BP-1, SPB-1, CP-Sil 5, Rtx-1, OV-1, ZB-1	Aminler, hidrokarbonlar, pestisitler, PCB'ler, fenoller,sulfur bileşikleri, katkı maddeleri
HP-5ms, DB-5, HP-5	% 5 fenil % 95 dimetil poli siloksan	Apolar	-60 - 25/350	BP-5, SPB-5, CP-Sil 8CB, Rtx-5,ZB-5	Yarı uçucular, alkaloidler, ilaçlar, halojenli bileşikler, pestisitler, herbisitler
DB-5ms	% 5 fenil % 95 dimetil aril siloksan	Apolar	-60 - 25/350	BP-5, SPB-5, CP-Sil 8CB, Rtx-5, Rtx-5ms	Yarı uçucular, alkaloidler, ilaçlar, halojenli bileşikler, pestisitler, herbisitler
DB-1301	% 6 siyanopropilfenil % 94 dimetil poli siloksan	Orta polar	-20 - 80/300	Rtx-1301, Mtx-1301, CP-1301	Aromatik klorlular, alkoller, pestisitler, uçucu organik bileşikler
DB-35, HP-35	%35 fenil % 65 dimetil poli siloksan	Orta polar	40 - 300/320	Rtx35, SPB-35, AT-35, BPX-35	Pestisitler, aromatik klorlular, ilaçlar
DB-35ms	%35 fenil % 65 dimetil aril siloksan	Orta polar	50 - 340/360	Rtx35, SPB-35, AT-35, BPX-35	Pestisitler, aromatik klorlular, ilaçlar
DB-1701 DB-1701P	% 14 siyano propil-fenil % 86 dimetil poli siloksan	Orta polar	-20 - 80/300	SPB-1701, CP-Sil 19 CB, Rtx-1701, OV-1701	Pestisitler, herbisitler, şekerler, aromatik klorlular
HP-50+, DB-17	% 50 fenil %50 dimetil aril siloksan	Orta polar	40 -280/300	Rtx-50, CP-Sil 19 CB, BPX-50	İlaçlar, glikoller, pestisitler,steroidler
DB-17ms	% 50 fenil %50 dimetil aril siloksan		40 -280/300		İlaçlar, glikoller, pestisitler,steroidler

KAYNAK: ANONİM. 2005-2006. Agilent Technologies, The Essential Chromatography Catalog from Agilent 2005-2006 Edition.

d) Film kalınlığı

Ticari kolonlarda film kalınlığı 0,1-5 µm kadardır. Film kalınlığı başlıca, alıkonma zamanını ve kolon kapasitesini etkiler. Kalın filmler düşük kaynama noktalı analitler için kullanılırlar, çünkü kalın film, analitlerin kolonda daha uzun süre kalmasını ve böylece ayırımın gerçekleşmesini mümkün kılar. İnce filmler yüksek kaynama noktalı maddelerin ayrılmasında yararlıdır. Uygulamaların birçoğunda iç çapı 0,25-0,32 mm kolonlar, film kalınlığı 0,25 µm olacak şekilde hazırlanır. Megabor kolonlarda film kalınlığı 1-1,5 µm kadar olabilir (Skoog ve ark. 1998).

1.11.1.6. Kolon fırını

En az hata ile çalışabilmek için, kolon sıcaklığının 0,1°C duyarlılıkla kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle kolon, 10-30 cm çapında spiraller haline getirilerek sıcaklığı kontrol edilebilen fırın bölmesine yerleştirilir. Optimum kolon sıcaklığı, numunenin kaynama sıcaklığına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Numunenin ortalama kaynama sıcaklığının biraz üstünde bir sıcaklıktaki kolonda, maddelerin elüsyon zamanı 2-30 dakika arasında değişebilir. Çok geniş bir kaynama noktası aralığındaki numuneler için sıcaklık programlaması yapmak gerekir. Sıcaklık programlamasında, kromatografik ayırım devam ederken kolon sıcaklığı sürekli veya basamaklar halinde artırılır (Harris ve Habgood 1966).

1.11.1.7. Dedeksiyon sistemleri

Gaz kromatografisinin gelişimi esnasında birçok dedektör sistemi incelenmiş ve kullanılmıştır. Gaz kromatografisinde kullanılan ideal dedektörler; yeterli duyarlık ve kararlılıkta olmalı, iyi bir tekrarlanabilirliğe sahip olmalı, geniş bir doğrusal çalışma ve 400°C' a kadar varan sıcaklık aralığında çalışılabilmesi, yüksek güvenilirlik ve kullanım kolaylığı olmalı, az hata vermeli, belirli sınıf maddelere karşı seçici cevap verme özelliği olmalı ve numuneyi parçalamamalıdır.

a) Alev fotometrik dedektör

Alev fotometrik dedektör (FPD); hava ve su kirleticilerinin, pestisitlerin ve kömür

hidrojenasyon ürünlerinin tayininde çok kullanılır. Kükürt ve fosfor içeren bileşiklere karşı seçicidir. Bu dedektörde; kolon gazları düşük sıcaklıktaki hidrojen/hava alevine gönderilir, burada fosfor HPO şekline dönüştürülür ve bu tür 510 ve 526 nanometrede emisyon yapar. Numunedeki kükürt aynı anda S₂ haline dönüştürülür ve 394 nm'de ışın yayar. FPD'de ışın seçimi, filtreler ile yapılır ve şiddetleri fotometre ile ölçülür. Alev fotometresi ile ölçülebilen diğer elementler arasında halojenler, azot ve bazı metaller (kalay, krom, selenyum ve germanyum) sayılabilir.

b) Azot fosfor dedektörü (NPD)

Azot fosfor dedektörün yapısı alev iyonlaşma dedektörüne benzer. Kolon gazları hidrojen ile karıştırılır, alev ucunda yakılır ve sıcak gazlar bir toplayıcıya karşı 180 voltta tutulan ve elektriksel olarak ısıtılan rubidyum silikat parçanın üzerinden geçirilir. Silikat taneciği, 600-800°C kadar sıcaklık veren bir plazma oluşturur ve fosfor veya azot içeren maddelerden çok sayıda iyon oluşur. Bu iyonlardan, P ve N içeren bileşiklerin tayininde yararlanır. Azot-fosfor dedektörü alev iyonlaşma dedektörü ile karşılaştırıldığı zaman; fosfor bileşiklerine karşı 500, azot bileşiklerine karşı 50 kez daha duyarlı olduğu görülür. Fosfora karşı duyarlılığı azotun on katı, karbonun ise 104-106 katıdır. Bu özelliğinden dolayı bu dedektör fosforlu pestisitlerin tayininde sıkça kullanılmaktadır (Skoog ve ark. 1998).

1.11.1.8. Gaz kromatografi uygulamaları

Gaz kromatografisi yöntemi öncelikle ayırma amacıyla kullanılmaktadır. Kendisi veya bir türevi buharlaşabilen maddelerden oluşmuş kompleks organik sistemlerin, metal-organik maddelerin ve biyokimyasal sistemlerin ayırımında paha biçilmez ölçüde yararlıdır. İkinci önemli rol ise bu yöntemin, ayrılan maddelerin teşhisini ve tayinini sağlamasıdır. Kalitatif analiz için alkonma zamanları kullanılırken, pik yükseklikleri veya alanları ise kantitatif amaçla değerlendirilir. Gaz kromatografisi, madde teşhisinde yüksek potansiyele sahip kütle, infrared ve NMR spektrometreleri gibi cihazlar ile beraber kullanılabilir (Scott 1995).

a) Kalitatif analiz

Gaz kromatogramları organik maddelerin safsızlık derecelerini belirlemede çok yararlı olurken, aynı zamanda saflaştırma işlemlerinin etkinliğini değerlendirmede de kullanılmaktadır. Teorik olarak alıkonma zamanları, karışımdaki maddelerin tanınmasında kullanılabilirken, tekrarlanabilir verilerin bulunması için çok sayıda parametrenin kontrol edilmesi gerektiği için bu imkan sınırlıdır. Bütün bunlara rağmen gaz kromatografisi herhangi bir maddenin numune içinde var olup olmadığını anlamada yararlı bir yol olarak kullanılabilirken, çalışmanın iki farklı kolonda farklı sıcaklıklarda tekrarlanması daha kesin sonuçlar verecektir.

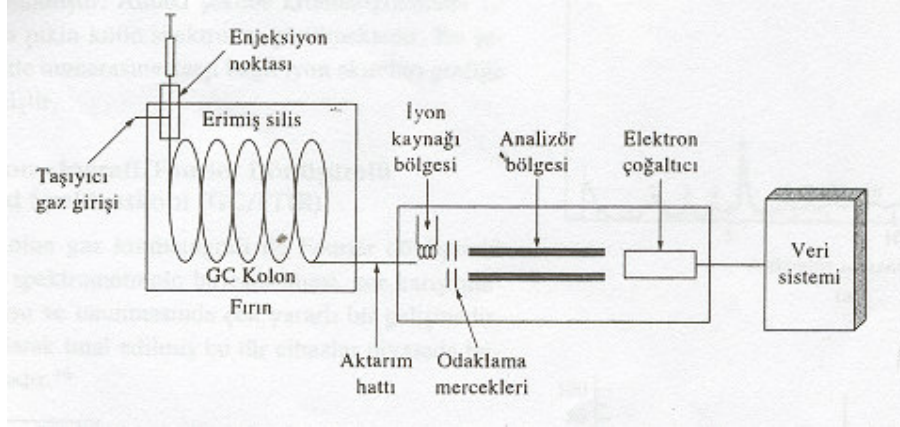
b) Kantitatif analiz

Bir gaz kromatografik kolondan elde edilen dedektör sinyalinin kantitatif ve yarı-kantitatif analizde büyük yararı vardır. Dikkatle kontrol edilmiş koşullarda %1'lik bağıl doğruluk elde edilebilir. Birçok analitik araçta olduğu gibi güvenilirlik parametrelerin kontrolüne bağlıdır. Numunenin yapısı da doğruluğu etkileyen bir diğer faktördür.

c) Gaz kromatografi ile spektroskopik yöntemlerin birlikte kullanımı

Gaz kromatografisi çoğu zaman ikili yöntemler adı verilen seçici spektroskopik ve elektrokimyasal tekniklerle bağlantılı olarak kompleks karışımların analizinde güçlü bir araç olarak kullanılır (Masucci ve Caldwell 1995).

Birçok imalatçı firma, gaz kromatograflarını hızlı tarama yapabilen çeşitli kütle spektrometrelerine doğrudan bağlanmış olarak piyasaya sürmüşlerdir. Kapiler kolonlardan gelen eluatın akış hızı genellikle küçük olduğu için, madde doğrudan kütle spektrometrenin iyonlaşma bölgesine verilebilir. Bu tür bir sistemin şematik görünümü Şekil 1.11.1.8.1.'de verilmiştir.



Şekil 1.11.1.8.1. Gaz kromatografi/kütle spektrometrenin şematik gösterimi

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

Kuadrupol ve manyetik sektörlü; kütle spektrometreleri gaz kromatografına bağlı olarak kullanmayı sağlayan donanımla birlikte satılmaktadır.

Kütle spektrometrik dedektörlerde genellikle, anında sinyal görüntüleri ve bilgisayarda yeniden biçimlendirilmiş sinyal görüntüleri olmak üzere iki tip sinyal görüntüsü verirler. Bunların her birinde toplam iyon akım kromatogramları, seçici iyon akım kromatogramları, bazı kromatografik piklerin kütle spektrumları gözlenebilir. Bazı cihazlarda bulunan bilgi bankaları maddeleri tanımda yardımcı olur.

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

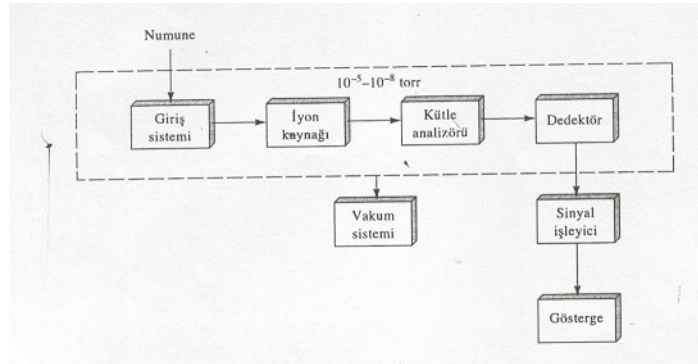
1.11.2. Kütle spektrometresi

Kütle spektrometresi, şüphesiz halen kullanılan tüm analitik yöntemlerin en geniş uygulama alanı olanıdır ve maddelerin elementel bileşimlerinin belirlenmesinde, inorganik, organik ve biyolojik moleküllerin yapılarının aydınlatılmasında, karmaşık karışımların kalitatif ve kantitatif analizlerinde, katı yüzeylerin yapılarının ve bileşimlerinin aydınlatılmasında, bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında oldukça yararlı bir yöntemdir.

1.11.2.1. Kütle spektrometresi düzeneği

Kütle spektrometresi, hareketli iyonları kütle/yük (m/z) oranlarına göre hızlı olarak ayıran bir cihazdır. İyonların çoğu tek yüklü olduğundan, oran basitçe iyonun kütlesine eşittir. Bunlar moleküler kütle spektrometreleridir.

Şekil 1.11.2.1.1.'deki blok diyagram kütle spektrometrenin ana parçalarını göstermektedir. Numune giriş sisteminin amacı, çok az miktardaki numuneyi kütle spektrometrenin içine verebilmektir. Burada numune, gaz halde iyonlara dönüştürülür.



Şekil 2.11.2.1.1. Bir kütle spektrometrenin bileşenleri

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

Kütle spektrometrelerinin iyon kaynakları, numune bileşenlerini iyonlara dönüştürür. Çoğu kez iyon kaynağı ile giriş sistemi birleştirilmiştir. Her iki durumda da pozitif veya negatif iyonlar (çoğunlukla pozitif iyonlar) kütle analizörüne doğru hızlandırılırlar.

Kütle analizörünün işlevi, optik spektrometrelerdeki optik ağa benzer. Ancak burada, fotonların dalga boylarına göre ayrılması yerine kütle/yük oranına göre ayrılma olur. Kütle spektrometreleri kütle analizörünün yapısına bağlı olarak birkaç sınıfa ayrılır.

Optik spektrometrelerdeki gibi, transduserli kütle spektrometreleri (iyonlar için) iyon demetini elektriksel sinyallere çevirirler, bu sinyaller bilgisayar sisteminde değişik şekillerde işlenir, hafızaya kaydedilir, görünürleştirilir ve grafiklenir.

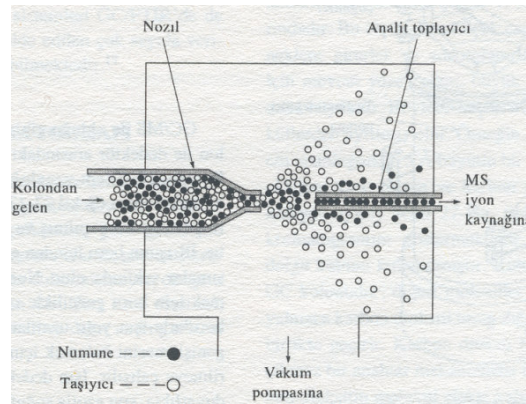
Kütle spektrometrelerinde bulunan karakteristik özellik, sinyal işleme ve gösterge kısımları hariç, cihazın diğer bütün bileşenlerinde sağlanmış ileri vakum ($10^{-4}-10^{-8}$ torr)

sistemidir. Yüklü parçacıklar ve elektronların atmosfer bileşenleriyle etkileşmesi ve sonuçta yok olması problemine önlemek için yüksek vakum uygulanmaktadır (Skoog ve ark.1998).

2.11.2.2. Numune giriş sistemleri

Numune giriş ünitesinin amacı, iyon kaynağına en az vakum kaybı ile numunenin verilebilmesini sağlamaktır. Modern kütle spektrometrelerinin çoğunda pek çok numune tipine uygun olacak tarzda giriş sistemleri bulunur; bunlara örnek olarak, parti halinde numune giriş sistemleri, doğrudan prob giriş sistemleri, kromatografik giriş sistemleri ve kapiler elektroforez giriş sistemleri verilebilir.

Kütle spektrometreleri, çoğu kez bir gaz veya bir yüksek performans sıvı kromatografi sistemine veya bir kapiler elektroforez sistemine bağlı olarak karışımların bileşenlerinin ayrılmasında ve tanınmasında kullanılırlar. Bir kütle spektrometreye kromatografik veya elektroforetik bir kolonu bağlayabilmek için özel bir giriş sistemi kullanmak gerekir. Dolgulu ve kapiler kolonlar için Şekil 1.11.2.2.1.'de olduğu gibi taşıyıcı gazın büyük bir kısmını analitten ayıran camdan mamul bir jet ayırıcısının kullanılması gerekir. Bu sistemde kolon gazları jet ayırıcının ucundan çıkarken, ağır analit molekülleri yüksek momentum kazanır ve bunların yaklaşık %50'si karşı tüpe girerken, hafif helyum atomları vakum tarafından emilir (Duckworth ve ark. 1986).



Şekil 1.11.2.2.1. Bir jet ayırıcının şeması

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

1.11.2.3. İyon kaynakları

Bir kütle spektrometrik analizde ilk iş, analitin gaz halinde iyonlarını elde etmektir. Kütle spektrumlarının görünüşü kullanılan iyonlaştırma yöntemine önemli derecede bağlıdır. Çizelge 1.11.2.3.1.'de moleküler kütle spektrometrelerinde kullanılan iyon kaynakları listelenmiştir. Bu yöntemler gaz faz kaynakları ve desorpsiyon kaynakları olmak üzere iki ana kategoriye ayrılırlar. Çizelgede yer alan ilk üç yöntem, numunenin önce buharlaştırılması sonra da iyonlaştırılmasına dayanmaktadır. Sonraki yöntemle de katı veya sıvı haldeki bir numune doğrudan gaz iyon haline dönüştürülür. Desorpsiyon kaynaklı kütle spektrometrelerinin avantajı, uçucu olmayan ve termal olarak kararsız numunelere de uygulanabilmesidir.

Çizelge 1.11.2.3.1. Moleküler kütle spektroskopide kullanılan iyon kaynakları

Temel tip	Adı ve Kısaltılması	İyonlaştırıcı
Gaz fazı	Elektron impakt (EI)	Enerjik elektronlar
	Kimyasal iyonlaştırma (CI)	Reaktif gaz iyonları
	Alan iyonlaştırma (FI)	Yüksek potansiyelli elektrot
Desorpsiyon	Alan desorpsiyonu (FD)	Yüksek potansiyelli elektrot
	Elektrosprey iyonlaştırma	Yüksek elektrik akımı
	Matriks yardımcı desorpsiyon iyonlaştırma (MALDI)	Lazer demeti
	Plazma desorpsiyonu (PD)	²⁵² Cl'nin fasyon ürünleri
	Hızlı atom bombardımanı (FAB)	Enerjik atom demeti
	İkincil iyon kütle spektrometri (SIMS)	Enerjik iyon demeti
	Termosprey iyonlaştırma (TS)	Yüksek sıcaklık

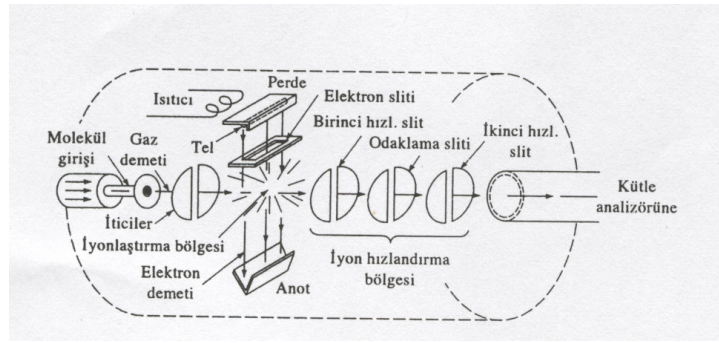
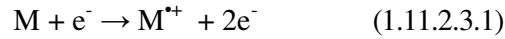
KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

Gaz fazı iyon kaynaklarının kullanımı, kaynama noktaları 500°C' den küçük termal olarak kararlı maddelerle sınırlıdır. Çoğunlukla, gaz kaynaklarıyla mol kütleleri yaklaşık 10³ daltondan daha küçük bileşikler incelenebilir. Analitin uçucu olmasının gerekmediği desorpsiyon kaynakları, mol kütlesi 10⁵ daltona kadar olan yüksek molekül ağırlıklı analitlere uygulanabilir (Skoog ve ark. 1998).

a) Elektron impakt kaynağı

Numune yeterince buharlaşabilecek bir sıcaklığa getirilir ve enerjik elektronlarla bombardıman edilerek iyonlaştırılır. Dezavantajına rağmen bu teknik büyük öneme sahiptir ve kütle spektrumu kütüphanelerin çoğunda bu teknikle elde edilmiş veriler bulunmaktadır.

Şekil 1.11.2.3.1’de basit bir elektron impakt kaynağı şematik olarak gösterilmiştir. Elektronlar ısıtılan bir tungsten veya renyum telden yayılır ve yaklaşık 70V’luk bir potansiyel tarafından tel ve anot arasında hızlandırılırlar. Şekilde görüldüğü gibi, elektronların ve moleküllerin yolları birbirine diktir ve yollar kaynağın merkezinde kesişir ve burada çarpışma ve iyonlaşma olur. Eğer molekülün yüksek enerji seviyesinde bulunan elektronları, elektrostatik etki ile koparabilecek bir enerji aktarımı olursa, ilk ürün tek pozitif yüklü iyonlardır. Elektron impakt ile iyonlaştırma pek verimli bir yol değildir ve 1.11.2.3.1 denklemine göre yaklaşık milyonda bir oranında iyonlaşma olur:



Şekil 1.11.2.3.1. Elektron impakt kaynağının yapısı

KAYNAK: SILVESTEIN, R. M., G. C. BASLER ve T. C. MARDRIL. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 5th Ed., p.4 "New York: Wiley, John Wiley and Sons, Inc."

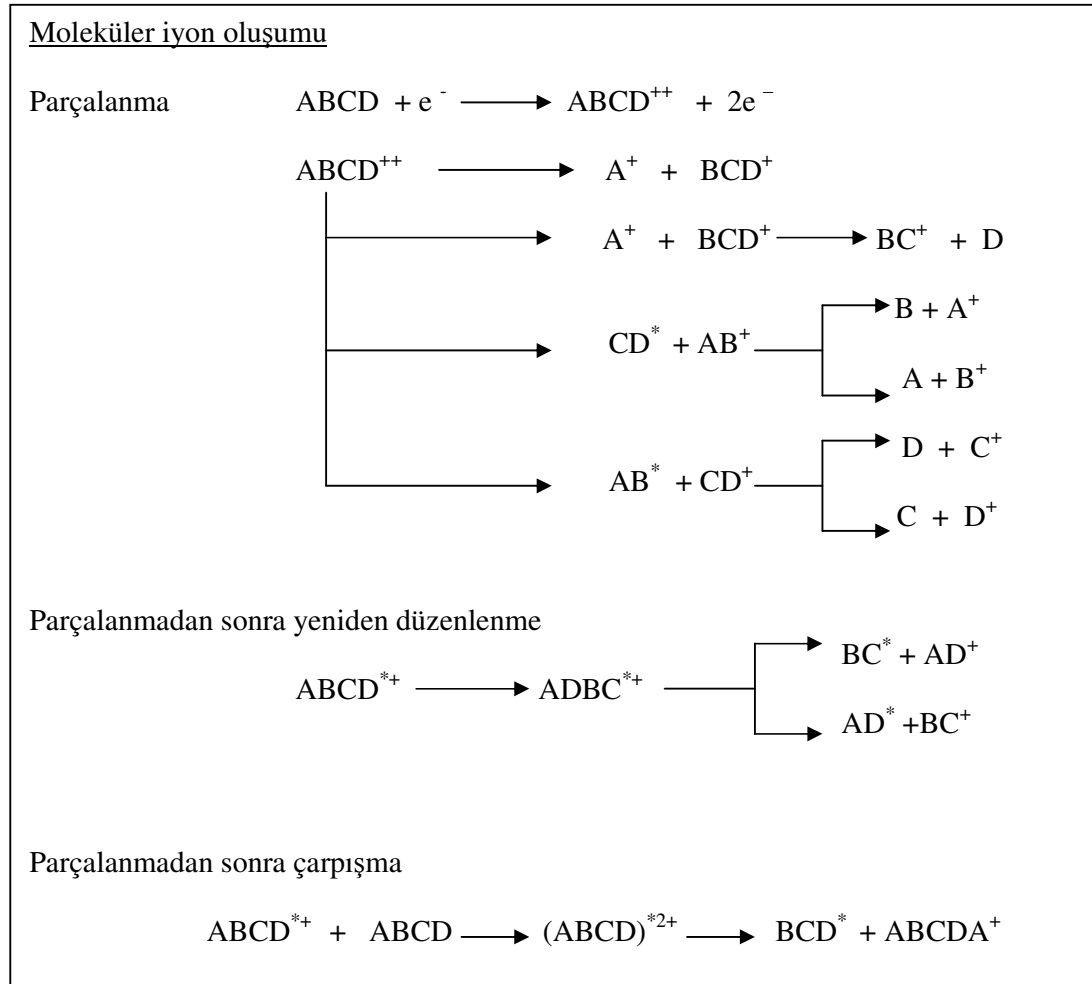
Burada, M analit molekülü ve M^{*+} moleküler iyonudur. Elektron impakt ile meydana gelmiş pozitif yüklü iyonlar, birinci hızlandırıcı plaka tarafından slite çekilirler, bu plaka ile diğer parçalar arasında küçük bir potansiyel farkı vardır (genellikle 5V). Manyetik sektörlü cihazlarda, hızlandırıcı plakalar arasına yüksek potansiyeller (10^3-10^4 V) uygulanır. Bu potansiyel altında iyonlar, kütle analizörüne girmeden önce son hızlarını kazanırlar (Silvestein ve ark. 1991).

b) Elektron impakt spektrumları

Tekrarlanabilir bir hızda ve çok sayıda gaz iyonları elde etmek için, kaynaktaki telden çıkan elektronların yaklaşık 50 V'dan daha büyük bir potansiyelle

hızlandırılmaları gerekir. Küçük kütleli ve yüksek kinetik enerjili bu elektronlar, çarptıkları moleküllerin öteleme enerjilerinde küçük bir artışa neden olurlar. Buna karşılık moleküller, yüksek titreşim ve dönme seviyelerine uyarılırlar. Bunu izleyen durulmada, sık sık yoğun parçalanma görülür, mol kütlesi molekülden daha düşük olan çok sayıda değişik kütleli parça oluşur (bazen kütlesi moleküler iyonunkinden büyük olanlara da rastlanır). Bu küçük kütleli iyonlar yavru iyonlar olarak bilinirler. Çizelge 1.11.2.3.2.'de hipotetik bir ABCD molekülünün elektron impakt sonucunda oluşturabileceği tipik parçalanma reaksiyonlarını göstermektedir (Skoog ve ark. 1998).

Çizelge 1.11.2.3.2. Bir elektron impakt kaynağındaki bazı tipik reaksiyonlar



KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

c) İzotop pikleri

Çizelge 1.11.2.3.3., organik maddelerde yaygın olarak rastlanan izotopların listesini gösterilmiştir.

Çizelge 1.11.2.3.3. Bazı elementlerin izotoplarının bağıl bollukları

Element	En bol bulunan izotop	En bol bulunan izotop 100 kabul edildiğinde diğer izotopların bağıl bollukları	
Hidrojen	¹ H	² H	0,15
Karbon	¹² C	¹³ C	1,08
Azot	¹⁴ N	¹⁵ N	0,37
Oksijen	¹⁶ O	¹⁷ O	0,04
		¹⁸ O	0,20
Kükürt	³² S	³³ S	0,80
		³⁴ S	4,40
Klor	³⁵ Cl	³⁷ Cl	32,50
Brom	⁷⁹ Br	⁸¹ Br	98,00
Silisyum	²⁸ Si	²⁹ Si	5,10
		³⁰ Si	3,40

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

d) Çarpışma ürün pikleri

Çizelge 1.11.2.3.2.'deki son eşitlikle gösterildiği gibi, iyon/molekül çarpışmaları moleküler iyonun kütlesinden daha büyük kütlede piklerin meydana gelmesine sebep olabilir. Normal numune basınçlarında, önemli sayılabilecek bu tip reaksiyon çeşidi yalnızca bir tanedir ve bu reaksiyonda da iyonun bir hidrojen atomu aktararak protonlanmış bir moleküler iyon elde edilir, bunun sonucunda kütlesi daha büyük $(M + 1)^+$ piki ortaya çıkar. Bu aktarım, ikinci dereceden bir reaksiyondur ve ürünün miktarı reaksiyona girenlerin derişimine önemli ölçüde bağlıdır. Sonuç olarak $(M + 1)^+$ pikinin yüksekliği numune basıncının artırılmasıyla artar ve diğer piklerin yüksekliğinden fazla olabilir; bu reaksiyonun belirlenmesi çoğunlukla mümkündür.

e) Elektron impakt kaynaklarının üstünlük ve sakıncaları

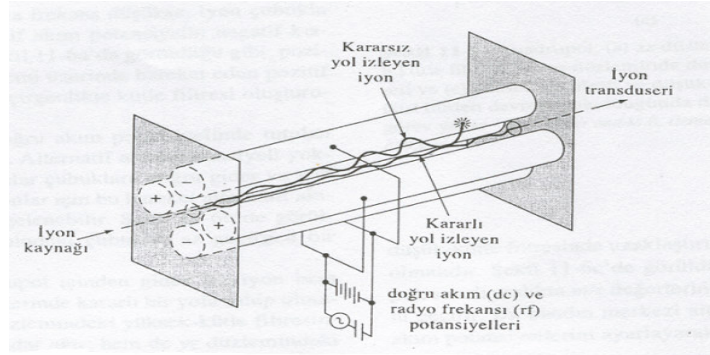
Elektron impakt kaynakları kullanışlıdır ve yüksek iyon akımı üretmek için uygundur, bu yüzden duyarlılıkları iyidir. Bu yöntemde görülen aşırı parçalanma ile çok sayıda pik görülmesi de bir üstünlük sayılabilir, çünkü bu durum analiz edilen maddenin şüpheli

kısımlarının tanınmasında yardımcı olur. Ancak aşırı parçalanma sonucu analitin molekül piki ortadan kalkabileceğinden, mol kütesinin ölçülmesi imkansız hale gelir. Elektron impakt kaynaklarının kullanımını sınırlayan başka bir durum da numuneyi buharlaştırma gereğidir. Ancak gaz kromatografisi sistemine bağlı kütle spektrometrelerinde numune buhar fazında olduğu için bu problem ortadan kalkmış olur.

1.11.2.4. Kütle analizörleri

Farklı kütle/yük oranlarındaki iyonları ayırabilmek için pek çok cihaz kullanılabilir. İdeal olarak kütle analizörleri, küçük kütle farklarını ayırt edebilecek duyarlılıkta olmalı ve kolayca ölçülebilir iyon akımları elde etmek için yeterli sayıda iyon geçişi sağlayabilmelidir.

Şekil 1.11.2.4.1'de verilen ve en bilinen analizör tipi olan kuadropol kütle analizörü, diğer analizör tiplerine göre daha sağlam, daha ucuz ve daha güçlüdür. Aynı zamanda yüksek tarama hızı gibi bir avantajı vardır. Bütün bir kütle spektrumunun 100 ms'den daha az bir sürede elde edilebilmesi nedeniyle, özellikle kromatografik piklerin anında taranması için çok faydalıdır.



Şekil 1.11.2.4.1. Kuadropol kütle spektrometresi

KAYNAK: SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.

Kuadropol cihazının kalbi, elektrot olarak iş gören dört paralel silindirik çubuktur. Karşılıklı çubuklar elektriksel olarak birbirine bağlıdır; bir çift, değişebilir doğru akım kaynağının pozitif tarafına, diğer çift ise negatif ucuna bağlanır. İlaveten her çubuk

çiftine değişebilir radyo-frekanslı (180 derece faz dışı) alternatif akım potansiyeli uygulanır. Bu cihazla bir kütle spektrumu elde etmek için, iyonlar, çubuklar arasındaki boşluğa 5-10 V' luk bir potansiyelle hızlandırılır. Bu arada çubuklara uygulanan doğru akım ve alternatif akım potansiyelleri, oranları sabit tutularak aynı anda arttırılır. Herhangi bir anda belli bir m/z değerine sahip olanların dışında bütün iyonlar çubuklara çarpar ve nötral moleküllere dönüşür. Sadece sınırlı bir aralıkta m/z değeri taşıyan iyonlar transdusere ulaşır. Tipik olarak, kuadropol cihazlar kütleleri bir birim farklı iyonları bile kolaylıkla ayırır (Marchand ve Hughes 1989).

1.11.2.5. Moleküler kütle spektrometresinin uygulamaları

Çok geniş ve kapsamlı olan moleküler kütle spektrometresi; organik ve biyokimyasal molekül yapılarının aydınlatılması, peptitlerin, proteinlerin ve oligonükleotidlerin mol kütlelerinin tayin edilmesi, ince tabaka ve kağıt kromatografisinde ayrılan bileşiklerin tanınması, polipeptit ve protein numunelerinde aminoasit diziliőinin tayini, kromatografi ve kapiler elektroforez ile ayrılan türlerin belirlenmesi ve teőhisi, zararlı ilaçların ve bu zararlı ilaçların metabolitlerinin kan, idrar ve tükürkte belirlenmesi, ameliyat sırasında hastanın nefesindeki gazların izlenmesi, yarış atları ve olimpiik atletlerde doping kontrolü, arkeolojik numunelerin yaşlarının belirlenmesi, aerosol oluşturan partiküllerin analizi, su kaynaklarında uçucu organik maddelerin izlenmesi ve gıdalarda pestisit kalıntılarının tayini gibi çok farklı alanlarda uygulama imkanı bulmaktadır.

Gıdalardaki pestisit kalıntılarının tayininde; bilinmeyen maddenin kütle spektrumu ile referans maddelerin kütle spektrumları karşılaştırılarak bilinmeyen madde tanınabilir. Farklı bileşiklerin aynı spektrumu verme olasılığı, spektral pik sayısı arttıkça belirgin bir şekilde azalır. Bu nedenle, elektron impakt iyonlaőtırması, pestisit analizlerinde spektrum karşılaştırması için tercih edilen bir yöntemdir.

Kütle spektrum piklerinin yüksekliği; elektron ışınının enerjisi, numunenin ışına göre yeri, numune basıncı ile sıcaklığı ve kütle spektrometrenin genel şekli gibi değişkenlere sıkı sıkıya bağlıdır. Bunun sonucu olarak farklı laboratuarda ve farklı cihazlardan alınan spektrumlardaki bağıl pik őiddetlerinde önemli farklılıklar görülebilmektedir. Buna rağmen pek çok durumda da değişik cihazlarla alınan spektrumlardan oluşturulan kütüphanelerden yararlanılarak birçok bileșięin tanınması

mümkün olmaktadır. Ancak, genel olarak bir bileşiğin tanınması için aynı şartlar altında ve mümkünse aynı cihazdan alınan spektrumların karşılaştırılması tercih edilen bir durumdur (Mclafferty 1980).

Modern kütle spektrometrelerde gelişmiş bilgisayarlı tarama sistemleri vardır (Mclafferty ve Stauffer 1989). Ticari olarak ulaşılabilen en geniş kapsamlı kütle spektrum kütüphanesi (>150000 spektrum) John Wiley and Sons tarafından pazarlanmaktadır (Mclafferty 1980). Küçük kütüphaneler genellikle pestisit kalıntısı, ilaç veya adli tıp gibi sınırlı alanda uygulanabilen birkaç yüz ile birkaç bin arasında spektrum verisi içerirler.

Gaz kromatografi/kütle spektrometresi (GC/MS), karmaşık organik ve biyokimyasal karışımların analizi için kimyacıların kullandıkları güçlü bir sistem haline gelmiştir. Bu uygulamada kromatografik kolondan çıkan bileşikler için ayrı ayrı spektrumlar toplanır. Bu spektrumlar daha sonra işlenmek üzere bir bilgisayarda depolanır. Kütle spektrometresi uçucu olmayan bileşenler içeren numunelerin analizi için sıvı kromatografisi ile de birleştirilmiştir.

1.11.2.6. Kütle spektrometresinin kantitatif uygulamaları

Kantitatif analiz için kütle spektrometre uygulamaları; organik, biyolojik ve zaman zaman da inorganik numunelerdeki moleküler türlerin kantitatif tayini ve inorganik ve daha da az olarak organik ve biyolojik numunelerdeki elementlerin derişimlerinin tayini olarak ayrılmaktadır.

Kütle spektrometresi, petrol ve ilaç sanayi ile çevre araştırmalarında karşılaşılan kompleks organik (bazen de inorganik) karışımların bir veya daha fazla bileşeninin kantitatif tayininde yaygın olarak kullanılmakta ve analizler numunenin kromatografik veya kapiler elektroforetik kolondan geçilerek kütle spektrometreye gönderilmesiyle yapılmaktadır (Millard 1978). Uygun bir m/z değerine ayarlanan spektrometre ile, iyon akımı zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilmektedir. Bu tekniğe seçilmiş iyon izleme tekniği denir. Bazı durumlarda üç veya dört ayrı m/z değerine sahip akımlar, bir pikten diğerine hızlı bir geçişle dönüşümlü olarak izlenerek bilgiler bir dizi pik olarak kaydedilir. Her pik, seçilmiş m/z değerlerinin iyonlarını veren numune bileşenlerinden bir tanesine özgü olan zaman değerinde ortaya çıkar. Genel olarak

piklerin altında kalan alanlar bileşenlerin derişimleri ile doğru orantılıdır ve böylece bu alanlar analitik birer parametre gibi iş görürler. Bu tip işlemlerde, kütle spektrometre yalnızca kantitatif kromatografik veya elektroforetik analizler için gelişmiş bir seçici dedektör gibi iş görür.

Kütle spektrometresinde moleküler türler için kullanılan ikinci kantitatif analiz tarzında, piklerin yükseklikleri doğrudan kullanılır. Basit karışımlar için bazen her bir bileşene karşılık gelen m/z değerinde bir pik bulmak mümkündür. Bu şartlarda derişime karşı pik yükseklikleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri hazırlanır ve bilinmeyenlerin analizinde kullanılabilir.

1.12. Veri Değerlendirmesi - Kemometri

Kemometri; bilgisayar, istatistik ve matematiksel yöntemlerin kimyasal verilere uygulanmasıdır. Kimyasal veriler çoğu zaman birden fazla değişkene bağlı olmakta ve bu verilerin analizinde kemometrik metotlar kullanılmaktadır. Deneysel parametrelerin klasik yöntemlerle optimizasyonunda, değişkenlerden biri sabit tutulurken diğer değişkenler farklı oranlarda alınarak etkileri incelenir ve bu işlem her değişken için tekrarlanır. Fakat klasik yöntemlerde, parametreler arasında da etkileşim olabileceği ve eğer etkileşim oluyorsa bunun diğerlerini de etkileyebileceği hesaplanamamaktadır. Kemometrik tekniklerde ise; hangi parametrelerin etkili ve etkisinin ne kadar olduğu, ayrıca bu parametrelerin etkileşim miktarlarının ne ölçüde olduğu belirlenebilmektedir. Bu amaçla farklı kemometrik optimizasyon teknikleri geliştirilmiştir. Optimum koşulların sağlanabilmesi için oluşturulan deneysel dizaynlar deneysel çalışmanın planlı bir şekilde, kısa bir zamanda ve yeterli sayıda yapılmasını sağlar. Değişik amaçlara yönelik çeşitli dizayn yöntemleri vardır (Miller ve Miller 2000).

Bu yöntemlerden biri olan faktöriyel dizaynlar her bir faktörün etkisini genel olarak inceleyen yöntemlerdir. Her bir faktörün optimum koşullarının bulunması merkezi kompozit dizayn yöntemi ile yapılır. Deney sayısı aşağıdaki 1.12.1 denklemine göre hesaplanmaktadır (Brereton 2007).

$$\text{Deney sayısı} = 2^k + 2k + 1 \quad (\text{k: faktör sayısı}) \quad (1.12.1)$$

Formüldeki 2^k full faktöriyel veya fraksiyonlu faktöriyel dizayndaki deney sayılarını, $2k$ star dizayn deney sayısını ve 1 ise orta seviyedeki deney sayısını gösterir. 2^k 'daki seviyeler (-1) ve (+1), $2k$ 'dakiler $\pm\alpha$, 1'deki ise (0) dır. α değeri dairesel ve ortogonal dizayna göre farklı seviyeler alır.

Dairesel dizaynda α , aşağıda verilen 1.12.2 denklemine göre hesaplanır.

$$\alpha = \pm \sqrt[k]{2^k} \quad (1.12.2)$$

Ortogonal dizaynda ise α , aşağıdaki verilen 1.12.3 denklemine göre hesaplanır.

$$\alpha = \pm \sqrt{k} \quad (1.12.3)$$

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Sebze ve meyve gruplarını temsilen pestisit içermeyen kiraz ve biber örnekleri temin edilmiştir. Pestisit içermeyen kiraz örnekleri Bursa'nın Keles ilçesindeki bir üreticinin bahçesinden ilaçlama öncesi toplanmış ve pestisit içermediği GC-MS ile yapılan analizler ile belirlenmiştir. Biber örnekleri ise çeşitli semt pazarlarından alınmış ve GC-MS ile yapılan analizlerde pestisit içermediği belirlenen örnekler materyal olarak kullanılmıştır.

2.1.1. Pestisit kalıntı analizi için örnek alma ve saklama

Kiraz ağaçlarından örnekler; ağacın etrafında dönülerek, ağacın her tarafından yukarıdan, aşağıdan, sağdan, soldan eldivenlerle toplanmıştır (Anonim 1997). 5-7 kg. toplanılan meyveler içi kağıt kaplı kasalara koyularak laboratuara taşınmıştır. Biber örnekleri ise pazardan 5-7 kg. civarında alınmıştır.

Sapları ve çekirdekleri çıkarılan kiraz ve sapları alınan biber örnekleri blenderlarda parçalanarak iyice karıştırılmış, homojen olan bu karışımlardan 1 kg laboratuvar örneği alınmıştır. Örnekler 20 g ve 100 g tartılarak polietilen torbalara koyulmuş ve analiz yapılana kadar -18°C'deki derin dondurucuda saklanmıştır.

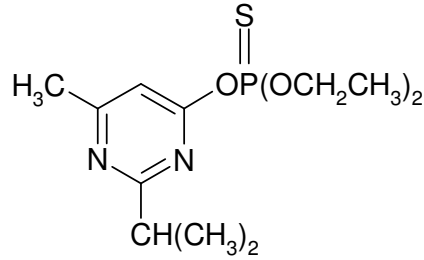
2.1.2. Çalışmada kullanılan ve tayin edilen pestisitler

2.1.2.1. Diazinon

Uluslararası Kuramsal ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC)'a göre kimyasal adı; O,O-diethyl O-2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate olan diazinon'un kapalı formülü $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ ' dir, kimyasal yapısı ise Şekil 2.1.2.1.1.' de verilmiştir. Birçok organik çözücüyle kolayca karışabilir ve sudaki çözünürlüğü 60 mg/L (20°C)' dir (Anonim 1994). Kontak, mide ve solunum sistemine etkili insektisit ve akarisitir. Ağız yolu ile akut LD₅₀ 1250 mg/kg, ADI (kabul edilebilir günlük alım

miktarı) 0.002 mg/kg vücut ağırlığı/gün' dür. Diazinon WHO (Dünya Sağlık Örgütü)' nün zehirlilik sınıflandırmasında orta derecede zehirli (II) ilaçlar grubunda yer almaktadır (Anonim 2002).

Diazinon ile ilaçlanan sebze ve meyvelerin son ilaçlamadan 15-21 gün sonra hasat edilmesi önerilmektedir (Anonim 2002). Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliğine göre diazinonun kirazdaki kabul edilebilir en yüksek kalıntı limiti 0.3 mg/kg iken, biberde kalıntı limiti belirtilmemiştir (Anonim 2005 a, Anonim 2004 e).

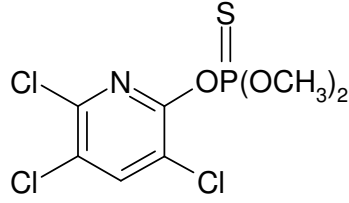


Şekil 2.1.2.1.1. Diazinon' un kimyasal yapısı

2.1.2.2. Chlorpyrifos-methyl

IUPAC'a göre kimyasal adı; O,O-dimethyl O-3,5,6 trichloro-2-pyridyl phosphorothioate olan chlorpyrifos-methyl' in formülü C₇H₇Cl₃NO₃PS' dir, kimyasal yapısı ise Şekil 2.1.2.2.1.' de verilmiştir. Sudaki çözünürlüğü 4 mg/L (24°C), asetonadaki 6400 g/kg, benzendeki 5200 g/kg, diethyl eterde 4800 g/kg, kloroformdaki 3500 g/kg' dır. Nötral şartlar altında kararlı, bazik ortamda (pH 8-10) daha kararlı ve asidik ortamda (pH 4-6) hidroliz olur (Anonim 1994). Kontak, mide ve solunum sistemine etkili insektisit ve akarisitir. Ağız yolu ile akut LD₅₀ >3000 mg/kg, kabul edilebilir günlük alım miktarı 0,01 mg/kg vücut ağırlığı/gün' dür. Chlorpyrifos-methyl WHO'nün zehirlilik sınıflandırmasında az zehirli (IV) ilaçlar grubunda yer almaktadır (Anonim 2002).

Chlorpyrifos-methyl ile ilaçlanan sebze ve meyvelerin son ilaçlamadan 7 gün sonra hasat edilmesi önerilmektedir (Anonim 2002). Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliği' ne göre chlorpyrifos-methyl'in kiraz ve biberde kalıntı limiti bulunmamaktadır (Anonim 2005 a, Anonim 2004 e).

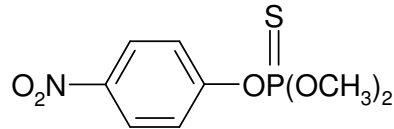


Şekil 2.1.2.2.1. Chlorpyrifos-methyl' in kimyasal yapısı

2.1.2.3. Parathion-methyl

IUPAC'a göre kimyasal adı; O,O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate olan parathion-methyl' in formülü $C_8H_{10}NO_5PS$ ' dir, kimyasal yapısı ise Şekil 2.1.2.3.1.' de verilmiştir. Birçok organik çözücüyle kolayca karışabilir ve sudaki çözünürlüğü 55 mg/L (20°C)' dir. Asidik ve bazik ortamlarda hidroliz olur (Anonim 1994). Kontak, mide ve solunum sistemine etkili insektisit ve akarisitir. Ağız yolu ile akut LD_{50} 3 mg/kg, kabul edilebilir günlük alım miktarı 0,003 mg/kg vücut ağırlığı/gün' dür. Parathion-methyl WHO' nün zehirlilik sınıflandırmasında çok zehirli (I) ilaçlar grubunda yer almaktadır (Anonim 2002).

Parathion-methyl ile ilaçlanan sebze ve meyvelerin son ilaçlamadan 28 gün sonra hasat edilmesi önerilmektedir (Anonim 2002). Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliği' ne göre parathion-methyl'in kirazdaki kabul edilebilir en yüksek kalıntı limiti 0.01 mg/kg iken, biberdeki kabul edilebilir en yüksek kalıntı limiti 0.1 mg/kg'dır (Anonim 2005 a, Anonim 2004 e).

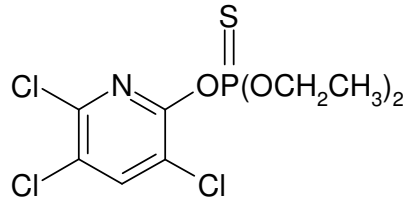


Şekil 2.1.2.3.1. Parathion-methyl' in kimyasal yapısı

2.1.2.4. Chlorpyrifos-ethyl

IUPAC'a göre kimyasal adı; O,O-diethyl O-3,5,6 trichloro-2-pyridyl phosphorothioate olan chlorpyrifos-ethyl' in formülü $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ ' dir, kimyasal yapısı ise Şekil 2.1.2.4.1.' de verilmiştir. Sudaki çözünürlüğü 1,4 mg/L (25°C), benzendeki 7900 g/kg, asetonadaki 6500 g/kg, diethyl eterde 5100 g/kg, isooctanoldaki 790 g/kg' dir. pH arttıkça hidroliz oranı artar (Anonim 1994). Kontak, mide ve solunum sistemine etkili insektisittir. Ağız yolu ile akut LD_{50} 135-163 mg/kg, kabul edilebilir günlük alım miktarı 0,01 mg/kg vücut ağırlığı/gün' dür. Chlorpyrifos-ethyl WHO'nün zehirlilik sınıflandırmasında zehirli (II) ilaçlar grubunda yer almaktadır (Anonim 2002).

Chlorpyrifos-ethyl ile ilaçlanan sebze ve meyvelerin son ilaçlamadan 15 gün sonra hasat edilmesi önerilmektedir (Anonim 2002). Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliği' ne göre chlorpyrifos-ethyl'in kirazdaki kabul edilebilir en yüksek kalıntı limiti 0.3 mg/kg iken, biberde kalıntı limiti belirtilmemiştir (Anonim 2005 a, Anonim 2004 e).



Şekil 2.1.2.4.1. Chlorpyrifos-ethyl' in kimyasal yapısı

2.1.3. Çalışmada kullanılan aletler

2.1.3.1. Gaz kromatografisi

Çalışmada Thermo Finnigan Trace GC-FPD ve Agilent 6890 GC-NPD model gaz kromatografileri kullanılmıştır. Analiz sırasındaki Thermo Finnigan Trace GC çalışma şartları Çizelge 2.1.3.1.1.' de ve Agilent 6890 GC-NPD çalışma şartları ise Çizelge 2.1.3.1.2.' de verilmiştir. GC' ler bilgisayar ile kontrol edilmektedir. Software

programları yardımıyla analiz sırasında ve sonunda pik alıkonma zamanı, pik yüksekliği, pik alanı ve miktar tayini gibi çeşitli hesaplamalar yapılabilmektedir.

Çizelge 2.1.3.1.1. Thermo Finnigan Trace GC çalışma şartları

FIRIN	ENJEKTÖR BLOĞU
Başlangıç sıcaklığı: 70°C Başlangıç süresi: 2 dk <u>Oran</u> <u>Son sıcaklık</u> <u>Son süre</u> 25.00 150 0.00 3.00 210 0.00 8.00 260 16.00 15.00 280 5.00 Analiz süresi: 53.78 dk	Mod: Splitless Sıcaklık : 230 °C Basınç: 8.60 psi Purge akışı: 60.0 mL/dk Purge zamanı: 2.00 dk Enjeksiyon hacmi: 1 µL Gaz tipi: Helyum
KOLON	FPD DEDEKTÖR
Kapiler kolon: DB-17 30m*0.25 mm*0.25 µm Mod: Sabit basınç Basınç: 27 psi Gaz koruma akışı: 20 mL/dk Gaz koruma zamanı: 5 dk	Alev: Açık Temel sıcaklık: 300 °C FPD sıcaklık: 150 °C PMT voltaj: Düşük Hava akışı: 115 mL/dk Hidrojen akışı: 90 mL/dk

Çizelge 2.1.3.1.2. Agilent 6890 GC-NPD çalışma şartları

FIRIN	ENJEKTÖR BLOĞU
Başlangıç sıcaklığı: 70°C Başlangıç süresi: 1 dk <u>Oran</u> <u>Son sıcaklık</u> <u>Son süre</u> 30.00 160 2.00 2.00 220 0.00 15.00 280 5.00 Analiz süresi: 45.00 dk	Mod: Pulsed splitless Sıcaklık: 250 °C Basınç: 26.39 psi Pulse basınç ve zamanı: 35.0 psi - 1 dk. Purge akışı ve zamanı: 50.0 ml/dk - 2dk. Toplam akış: 55.2 ml/dk Enjeksiyon hacmi: 1 µL Gaz tipi ve koruma: Helyum ve açık Koruma akışı ve zamanı: 15.0 ml/dk - 4 dk.
KOLON	NPD DEDEKTÖR
Kapiler kolon Model no: Agilent 122-3832 DB-35ms 0.25 mm * 30m * 0.25 µm Max sıcaklık: 360° C Uzunluk ve çap: 30.0 m – 250 µm Film kalınlığı: 0.25 µm Mod: Sabit basınç Basınç: 26.39 psi Başlangıç akışı: 2.7 ml/dk Ortalama hız: 51 cm/sn	Sıcaklık: 325 °C Hidrojen akışı: 3.0 mL/min Hava akışı: 60.0 mL/min Mod: Sabit kolon + make up akış Akış: 6.0 ml/dk Make up akış: Açık Make up gaz tipi: Helyum Adjust offset:30.00 Electrometre: Açık Bead: Açık

2.1.3.2. Kütle spektrometresi

Çalışmada Agilent 6890N GC ile uyumlu 5973 Network kütle seçici dedektör kullanılmıştır. Analiz sırasındaki Agilent 6890 GC 5973Network MSD çalışma şartları ise Çizelge 2.1.3.2.1.' de verilmiştir. MS cihazında, hassasiyeti artırmak amacıyla seçici iyon izleme (SIM) modunda elektron iyonlaştırma (EI) uygulanmıştır. SIM modunda çalışılan pestisitlere ait iyonlar Çizelge 2.1.3.2.2' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1.3.2.1. Agilent 6890N GC-5973 Network MSD çalışma şartları

FIRIN			ENJEKTÖR BLOĞU
Başlangıç sıcaklığı: 70°C			Mod: Pulsed splitless
Başlangıç süresi: 1 dk			Sıcaklık : 250 °C
<u>Oran</u>	<u>Son sıcaklık</u>	<u>Son süre</u>	Basınç: 8.60 psi
30.00	160	2.00	Purge Akışı: 50.0 mL/dk
2.00	220	0.00	Purge Zamanı: 2.00 dk
15.00	280	5.00	Toplam akış: 53.8 mL/dk
Analiz süresi: 45.00 dk			Enjeksiyon hacmi: 1 µL
			Gaz koruma: Açık
			Koruma akışı: 15.0 mL/dk
			Koruma zamanı: 4.00 dk
			Gaz Tipi: Helyum
KOLON			MS DEDEKTÖR
Kapiler kolon: HP-5MS			Arayüz sıcaklığı: 280 °C
0.25 mm * 30m * 0.25 µm			MS dedektör sıcaklığı: 230 °C
Max sıcaklık: 350° C			
Mod: Sabit akış			
Başlangıç akışı: 1.0 mL/dk			
Çıkış: MSD			
Çıkış basıncı: Vakum			

Çizelge 2.1.3.2.2. SIM modunda çalışılan pestisitlere ait iyonlar

Pestisit	İyonlar Hedef iyon
Diazinon	179, 137, 152, 199
Chlorpyrifos-methyl	286, 288, 125, 290
Parathion-methyl	263, 109, 79
Chlorpyrifos-ethyl	197, 199, 314, 97

2.1.3.3. Gilson ASPEC XL SPE otomasyon cihazı

Otomatik SPE çalışmaları Gilson ASPEC XL marka sıvı örnekleme sisteminden yararlanılarak yapılmıştır. Bilgisayar ile kontrol edilen cihaz otomasyon işlemini software yardımıyla gerçekleştirmektedir.

2.1.3.4. Evaporatör

Örnek hazırlama işlemleri sırasında sebze ve meyve ekstraktlarını buharlaştırma işlemi Heidolph marka evaporatör ile gerçekleştirilmiştir.

2.1.3.5. Blender

Sebze ve meyve örneklerini homojenize etmek amacıyla 1500 W ile çalışabilen Waring commercial marka blender kullanılmıştır.

2.1.3.6. Derin dondurucu

Çalışmada kullanılan kiraz ve biber materyallerini saklamak amacıyla -20 °C' ye soğutma yapabilen derin dondurucu kullanılmıştır.

2.1.3.7. Terazı

Çalışmada, örnekleri ve katı kimyasal maddeleri tartmak amacıyla Sartorius CP 224 S marka analitik teraziden yararlanılmıştır.

2.1.3.8. Santrifüj

Çalışmada 50 ve 15 mL santrifüj tüplerine uygun rotor içeren Eppendorf 5804 marka santrifüj cihazı kullanılmıştır.

2.1.4. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

2.1.4.1. Kimyasallar

a) Pestisit standartları

Pestisit standartları Dr. Ehrenstorfer' den temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan pestisitlerin katalog numaraları, saflık değerleri ve saklama sıcaklıkları Çizelge 2.1.4.1.1.' de verilmiştir.

Çizelge 2.1.4.1.1. Çalışmada kullanılan pestisitlerin katalog numaraları, saflık değerleri ve saklama sıcaklıkları

Pestisit	Katalog no	% Saflık	Saklama sıcaklığı °C
Diazinon	C 12210000	96,5 ± 1,0	4
Chlorpyrifos-methyl	C 11601000	97,1 ± 0,5	-18
Parathion-methyl	C 15890000	98,5 ± 0,5	-18
Chlorpyrifos-ethyl	C 11600000	98,4 ± 0,5	-18

b) Analitik saflıktaki kimyasallar

Aseton: Merck, 1.00012.2500

Asetonitril (MeCN): Merck, 1.00017.2500

Diklormetan (DCM): Merck, 1.06054.2500

Etil asetat (EtOAc): Merck, 1.10972.2500

MgSO₄: Merck, 1.06067.1000

Metanol (MeOH): Merck, 1.06011.2500

NaHCO₃: Merck, 1.06329.0500

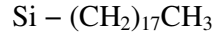
NaCl: Merck, 1.06400.1000

Na₂SO₄: Merck, 1.06639.0500

Petrol eteri: Merck, 1.01772.2500

c) SPE kartuşları

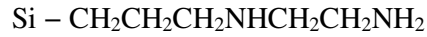
C₁₈: Agilent Technologies- Accu Bond^{II} SPE ODS-C₁₈ kartuş 500 mg 3 mL



NH₂: Agilent Technologies-Accu Bond^{II} SPE amino kartuş 500 mg 3 mL



PSA: Isolute SPE kolon 500 mg PSA(primer sekonder amin) 6 mL ve 500 mg 3 mL



d) Sarf malzemeler

Mavi bant filtre kağıdı: Schleicher&Schuell

Cam yünü: Merck, 1.04086.0500

2.1.4.2. Çözeltiler

a) Pestisit çözeltileri

- 1000 ppm (µg/mL) stok pestisit standart çözeltileri: 0.01 g (stok standartların % saflıkları dikkate alınarak) pestisit standardı tartılarak asetonitrilde çözülür ve 10 mL'ye asetonitril ile tamamlanır. Hazırlanan bu standartlar amber şişelerde -18 °C' de saklanır.
- 20 ppm (µg/mL) mix standart çözeltisi: Hazırlanan 1000 ppm lik diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl stok standartların her birinden 0,2' şer mL alınır ve 10 mL' ye etil asetat ile tamamlanır.
- 10 ppm (µg/mL) mix standart çözeltisi: Hazırlanan 20 ppm mix standart çözeltisinden 5 mL alınır ve 10 mL'ye etil asetat ile tamamlanır.
- Mix çalışma standartları: Matrix-matched kalibrasyon standartlarını hazırlamada kullanılan 0.05, 0.1, 0.25, 1.0, 2.5 ve 5.0 µg/mL mix çalışma standartları 20 ve 10 µg/mL mix standart çözeltileri ile hazırlanır.
- Matrix-matched kalibrasyon standartları: 0.5 mL kiraz veya biber blank' ine 0.05, 0.1, 0.25, 1.0, 2.5 ve 5.0 ppm (µg/mL) mix çalışma

standartlarından 50'şer µL eklenerek 5, 10, 25, 100, 250, 500 ppb (pg/µL) matrix-matched kalibrasyon standartları hazırlanır.

- Geri kazanım çalışmasında kullanılacak standartlar: Geri kazanım çalışmaları için 0.5 µg/mL mix standart, 20 ve 10 µg/mL mix standart çözeltileri ile hazırlanır.

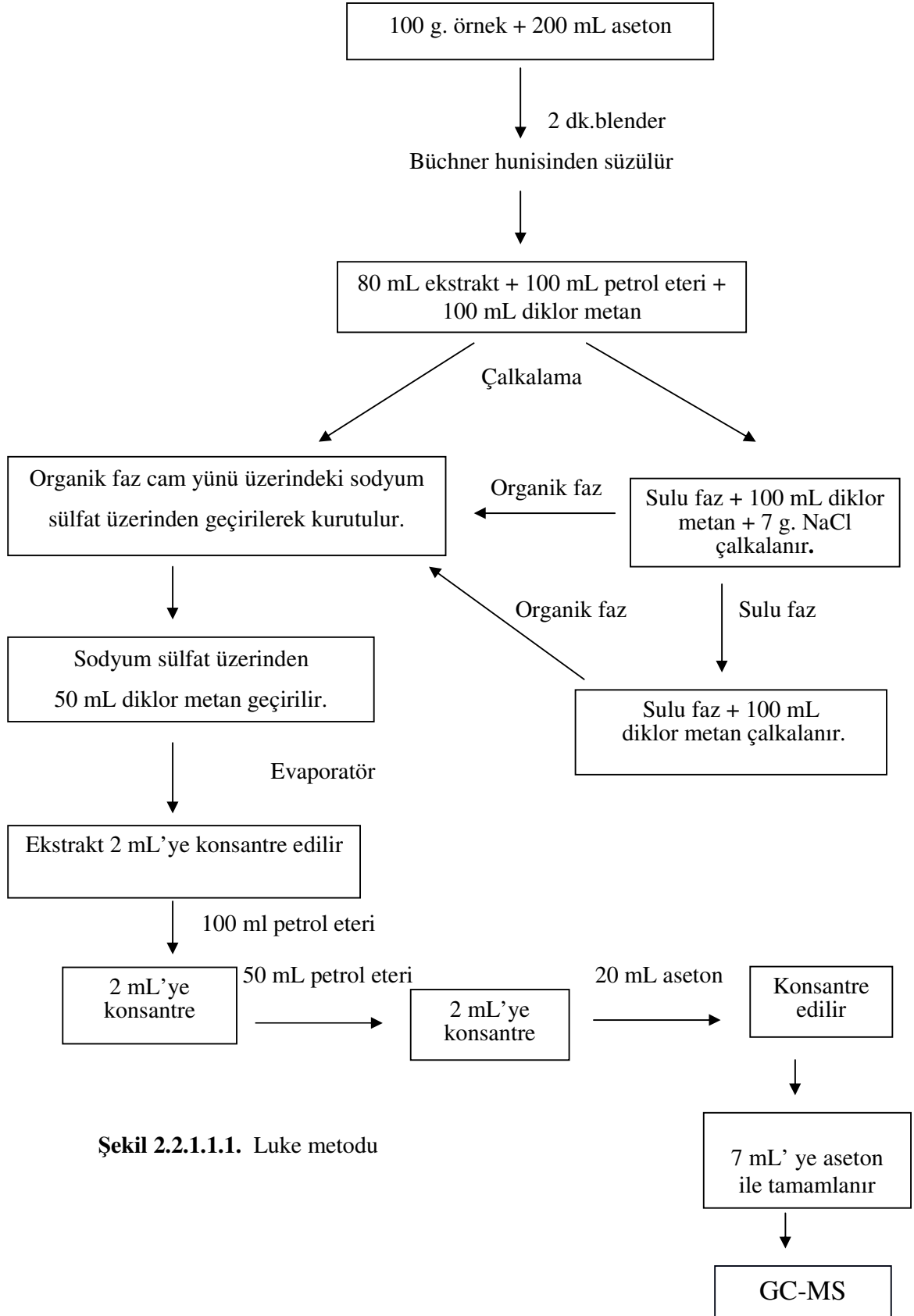
2.2. Yöntem

Gıda örneklerinde pestisit kalıntı tayini için kullanılan sıvı-sıvı ekstraksiyon ve katı-faz ekstraksiyon yöntemleri aşağıdaki bölümlerde gösterilmiştir.

2.2.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon

2.2.1.1. Luke metodu

Luke ve ark. (1975, 1981) tarafından geliştirilen ve sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemine dayanan pestisit kalıntı analizi standart örnek hazırlama işlemi Şekil 2.2.1.1.1.'de gösterilmiştir.

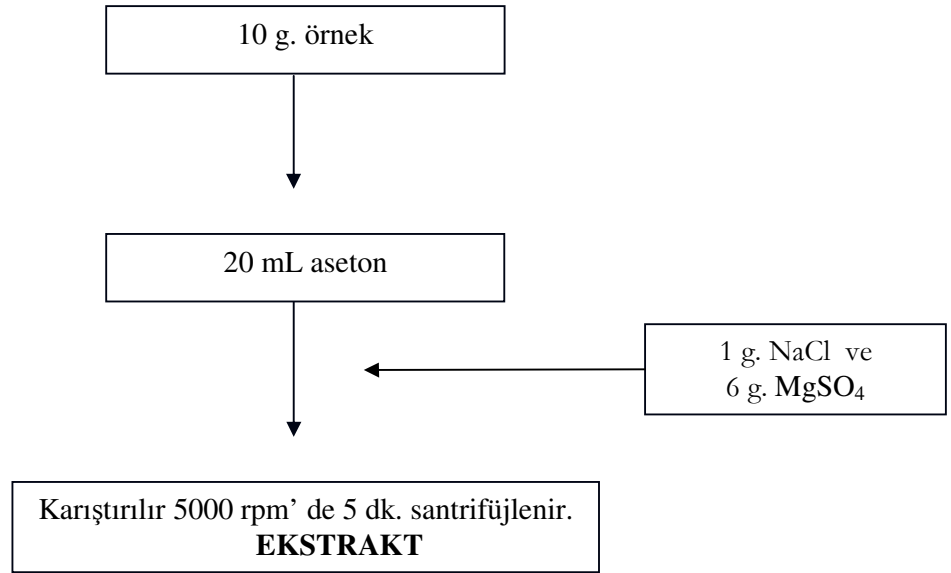


Şekil 2.2.1.1.1. Luke metodu

2.2.2. Katı-faz ekstraksiyon

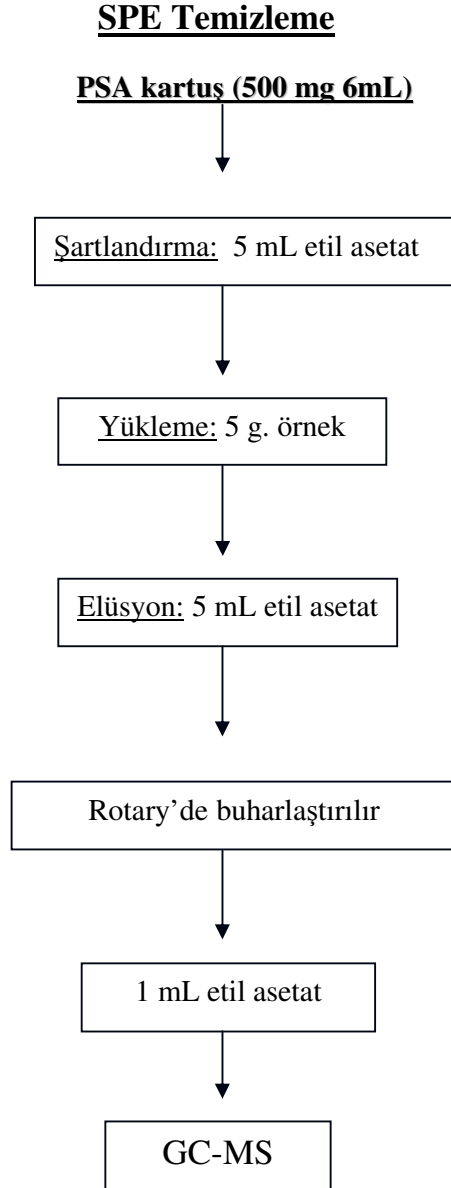
2.2.2.1. Aseton ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon (Aseton SPE-PSA)

Örnek aseton ile ön işleme tabi tutulur. Elde edilen ekstrakt SPE kartuşlarından geçirilerek temizlenir.



Şekil 2.2.2.1.1. Aseton-SPE ön işlemi

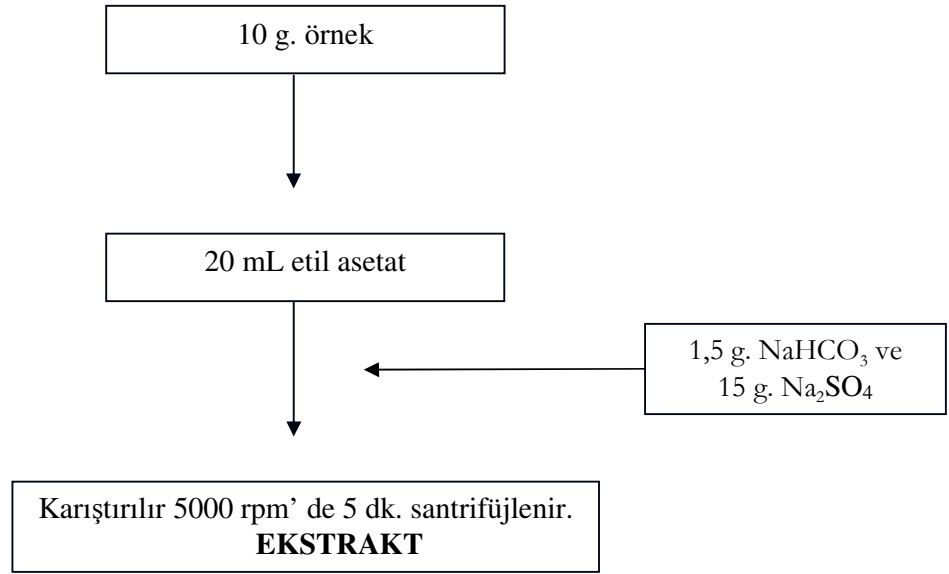
Şekil 2.2.2.1.1.'de elde edilen ekstrakt Şekil 2.2.2.1.2.'de görüldüğü gibi SPE temizleme işleminden geçirilmektedir.



Şekil 2.2.2.1.2. Aseton-SPE PSA temizleme işlemi

2.2.2.2.Etil asetat ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon(Etil asetat SPE-PSA)

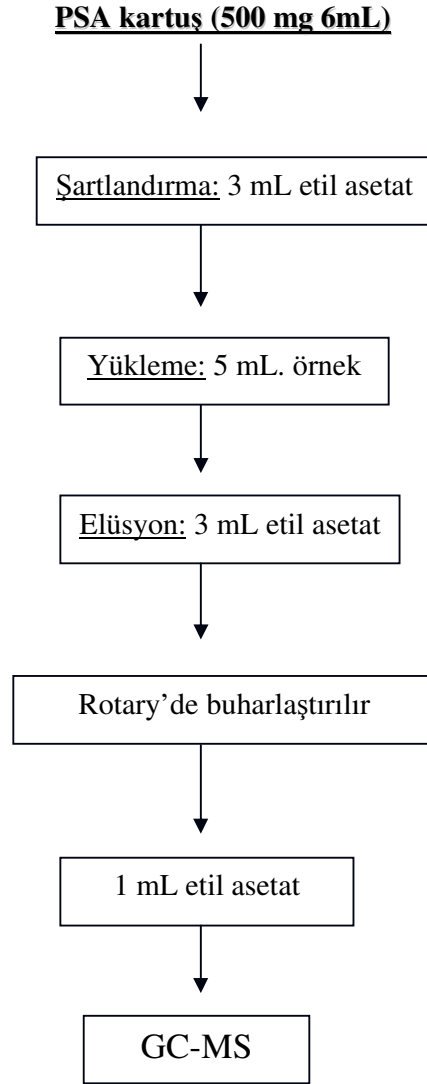
Örnek etil asetat ile ön işleme tabi tutulur. Elde edilen ekstrakt SPE kartuşlarından geçirilerek temizlenir.



Şekil 2.2.2.2.1. Etil asetat-SPE ön işlemi

Şekil 2.2.2.2.1.' de elde edilen ekstrakt Şekil 2.2.2.2.2.' de görüldüğü gibi SPE temizleme işleminden geçirilmektedir.

SPE Temizleme

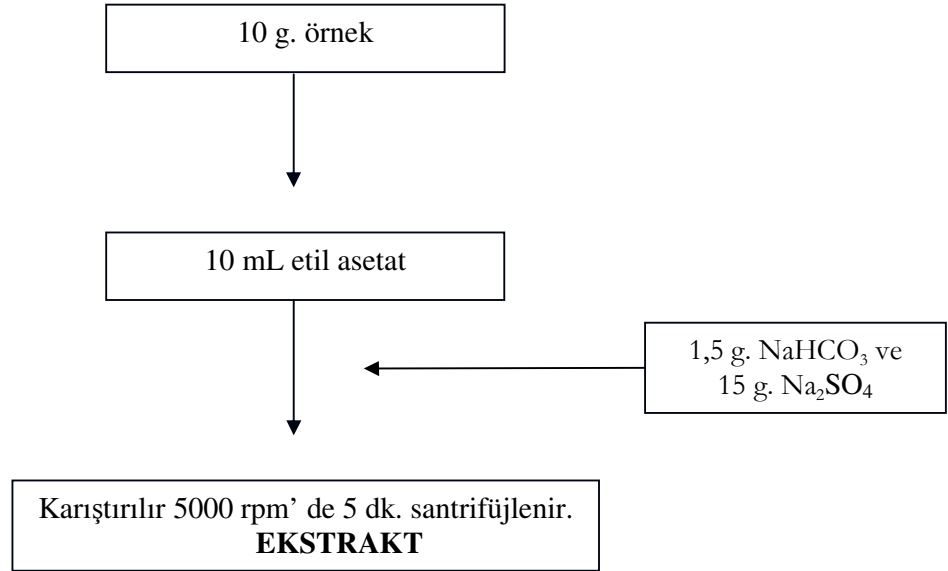


Şekil 2.2.2.2.2. Etil asetat-SPE PSA temizleme işlemi

2.2.3. Otomatik katı-faz ekstraksiyon – Gilson ASPEC XL

2.2.3.1. C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme

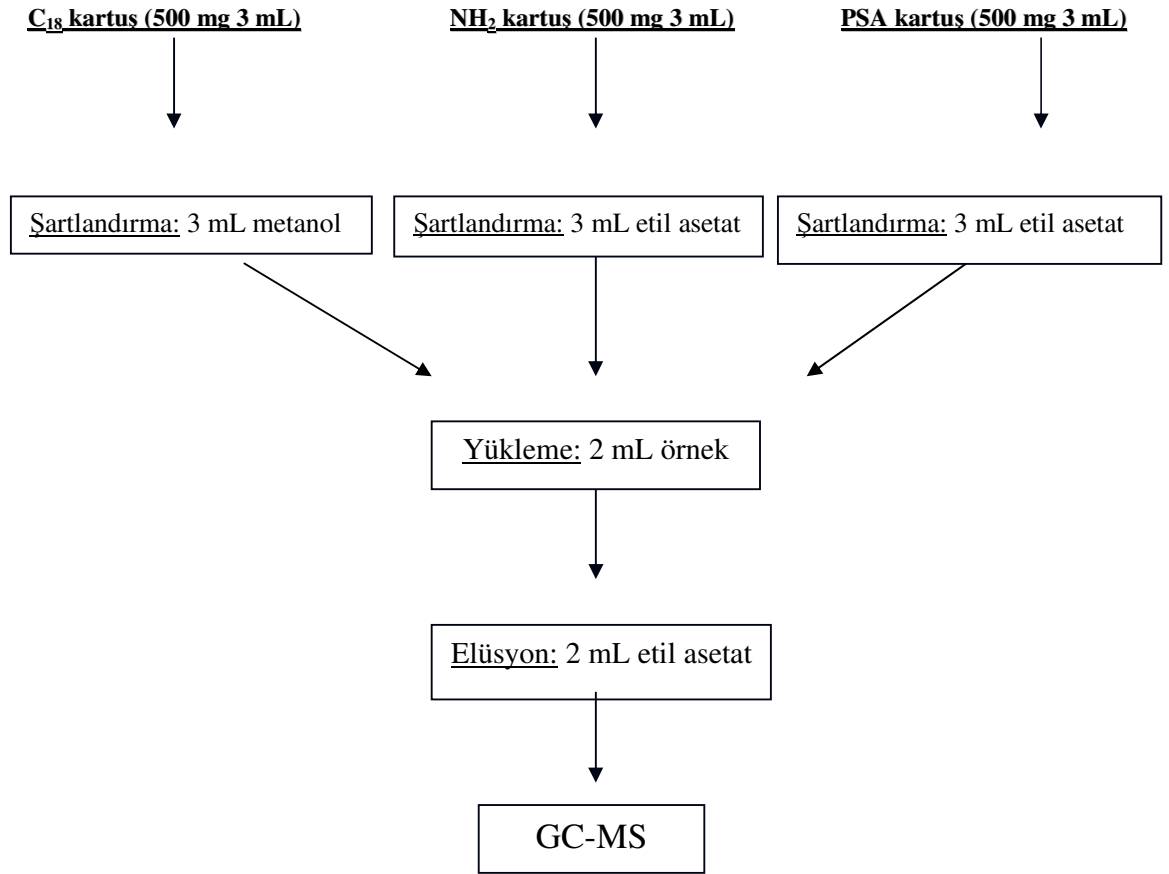
Örnek etil asetat ile ön işleme tabii tutulur. Elde edilen ekstrakt Gilson-ASPEC XL SPE kartuşlarından geçirilerek temizlenir.



Şekil 2.2.3.1.1. Etil asetat otomatik SPE-ön işlemleri

Şekil 2.2.3.1.1.' de elde edilen ekstrakt Şekil 2.2.3.1.2.' de görüldüğü gibi Gilson ASPEC XL otomatik SPE temizleme işleminden geçirilmektedir. Kullanılan kartuşun çeşidine göre SPE temizleme işleminde değişiklik olmaktadır.

SPE Temizleme



Şekil 2.2.3.1.2. Etil asetat otomatik SPE-C₁₈, NH₂, PSA temizleme işlemi

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Sıvı-sıvı ve katı-faz ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edilen örneklerin kantitatif tayinleri GC-FPD ve GC-NPD kullanılarak, kalitatif tayinleri ise GC-MSD ile gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.1.'de pestisitlerin GC-NPD, GC-FPD ve GC-MS çalışmalarındaki alıkonma zamanları verilmiştir.

Çizelge 3.1. Pestisitlerin GC-FPD, GC-NPD ve GC-MS alıkonma zamanları

Pestisit	Alıkonma zamanı (dk)		
	GC-FPD	GC-NPD	GC-MS
Diazinon	17,10	17,20	12.96
Chlorpyrifos-methyl	21,60	22,60	15.50
Parathion-methyl	22,65	24,00	15.77
Chlorpyrifos-ethyl	23,62	25,70	18.71

3.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Analizleri

Katı-faz ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılmasında referans olarak kullanılacak olan sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi olan Luke metodu ile GC-NPD kullanılarak pestisitlerin doğrusal çalışma aralıkları ve belirleme sınırı (LOD)-kantitatif tayin sınırı (LOQ) düzeyleri tespit edilmiş, geri kazanım aralıkları belirlenmiş, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri hesaplanmıştır. GC-MSD ile kalitatif tayin (pestisitlerin doğrulaması) yapılmıştır.

3.1.1. Luke metodu sonuçları

3.1.1.1. Doğrusallık çalışmaları

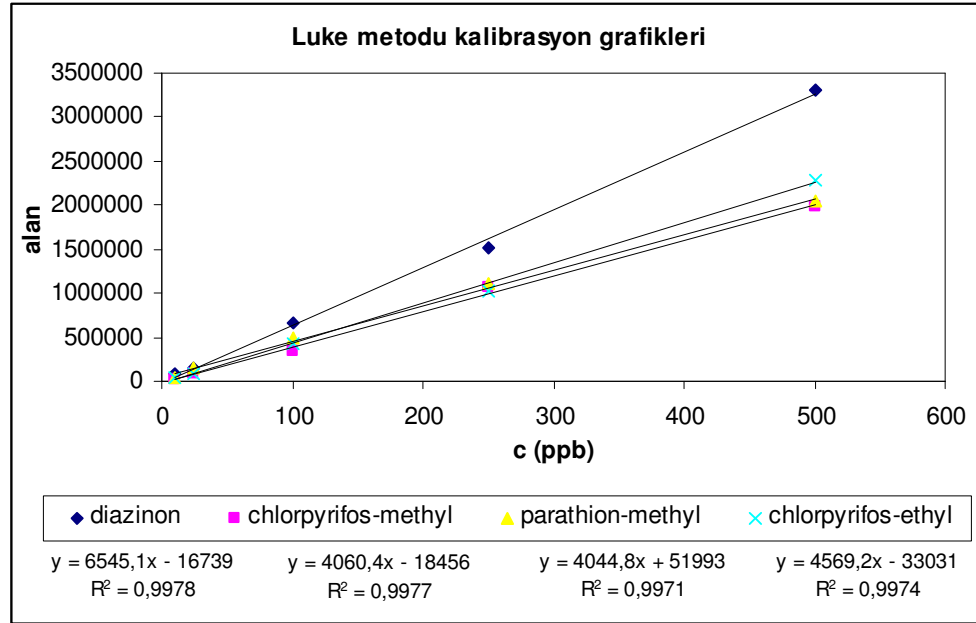
Doğrusallık çalışması için bölüm 2.1.4.2.' de belirtildiği gibi, 0.5 mL kiraz blank örneğine 0.05, 0.1, 0.25, 1.0, 2.5 ve 5.0 ppm ($\mu\text{g/mL}$) mix çalışma standartlarından 50'şer μL eklenerek 5, 10, 25, 100, 250, 500 ppb ($\text{pg}/\mu\text{L}$) matrix-matched kalibrasyon standartları hazırlanmıştır. 4 farklı günde konsantrasyonları 5-500 ppb arasında hazırlanan matrix-matched standartlardan GC-NPD'e 2'şer enjeksiyon yapılarak, konsantrasyona karşılık pestisitlerin alanları arasında kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve doğrusallık test edilmiştir. 5 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standardı ile GC-MS'de doğrulama yapılamadığından dolayı kalibrasyon grafikleri 10-500 ppb konsantrasyon aralığında çizilmiş ve LOD çalışmaları 10 ppb matrix-matched standart ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1.1.1.1.'de diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'e ait Luke metodu kalibrasyon çalışmalarında kullanılan standartların ortalama alan değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.1.1.1.1. Luke metodu kalibrasyon grafiği verileri

Konsantrasyon C (ppb)	Ortalama alan değerleri			
	Diazinon	Chlorpyrifos- methyl	Parathion- methyl	Chlorpyrifos- ethyl
10	82023	29174	45087	39256
25	157964	75095	140580	90696
100	651356	348131	496397	431529
250	1511474	1061128	1115922	1026866
500	3305913	1987657	2041589	2290226

Şekil 3.1.1.1.1.'de diazinon, chlorpyrifos- methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'e ait Luke metodu doğrusallık grafikleri bir arada verilmiştir.



Şekil 3.1.1.1.1. Luke metodu diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri

3.1.1.2. Belirleme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) sonuçları

4 farklı günde ve 3 paralel kiraz blank örneğine 10 ppb olacak şekilde mix standart eklenerek 2'şer kere GC-NPD'e enjeksiyon yapılmış ve bulunan değerlerin genel standart sapması hesaplanmıştır. Belirleme sınırı (LOD) standart sapmanın 3 katı ve tayin sınırı (LOQ) standart sapmanın 10 katı alınarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.1.1.2.1.'de Luke metodu ile yapılan LOD-LOQ çalışmalarının ortalama sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.1.1.2.1. Luke metodu LOD-LOQ değerleri

Pestisit	Ortalama değerler ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	LOD	LOQ
Diazinon	2,0	6,8
Chlorpyrifos-methyl	2,1	7,0
Parathion-methyl	2,1	7,1
Chlorpyrifos-ethyl	2,1	6,8

3.1.1.3. Geri kazanım sonuçları

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnekler ile 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılmış, ortalamalarından % geri kazanım hesaplanmıştır.

Çizelge 3.1.1.3.1.'de kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama % geri kazanım değerleri (% R) ve % bağıl standart sapmaları (% RSD) verilmiştir.

Çizelge 3.1.1.3.1. Luke metodu ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	73,6	9,7	74,2	9,2	84,7	10,3	83,6	9,1
Chlorpyrifos-methyl	72,7	9,5	74,1	9,2	83,7	8,7	83,8	7,5
Parathion-methyl	70,0	10,1	73,0	9,8	84,6	9,0	83,9	7,8
Chlorpyrifos-ethyl	73,4	10,1	72,4	9,4	80,5	8,5	80,8	8,8

3.1.1.4. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnek ile metodun aynı gün ve farklı gün tekrarlanabilirliği belirlenmiştir. Aynı gün içinde 3'er paralel 2'şer kere enjekte edilerek aynı gün tekrarlanabilirlik, 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılarak farklı gün tekrarlanabilirlik yani tekrar üretilebilirlik hesaplanmıştır.

Çizelge 3.1.1.4.1.'de Luke metodu ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD'deki ortalama tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.1.1.4.1. Luke metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	6,9	8,9	8,1	9,4	7,4	10,1	7,2	8,8
Chlorpyrifos-methyl	8,1	9,0	6,1	9,6	6,2	9,0	4,0	7,9
Parathion-methyl	9,6	10,6	6,9	9,2	7,3	8,2	3,8	8,3
Chlorpyrifos-ethyl	8,4	10,1	7,0	9,8	7,4	9,0	7,4	9,0

3.1.1.5. Luke metodu validasyon raporları

Luke metodu ile yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar validasyon raporlarında toplu olarak gösterilmiştir. Çizelge 3.1.1.5.1.'de diazinon validasyon raporu, Çizelge 3.1.1.5.2.'de chlorpyrifos-methyl validasyon raporu, Çizelge 3.1.1.5.3.'de parathion-methyl validasyon raporu ve Çizelge 3.1.1.5.4'de chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu verilmiştir.

Çizelge 3.1.1.5.1. Luke metodu diazinon validasyon raporu

Diazinon Validasyon Sonuçları					
Analitik Parametreler		Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık		10-500 µg/kg			
r^2		0,9978			
Belirleme Sınırı (LOD)		2,0 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)		6,8 µg/kg			
		10 µg/kg		250 µg/kg	
		Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
% Geri Kazanım		73,6	74,2	84,7	83,6
Tekrarlanabilirlik, % RSD		6,9	8,1	7,4	7,2
Tekrar üretilebilirlik, % RSD		8,9	9,4	10,1	8,8

Çizelge 3.1.1.5.2. Luke metodu chlorpyrifos-methyl validasyon raporu

Chlorpyrifos-methyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	10-500 µg/kg 0,9977			
Belirleme Sınırı (LOD)	2,1 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	7,0 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
% Geri Kazanım	72,7	74,1	83,7	83,8
Tekrarlanabilirlik, % RSD	8,1	6,1	6,2	4,0
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	9,0	9,6	9,0	7,9

Çizelge 3.1.1.5.3. Luke metodu parathion-methyl validasyon raporu

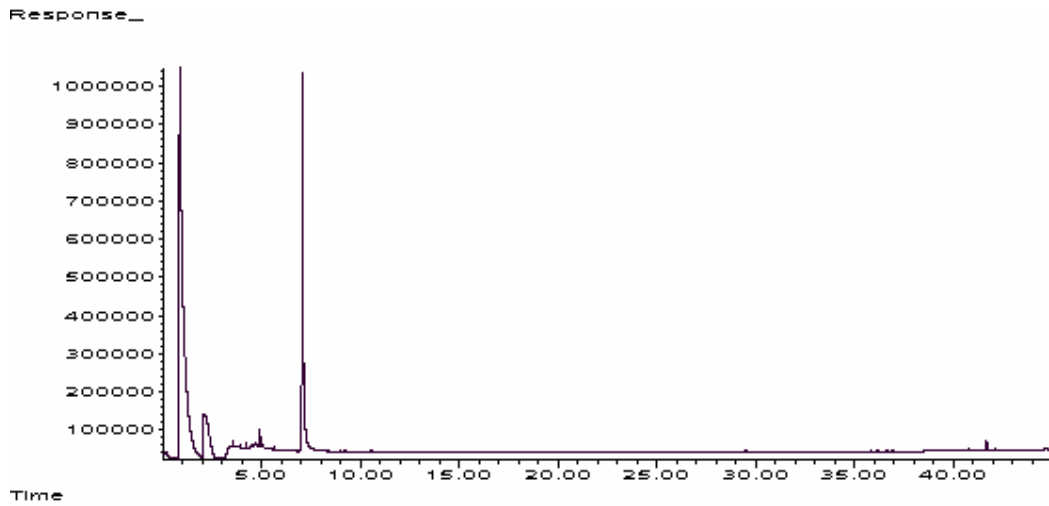
Parathion-methyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	10-500 µg/kg 0,9971			
Belirleme Sınırı (LOD)	2,1 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	7,1 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	70,0	73,0	84,6	83,9
Tekrarlanabilirlik, % RSD	9,6	6,9	7,3	3,8
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	10,6	9,2	8,2	8,3

Çizelge 3.1.1.5.4. Luke metodu chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu

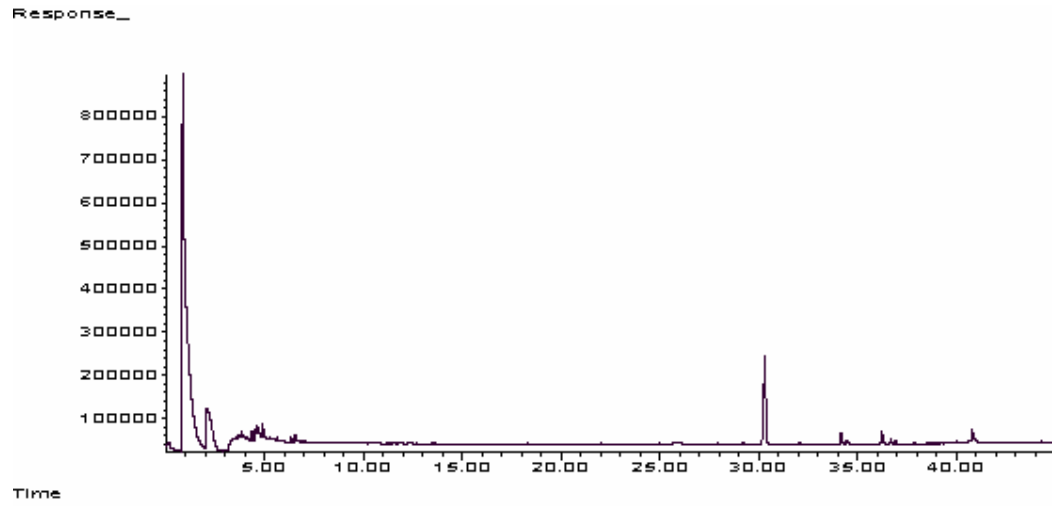
Chlorpyrifos-ethyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık	10-500 µg/kg			
r^2	0,9974			
Belirleme Sınırı (LOD)	2,1 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	6,8 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	73,4	72,4	80,5	80,8
Tekrarlanabilirlik, % RSD	8,4	7,0	7,4	7,4
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	10,1	9,8	9,0	9,0

3.1.1.6. Luke metodu GC-NPD ve GC-MS kromatogramları

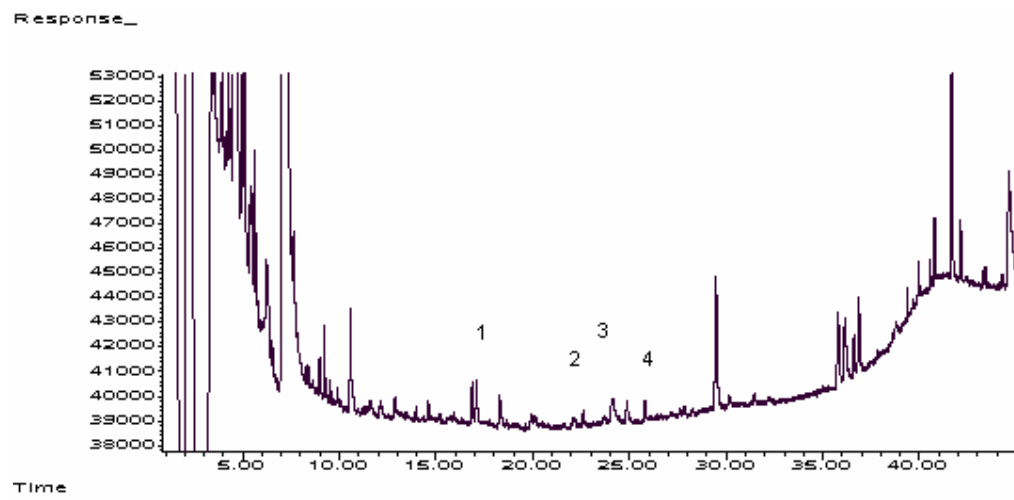
Blank kiraz, blank biber ve 10-500 ppb konsantrasyondaki blank kiraz ile hazırlanan matrix-matched standartların GC-NPD kromtogramları Şekil. 3.1.1.6.1.'de, GC-MS kromatogramları Şekil. 3.1.1.6.2.'de verilmiştir.



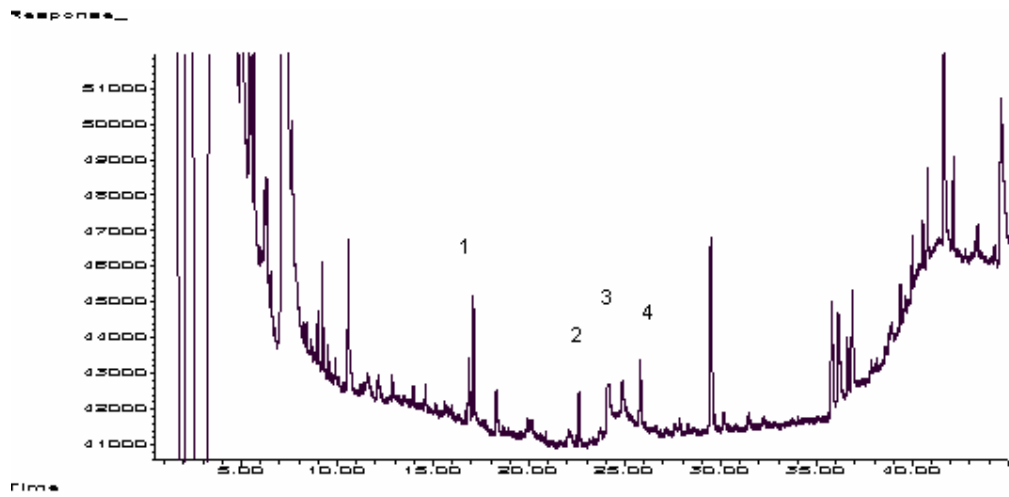
Blank kiraz



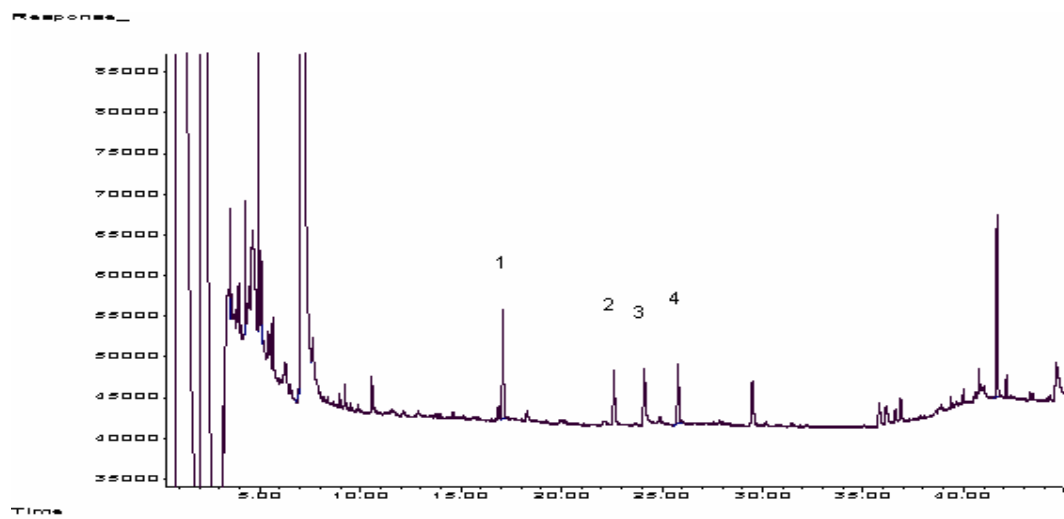
Blank biber



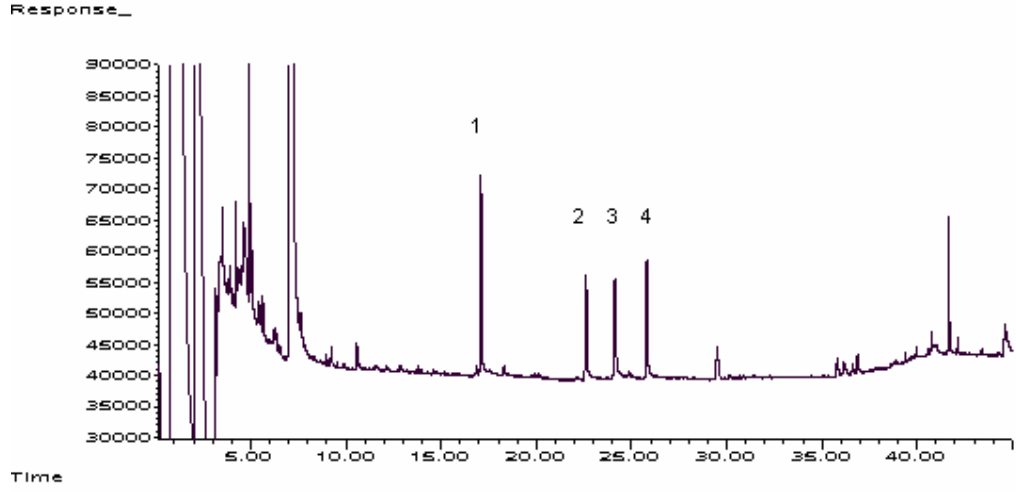
10 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



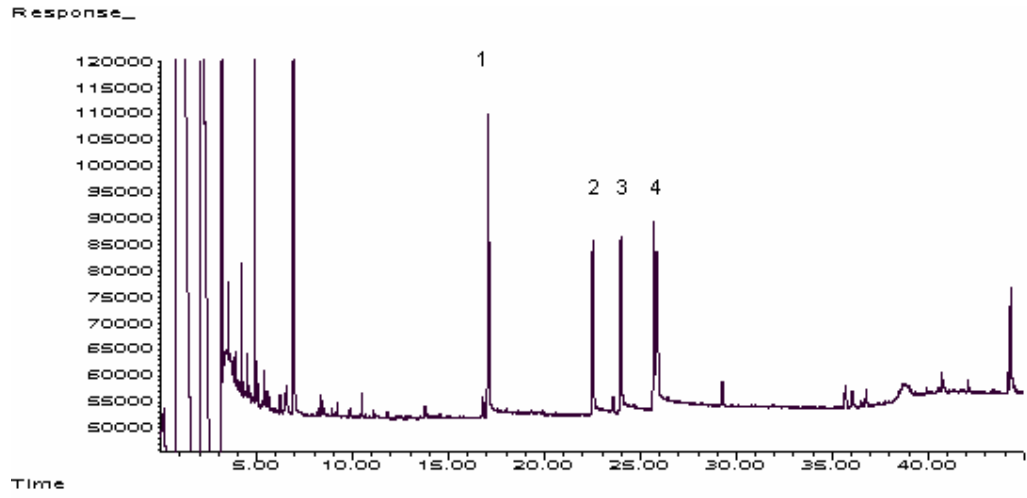
25 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



100 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

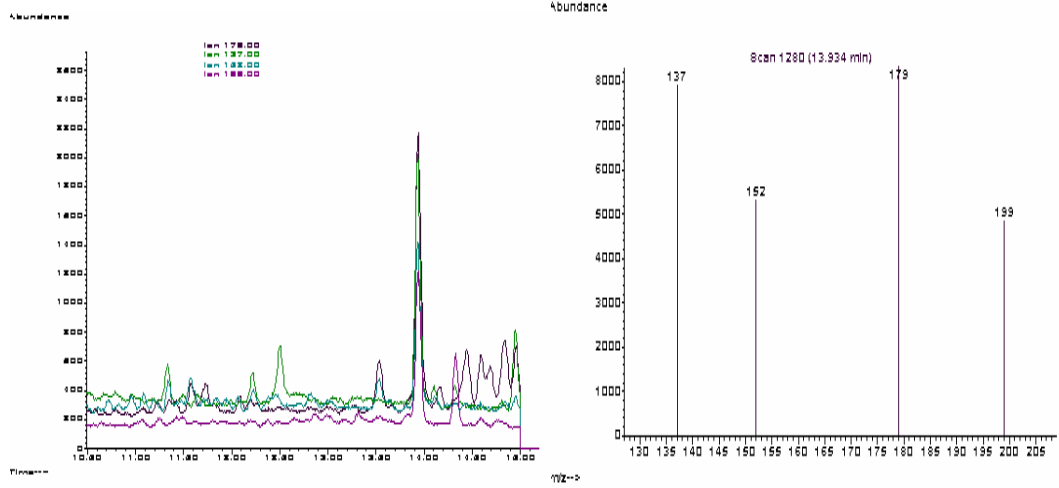


250 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

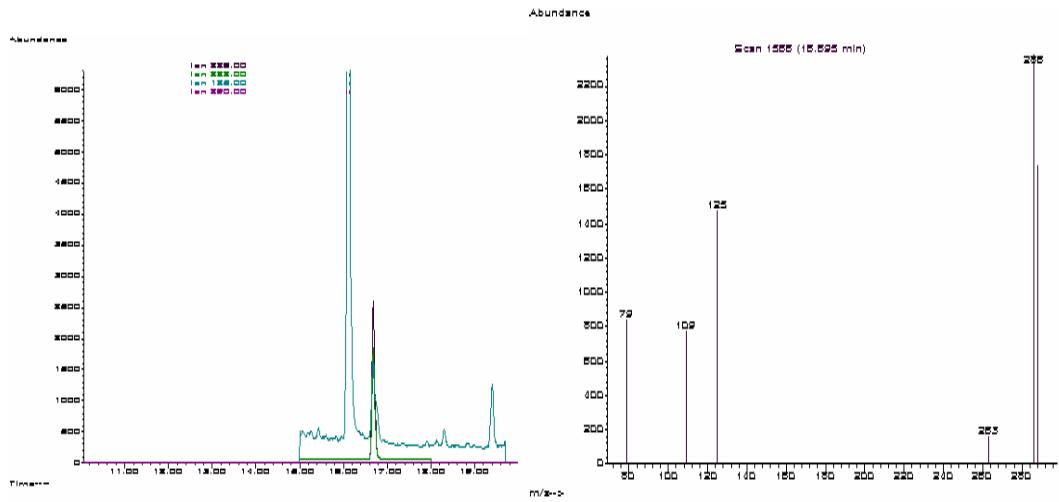


500 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

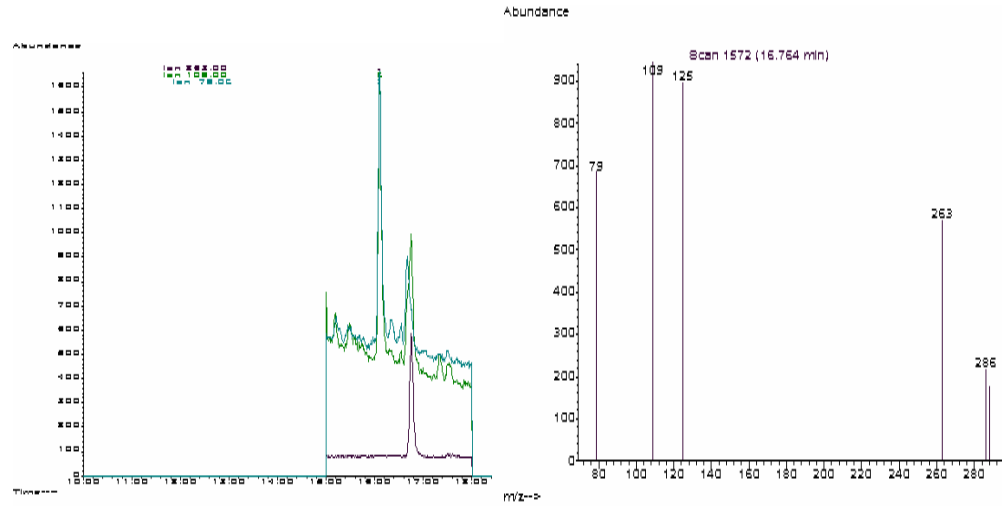
Şekil 3.1.1.6.1. Luke metodu GC- NPD kromatogramları



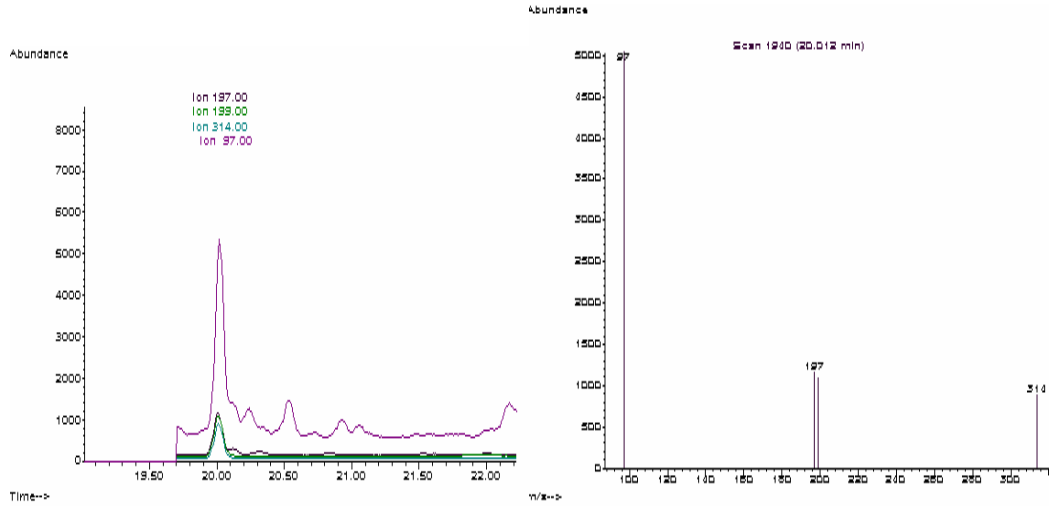
100 ppb Diazinon MS kromatogramı ve spektrumu



100 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



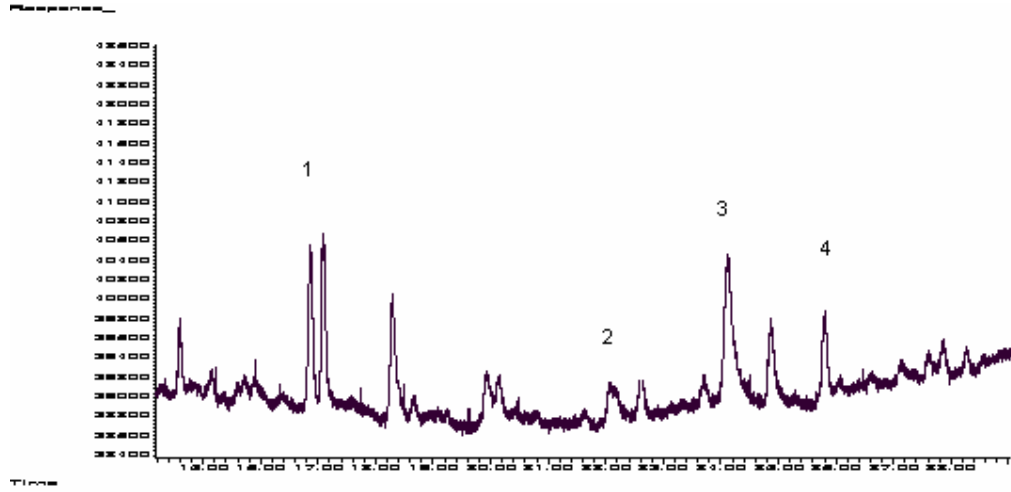
100 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



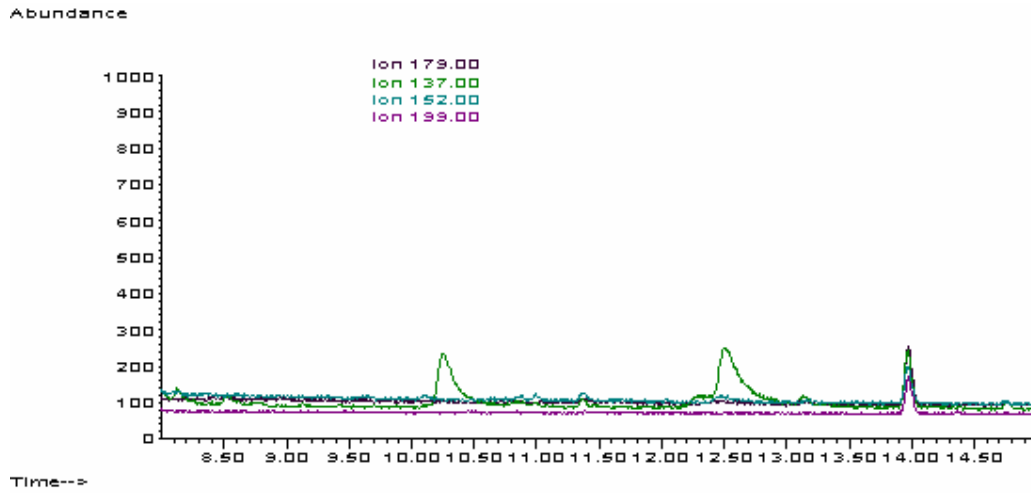
100 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı ve spektrumu

Şekil 3.1.1.6.2. Luke metodu GC- MS kromatogram ve spektrumları

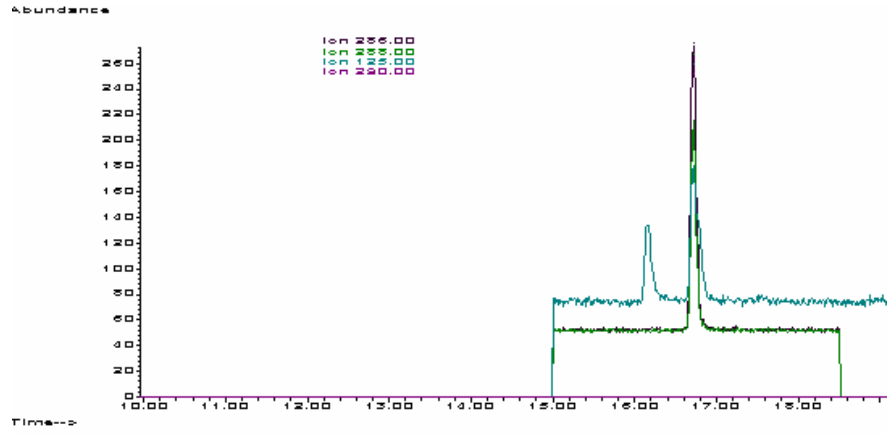
LOD ve LOQ düzeyinde GC-NPD kromatogramı Şekil 3.1.1.6.3.'de, kalitatif olarak tayin edilebilen en küçük konsantrasyondaki GC-MS kromatogramları Şekil 3.1.1.6.4.'de verilmiştir.



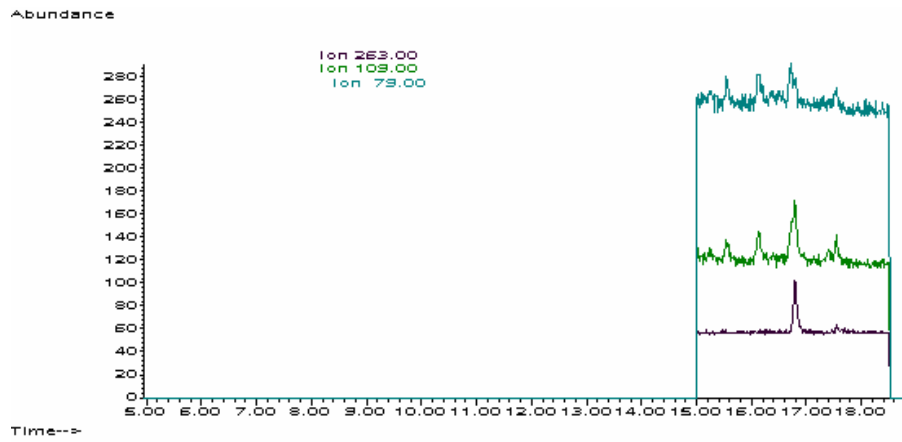
Şekil 3.1.1.6.3. Luke metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı
(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



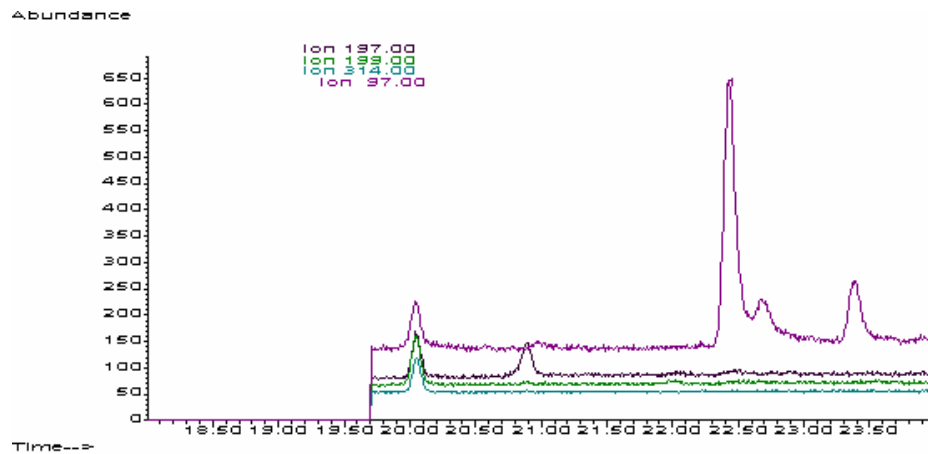
10 ppb Diazinon MS kromatogramı



10 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı



10 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı



10 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı

Şekil 3.1.1.6.4. Luke metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları

3.2. Katı-Faz Ekstraksiyon Analizleri

Literatür çalışmalarına ve standart metotlara bakıldığında, yaş sebze ve meyve örneklerinde gaz kromatografi yöntemi ile pestisit kalıntı analizlerinde en çok aseton ve etil asetat çözücülerinin kullanıldığı görülmektedir.

Çalışmada katı-faz ekstraksiyon analizleri, GC metotlarına uygunluğu nedeniyle aseton ve etil asetat çözücülerini ile gerçekleştirilmiştir. Asetonitril ise sıvı-kromatografik metotlarda tercih edilen bir çözücü olması nedeniyle çalışmada kullanılmamıştır.

3.2.1. Aseton ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon (Aseton SPE-PSA) metodu sonuçları

Literatürdeki aseton ile yapılan çalışmalardan (Stajnbaher ve Kralj 2003) yararlanılarak aseton SPE metodu bazı değişikliklerle çalışılmıştır. Aseton ile katı-faz ekstraksiyon metodu, PSA temizleme kartuşları kullanılarak GC-NPD ile gerçekleştirilmiştir. Pestisitlerin doğrusal çalışma aralıkları ve belirleme sınırı (LOD)-kantitatif tayin sınırı (LOQ) düzeyleri tespit edilmiş, geri kazanım aralıkları belirlenmiş, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri hesaplanmıştır. GC-MS ile kalitatif tayin (pestisitlerin doğrulaması) yapılmıştır.

3.2.1.1. Doğrusallık çalışmaları

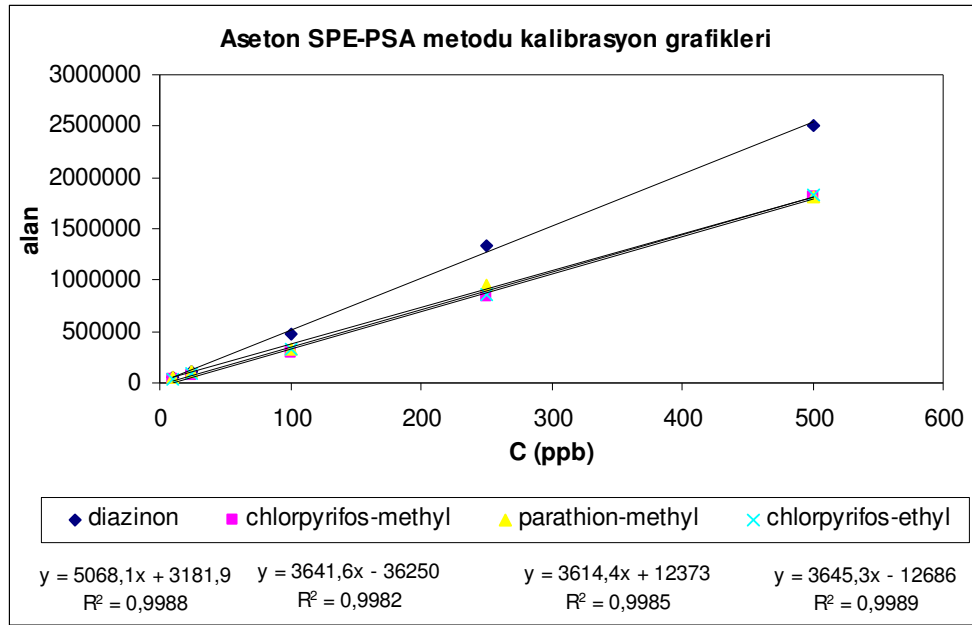
Doğrusallık çalışması için bölüm 2.1.4.2.' de belirtildiği gibi, SPE PSA temizleme işleminden geçirilmiş 0.5 mL kiraz blank örneğine 0.05, 0.1, 0.25, 1.0, 2.5 ve 5.0 ppm ($\mu\text{g}/\text{mL}$) mix çalışma standartlarından 50'şer μL eklenerek 5, 10, 25, 100, 250, 500 ppb ($\text{pg}/\mu\text{L}$) matrix-matched kalibrasyon standartları hazırlanmıştır. 4 farklı günde konsantrasyonları 5-500 ppb arasında hazırlanan matrix-matched standartlardan GC-NPD'e 2'şer enjeksiyon yapılarak, konsantrasyona karşılık pestisitlerin alanları arasında kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve doğrusallık test edilmiştir. 5 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standardı ile GC-MS'de doğrulama yapılamadığından dolayı kalibrasyon grafikleri 10-500 ppb konsantrasyon aralığında çizilmiş ve LOD çalışmaları 10 ppb matrix-matched standart ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2.1.1.1.'de diazinon, chlorpyrifos-methyl, paratihon-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'e ait aseton ile temizleme amaçlı SPE-PSA metodu kalibrasyon çalışmalarında kullanılan standartların ortalama alan değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.2.1.1.1. Aseton SPE-PSA metodu kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri			
	Diazinon	Chlorpyrifos-methyl	Parathion-methyl	Chlorpyrifos-ethyl
10	61008	28827	51458	40634
25	114543	69937	111995	95303
100	481720	299715	335205	331065
250	1330584	834312	954400	866800
500	2513317	1808779	1807583	1828864

Şekil 3.2.1.1.1.'de diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'e ait aseton SPE-PSA metodu doğrusallık grafikleri bir arada verilmiştir.



Şekil 3.2.1.1.1. Aseton SPE-PSA metodu diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri

3.2.1.2. LOD ve LOQ sonuçları

4 farklı günde ve 3 paralel kiraz blank örneğine (katı-faz ekstraksiyon PSA temizleme işleminden geçirilmiş) 10 ppb olacak şekilde mix standart eklenerek 2'şer kere GC-NPD'e enjeksiyon yapılmış ve bulunan değerlerin genel standart sapması hesaplanmıştır. Belirleme sınırı (LOD) standart sapmanın 3 katı ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) standart sapmanın 10 katı alınarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.2.1.2.1.'de PSA temizleme kartuşu ile yapılan LOD-LOQ çalışmalarının ortalama sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.2.1.2.1. Aseton SPE-PSA metodu LOD-LOQ değerleri

Pestisit	Ortalama değerler (µg/kg)	
	LOD	LOQ
Diazinon	1,8	5,9
Chlorpyrifos-methyl	1,9	6,2
Parathion-methyl	1,9	6,3
Chlorpyrifos-ethyl	1,8	6,0

3.2.1.3. Geri kazanım sonuçları

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnekler ile 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılmış, ortalamalarından % geri kazanım hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2.1.3.1.'de PSA kartuşları ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama % geri kazanım değerleri (% R) ve % bağlı standart sapmaları (% RSD) verilmiştir.

Çizelge 3.2.1.3.1. Aseton SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	77,7	7,2	78,8	9,9	88,1	7,9	88,0	8,8
Chlorpyrifos-methyl	76,8	8,9	76,1	9,3	86,1	7,6	84,2	7,8
Parathion-methyl	79,7	10,5	77,7	8,7	87,7	6,6	88,3	7,9
Chlorpyrifos-ethyl	78,1	9,0	78,1	10,1	85,1	7,6	85,0	7,9

3.2.1.4. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnek ile metodun aynı gün ve farklı gün tekrarlanabilirliği belirlenmiştir. Aynı gün içinde 3'er paralel 2'şer kere enjekte edilerek aynı gün tekrarlanabilirlik, 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılarak farklı gün tekrarlanabilirlik yani tekrar üretilebilirlik hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2.1.4.1.'de PSA kartuş ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD'deki ortalama tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.2.1.4.1. Aseton SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	6,1	7,3	7,9	8,5	7,0	8,0	7,8	8,2
Chlorpyrifos-methyl	7,9	8,8	7,7	9,4	5,6	7,4	5,5	8,1
Parathion-methyl	6,9	10,4	2,4	9,4	5,9	6,9	6,5	8,3
Chlorpyrifos-ethyl	5,0	9,9	5,3	10,5	6,5	6,5	5,4	6,5

3.2.1.5. Aseton ile temizleme amaçlı SPE (Aseton SPE-PSA)metodu validasyon raporları

Aseton ile temizleme amaçlı SPE-PSA metodu ile yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar validasyon raporlarında toplu olarak gösterilmiştir. Çizelge 3.2.1.5.1.'de diazinon validasyon raporu, Çizelge 3.2.1.5.2.'de chlorpyrifos-methyl validasyon raporu, Çizelge 3.2.1.5.3.'de parathion-methyl validasyon raporu ve Çizelge 3.2.1.5.4.'de chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu verilmiştir.

Çizelge 3.2.1.5.1. Aseton SPE-PSA metodu diazinon validasyon raporu

Diazinon Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	10-500 µg/kg 0,9988			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,8 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	5,9 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	77,7	78,8	88,1	88,0
Tekrarlanabilirlik, % RSD	6,1	7,9	7,0	7,8
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	7,3	8,5	8,0	8,2

Çizelge 3.2.1.5.2. Aseton SPE-PSA metodu chlorpyrifos-methyl validasyon raporu

Chlorpyrifos-methyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	10-500 µg/kg 0,9982			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,9 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	6,2 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	76,8	76,1	86,1	84,2
Tekrarlanabilirlik, % RSD	7,9	7,7	5,6	5,5
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	8,8	9,4	7,4	8,1

Çizelge 3.2.1.5.3. Aseton SPE-PSA metodu parathion-methyl validasyon raporu

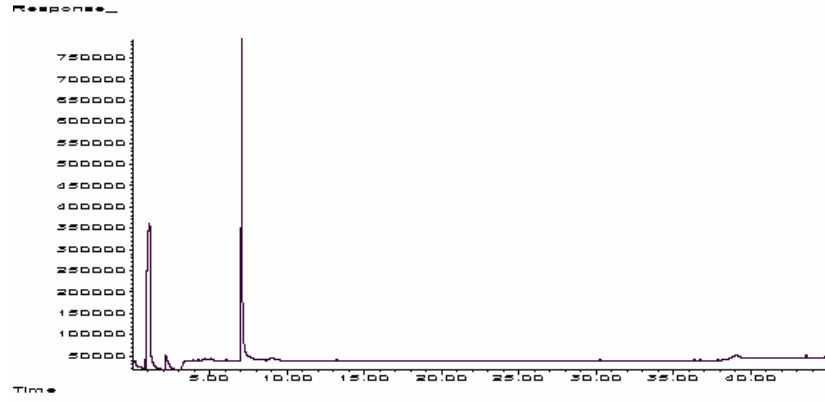
Parathion-methyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	10-500 $\mu\text{g/kg}$ 0,9985			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,9 $\mu\text{g/kg}$			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	6,3 $\mu\text{g/kg}$			
	10 $\mu\text{g/kg}$		250 $\mu\text{g/kg}$	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	79,7	77,7	87,7	88,3
Tekrarlanabilirlik, % RSD	6,9	2,4	5,9	6,5
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	10,4	9,4	6,9	8,3

Çizelge 3.2.1.5.4. Aseton SPE-PSA metodu chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu

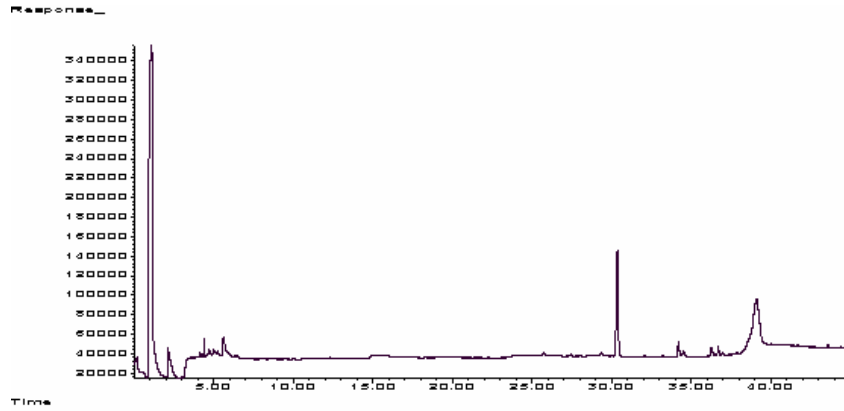
Chlorpyrifos-ethyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	10-500 $\mu\text{g/kg}$ 0,9989			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,8 $\mu\text{g/kg}$			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	6,0 $\mu\text{g/kg}$			
	10 $\mu\text{g/kg}$		250 $\mu\text{g/kg}$	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	78,1	78,1	85,1	85,0
Tekrarlanabilirlik, % RSD	5,0	5,3	6,5	5,4
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	9,9	10,5	6,5	6,5

3.2.1.6. Aseton ile temizleme amaçlı SPE (Aseton SPE-PSA) metodu GC-NPD ve GC-MS kromatogramları

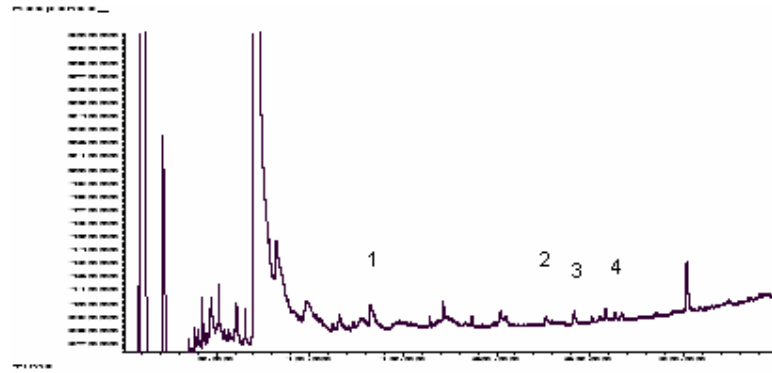
Blank kiraz, blank biber ve blank kiraz ile hazırlanan 10-500 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-NPD kromtogramları Şekil. 3.2.1.6.1.'de, GC-MS kromatogramları Şekil. 3.2.1.6.2.'de verilmiştir.



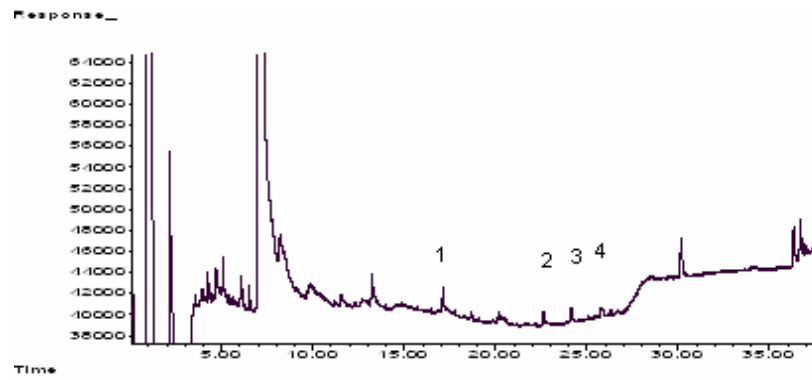
Blank kiraz



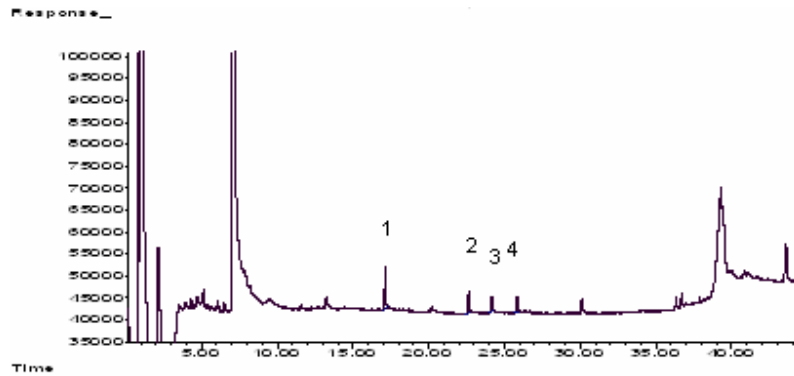
Blank biber



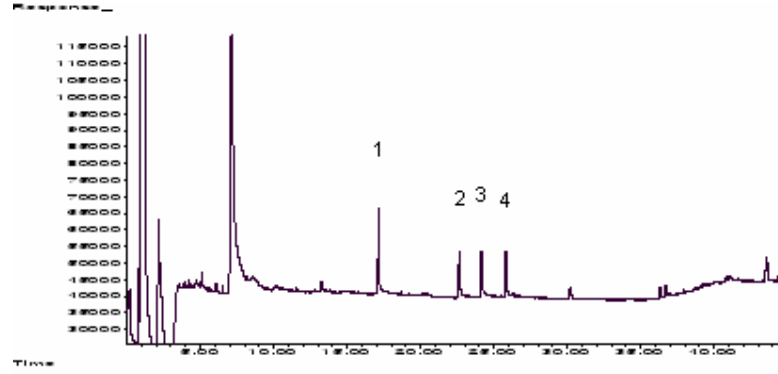
10 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



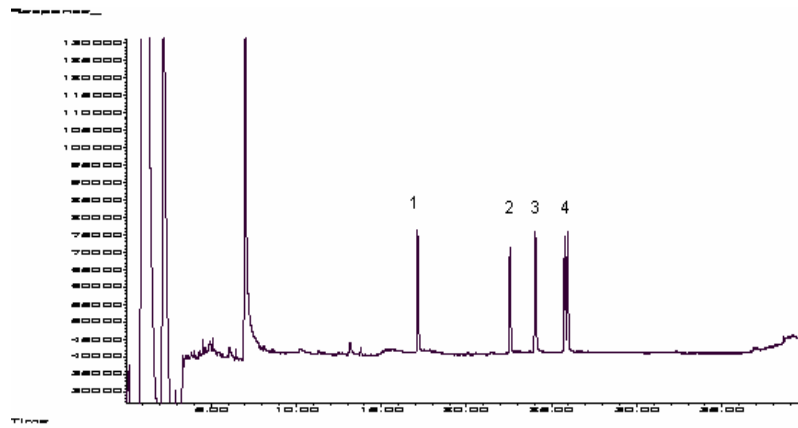
25 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



100 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

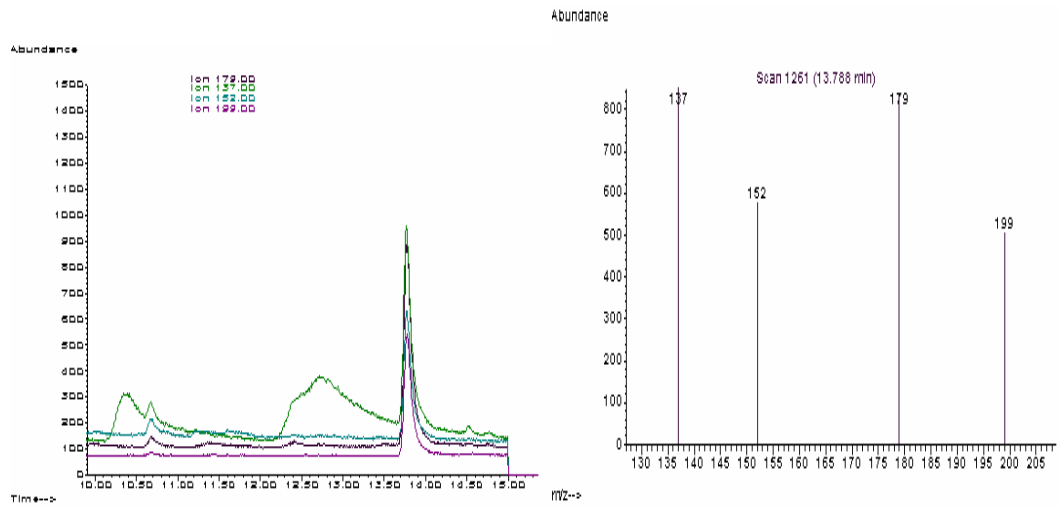


250 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

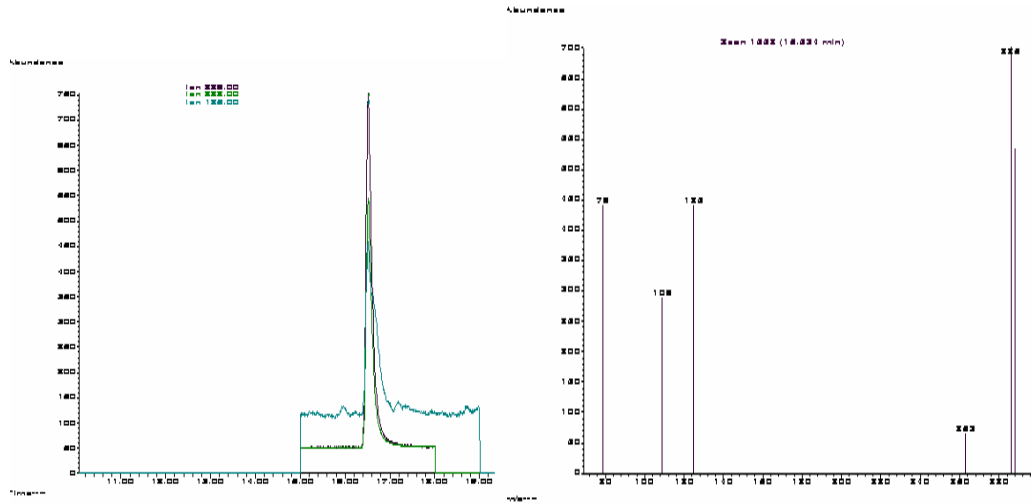


500 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

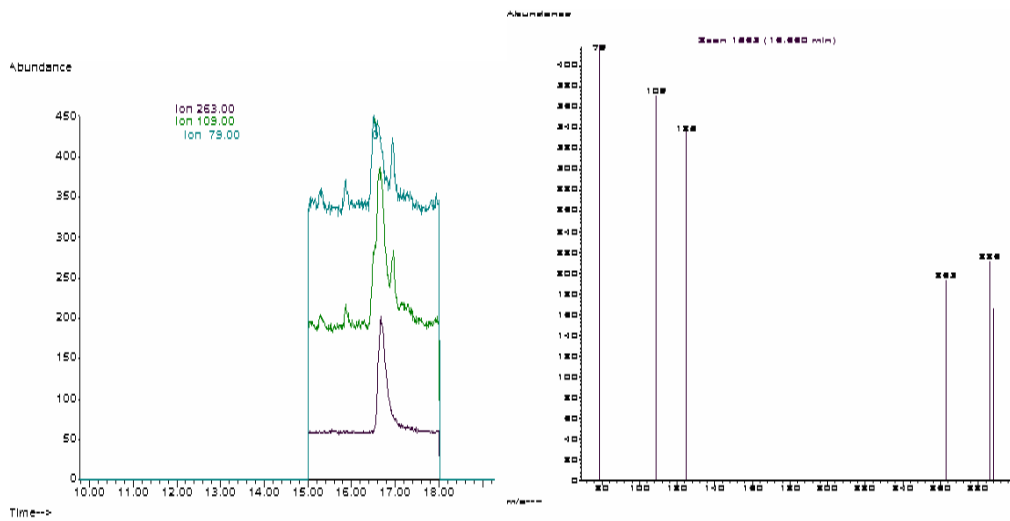
Şekil 3.2.1.6.1. Aseton SPE-PSA metodu GC- NPD kromatogramları



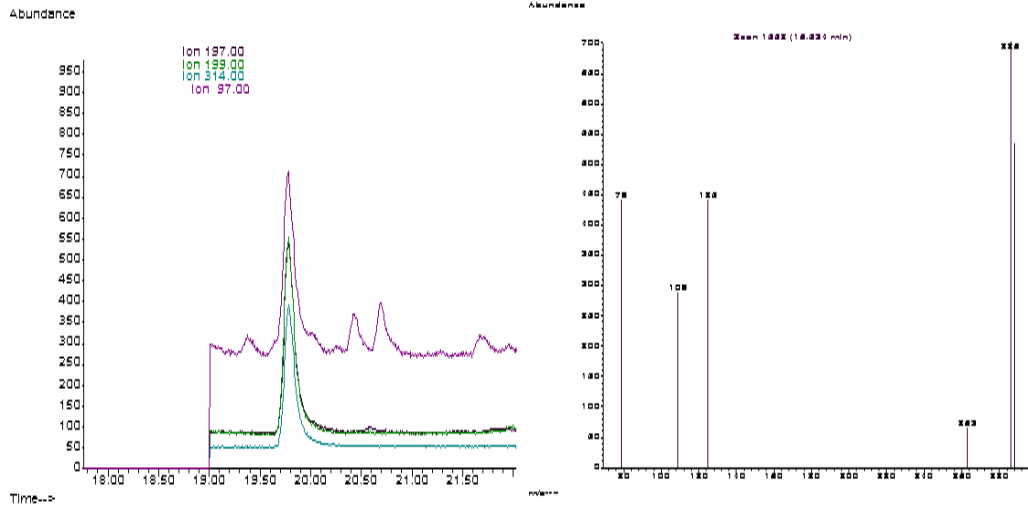
100 ppb Diazinon MS kromatogramı ve spektrumu



100 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



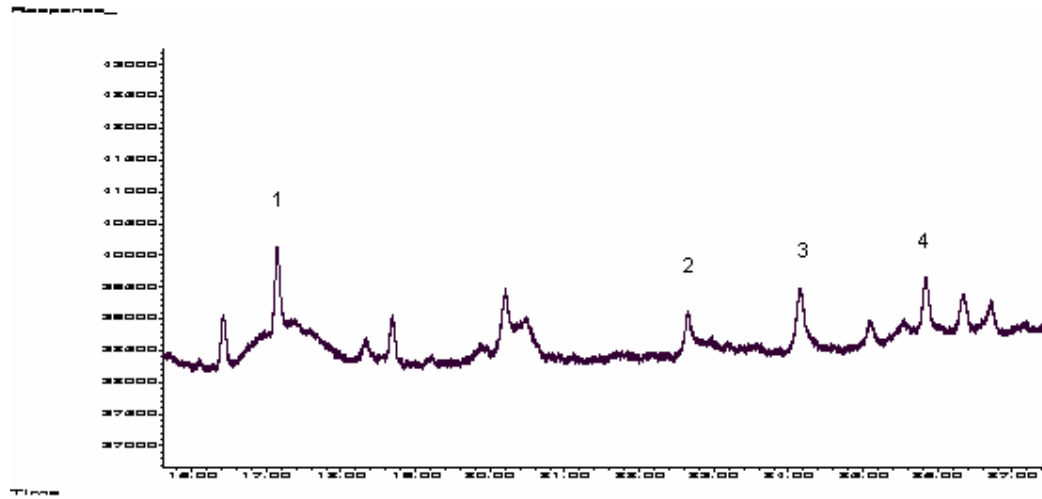
100 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



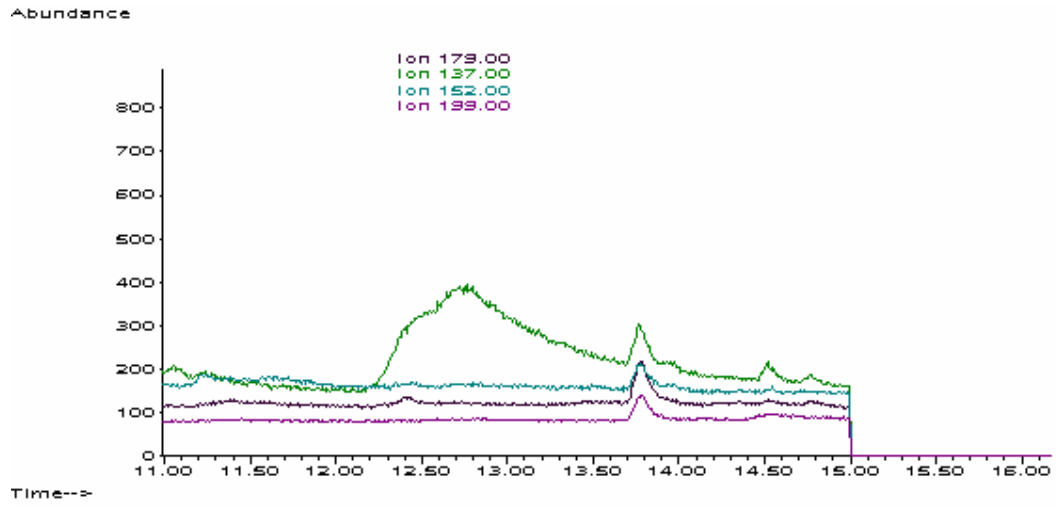
100 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı ve spektrumu

Şekil 3.2.1.6.2. Aseton SPE-PSA metodu GC- MS kromatogram ve spektrumları

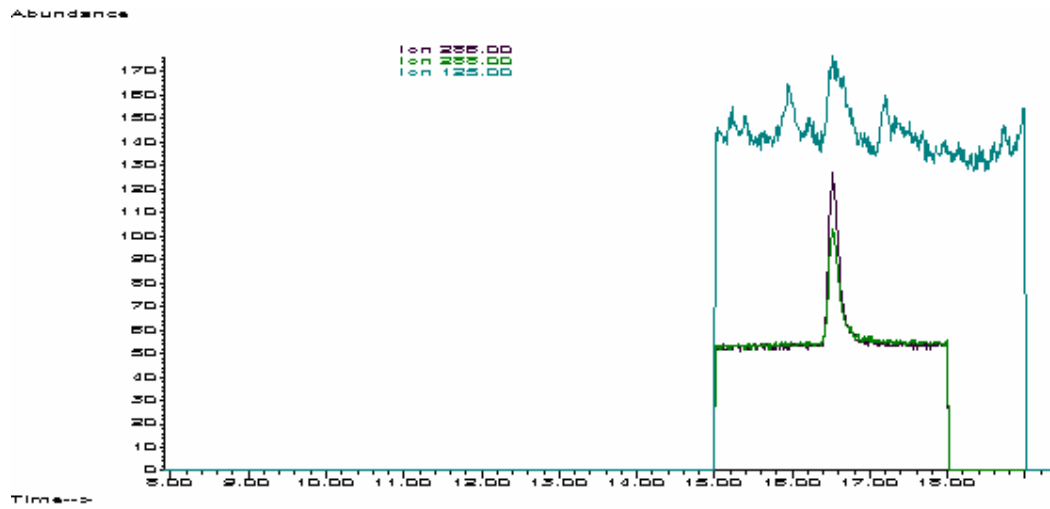
LOD ve LOQ düzeyinde GC-NPD kromatogramı Şekil 3.2.1.6.3.'de, kalitatif olarak tayin edilebilen en küçük konsantrasyondaki GC-MS kromatogramları Şekil 3.2.1.6.4.'de verilmiştir.



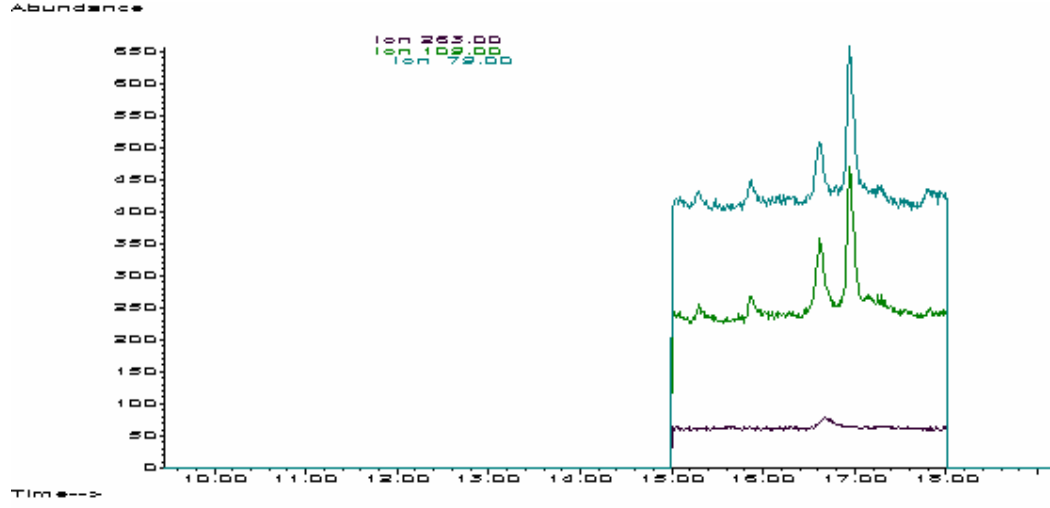
Şekil 3.2.1.6.3. Aseton SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı
(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



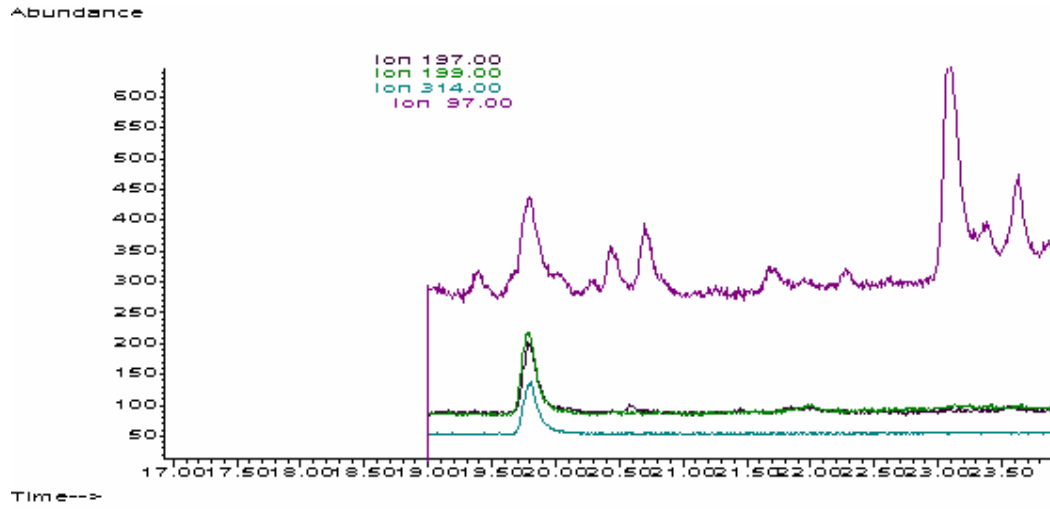
10 ppb Diazinon MS kromatogramı



10 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı



10 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı



10 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı

Şekil 3.2.1.6.4. Aseton SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları

3.2.2. Etil asetat ile temizleme amaçlı katı-faz ekstraksiyon (Etil asetat SPE-PSA) metodu sonuçları

Etil asetat (EtOAc), asetonitril (MeCN) ve asetonun aksine su ile karışmaz (sadece % 7.94, v/v) ve genellikle Na₂SO₄ ile ekstraktlardan kolaylıkla uzaklaştırılır (Washburn 2003). Bununla birlikte; etil asetat asetona kıyasla, şeker gibi matriks bileşenlerinden kaçınmada en etkili çözücüdür.

Literatürdeki bu çalışmalardan yola çıkarak gaz kromatografi yöntemi ile pestisit analizleri için etil asetat uygun çözücü olarak görülmüş ve yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin ekstraksiyonu için yeni bir SPE yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır.

Gıda örneklerindeki pestisit kalıntı analizlerinde, katı-faz ekstraksiyonun daha çok temizleme (clean-up) amaçlı kullanıldığı literatürler çalışmalarından bilinmekle beraber, yeni bir ekstraksiyon metodu geliştirirken bunun ön denemelerle gösterilmesi uygun olmaktadır. Bu amaç için geri kazanım çalışmalarından yararlanılmıştır. Kiraz örnekleri ile 100 µg/kg düzeyinde hazırlanan geri kazanım örnekleri SPE kartuşlarından geçirilmiş, ayrı ayrı toplanan yükleme ve elüsyon kısımlarında pestisit kalıntısı aranmıştır. Yapılan analizler sonucu yükleme ve elüsyon kısımlarında bulunan pestisit yüzdeleri Çizelge 3.3.2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2.2.1. Katı-faz ekstraksiyon kartuşları ile yapılan ön denemelerde yükleme ve elüsyon kısımlarında elde edilen pestisit yüzdeleri

Pestisit	Pestisit miktarları (%)			
	C ₁₈		PSA	
	Yükleme	Elüsyon	Yükleme	Elüsyon
Diazinon	84,4	9,6	89,2	6,3
Chlorpyrifos-methyl	82,6	11,7	91,4	5,2
Parathion-methyl	81,9	11,9	91,6	6,0
Chlorpyrifos-ethyl	83,1	10,9	90,3	5,4

C₁₈ ve PSA temizleme kartuşları ile yapılan ön denemelerde, sebze ve meyve örneklerinde pestisit kalıntı analizlerinde SPE'nun temizleme amacıyla kullanılacağı Çizelge 3.2.2.1.'den görülmektedir. C₁₈'de pestisitlerin yaklaşık olarak % 85'i, PSA'da ise % 90'ı kartuşa tutulmadan aşağıya geçmiş (yükleme örneği), kalan yaklaşık % 15 ve

% 10 dilimlerinin de belirli miktarları elüsyon örneğinde bulunmuştur. C₁₈ kartuştan yapılan elüsyon örneğinde yaklaşık % 10, PSA kartuşta ise % 5-6 düzeyinde pestisit kalıntısı bulunmuştur. Elle yapılan bu ekstraksiyon işleminde her iki kartuşta da % 5'lik düzeyinde bir kayıp sözkonusudur. Sonuç olarak pestisitlerin büyük bir kısmı hem C₁₈ hem de PSA kartuş dolgu maddesine tutulmadan aşağıya geçmiş, dolayısıyla kartuşların matriksteki maddeleri tutacağı ve temizleme işlemini gerçekleştireceği tahmin edilmiştir.

Etil asetat ile yapılacak çalışmalarda kullanılacak kimyasal maddelerin ve SPE işlemlerindeki uygun miktarlarının belirlenmesi amacıyla deney tekrarları için kemometrik dizayndan yararlanılmıştır. Kemometrik çalışmalarda optimizasyon amaçlı Merkezi Kompozit Dizayn (Central Composite Design-Response Surface Design) metodundan yararlanılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesi tartışma kısmında 4.6. Kemometrik Metot ile Optimizasyon Çalışmaları bölümünde incelenmiştir.

Etil asetat ile SPE metodu PSA temizleme kartuşları kullanılarak GC-FPD ile gerçekleştirilmiştir. Pestisitlerin doğrusal çalışma aralıkları ve belirleme sınırı (LOD)-kantitatif tayin sınırı (LOQ) düzeyleri tespit edilmiş, geri kazanım aralıkları belirlenmiş, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri hesaplanmıştır. GC-MSD ile kalitatif tayin (pestisitlerin doğrulaması) yapılmıştır.

3.2.2.1. Ön işlemin optimize edilmesi

Ön işleminde kullanılan örnek miktarı, çözücü (EtOAc) miktarı, Na₂SO₄ ve NaHCO₃ miktarlarının optimizasyonu için kullanılan deneysel plan ve çalışma koşulları Çizelge 3.2.2.1.1.'de ve Çizelge 3.2.2.1.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.2.1.1. Kemometrik olarak örnek miktarı, çözücü miktarı, Na₂SO₄ ve NaHCO₃ miktarları için düzenlenen deneysel plan ve sonuçlar

No	X ₁ (Örnek miktarı)	X ₂ (EtOAc miktarı)	X ₃ (Na ₂ SO ₄ miktarı)	X ₄ (NaHCO ₃ miktarı)	%R Diazinon	%R Chlorpyrifos -methyl	%R Parathion- methyl	%R Chlorpyrifos -ethyl
1	+1	+1	+1	-1	92.98	95.68	96.23	99.85
2	+1	+1	-1	-1	94.58	96.53	94.90	97.58
3	+1	-1	+1	-1	93.52	93.63	97.39	96.54
4	+1	-1	-1	-1	96.35	97.08	94.28	101.25
5	+1	+1	+1	-1	99.25	97.82	100.94	102.25
6	+1	+1	-1	-1	100.25	100.52	97.23	94.54
7	+1	-1	+1	-1	94.21	99.85	100.90	92.56
8	+1	-1	-1	-1	95.36	98.54	102.92	97.85
9	-1	+1	+1	+1	98.54	100.25	101.54	96.54
10	-1	+1	-1	+1	97.85	102.54	99.85	98.52
11	-1	-1	+1	+1	101.54	99.85	98.54	99.85
12	-1	-1	-1	+1	103.25	98.54	97.85	102.25
13	-1	+1	+1	+1	97.87	94.25	102.52	101.54
14	-1	+1	-1	+1	99.85	91.25	103.54	103.25
15	-1	-1	+1	+1	100.58	101.52	97.85	95.54
16	-1	-1	-1	+1	100.01	94.58	98.54	96.54
17	+2	0	0	0	97.52	98.52	96.54	98.54
18	-2	0	0	0	94.52	97.58	94.52	102.25
19	0	+2	0	0	92.52	99.85	92.25	101.25
20	0	-2	0	0	93.68	102.25	93.56	95.56
21	0	0	+2	0	95.58	104.25	97.85	97.85
22	0	0	-2	0	96.87	101.65	96.54	96.52
23	0	0	0	+2	98.87	98.56	95.58	92.25
24	0	0	0	-2	96.54	97.58	93.25	93.54
25	0	0	0	0	92.54	96.54	95.58	92.21
26	0	0	0	0	94.58	10.52	96.58	94.56
27	0	0	0	0	93.58	101.54	97.85	98.52
28	0	0	0	0	96.58	102.52	100.52	96.54
29	0	0	0	0	97.85	103.58	101.85	92.25
30	0	0	0	0	98.58	104.58	104.56	94.52

Çizelge 3.2.2.1.2. Örnek miktarı, çözücü miktarı, Na₂SO₄ ve NaHCO₃ miktarları için belirlenen deneysel çalışma şartları

Parametre	-2	-1	0	+1	+2
X ₁ (Örnek miktarı, g)	5	7,5	10	12,5	15
X ₂ (EtOAc miktarı, g)	10	15	20	25	30
X ₃ (Na ₂ SO ₄ miktarı, g)	5	10	15	20	25
X ₄ (NaHCO ₃ miktarı, g)	0,5	1	1,5	2	2,5

Çizelge 3.2.2.1.1. ve Çizelge 3.2.2.1.2.'deki veriler kullanılarak örnek miktarı, çözücü miktarı, Na₂SO₄ ve NaHCO₃ miktarlarının dışındaki tüm deneysel parametreler sabit tutularak analiz yapılmıştır. Çalışmamızda +1 için 12.5 g. örnek, 25 mL EtOAc, 20 g Na₂SO₄, 2 g NaHCO₃ ve -1 için 7.5 g. örnek, 15 mL EtOAc, 10 g Na₂SO₄, 1 g NaHCO₃ kullanılmıştır. $b = (X' \cdot X)^{-1} \cdot X' \cdot Y$ formülü ile hesaplamalar excel programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

$y = b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{44}X_4^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4$ denkleminde X₁, X₂, X₃ ve X₄' e göre türev alındıktan sonra değişkenlerin teorik değerleri sırasıyla 0,30 (X₁), 0,01 (X₂), 0,03 (X₃) ve 0,00 (X₄) olarak hesaplanmıştır. Bu verilerden gerçek değerlere geçiş için $\pm 2 = (X - 0 \text{ değeri}) / (0 \text{ ile } \pm 1 \text{ arasındaki fark})$ eşitliğinden yararlanılmıştır. Hesaplamalar sonucunda optimum olarak belirlenen değerler; 10,75g. örnek miktarı, 20,05 mL çözücü miktarı, 15,15 g. Na₂SO₄ miktarı ve 1,5 g. NaHCO₃ miktarı olmuştur.

Çalışmada, örneklerin ekstraksiyonundaki ön işlem belirlenen optimum miktarlara göre yapılmıştır.

3.2.2.2. Katı- faz ekstraksiyon temizleme işleminin optimize edilmesi

Katı-faz ekstraksiyon işleminde, kartuşa yüklenen örnek miktarı ve EtOAc elüsyon miktarlarının optimizasyonu için kullanılan deneysel plan ve çalışma koşulları Çizelge 3.2.2.2.1.'de ve Çizelge 3.2.2.2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.2.2.1. Kemometrik olarak örnek yükleme miktarı ve EtOAc elüsyon miktarı için düzenlenen deneysel plan ve sonuçları

No	X ₁ (Örnek yükleme miktarı)	X ₂ (EtOAc elüsyon miktarı)	%R Diazinon	%R Chlorpyrifos- methyl	%R Parathion- methyl	%R Chlorpyrifos- ethyl
1	+1	+1	94,97	88,82	88,05	78,53
2	+1	-1	99,24	96,57	94,16	84,58
3	-1	+1	94,76	92,97	93,56	81,73
4	-1	-1	102,38	89,04	90,80	80,09
5	+1,414	0	109,85	105,34	108,44	75,87
6	-1,414	0	136,90	135,34	134,31	91,35
7	0	+1,414	83,36	79,12	77,71	81,90
8	0	-1,414	98,16	97,72	96,94	83,73
9	0	0	102,11	103,40	100,07	77,33
10	0	0	103,62	98,44	105,69	73,25
11	0	0	94,99	103,20	106,53	84,50
12	0	0	97,07	96,94	101,06	88,91

Çizelge 3.2.2.2.2. Kartuşa yüklenen örnek miktarı ve EtOAc elüsyon miktarı için belirlenen deneysel çalışma şartları

Parametre	-1,414	-1	0	+1	+1,414
X ₁ (Örnek yükleme miktarı, mL)	3,586	4	5	6	6,414
X ₂ (EtOAc elüsyon miktarı, mL)	1,586	2	3	4	4,414

Çizelge 3.2.2.2.1. ve Çizelge 3.2.2.2.2.'deki veriler kullanılarak yüklenen örnek miktarı ve EtOAc elüsyon miktarı dışındaki tüm deneysel parametreler sabit tutularak analiz yapılmıştır. Çalışmamızda +1 için 6 mL örnek, 4 mL EtOAc ve -1 için 4 mL örnek, 2 mL EtOAc kullanılmıştır. $b = (X' \cdot X)^{-1} \cdot Y$ formülü ile hesaplamalar excel programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

$y = b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2$ denkleminde X₁ ve X₂'ye göre türev alındıktan sonra değişkenlerin teorik değerleri sırasıyla 0,04 (X₁) ve 0,00 (X₂) olarak hesaplanmıştır. Bu verilerden gerçek değerlere geçiş için $\pm 1,414 = (X - 0 \text{ değeri}) / (0 \text{ ile } \pm 1 \text{ arasındaki fark})$ eşitliğinden yararlanılmıştır. Hesaplamalar sonucunda optimum olarak belirlenen değerler 5,04 mL örnek yükleme miktarı ve 3 mL EtOAc elüsyon miktarı olmuştur.

Çalışmada, örneklerin ekstraksiyonundaki katı-faz temizleme işlemi belirlenen optimum miktarlara göre yapılmıştır.

3.2.2.3. Doğrusallık çalışmaları

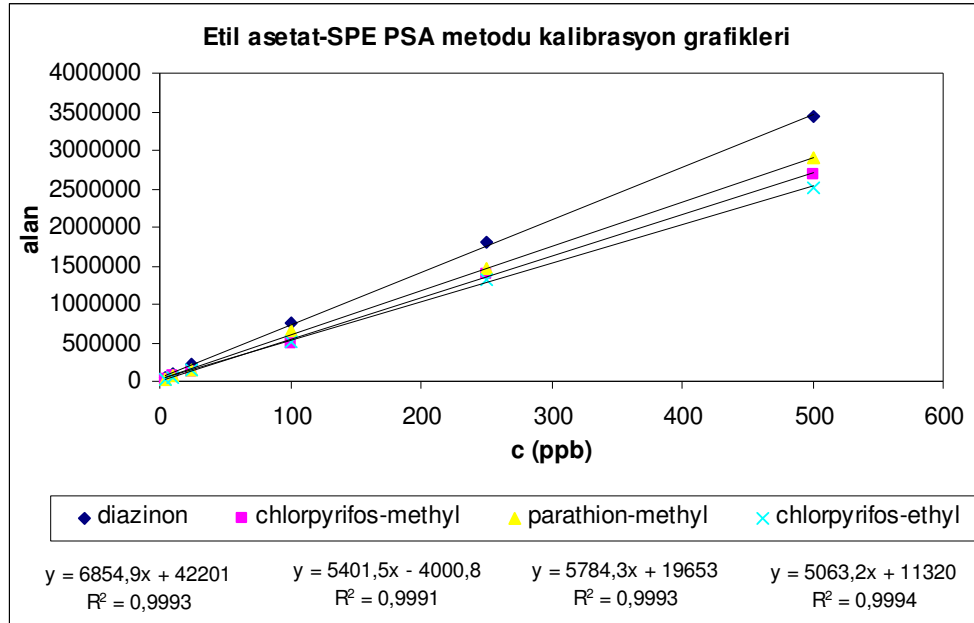
Doğrusallık çalışması için bölüm 2.1.4.2.'de belirtildiği gibi, SPE PSA temizleme işleminden geçirilmiş 0.5 mL kiraz blank örneğine 0.05, 0.1, 0.25, 1.0, 2.5 ve 5.0 ppm ($\mu\text{g}/\text{mL}$) mix çalışma standartlarından 50'şer μL eklenerek 5, 10, 25, 100, 250, 500 ppb ($\text{pg}/\mu\text{L}$) matrix-matched kalibrasyon standartları hazırlanmıştır. 4 farklı günde konsantrasyonları 5-500 ppb arasında hazırlanan matrix-matched standartlardan GC-FPD'e 2'şer enjeksiyon yapılarak, konsantrasyona karşılık pestisitlerin alanları arasında kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve doğrusallık test edilmiştir. 5 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standardı ile GC-MS'de doğrulama yapılabildiği için kalibrasyon grafikleri 5-500 ppb konsantrasyon aralığında çizilmiş ve LOD çalışmaları 5 ppb matrix-matched standart ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2.2.3.1.'de etil asetat SPE-PSA metodu ile çalışılan diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'e ait kalibrasyon çalışmalarında kullanılan standartların ortalama alan değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.2.2.3.1. Etil asetat SPE-PSA metodu kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri			
	Diazinon	Chlorpyrifos-methyl	Parathion-methyl	Chlorpyrifos-ethyl
5	41994	21544	32978	20677
10	88193	64071	68977	54958
25	217749	128056	142413	136611
100	762065	492612	659672	518023
250	1805496	1397019	1456286	1324239
500	3438604	2679987	2905645	2519616

Şekil 3.2.2.3.1.'de diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'e ait etil asetat SPE-PSA metodu doğrusallık grafikleri bir arada verilmiştir.



Şekil 3.2.2.3.1. Etil asetat SPE-PSA metodu diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri

3.2.2.4. LOD ve LOQ sonuçları

4 farklı günde ve 3 paralel kiraz blank örneğine (katı-faz ekstraksiyon PSA temizleme işleminden geçirilmiş) 5 ppb olacak şekilde mix standart eklenerek 2'şer kere GC-FPD'e enjeksiyon yapılmış ve bulunan değerlerin genel standart sapması hesaplanmıştır. Belirleme sınırı (LOD) standart sapmanın 3 katı ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) standart sapmanın 10 katı alınarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.2.2.4.1.'de PSA temizleme kartuşu ile yapılan LOD-LOQ çalışmalarının ortalama sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.2.2.4.1. Etil asetat SPE-PSA metodu LOD-LOQ değerleri

Pestisit	Ortalama değerler (µg/kg)	
	LOD	LOQ
Diazinon	1,0	3,3
Chlorpyrifos-methyl	1,0	3,5
Parathion-methyl	1,0	3,4
Chlorpyrifos-ethyl	0,9	3,1

3.2.2.5. Geri kazanım sonuçları

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnekler ile 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılmış, ortalamalarından % geri kazanım hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2.2.5.1.'de PSA kartuşları ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD'deki ortalama % geri kazanım değerleri (% R) ve % bağıl standart sapmaları (% RSD) verilmiştir.

Çizelge 3.2.2.5.1. Etil asetat SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	85,2	7,8	84,3	7,6	94,0	5,5	94,8	5,8
Chlorpyrifos -methyl	83,0	9,3	83,9	7,4	95,7	6,2	95,8	7,2
Parathion- methyl	84,6	10,2	85,8	7,4	94,6	5,3	92,9	5,3
Chlorpyrifos -ethyl	86,6	6,6	85,9	6,7	92,4	6,7	95,1	5,5

3.2.2.6. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnek ile metodun aynı gün ve farklı gün tekrarlanabilirliği belirlenmiştir. Aynı gün içinde 3'er paralel 2'şer kere enjekte edilerek aynı gün tekrarlanabilirlik, 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılarak farklı gün tekrarlanabilirlik yani tekrar üretilebilirlik hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2.2.6.1.'de PSA kartuş ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD'deki ortalama tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.2.2.6.1. Etil asetat SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik değerleri (TÜ)

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	6,3	7,4	6,5	7,9	5,0	5,5	4,8	6,2
Chlorpyrifos-methyl	8,7	9,0	6,1	7,5	5,7	6,6	6,5	6,5
Parathion-methyl	6,6	8,7	7,7	7,9	3,9	5,7	4,5	5,4
Chlorpyrifos-ethyl	6,5	7,3	4,3	6,4	5,7	6,6	3,9	5,1

3.2.2.7. Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE (Etil asetat SPE-PSA)metodu validasyon raporları

Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE-PSA metodu kartuşlarla yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar validasyon raporlarında toplu olarak gösterilmiştir. Çizelge 3.2.2.7.1.'de diazinon validasyon raporu, Çizelge 3.2.2.7.2.'de chlorpyrifos-methyl validasyon raporu, Çizelge 3.2.2.7.3.'de parathion-methyl validasyon raporu ve Çizelge 3.2.2.7.4.'de chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu verilmiştir.

Çizelge 3.2.2.7.1. Etil asetat SPE-PSA metodu diazinon validasyon raporu

Diazinon Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık	5-500 µg/kg			
r^2	0,9993			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,0 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,3 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	85,2	84,3	94,0	94,8
Tekrarlanabilirlik, % RSD	6,3	6,5	5,0	4,8
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	7,4	7,9	5,5	6,2

Çizelge 3.2.2.7.2. Etil asetat SPE-PSA metodu chlorpyrifos-methyl validasyon raporu

Chlorpyrifos-methyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	5-500 µg/kg 0,9991			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,0 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,5 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	83,0	83,9	95,7	95,8
Tekrarlanabilirlik, % RSD	8,7	6,1	5,7	6,5
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	9,0	7,5	6,6	6,5

Çizelge 3.2.2.7.3. Etil asetat SPE-PSA metodu parathion-methyl validasyon raporu

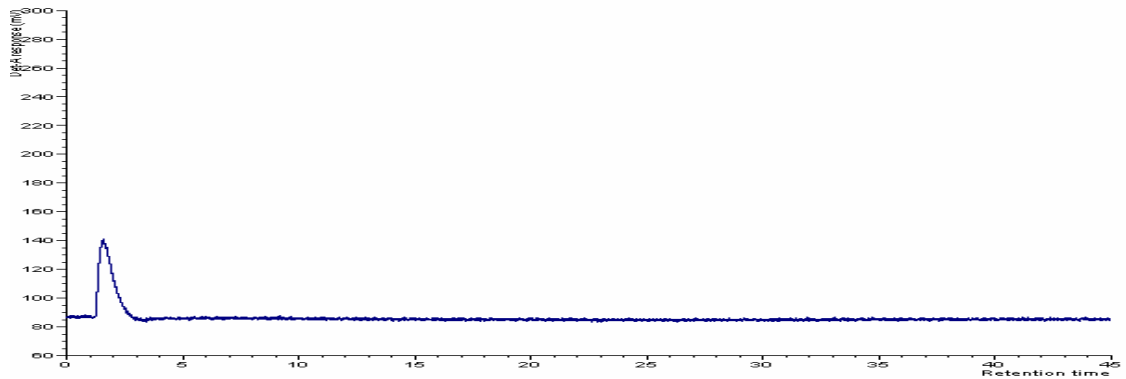
Parathion-methyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	5-500 µg/kg 0,9993			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,0 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,4 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	84,6	85,8	94,6	92,9
Tekrarlanabilirlik, % RSD	6,6	7,7	3,9	4,5
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	8,7	7,9	5,7	5,4

Çizelge 3.2.2.7.4. Etil asetat SPE-PSA metodu chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu

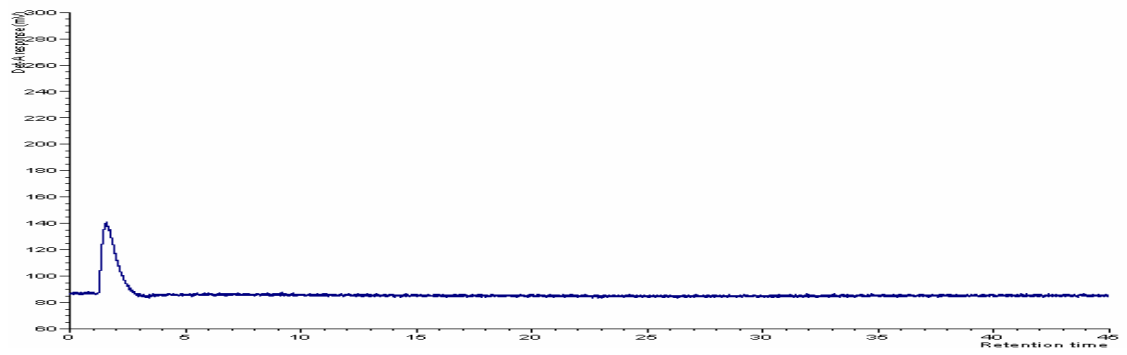
Chlorpyrifos-ethyl Validasyon Sonuçları				
Analitik Parametreler	Veriler			
Çalışılan Doğrusal Aralık r^2	5-500 µg/kg 0,9994			
Belirleme Sınırı (LOD)	0,9 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,1 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Geri Kazanım (%)	86,6	85,9	92,4	95,1
Tekrarlanabilirlik, % RSD	6,5	4,3	5,7	3,9
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	7,3	6,4	6,6	5,1

3.2.2.8. Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE (Etil asetat SPE-PSA) metodu GC-FPD ve GC-MS kromatogramları

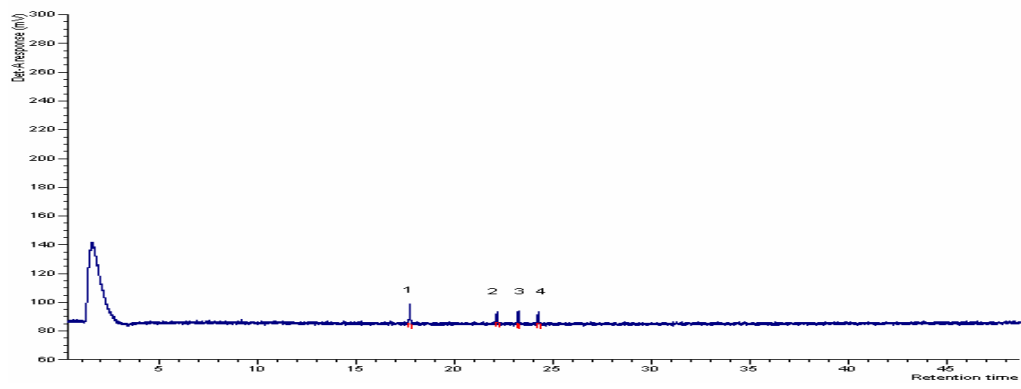
Blank kiraz, blank biber ve 5-500 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-FPD kromatogramları Şekil. 3.2.2.8.1.'de, GC-MS kromatogramları Şekil. 3.2.2.8.2.'de verilmiştir.



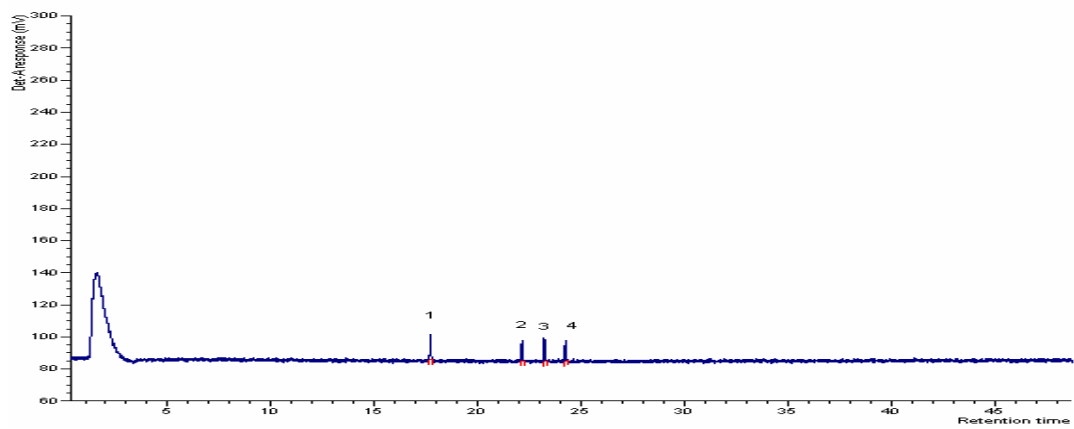
Blank kiraz



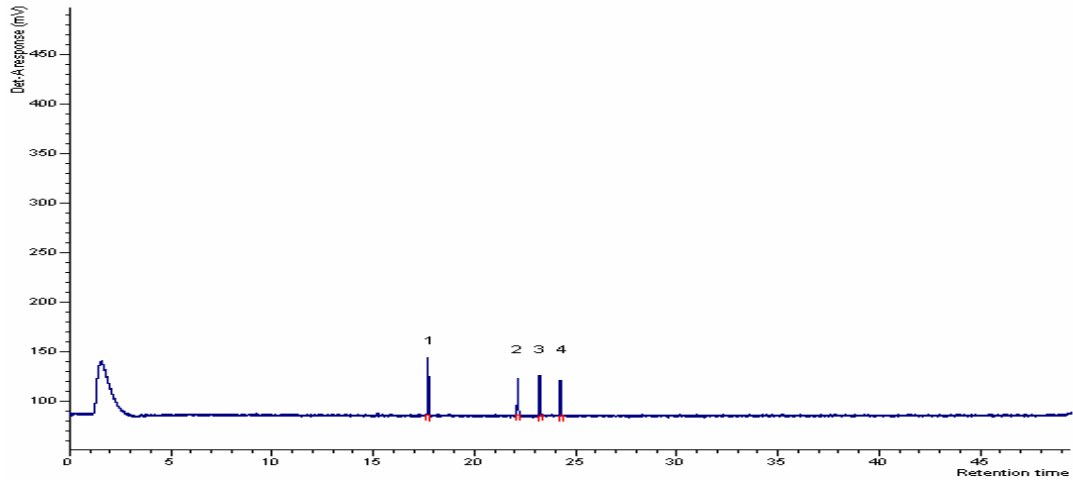
Blank biber



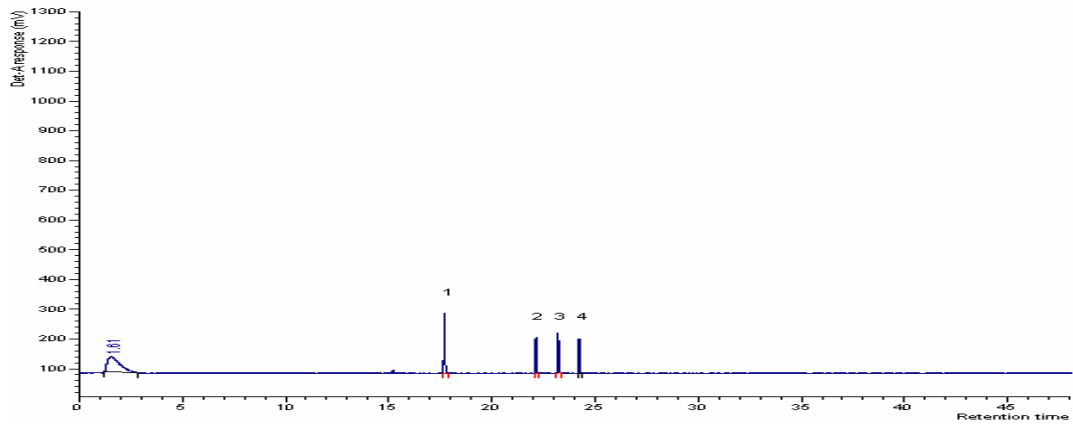
5 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



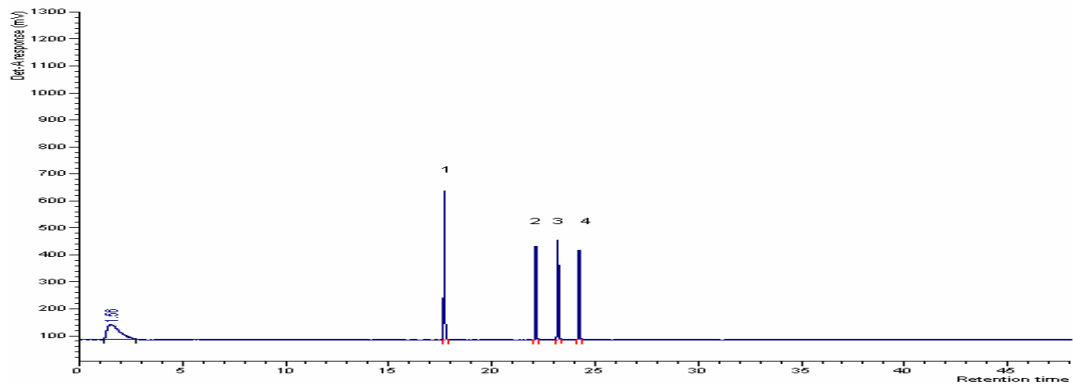
10 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



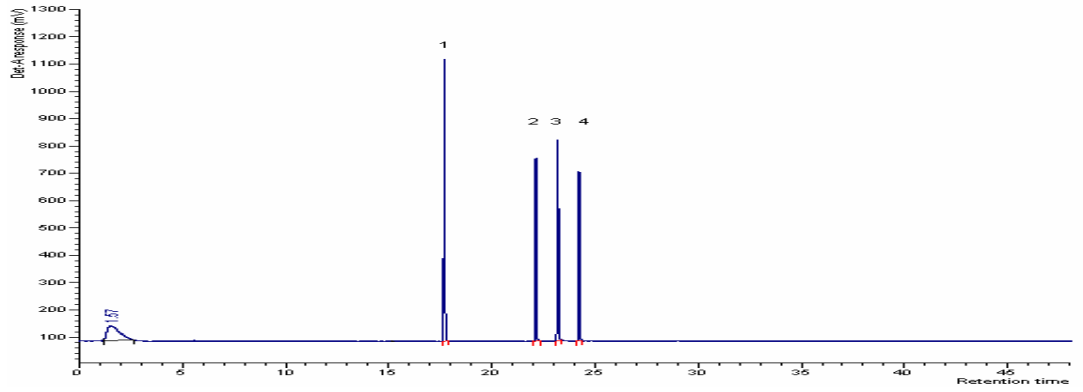
25 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



100 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

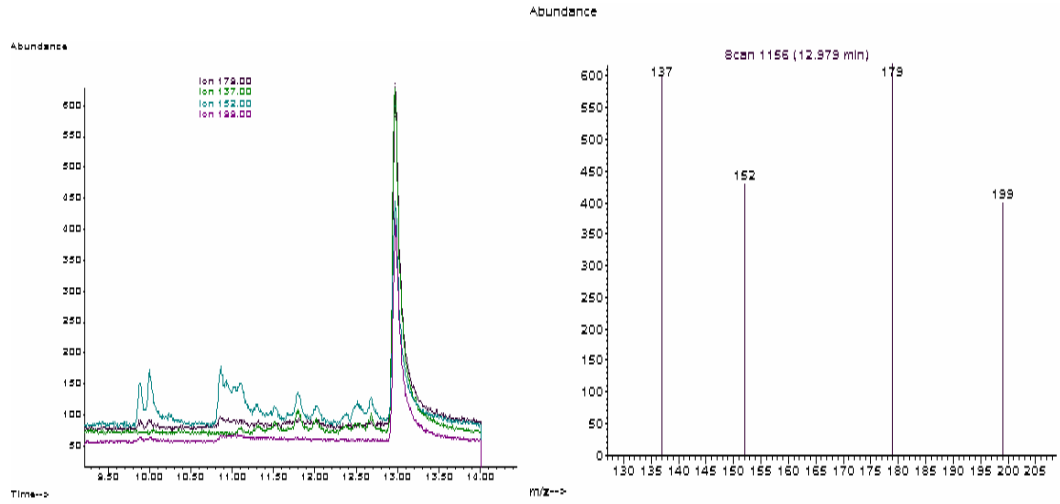


250 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

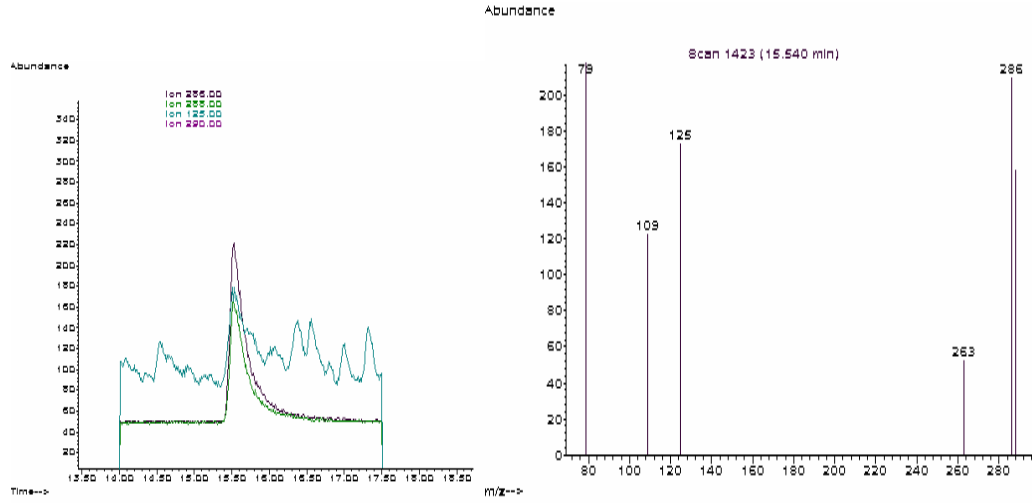


500 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

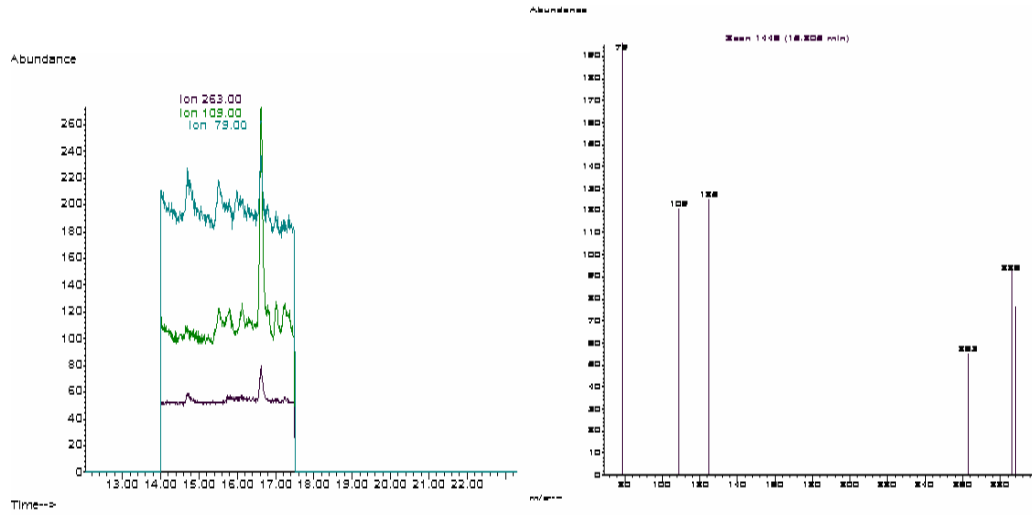
Şekil 3.2.2.8.1. Etil asetat SPE-PSA metodu GC-FPD kromatogramları



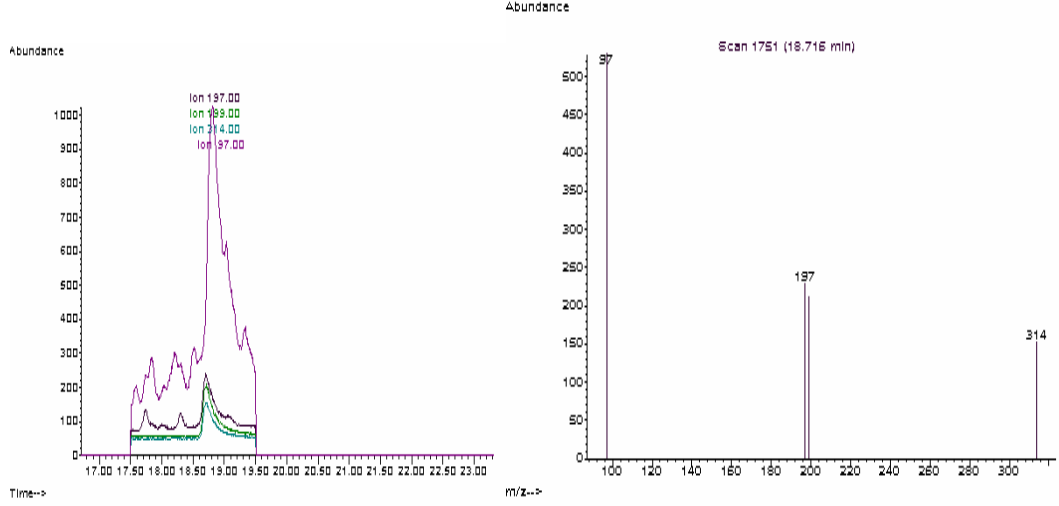
100 ppb Diazinon MS kromatogramı ve spektrumu



100 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



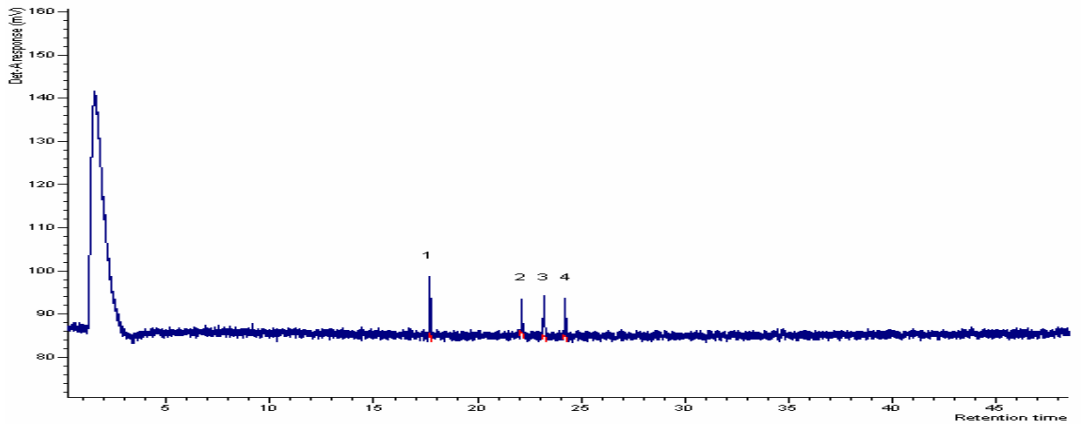
100 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



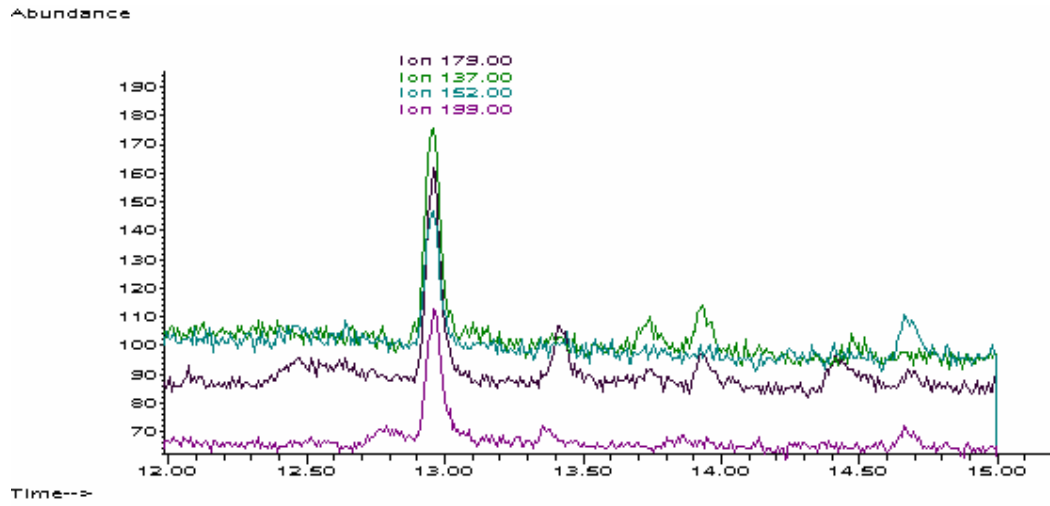
100 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı ve spektrumu

Şekil 3.2.2.8.2. Etil asetat SPE-PSA metodu GC- MS kromatogram ve spektrumları

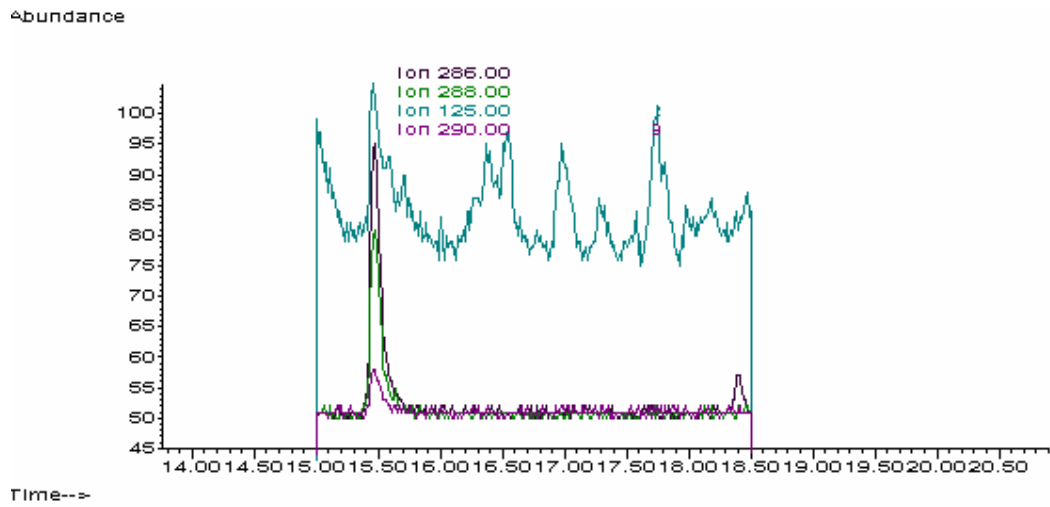
LOD ve LOQ düzeyinde GC-FPD kromatogramı Şekil 3.2.2.8.3.'de, kalitatif olarak tayin edilebilen en küçük konsantrasyondaki GC-MS kromatogramları Şekil 3.2.2.8.4.'de verilmiştir.



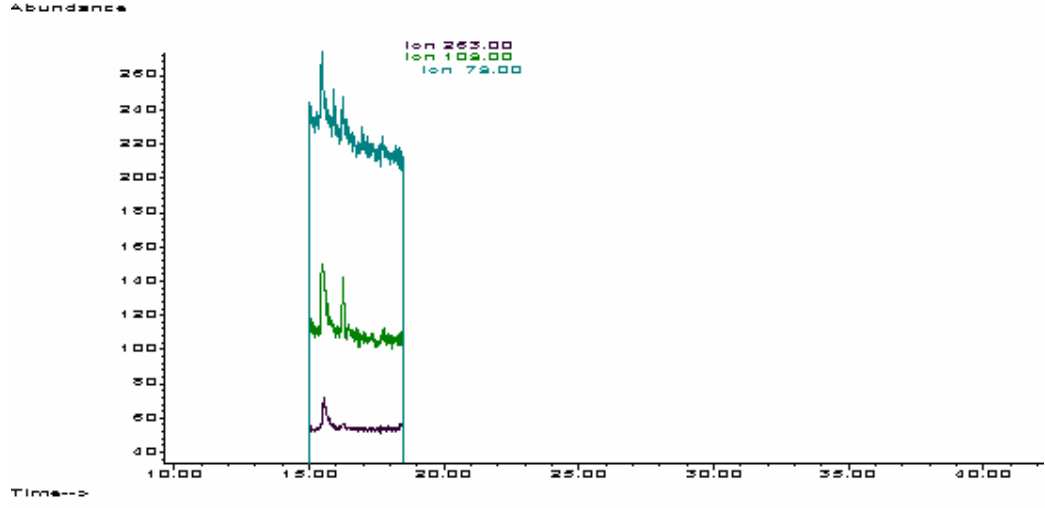
Şekil 3.2.2.8.3. Etil asetat SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-FPD kromatogramı
(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



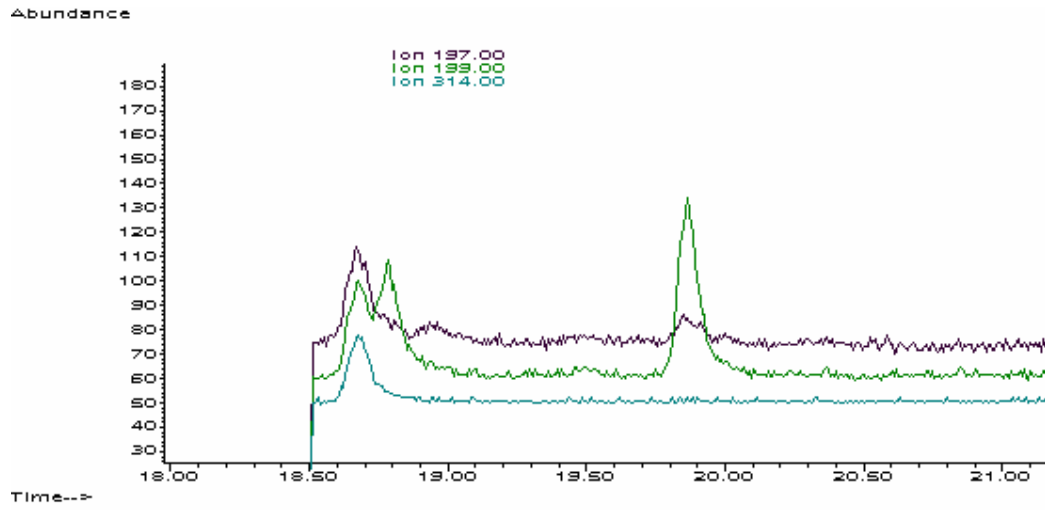
5ppb Diazinon



5 ppb Chlorpyrifos-methyl



5 ppb Parathion-methyl



5 ppb Chlorpyrifos-ethyl

Şekil 3.2.2.8.4. Etil asetat SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları

3.3. Otomatik Katı-Faz Ekstraksiyon Analizleri

Katı-faz ekstraksiyon çalışmaları Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.

Gaz kromatografisi ile etil asetat kullanılarak yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin ekstraksiyonu için geliştirilen ve bölüm 2.2.2.2.'de verilen etil asetat-SPE PSA temizleme metodu Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile farklı akış hızlarında otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Otomatik katı-faz ekstraksiyon metodu sonuçları

Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE metodunda; ön işlemden kullanılan örnek miktarı, çözücü miktarı, Na_2SO_4 ve NaHCO_3 miktarları ve temizleme aşamasındaki parametreler kullanılacak Gilson ASPEC XL otomatik katı-faz ekstraksiyon sistemine uygun olarak yeniden optimize edilmiştir.

Kemometrik çalışmalarda optimizasyon amaçlı merkezi kompozit dizayn metodundan yararlanılmıştır.

Otomatik SPE C_{18} , NH_2 ve PSA temizleme metodu kartuşları kullanılarak GC-FPD ve GC-NPD ile gerçekleştirilmiştir. Pestisitlerin doğrusal çalışma aralıkları ve belirleme sınırı (LOD)-kantitatif tayin sınırı (LOQ) düzeyleri tespit edilmiş, geri kazanım aralıkları belirlenmiş, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri hesaplanmıştır. GC-MSD ile kalitatif tayin (pestisitlerin doğrulaması) yapılmıştır.

3.3.1.1. Otomatik katı-faz ekstraksiyon ön işlemin optimize edilmesi

Ön işlemden kullanılan örnek miktarı, çözücü miktarı, Na_2SO_4 ve NaHCO_3 miktarlarının optimizasyonu için kullanılan deneysel plan ve çalışma koşulları Çizelge 3.3.1.1.1.'de ve Çizelge 3.3.1.1.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.1.1.1. Otomatik SPE ön işleminde kemometrik olarak örnek miktarı, çözücü miktarı, Na₂SO₄ ve NaHCO₃ miktarları için düzenlenen deneysel plan ve sonuçlar

No	X ₁ (Örnek miktarı)	X ₂ (EtOAc miktarı)	X ₃ (Na ₂ SO ₄ miktarı)	X ₄ (NaHCO ₃ miktarı)	% R Diazinon	% R Chlorpyrifos -methyl	% R Parathion -methyl	% R Chlorpyrifos -ethyl
1	+1	+1	+1	-1	92,98	95,68	96,23	99,85
2	+1	+1	-1	-1	94,58	96,53	94,90	97,58
3	+1	-1	+1	-1	93,52	93,63	97,39	96,54
4	+1	-1	-1	-1	96,35	97,08	94,28	101,25
5	+1	+1	+1	-1	99,25	97,82	100,94	102,25
6	+1	+1	-1	-1	100,25	100,52	97,23	94,54
7	+1	-1	+1	-1	94,21	99,85	100,90	92,56
8	+1	-1	-1	-1	95,36	98,54	102,92	97,85
9	-1	+1	+1	+1	98,54	100,25	101,54	96,54
10	-1	+1	-1	+1	97,85	102,54	99,85	98,52
11	-1	-1	+1	+1	101,54	99,85	98,54	99,85
12	-1	-1	-1	+1	103,25	98,54	97,85	102,25
13	-1	+1	+1	+1	97,87	94,25	102,52	101,54
14	-1	+1	-1	+1	99,85	91,25	103,54	103,25
15	-1	-1	+1	+1	100,58	101,52	97,85	95,54
16	-1	-1	-1	+1	100,01	94,58	98,54	96,54
17	+2	0	0	0	97,52	98,52	96,54	98,54
18	-2	0	0	0	94,52	97,58	94,52	102,25
19	0	+2	0	0	92,52	99,85	92,25	101,25
20	0	-2	0	0	93,68	102,25	93,56	95,56
21	0	0	+2	0	95,58	104,25	97,85	97,85
22	0	0	-2	0	96,87	101,65	96,54	96,52
23	0	0	0	+2	98,87	98,56	95,58	92,25
24	0	0	0	-2	96,54	97,58	93,25	93,54
25	0	0	0	0	92,54	96,54	95,58	92,21
26	0	0	0	0	94,58	10,52	96,58	94,56
27	0	0	0	0	93,58	101,54	97,85	98,52
28	0	0	0	0	96,58	102,52	100,52	96,54
29	0	0	0	0	97,85	103,58	101,85	92,25
30	0	0	0	0	98,58	104,58	104,56	94,52

Çizelge 3.3.1.1.2. Otomatik SPE ön işleminde örnek miktarı, çözücü miktarı, Na₂SO₄ ve NaHCO₃ miktarları için belirlenen deneysel çalışma şartları

Parametre	-2	-1	0	+1	+2
X ₁ (Örnek miktarı, g)	5	7,5	10	12,5	15
X ₂ (EtOAc miktarı, g)	5	7,5	10	12,5	15
X ₃ (Na ₂ SO ₄ miktarı, g)	5	10	15	20	25
X ₄ (NaHCO ₃ miktarı, g)	0,5	1	1,5	2	2,5

Çizelge 3.3.1.1.1. ve Çizelge 3.3.1.1.2.'deki veriler kullanılarak örnek miktarı, çözücü miktarı, Na₂SO₄ ve NaHCO₃ miktarlarının dışındaki tüm deneysel parametreler sabit tutularak analiz yapılmıştır. Çalışmamızda +1 için 12.5 g. örnek, 12,5 mL EtOAc, 20 g Na₂SO₄, 2 g NaHCO₃ ve -1 için 7.5 g. örnek, 7,5 mL EtOAc, 10 g Na₂SO₄, 1 g NaHCO₃ kullanılmıştır. $b = (X' \cdot X)^{-1}$. $X' \cdot Y$ formülü ile hesaplamalar excel programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

$y = b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{44}X_4^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4$ denkleminde X_1 , X_2 , X_3 ve X_4 'e göre türev alındıktan sonra değişkenlerin teorik değerleri sırasıyla 0,07 (X_1), 0,09 (X_2), -0,02 (X_3) ve 0,00 (X_4) olarak hesaplanmıştır. Bu verilerden gerçek değerlere geçiş için $\pm 2 = (X - 0 \text{ değeri}) / (0 \text{ ile } \pm 1 \text{ arasındaki fark})$ eşitliğinden yararlanılmıştır. Hesaplamalar sonucunda optimum olarak belirlenen değerler; 10,18 g. örnek miktarı, 10,23 mL çözücü miktarı, 14,90 g. Na₂SO₄ miktarı ve 1,5 g. NaHCO₃ miktarı olmuştur.

Çalışmada, örneklerin ekstraksiyonundaki ön işlem belirlenen optimum miktarlara göre yapılmıştır.

3.3.1.2. Otomatik katı- faz ekstraksiyon temizleme işleminin optimize edilmesi

Otomatik SPE temizleme işleminde; kartuşa yüklenen örnek miktarı, EtOAc elüsyon miktarı ve akış hızı parametrelerinin optimizasyonu için kullanılan deneysel plan ve çalışma koşulları Çizelge 3.3.1.2.1.'de ve Çizelge 3.3.1.2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.1.2.1. Otomatik SPE temizleme işleminde kemometrik olarak örnek yükleme miktarı, EtOAc elüsyon miktarı ve akış hızı için düzenlenen deneysel plan ve sonuçlar

No	X ₁ (Örnek yüklem miktarı)	X ₂ (EtOAc elüsyon miktarı)	X ₃ (Akış hızı)	% R Diazinon	% R Chlorpyrifos -methyl	% R Parathion -methyl	% R Chlorpyrifos -ethyl
1	+1	+1	+1	101,25	98,52	89,52	85,25
2	+1	+1	-1	99,85	94,58	94,52	89,65
3	+1	-1	+1	100,58	91,25	91,25	91,25
4	+1	-1	-1	97,58	100,58	87,56	94,52
5	-1	+1	+1	96,54	99,85	92,54	99,58
6	-1	+1	-1	102,25	98,54	95,54	91,25
7	-1	-1	+1	100,52	90,54	92,25	88,54
8	-1	-1	-1	96,58	92,25	91,25	86,51
9	+1,7	0	0	98,52	94,56	94,58	86,52
10	-1,7	0	0	97,54	96,87	96,58	88,52
11	0	+1,7	0	99,85	97,52	98,54	89,58
12	0	-1,7	0	100,54	99,52	100,52	91,25
13	0	0	+1,7	94,56	94,25	96,54	99,58
14	0	0	-1,7	98,52	100,25	94,25	94,56
15	0	0	0	97,65	98,54	91,28	96,25
16	0	0	0	92,24	96,25	99,54	91,52
17	0	0	0	100,25	92,25	101,25	93,24
18	0	0	0	101,98	101,25	93,54	92,58
19	0	0	0	96,35	91,58	97,94	95,48

Çizelge 3.3.1.2.2. Otomatik SPE temizleme işleminde kartuşa yüklenen örnek miktarı, EtOAc elüsyon miktarı ve akış hızı için belirlenen deneysel çalışma şartları

Parametre	-1,7	-1	0	+1	+1,7
X ₁ (Örnek yükleme miktarı, mL)	1,15	1,5	2	2,5	2,85
X ₂ (EtOAc elüsyon miktarı, mL)	1,15	1,5	2	2,5	2,85
X ₃ (Akış hızı, mL/dk)	1,3	2	3	4	4,7

Çizelge 3.3.1.2.1. ve Çizelge 3.3.1.2.2.'deki veriler kullanılarak yüklenen örnek miktarı, EtOAc elüsyon miktarı ve akış hızı dışındaki tüm deneysel parametreler sabit tutularak analiz yapılmıştır. Çalışmamızda +1 için 2,5 mL örnek, 2,5 mL EtOAc, 4 mL/dk akış hızı ve -1 için 1,5 mL örnek, 1,5 mL EtOAc, 2 mL/dk akış hızı

kullanılmıştır. $b = (X' \cdot X)^{-1} \cdot X' \cdot Y$ formülü ile hesaplamalar excel programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

$y = b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_{12} + b_{13}X_{13} + b_{23}X_{23}$ denkleminde X_1 , X_2 ve X_3 'e göre türev alındıktan sonra değişkenlerin teorik değerleri sırasıyla -0,18 (X_1), 0,004 (X_2) ve 0,00 (X_3) olarak hesaplanmıştır. Bu verilerden gerçek değerlere geçiş için $\pm 1,414 = (X - 0 \text{ değeri}) / (0 \text{ ile } \pm 1 \text{ arasındaki fark})$ eşitliğinden yararlanılmıştır. Hesaplamalar sonucunda optimum olarak belirlenen değerler 1,9 mL örnek yükleme miktarı, 2,0 mL EtOAc elüsyon miktarı ve 3,0 mL/dk akış hızı olmuştur.

Çalışmada, örneklerin ekstraksiyonundaki katı-faz temizleme işlemi belirlenen optimum miktarlara göre yapılmıştır

3.3.1.3. Doğrusallık çalışmaları

Doğrusallık çalışması için bölüm 2.1.4.2.'de belirtildiği gibi, SPE temizleme işleminden geçirilmiş 0.5 mL kiraz blank örneğine 0.05, 0.1, 0.25, 1.0, 2.5 ve 5.0 ppm ($\mu\text{g/mL}$) mix çalışma standartlarından 50'şer μL eklenerek 5, 10, 25, 100, 250, 500 ppb ($\text{pg}/\mu\text{L}$) matrix-matched kalibrasyon standartları hazırlanmıştır. 4 farklı günde konsantrasyonları 5-500 ppb arasında hazırlanan matrix-matched standartlardan GC-FPD ve GC-NPD'e 2'şer enjeksiyon yapılarak, konsantrasyona karşılık pestisitlerin alanları arasında kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve doğrusallık test edilmiştir. 5 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standardı ile GC-MS'de doğrulama yapılabildiği için kalibrasyon grafikleri 5-500 ppb konsantrasyon aralığında çizilmiş ve LOD çalışmaları 5 ppb matrix-matched standart ile gerçekleştirilmiştir.

a) GC-FPD çalışmaları

GC-FPD ile C_{18} , NH_2 ve PSA temizleme kartuşları ile yapılan kalibrasyon çalışmalarında kullanılan standartların ortalama alan değerleri tablolarda gösterilmiştir. Çizelge 3.3.1.3.1.'de FPD diazinon C_{18} , NH_2 ve PSA kalibrasyon grafiği verileri, Çizelge 3.3.1.3.2.'de FPD chlorpyrifos-methyl C_{18} , NH_2 ve PSA kalibrasyon grafiği verileri, Çizelge 3.3.1.3.3.'de FPD paratihon-methyl C_{18} , NH_2 ve PSA kalibrasyon

grafiği verileri, Çizelge 3.3.1.3.4.'de FPD chlorpyrifos-ethyl C₁₈, NH₂ ve PSA kalibrasyon grafiği verileri verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.3.1. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD diazinon kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	92638	91043	96770
10	104675	106545	109174
25	235926	256122	238303
100	921999	940965	858033
250	2498744	2424953	2328058
500	4875652	4608516	4543847

Çizelge 3.3.1.3.2. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-methyl kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	46773	49140	47389
10	79084	70190	64390
25	149636	150026	128619
100	574604	586238	531460
250	1554699	1534892	1419168
500	3092865	2934129	2862299

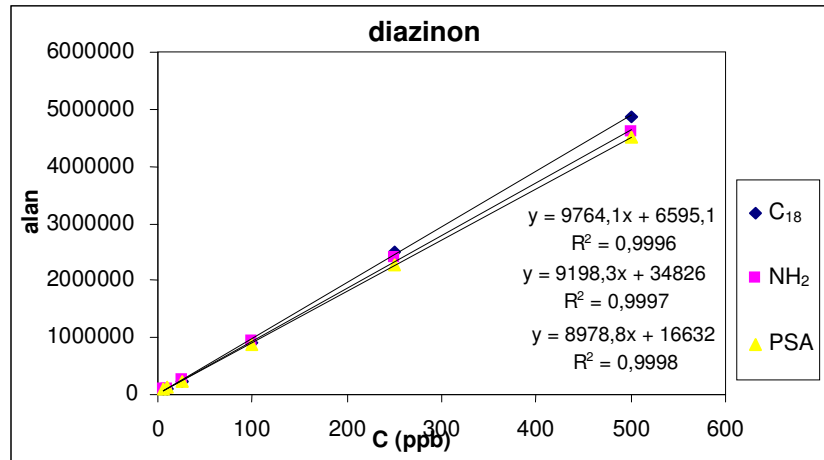
Çizelge 3.3.1.3.3. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD parathion-methyl kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	54262	50491	47482
10	69801	58766	62118
25	150376	123949	116019
100	592061	589067	543443
250	1643823	1579401	1393646
500	3234045	3070822	2719149

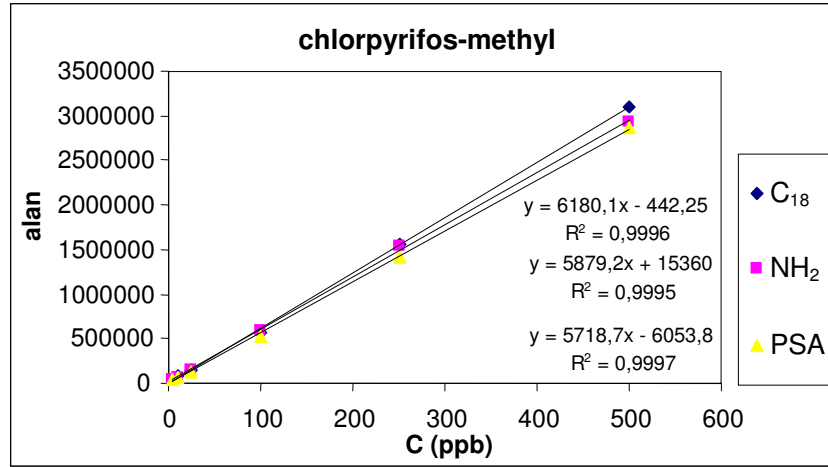
Çizelge 3.3.1.3.4. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-ethyl kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	51580	49193	51201
10	79984	65401	63697
25	156599	159991	149904
100	584323	641727	558141
250	1571596	1629248	1477735
500	3125908	3128721	2878351

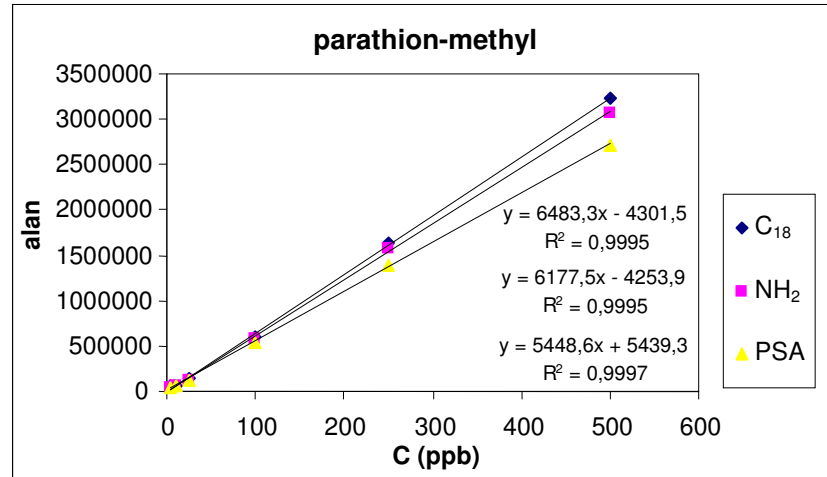
Şekil 3.3.1.3.1.'de FPD diazinon C₁₈, NH₂ ve PSA, Şekil 3.3.1.3.2.'de FPD chlorpyrifos-methyl C₁₈, NH₂ ve PSA, Şekil 3.3.1.3.3.'de FPD parathion-methyl C₁₈, NH₂ ve PSA ve Şekil 3.3.1.3.4.'de FPD chlorpyrifos-ethyl C₁₈, NH₂ ve PSA doğrusallık grafikleri verilmiştir.



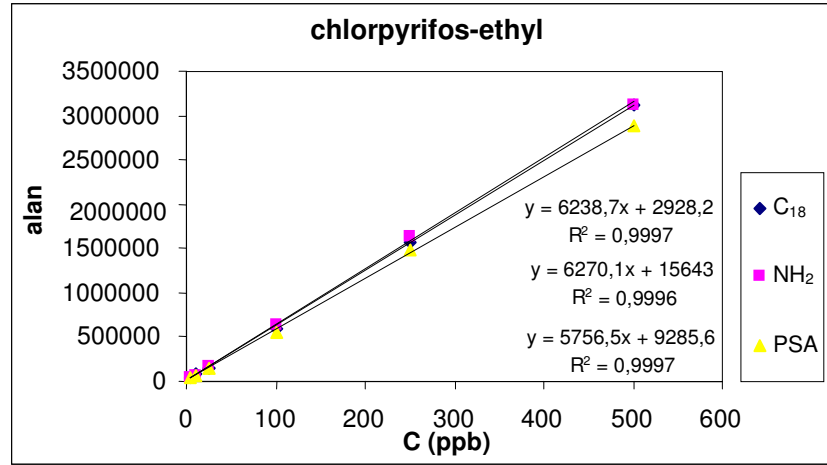
Şekil 3.3.1.3.1. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD diazinon doğrusallık grafikleri



Şekil 3.3.1.3.2. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-methyl doğrusallık grafikleri



Şekil 3.3.1.3.3. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD parathion-methyl doğrusallık grafikleri



Şekil 3.3.1.3.4. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri

b) GC-NPD çalışmaları

GC-NPD ile C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile yapılan kalibrasyon çalışmalarında kullanılan standartların ortalama alan değerleri tablolarda gösterilmiştir. Çizelge 3.3.1.3.5.'de NPD diazinon C₁₈, NH₂ ve PSA kalibrasyon grafiği verileri, Çizelge 3.3.1.3.6.'de NPD chlorpyrifos-methyl C₁₈, NH₂ ve PSA kalibrasyon grafiği verileri, Çizelge 3.3.1.3.7.'de NPD paratihon-methyl C₁₈, NH₂ ve PSA kalibrasyon grafiği verileri, Çizelge 3.3.1.3.8.'de NPD chlorpyrifos-ethyl C₁₈, NH₂ ve PSA kalibrasyon grafiği verileri verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.3.5. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD diazinon kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	97362	91064	95267
10	119739	114871	140054
25	329830	360699	311942
100	1368915	1403768	1355028
250	3731083	3983384	3753919
500	7783381	7692899	7729286

Çizelge 3.3.1.3.6. Otomatik C₁₈, NH₂ ve PSA SPE metodu NPD chlorpyrifos-methyl kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	42717	56704	47251
10	76886	70335	67243
25	212235	198587	200577
100	707738	856642	817826
250	2064270	2289682	2245807
500	4096731	4349173	4693818

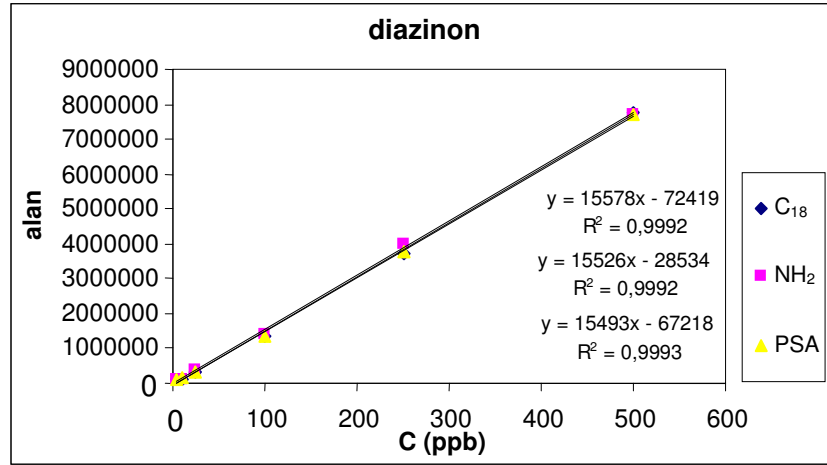
Çizelge 3.3.1.3.7. Otomatik C₁₈, NH₂ ve PSA SPE metodu NPD parathion-methyl kalibrasyon grafiği verileri

C (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	72915	59054	62230
10	96503	78750	84483
25	217280	214443	175328
100	824584	834605	868884
250	2350555	2279408	2294856
500	4759411	4745872	4821540

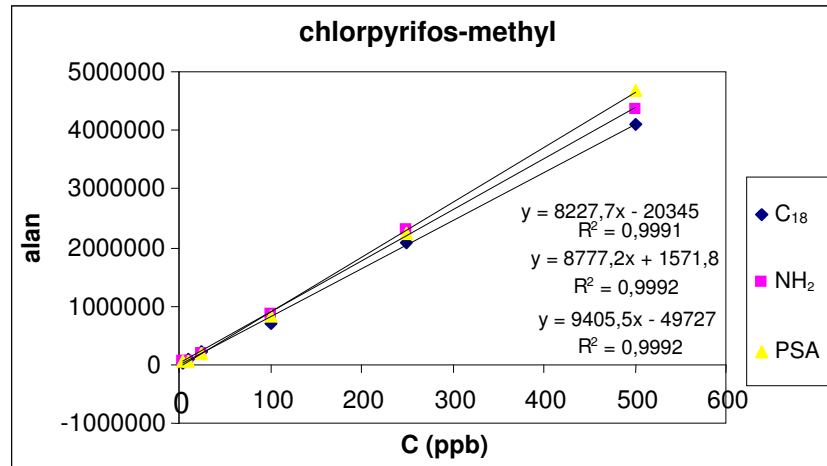
Çizelge 3.3.1.3.8. Otomatik C₁₈, NH₂ ve PSA SPE metodu NPD chlorpyrifos-ethyl kalibrasyon grafiği verileri

Konsantrasyon (ppb)	Ortalama alan değerleri		
	C ₁₈	NH ₂	PSA
5	76013	52538	64776
10	94713	72383	110713
25	237082	191933	215354
100	829206	830543	912901
250	2189761	2404136	2121116
500	4587044	4679910	4483318

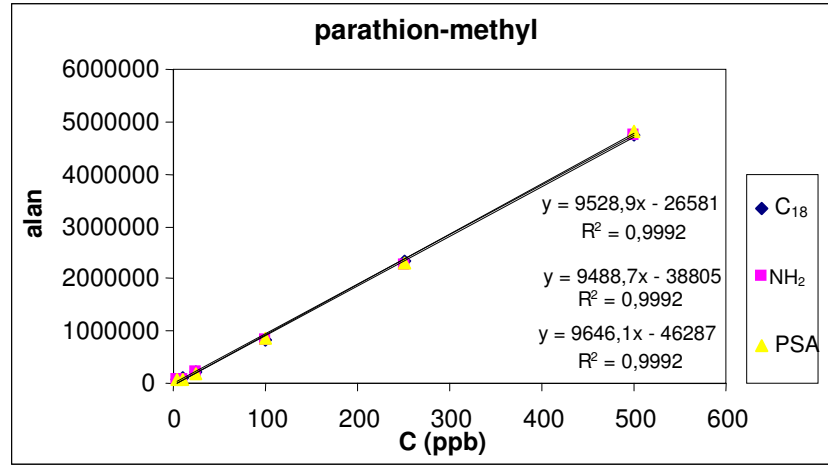
Şekil 3.3.1.3.5.'de NPD diazinon C₁₈, NH₂ ve PSA, Şekil 3.3.1.3.6.'da NPD chlorpyrifos-methyl C₁₈, NH₂ ve PSA, Şekil 3.3.1.3.7.'de NPD parathion-methyl C₁₈, NH₂ ve PSA ve Şekil 3.3.1.3.8.'de NPD chlorpyrifos-ethyl C₁₈, NH₂ ve PSA doğrusallık grafikleri verilmiştir.



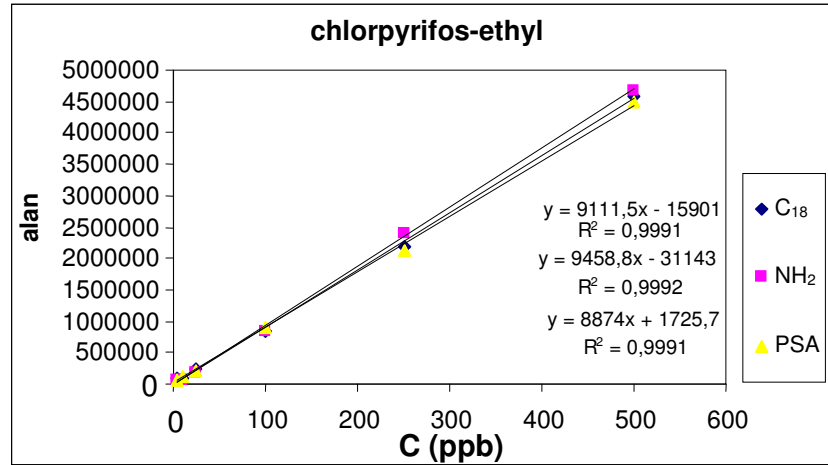
Şekil 3.3.1.3.5. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD diazinon doğrusallık grafikleri



Şekil 3.3.1.3.6. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-methyl doğrusallık grafikleri



Şekil 3.3.1.3.7. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD parathion-methyl doğrusallık grafikleri



Şekil 3.3.1.3.8. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-ethyl doğrusallık grafikleri

3.3.1.4. LOD ve LOQ sonuçları

4 farklı günde ve 3 paralel kiraz blank örneğine (SPE temizleme işleminden geçirilmiş) 5 ppb olacak şekilde mix standart eklenerek 2'şer kere GC-FPD ve GC-NPD'e enjeksiyon yapılmış ve bulunan değerlerin genel standart sapması

hesaplanmıştır. Belirleme sınırı (LOD) standart sapmanın 3 katı ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) standart sapmanın 10 katı alınarak belirlenmiştir.

a) GC-FPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.4.1.'de C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile yapılan LOD çalışmalarının ortalama sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.4.1. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD LOD-LOQ değerleri

Pestisit	Ortalama değerler (µg/kg)					
	C ₁₈		NH ₂		PSA	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Diazinon	0,9	3,1	1,0	3,3	0,7	2,5
Chlorpyrifos-methyl	1,0	3,3	1,0	3,2	1,0	3,4
Parathion-methyl	0,9	3,1	1,0	3,3	1,0	3,2
Chlorpyrifos-methyl	1,0	3,2	0,9	3,0	0,8	2,8

b) GC-NPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.4.2.'de C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile yapılan LOD çalışmalarının ortalama sonuçları verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.4.2. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD LOD-LOQ değerleri

Pestisit	Ortalama değerler (µg/kg)					
	C ₁₈		NH ₂		PSA	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Diazinon	1,5	4,9	1,4	4,6	1,4	4,6
Chlorpyrifos-methyl	1,4	4,6	1,4	4,7	1,5	4,8
Parathion-methyl	1,4	4,7	1,4	4,5	1,4	4,6
Chlorpyrifos-methyl	1,4	4,6	1,4	4,8	1,3	4,5

3.3.1.5. Geri kazanım sonuçları

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnekler ile 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılmış, ortalamalarından % geri kazanım hesaplanmıştır.

a) GC-FPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.5.1.'de C₁₈, Çizelge 3.3.1.5.2.'de NH₂ ve Çizelge 3.3.1.5.3.'de PSA kartuşları ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD'deki ortalama % geri kazanım değerleri (% R) ve % bağıl standart sapmaları (% RSD) verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.5.1. Otomatik SPE-C₁₈ metodu FPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	85,3	6,0	85,6	5,4	96,5	3,7	96,2	5,5
Chlorpyrifos-methyl	85,4	8,6	85,2	7,5	95,3	6,4	95,9	5,0
Parathion-methyl	85,8	8,1	85,0	7,7	95,5	5,0	96,5	5,5
Chlorpyrifos-ethyl	85,6	7,4	85,7	8,1	96,7	5,5	94,4	6,5

Çizelge 3.3.1.5.2. Otomatik SPE-NH₂ metodu FPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	88,5	6,2	88,1	7,6	98,3	4,0	97,5	3,7
Chlorpyrifos-methyl	86,2	6,0	85,6	5,6	97,9	6,0	99,2	3,6
Parathion-methyl	85,9	6,4	86,2	7,2	99,4	3,0	98,7	3,0
Chlorpyrifos-ethyl	87,4	5,5	87,2	6,4	99,4	3,0	98,5	4,2

Çizelge 3.3.1.5.3. Otomatik SPE-PSA metodu FPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	88,8	6,2	89,9	7,0	99,0	3,7	100,6	4,6
Chlorpyrifos-methyl	89,5	7,0	89,0	7,1	98,4	4,5	98,0	4,5
Parathion-methyl	89,9	7,4	87,4	7,1	99,0	3,3	99,4	4,4
Chlorpyrifos-ethyl	90,0	5,5	86,9	5,8	100	4,8	99,2	5,1

b) GC-NPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.5.4.'de C₁₈, Çizelge 3.3.1.5.5.'de NH₂ ve Çizelge 3.3.1.5.6.'da PSA kartuşları ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD'deki ortalama % geri kazanım değerleri (% R) ve % bağıl standart sapmaları (% RSD) verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.5.4. Otomatik SPE-C₁₈ metodu NPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	84,7	6,3	84,3	7,0	97,3	6,1	96,3	5,6
Chlorpyrifos-methyl	86,0	7,9	84,4	8,0	95,4	6,7	94,0	5,8
Parathion-methyl	83,5	8,6	84,6	8,5	92,7	6,9	95,3	6,3
Chlorpyrifos-ethyl	83,3	8,0	84,1	8,7	96,5	6,1	93,5	7,3

Çizelge 3.3.1.5.5. Otomatik SPE-NH₂ metodu NPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	87,2	7,5	87,9	7,4	94,9	7,5	96,7	5,9
Chlorpyrifos-methyl	85,0	7,7	84,7	6,7	95,4	6,6	96,4	5,5
Parathion-methyl	84,1	7,0	83,8	7,3	97,4	5,2	97,6	5,6
Chlorpyrifos-ethyl	85,7	6,2	86,3	9,1	98,7	4,2	97,3	4,7

Çizelge 3.3.1.5.6. Otomatik SPE-PSA metodu NPD ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri

Pestisit	10 µg/kg				250 µg/kg			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)	% R	% RSD (n=12)
Diazinon	87,8	7,9	88,5	6,1	96,5	7,1	94,8	6,4
Chlorpyrifos-methyl	86,5	7,6	87,0	8,3	97,1	5,8	97,0	5,4
Parathion-methyl	85,2	8,5	85,9	7,8	99,7	5,1	99,0	5,1
Chlorpyrifos-ethyl	83,7	4,5	84,3	7,4	96,4	5,3	98,1	5,4

3.3.1.6. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Kiraz ve biber blank'i içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnek ile metodun aynı gün ve farklı gün tekrarlanabilirliği belirlenmiştir. Aynı gün içinde 3'er paralel 2'şer kere enjekte edilerek aynı gün tekrarlanabilirlik, 4 farklı günde 3'er paralel analiz ve 2'şer enjeksiyon yapılarak farklı gün tekrarlanabilirlik yani tekrar üretilebilirlik hesaplanmıştır.

a) GC-FPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.6.1.'de C₁₈, Çizelge 3.3.1.6.2.'de NH₂ ve Çizelge 3.3.1.6.3.'de PSA kartuşları ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD'deki ortalama tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.6.1. Otomatik SPE-C₁₈ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	4,8	5,8	3,4	5,7	3,1	3,2	4,3	4,5
Chlorpyrifos-methyl	7,2	7,7	6,4	7,6	5,2	5,8	3,4	4,6
Parathion-methyl	5,7	8,5	6,2	8,0	3,1	5,3	4,6	5,2
Chlorpyrifos-ethyl	4,2	4,9	5,2	8,7	2,4	5,9	4,5	6,4

Çizelge 3.3.1.6.2. Otomatik SPE-NH₂ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	3,9	6,4	4,3	8,1	1,6	4,4	3,4	3,7
Chlorpyrifos-methyl	3,9	6,2	5,5	5,6	4,7	5,1	3,5	3,7
Parathion-methyl	4,8	6,1	5,4	6,9	2,7	3,2	2,8	3,2
Chlorpyrifos-ethyl	4,6	5,1	2,8	6,7	4,6	5,0	3,4	4,4

Çizelge 3.3.1.6.3. Otomatik SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin FPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	3,3	6,5	4,6	7,4	3,3	3,6	2,3	4,8
Chlorpyrifos-methyl	5,2	6,9	3,4	7,7	4,0	4,7	3,1	4,0
Parathion-methyl	3,8	7,7	5,8	5,9	3,1	3,2	3,6	3,9
Chlorpyrifos-ethyl	4,2	4,9	4,6	6,1	4,5	4,5	3,8	5,3

b) GC-NPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.6.4.'de C₁₈, Çizelge 3.3.1.6.5.'de NH₂ ve Çizelge 3.3.1.6.6.'da PSA kartuşları ile kiraz ve biber örneklerindeki 10 ppb ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD'deki ortalama tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.6.4. Otomatik SPE-C₁₈ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	5,6	6,2	3,1	7,3	6,6	7,5	5,6	5,6
Chlorpyrifos-methyl	6,2	8,3	5,5	7,6	5,4	5,6	4,2	6,2
Parathion-methyl	6,1	9,2	4,9	8,8	5,2	6,8	4,8	5,5
Chlorpyrifos-ethyl	2,6	8,7	4,3	8,5	4,6	5,5	6,1	6,3

Çizelge 3.3.1.6.5. Otomatik SPE-NH₂ metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	5,9	7,2	6,5	7,1	6,1	7,8	4,0	6,0
Chlorpyrifos-methyl	4,1	8,1	4,2	7,2	5,0	7,1	3,5	5,6
Parathion-methyl	6,4	7,3	6,3	7,7	3,8	4,8	3,3	5,8
Chlorpyrifos-ethyl	4,7	5,3	4,2	9,8	3,6	3,9	3,6	4,9

Çizelge 3.3.1.6.6. Otomatik SPE-PSA metodu kiraz ve biber örneklerindeki 10 ve 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin NPD tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Pestisit	% RSD (10 µg/kg)				% RSD (250 µg/kg)			
	Kiraz		Biber		Kiraz		Biber	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Diazinon	5,8	7,5	5,8	6,6	4,5	6,8	3,0	6,7
Chlorpyrifos-methyl	4,6	7,8	7,7	8,8	3,6	6,1	4,3	5,0
Parathion-methyl	6,0	8,1	5,2	7,6	3,7	4,4	5,1	5,3
Chlorpyrifos-ethyl	4,2	4,5	5,2	7,3	3,5	5,3	3,6	4,8

3.3.1.7. Otomatik katı-faz ekstraksiyon metodu validasyon raporları

Otomatik katı-faz ekstraksiyon metodu C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar validasyon raporlarında toplu olarak gösterilmiştir.

a) GC-FPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.7.1.'de diazinon validasyon raporu, Çizelge 3.3.1.7.2.'de chlorpyrifos-methyl validasyon raporu, Çizelge 3.3.1.7.3.'de parathion-methyl validasyon raporu ve Çizelge 3.3.1.7.4.'de chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.7.1. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD diazinon validasyon raporu

Diazinon Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C₁₈				NH₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9996				5-500 µg/kg 0,9997				5-500 µg/kg 0,9998			
Belirleme Sınırı (LOD)	0,9 µg/kg				1,0 µg/kg				0,7 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,1 µg/kg				3,3 µg/kg				2,5 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	85,3	85,6	96,5	96,2	88,5	88,1	98,3	97,5	88,8	89,9	99,0	100,6
Tekrarlanabilirlik, % RSD	4,8	3,4	3,1	4,3	3,9	4,3	1,6	3,4	3,3	4,6	3,3	2,3
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	5,8	5,7	3,2	4,5	6,4	8,1	4,4	3,7	6,5	7,4	3,6	4,8

Çizelge 3.3.1.7.2. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-methyl validasyon raporu

Chlorpyrifos-methyl Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C₁₈				NH₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9996				5-500 µg/kg 0,9995				5-500 µg/kg 0,9997			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,0 µg/kg				1,0 µg/kg				1,0 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,3 µg/kg				3,2 µg/kg				3,4 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	85,4	85,2	95,3	95,9	86,2	85,6	97,9	99,2	89,5	89,0	98,4	98,0
Tekrarlanabilirlik, % RSD	7,2	6,4	5,2	3,4	3,9	5,5	4,7	3,5	5,2	3,4	4,0	3,1
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	7,7	7,6	5,8	4,6	6,2	5,6	5,1	3,7	6,9	7,7	4,7	4,0

Çizelge 3.3.1.7.3. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD parathion-methyl validasyon raporu

Parathion-methyl Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C₁₈				NH₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9995				5-500 µg/kg 0,9995				5-500 µg/kg 0,9997			
Belirleme Sınırı (LOD)	0,9 µg/kg				1,0 µg/kg				1,0 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,1 µg/kg				3,3 µg/kg				3,2 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	85,8	85,0	95,5	96,5	85,9	86,2	99,4	98,7	89,9	87,4	99,0	99,4
Tekrarlanabilirlik, % RSD	5,7	6,2	3,1	4,6	4,8	5,4	2,7	2,8	3,8	5,8	3,1	3,6
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	8,5	8,0	5,3	5,2	6,1	6,9	3,2	3,2	7,7	5,9	3,2	3,9

Çizelge 3.3.1.7.4. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu FPD chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu

Chlorpyrifos-ethyl Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C₁₈				NH₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9997				5-500 µg/kg 0,9996				5-500 µg/kg 0,9997			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,0 µg/kg				0,9 µg/kg				0,8 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	3,2 µg/kg				3,0 µg/kg				2,8 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	85,6	85,7	96,7	94,4	87,4	87,2	99,4	98,5	90,0	86,9	100	99,2
Tekrarlanabilirlik, % RSD	4,2	5,2	2,4	4,5	4,6	2,8	4,6	3,4	4,2	4,6	4,5	3,8
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	4,9	8,7	5,9	6,4	5,1	6,7	5,0	4,4	4,9	6,1	4,5	5,3

b) GC-NPD çalışmaları

Çizelge 3.3.1.7.5.'de diazinon validasyon raporu, Çizelge 3.3.1.7.6.'da chlorpyrifos-methyl validasyon raporu, Çizelge 3.3.1.7.7.'de parathion-methyl validasyon raporu ve Çizelge 3.3.1.7.8.'de chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.7.5. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD diazinon validasyon raporu

Diazinon Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C ₁₈				NH ₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9992				5-500 µg/kg 0,9992				5-500 µg/kg 0,9993			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,5 µg/kg				1,4 µg/kg				1,4 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	4,9 µg/kg				4,6 µg/kg				4,6 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	84,7	84,3	97,3	96,3	87,2	87,9	94,9	96,7	87,8	88,5	96,5	94,8
Tekrarlanabilirlik, % RSD	5,6	3,1	6,6	5,6	5,9	6,5	6,1	4,0	5,8	5,8	4,5	3,0
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	6,2	7,3	7,5	5,6	7,2	7,1	7,8	6,0	7,5	6,6	6,8	6,7

Çizelge 3.3.1.7.6. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-methyl validasyon raporu

Chlorpyrifos-methyl Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C ₁₈				NH ₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9991				5-500 µg/kg 0,9992				5-500 µg/kg 0,9992			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,4 µg/kg				1,4 µg/kg				1,5 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	4,6 µg/kg				4,7 µg/kg				4,8 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	86,0	84,4	95,4	94,0	85,0	84,7	95,4	96,4	86,5	87,0	97,1	97,0
Tekrarlanabilirlik, % RSD	6,2	5,5	5,4	4,2	4,1	4,2	5,0	3,5	4,6	7,7	3,6	4,3
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	8,3	7,6	5,6	6,2	8,1	7,2	7,1	5,6	7,8	8,8	6,1	5,0

Çizelge 3.3.1.7.7. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD parathion-methyl validasyon raporu

Parathion-methyl Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C₁₈				NH₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9992				5-500 µg/kg 0,9992				5-500 µg/kg 0,9992			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,4 µg/kg				1,4 µg/kg				1,4 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	4,7 µg/kg				4,5 µg/kg				4,6 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	83,5	84,6	92,7	95,3	84,1	83,8	97,4	97,6	85,2	85,9	99,7	99,0
Tekrarlanabilirlik, % RSD	6,1	4,9	5,2	4,8	6,4	6,3	3,8	3,3	6,0	5,2	3,7	5,1
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	9,2	8,8	6,8	5,5	7,3	7,7	4,8	5,8	8,1	7,6	4,4	5,3

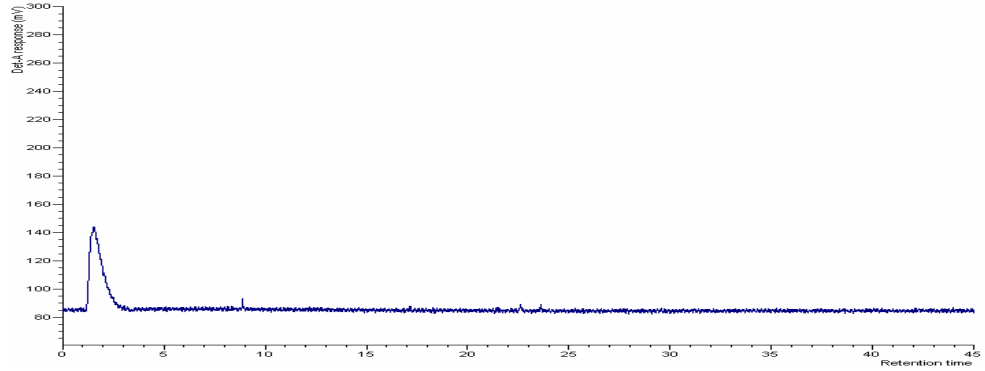
Çizelge 3.3.1.7.8. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu NPD chlorpyrifos-ethyl validasyon raporu

Chlorpyrifos-ethyl Validasyon Sonuçları												
Analitik Parametreler	C₁₈				NH₂				PSA			
Çalışılan Doğrusal Aralık r ²	5-500 µg/kg 0,9991				5-500 µg/kg 0,9992				5-500 µg/kg 0,9991			
Belirleme Sınırı (LOD)	1,4 µg/kg				1,4 µg/kg				1,3 µg/kg			
Kantitatif Tayin Sınırı (LOQ)	4,6 µg/kg				4,8 µg/kg				4,5 µg/kg			
	10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg		10 µg/kg		250 µg/kg	
	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber	kiraz	biber
% Geri Kazanım	83,3	84,1	96,5	93,5	85,7	86,3	98,7	97,3	83,7	84,3	96,4	98,1
Tekrarlanabilirlik, % RSD	2,6	4,3	4,6	6,1	4,7	4,2	3,6	3,6	4,2	5,2	3,5	3,6
Tekrar üretilebilirlik, % RSD	8,7	8,5	5,5	6,3	5,3	9,8	3,9	4,9	4,5	7,3	5,3	4,8

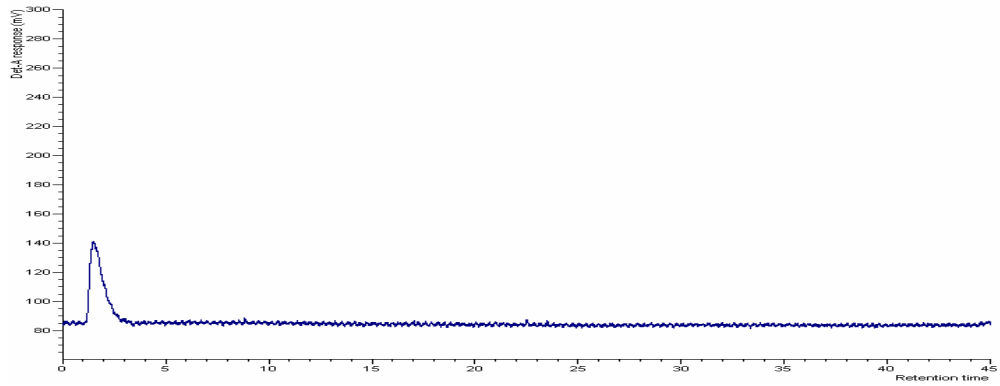
3.3.1.8. Otomatik katı-faz ekstraksiyon metodu GC-FPD, GC-NPD ve GC-MS kromatogramları

a) GC-FPD kromatogramları

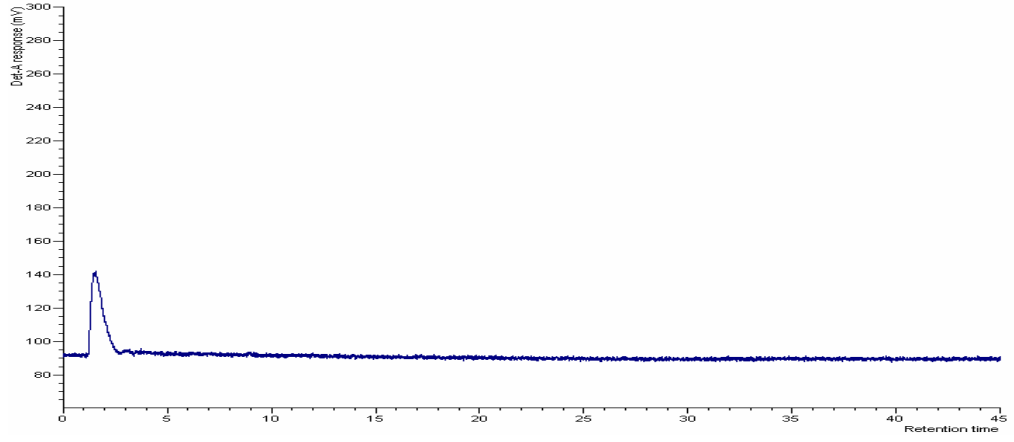
GC-FPD analizlerinde kullanılan temizleme kartuş çeşidinin kromatogramlar açısından bir fark yaratmadığı, C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile çalışılan kiraz ve biber blank kromatogramlarının tamamen aynı olduğu Şekil 3.3.1.8.1. ve Şekil 3.3.1.8.2.'de gösterilmiştir. GC-FPD'ün fosforlu bileşiklere karşı oldukça seçici olması nedeniyle Şekil. 3.3.1.8.3.'de sadece PSA temizleme kromatogramlarının verilmesi yeterli olmuştur.



C₁₈ temizleme blank kiraz

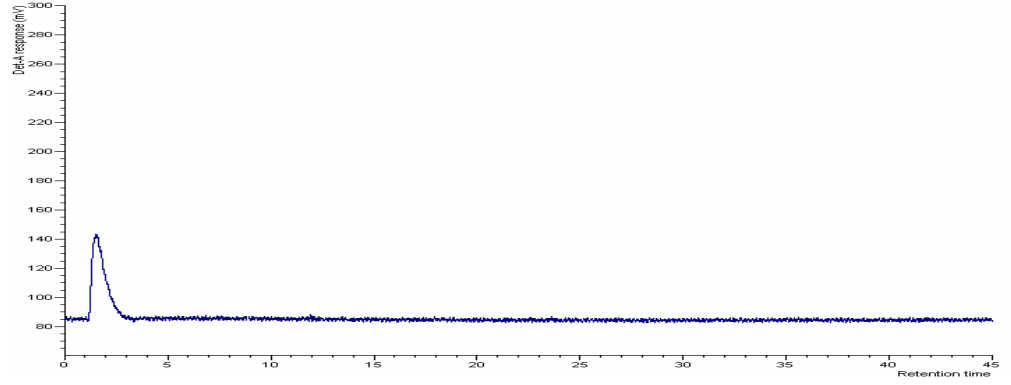
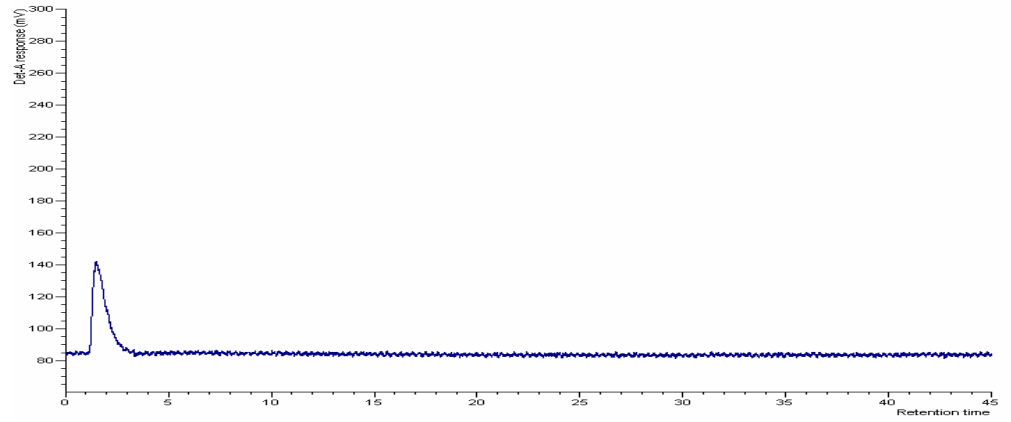


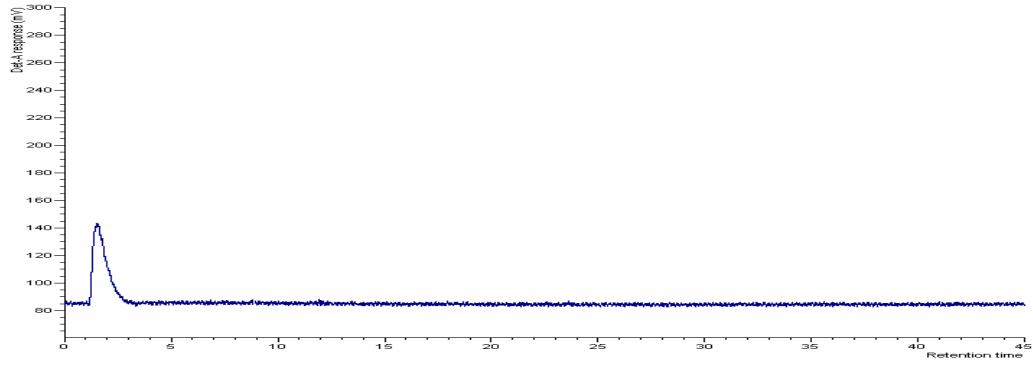
NH₂ temizleme blank kiraz



PSA temizleme blank kiraz

Şekil 3.3.1.8.1. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu GC-FPD blank kiraz kromatogramları

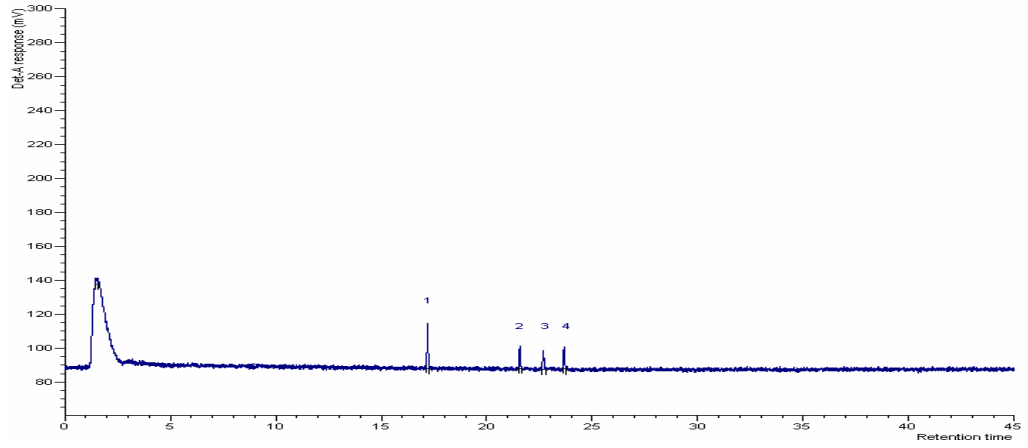
C₁₈ temizleme blank biberNH₂ temizleme blank biber



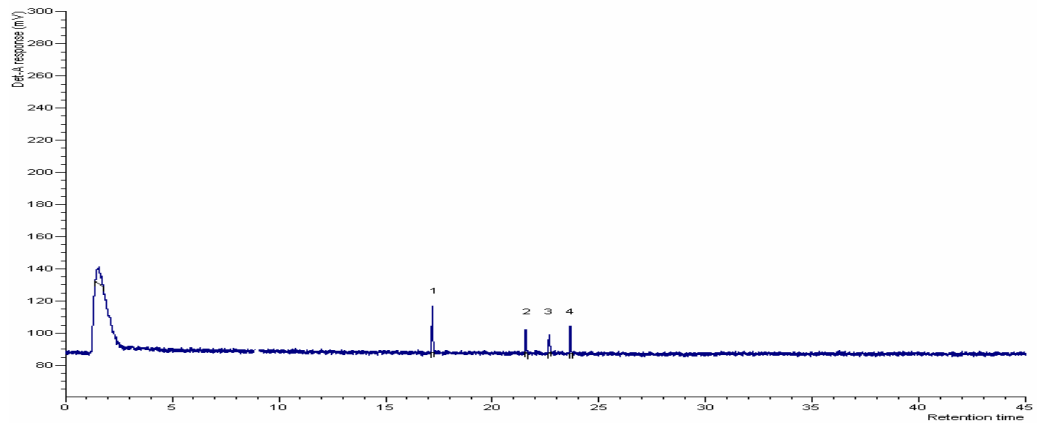
PSA temizleme blank kiraz

Şekil 3.3.1.8.2. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu GC-FPD blank biber kromatogramları

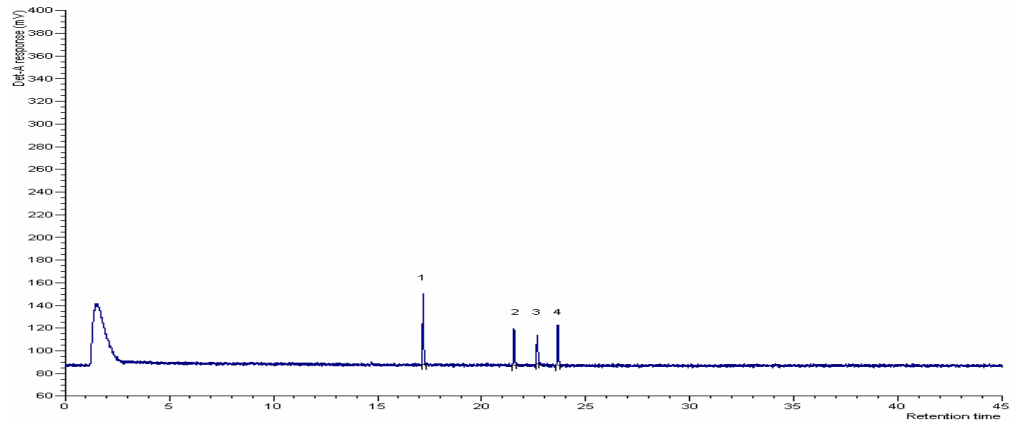
PSA temizleme kartuşlarından geçmiş blank ile hazırlanmış matrix-matched GC-FPD 5-500 ppb standart kromatogramları Şekil. 3.3.1.8.3.'de aşağıda verilmiştir.



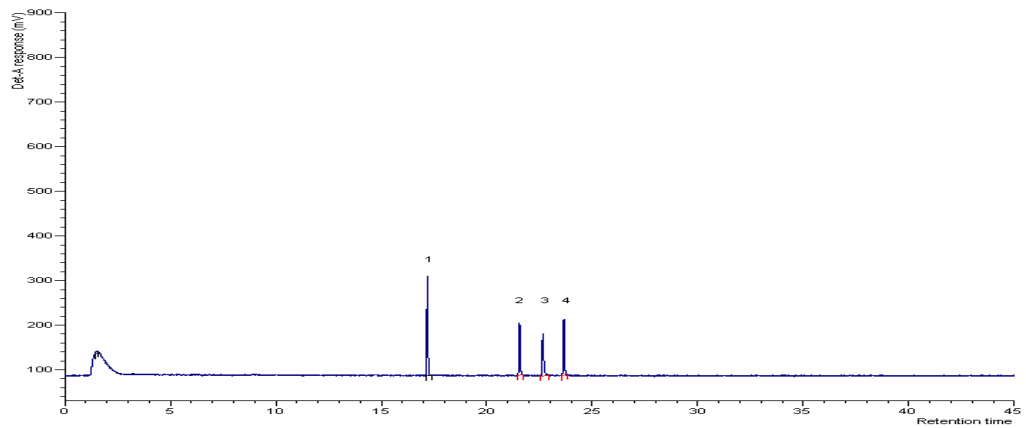
5 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



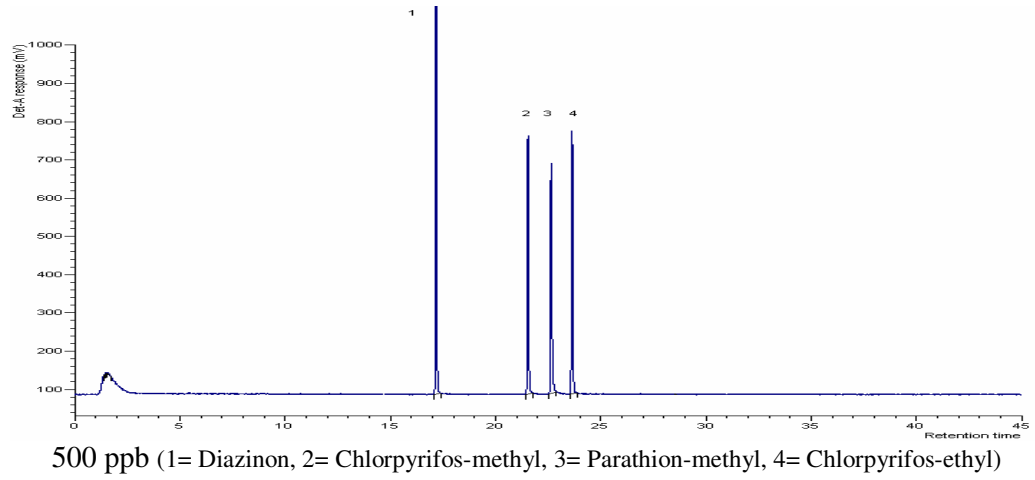
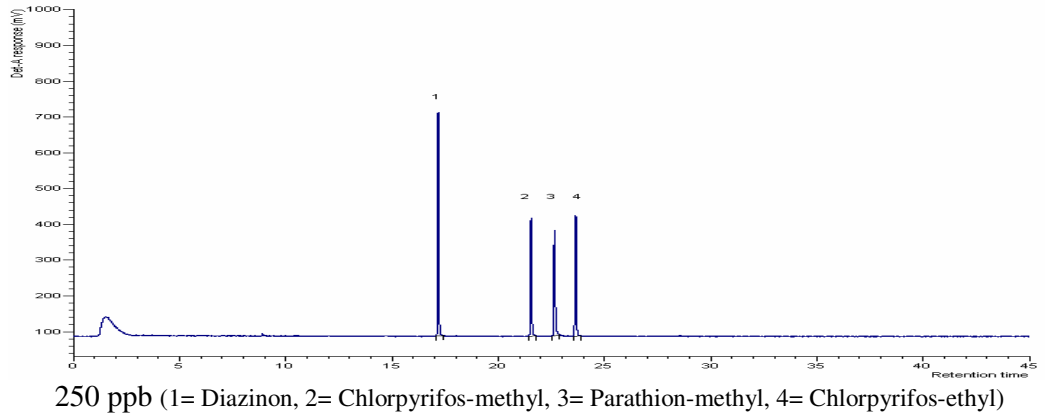
10 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



25 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

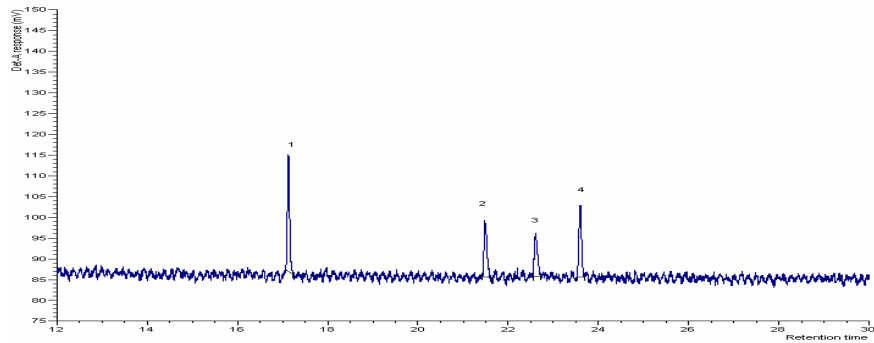


100 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



Şekil 3.3.1.8.3. Otomatik SPE-PSA metodu GC-FPD kromatogramları

LOD ve LOQ düzeyinde PSA metodu GC-FPD kromatogramı Şekil 3.3.1.8.4.'de verilmiştir.



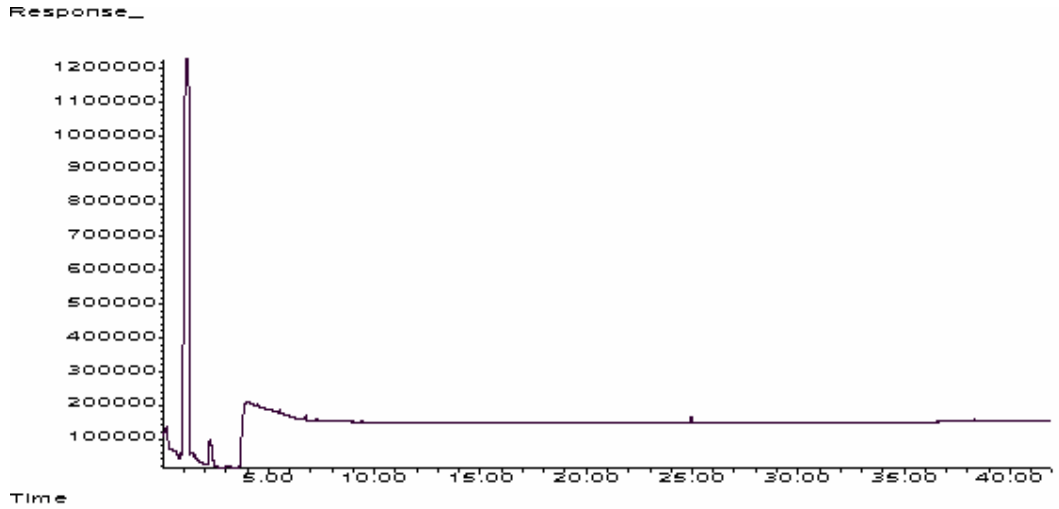
Şekil 3.3.1.8.4. Otomatik SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-FPD kromatogramı
(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

b) GC-NPD kromatogramları

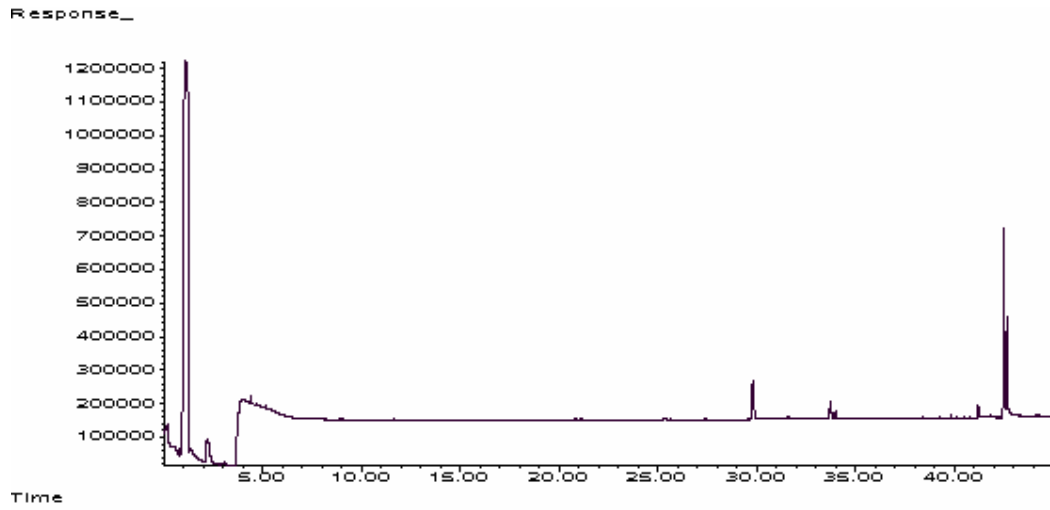
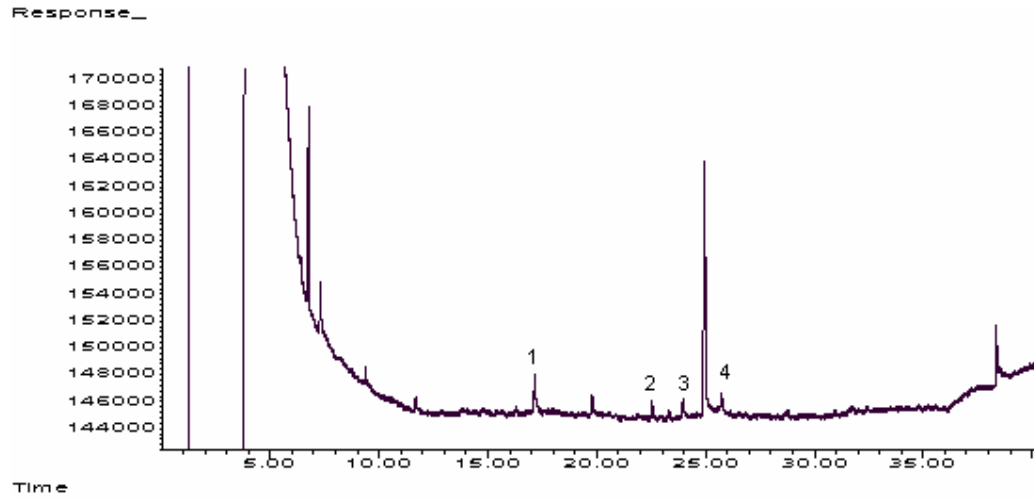
GC-NPD analizlerinde kullanılan temizleme kartuş çeşidinin kromatogramlar açısından az da olsa farklı olması nedeniyle, C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile yapılan blank ve blank ile hazırlanmış matrix-matched GC-NPD standart kromatogramları aşağıda verilmiştir.

•C₁₈ temizleme

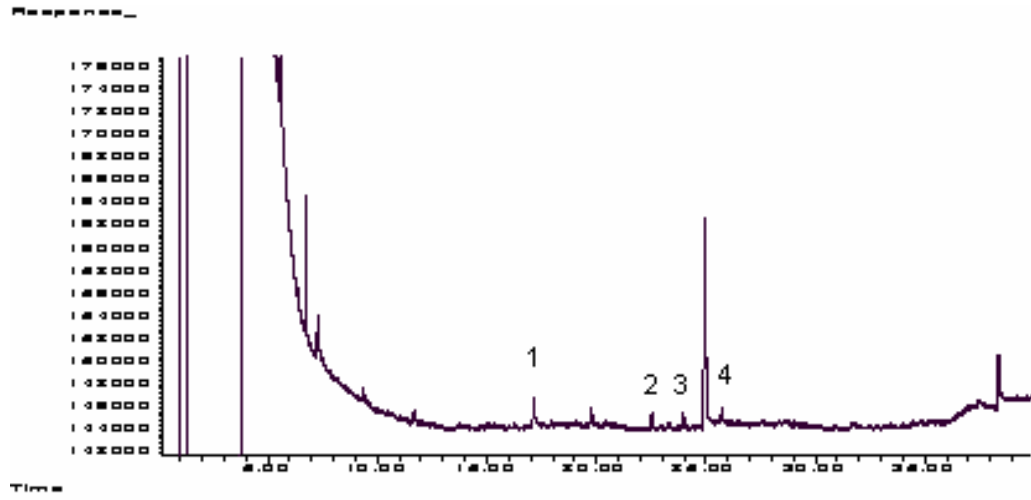
C₁₈ temizleme işleminden geçmiş blank kiraz, blank biber ve blank kiraz ile hazırlanan 5-500 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-NPD kromatogramları Şekil. 3.3.1.8.5.'de verilmiştir.



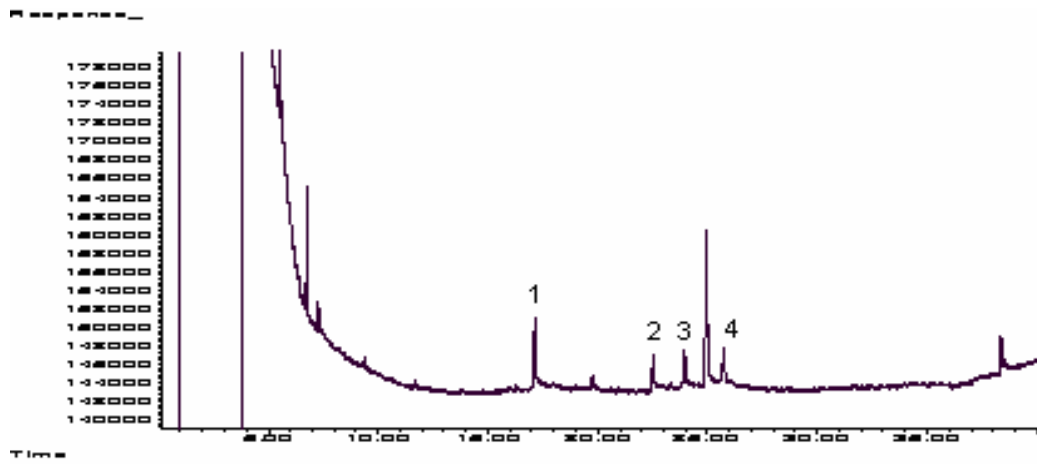
C₁₈ temizleme blank kiraz

C₁₈ temizleme blank biber

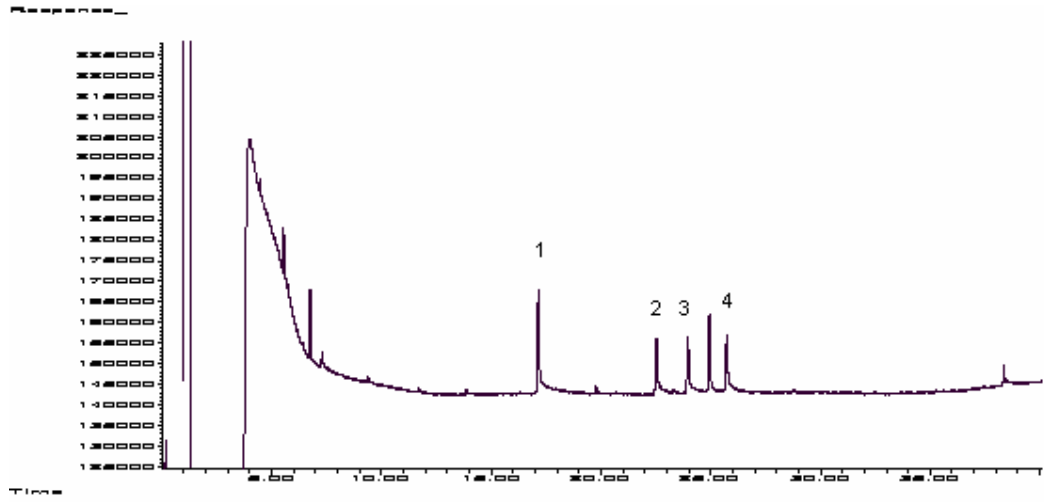
5 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



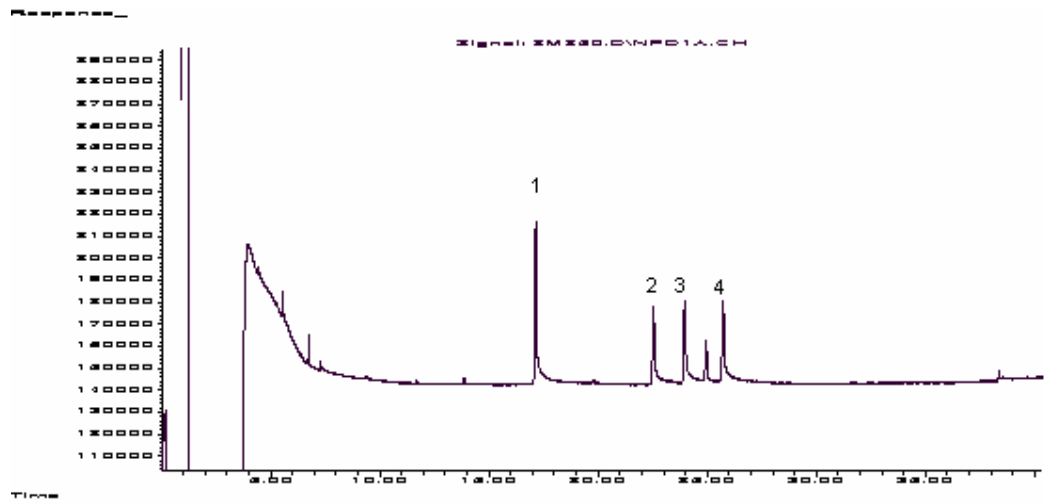
10 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



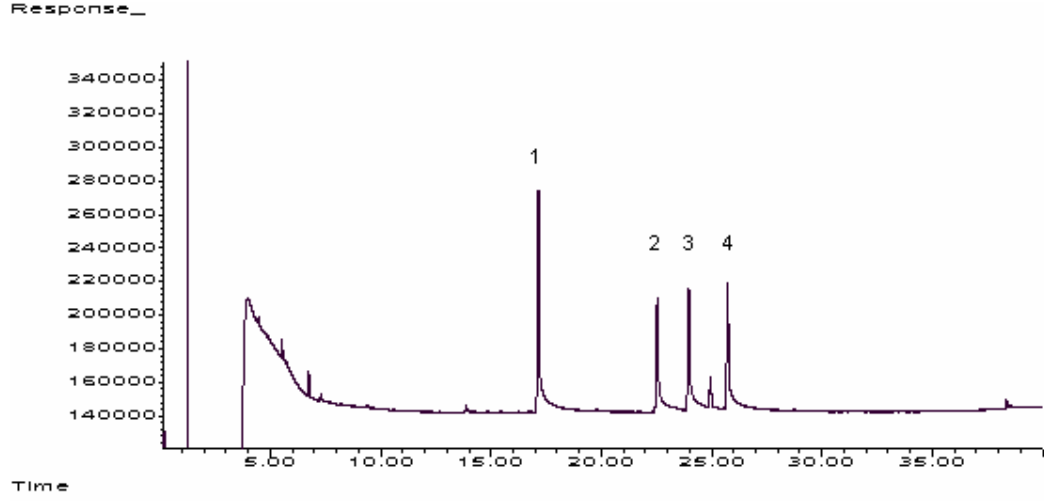
25 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



100 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



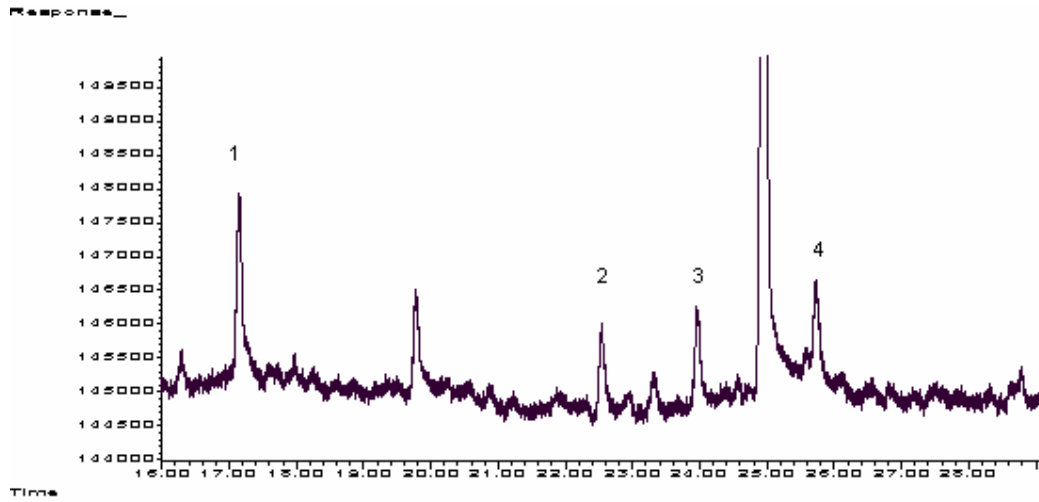
250 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



500 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

Şekil 3.3.1.8.5. Otomatik SPE-C₁₈ metodu GC-NPD kromatogramları

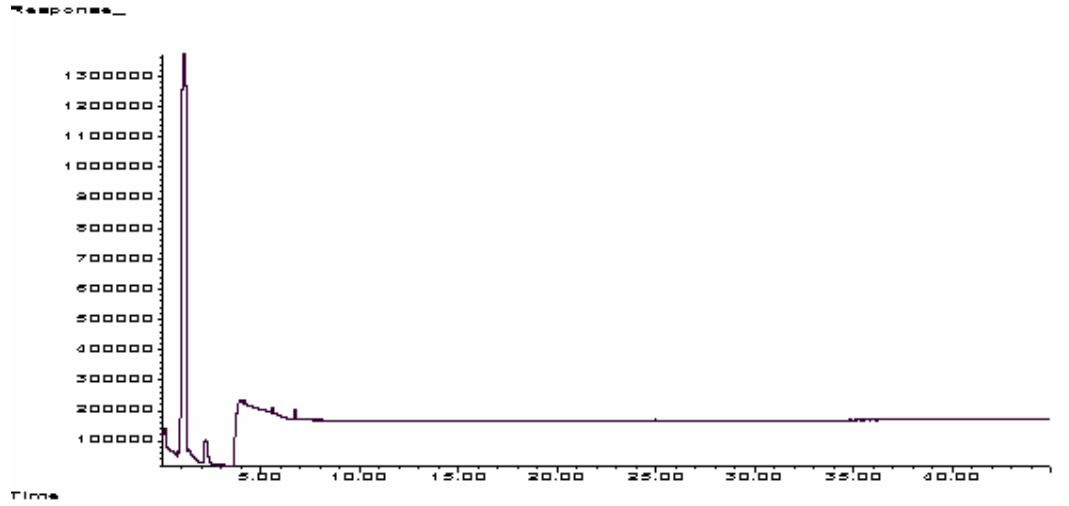
LOD ve LOQ düzeyinde C₁₈ metodu GC-NPD kromatogramı Şekil 3.3.1.8.6.'da verilmiştir.



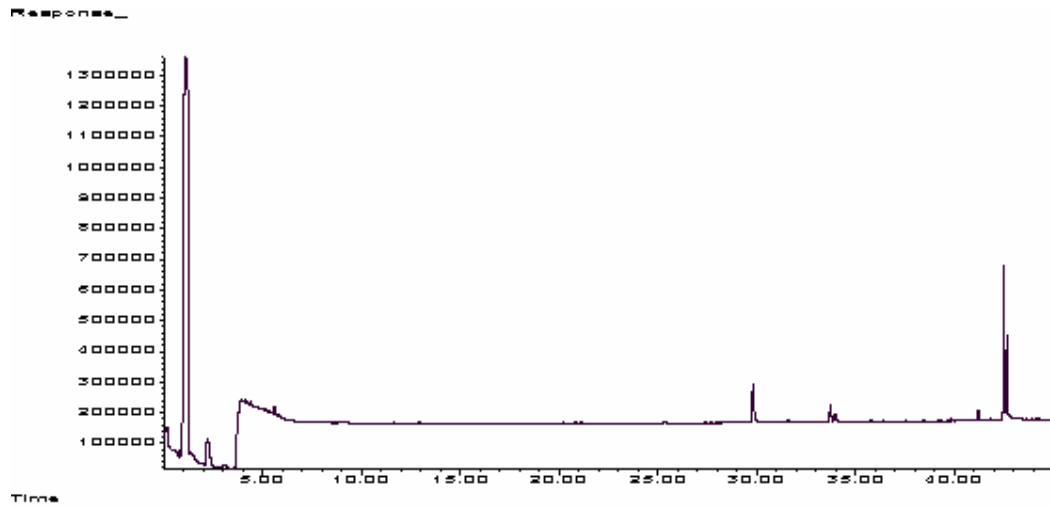
Şekil 3.3.1.8.6. Otomatik SPE-C₁₈ metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı
(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

- NH₂ temizleme

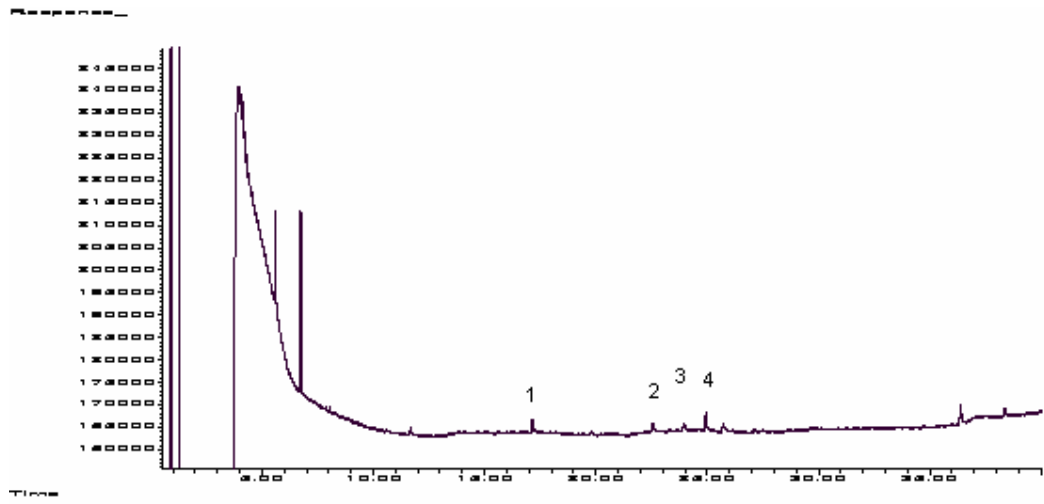
NH₂ temizleme işleminden geçmiş blank kiraz, blank biber ve blank kiraz ile hazırlanan 5-500 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-NPD kromtogramları Şekil. 3.3.1.8.7.'de verilmiştir.



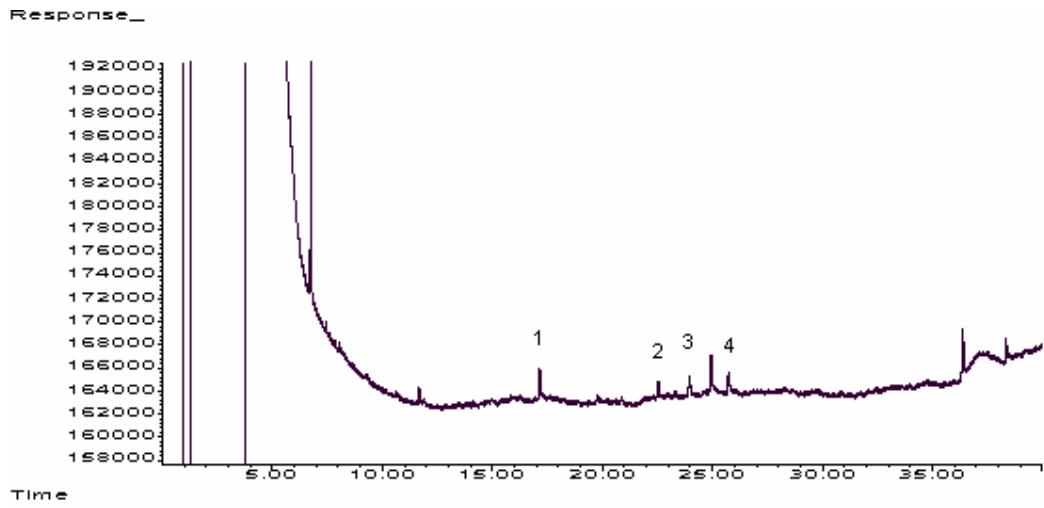
NH₂ temizleme blank kiraz



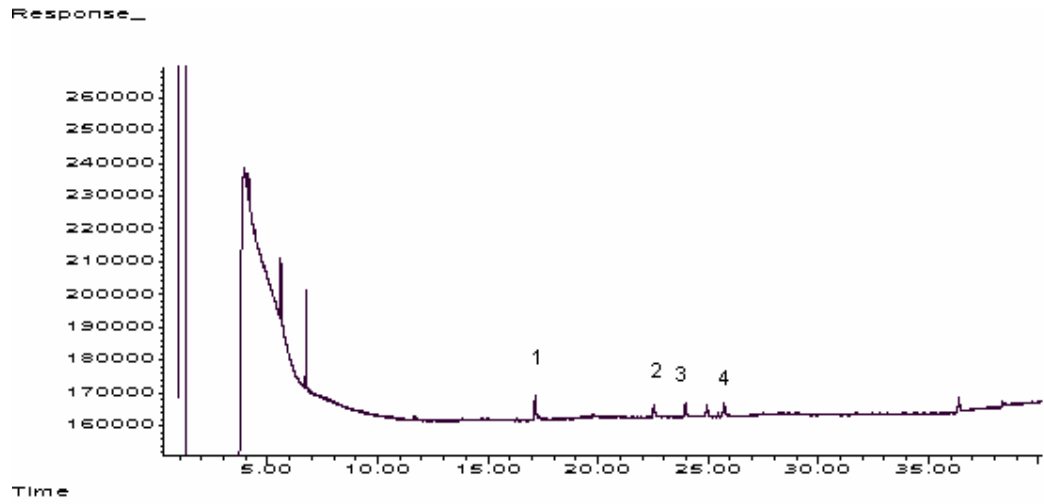
NH₂ temizleme blank biber



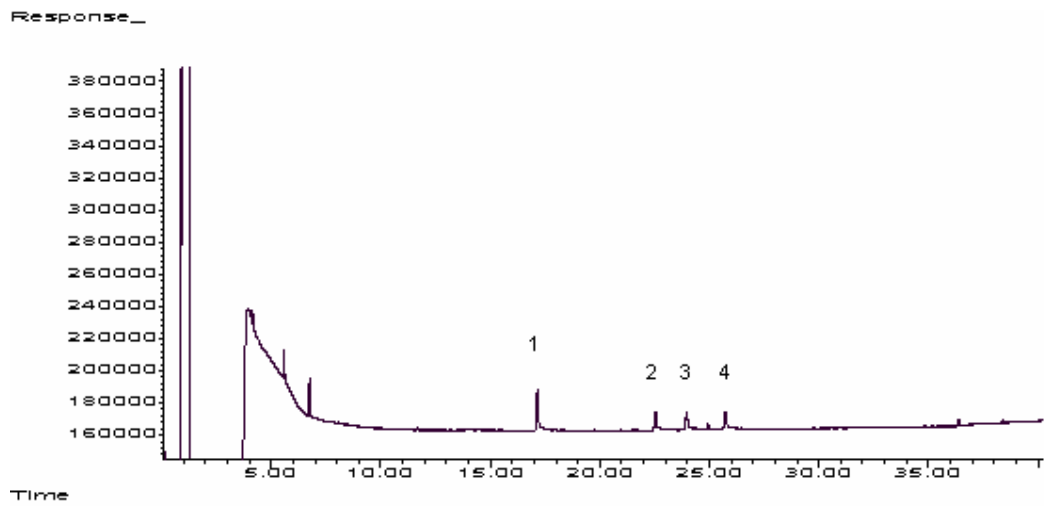
5 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



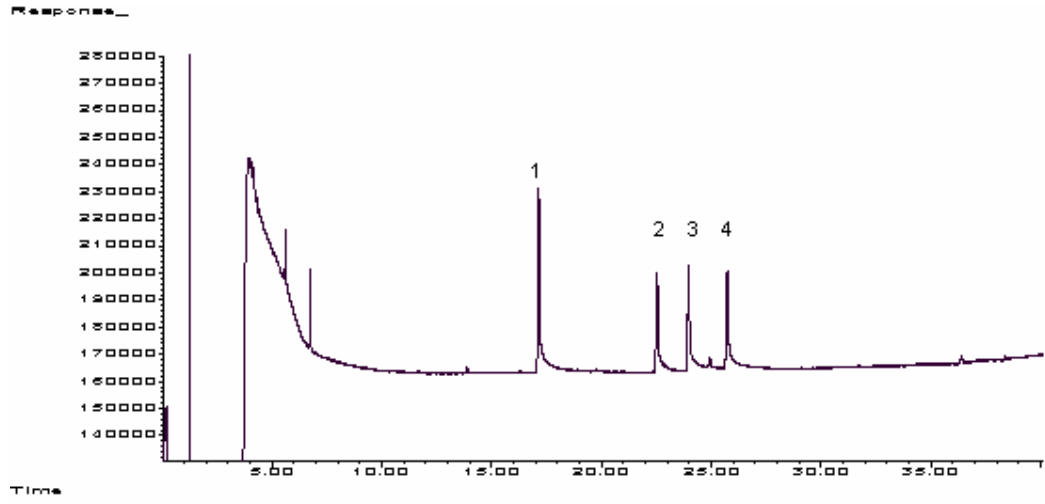
10 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



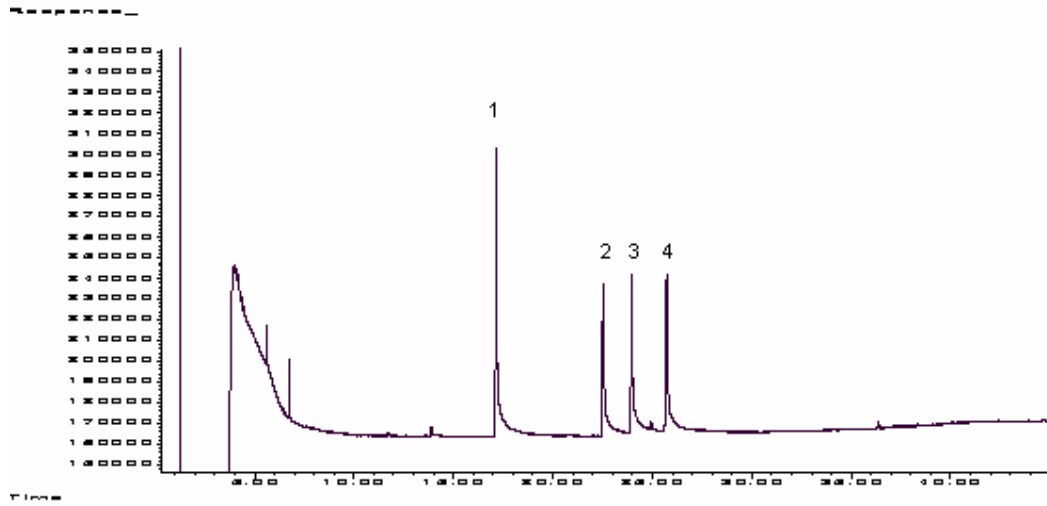
25 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



100 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



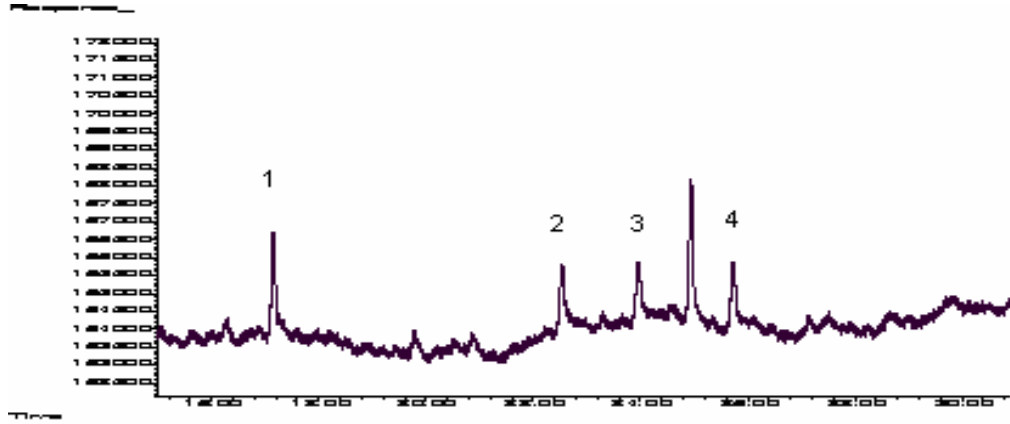
250 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



500 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

Şekil 3.3.1.8.7. Otomatik SPE-NH₂ metodu GC-NPD kromatogramları

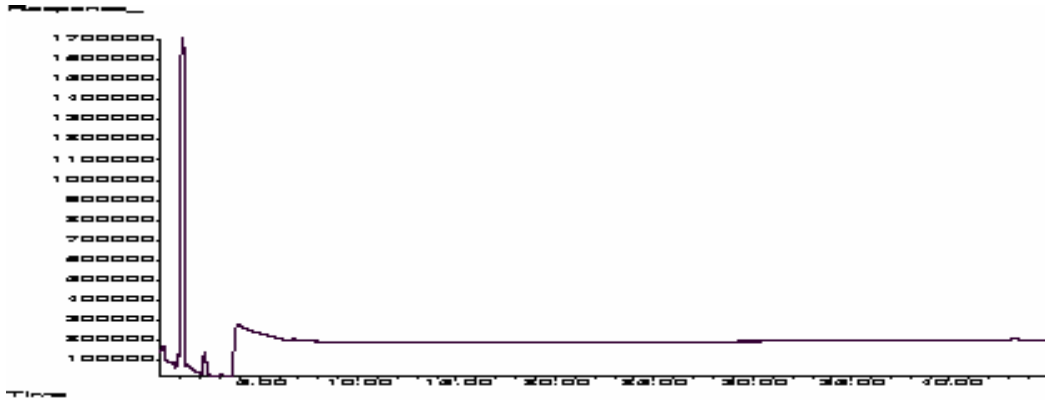
LOD ve LOQ düzeyinde NH₂ metodu GC-NPD kromatogramı Şekil 3.3.1.8.8.'de verilmiştir.



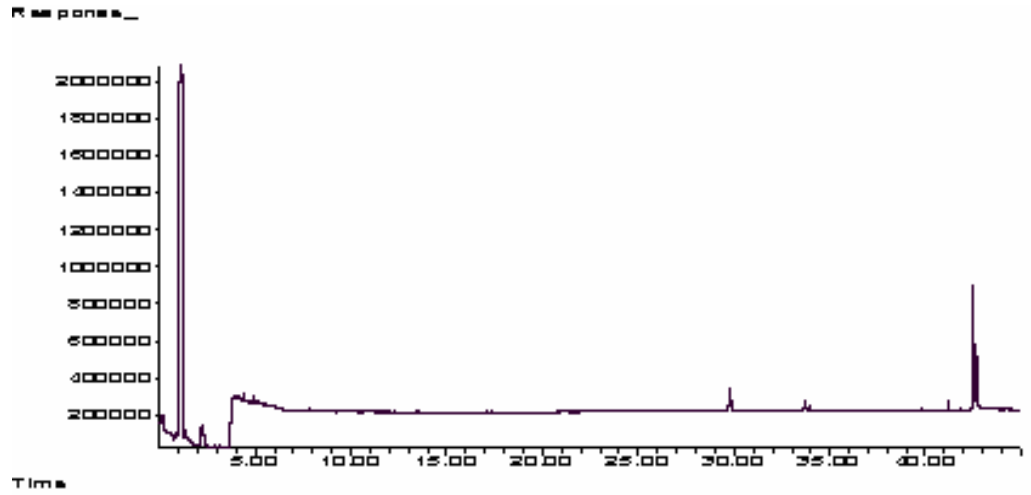
Şekil 3.3.1.8.8. Otomatik SPE-NH₂ metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

- PSA temizleme

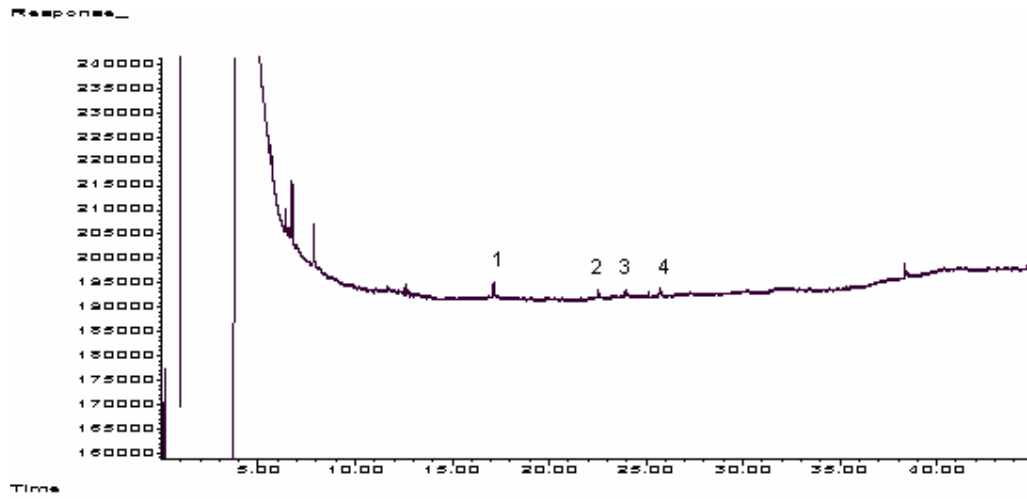
PSA temizleme işleminden geçmiş blank kiraz, blank biber ve blank kiraz ile hazırlanan 5-500 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-NPD kromtogramları Şekil. 3.3.1.8.9.'da verilmiştir.



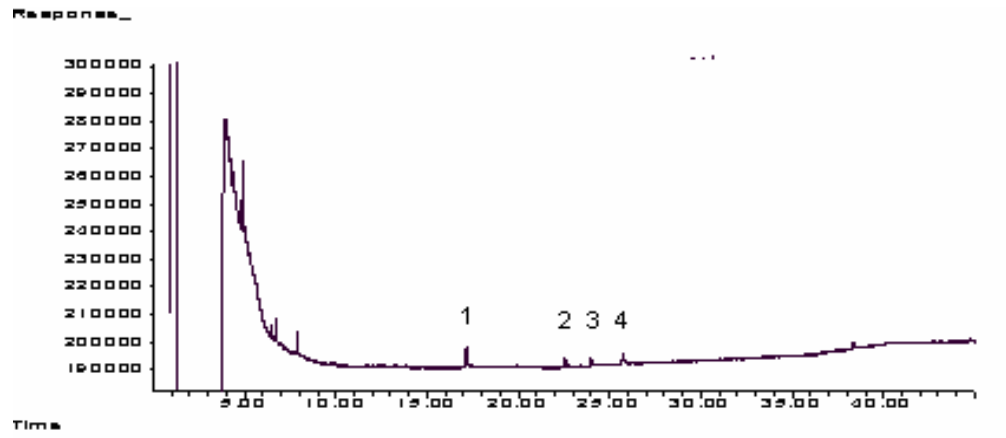
PSA temizleme blank kiraz



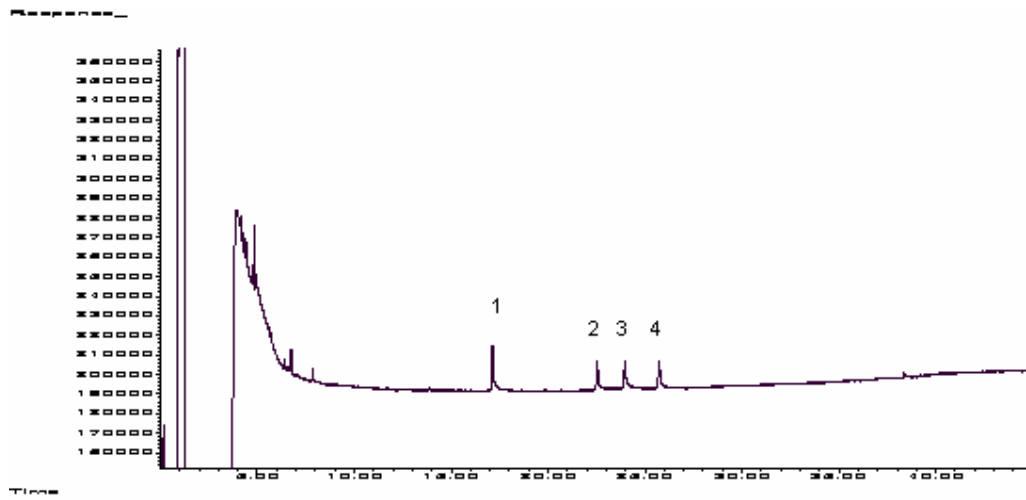
PSA temizleme blank biber



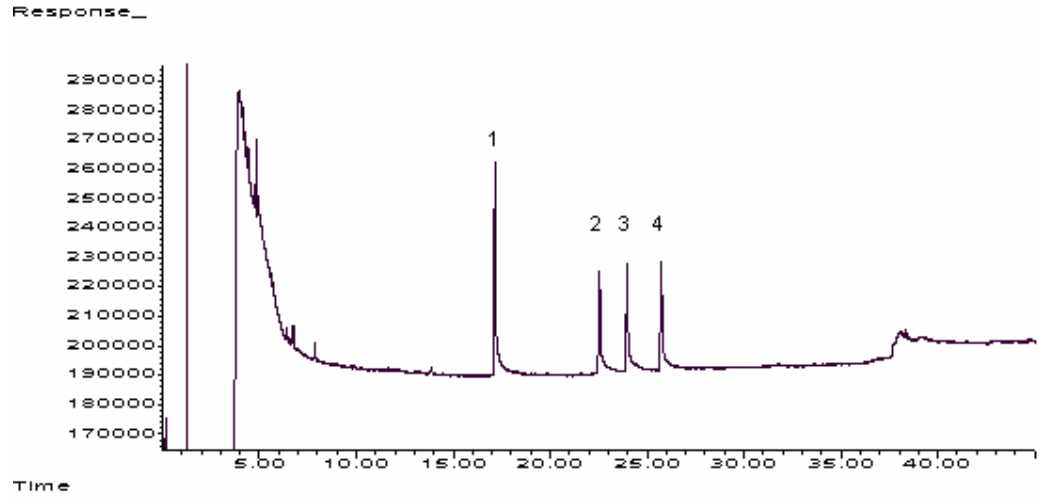
10 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



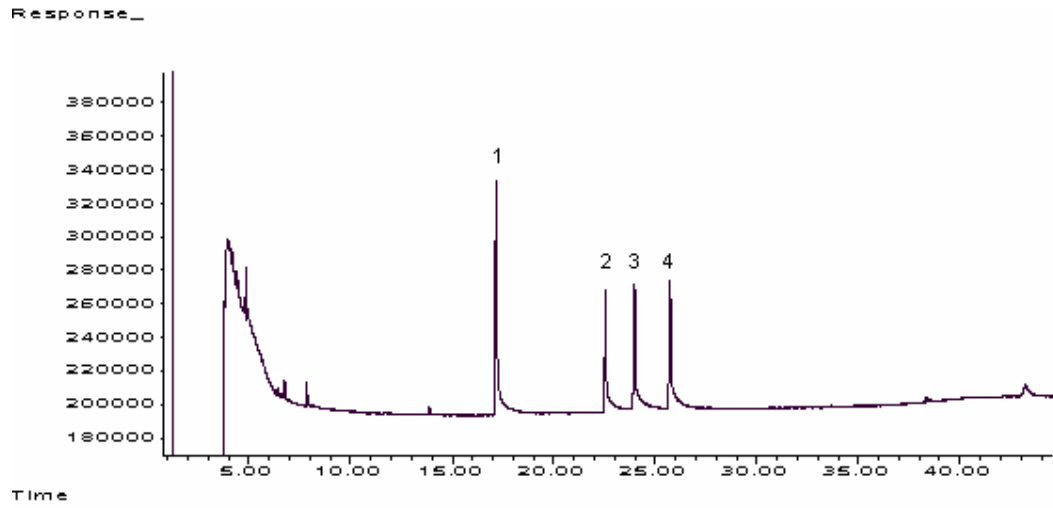
25 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



100 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



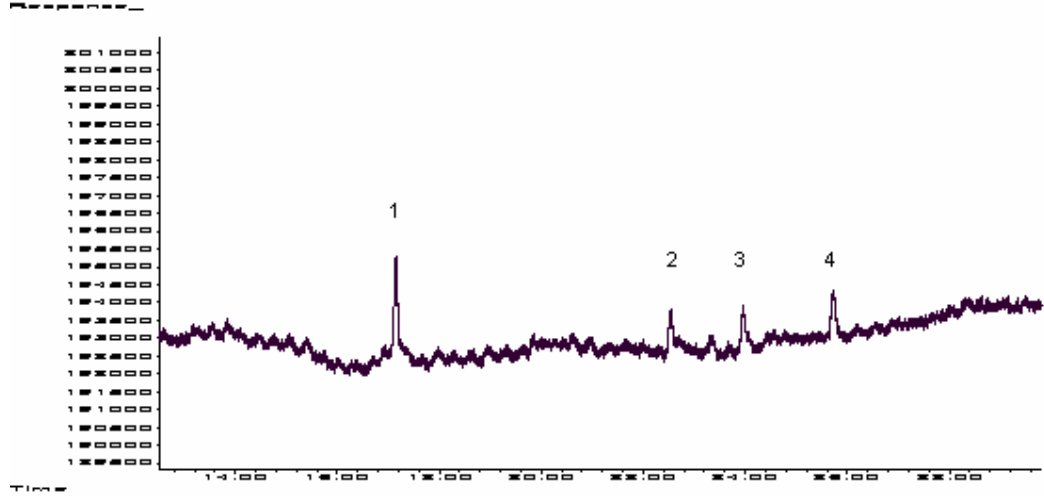
250 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)



500 ppb (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

Şekil 3.3.1.8.9. Otomatik SPE-PSA metodu GC-NPD kromatogramları

LOD ve LOQ düzeyinde PSA metodu GC-NPD kromatogramı Şekil 3.3.1.8.10.'da verilmiştir.



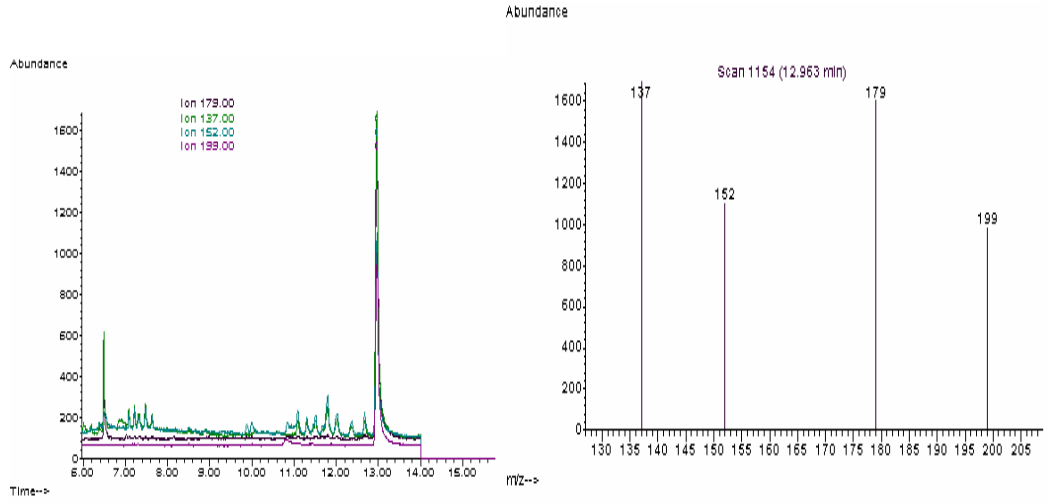
Şekil 3.3.1.8.10. Otomatik SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-NPD kromatogramı (1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

c) GC-MS kromatogram ve spektrumları

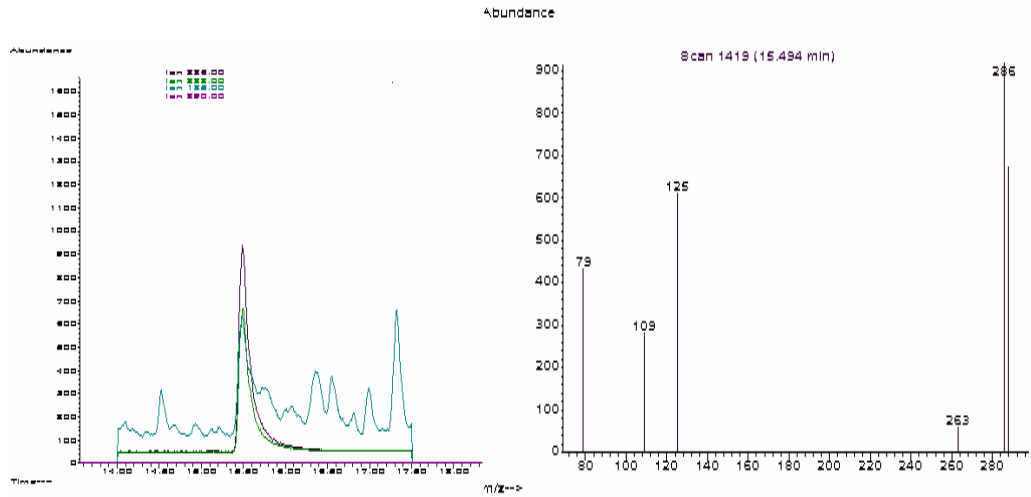
C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşlarından geçmiş kiraz blank ile hazırlanmış matrix-matched standartların GC-MS kromatogram ve spektrumları aşağıda verilmiştir.

• C₁₈ temizleme

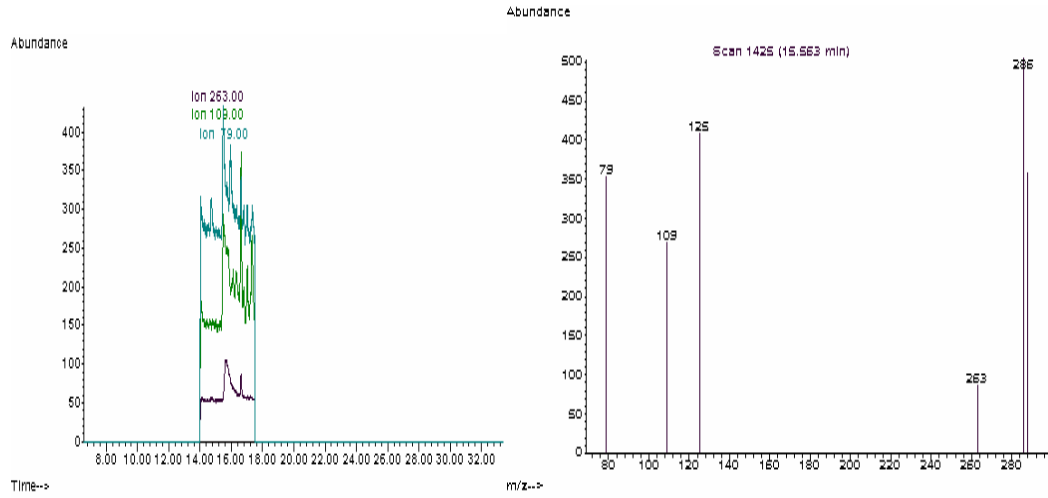
C₁₈ temizleme işleminden geçmiş 100 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-MS kromatogram ve spektrumları Şekil. 3.3.1.8.11.'de verilmiştir.



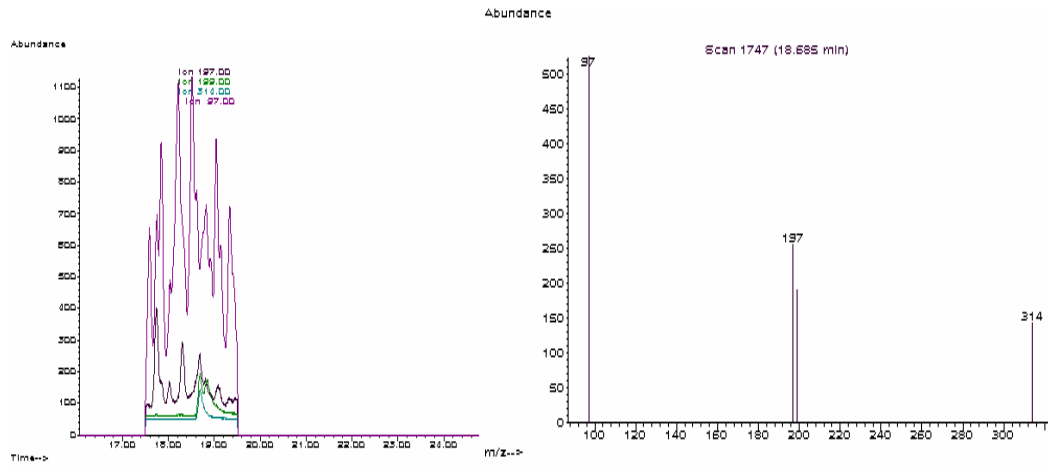
100 ppb Diazinon MS kromatogramı ve spektrumu



100 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



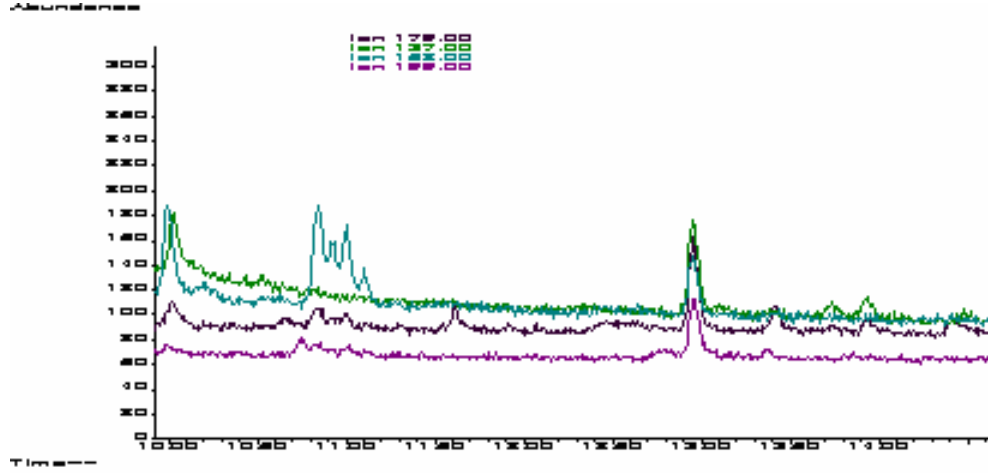
100 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



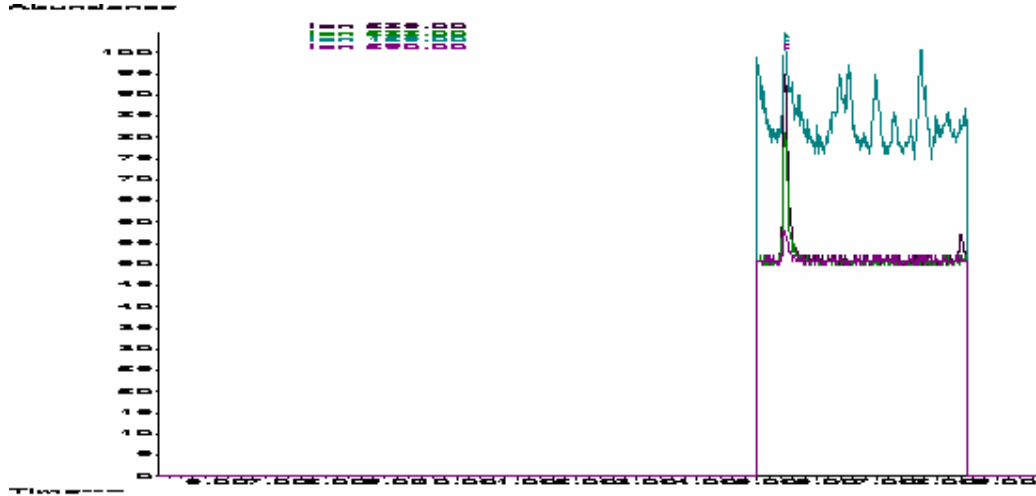
100 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı ve spektrumu

Şekil 3.3.1.8.11. Otomatik SPE-C₁₈ metodu GC-MS kromatogram ve spektrumları

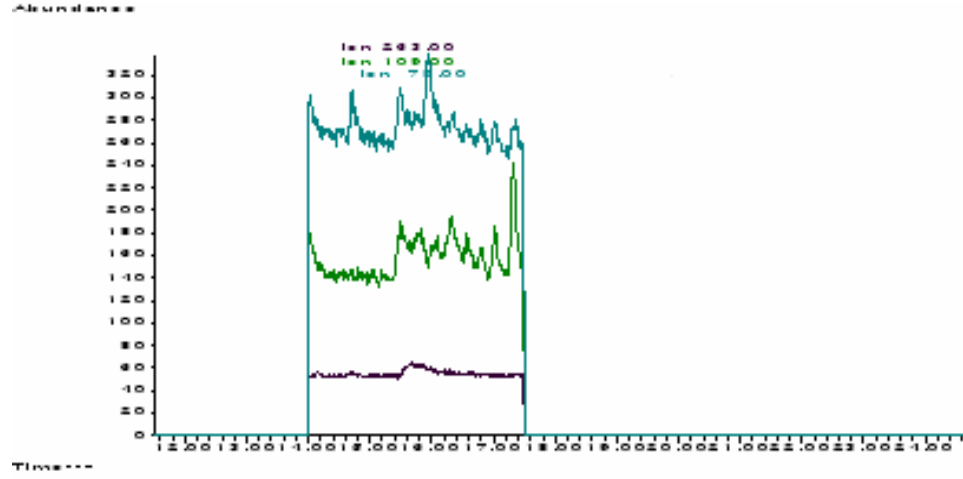
LOD ve LOQ düzeyinde kalitatif olarak tayin edilebilen en küçük konsantrasyondaki GC-MS kromatogramları Şekil 3.3.1.8.12.'de verilmiştir.



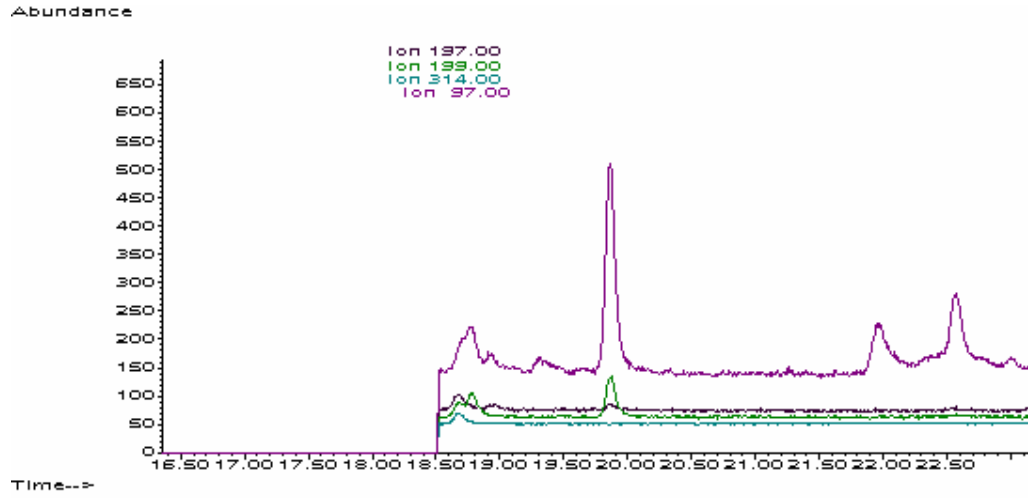
5 ppb diazinon



5 ppb chlorpyrifos-methyl



5 ppb parathion-methyl

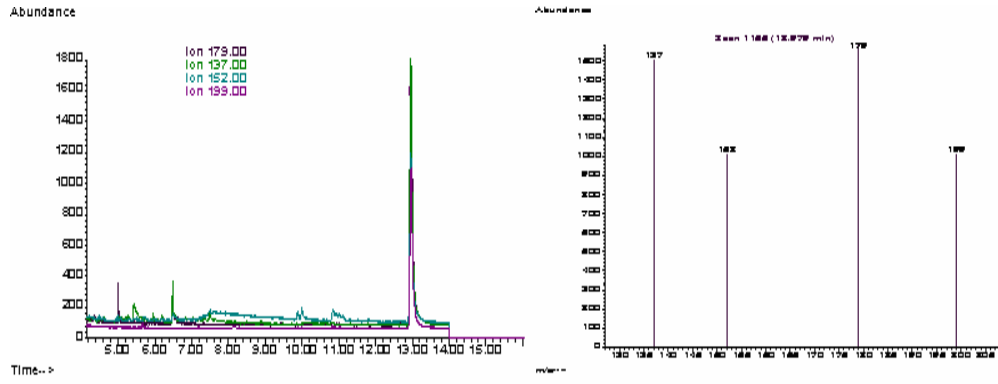


5 ppb chlorpyrifos-ethyl

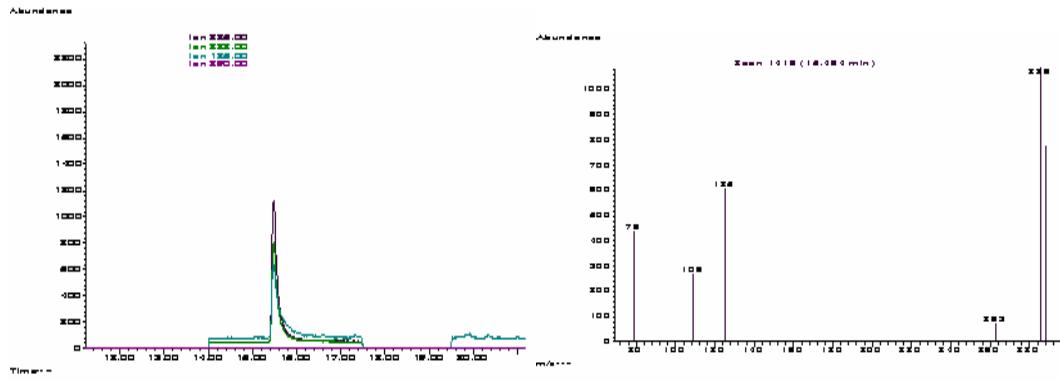
Şekil 3.3.1.8.12. Otomatik SPE-C₁₈ metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları

•NH₂ temizleme

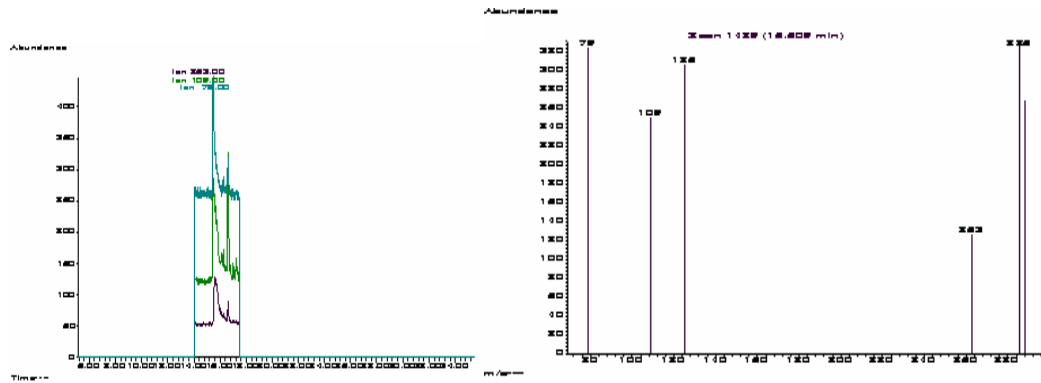
NH₂ temizleme işleminden geçmiş 100 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-MS kromtogram ve spektrumları Şekil. 3.3.1.8.13.'de verilmiştir.



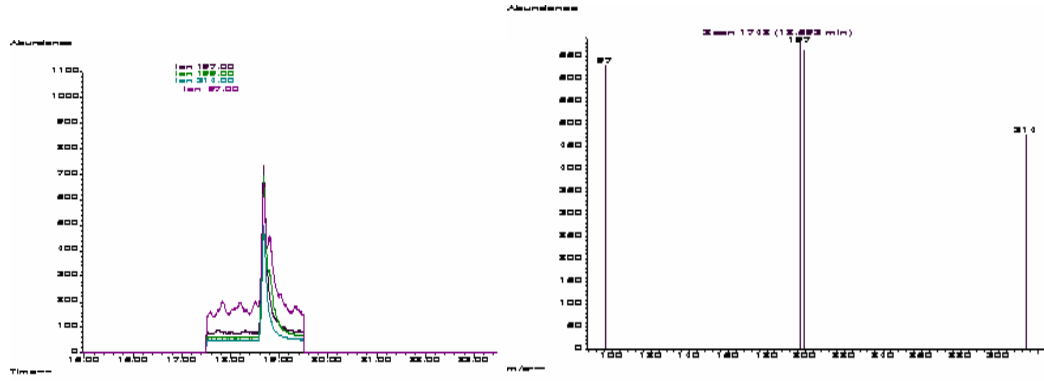
100 ppb Diazinon MS kromatogramı ve spektrumu



100 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



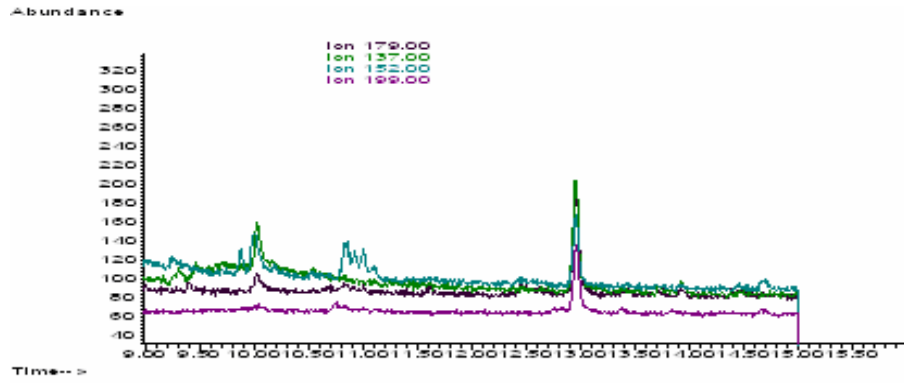
100 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



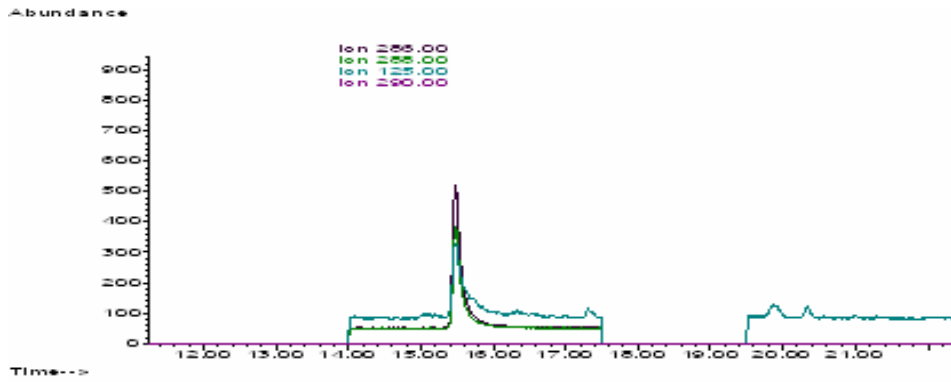
100 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı ve spektrumu

Şekil 3.3.1.8.13. Otomatik SPE-NH₂ metodu GC-MS kromatogram ve spektrumları

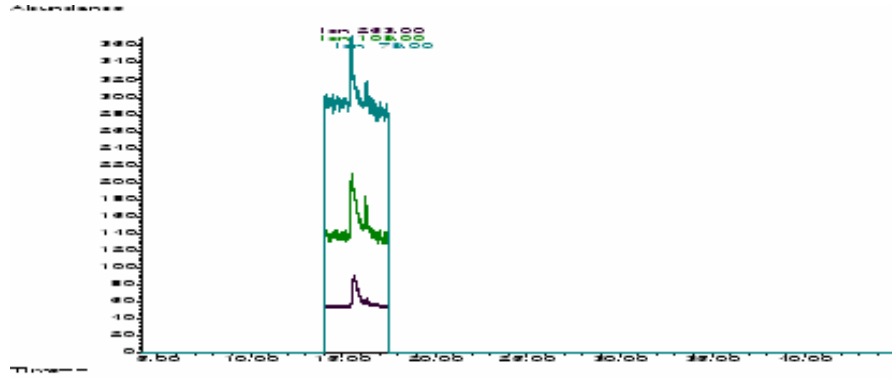
LOD ve LOQ düzeyinde kalitatif olarak tayin edilebilen en küçük konsantrasyondaki GC-MS kromatogramları Şekil 3.3.1.8.14.'de verilmiştir.



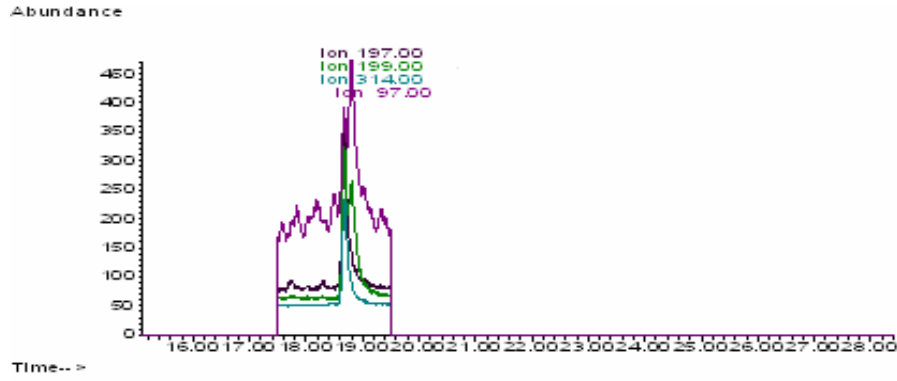
5 ppb diazinon



5 ppb chlorpyrifos-methyl



5 ppb parathion-methyl

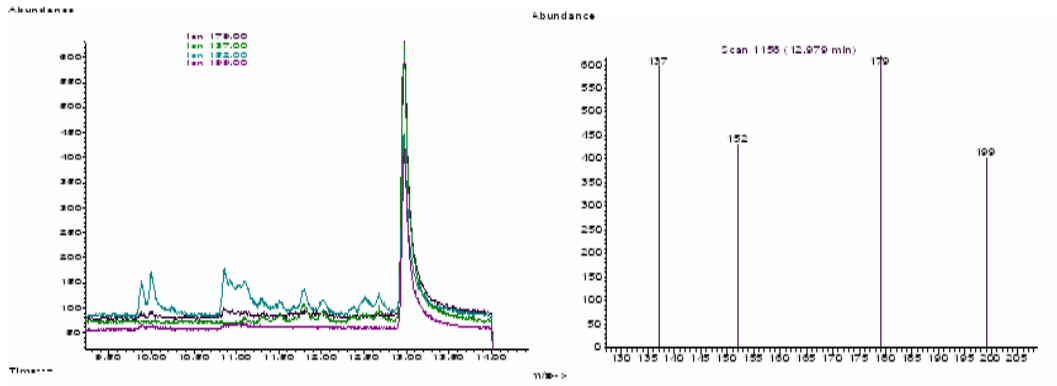


5 ppb Chlorpyrifos-ethyl

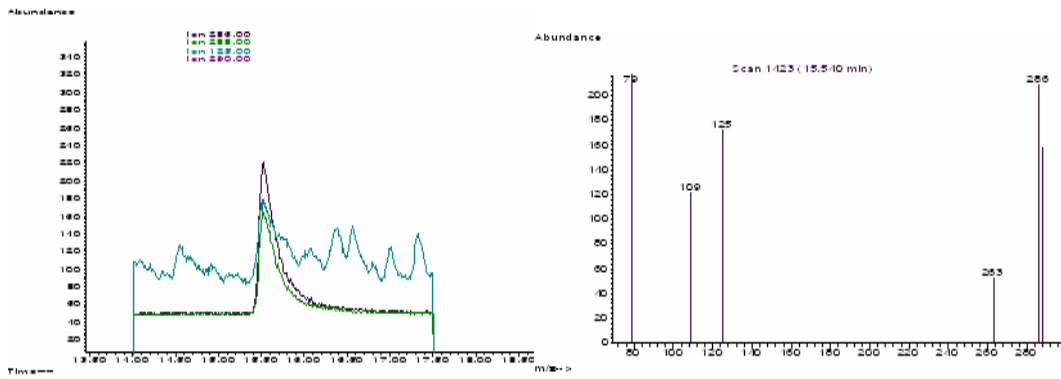
Şekil 3.3.1.8.14. Otomatik SPE-NH₂ metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları

- **PSA temizleme**

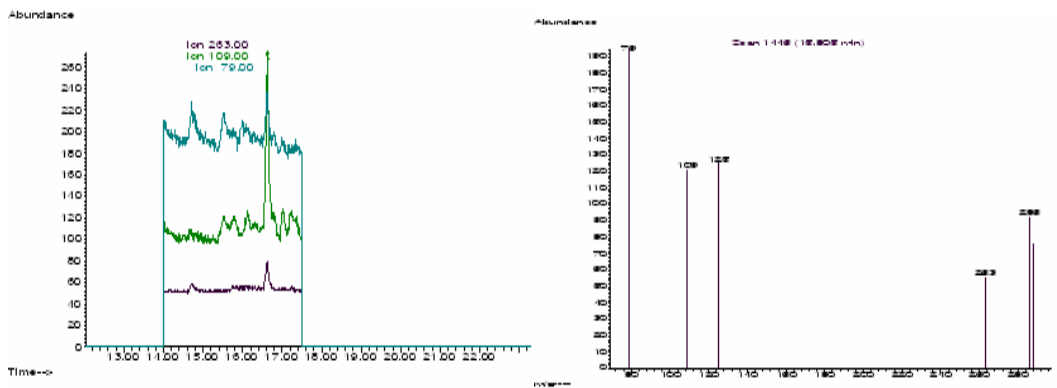
PSA temizleme işleminden geçmiş 100 ppb konsantrasyondaki matrix-matched standartların GC-MS kromtogram ve spektrumları Şekil. 3.3.1.8.15.'de verilmiştir.



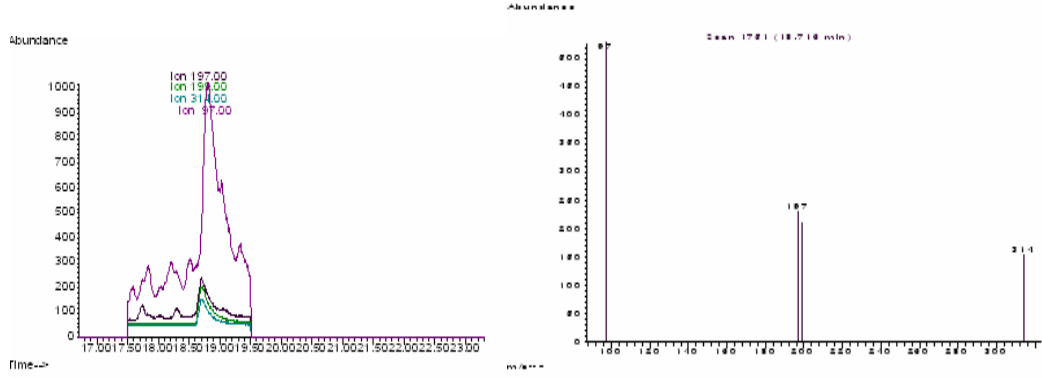
100 ppb Diazinon MS kromatogramı ve spektrumu



100 ppb Chlorpyrifos-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



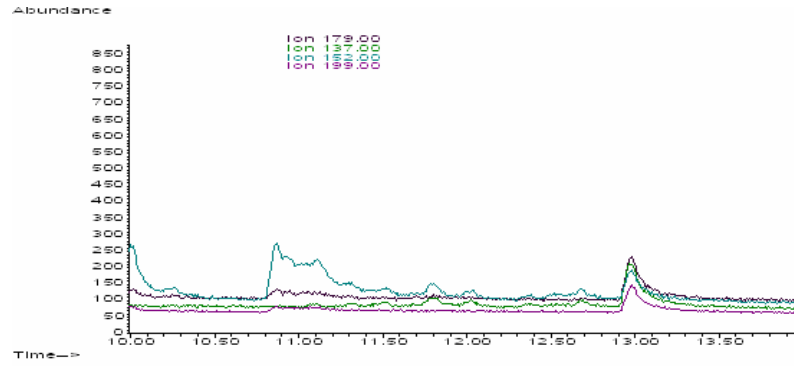
100 ppb Parathion-methyl MS kromatogramı ve spektrumu



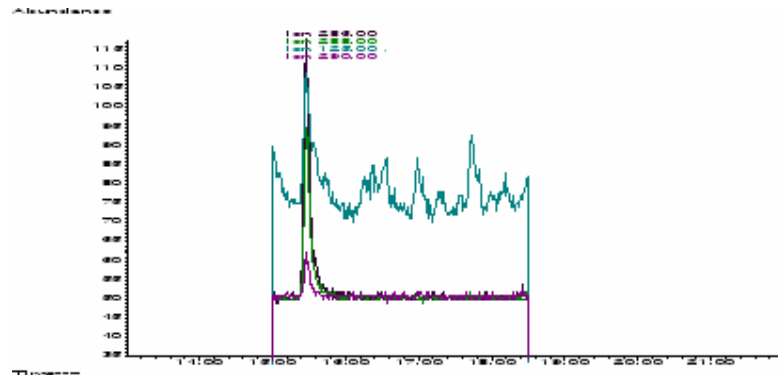
100 ppb Chlorpyrifos-ethyl MS kromatogramı ve spektrumu

Şekil 3.3.1.8.15. Otomatik SPE-PSA metodu GC-MS kromatogram ve spektrumları

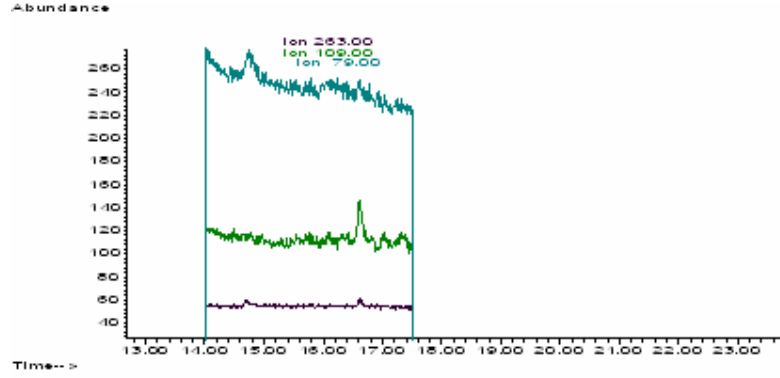
LOD ve LOQ düzeyinde kalitatif olarak tayin edilebilen en küçük konsantrasyondaki GC-MS kromatogramları Şekil 3.3.1.8.16.'da verilmiştir.



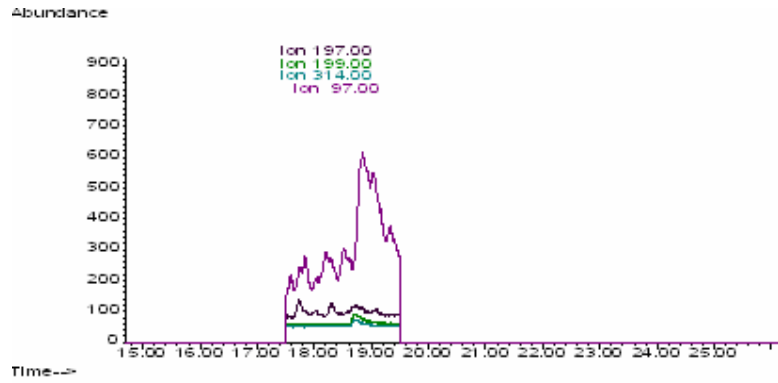
5 ppb diazinon



5 ppb chlorpyrifos-methyl



5 ppb parathion-methyl



5 ppb Chlorpyrifos-ethyl

Şekil 3.3.1.8.16. Otomatik SPE-PSA metodu LOD düzeyindeki GC-MS kromatogramları

3.5. Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması

Otomatik SPE temizleme metodu ile yapılan ölçümlerin belirsizliğini hesaplarken, analiz sonucunu hesaplamada kullanılan formüldeki her değer belirsizliği hesaba katılır. Genişletilmiş belirsizliğinin hesaplanmasında stok çözelti belirsizliği, seyreltme katsayısı belirsizliği, kalibrasyon eğrisi belirsizliği, tekrarlanabilirlik belirsizliği ve geri kazanım belirsizliği dikkate alınmaktadır.

Yapılan analizler sonucu örnekteki pestisit miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır.

$$X = \frac{C.V}{W} \quad (3.5.1)$$

X = Örnekteki pestisit miktarı (ng/g = µg/kg)

C = Kalibrasyon eğrisinden bulunan konsantrasyon (pg/µl = ng/mL)

V = Son hacim (mL)

W = Kartuşa yüklenen örnek miktarı (g)

Stok Çözelti Belirsizliği [u(S)]

Kalibrasyon eğrisinde kullanılan standart çözeltilerin hazırlandığı stok çözeltinin sertifika değerleri kullanılır. Üretici firma veya kalibrasyon sertifikasında verilen standardın saflık değeri kullanılır (Sertifika veya ürün sertifikasyonda % 95 güven aralığı verilmişse normal dağılım ($u=a/1.96$), güven aralığı verilmemişse dikdörtgen dağılım ($u=a/\sqrt{3}$), daha az veri verilmişse üçgen dağılım ($u=a/\sqrt{6}$) kullanılır; u =belirsizlik, a =sertifika değeridir).

Seyreltme Katsayısı Belirsizliği [u(S_k)]

Örnek Tartım Belirsizliği: $u(W)$

- Tekrarlanabilirlik (t): Terazinin kalite kontrol testleri sonucunda elde edilen standart belirsizlik
- Kalibrasyon belirsizliği (k): Terazi kalibrasyon sertifikasında %95 güvenilirlik aralığında verilen belirsizlik değeridir (Sertifika veya ürün sertifikasyonunda % 95 güven aralığı verilmişse normal dağılım ($u=a/1.96$), güven aralığı verilmemişse dikdörtgen dağılım ($u=a/\sqrt{3}$), daha az veri verilmişse üçgen dağılım ($u=a/\sqrt{6}$) kullanılır; u =belirsizlik, a =sertifika değeridir). Kalibrasyon belirsizliği hesaplamada iki bileşen kullanılır. Daradan ve örneğin tartımından gelen belirsizliklerdir.

Örnek Tartım Belirsizliği: $u(W): = \sqrt{2k^2 + t^2}$

Hacim Miktarı Belirsizliği: $u(V)$

- Kalibrasyon (k): Pipet için üretici firma veya kalibrasyon sertifikasından (Sertifika veya ürün sertifikasyonunda % 95 güven aralığı verilmişse normal dağılım ($u=a/1.96$), güven aralığı verilmemişse dikdörtgen dağılım ($u=a/\sqrt{3}$), daha az veri verilmişse üçgen dağılım ($u=a/\sqrt{6}$))

kullanılır) elde edilen değerler kullanılır (u=belirsizlik, a=sertifika değeri).

- Tekrarlanabilirlik (t): Kullanılan pipetin doldur-boşalt işlemleri yapılarak elde edilen standart sapmasıdır.
- Sıcaklık (s): Laboratuvar ortamındaki sıcaklık değişimidir.
Sıcaklık (s) = Ölçülen Hacim x ortamın sıcaklık değişimi / $\sqrt{3}$.
Hacim Miktarı Belirsizliği: $u(V) = \sqrt{k^2 + t^2 + s^2}$

$$\text{Seyreltme Katsayısı Belirsizliği: } [u(S_k)] = \sqrt{[u(W)]^2 + [u(V)]^2}$$

Kalibrasyon Eğrisi Belirsizliği [u(C)]

Kalibrasyon eğrisinden elde edilen değerler excel programı ve curve expert 1.3 programları ile hesaplanır.

Tekrarlanabilirlik Belirsizliği [u(RSD_m)]

Metot validasyonundaki tekrarlanabilirlik çalışma sonuçlarının standart sapması ile hesaplanır.

$$u(RSD_m) = \frac{RSD}{\sqrt{n}} \quad (3.5.2)$$

Geri Kazanım Belirsizliği [u(R)]

Geri kazanım belirsizliği, fosforlu pestisitler için geri kazanım çalışmasından yararlanarak hesaplanır.

- Standart eklenmiş örnek belirsizliği (s): Metot validasyonundaki, geri kazanım çalışmasında kullanılan belirsizlikleridir.
- Tekrarlanabilirlik (t): Yapılan çalışmadan elde edilen standart sapma aynı zamanda tekrarlanabilirlik belirsizliğini ifade eder.

$$\text{Toplam belirsizlik} = \sqrt{[u(s)]^2 + [u(t)]^2}$$

$$\text{Geri Kazanım Belirsizliği } u(R) = (\text{Toplam belirsizlik}) \times (R)$$

Genişletilmiş Belirsizlik Hesabı

- Rölatif bileşik belirsizlik:

$$u(\text{RBB}) = \sqrt{[u(S)/S]^2 + [u(S_k)/S_k]^2 + [u(C)/C]^2 + [u(\text{RSD}_m)/\text{RSD}_m]^2 + [u(R)/R]^2}$$

- Standart bileşik belirsizlik: $u(X) = X \times u(\text{RBB})$
- Genişletilmiş belirsizlik: $U = u(X) \times k$

Ölçüm Sonucunun Raporlanması

$$X \pm U \text{ ppb (\%95 } k = 2)$$

X = Ölçüm sonucunda formülden hesaplanan değer

U = Genişletilmiş belirsizlik

3.5. Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Kiraz ve Biber Örneklerindeki Pestisit Kalıntı Analiz Sonuçları

Laboratuara gelen bazı kiraz ve biber örneklerindeki pestisit kalıntı miktarlarının belirlenmesi için standart Luke metodu ile analizin yanında, yeni geliştirilen otomatik SPE-C₁₈ metodu da karşılaştırma amacıyla kullanılmış ve analiz sonuçları Çizelge 3.5.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.5.1. Kiraz ve biber örneklerinde farklı ekstraksiyon metotları ile belirlenen pestisit analiz sonuçları

Örnek	Diazinon mg/kg		Chlorpyrifos-ethyl mg/kg	
	Luke	Oto-SPE C ₁₈ metodu	Luke	Oto-SPE C ₁₈ metodu
Kiraz 1	0,075 ± 0,015	0,081 ± 0,009	< LOD	
Kiraz 2	0,008 ± 0,002	0,011 ± 0,001	< LOD	
Kiraz 3	0,145 ± 0,029	0,158 ± 0,011	< LOD	
Biber 1	< LOD		0,006 ± 0,001	0,007 ± 0,0004
Biber 2	< LOD		0,068 ± 0,007	0,074 ± 0,004

Kiraz ve biber örneklerinde yapılan analiz sonuçlarına bakıldığında, otomatik SPE-C₁₈ metodu ile elde edilen sonuçların standart metot olan Luke metodu ile elde edilen sonuçlara oldukça yakın oluğu görölmektedir. Örneklerde, Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliğindeki maksimum kalıntı limitlerinin altında diazinon (kiraz örneklerinde) ve chlorpyrifos-ethyl (biber örneklerinde) pestisit kalıntıları bulunmuştur.

4. TARTIŞMA

Metot geliştirme çalışmalarında, metot validasyonunun analitik olarak incelenmesi için bazı özelliklerden yararlanır. Bunlar başlıca doğrusallık, LOD-LOQ, geri kazanım, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik parametreleridir. Çalışılan tüm metotlara ait analitik parametrelerin karşılaştırılması sırasıyla aşağıda verilmiştir.

4.1. Doğrusallık Sonuçlarının Karşılaştırılması

Gıda örneklerindeki pestisit kalıntı analizleri metot validasyonunda yapılan kalibrasyon çalışmalarında GC'deki standart ve örnek enjeksiyonları arasında fark olmaması için matrix-matched standartlar kullanılmıştır (Anonim 2004 e).

Luke metodu ile LLE, aseton ve etil asetat ile seçici çözünmeyi takiben SPE ve yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda saptanan şartlar kullanılarak otomatik SPE yöntemleri uygulanmıştır. FPD ve NPD ile yapılan doğrusallık çalışmaları, r^2 (korelasyon katsayısı) değerleri ve analitik çalışma bölgeleri ile değerlendirilmiştir. Çizelge 4.1.1.'de pestisitlerin analitik çalışma bölgeleri verilmiştir.

Çizelge 4.1.1. Pestisitlere ait analitik çalışma bölgeleri

Yöntemler	Analitik bölge C (ppb)			
	Diazinon	Chlorpyrifos -methyl	Parathion - methyl	Chlorpyrifos -ethyl
Luke metodu	10-500			
Aseton SPE-PSA	10-500			
Etil asetat SPE-PSA	5-500			
Oto-SPE-C₁₈	5-500			
Oto-SPE-NH₂	5-500			
Oto-SPE-PSA	5-500			

Luke ve aseton-SPE ekstraksiyon yöntemlerinde; 5 ppb konsantrasyonda, kullanılan NPD'ün duyarlılığın sınırlı olması ve GC-MS ile kalitatif tayin yapılamaması nedeniyle analitik bölge 10 ppb konsantrasyondan başlatılmıştır. Etil asetat SPE ve otomatik SPE (oto-SPE) metotlarında ise 5 ppb konsantrasyonda da ölçüm yapılabilmektedir. Bu etil

asetatın matriks bileşenleri az ekstrakte etmesi dolayısıyla pestisitlere karşı seçici olmasına dayandırılabilir. Aseton kullanımında ise matriks bileşenlerindeki fazlalık daha küçük konsantrasyonlara inilmesini sınırlamaktadır.

Etil asetat ile SPE ve otomatik SPE yöntemlerinin doğrusallık çalışmaları FPD ile yapılmış ve Çizelge 4.1.2.'de FPD ile çalışılmış bu ekstraksiyon yöntemlerinin r^2 değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.1.2. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait r^2 değerleri

Yöntemler	r^2			
	Diazinon	Chlorpyrifos -methyl	Parathion -methyl	Chlorpyrifos -ethyl
Etil asetat SPE-PSA	0,9993	0,9991	0,9993	0,9994
Oto-SPE-C ₁₈	0,9996	0,9996	0,9995	0,9997
Oto-SPE-NH ₂	0,9997	0,9995	0,9995	0,9996
Oto-SPE-PSA	0,9998	0,9997	0,9997	0,9997

FPD ve etil asetat kullanılarak çalışılan SPE metotlarında elde edilen r^2 değerlerinin 0,99 değerinin oldukça üstünde olduğu, dolayısıyla doğrusallık parametresinin sağlandığı görülmektedir.

Geliştirilen otomatik SPE sisteminin uluslararası standart metotlarla karşılaştırılması yapılarak geçerliliği denetlenmiştir. Standart metot olarak sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi olan Luke metodu kullanılmıştır. Ayrıca aseton ile SPE yöntemiyle de karşılaştırma yapılmıştır.

Luke metodu ile sıvı-sıvı ekstraksiyon ve aseton ile SPE yöntemlerinin doğrusallık çalışmaları NPD ile yapılmış ve Çizelge 4.1.3.'de NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemleri ile birlikte r^2 değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.1.3. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait r^2 değerleri

Yöntemler	r^2			
	Diazinon	Chlorpyrifos -methyl	Parathion -methyl	Chlorpyrifos -ethyl
Luke metodu	0,9978	0,9977	0,9971	0,9974
Aseton SPE-PSA	0,9988	0,9982	0,9985	0,9989
Oto-SPE-C ₁₈	0,9992	0,9991	0,9992	0,9991
Oto-SPE-NH ₂	0,9992	0,9992	0,9992	0,9992
Oto-SPE-PSA	0,9993	0,9992	0,9992	0,9991

Geliştirilen otomatik SPE sistemi uluslararası standart metotlarla karşılaştırıldığında, etil asetat seçici çözünme ile elde edilen r^2 değerlerinin daha yüksek olduğu ve analitik parametrelerden ilki olan doğrusallığın daha iyi sağlandığı gözlenmektedir.

Yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin, etil asetat kullanılarak yapılan seçici çözünme işlemleri ve Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile otomatik olarak gerçekleştirilen katı-faz ekstraksiyonunun farklı dedektörlerle yapılan doğrusallık çalışmalarının sonuçları toplu olarak Çizelge 4.1.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.4. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerine ait r^2 değerleri

Yöntemler	r^2							
	Diazinon		Chlorpyrifos- methyl		Parathion - methyl		Chlorpyrifos- ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE-C ₁₈	0,9996	0,9992	0,9996	0,9991	0,9995	0,9992	0,9997	0,9991
Oto-SPE-NH ₂	0,9997	0,9992	0,9995	0,9992	0,9995	0,9992	0,9996	0,9992
Oto-SPE-PSA	0,9998	0,9993	0,9997	0,9992	0,9997	0,9992	0,9997	0,9991

Dedektörlere göre karşılaştırma yapıldığında, doğrusallık parametresinin tüm pestisitlerde ve her iki dedektörde de geçerli olduğu görülmektedir. FPD ile yapılan çalışmalarda, fosforlu bileşiklere karşı seçiciliğinin ve tekrarlanabilirliğinin daha yüksek

olması nedeniyle NPD'e göre daha yüksek r^2 değerlerine sahip olduğu görülmekte, dolayısıyla doğrusallığın daha iyi olduğu söylenebilmektedir.

Literatüre bakıldığında, Patel ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada, sebze ve meyvelerdeki organofosforlu pestisitlerin GC ile tayininde 0,01-0,5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında 0,99'dan büyük r^2 değerleri elde edildiği belirtilmiştir.

Üzüm, şıra ve şarap örneklerindeki insektisitlerin GC ile tayininde korelasyon katsayısının en az 0,99 olarak bulunduğu bildirilmiştir (Oliva 2000).

Pang ve ark. (2006 a) tarafından, sebze ve meyvelerdeki pestisit kalıntılarının GC-MS ve LC-MS/MS ile birlikte belirlenmesinde elde edilen r^2 değerlerinin 0,956'dan büyük olduğu ifade edilmiştir.

Ayrıca bal, şarap ve meyve suyu örneklerinde çalışılan 450 pestisitinin % 92'sinin liner korelasyon katsayısının 0,99' dan büyük olduğu belirtilmiştir (Pang ve ark.2006 b).

4.2. LOD ve LOQ Sonuçlarının Karşılaştırılması

Çalışılan metoda göre hazırlanan blank örneğine, enjeksiyon öncesi tayin edilebilen en küçük konsantrasyonda eklenen mix pestisit standartları ile elde edilen sonuçların genel standart sapması hesaplanmıştır. Belirleme sınırı (LOD) standart sapmanın 3 katı ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) standart sapmanın 10 katı alınarak belirlenmiştir.

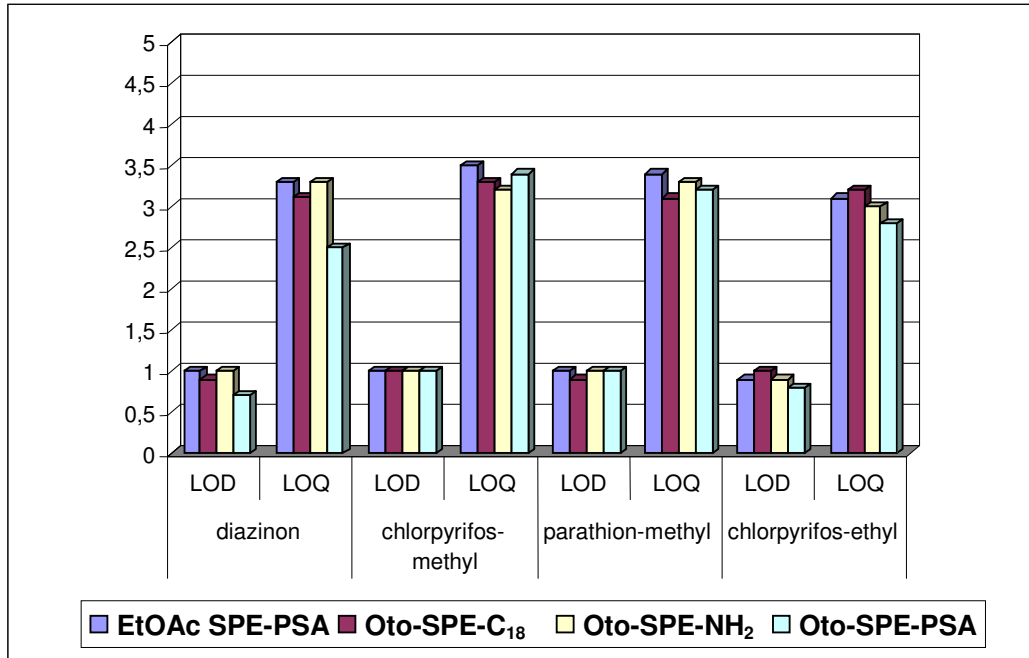
Etil asetat ile SPE ve otomatik SPE yöntemlerinin FPD ile yapılmış belirleme (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) çalışmalarının sonuçları Çizelge 4.2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait LOD ve LOQ değerleri

Yöntemler	LOD ($\mu\text{g/kg}$)				LOQ ($\mu\text{g/kg}$)			
	Diazinon	Chlorpyrifos-methyl	Parathion-methyl	Chlorpyrifos-ethyl	Diazinon	Chlorpyrifos-methyl	Parathion-methyl	Chlorpyrifos-ethyl
Etil asetat SPE-PSA	1,0	1,0	1,0	0,9	3,3	3,5	3,4	3,1
Oto-SPE-C ₁₈	0,9	1,0	0,9	1,0	3,1	3,3	3,1	3,2
Oto-SPE-NH ₂	1,0	1,0	1,0	0,9	3,3	3,2	3,3	3,0
Oto-SPE-PSA	0,7	1,0	1,0	0,8	2,5	3,4	3,2	2,8

Sonuçlara bakıldığında FPD ve etil asetat kullanılarak yapılan SPE metotlarında elde edilen LOQ değerlerinin $5 \mu\text{g/kg}$ 'ın altında olduğu görülmektedir. FPD'ün tekrarlanabilirliğinin iyi, dolayısıyla standart sapmasının küçük olması oldukça düşük düzeylerde ölçüm yapılabilmesine imkan sağlamaktadır.

Elle yapılan EtOAc-SPE ve otomatik SPE metotları ile FPD'de yapılan ve Çizelge 4.2.1.'de verilen LOD ve LOQ değerleri Şekil 4.2.1.'de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.



Şekil 4.2.1. EtOAc SPE-PSA ve otomatik SPE metotları FPD LOD ve LOQ değerleri

Otomatik SPE metotlarının uluslararası standart metotlarla karşılaştırılmasını yapmak amacıyla, standart metot olarak sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi olan Luke metodu kullanılmıştır. Ayrıca aseton ile SPE yöntemiyle de karşılaştırma yapılmıştır.

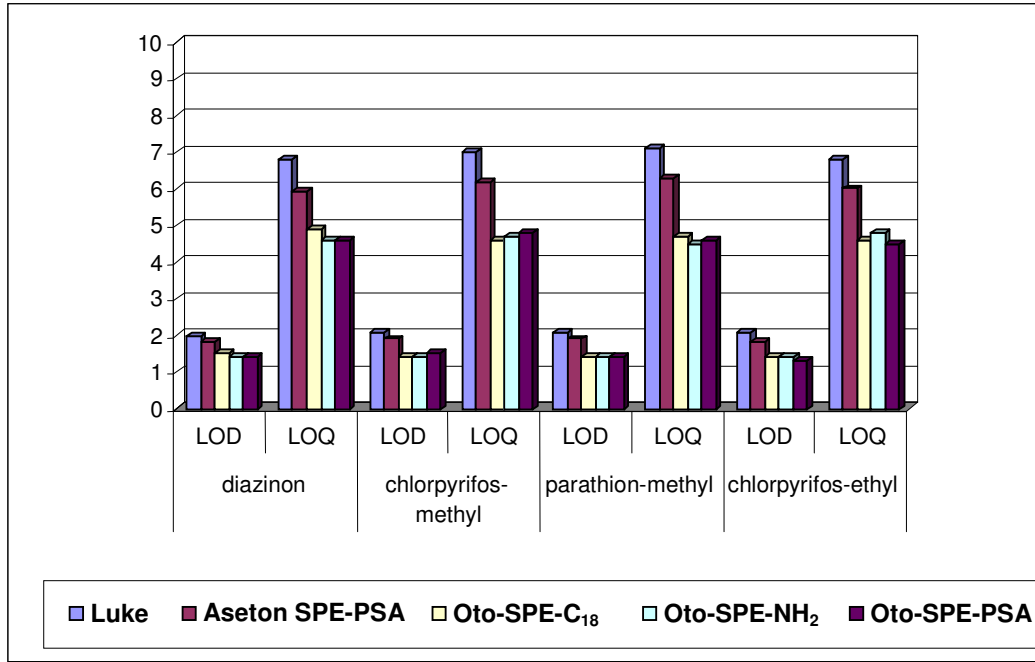
Luke metodu ile sıvı-sıvı ekstraksiyon ve aseton ile SPE yöntemlerinin LOD çalışmaları NPD ile yapılmış ve Çizelge 4.2.2.'de NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemleri ile birlikte LOD değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.2.2. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait LOD ve LOQ değerleri

Yöntemler	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)				LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
	Diazinon	Chlorpyrifos-methyl	Parathion-methyl	Chlorpyrifos-ethyl	Diazinon	Chlorpyrifos-methyl	Parathion-methyl	Chlorpyrifos-ethyl
Luke metodu	2,0	2,1	2,1	2,1	6,8	7,0	7,1	6,8
Aseton SPE-PSA	1,8	1,9	1,9	1,8	5,9	6,2	6,3	6,0
Oto-SPE-C₁₈	1,5	1,4	1,4	1,4	4,9	4,6	4,7	4,6
Oto-SPE-NH₂	1,4	1,4	1,4	1,4	4,6	4,7	4,5	4,8
Oto-SPE-PSA	1,4	1,5	1,4	1,3	4,6	4,8	4,6	4,5

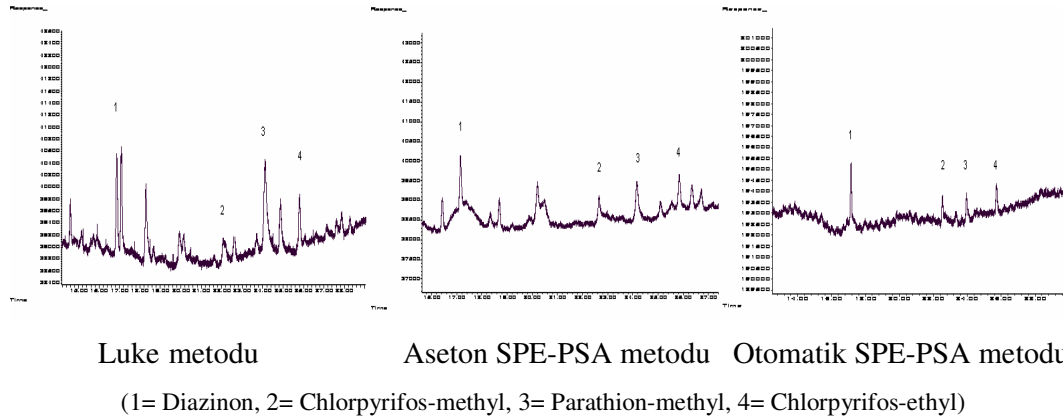
Geliştirilen otomatik SPE metotları uluslararası standart metotlarla karşılaştırıldığında daha düşük LOD ve LOQ değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Luke ve aseton-SPE ekstraksiyon metotlarında, NPD tekrarlanabilirliğin düşük olması ve kullanılan asetonun etkisiyle LOD ve LOQ değerlerinin diğer metotlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Etil asetat seçici çözünme ile otomatik SPE metotlarının daha düşük LOD ve LOQ değerlerine sahip olması doğrusalılık çalışmalarındaki gibi bu metotları daha avantajlı duruma getirmektedir. Luke metodu ortalama 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve aseton SPE-PSA metodu ortalama 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ belirleme sınırı değerine sahipken, otomasyonla gerçekleştirilen SPE metotları ile yaklaşık 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde ölçüm yapılabilmektedir.

Luke ve aseton-SPE ekstraksiyon metotları ve otomatik SPE metotları ile NPD'de yapılan ve Çizelge 4.2.2.'de verilen LOD ve LOQ değerleri Şekil 4.2.2.'de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.



Şekil 4.2.2. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD LOD ve LOQ değerleri

Şekil 4.2.3.'de verilen Luke, aseton-SPE ve otomatik SPE-PSA metodu LOD kromatogramlarından, otomatik SPE-PSA metodu ile elde edilen kromatogramın Luke ve aseton SPE-PSA metotlarına göre daha gürültüsüz bir taban çizgisine sahip olduğu ve analizi yapılan pestisitler dışında ekstra piklerin olmadığı görülmektedir. Aseton SPE-PSA LOD kromatogramının da Luke metoduna göre daha gürültüsüz olduğu söylenebilir. Bu da SPE metotlarının daha avantajlı olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.2.3. Luke, aseton SPE-PSA ve otomatik SPE-PSA temizleme metodu GC-NPD LOD kromatogramları

Yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin, etil asetat kullanılarak yapılan seçici çözünme işlemleri ve Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile otomatik olarak gerçekleştirilen katı-faz ekstraksiyonunun farklı dedektörlerle yapılan LOD çalışmalarının sonuçları toplu olarak Çizelge 4.2.3.'de ve LOQ sonuçları da Çizelge 4.2.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.3. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerine ait LOD değerleri

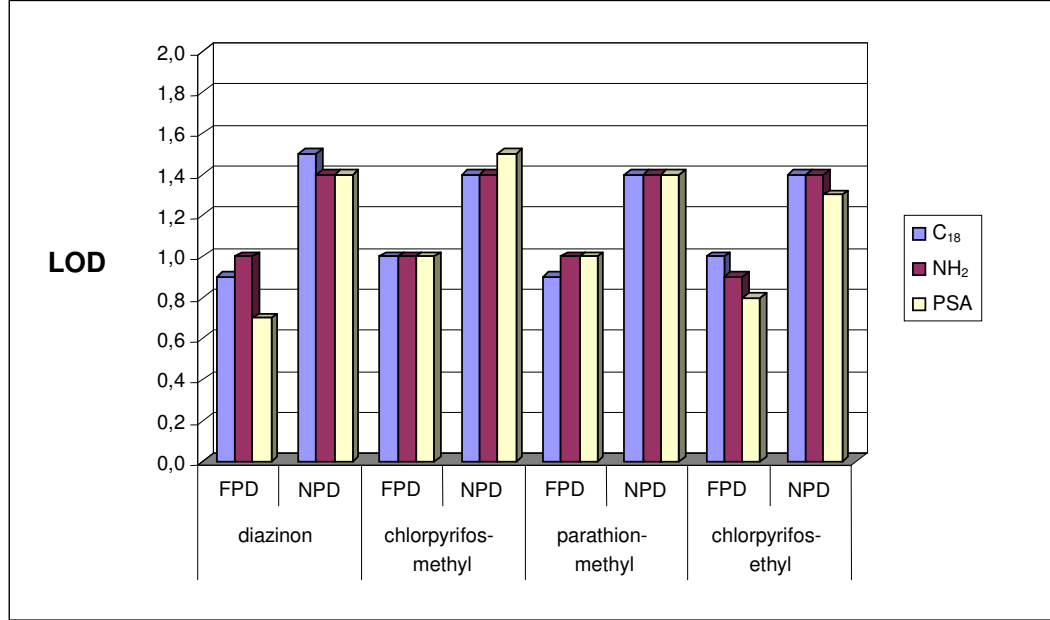
Yöntemler	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							
	Diazinon		Chlorpyrifos -methyl		Parathion -methyl		Chlorpyrifos -ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE-C ₁₈	0,9	1,5	1,0	1,4	0,9	1,4	1,0	1,4
Oto-SPE-NH ₂	1,0	1,4	1,0	1,4	1,0	1,4	0,9	1,4
Oto-SPE-PSA	0,7	1,4	1,0	1,5	1,0	1,4	0,8	1,3

Çizelge 4.2.4. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerine ait LOQ değerleri

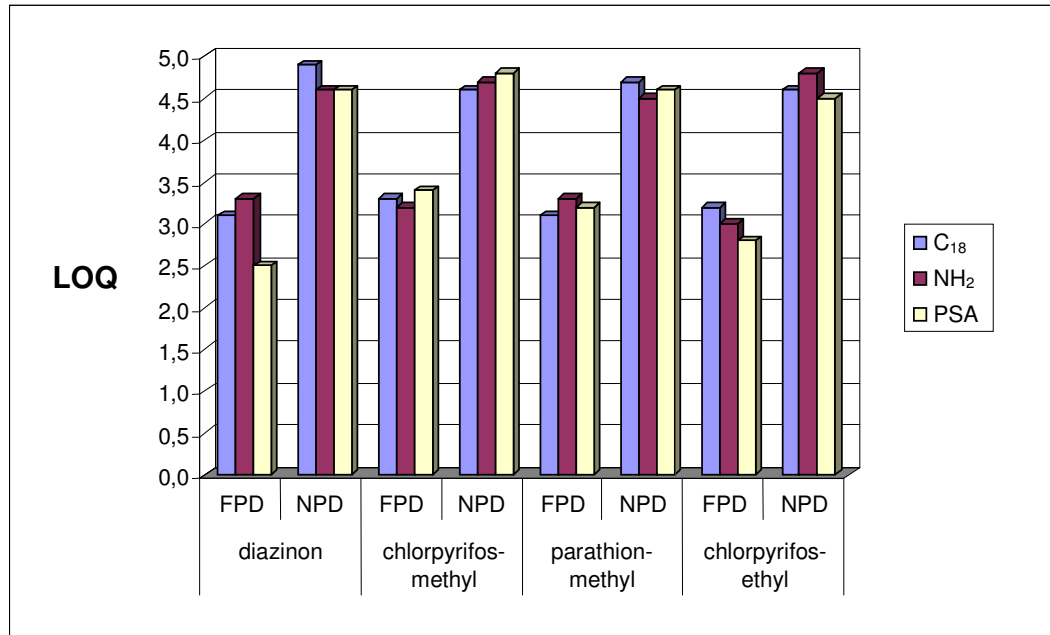
Yöntemler	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							
	Diazinon		Chlorpyrifos -methyl		Parathion -methyl		Chlorpyrifos -ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE-C ₁₈	3,1	4,9	3,3	4,6	3,1	4,7	3,2	4,6
Oto-SPE-NH ₂	3,3	4,6	3,2	4,7	3,3	4,5	3,0	4,8
Oto-SPE-PSA	2,5	4,6	3,4	4,8	3,2	4,6	2,8	4,5

Otomatik SPE metotlarının dedektörlere göre karşılaştırılması yapıldığında, FPD ile yapılan çalışmalarda NPD'e göre daha düşük düzeylerde LOD ve LOQ değerlerinin elde edildiği görülmektedir. FPD'ün tekrarlanabilirliğinin iyi, dolayısıyla standart sapmasının küçük olması oldukça düşük düzeylerde ölçüm yapılabilmesine imkan sağlamaktadır. FPD ile 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde ölçüm yapılabilirken, NPD'ün tekrarlanabilirliğinin FPD'ye göre daha kötü ve sapmanın daha fazla olması 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde ölçüm yapılabilmesine imkan vermektedir.

Otomatik SPE metotları ile FPD ve NPD’de yapılan ve Çizelge 4.2.3.’de verilen LOD değerleri Şekil 4.2.4. ve Çizelge 4.2.4.’de verilen LOQ değerleri Şekil 4.2.5.’de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.

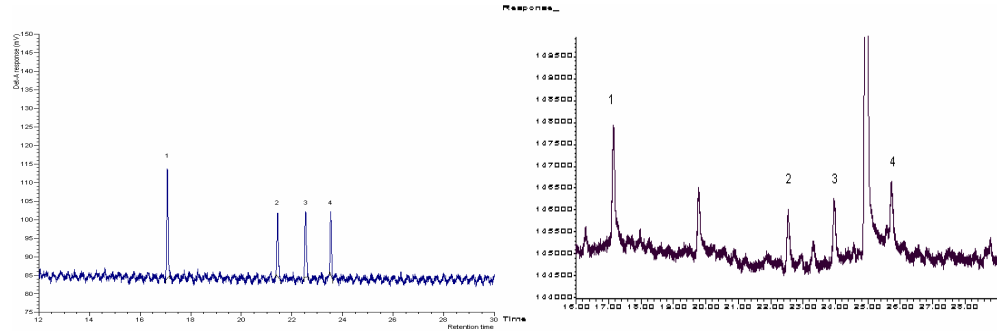


Şekil 4.2.4. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD LOD değerleri



Şekil 4.2.5. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD LOQ değerleri

Şekil 4.2.6.'da verilen otomatik SPE-C₁₈ metodu FPD ve NPD ile yapılan LOD çalışmalarından, FPD kromatogramının NPD kromatogramına göre çok daha seçici ve düzgün bir taban çizgisine sahip olduğu, analizi yapılan pestisitlerin dışında herhangi bir pikin bulunmadığı görülmektedir. Bu da FPD dedektörle çalışmanın daha sıkıntısız olacağını göstermektedir.



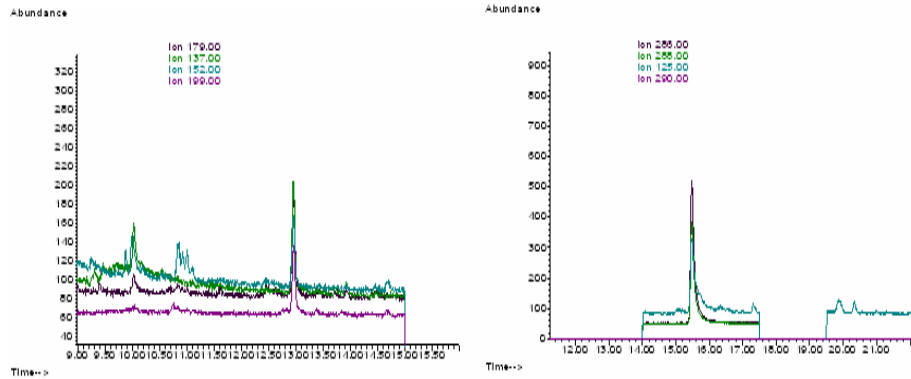
FPD otomatik SPE-C₁₈ metodu

NPD otomatik SPE-C₁₈ metodu

(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

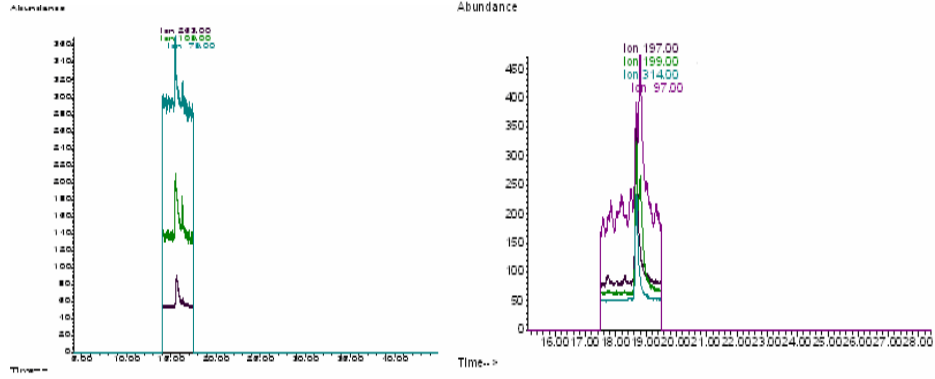
Şekil 4.2.6. Otomatik SPE-C₁₈ metodu FPD ve NPD LOD kromatogramları

Şekil 4.2.7.'de GC-MS ile elde edilen LOQ düzeyindeki kromatogramlar verilmiştir. Metodun LOD ve LOQ düzeyleri; GC-FPD ve GC-NPD ile yapılan çalışmaların yanında, GC-MS ile yapılan kalitatif çalışmalarla da desteklenmelidir. LOD ve LOQ değerlerinin, GC-MS ile kalitatif olarak tayin edilebilen en küçük konsantrasyon olan 5 ppb düzeyinde olmasına dikkat edilmelidir.



5 ppb diazinon

5 ppb chlorpyrifos-methyl



5 ppb parathion-methyl

5 ppb Chlorpyrifos-ethyl

Şekil 4.2.7. Otomatik SPE metodu GC-MS kromatogramları

LOD çalışmalarını, Türk Gıda Kodeksinde (Anonim 2005 a) sebze ve meyvelerde yasal olarak izin verilen maksimum pestisit kalıntı limitleri açısından değerlendirmek gerekmektedir. Çizelge 4.2.5.'de kiraz ve biberlerdeki çalışılan pestisitlere ait Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2005 a) ve Avrupa Birliği Yönetmeliği (<http://europe.eu.int/comm/food/fs/ph-ps/pest/index-en.htm>) maksimum kalıntı limitleri ve otomatik SPE metotlarında elde edilen ortalama LOQ değerleri toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.2.5. Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliği maksimum kalıntı limitleri ve otomatik SPE metotlarında elde edilen ortalama LOQ değerleri

Pestisit	mg/kg				Ortalama LOQ
	Kiraz		Biber		
	Türk Gıda Kodeksi	Avrupa Birliği	Türk Gıda Kodeksi	Avrupa Birliği	Otomatik SPE
Diazinon	0,3	0,3	-	-	0,005
Chlorpyrifos-methyl	-	-	-	-	
Parathion-methyl	0,01	-	0,1	-	
Chlorpyrifos-ethyl	0,3	0,3	-	-	

Otomatik SPE metotları ile elde edilen LOQ değerleri, Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Yönetmeliği maksimum kalıntı limitlerinin oldukça altındaki düzeylerde bulunmuştur. Kodekslerdeki diazinon ve chlorpyrifos-ethyl'in 300 µg/kg olan maksimum kalıntı limitine karşılık ile 3-5 µg/kg düzeyinde LOQ (kantitatif tayin sınırı) değeri elde edilmiştir. Parathion-methyl için Avrupa Birliğinde maksimum kalıntı limiti yokken, Türk Gıda Kodeksinde 10 µg/kg'a kadar izin verilmiş ve otomatik SPE metotları ve GC dedektörleri ile 3-5 µg/kg düzeyinde LOQ (kantitatif tayin sınırı) değeri elde edilmiştir. GC-MS ile 5 µg/kg düzeyinde kalitatif olarak doğrulama yapılabilmesi de kodeksler açısından uygun görünmektedir.

Literatürde yapılan benzer çalışmalara bakıldığında, çalışılan pestisit ve dedektör çeşidine göre farklı aralıklarda LOQ değerlerinin elde edildiği görülmektedir.

Hercegova ve ark. (2005), maksimum kalıntı limiti 10 µg/kg'dan düşük olan ve bebek mamalarında kullanılan elmalardaki farklı kimyasal sınıflara ait 18 adet pestisit hızlı kapiler gaz kromatografisi ile tayininde GC-ECD ile 2,90-31,10 µg/kg arasında LOQ değerleri elde ederken, GC-MS ile 0,5-1,44 µg/kg arasında LOQ değerleri elde etmişlerdir. Diazinon, chlorpyrifos-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'in GC-ECD ile elde edilen LOQ değerlerinin sırasıyla 26,60-13,90 ve 14,90 µg/kg olduğu ifade edilmiştir.

Stajnbaher ve Kralj (2003), sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin analizi için geliştirdikleri SPE metoduyla 0,01-0,5 mg/kg konsantrasyon bölgesinde çalışılan diazinon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl ve chlorpyrifos-ethyl'in de içinde olduğu pestisitlerin çoğunun 0,01 mg/kg LOQ değerine sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Albero ve ark (2005), meyve sularındaki pestisitlerin belirlenmesi amacıyla SPE'na dayanan bir metot geliştirmişler ve GC-MS ile elde ettikleri LOD değerlerinin 0,1-4,6 µg/L aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Rubio ve ark.(2007), zeytin işleme yıkama sularındaki ng/L düzeyindeki organoklorlu, organofosforlu ve organoazotlu 28 adet pestisit GC ile analizi için SPE metodu geliştirmiştir. Pestisitlerin yağ içeren su matriksinden ayrılması için C₁₈ SPE kartuşu ve diklorometan kullanılmıştır. Çalışma sonucunda 1-4 µg/kg aralığında LOD değerlerinin elde edildiği, chlorpyrifos-methyl'in ise 2 µg/kg LOQ değerine sahip olduğu belirtilmiştir.

4.3. Geri Kazanım Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kiraz ve biber blank örneği içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan örnekler ile yapılan enjeksiyonların ortalamalarından % geri kazanım hesaplanmıştır.

Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE ve otomatik SPE yöntemlerinin FPD ile yapılmış 10 ve 250 ppb geri kazanım çalışmalarının toplu sonuçları aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir. Çizelge 4.3.1.'de pestisitlerin 10 ppb konsantrasyondaki ortalama geri kazanım sonuçları ve Çizelge 4.3.2.'de 250 ppb konsantrasyondaki ortalama geri kazanım sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.3.1. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları

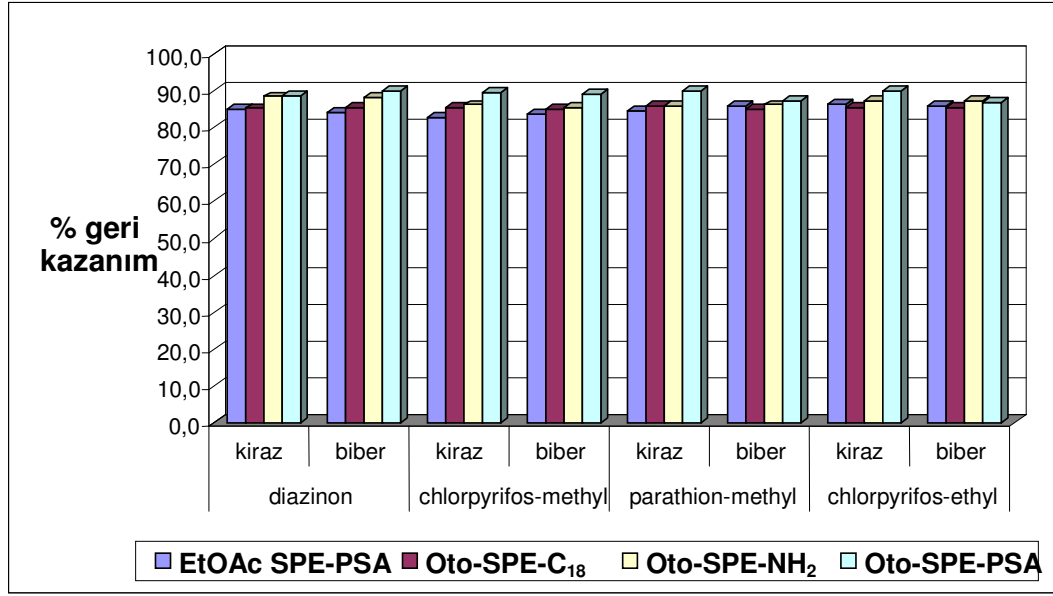
Yöntemler	10 µg/kg							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Etil asetat SPE-PSA	85,2	84,3	83,0	83,9	84,6	85,8	86,6	85,9
Oto-SPE-C ₁₈	85,3	85,6	85,4	85,2	85,8	85,0	85,6	85,7
Oto-SPE-NH ₂	88,5	88,1	86,2	85,6	85,9	86,2	87,4	87,2
Oto-SPE-PSA	88,8	89,9	89,5	89,0	89,9	87,4	90,0	86,9

Çizelge 4.3.2. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları

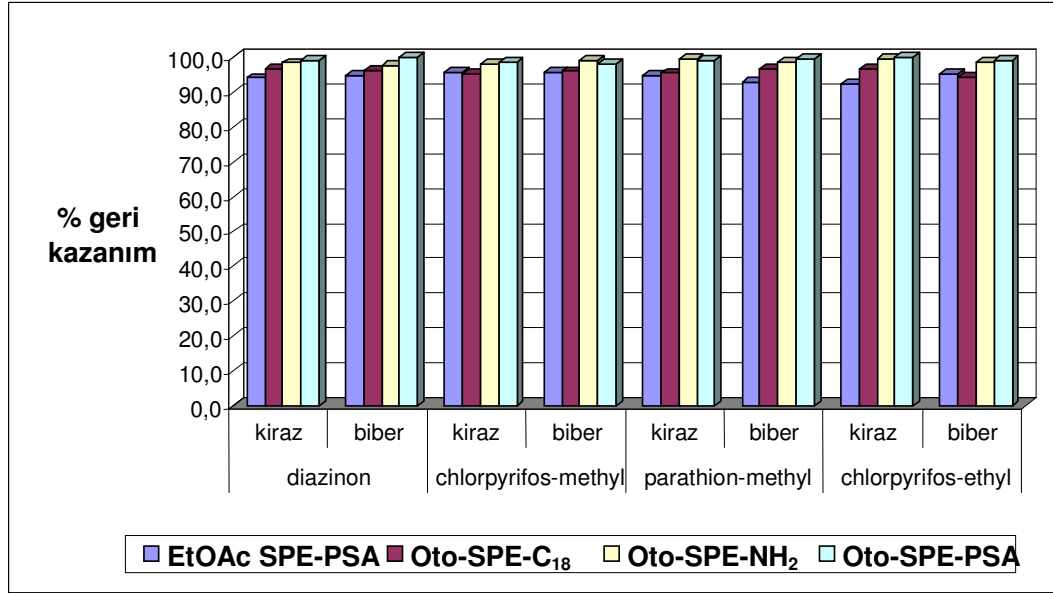
Yöntemler	250 µg/kg							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Etil asetat SPE-PSA	94,0	94,8	95,7	95,8	94,6	92,9	92,4	95,1
Oto-SPE-C₁₈	96,5	96,2	95,3	95,9	95,5	96,5	96,7	94,4
Oto-SPE-NH₂	98,3	97,5	97,9	99,2	99,4	98,7	99,4	98,5
Oto-SPE-PSA	99,0	100,6	98,4	98,0	99,0	99,4	100	99,2

Sonuçlara bakıldığında, çok büyük bir fark olmamasına rağmen otomatik SPE yöntemlerinde elle yapılan katı-faz yöntemlerine göre daha yüksek geri kazanım değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Elle çalışılan SPE yönteminde 250 ppb için geri kazanım oranı yaklaşık % 95 civarında iken, otomatik katı-faz ekstraksiyonda ise ortalama % 100'e yakın geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Elle yapılan çalışmalarda analistden kaynaklanabilecek hatalar nedeniyle geri kazanım sonuçlarının kişiye göre değişme problemi otomasyonlu çalışmalarda ortadan kalkmaktadır. Kartuşlar arasında çok bariz bir fark olmamasına rağmen C₁₈ kartuşta % 96, NH₂ kartuşta % 98 ve PSA kartuşta ise % 100 geri kazanım sağlanmıştır. C₁₈ kartuşta çok azda olsa pestisitlerin tutulması sözkonusu olduğu için NH₂ ve PSA'ya göre düşük geri kazanım değerleri görülmüştür.

Elle yapılan etil asetat SPE-PSA ve otomatik SPE metotları ile FPD'de yapılan ve Çizelge 4.3.1.'de verilen 10 ppb geri kazanım değerleri Şekil 4.3.1. ve Çizelge 4.3.2.'de verilen 250 ppb geri kazanım değerleri Şekil 4.3.2.'de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.



Şekil 4.3.1. EtOAc SPE-PSA ve otomatik SPE metotları FPD 10 ppb geri kazanım değerleri



Şekil 4.3.2. EtOAc SPE-PSA ve otomatik SPE metotları FPD 250 ppb geri kazanım değerleri

Yeni geliştirilen otomatik SPE metotlarının uluslararası standart metotlarla karşılaştırılmasını yapmak amacıyla, standart metot olarak sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi olan Luke metodu kullanılmıştır. Ayrıca aseton ile SPE yöntemiyle de karşılaştırma yapılmıştır.

Luke metodu ile LLE ve aseton ile temizleme amaçlı SPE yöntemlerinin geri kazanım çalışmaları NPD ile yapılmış ve 10 ppb geri kazanım sonuçları Çizelge 4.3.3.'de, 250 ppb geri kazanım sonuçları Çizelge 4.3.4.'de NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerinin sonuçları ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.3.3. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları

Yöntemler	10 µg/kg							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Luke metodu	73,6	74,2	72,7	74,1	70,0	73,0	73,4	72,4
Aseton SPE-PSA	77,7	78,8	76,8	76,1	79,7	77,7	78,1	78,1
Oto-SPE-C₁₈	84,7	84,3	86,0	84,4	83,5	84,6	83,3	84,1
Oto-SPE-NH₂	87,2	87,9	85,0	84,7	84,1	83,8	85,7	86,3
Oto-SPE-PSA	87,8	88,5	86,5	87,0	85,2	85,9	83,7	84,3

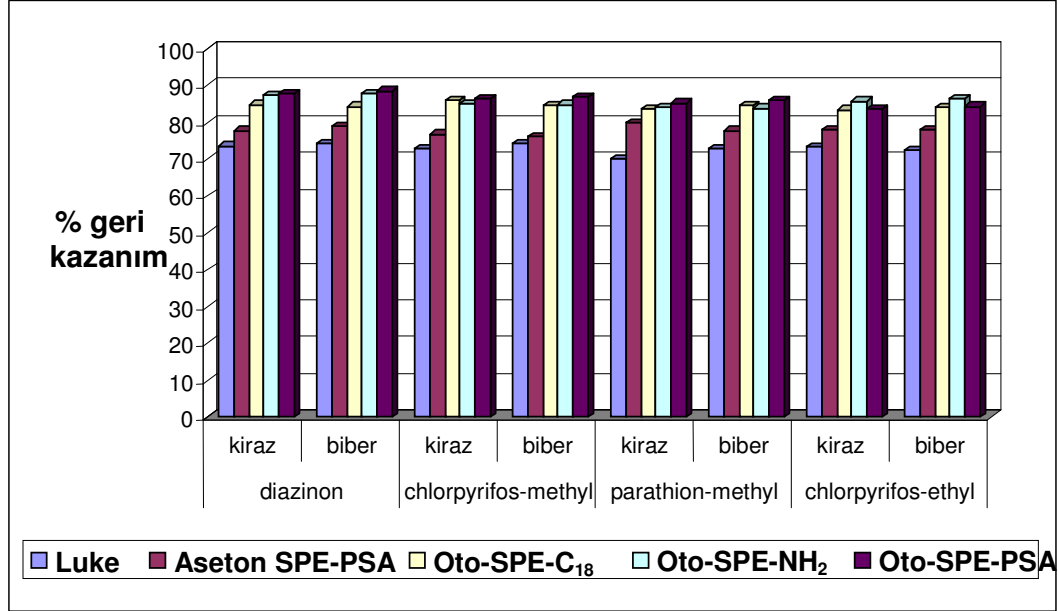
Çizelge 4.3.4. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin ortalama geri kazanım sonuçları

Yöntemler	250 µg/kg							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber	Kiraz	Biber
Luke metodu	84,7	83,6	83,7	83,8	84,6	83,9	80,5	80,8
Aseton SPE-PSA	88,1	88,0	86,1	84,2	87,7	88,3	85,1	85,0
Oto-SPE-C₁₈	97,3	96,3	95,4	94,0	92,7	95,3	96,5	93,5
Oto-SPE-NH₂	94,9	96,7	95,4	96,4	97,4	97,6	98,7	97,3
Oto-SPE-PSA	96,5	94,8	97,1	97,0	99,7	99,0	96,4	98,1

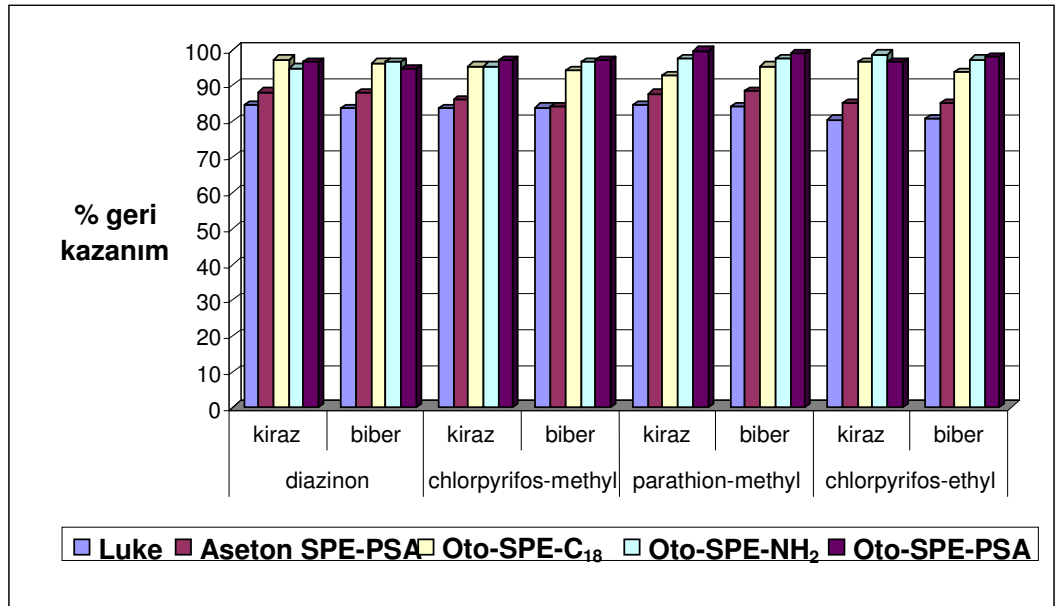
Asetonun etil asetata göre daha az seçici olması, Luke ve aseton-SPE ekstraksiyon metotlarında geri kazanım değerlerinin diğer metotlara göre daha düşük olmasının nedenlerindedir. Özellikle Luke metodunda çok sayıda kullanılan basamaklı işlemler ve yüksek hacimlerdeki çözücü buharlaştırılması kayıpların fazla olmasına neden olmuştur. Geliştirilen otomatik SPE metotları uluslararası standart metotlarla karşılaştırıldığında daha yüksek geri kazanım değerlerinin elde edildiği görülmektedir. 250 ppb için Luke metodunda yaklaşık % 83, aseton SPE metodunda ortalama % 85 geri kazanım elde edilirken, otomatik katı-faz ekstraksiyonda ortalama % 95-100 arasında geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Kartuşlar arasında çok bariz bir fark olmamasına rağmen C₁₈ kartuşta ortalama % 95, NH₂ kartuşta yaklaşık % 97 ve PSA kartuşta ise yaklaşık % 98 geri kazanım sağlanmıştır. Etil asetat metotlarının daha yüksek geri kazanım değerlerine sahip olması doğrusallık ve LOD çalışmalarındaki gibi bu metotları daha avantajlı duruma getirmektedir. C₁₈ kartuşta çok azda olsa pestisitlerin tutulması sözkonusu olduğu için NH₂ ve PSA'ya göre düşük geri kazanım değerleri görülmüştür.

Luke ve aseton SPE ekstraksiyon metotları ve otomatik SPE metotları ile NPD'de yapılan ve Çizelge 4.3.3.'de verilen 10 ppb geri kazanım değerleri Şekil 4.3.3. ve

Çizelge 4.3.4.'de verilen 250 ppb geri kazanım değerleri Şekil 4.3.4.'de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.

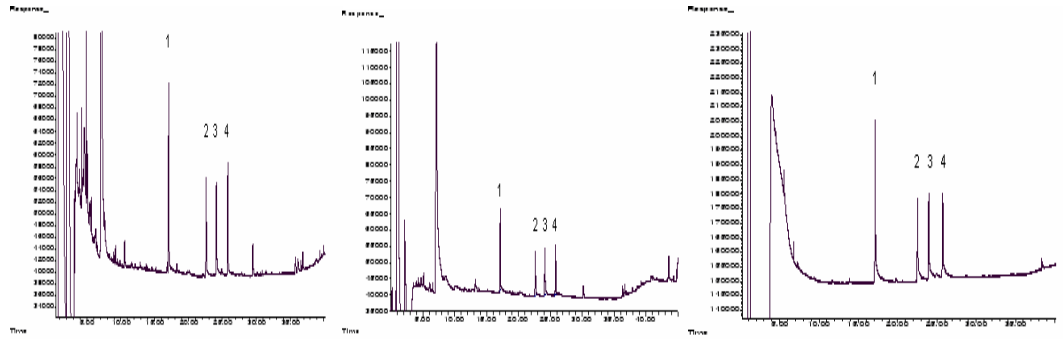


Şekil 4.3.3. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 10 ppb geri kazanım değerleri



Şekil 4.3.4. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 250 ppb geri kazanım değerleri

Şekil 4.3.5.'de verilen Luke, aseton SPE-PSA ve otomatik SPE-PSA geri kazanım kromatogramlarından, otomatik SPE-PSA metodu ile elde edilen kromatogramın Luke ve aseton SPE-PSA metodlarına göre daha seçici ve gürültüsüz bir taban çizgisine sahip olduğu, analizi yapılan pestisitler dışında ekstra piklerin olmadığı görülmektedir. Aseton SPE-PSA geri kazanım kromatogramının da Luke metoduna göre daha gürültüsüz olduğu söylenebilir. Bu da SPE metodlarının daha avantajlı olduğunu göstermektedir.



Luke metodu

Aseton SPE-PSA metodu

Otomatik SPE-PSA metodu

(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

Şekil 4.3.5. Luke, aseton SPE-PSA ve otomatik SPE-PSA metodu GC-NPD 250 ppb geri kazanım kromatogramları

Yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin, etil asetat kullanılarak yapılan seçici çözünme işlemleri ve Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile otomatik olarak gerçekleştirilen katı-faz ekstraksiyonunun farklı dedektörlerle yapılan geri kazanım çalışmalarının sonuçları aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir. 10 ppb kiraz geri kazanım çalışmalarının sonuçları toplu olarak Çizelge 4.3.5.'de ve 250 ppb kiraz geri kazanım çalışmalarının sonuçları da Çizelge 4.3.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.3.5. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 10 ppb geri kazanım değerleri

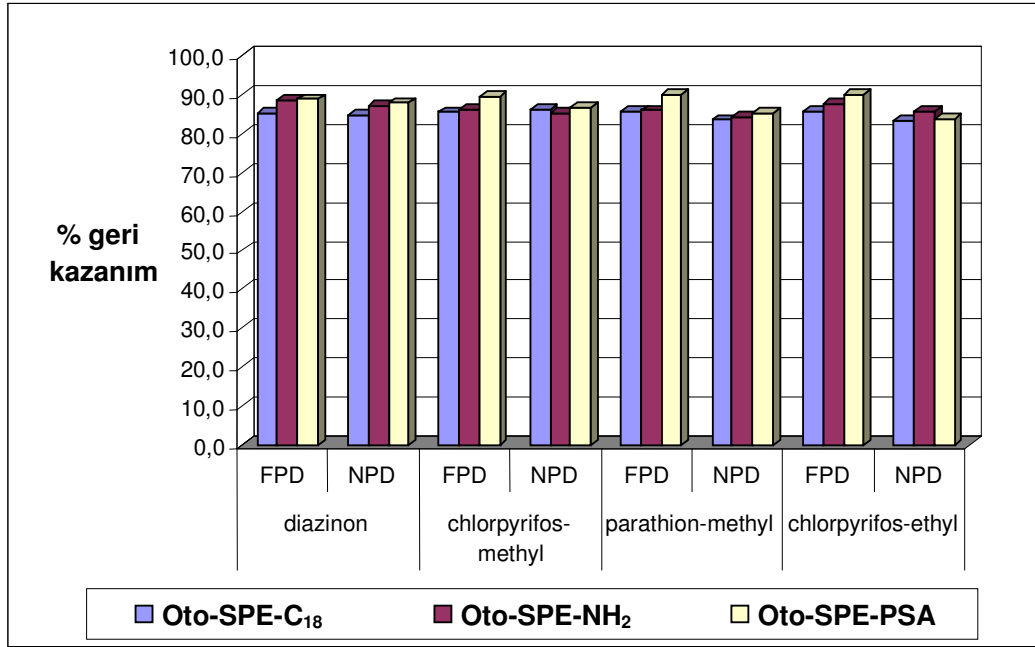
Yöntemler	10 ppb (µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos -methyl		Parathion -methyl		Chlorpyrifos -ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE C₁₈	85,3	84,7	85,4	86,0	85,8	83,5	85,6	83,3
Oto-SPE NH₂	88,5	87,2	86,2	85,0	85,9	84,1	87,4	85,7
Oto-SPE PSA	89,5	87,8	89,5	86,5	89,9	85,2	90,0	83,7

Çizelge 4.3.6. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 250 ppb geri kazanım değerleri

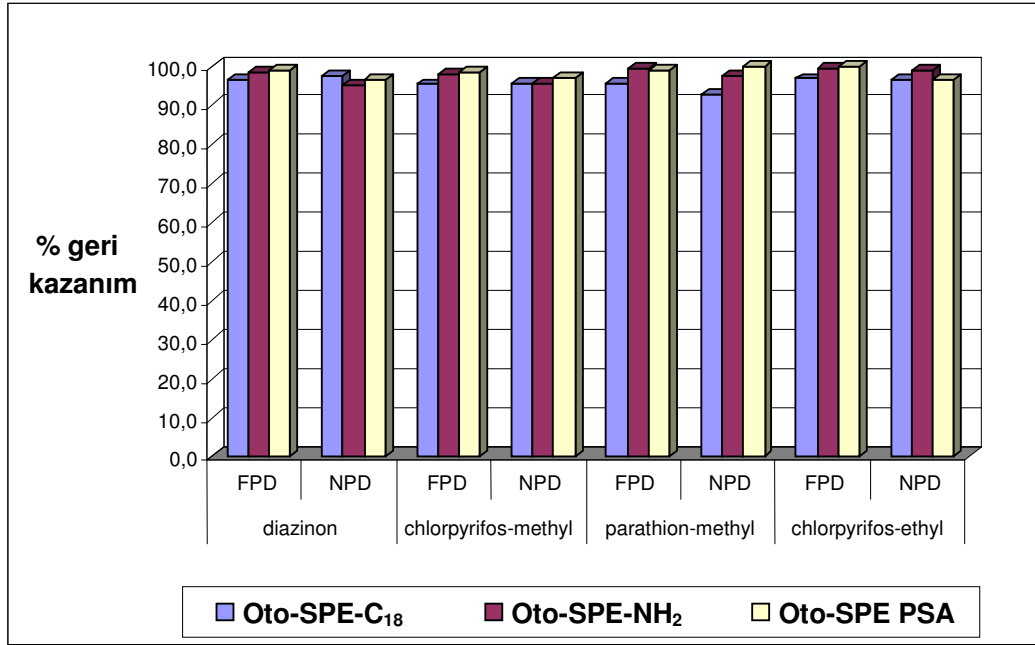
Yöntemler	250 ppb (µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos -methyl		Parathion -methyl		Chlorpyrifos -ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE C₁₈	96,5	97,3	95,3	95,4	95,5	92,7	96,7	96,5
Oto-SPE NH₂	98,3	94,9	97,9	95,4	99,4	97,4	99,4	98,7
Oto-SPE PSA	99,0	96,5	98,4	97,1	99,0	99,7	100	96,4

Otomatik SPE metotlarının dedektörlere göre karşılaştırılması yapıldığında, FPD ve NPD sonuçlarının birbirine çok yakın geri kazanım değerlerinde olduğu görülmektedir. Hem FPD hem de NPD’de, C₁₈ kartuşta çok azda olsa pestisitlerin tutulması sözkonusu olduğu için NH₂ ve PSA’ya göre biraz daha düşük geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Otomatik SPE metotları ile FPD ve NPD’de yapılan ve Çizelge 4.3.5.’de verilen 10 ppb kiraz geri kazanım değerleri Şekil 4.3.6. ve Çizelge 4.3.6.’da verilen 250 ppb kiraz geri kazanım değerleri Şekil 4.3.7.’de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.



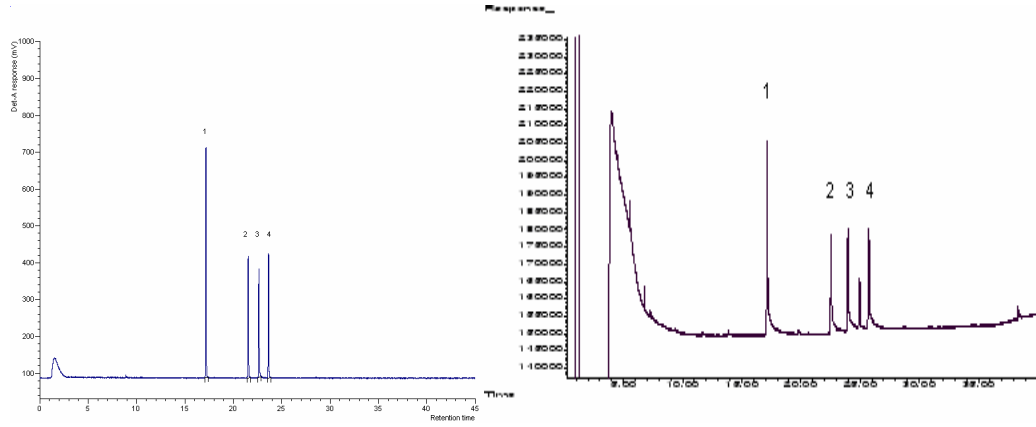
Şekil 4.3.6. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 10 ppb kiraz geri kazanım değerleri



Şekil 4.3.7. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 250 ppb kiraz geri kazanım değerleri

Şekil 4.3.8.'de verilen otomatik SPE-C₁₈ temizleme metodu ve FPD- NPD ile yapılan geri kazanım çalışmalarından, FPD kromatogramının NPD kromatogramına göre çok daha seçici ve düzgün bir taban çizgisine sahip olduğu, analizi yapılan

pestisitlerin dışında herhangi bir pikin bulunmadığı görülmektedir. Bu da FPD dedektörle çalışmanın daha sıkıntısız olacağını göstermektedir.



FPD 250 ppb geri kazanım kiraz

NPD 250 ppb geri kazanım kiraz

Şekil 4.3.8. Otomatik SPE-C₁₈ metodu FPD ve NPD 250 ppb geri kazanım kromatogramları

Çizelge 4.3.7.'de gıdalardaki pestisit kalıntı analizlerinde kantitatif bir metot ile elde edilmesi gereken ortalama geri kazanım aralıkları ve otomatik SPE metotlarında elde edilen ortalama geri kazanım aralıkları verilmiştir. Metodun kesinliğini kontrol etmek amacıyla raporlama sınır düzeyinde (metodun hassasiyetini kontrol etmek için) ve yüksek bir düzeyde, örneğin maksimum kalıntı limitinde en az beş tekrarlı ölçüm yapmak gerekmektedir (Anonim 2004 e).

Çizelge 4.3.7. Pestisit kalıntı analizlerinde çalışılan konsantrasyona göre elde edilmesi gereken ve otomatik SPE metotlarında elde edilen geri kazanım aralıkları

Konsantrasyon aralığı (mg/kg)	Ortalama % geri kazanım aralığı	Ortalama % geri kazanım aralığı otomatik SPE metodu
≤ 0,001	50-120	-
0,001-0,01	60-120	-
0,01-0,1	70-120	83,3 – 90,0
0,1-1	70-110	92,7 -100
>1	70-110	-

KAYNAK: Anonim. 2004 e. Quality Control Procedures For Pesticide Residues Analysis. Document N°SANCO/10476/2003.

Gaz kromatografisi ile etil asetat kullanılarak yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin ekstraksiyonu için geliştirilen ve Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile otomatik olarak gerçekleştirilen otomatik SPE metodunda elde edilen geri kazanım değerleri Çizelge 4.3.7.'de verilen olması gereken aralıklar içinde kalmıştır. Ayrıca otomatik SPE metodu özellikle Luke metodu ile karşılaştırıldığında geri kazanımın çok daha dar bir aralıkta (250 ppb için ortalama % 95-100) ve % 100'e yakın değerlerde olduğu görülmektedir.

Otomatik SPE metotlarında 250 ppb konsantrasyonda elde edilen % 100'e yakın olan geri kazanım sonuçları, Luke metodundaki ortalama % 83 olan geri kazanım değeriyle kıyaslandığında, örnek sonuçlarına uygulanacak olan geri kazanım düzeltmesinin daha küçük olması otomatik SPE metotlarının Luke metoduna kıyasla çok daha doğru sonuçlar vereceğini göstermiştir.

Literatürde GC ile yapılan pestisit çalışmalarına bakıldığında, çalışılan pestisit grupları ve dedektör çeşidine göre farklı aralıklarda geri kazanım değerlerinin elde edildiği ve geri kazanım sonuçlarının tekrarlanabilirlik ile birlikte verildiği görülmektedir.

Stajnbaher ve Kralj (2003), sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin analizi için çoklu kalıntı metodu geliştirmiştir. Metot, asetonla hızlı ve küçük ölçekli bir ekstraksiyon işlemini içermektedir. Çapraz bağlı polistiren-divinilbenzen kolonu SPE temizleme amaçlı kullanılmıştır. Birçok sebze ve meyve örneği için PS-DVB temizleme işlemi başarılı olurken, ıspanak ve havuç gibi bazı matriksler için ileri temizleme işlemlerine gerek duyulmuştur. Diethylaminopropyl (DEA) interferenslerin etkili bir şekilde uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Pestisit kalıntıları GC-MS ile belirlenmiştir. 0,01-0,5 mg/kg aralığındaki konsantrasyon bölgesinde çeşitli sebze ve meyvelerde çalışılan 90 adet pestisitinin çoğunun geri kazanım değerleri % 80'nin üzerinde bulunmuştur. Diazinon için ortalama % 92±4, chlorpyrifos-methyl % 89±5, parathion-methyl % 88±7 ve chlorpyrifos-ethyl % 94±2 geri kazanım ve % RSD değerleri elde edilmiştir.

Hercegova ve ark. (2005), maksimum kalıntı limiti 10 µg/kg'dan düşük olan ve bebek mamalarında kullanılan elmalardaki farklı kimyasal sınıflara ait 18 adet pestisitinin hızlı kapiler gaz kromatografisi ile tayini için tek çözücü ekstraksiyonu ve SPE temizleme (SPE-NH₂) işlemine dayanan bir örnek hazırlama metodu geliştirmiştir. Karmaşık matriksli örneklerden ultra eser düzeydeki pestisit kalıntılarının GC ile

belirlenmesi için MS ve ECD kullanılmış ve karşılaştırma yapılmıştır. Tüm örnek hazırlama işleminin optimizasyonu yapılmıştır. 5 µg/kg (bebek mamalarındaki LOQ için gerekli olan değer) düzeyindeki geri kazanım çalışmalarında dimethoate ve captan hariç % 90'dan büyük değerler elde edilmiştir. Diazinon için ortalama % 96, chlorpyrifos-methyl % 98 ve chlorpyrifos-ethyl % 101 geri kazanım değerleri bulunmuştur. Matrix-matched standartların GC-MS ölçümlerinin tekrarlanabilirlikleri bağıl standart sapma olarak captan ve cypermethrin hariç % 11'den küçük bulunmuştur.

Albero ve ark (2005), meyve sularındaki pestisitlerin belirlenmesi amacıyla SPE'ne dayanan bir metot geliştirmişlerdir. Ekstraksiyon işlemi C₁₈ kolonu ile gerçekleştirilmiş ve analiz GC-MS SIM modunda yapılmıştır. 0,02-0,1 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışılan tüm pestisitler için ortalama geri kazanım değerleri % 91'den yüksek, ortalama RSD'leri % 9'dan küçük bulunmuştur. Sırasıyla elde edilen ortalama geri kazanım ve % RSD değerleri diazinon için % 97 ve % 3, parathion-methyl için % 97 ve % 4 ve chlorpyrifos-ethyl için % 98 ve % 2 olarak verilmiştir.

Hirahara ve ark (2005), sebze ve meyvelerdeki 186 adet pestisit kalıntısının GC ile tayini için etil asetat ekstraksiyonu ve SPE-SAX/PSA temizleme basamaklarını içeren çoklu kalıntı metodu geliştirmişlerdir. Çalışılan pestisitlerin 58 adedinin bazı ürünlerdeki geri kazanım değerleri % 50'nin altında, 128 adet pestisit için ise tüm ürünlerdeki geri kazanım değeri % 50'den büyük çıkmıştır. % RSD değerleri ise 4-21 arasında elde edilmiştir.

Yenisoy-Karakaş tarafından 2006 yılında yapılan çalışmada, GC-ECD ile 30 taze sebze örneğindeki 16 organoklorlu pestisit kalıntısının belirlenmesi amacıyla diklormetan ve etil asetat kullanarak hızlı ve pratik bir ekstraksiyon metodu geliştirilmiştir. İşlemler valide edilmiştir. Her pestisit için 3 konsantrasyon düzeyinde elde edilen ortalama geri kazanım değerleri % 65 ve 102 arasında bulunmuştur. Analitik metodun belirsizliği, geri kazanım düzeltmesiyle %21 düzeltmesiz %16'dan daha düşük değerlerde elde edilmiştir. LOD ve LOQ maksimum kalıntı limitlerinin çok altındaki değerlerde 1 ng/g' dan daha düşük düzeylerde bulunmuştur.

Diez ve ark. (2006) bu çalışmada; 2003 yılında yayınlanan, özellikle yüksek miktarda su içeren sebze ve meyve örneklerindeki pestisitlerin ekstraksiyonu için geliştirilen ve QuEChERS olarak adlandırılan asetonitril ekstraksiyonu-dispersiv SPE metodunu arpa örneklerindeki herbisitlerin ekstraksiyonu için optimize etmişlerdir.

Ardından klasik ekstraksiyon metodu olan Luke metodu ile karşılaştırmışlardır. Ekstraktların analizi GC-MS ve LC-MS/MS ile yapılmıştır. 10 µg/kg düzeyindeki geri kazanım %60-120 ve tekrarlanabilirlik % 30, 50 ve 250 µg/kg düzeyindeki geri kazanım %70-110 ve tekrarlanabilirlik % 20 olarak elde edilmiştir.

Rubio ve ark.(2007), zeytin işleme yıkama sularındaki ng/L düzeyindeki organoklorlu, organofosforlu ve organoazotlu 28 adet pestisitın GC ile analizi için SPE metodu geliştirmiştir. Pestisitlerin yağ içeren su matriksinden ayrılması için C₁₈ SPE kartuşu ve diklorometan kullanılmıştır. Geri kazanım değerleri % 79-129 arasında, LOD'lar 1-4 ng/L aralığında bulunmuştur. Metot, İspanyanın farklı bölgelerinde bulunan üç yağ fabrikasının yıkama cihazlarının giriş ve çıkışından toplanan 25 su örneğindeki organoklorlu, organofosforlu ve organoazotlu pestisitlerin başarılı bir şekilde belirlenmesinde uygulanmıştır. En sık olarak rastlanan pestisit kalıntıları terbuthylazine, simazine ve diuron olmuştur. Yıkama cihazının girişinden toplanan bazı su örneklerindeki ölçülen terbuthylazine ve diuron miktarları yasalardaki limitlerin üzerinde çıkmıştır.

Zawiyah ve ark.(2006), Malezya marketlerinde satışa sunulan sebze ve meyvelerdeki piretroid ve organoklorlu pestisit kalıntılarını araştırmak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. GC-ECD ile pestisit miktarlarını belirlemek amacıyla SPE-SAX/PSA kartuşları temizleme amacıyla kullanılmıştır. 302 sebze örneğinin 32'sinde ortalama 0,47 mg/kg cypermethrin tespit edilmiştir. Bütün örneklerdeki pestisit miktarları Malezya Gıda Yönetmeliğindeki maksimum kalıntı limitlerinin altında bulunmuştur. 206 adet meyve örneğinde ise pestisit kalıntısına rastlanmamıştır.

Pang ve ark. (2006 a) tarafından, sebze ve meyvelerdeki 446 adet pestisit kalıntısının SPE ve GC-MS ve LC-MS/MS tayini ile belirlenmesinde elde edilen geri kazanım değerlerinin %99'unun % 60-120 arasında, RSD değerlerinin ise % 2,1-25,0 arasında olduğu ifade edilmiştir.

Ayrıca bal, şarap ve meyve suyu örneklerinde çalışılan 450 pestisitın %91'inin % 70-120 arasında, RSD değerlerinin ise % 4,9-30,4 arasında olduğu belirtilmiştir (Pang ve ark. 2006 b).

4.4. Tekrarlanabilirlik Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kiraz ve biber blank örneği içinde 10 ve 250 ppb mix standart bulunacak şekilde hazırlanan geri kazanım örnekleri ile aynı gün ve farklı gün analizler yapılarak tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik belirlenmiştir. Ancak burada sonuçların karşılaştırması kiraz değerleri üzerinden yapılacaktır.

Etil asetat ile temizleme amaçlı SPE ve otomatik SPE yöntemlerinin FPD ile yapılmış 10 ve 250 ppb geri kazanım çalışmalarının verilerinden hesaplanan tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik (% RSD) değerleri aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir. Çizelge 4.4.1.'de 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin kirazdaki tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik (% RSD) değerleri ve Çizelge 4.4.2.'de 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin kirazdaki tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik (% RSD) değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.4.1. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri

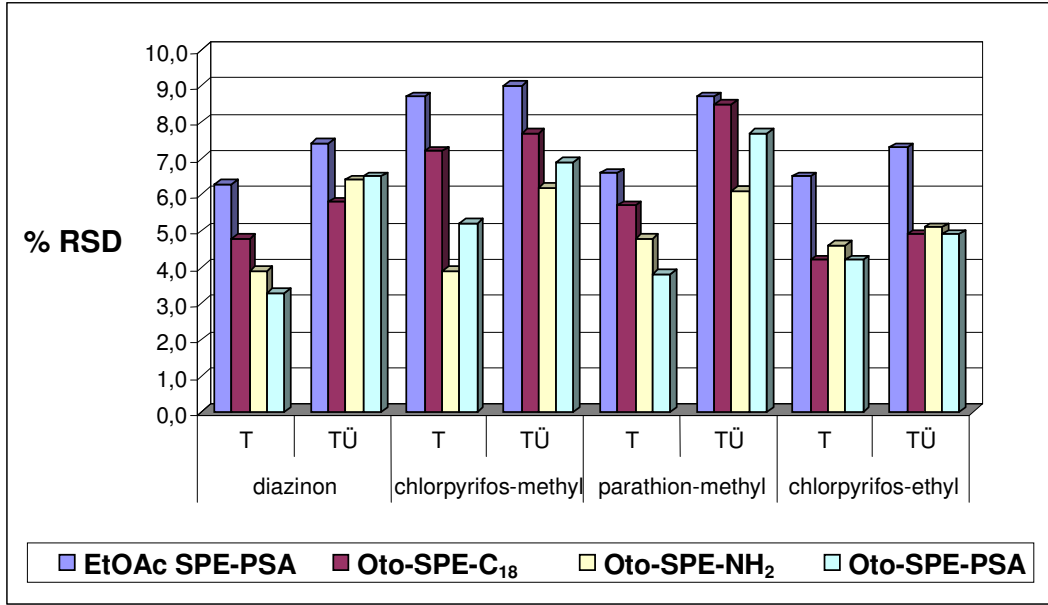
Yöntemler	% RSD (10 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
EtOAc-SPE PSA	6,3	7,4	8,7	9,0	6,6	8,7	6,5	7,3
Oto-SPE-C₁₈	4,8	5,8	7,2	7,7	5,7	8,5	4,2	4,9
Oto-SPE-NH₂	3,9	6,4	3,9	6,2	4,8	6,1	4,6	5,1
Oto-SPE-PSA	3,3	6,5	5,2	6,9	3,8	7,7	4,2	4,9

Çizelge 4.4.2. FPD ile çalışılmış etil asetat ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri

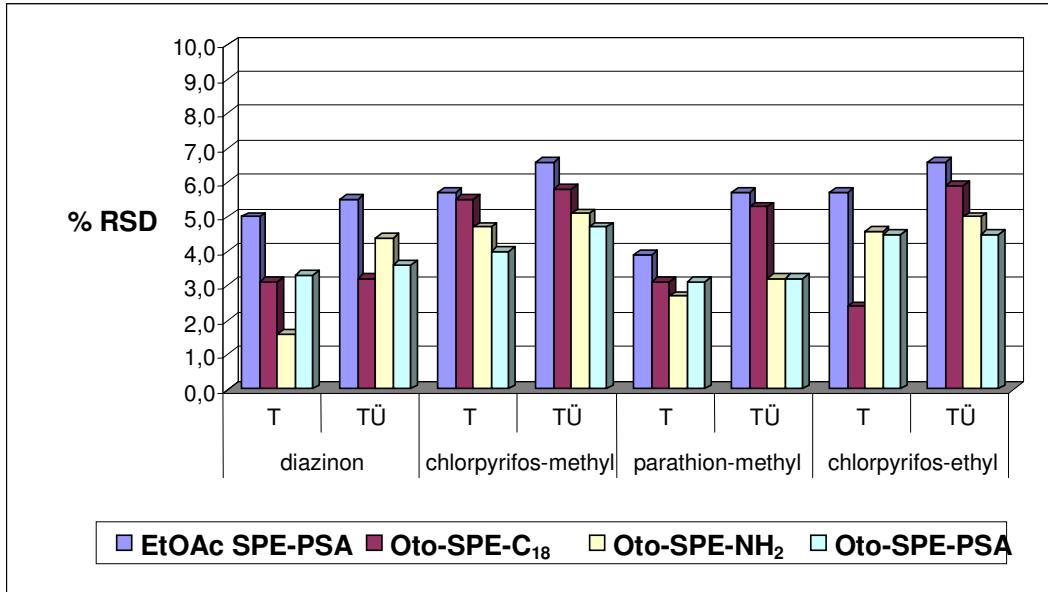
Yöntemler	% RSD (250 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
EtOAc- SPE PSA	5,0	5,5	5,7	6,6	3,9	5,7	5,7	6,6
Oto-SPE-C₁₈	3,1	3,2	5,5	5,8	3,1	5,3	2,4	5,9
Oto-SPE-NH₂	1,6	4,4	4,7	5,1	2,7	3,2	4,6	5,0
Oto-SPE-PSA	3,3	3,6	4,0	4,7	3,1	3,2	4,5	4,5

Sonuçlara bakıldığında genel olarak otomatik SPE yöntemleri ile daha düşük RSD değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Elle çalışılan SPE yönteminde; 10 ppb konsantrasyonda tekrarlanabilirlik yaklaşık % 7 - tekrar üretilebilirlik % 8 civarında, 250 ppb konsantrasyonda ise tekrarlanabilirlik yaklaşık % 5 - tekrar üretilebilirlik % 6 civarında elde edilirken; otomatik SPE’da 10 ppb konsantrasyonda ortalama tekrarlanabilirlik yaklaşık % 4,6 - tekrar üretilebilirlik % 6 civarında, 250 ppb konsantrasyonda ise tekrarlanabilirlik yaklaşık % 3,5 - tekrar üretilebilirlik % 4 civarında elde edilmiştir. Elle yapılan çalışmalarda analistden kaynaklanabilecek hatalar nedeniyle sonuçların kişiye göre değişme problemi otomasyonlu çalışmalarda ortadan kalkmakta ve metodun kesinliği daha iyi olmaktadır. Kartuşlar arasında çok bariz bir fark olmamasına rağmen 250 ppb konsantrasyonda elde edilen tekrarlanabilirlik değerleri C₁₈ kartuşta % 3,5 - NH₂ kartuşta % 3,4 ve PSA kartuşta ise % 3,7 iken, tekrar üretilebilirlik değerleri ise C₁₈ kartuşta % 5,1 , NH₂ kartuşta % 4,5 ve PSA kartuşta ise % 4,0 olmuştur.

Elle yapılan EtOAc SPE-PSA ve otomatik SPE metotları ile FPD’de yapılan ve Çizelge 4.4.1.’de verilen 10 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri Şekil 4.4.1. ve Çizelge 4.4.2.’de verilen 250 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri Şekil 4.4.2.’de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.



Şekil 4.4.1. EtOAc-SPE PSA ve otomatik SPE metotları FPD 10 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri



Şekil 4.4.2. EtOAc-SPE PSA ve otomatik SPE metotları FPD 250 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri

Yeni geliştirilen otomatik SPE metotlarının uluslararası standart metotlarla karşılaştırılmasını yapmak amacıyla, standart metot olarak sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi olan Luke metodu kullanılmıştır. Literatürlerde bulunan aseton ile SPE yöntemiyle de karşılaştırma yapılmıştır.

Luke metodu ile LLE ve aseton ile SPE yöntemlerinin tekrarlanabilirlik çalışmaları NPD ile yapılmış ve 10 ppb kiraz tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik sonuçları Çizelge 4.4.3.'de, 250 ppb kiraz tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik sonuçları Çizelge 4.4.4.'de NPD ile çalışılmış otomatik SPE yöntemlerinin sonuçları ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.4.3. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri

Yöntemler	% RSD (10 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Luke metodu	6,9	8,9	8,1	9,0	9,6	10,6	8,4	10,1
Aseton SPE-PSA	6,1	7,3	7,9	8,8	6,9	10,4	5,0	9,9
Oto-SPE-C₁₈	5,6	6,2	6,2	8,3	6,1	9,2	2,6	8,7
Oto-SPE-NH₂	5,9	7,2	4,1	8,1	6,4	7,3	4,7	5,3
Oto-SPE-PSA	5,8	7,5	4,6	7,8	6,0	8,1	4,2	4,5

Çizelge 4.4.4. NPD ile çalışılmış ekstraksiyon yöntemlerine ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ)değerleri

Yöntemler	% RSD (250 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ	T	TÜ
Luke metodu	7,4	10,1	6,2	9,0	7,3	8,2	7,4	9,0
Aseton SPE-PSA	7,0	8,0	5,6	7,4	5,9	6,9	6,5	6,5
Oto-SPE-C ₁₈	6,6	7,5	5,4	5,6	5,2	6,8	4,6	5,5
Oto-SPE-NH ₂	6,1	7,8	5,0	7,1	3,8	4,8	3,6	3,9
Oto-SPE-PSA	4,5	6,8	3,6	6,1	3,7	4,4	3,5	5,3

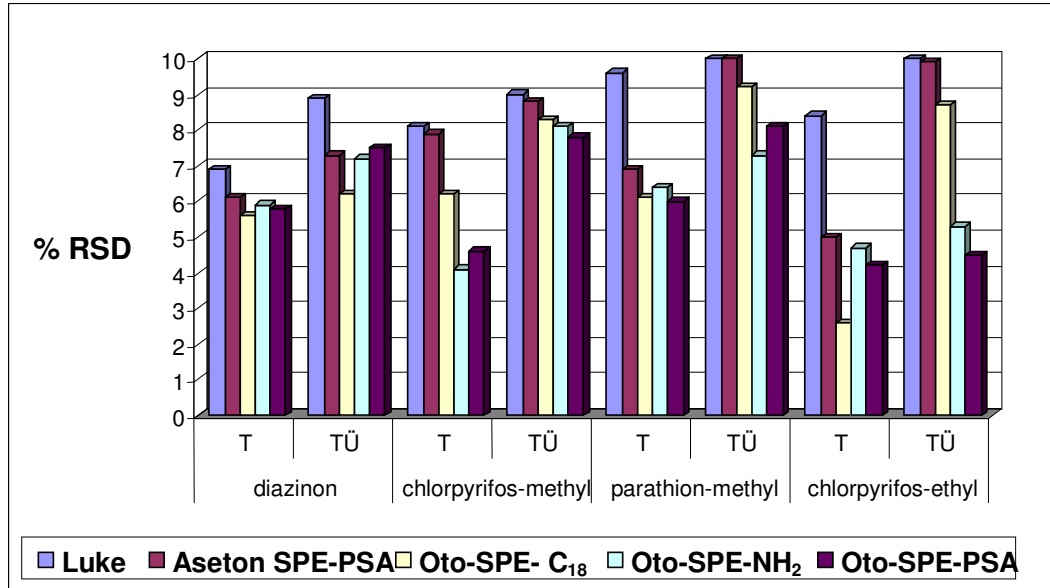
Luke ve aseton SPE-PSA ekstraksiyon metotlarında elde edilen % RSD değerlerinin çoğunlukla diğer metotlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Asetonun etil asetata göre daha az seçici olması ve daha fazla matriks bileşenini ekstrakte etmesi, Luke ve aseton SPE-PSA ekstraksiyon metotlarında tekrarlanabilirlik değerlerinin diğer metotlara göre daha yüksek olmasının nedenlerindedir. Özellikle Luke metodunda çok sayıda kullanılan basamaklı işlemler hata oranını artırmaktadır. Etil asetatın seçici olması dolayısıyla genel olarak daha düşük % RSD değerlerine sahip olması doğrusalık, LOD ve geri kazanım çalışmalarındaki gibi bu metotları daha avantajlı duruma getirmektedir.

Luke metodunda; 10 ppb konsantrasyonda ortalama tekrarlanabilirlik yaklaşık % 8 - tekrar üretilebilirlik % 9,5 civarında, 250 ppb konsantrasyonda ise tekrarlanabilirlik yaklaşık % 7 - tekrar üretilebilirlik % 9 civarında, aseton SPE-PSA metodunda ise 10 ppb konsantrasyonda ortalama tekrarlanabilirlik yaklaşık % 6,5 - tekrar üretilebilirlik % 9 civarında, 250 ppb konsantrasyonda ise tekrarlanabilirlik yaklaşık % 6 - tekrar üretilebilirlik % 7,2 civarında elde edilmiştir.

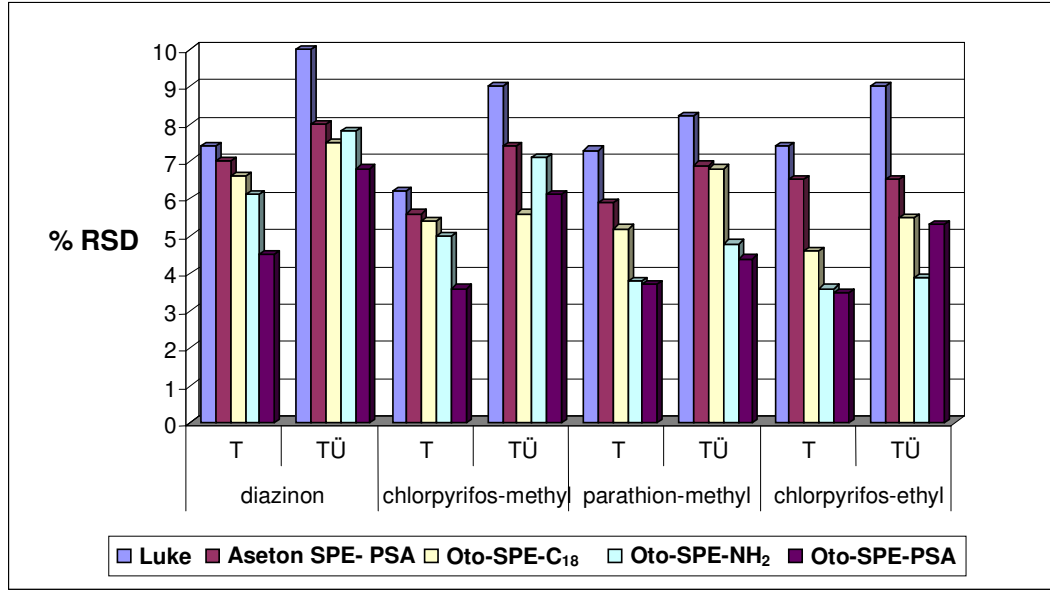
Otomatik katı-faz ekstraksiyonda 10 ppb konsantrasyonda ortalama tekrarlanabilirlik yaklaşık % 5,2 - tekrar üretilebilirlik % 7,3 civarında, 250 ppb

konsantrasyonda ise tekrarlanabilirlik yaklaşık % 5 - tekrar üretilebilirlik % 6 civarında elde edilmiştir. Kartuşlar arasında çok bariz bir fark olmamıştır ve 250 ppb konsantrasyonda elde edilen tekrarlanabilirlik değerleri C₁₈ kartuşta % 5,5 , NH₂ kartuşta % 4,6 ve PSA kartuşta ise % 3,8 - tekrar üretilebilirlik değerleri ise C₁₈ kartuşta % 6,3 , NH₂ kartuşta % 6 ve PSA kartuşta ise % 5,6 civarında elde edilmiştir.

Luke ve aseton SPE-PSA ekstraksiyon metotları ve otomatik SPE metotları ile NPD'de yapılan ve Çizelge 4.4.3.'de verilen 10 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri Şekil 4.4.3. ve Çizelge 4.4.4.'de verilen tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik 250 ppb değerleri Şekil 4.4.4.'de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.



Şekil 4.4.3. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 10 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri



Şekil 4.4.4. Luke ve aseton SPE-PSA ve otomatik SPE metotları NPD 250 ppb tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri

Yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin, etil asetat kullanılarak yapılan seçici çözünme işlemleri ve Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile otomatik olarak gerçekleştirilen katı-faz ekstraksiyonunun farklı dedektörlerle yapılan 10 ppb kiraz tekrarlanabilirlik çalışmalarının sonuçları toplu olarak Çizelge 4.4.5.'de, 250 ppb kiraz tekrarlanabilirlik çalışmalarının sonuçları Çizelge 4.4.6.'da ve 10 ppb kiraz tekrar üretilebilirlik çalışmalarının sonuçları toplu olarak Çizelge 4.4.7.'de, 250 ppb kiraz tekrar üretilebilirlik çalışmalarının sonuçları Çizelge 4.4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4.5. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) değerleri

Yöntemler	% RSD (10 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos-methyl		Parathion-methyl		Chlorpyrifos-ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE-C ₁₈	4,8	5,6	7,2	6,2	5,7	6,1	4,2	2,6
Oto-SPE-NH ₂	3,9	5,9	3,9	4,1	4,8	6,4	4,6	4,7
Oto-SPE-PSA	3,3	5,8	5,2	4,6	3,8	6,0	4,2	4,2

Çizelge 4.4.6. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrarlanabilirlik (T) değerleri

Yöntemler	% RSD (250 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos -methyl		Parathion -methyl		Chlorpyrifos -ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE-C ₁₈	3,1	6,6	5,2	5,4	3,1	5,2	2,4	4,6
Oto-SPE-NH ₂	1,6	6,1	4,7	5,0	2,7	3,8	4,6	3,6
Oto-SPE-PSA	3,3	4,5	4,0	3,6	3,1	3,7	4,5	3,5

Çizelge 4.4.7. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 10 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri

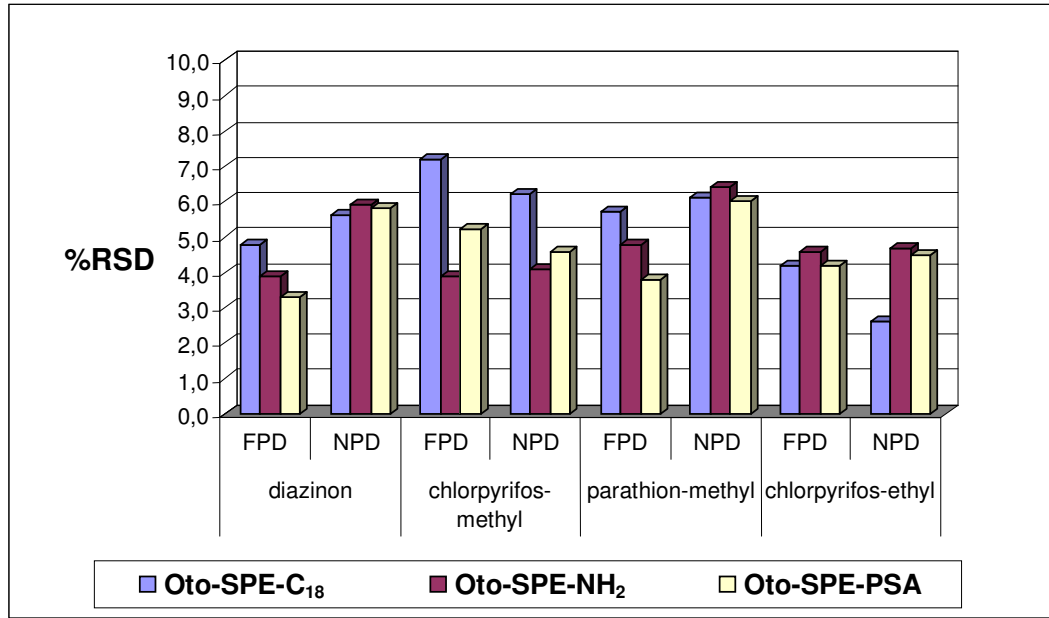
Yöntemler	% RSD (10 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos -methyl		Parathion -methyl		Chlorpyrifos -ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE-C ₁₈	5,8	6,2	7,7	8,3	8,5	9,2	4,9	8,7
Oto-SPE-NH ₂	6,4	7,2	6,2	8,1	6,1	7,3	5,1	5,3
Oto-SPE-PSA	6,5	7,5	6,9	7,8	7,7	8,1	4,9	4,5

Çizelge 4.4.8. FPD ve NPD ile çalışılmış otomatik SPE metotlarına ait 250 ppb konsantrasyondaki pestisitlerin tekrar üretilebilirlik (TÜ) değerleri

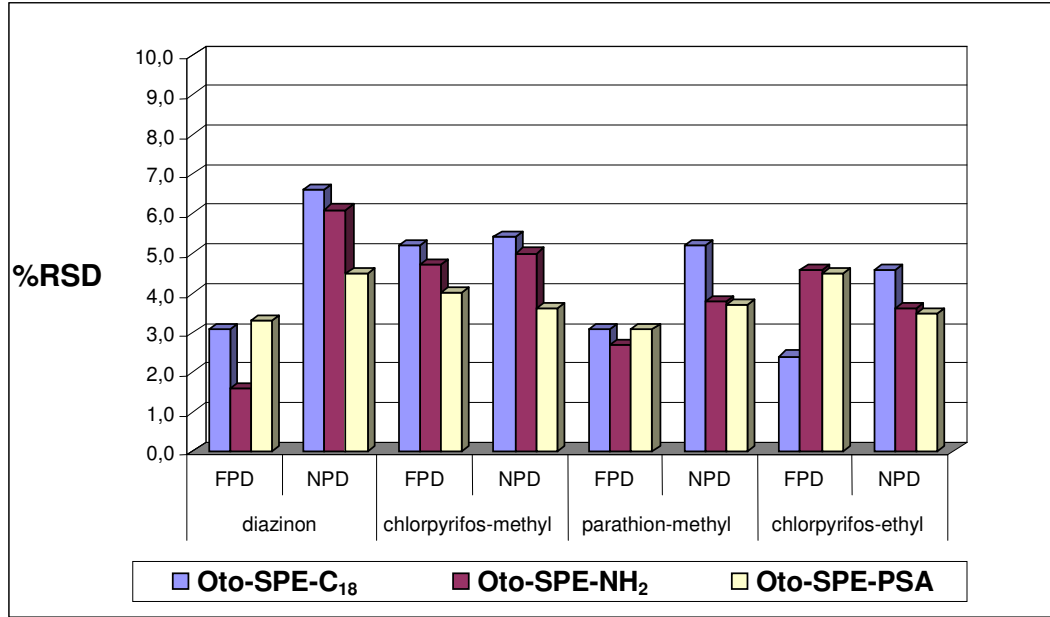
Yöntemler	% RSD (250 µg/kg)							
	Diazinon		Chlorpyrifos -methyl		Parathion -methyl		Chlorpyrifos -ethyl	
	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD	FPD	NPD
Oto-SPE-C ₁₈	3,2	7,5	5,8	5,6	5,3	6,8	5,9	5,5
Oto-SPE-NH ₂	4,4	7,8	5,1	7,1	3,2	4,8	5,0	3,9
Oto-SPE-PSA	3,6	6,8	4,7	6,1	3,2	4,4	4,5	5,3

Otomatik SPE metotlarının dedektörlere göre karşılaştırılması yapıldığında, FPD ile yapılan tekrarlanabilirlik (T) ve tekrar üretilebilirlik (TÜ) çalışmalarında elde edilen % RSD değerlerinin NPD'e göre daha düşük olduğu görülmektedir. FPD ile yapılan 10 ppb konsantrasyonda ortalama tekrarlanabilirlik yaklaşık % 4,6 iken NPD'de % 5,2 - tekrar üretilebilirlik FPD'de % 6,4 civarında iken NPD'de % 7,3 civarında elde edilmiştir. 250 ppb konsantrasyonda ise ortalama FPD tekrarlanabilirlik % 3,5 - NPD tekrarlanabilirlik % 4,6 iken, FPD tekrar üretilebilirlik % 4,5 - NPD tekrar üretilebilirlik % 6 olarak elde edilmiştir. FPD'ün tekrarlanabilirliğin iyi olmasını özellikle fosforlu pestisitlere karşı oldukça seçici olmasına dayandırılabilir.

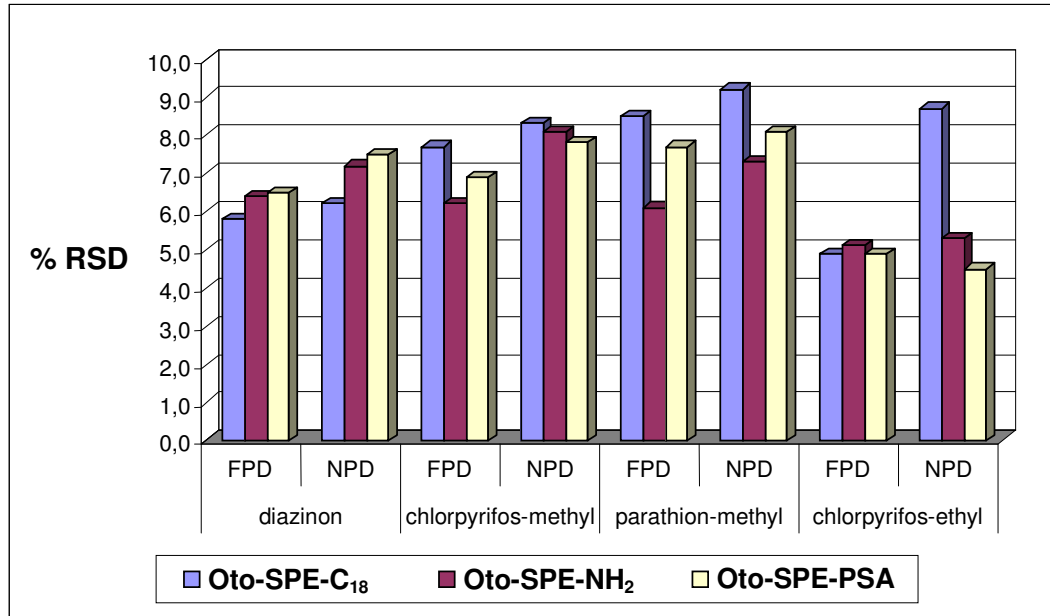
Otomatik SPE metotları ile FPD ve NPD'de yapılan ve Çizelge 4.4.5. ve Çizelge 4.4.6.'da verilen 10 ppb ve 250 ppb kiraz tekrarlanabilirlik değerleri sırasıyla Şekil 4.4.5. ve Şekil 4.4.6.'da grafik olarak gösterilmiştir. Çizelge 4.4.7. ve Çizelge 4.4.8.'de verilen 10 ppb ve 250 ppb kiraz tekrar üretilebilirlik değerleri ise sırasıyla Şekil 4.4.7. ve Şekil 4.4.8.'de toplu olarak grafik ile özetlenmiştir.



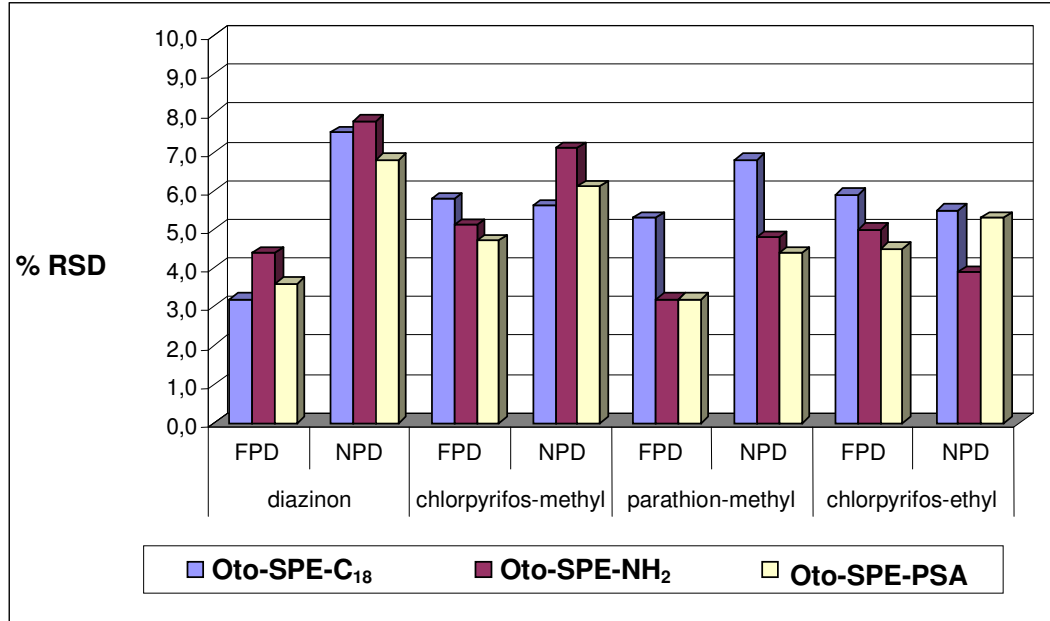
Şekil 4.4.5. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 10 ppb kiraz tekrarlanabilirlik değerleri



Şekil 4.4.6. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 250 ppb kiraz tekrarlanabilirlik değerleri



Şekil 4.4.7. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 10 ppb kiraz tekrar üretilebilirlik değerleri



Şekil 4.4.8. Otomatik SPE metotları FPD ve NPD 250 ppb kiraz tekrar üretilebilirlik değerleri

Çizelge 4.4.9.'da gıdalardaki pestisit kalıntı analizlerinde kantitatif bir metotta elde edilmesi gereken ve otomatik SPE metotlarında elde edilen ortalama tekrarlanabilirlik değerleri verilmiştir. Metodun kesinliğini kontrol etmek amacıyla raporlama sınır düzeyinde (metodun hassasiyetini kontrol etmek için) ve yüksek bir düzeyde, örneğin maksimum kalıntı limitinde en az beş tekrarlı ölçüm yapmak gerekmektedir (Anonim 2004 e).

Çizelge 4.4.9. Pestisit kalıntı analizlerinde konsantrasyona göre elde edilmesi gereken ve otomatik SPE metotlarında elde edilen tekrarlanabilirlik değerleri

Konsantrasyon aralığı (mg/kg)	Tekrarlanabilirlik (%RSD)	En yüksek Tekrarlanabilirlik (%RSD) otomatik SPE metodu
≤ 0,001	36	-
0,001-0,01	32	-
0,01-0,1	22	7,2
0,1-1	18	6,6
>1	14	-

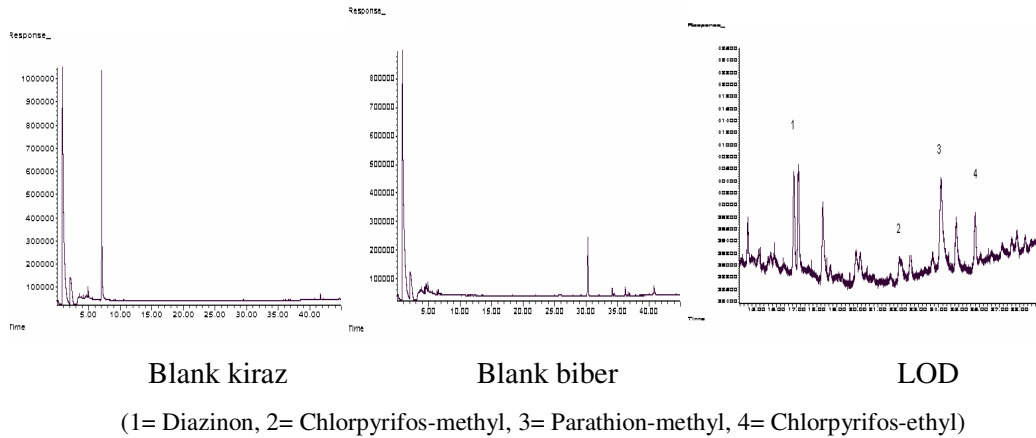
KAYNAK: Anonim. 2004 e. Quality Control Procedures For Pesticide Residues Analysis. Document N°SANCO/10476/2003.

Gaz kromatografisi ile etil asetat kullanılarak yaş sebze ve meyvelerdeki pestisitlerin ekstraksiyonu için geliştirilen ve Gilson ASPEC XL sıvı örnekleme sistemi ile otomatik olarak gerçekleştirilen otomatik SPE temizleme metodunda elde edilen tekrarlanabilirlik değerleri Çizelge 4.4.9.'da verilen olması gereken değerlerin oldukça altında kalmıştır. Ayrıca otomatik SPE metodu özellikle Luke metodu ile karşılaştırıldığında tekrarlanabilirlik değerinin çok daha küçük değerlerde olduğu görülmektedir.

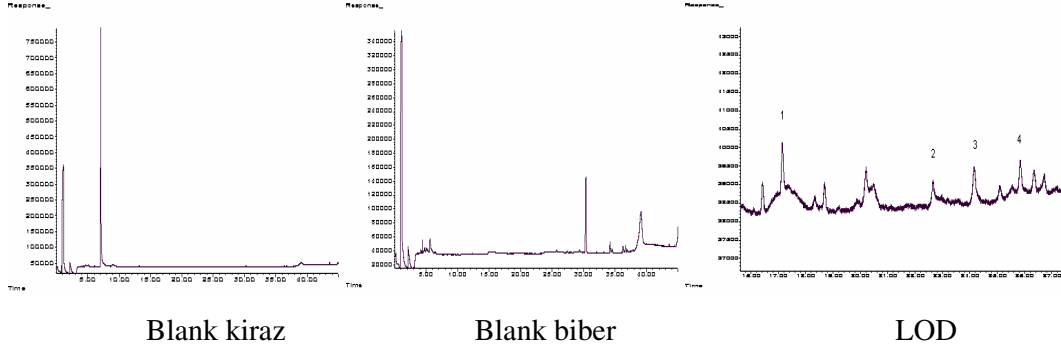
4.5. Kromatogramların ve Katı-Faz Ekstraksiyon Temizleme Kartuşlarının Karşılaştırılması

Tüm ekstraksiyon metotların kromatogramları incelendiğinde, SPE metotlarının avantajları sayısal verilerin yanında görsel olarak da verilmiş olacaktır.

Luke ve aseton ile temizleme amaçlı SPE metotlarında elde edilen blank kiraz, blank biber ve LOD düzeyindeki kromatogramlar Şekil 4.5.1. ve Şekil 4.5.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.5.1. Luke metodu GC-NPD blank ve LOD kromatogramları



(1= Diazinon, 2= Chlorpyrifos-methyl, 3= Parathion-methyl, 4= Chlorpyrifos-ethyl)

Şekil 4.5.2. Aseton ile SPE-PSA metodu GC-NPD blank ve LOD kromatogramları

NPD ile yapılan Luke ve aseton SPE-PSA metodu çalışmalarının kromatogramlarına bakıldığında, özellikle büyütülmüş LOD düzeyindeki kromatogramların taban çizgilerinin oldukça gürültülü oldukları görülmektedir.

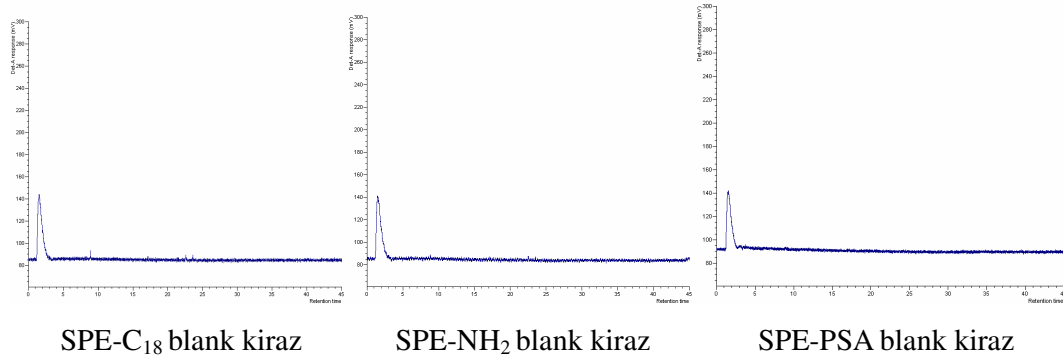
NPD'ün fosforlu bileşiklerin dışında azotlu bileşiklere karşı da seçici olması nedeniyle, kromatogramlarda analizi yapılan fosforlu pestisitlerin dışında matriksten gelen çeşitli piklerin görülmesiyle birlikte, özellikle Luke metodu ile elde edilen kromatogramlarda gürültü sinyalinin çok fazla olduğu ve farklı piklerin çok fazla görüldüğü göze çarpmaktadır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon metodu olan Luke metodunda, farklı ve yüksek hacimlerde çözücüler kullanılıyor olması ve çok basamaklı işlemler içermesi gibi dezavantajlara sahip olmasının yanında elde edilen kromatogramların da oldukça gürültülü olması metodun kullanılabilirliğini sınırlamaktadır.

Aseton SPE-PSA metodu ile elde edilen kromatogramlara bakıldığında, Luke metodu kadar olmasa da gürültülü bir taban çizgisine sahip olduğu olduğu ve analizi yapılan fosforlu pestisitlerin dışında çok sayıda matriks bileşeninin de ekstrakte edildiği görülmektedir.

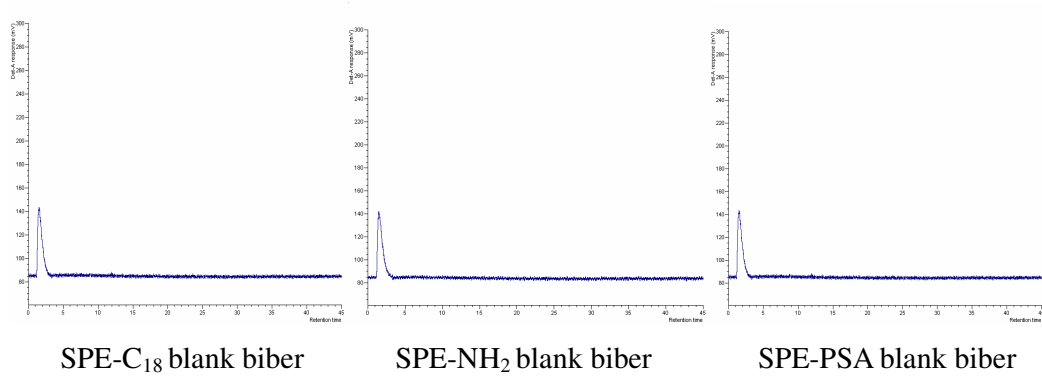
Şekil 1.10.1.1.' de (Griffiths 2005) gösterildiği gibi pestisitlerle birlikte en fazla matriks bileşenlerini ekstrakte eden çözücünün, hem Luke hem de aseton ile SPE metotlarında kullanılan aseton olduğu kromatogramlardan da görülmektedir.

FPD ve NPD ile çalışılan etil asetat otomatik SPE metodlarında farklı temizleme kartuşları kullanılarak doğrusallık, LOD-LOQ, geri kazanım, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik analitik parametreleri incelenmiştir. Elde edilen bu sonuçların kromatogramlar üzerinden de karşılaştırılması yapılmıştır.

Şekil 4.5.3. ve Şekil 4.5.4.'de C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile ekstraksiyonu ve GC-FPD ile analizi yapılmış blank kiraz ve blank biber kromatogramları verilmiştir.

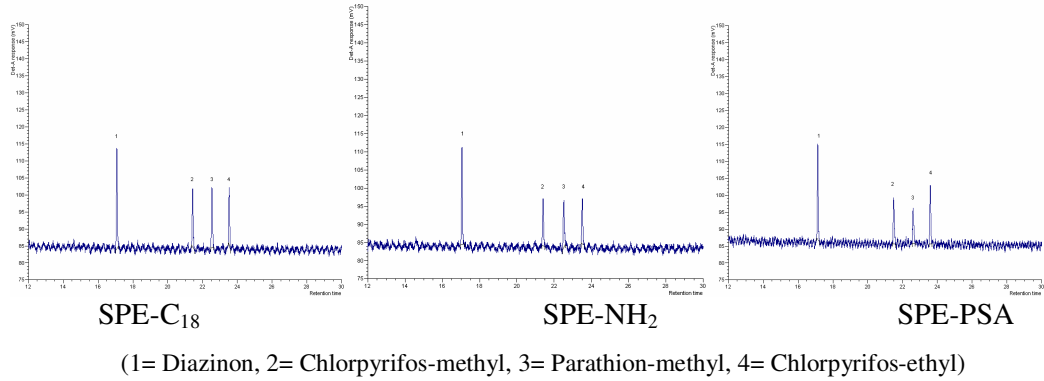


Şekil 4.5.3. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu GC-FPD blank kiraz kromatogramları



Şekil 4.5.4. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu GC-FPD blank biber kromatogramları

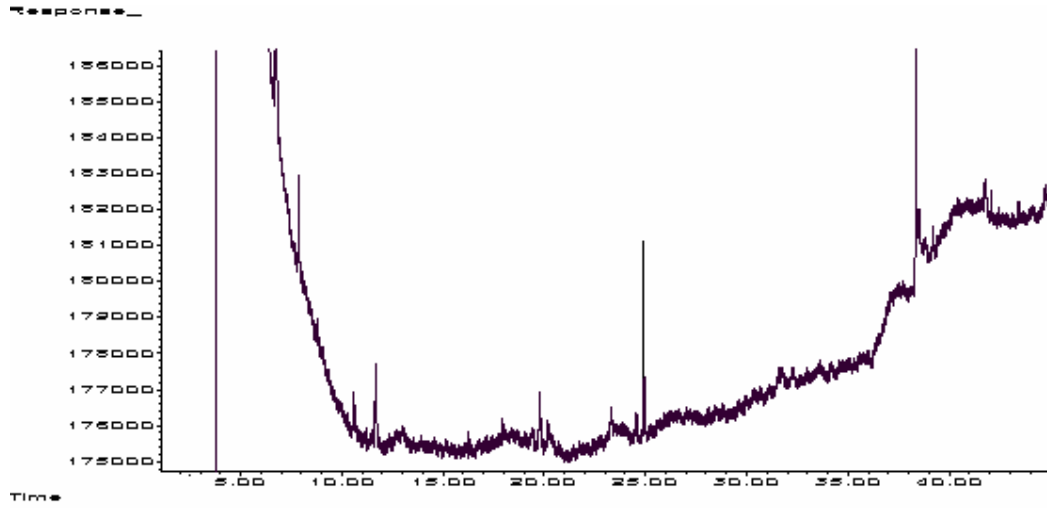
Şekil 4.5.5.'de C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşları ile ekstraksiyonu ve GC-FPD ile analizi yapılmış LOD düzeyindeki kromatogramlar verilmiştir.



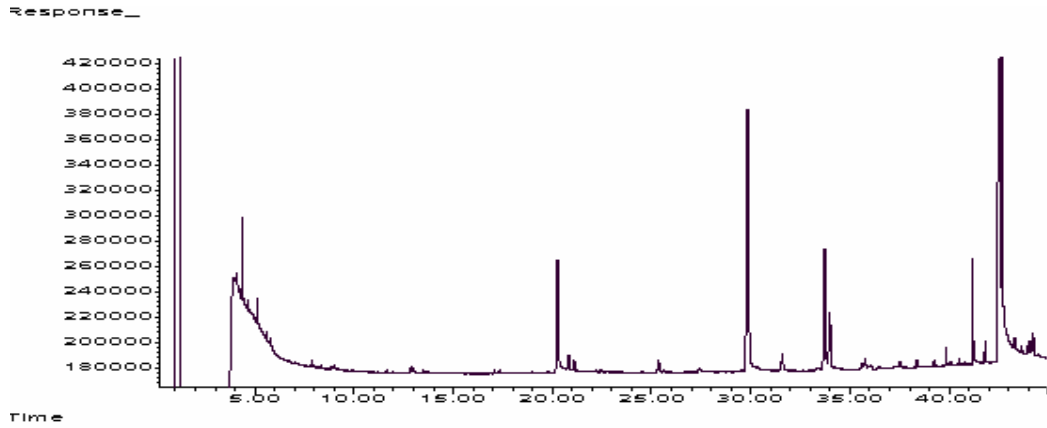
Şekil 4.5.5. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu GC-FPD LOD kromatogramları

FPD dedektör ile yapılan otomatik SPE metodu çalışmalarının kromatogramlarına bakıldığında, gerek blank gerekse LOD düzeyindeki kromatogramların düz bir taban çizgisine sahip oldukları görülmektedir. FPD dedektörün fosforlu bileşiklere karşı oldukça seçici olması nedeniyle pestisitlerin dışında herhangi bir pik görülmemektedir. Ayrıca farklı temizleme kartuş kromatogramları arasında bir fark olmadığı da göze çarpmaktadır. C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşlarının buradaki işlevi daha çok GC-FPD sisteminin temiz tutulmasına yöneliktir. Matriksten gelebilecek kirliliklerin temizleme işlemiyle giderilmesiyle, GC sistemindeki liner ve kolonun kullanım süresi uzamakta ve daha fazla enjeksiyon yapılmasına olanak sağlamaktadır (Schenk ve Lehotay, 2000). Bakım periyot sürelerinin uzun olması, dolayısıyla yapılan analizlerin tekrarlanabilirliklerinin daha uzun süre kabul edilebilir sınırlar içinde olması anlamına gelmektedir (<http://www.eurachem.org>, 2007).

Şekil 4.5.6. ve Şekil 4.5.7.'de otomatik SPE metodunun sadece ön işleminden geçirilmiş, temizleme uygulanmamış ve GC-NPD ile analizi yapılmış kiraz ve biber blank kromatogramları verilmiştir.

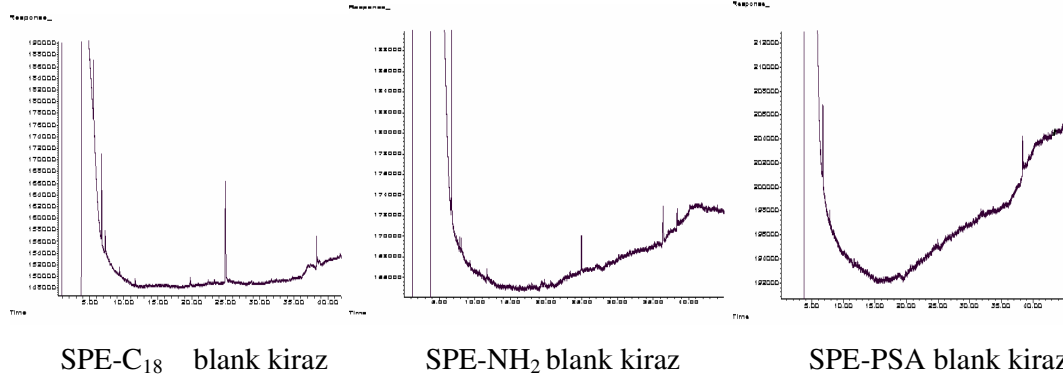


Şekil 4.5.6. Otomatik SPE metodu ön işlem GC-NPD blank kiraz kromatogramı

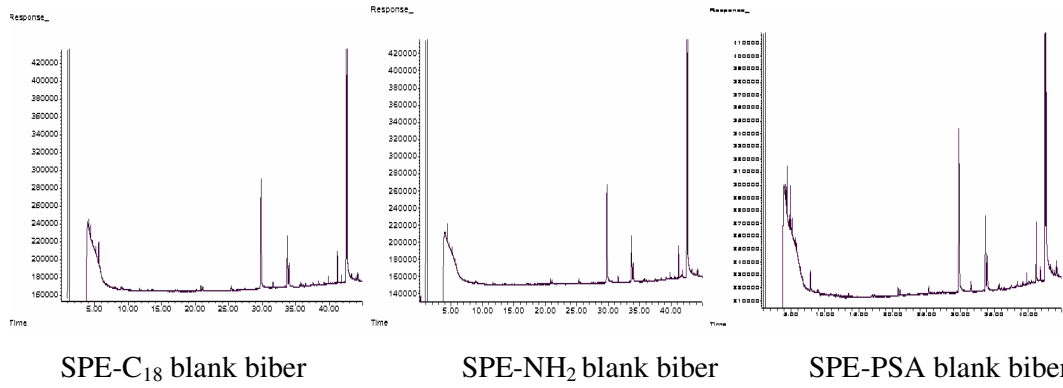


Şekil 4.5.7. Otomatik SPE metodu ön işlem GC-NPD blank biber kromatogramı

Şekil 4.5.8. ve Şekil 4.5.9.'da C_{18} , NH_2 ve PSA temizleme kartuşları ile ekstraksiyonu ve GC-NPD ile analizi yapılmış blank kiraz ve blank biber kromatogramları verilmiştir.



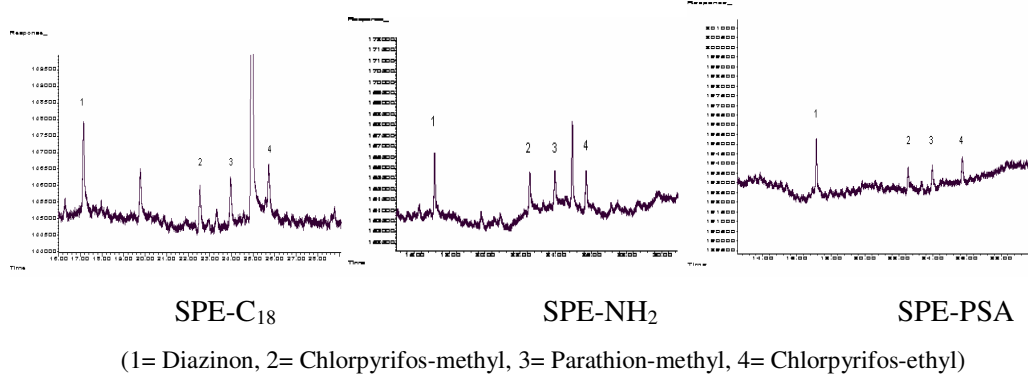
Şekil 4.5.8. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme metodu GC-NPD blank kiraz kromatogramları



Şekil 4.5.9. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu GC-NPD blank biber kromatogramları

Şekil 4.5.6. ve Şekil 4.5.7.'de verilen ve otomatik SPE metodunun sadece ön işlemleri ile hazırlanmış blank kiraz ve blank biber kromatogramları ile Şekil 4.5.8. ve Şekil 4.5.9.'da verilen SPE temizleme işleminden geçmiş kiraz ve biber blank kromatogramları karşılaştırıldığında temizleme işleminin etkisi anlaşılmaktadır. Şekil 4.5.6. ve Şekil 4.5.7.'de görüldüğü gibi analizi yapılan pestisitlerin dışında matriksten gelen piklerin, özellikle blank kiraz örneğinde Şekil 4.5.8.'de görüldüğü üzere PSA temizleme kartuşuyla tamamen uzaklaştırıldığı, blank biber örneğinde ise yaklaşık 20. dakikada gelen pikin Şekil 4.5.9.'da görüldüğü gibi tüm temizleme kartuşlarıyla uzaklaştırıldığı görülmektedir.

Şekil 4.5.10.'da C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşlar ile ekstraksiyonu ve GC-NPD ile analizi yapılmış kiraz blank ile hazırlanmış LOD düzeyindeki kromatogramlar verilmiştir.



Şekil 4.5.10. Otomatik SPE C₁₈, NH₂ ve PSA metodu GC-NPD LOD kromatogramları

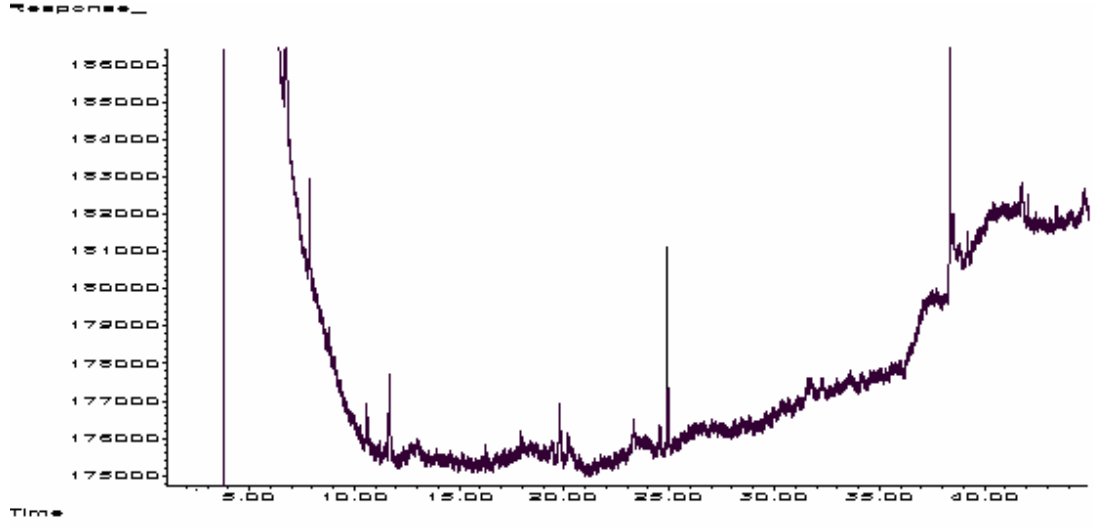
NPD ile yapılan otomatik SPE metodu çalışmalarının kromatogramlarına bakıldığında FPD kromatogramlarından farklı olduğu görülmektedir. Oldukça seçici bir dedektör olan FPD çalışmalarındaki gerek blank gerekse LOD düzeyindeki kromatogramların düz bir taban çizgisine sahip oldukları ve gürültünün olmadığı göze çarparken, NPD çalışmalarındaki gerek blank gerekse LOD düzeyindeki kromatogramların taban çizgilerinin gürültülü oldukları görülmektedir.

Ayrıca, NPD dedektörün, fosforlu bileşiklerin dışında azotlu bileşiklere karşı da seçici olması nedeniyle, kromatogramlarda analizi yapılan fosforlu pestisitlerin dışında matriksten gelen çeşitli piklerde görülmektedir.

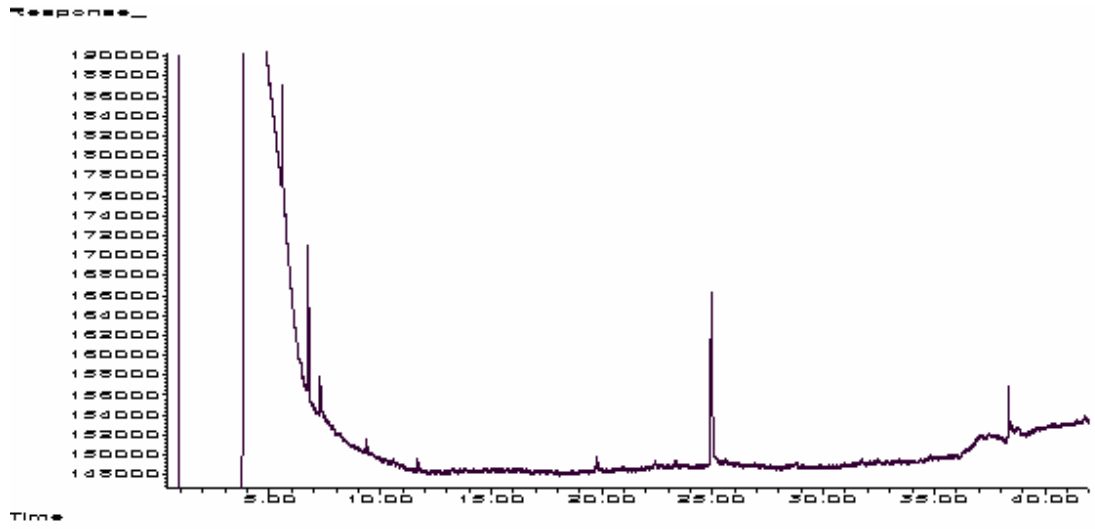
Şekil 4.5.10.'daki LOD düzeyindeki kromatogramlar üzerinden C₁₈, NH₂ ve PSA temizleme kartuşlarının etkisi açıklanabilir. C₁₈ kromatogramında analizi yapılan pestisitlerin dışında fazladan iki pik, NH₂ kromatogramında fazladan bir pik varken, PSA kromatogramında analizi yapılan pestisitlerin dışında fazladan bir pik bulunmamaktadır. Bu durumda en iyi temizleme işleminin literatürdeki çalışmalarla paralel olarak PSA kartuş ile gerçekleştirildiği söylenebilir.

PSA ve NH₂ adsorbanları, matrikste bulunan karbonhidrat ve organik asit gibi moleküllerle -H bağı yaparak temizleme yapmaktadır. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, PSA adsorbanının primer ve sekonder amin grupları ile yağ asitleri, organik asitler, şekerler, çilek-üzüm gibi meyvelerdeki antosiyanidin gibi pigmentler ve diğer polar matriks bileşenlerini uzaklaştırdığı gösterilmiştir. PSA ikincil amin grubu ile NH₂'ye göre daha yüksek kapasiteye sahip olması nedeniyle daha fazla matriks bileşenini uzaklaştırarak oldukça temiz ekstraktlar verir (Anastassiades ve ark. 2003). PSA, farklı matriks bileşenlerinin uzaklaştırılması ve matriksin GC sistemine olan zararlı etkilerinin azaltılmasında en etkili adsorban olarak kullanılmakta ve PSA adsorbanını NH₂ adsorbanı izlemektedir (Schenck ve Lehotay 2000).

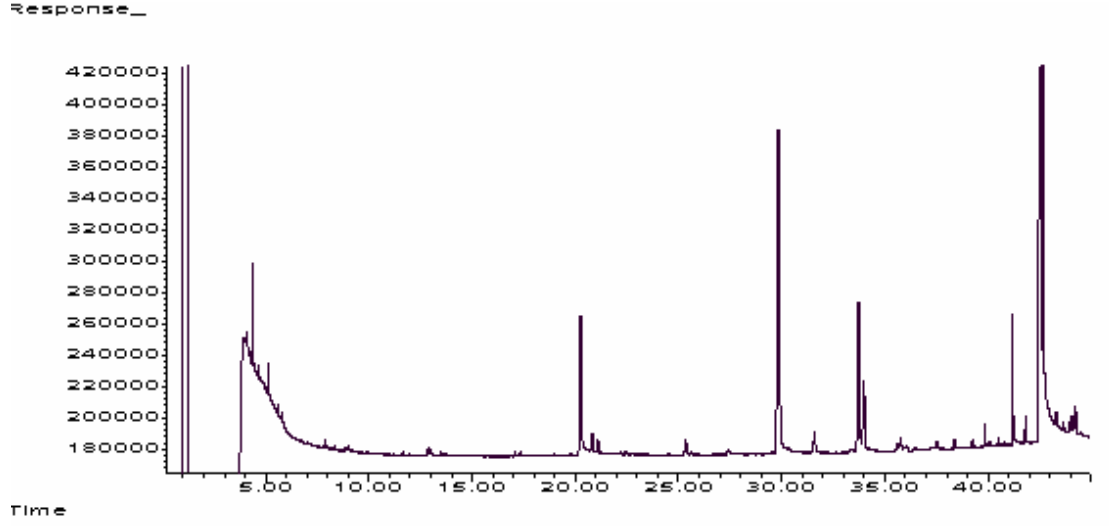
Aşağıda Şekil 4.5.6.'da tekrar verilen ve sadece etil asetat ile ön işleminden geçmiş, SPE temizleme işlemi uygulanmamış GC-NPD blank kiraz kromatogramı ile Şekil 4.5.11.'de verilen C₁₈ temizleme işleminden geçmiş GC-NPD blank kiraz kromatogramı karşılaştırıldığında, PSA kadar olmasa da C₁₈ kartuşunda matriksten gelen piklerin şiddetlerini azalttığı görülmektedir. Yine aşağıda Şekil 4.5.7.'de tekrar verilen ve sadece etil asetat ile ön işleminden geçmiş SPE temizleme işlemi uygulanmamış GC-NPD blank biber kromatogramı ile Şekil 4.5.12.'de verilen C₁₈ temizleme işleminden geçmiş GC-NPD blank biber kromatogramı karşılaştırıldığında, matriksten gelen piklerin şiddetlerini azalttığı ve 20. dakikada gelen pikin yok olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, PSA ve NH₂'nin dışında C₁₈ adsorbanı da kullanılan analitik metotlara bir yenilik olarak gösterilmiştir.



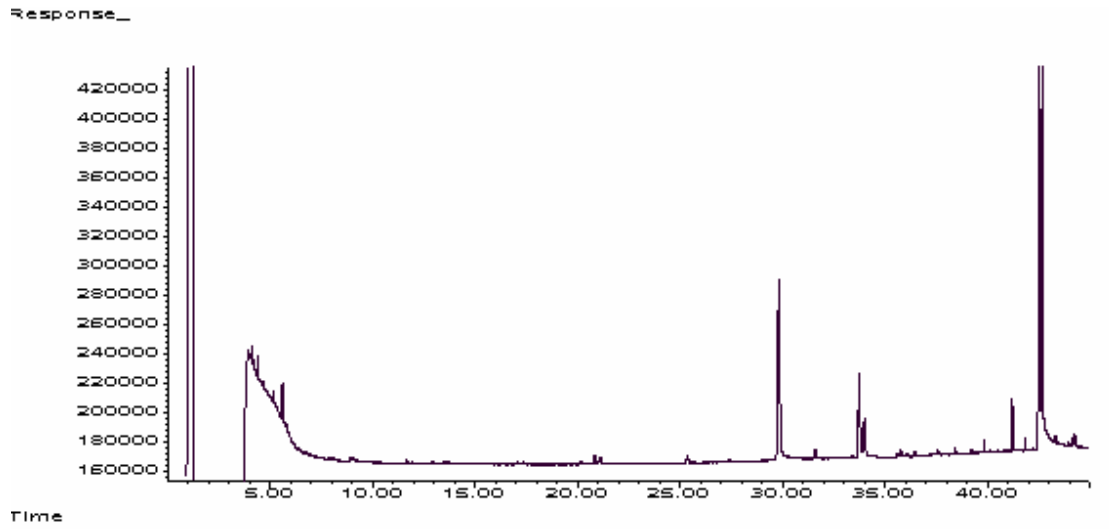
Şekil 4.5.6. Otomatik SPE metodu ön işlem GC-NPD blank kiraz kromatogramı



Şekil 4.5.11. Otomatik SPE-C₁₈ metodu GC-NPD blank kiraz kromatogramı

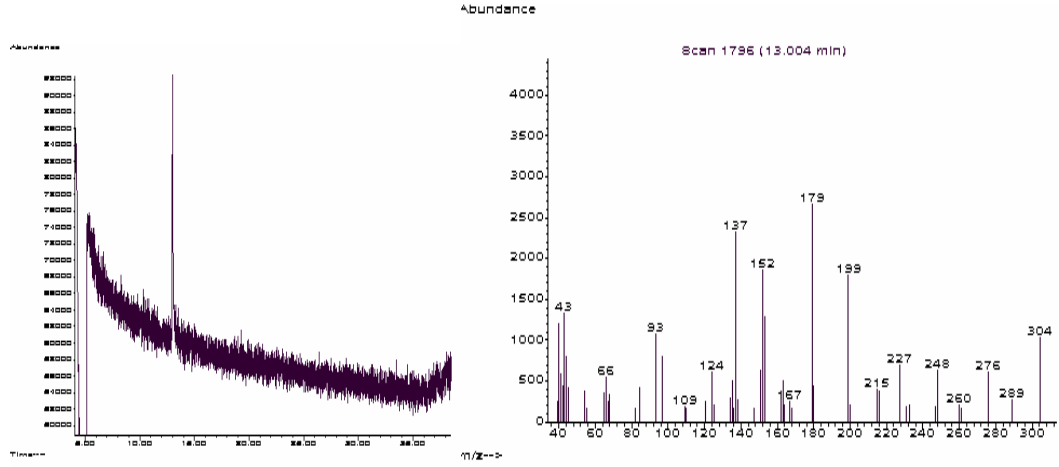


Şekil 4.5.7. Otomatik SPE metodu ön işlem GC-NPD blank biber kromatogramı

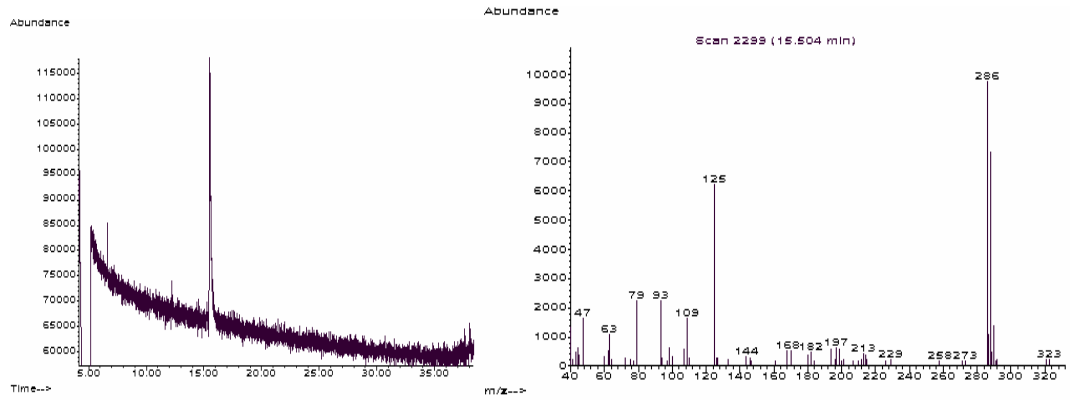


Şekil 4.5.12. Otomatik SPE-C₁₈ metodu GC-NPD blank biber kromatogramı

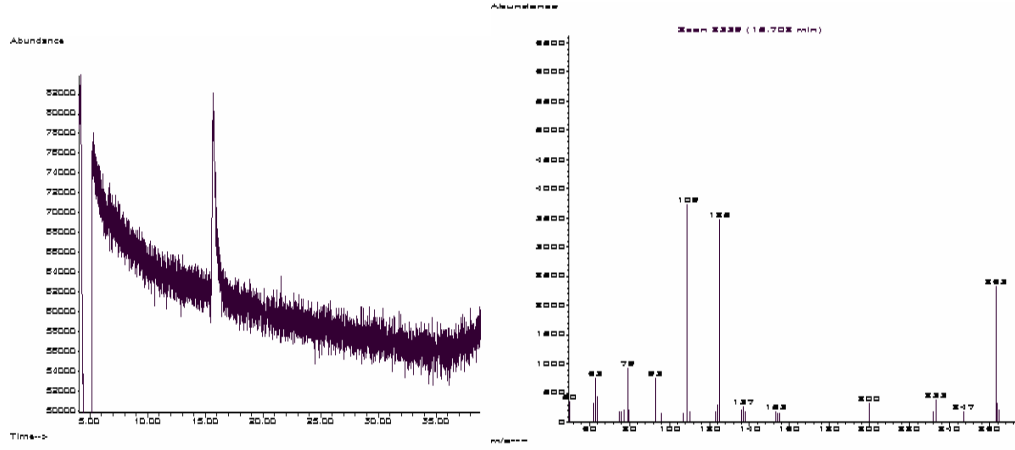
Şekil 4.5.13.'de son olarak otomatik SPE metodu ile elde edilen pestisitlerin scan modundaki GC-MS kromatogram ve spektrumları verilmiştir.



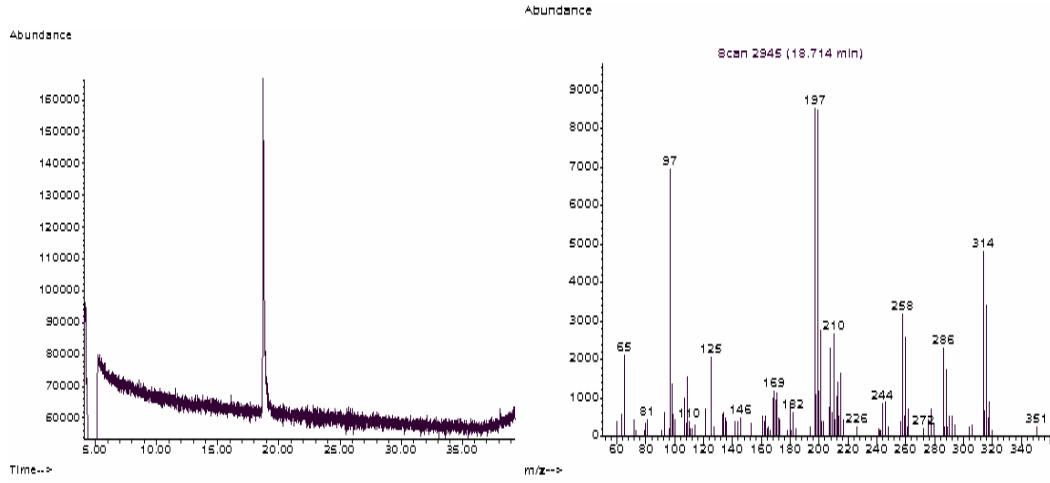
Diazinon'a ait scan modunda GC-MS kromatogram ve spektrumu



Chlorpyrifos-methyl'e scan modunda GC-MS kromatogram ve spektrumu



Parathion-methyl'e ait scan modunda GC-MS kromatogram ve spektrumu



Chlorpyrifos-ethyl'e ait scan modunda GC-MS kromatogram ve spektrumu

Şekil 4.5.13. Pestisitlerin scan modundaki GC-MS kromatogram ve spektrumları

4.6. Kemometrik Metot ile Optimizasyon Çalışmaları

Yeni metot geliştirirken klasik yöntemle optimum koşulların belirlenmesi zaman alıcı olmaktadır. Klasik yöntemle; ekstraksiyonda kullanılacak örnek miktarı, çözücü miktarı, kurutucu madde ve tuz miktarı parametreleri ile çok fazla sayıda deney yapmak gerekirken kemometrik çalışma ile deney sayısı oldukça azalmaktadır. Merkezi kompozit dizayn ile; etil asetat SPE metodunda 30 ve 12, otomatik SPE metotunda ise 30 ve 19 adet deney yapılarak optimum koşullar belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmalarında kemometrik dizaynların kullanılmasının çalışmalarda pratiklik getirdiği açıktır.

4.7. Geliştirilen Analitik Metodun Sağladığı İmkanlar

Günümüzde örnek hazırlama işlemleri enstrümental analiz öncesi en önemli basamağı oluşturmaktadır. Kullanılacak örnek hazırlama yönteminin; istenilen saflıkta ekstraktlar elde edilebilmesine olanak sağlamasının yanı sıra, mümkün olduğunca basit, hızlı ve ekonomik olması istenmektedir.

Örnek hazırlama işlemlerinin gelişiminde; örnek hazırlama basamağını mümkün olduğunca basitleştiren, ekstraksiyon ve temizleme basamaklarının bir arada yapılabilmesine olanak sağlayan, bunun yanında özellikle gıda ve çevre örneklerindeki kalıntıları aynı anda ekstrakte ve analiz edebilen çoklu kalıntı metotları geliştirmeye yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır (Poole 2000, Hennion 1999, Liljegren 2005).

Çalışmada, Çizelge 4.7.1.'de verilen tüm avantajlara sahip olan bir SPE metodu geliştirilmiştir. Özellikle kullanılan çözücü miktarı ve ekstraksiyon süresi bakımından önemli avantaj sağlayan, dolayısıyla ekonomik bir teknik olan SPE yöntemlerinin uygulanabilirliği de çok basittir.

Çizelge 4.7.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) ve katı-faz ekstraksiyon (SPE) metotlarının karşılaştırılması

Parametreler	LLE (Luke metodu)	SPE – Otomatik SPE
Örnek miktarı	100 g	10 g
Çözücü miktarı	800 mL	20 mL
Ekstraksiyon süresi	1 saat	10 dk
Örnek sayısı (gün)	8 adet	30-40 adet
LOD	5 - 10 µg/kg	1 – 2 µg/kg
Standart sapma-hata	Büyük	küçük
Geri kazanım	% 80 – 120	% 90 - 100
Maliyet	~ 2,5	1

Çizelge 4.7.1.'de görüldüğü üzere Luke metodunun maliyeti (kullanılan 800 mL çözücü: 5,5 euro), SPE metotlarına (kullanılan 20 mL çözücü: 0,1 euro ve kartuş: 2,3 euro, toplam: 2,4 euro) kıyasla yaklaşık 2,5 kat daha yüksektir.

SPE metodunun diğer örnek hazırlama yöntemlerine, özellikle sıvı-sıvı ekstraksiyona kıyasla daha fazla tercih edilmesinin nedenleri ve önemli avantajlı yönleri aşağıda maddeler halinde verilen literatürdeki çalışmalarda da vurgulanmıştır.

a- SPE metodu klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemine göre 2/3 daha hızlı sonuç verir ve örnek hazırlama süresinin oldukça kısalmasını sağlar (Zief 2005, Anonim 2004 d).

b- SPE, çok pratik ve bütün laboratuarlarda kolaylıkla uygulanabilir bir metottur (Zief 2005, Beney 1996, Majors 2001).

c- Bu yöntemde daha az çözücü ve kimyasal madde kullanıldığından daha ekonomik bir örnek hazırlama yapılabilir (Anonim 2004 d).

d- Geri kazanım oranı yüksektir, en az düzeyde örnek transferi yapıldığından yüksek geri kazanımlar ile yüksek saflıkta örnekler elde edilebilmektedir (Shulamit 2005, Beney 1996, Majors 2001).

e- Yüksek doğrulukta sonuçlar alınabilir (Zief 2005, Beney 1996).

f- Düşük miktarda örnek işlendiğinden sıvı-sıvı ekstraksiyondaki gibi emülsiyon oluşma problemi yoktur (Zief 2005).

g- SPE metodunda en az düzeyde buharlaştırmaya ihtiyaç duyulduğundan kararsız örnek oluşumu nadirdir (Zief 2005, Beney 1996).

h- Çözücü ve örneklerin az miktarlarda kullanılmasından dolayı zehirli maddelerle temas daha azdır ve ayrıca daha az cam malzeme kullanılması nedeniyle analizi yapanlar için oldukça güvenli bir metottur. Ayrıca çevreyi kirletme riski daha düşüktür (Beney 1996, LeBlanc 2001).

i- Çok sayıda örneğin aynı anda ve tekrarlanabilir şekilde hazırlanmasına olanak sağlayacak şekilde çok kolay otomasyon sağlanabilir (Zief 2005, Anonim 2004 d, LeBlanc 2001).

SPE metodunun zamanla daha çok gelişeceği açıktır. Çünkü birçok laboratuarda bir taraftan SPE adsorban maddelerinde yenilikler yapılırken, bir taraftan da birçok maddenin basit şekilde ekstrakte edilebileceği yöntemler araştırılmaktadır. Bu amaçla SPE sistemlerinde otomasyonun önümüzdeki yıllarda özellikle gıda ve çevre örneklerin analizi için çok daha önemli hale gelmesi beklenmektedir (Zief 2005).

Avantajları nedeniyle SPE işlemlerini otomatik olarak gerçekleştiren cihazların rutin analizlerde kullanılmaya başlanması kaçınılmaz olmuştur. Gilson firması, özellikle sıvı örnek ekstraktlarını otomasyonla gerçekleştiren ASPEC sıvı örnekleme sistemleri geliştirmiştir. Bu cihazlarda SPE, daha kesin ve tekrarlanabilir örnek hazırlayabilmek amacıyla otomasyon ve optimizasyon amaçlı dizayn edilmiştir. Örnek hazırlama işlemlerinde otomasyon, hataları en aza indirmek ve iş gücünü azaltmak amacıyla düşünülmektedir. Otomasyonla gün içinde hazırlanan örnek sayısı artmakta, tekrarlanabilirlik artmakta ve personelin zararlı maddelere maruz kalması minimum düzeyde olmaktadır. Ekstraksiyon işleminde sürekli olarak harcanacak personel maliyeti ve zamanına kıyasla otomasyon cihazının maliyeti karşılaştırılmaz.

Tek bir örneğin elle veya otomasyonla ekstraksiyonu için gereken zaman (yaklaşık 10 dk) çok farklı olmamasına rağmen otomatik sistemler gün boyunca 20-24 saat çalışabilmektedir. Çizelge 4.7.2.'de elle ve otomasyon ile yapılan SPE işlemlerinin

karşılaştırılması verilmiştir (<http://www.gilson.com/Products/prodPDF.asp?pID=282&pdfid=BRO.2007>).

Çizelge 4.7.2. Elle yapılan SPE ve otomasyon cihazlarının karşılaştırılması

	Vakum Manifold (Elle)	ASPEC XL	SPE 215 ASPEC XL4	SPE 215 (8 prob)	Quad-Z 215 (Vakum)
	SPE kartuş	SPE kartuş	SPE kartuş/ Microplate	SPE kartuş/ Microplate	Microplate
Manuel basamaklar	Her örnek için: <ul style="list-style-type: none"> • Örnek hazırlama • Kartuş seçimi • Şartlandırma • Kartuşun kurumaması için akış kontrol edilmeli • Örnek yükleme • Kartuş yıkama • Toplama tüplerinin düzenlenmesi • Analitlerin elüsyonu 	Örnekler <ul style="list-style-type: none"> • SPE kartuşların seçimi • Örneklerin cihaza yerleştirilmesi • Çözücülerin cihaza yerleştirilmesi • Software ile çalıştırma 			
SPE süresi	10 dk/örnek	10 dk/örnek	10 dk/örnek	10 dk/örnek	10 dk/örnek
Örnek sayısı/gün	~50 (8 sa/gün)	120 (20sa/gün)	480 (20sa/gün)	960 (20sa/gün)	480 (20sa/gün)

Elle günde yaklaşık 50 adet örneğin ekstraksiyonu yapılabilirken, kullanılan otomasyon cihazına göre değişmekle beraber günde 120-480 örnek ekstraksiyonu yapılabilmektedir.

SPE yöntemlerinden bir diğeri ise düşük hacimli gaz veya sıvı kromatografi sistemlerine doğrudan monte edilebilen mikrofiberlerdir. Bu teknoloji Pawliszyn ve arkadaşları tarafından 1980'li yılların sonunda geliştirilmiş ve 1992 yılında ticari olarak piyasaya sunulmuştur (Hennion 1999). "Katı-Faz Mikro Ekstraksiyon (SPME)" adı verilen bu yöntem son birkaç yılda oldukça popüler hale gelmiştir. SPME, gaz veya sıvı kromatografi sistemlerine monte haldeki kapalı vial veya headspace ünitelerine doğrudan konulmuş sıvı veya gaz örneklerden, aranan maddelerin çok küçük partiküllü

silika elyaf yardımıyla ayrılması tekniğidir. Aslında çevresel örneklerdeki uçucu maddelerin ekstraksiyonu için geliştirilmiş olan bu yöntem, çözücüye ihtiyaç duyulmaması, bütün örnek hazırlama aşamalarının bir arada yapılabilmesi ve çok daha hassas ayırım yapılabilmesi nedeniyle son derece kullanışlı ve güvenilirdir. Bu nedenle önümüzdeki yıllarda da klasik SPE kadar yaygınlaşacağı öngörülmektedir (Hennion 1999, Liljegren 2005, Alpendurada 2000, Kataoka 2002, Snow 2000, Ulrich 2000).

SONUÇ

Sebze ve meyve örneklerinde kullanılan pestisit kalıntı analizleri için, standart olarak önerilen Luke metodu yerine hızlı, daha çok sayıda örnek ile çalışılabilen, ekonomik bir metod arayışı analitik problem olarak seçilmiştir.

Bu amacı gerçekleştirebilmek için örnek hazırlama basamağında aseton yerine seçici ayırım nedeniyle etil asetat denenmiştir. Etil asetat ekstraktı içine geçen matriks bileşenlerinin temizlenmesi amacıyla, standart olarak kullanılan PSA yerine C₁₈ ve NH₂ kolonlarının kullanılabilirliği araştırılmıştır. PSA, kullanılan farklı kartuşlar arasında pestisit kaybı olmadan örnek matriksini en etkili şekilde uzaklaştıran adsorban olmakla beraber, C₁₈ kartuş ve etil asetatın kullanımı analitik metotlara bir yenilik olarak eklenmiştir.

Ekstraksiyon verimine etki eden parametreler merkezi kompozit dizayn kemometrik metoduyla optimize edilmiştir. Metodun analitik özellikleri (doğrusallık, LOD ve LOQ, geri kazanım, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) belirlenerek standart metotla karşılaştırılmış ve doğrulanmıştır. Tüm analitik parametrelerin; klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon metoduna dayanan standart Luke metodu ile karşılaştırılması neticesinde, elde edilen sonuçların kabul edilebilir sınırlarda, hatta standart metotdan daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

Gaz kromatografisi ile organofosforlu pestisitlerin tayini için geliştirilen örnek hazırlama metodu, FPD ve NPD kullanılarak karşılaştırılmış ve FPD'ün daha uygun olduğu kararına varılmıştır. Pestisitlerin karakterizasyon çalışmalarında GC-MS tekniğinden yararlanılarak kalitatif olarak doğrulama yapılmıştır.

Geliştirilen bu metod tekrar kemometrik yöntemle optimize edilerek otomatik örnek verici sisteme uygulanmış ve tüm örnek hazırlama işlemleri yüksek geri kazanımlarla tekrarlanabilir bir şekilde gerçekleştirilerek hata azaltılmıştır.

Metodun belirsizliğine etki eden basamakların katkıları sistematik olarak incelenerek kesinliğin artırılması hedeflenmiştir.

Sonuç olarak, bu temel çalışma diğer pestisit türlerinin eklenmesi suretiyle geliştirilebilir. Ancak kullanılan dedektör türünün buna izin verecek yapıda olması gerekmektedir. İlerideki çalışmalarda; sebze ve meyve örneklerindeki pestisitlerin tayininde SPME tekniğinin uygulamaya geçirilmesinin, örnek hazırlama basamaklarının azaltılması açısından yeni ufuklar açabileceği kanısındaım.

KAYNAKLAR

ALBERO, B., C. SANCHEZ-BRUNETE ve J. L. TADEO. 2003. Determination of Endosulfan Isomers and Endosulfan Sulfate in Tomato Juice by Matrix Solid-phase Dispersion and Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1007, 137-143.

ALBERO, B., C. SANCHEZ-BRUNETE, A. DONOSO ve J. L. TADEO. 2004. Determination of Herbicide Residues in Juice by Matrix Solid Phase Dispersion and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1043, 127-133.

ALBERO, B., S-B. CONSUELO ve J. L. TADEO. 2005. Multiresidue Determination of Pesticides in Juice by Solid-phase Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Talanta*, 66, 917-924.

ALPENDURADA, M.F. 2000. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 889, 3-14.

ANASTASSIADES, M., S. J. LEHOTAY, D. STANJBAHER ve F. J. SCHENK. 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitril Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International*, 86, 2, 412-431.

ANONİM. 1994. The Pesticide Manual. Incorporating The Agrochemicals Handbook. Tenth Edition.

ANONİM. 1997. Commission of The European Communities. Directorate General for Agriculture. 7029/VI/95 rev.5. 22/7/97. Annex I. p.172.

ANONİM. 2002. Bitki Koruma Ürünleri 2002. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Tarım İlaçları Sanayici, İthalatçı ve Temsilcileri Derneği, Beyoğlu, İstanbul. 336 s.

ANONİM. 2004 a. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı İzmir Bitki Koruma Şube Müdürlüğü.

ANONİM. 2004 b. DİE, Bursa Tarım İl Müdürlüğü.

ANONİM. 2004 c. İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi Araştırma ve Geliştirme Başkanlığı Tarım Dairesi.

ANONİM. 2004 d. Macherey-Nagel. Sample Preparation, Solid Phase Extraction. in: Macherey-Nagel Catalogue 2004: 184-241.

ANONİM. 2004 e. Quality Control Procedures For Pesticide Residues Analysis. Document N°SANCO/10232/2006.

ANONİM. 2005 a. Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Maksimum Bitki Koruma Ürünleri Kalıntı Limitleri Tebliği. Ocak 2005 (Tebliğ No:2004/42), Resmi Gazete 11, Sayı: 25697.

ANONİM. 2005-2006. Agilent Technologies, The Essential Chromatography Catalog from Agilent, 2005-2006 Edition.

ARREBOLA, F. J., J. L. M. VIDAL, M. M. SANCHEZ ve F. J. A. CASTELLON. 2003. Determination of 81 Multiclass Pesticides in Fresh Foodstuffs by a Single Injection Analysis Using Gas Chromatography-Chemical Ionization and Electron Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 484, 167-180.

BAI, Y., L. ZHOU ve J. WANG. 2006. Organophosphorus Pesticide Residues in Market Foods in Shaanxi Area, China. *Food Chemistry*, 98, 240-242.

BALLESTEROS, E. ve M. J. PARRADO. 2004. Continuous Solid-Phase Extraction and Gas Chromatographic Determination of Organophosphorus Pesticides in Natural and Drinking Waters. *Journal of Chromatography A*, 1029, 267-273.

BARRAIADA-PEREIRA, M., M. J. GONZALEZ-CASTRO, S. MUNIATEGUI-LORENZO, P. LOPEZ-MAHIA, D. PRADA-RODRIGUEZ ve E. F. FERNANDEZ. 2004. Determination of 21 Organochlorine Pesticides in Tree Leaves Using Solid-Phase Extraction Clean-up Cartridges. *Journal of Chromatography A*, 1061, 133-139.

BEKBOLET, X. 1991. Pestisit Kalıntılarının Değerlendirilmesi, Uluslararası Çalışmalar ve Türkiye'deki Gelişmeler. *Gıda Sanayi Dergisi* (91/3): 44-49.

BENEY, P.J., G. M. BREUER ve G. H. JACOBS G.H. 1996. <http://www.uhl.uiowa.edu/newsroom/hotline/1996/199612/solidphase.html>. Erişim tarihi: 12.2.2005. Konu: Review, Evaluation, and Application of Solid Phase Extraction Methods. *Hotlines*, 35, 1-5.

BERKEM, A. R. ve GÜLTEKİN, S. 2005. Kimya ve Kimya Mühendisliği İngilizce-Türkçe Türkçe-İngilizce Terimler Sözlüğü. Türkiye Kimya Derneği Yayınları: 1, İstanbul. s.41-126.

BRERETON, R. G. 2007. Applied Chemometrics for Scientists. John Wiley&Sons, Ltd, England, p. 39-44.

CENGİZ, M. F., M. CERTEL, B.KARAKAŞ ve H. GÖÇMEN. 2007. Residue Contents of Captan and Procymidone Applied on Tomatoes Grown in Greenhouses and Their Reduction by Duration of a Pre-harvest Interval and Post-harvest Culinary Applications. *Food Chemistry*, 100, 1611-1619.

CHU, X-G., X-Z. HU ve H-Y.YAO. 2005. Determination of 266 Pesticide Residues in Apple Juice by Matrix-solid Phase Dispersion and Gas Chromatography-Mass Selective Detection. *Journal of Chromatography A*, 1063, 201-210.

CHUANG, J.C., K. HART, J. S. CHANG, L. E. BOMAN, J. M. V. EMON ve A. W. REED. 2001. Evaluation of Analytical Methods for Determining Pesticides in Baby Foods and Adult Duplicate-Diet Samples. *Analytica Chimica Acta*, 444, 87-95.

ÇALI, S. 2004. <http://www.alaratarim.com.tr>, Erişim tarihi: 17.3.2005. Konu: Meyve Bahçelerinde Entegre Mücadele. Alara Tarım Ürünleri A.Ş.

DABROWSKI, L., H. G. MOZAJSKA, M. BIZIUK, J. GACA ve J. NAMIESNIK. 2002. Some Aspects of the Analysis of the Environmental Pollutants in Sediments Using Pressurized Liquid Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 957, 59-67.

DAĞ, S.S., V.T.AYKAÇ, A.GÜNDÜZ, M. KANTARCI ve N. ŞİŞMAN. 2004. <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler.933-958>, Erişim tarihi: 17.3.2005. Konu: Türkiye'de Tarım İlaçları Endüstrisi ve Geleceği.

D'ARCHIVIO, A. A., M. FANELLI, P. MAZZEO ve F. RUGGIERI. 2007 Comparison of Different Sorbents for Multiresidue Solid-Phase Extraction of 16 Pesticides From Groundwater Coupled With High Performance Liquid Chromatography. *Talanta*, 71, 25-30.

DE WAARD, M. A., S. G. GEORGOPOULOS, D. W. HOLLAMAN, H. İŞHİİ, P. LEROUX, N. N. RAGSDALE ve F. J. SCHWININ. 1993. Chemical Control of Plant Diseases: Problem and Prospects. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 31, 403-421.

DELEN, N., E. DURMUŞOĞLU, A. GÜNCAN, N. GÜNGÖR, C.TURGUT ve A. BURÇAK. 2005. www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/030nafizdelen.pdf, Erişim tarihi: 17.3.2005. Konu: Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. Ankara, 3-7 Ocak 2005.

DIAZ-CRUZ, M. S. ve D. BARCELO. 2006. Highly Selective Sample Preparation and Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis of Chlorpyrifos, Diazinon and Their Major Metabolites in Sludge and Sludge-Fertilized Agricultural Soils. *Journal of Chromatography A*, 1132, 21-27.

DIEZ, C., W. A. TRAAG, P. ZOMMER, P. MARINERO ve J. ATIENZA. 2006. Comparison of an Acetonitril Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase

Extraction” Method with Classical Multi-residue Methods for the Extraction of Herbicide Residues in Barley Samples. *Journal of Chromatography A*, 1131, 11-23.

DOMOTOROVA, M., E. MATISOVA, M. KIRCHNER ve J. DE ZEEUW . 2005. MSPD Combined with Fast GC for Ultratrace Analysis of Pesticide Residues in Non-Fatty Food. *Acta. Chim. Slov.*, 52, 422-428.

DRUMMER, O.H. 1999. Chromatographic Screening Techniques in Systematic ToxicologicalA. *Journal of Chromatography B*, 733, 27-45.

DUCKWORHT, H. E. , R. C. BARBER ve V. S. VENKATASUBRAMANIAN. 1986. *Mass Spectrometry*. 2nd Ed. “Cambridge, UK: Cambridge, (Editör)”. University Press.

DURU, A. ve S. ÖTLEŞ. 2002. Pestisit ve Gıda (Sınıflandırılması ve Etkileri). *Dünya Gıda Yayıncılık* 2002, 68-72.

FRENINCH, A. G., J. L. M. VIDAL, A. D. C. SICILIA, M. J. G. RODRIGUEZ ve P. P. BOLANOS. 2006. Multiresidue Analysis of Organochlorine and Organophosphorus Pesticides in Muscle of Chicken, Pork AND Lamb by Gas Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 558, 42-52.

FUH, M-R., S-Y. HUANG ve T-Y. LIN. 2004. Determination of Residual Anabolic Steroid in Meat by Gas Chromatography-Ion Trap-Mass Spectrometer , 64, 408-414.

FUHR, F. 1991. Radiotracers in Pesticide Studies, Advantages and Limitations. *Ciencia e Cultura*, 43, 211-216.

GELSOMINO, A., B. PETROVICOVA, S. TIBURTINI, E. MAGNANI ve M. FELICI. 1997. Multiresidue Analysis of Pesticides in Fruits and Vegetables by Gel Permeation Chromatography Followed by Gas Chromatography with Electron-Capture and Mass Spectrometric Detection. *Journal of Chromatography A*, 782, 105-122.

GREVE, P. 1988. *Analytical Methods for Residues of Pesticides*, 5th ed., SDU Publishers, The Hague, The Netherlands, Ministry of Welfare, Health and Public Affairs.

GRIFFITHS, T. 20-24 June 2005. Sample Extraction & Clean-up. Pesticide Residue Analysis Training, Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, YO41 1 LZ UK.

GULIYEV, V.B., M. GÜL, A. YILDIRIM ve L. HIPPOPHAE RHAMNOIDES. 2004. Chromatographic Methods to Determine Chemical Composition, Use in Traditional Medicine and Pharmacological Effects. *Journal of Chromatography B*, 812, 291-307.

HAGINAKA, J. 2005. Selectivity of Affinity Media in Solid-Phase Extraction of Analytes. *Trends in Analytical Chemistry*. 24-5, 407-15.

HAIB, J., I. HOFER ve J-M. RENAUD. 2003. Analysis of Multiple Pesticide Residues in Tobacco Using Pressurized Liquid Extraction, Automated Solid-phase Extraction Clean-up and Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1020, 173-187.

HARRIS, W. E. ve H. W. HABGOOD 1966. Programmed Temperature Gas Chromatography. "New York: Wiley, John Wiley and Sons, Inc. p,10. (Editör)",USA.

HEFTMANN, E. 1983. Fundamentals and Applications of Chromatography and Electrophotometric Methods, Part A: Fundamentals, Part B: Applications. "New York: Elsevier (Editör)", USA.

HENNION, M. C. 1999. Solid-Phase Extraction: Method Development, Sorbents and Coupling With Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 856, 3-54.

HERCEGOVA, A., M. DOMOTOROVA, E. MATISOVA, M. KIRCHNER, R. OTREKAL ve V. STEFUCA. 2005. Fast Gas Chromatography with Solid Phase Extraction Clean-up for Ultratrace Analysis of Pesticide Residies in Baby Food. *Journal of Chromatography A*, 1084, 46-53.

HERNANDEZ, F., O. J. POZO, J. V. SANCHO, L. BIJLSMA, M. BARREDA ve E. PITARCH. 2006. Multiresidue Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Determination of 52 Non Gas Chromatography-Amenable Pesticides and Metabolites in Different Food Commodities. *Journal of Chromatography A*, 1109, 242-252.

HIRAHARA, Y., M. KIMURA, T. INOUE, S. UCHIKAWA, S. OTANI, A. HAGANUMA, N. MATSUMOTO, A. HIRATA, S. MARUYAMA, T. LIZUKA, MUKYO, M. OTA, H. HIROSE, S. SUZUKI ve Y. UCHIDA. 2005. Validation of Multiresidue Screening Methods for the Determination of 186 Pesticides in 11 Agricultural Products Using Gas Chromatography. *Journal of Health Science*, 51, 617-627.

HONG, J., K. H. YOUNG, K.D. GYUN, J. SEO ve K. K.JIN. 2004. Rapid Determination of Chlorinated Pesticides in Fish by Freezing-Lipid Filtration, Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1038, 27-35.

http://www.cobertassoc.com/solid_phase_extraction_guide.htm, Erişim tarihi: 17.05.2007. Konu: Cobert Associates Catalogue. Solid Phase Extraction (SPE) Guide.

<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3535a-ivb.pdf>, Erişim Tarihi: 16.05.2007. Konu: EPA. EPA Method 3535A Solid Phase Extraction (SPE).

<http://www.eurachem.org>, Erişim Tarihi: 16.05.2007. Konu: Eurachem Guide. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.

<http://europe.eu.int/comm/food/fs/ph-ps/pest/index-en.htm>

<http://faostat.fao.org>, Erişim Tarihi: 30.11.2006. Konu: Food and agricultural organization of the United Nations.

<http://www.gilson.com/Products/prodPDF.asp?pID=282&pdfid=BRO>, Erişim Tarihi: 17.05.2007. Konu: The Gilson Guide to Solid-Phase Extraction Automation.

<http://www.tagem.gov.tr/YAYINLAR/kiraz/icindekiler.htm>, Erişim Tarihi: 16.05.2007. Konu: T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Kiraz Bahçelerinde Entegre Mücadele Teknik Talimatı. Ankara.

http://www.tarim.gov.tr/sanal_kutuphane3/TR7_orta_anadolu_bol_master_plani, Erişim Tarihi: 16.05.2007. Konu: T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığı. Tr7 Orta Anadolu Bölgesi Tarım Master Planı.

<http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do>, Erişim Tarihi: 16.05.2007. Konu: Tarım, Bitkisel Üretim İstatistikleri, Sebze ve Meyve Üretimi.

HU, Y. Y., P. ZHENG, Y-Z. HE ve G-P. SHENG. 2005. Response Surface Optimization for Determination of Pesticide Multiresidues by Matrix Solid-phase Dispersion and Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1098, 188-193.

JENNINGS, W. 1987. Analytical Gas Chromatography. “FL Academic Press (Editör)”, Orlando, USA.

JIMENEZ, J. J., J. L. BERNAL, M. J. DEL NOZAL ve C. ALANSO. 2004. Liquid-liquid Extraction Followed by Solid-Phase Extraction for the Determination of Lipophilic Pesticides in Beeswax by Gas Chromatography-Electron –Capture Detection and Matrix-Matched Calibration. *Journal of Chromatography A*, 1048, 89-97.

JOHNSON, P. D., D. A. RIMMER ve R. H. BROWN. 1997. Adaptation and Application of a Multi-residue Method for the Determination of a Range of Pesticides, Including Phenoxy Acid Herbicides in Vegetation, Based on High Resolution Gel Permeation Chromatographic Clean-up and Gas Chromatographic Analysis with Mass-Selective Detection. *Journal of Chromatography A*, 765, 3-11.

KATAOKA, H. 2002. Automated sample preparation using in-tube solid-phase microextraction and its application - a review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 373,31-45.

KAYGISIZ, H. 2003. Tarımda İlaçlı Mücadelenin Temel Prensipleri. Hasad Yayıncılık Reklamcılık Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti. İSTANBUL. 127 s.

KRISTENSON, E. M., E. G. J. HAVERKATE, C. J. SLOOTEN, L. RAMOS, R. J. J. VREULS ve U. A. T. BRINKMAN. 2001. Miniaturized Automated Matrix Solid-

phase Dispersion Extraction of Pesticides in Fruit Followed by Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis. *Journal of Chromatography A*, 917, 277-286.

KUET, A. C. L. ve L. SENG. 2004. Solid-phase Extraction Cleanup Method for the Determination of Organophosphorus Pesticides in Vegetables. *Malaysian Journal of Chemistry*, 6, 1, 29-38.

LEBLANC, G. 2001. A review of EPA Sample Preparation Techniques for Organic Compound Analysis of Liquid and Solid Samples. *LCGC North America*, 19, 1120-1130.

LEE, M. L., F. YANG ve K. BARTEL. 1984. *Open Tubular Gas Chromatography: Theory and Practice.* "New York: Wiley (Editör)", USA.

LEHOTAY, S. J., A. D. KOK, M. HIEMSTRA ve P. V. BODEGRAVEN. 2005. Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection. *Journal of AOAC International*, 88, 2, 595-614.

LEHOTAY, S. J., K. MASTOVSKA ve A. R. LIGHTFIELD. 2005. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruit and Vegetables. *Journal of AOAC International*, 88, 2, 615-629.

LEHOTAY, S. J., K. MASTOVSKA ve S. J. YUN. 2005. Evaluation of Two Fast and Easy Methods for Pesticide Residue Analysis in Fatty Food Matrices. *Journal of AOAC International*. 88, 2, 630-638.

LEKKAS, T. D. ve A. D. NIKOLAOU. 2006. Determination of Bromopropylate in Grapes by Gas Chromatography: Evaluation of Two Analytical Methods. *Intern. J. Environ. ANAL.Chem.* 86, 1-2, 25-32.

LIAPIS, K. S., P. A. SARLIS ve N. V. KYRIAKIDIS. 2003. Rapid Multiresidue Method for the Determination of Azinphos-methyl, Bromopropylate, Chlorpyrifos, Dimethoate, Parathion-methyl and Phosalone in Apricots and Peaches by Using Negative Chemical Ionization Ion Trap Technology. *Journal of Chromatography A*, 996, 181-187.

LILJEGREN, G. 2005. Development and Investigations of Novel Sample Preparation Techniques, Electrochemical Extraction and Evaluation of Miniaturized Analytical Devices Coupled to Mass Spectrometry. *Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology* 54. Uppsala: Åtta Universitatis Upsaliensis.

LISKA, I. 2000. Fifty Years of Solid-Phase Extraction in Water Analysis-Historical Development and Overview. *Journal of Chromatography A*, 885, 3-16.

LUKE, M. A., J. E. FORBERG ve H. T. MASUMOTO. 1975. Extraction and Clean-up Organophosphorus, Organonitrogen and Organochlorine Pesticides in Procedure Using Flame Photometric and Electrolytic Conductivity Detectors. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 58, 1020.

LUKE, M. A., J. E. FROBERG, G. M. DOOSE ve H. T. MASUMOTO. 1981. Improved Multiresidue Gas Chromatographic Determination of Organophosphorus, Organonitrogen and Organohalogen Pesticides in Produce, Using Flame Photometric and Electrolytic Conductivity Detectors. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Vol. 64. No.5.* 1187-1195.

MAHARA, B.M., J. BOROSSAY ve K. TORKOS. 1998. Liquid-Liquid Extraction for Sample Preparation Prior to Gas Chromatography and Gas Chromatography –Mass Spectrometry Determination of Herbicide and Pesticide Compounds. *Microchemical Journal* 58, 31-38.

MAJORS, R. E. 2001. New Designs and Formats in Solid-Phase Extraction Sample Preparation. *LCGC North America*, 19, 678-687.

MAJORS, R. E. 2002. Trends in Sample Preparation. *LCGC North America*, 20, 1098-1113.

MARCHAND, R. E. ve R. J. HUGHES. 1989. Quadrupole Storage Mass Spectrometry. “New York: Wiley (Editör)”, USA.

MASUCCI, I. ve G. W. CALDWELL. 1995. Modern Practice in Gas Chromatography, 3rd Edition. “R. L. GROP (Editör)Chapter 6. New York: Wiley-Interscience”, USA.

MCLAFFERTY, F.W. 1980. Interpretation of Mass Spectra. 3rd Ed. “Mill Valley, CA: University Science Books.”

MCLAFFERTY, F.W. ve D. A. STAUFFER. 1989. The Wiley /NBS Registry of Mass Spectral Data. 7 vols. “New York: Wiley (Editör)”, USA.

MELO, L. F. C., C. H. COLLINS ve I. C. S. F. JARDIM. 2004. New Materials for Solid-Phase Extraction and Multiclass High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Pesticides in Grapes. *Journal of Chromatography A*, 1032, 51-58.

MELO, L. F. C., C. H. COLLINS ve I. C. S. F. JARDIM. 2005. 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.

MILLARD, B. J. 1978. Quantitative Mass Spectrometry. “London: Heyden (Editör)”, UK.

MILLER, J. N. ve J. C. MILLER. 2000. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. Pearson Education Limited, Fourth edition, England, p. 182-183.

MILLIADIS, G. E., N. G. TSIROPOULOS, P. G. APLADA-SARLIS. 1999. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Benzoylurea Insecticides Residues in Grapes and Wine Using Liquid and Solid-Phase Extraction. *Journal of Chromatography A*, 835, 113-120.

MOL, H. G. J., R. C. J. V. DAM ve O. M. STEIJGER. 2003. Determination of Polar Organophosphorus Pesticides in Vegetables and Fruits Using Liquid Chromatography With Tandem Mass Spectrometry: Selection of Extraction Solvent. *Journal of Chromatography A*, 1015, 119-127.

MORENO, J. L. F., F. J. A. LIEBANAS, A. G. FRENICH ve J. L. M. VIDAL. 2006. Evaluation of Different Sample Treatments for Determining Pesticide Residues in Fat Vegetable Matrices Like Avocado by Low-Pressure Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1111, 97-105.

MUCCIO, A. D., D. A. BARBINI, T. GENARALI, P. PELOSI, A. AUSILI, F. VERGORI ve I. CAMONI. 1997. Clean-up of Aqueous Acetone Vegetable Extracts by Solid- Matrix Partition for Pyrethroid Residue Determination by Gas Chromatography-Electron Capture Detection. *Journal of Chromatography A*, 765, 39-49.

MUCCIO, A. D., P. FIDENTE, D. A. BARBINI, R. DOMMARCO, S. SECCIA ve P. MORRICA. 2006. Application of Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry to the Determination of Neonicotinoid Pesticide Residues in Fruit and Vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1108, 1-6.

NAVARRO, M., Y. PICO, R. MARIN ve J. MANES. 2002. Application of Matrix Solid-phase Dispersion to the Determination of a new Generation of Fungicides in Fruits and Vegetables. *Journal of Chromatography A*, 968, 201-209.

OLIVA, J., A. BARBA, N. VELA, F. MELENDRERAS ve S. NAVARRO. 2000. Multiresidue Method for the Rapid Determination of Organophosphorus Insecticides in Grapes, Must and Wine. *Journal of Chromatography A*, 882, 231-220.

OSKAM, A. J., R. N. A. VIJFTINES ve C. GRAVELAND. 1997. Additional E. U. Policy Instrumens for Plant Protection. Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

OTERO, R. R., B. C. GRANDE, J. S. GANDARA. 2003. Multiresidue Method for Fourteen Fungicides in White Grapes by Liquid-Liquid and Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography- Diode Array Detection. *Journal of Chromatography A*, 992, 121-131.

ÖZHAN, G., S. TOPUZ ve B. ALPERTUNGA. 2003. A Simple Method for the Determination of Carbaryl and 1-Naphtol in Fruit Juices by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Protection*, Vol.66, No.8, 1510-1513.

ÖZTÜRK, S. 1997 . Tarım İlaçları. Ak Basımevi, İstanbul.551 s.

PANG,G-F., C-L. FAN, Y-M. LIU, Y-Z. CAO, J-J. ZHANG, X-M. LI, Z-Y. LI, Y-P. WU ve T-T. GUO. 2006 a. Determination of Residues of 446 Pesticides in Fruits and Vegetables by Three-Cartridge Solid-Phase Extraction–Gas Chromatography–Mass Spectrometry and Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. Journal of AOAC International, 89, 3, 740-771.

PANG,G-F., C-L. FAN, Y-M. LIU, Y-Z. CAO, J-J. ZHANG, B-L.FU, X-M. LI, Z-Y. LI ve Y-P. WU. 2006 b. Multi-residue Method for the Determination of 450 Pesticides Residues in Honey, Fruit Juice and Wine by Double-Cartridge Solid-Phase Extraction/ Gas Chromatography–Mass Spectrometry and Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. Food Additives and Contaminants, 23, 777-810.

PATEL, K., R. J. FUSSELL, R. MACARTHUR, D. M. GOODALL ve B. J. KEELY. 2004. Method Validation of Resistive Heating–Gas Chromatography with Flame Photometric Detection for the Rapid Screening of Organophosphorus Pesticides in Fruit and Vegetables. Journal of Chromatography A, 1046, 225-234.

PENGYAN, L. ve M. YUSONG. 2005.

<http://www.chemistrymag.org//cji/2005/071013pe.htm>, Erişim tarihi: 17.3.2005. Konu: Determination of 36 Pesticide Residues in Corn Using Gas Chromatography Mass Spectrometry.

PENGYAN, L., L. QINGXUE, M. YUSONG, L. JINWEI ve J. XUAN. 2006. Analysis of Pesticide Multiresidues in Rice by Gas Chromatography– Mass Spectrometry Coupled with Solid Phase Extraction. Chinese Journal of Chromatography, 24, 3, 228-234.

PICHON, V. 2000. Solid-Phase Extraction for Multiresidue Analysis of Organic Contaminants in Water. Journal of Chromatography A , 885, 195-215.

POOLE, C. F., A. D. GUNATILLEKA ve R. SETHURAMAN. 2000. Contributions of Theory to Method Development in Solid-Phase Extraction. Journal of Chromatography A, 885, 17-39.

RAGSDALE, N. N., 1994. Fungicides. Enclopedia of Agricultural Science, 2, 445-453.

ROSENFELD, J.M. 1999. Solid-phase Analytical Derivatization: Enhancement of Sensitivity and Selectivity of Analysis. Journal of Chromatography A, 843, 19-27.

ROSSI, D.T. ve N. ZHANG. 2000. Automating Solid-Phase Extraction: Current Aspects and Future Prospects. Journal of Chromatography A, 885, 97-113.

RUBIO, M. G., A. R. MEDINA, M. I. P. REGUERA ve M. L. FERNANDEZ DE CORDOVA. 2007. Multiresidue Analysis of Three Groups of Pesticides in Washing Waters From Olive Processing by Solid-Phase Extraction-Gas Chromatography with Electron Capture and Thermoionic Specific Detection. *Microchemical Journal*, 85, 257-264.

SAEED, T., W. N. SAWAYA, N. AHMAD, S. RAJAGOPAL, A. AL-OMAIR ve F. AL-AWADHI. 2001. Chlorinated Pesticide Residues in the Total Diet of Kuwait. *Food Control*, 12, 91-98.

SCHENCK, F. J. ve S. J. LEHOTAY. 2000. Does Further Clean-up Reduce the Matrix Enhancement Effect in Gas Chromatographic Analysis of Pesticide Residues in Food. *Journal of Chromatography A*, 868, 51-61.

SCHILL, R. ve R. R. FREEMAN. 1985. *Modern Practice in Gas Chromatography*. 2nd Edition,. "R. L. GROP (Editör) p.294. New York: Wiley", USA.

SCOTT, R. P.W. 1995. *Techniques and Practice of Chromatography*. "New York: Marcel Dekker (Editör)",USA.

SHULAMIT, L. 2005. http://www.tbrumsci.co.il/HPLC/spe_abic.pdf/, Erişim tarihi: 29.1.2005. Konu: Solid Phase Extraction (SPE).

SHULING, S., M. XIAODONG ve L. CHONGJIU. 2007. Multi-residue Determination Method of Pesticides in Leek by Gel Permeation Chromatography and Solid Phase Extraction Followed by Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detector. *Food Control*, 18, 448-453.

SKOOG, D. A., F. J. HOLLER ve T. A. NIEMAN. 1998. *Enstrümental Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis) Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Doç. Dr. Hamza Yılmaz. Bilim Yayıncılık, 5. Baskı.*

SILVESTEIN, R. M., G. C. BASLER ve T. C. MARDRIL. 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 5th Ed.. p.4 "New York: Wiley, John Wiley and Sons, Inc."

SOJO, L. E., A. BROCKE, J. FILLION ve S. M. PRICE. 1997. Application of Activated Carbon Membranes for On-line Cleanup of Vegetables and Fruit Extracts in the Determination of Pesticide Multiresidues by Gas Chromatography With Mass Selective Detection. *Journal of Chromatography A*, 788, 141-154.

SOLEAS, G. J., J. YAN, K. HOM ve D. M. GOLDBERG. 2000. Multiresidue Analysis of Seventeen Pesticides in Wine by Gas Chromatography with Mass-Selective Detection. *Journal of Chromatography A*, 882, 205-212.

SORIANO, T., C. JURADO ve M. MENENDEZ. 2001. Improved Solid-Phase

Extraction Method for Systematic Toxicological Analysis in Biological Fluids. Journal of Analytical Toxicology, 25,137-143.

SNOW, N.H. 2000. Solid-phase micro-extraction of drugs from biological matrices. Journal of Chromatography A, 885, 445-455.

STAJNBAHER, D. ve L. Z. KRALJ. 2003. Multiresidue Method for Determination of 90 Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables Using Solid-phase Extraction and Gas Chromatography-mass Spectrometry. Journal of Chromatography A, 1015, 185-198.

STEVENSON, D. 2000. Immuno-affinity Solid-Phase Extraction. Journal of Chromatography B, 745, 39-48.

ŞENİZ, V., B. ESER, Y. DAŞGAN, N. AKBUDAK, H. İLBİ, N. SÜRMEİLİ ve S. BAŞAY. 2005. <http://www.zmo.org.tr>, Erişim tarihi: 17.5.2005. Konu: Sebze Üretiminde Gelişme ve Hedefler.

ŞEVİK, İ. 2004. <http://ebkae.gov.tr>, Erişim tarihi: 17.5.2005. Konu: Kiraz Yetiştiriciliği.

TEKEL, J. ve S. HATRIK. 1996. Pesticide Residue Analysis in Plant Material by Chromatographic Methods: Clean-up Procedures and Selective Detectors. Journal of Chromatography A, 754, 397-410.

TİRYAKİ, O. 2006. <http://kutuphane.taek.gov.tr>, Erişim tarihi: 17.5.2005. Konu: Nükleer ve Kromatografik Tekniklerle Pestisit Kalıntılarının Analiz Edilmesi.

TORRES, C. M., Y. PICO ve J. MANES. 1997. Comparison of Octadecylsilica and Graphitized Carbon Black as Materials for Solid-phase Extraction of Fungicide and Insecticide Residues From Fruit and Vegetables. Journal of Chromatography A, 778, 127-137.

TURABİ, M.S. 2004. <http://ktzmo.org>, Erişim tarihi: 17.5.2005. Konu: T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü İlaç Alet Hizmetleri Dairesi Başkanlığı.

UENO, E., H. OSHIMA, I. SAITO ve H. MATSUMOTO. 2003. Determination of Nitrogen-and Phosphorus-Containing Pesticide Residues in Vegetables by Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus and Flame Photometric Detection After Gel Permeation Chromatography and a Two-Step Minicolumn Cleanup. Journal of AOAC International, 86, 6, 1241-1251.

UENO, E., H. OSHIMA, I. SAITO, H. MATSUMOTO, Y. YOSHIMURA ve H. NAKAZAWA. 2004. Multiresidue Analysis of Pesticides in Vegetables and Fruits by Gas Chromatography/Mass Spectrometry After Gel Permeation Chromatography and

Graphitized Carbon Column Cleanup. Journal of AOAC International, 87, 4, 1003-1015.

ULRICH, S. 2000. Solid-phase microextraction in biomedical analysis. Journal of Chromatography , 902, 167-194.

VENN, R. F., J. MERSON, S. COLE ve P.MACRAE. 2005. 96-well Solid-Phase Extraction:A Brief History of Its Development. Journal of Chromatography B, 817,77-80.

VIDAL, J. L. M., F. J. ARREBOLA ve M. M-SANCHEZ. 2002. Application of Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry to the Analysis of Pesticides in Fruits and Vegetables. Journal of Chromatography A, 959, 203-213.

VIGNA, C. R. M., L. S. R. MORAIS, C. H. COLLINS ve I. C. S. F. JARDIM. 2006. Polymethyloctylsiloxane Immobilized on Silica as a Sorbent for Solid-Phase Extraction of Some Pesticides. Journal of Chromatography A, 1114, 211-215.

WARDENCKI, W., M. MAGDALENA ve J. CURYLO. 2004. A Review of Theoretical and Pratical Aspects of Solid-Phase Microextraction in Food Analysis. International Journal of Food Science and Technology, 39, 703-717.

WASHBURN, E.W. 2003. International Critical Tables of Numerical Data, Physics, Chemistry and Technology, first electronic ed., Knovel, Norwich, New York.

WOLSKA, L., M. WIERGOWSKI, K. GALER, T. GORECKI ve J. NAMIESNIK. 1999. Sample Preparation for GC Analysis of Selected Pesticides in Surface Water. Chemosphere, 39,9, 1477-1486.

YAVUZ, O ve A. AKSOY. 2006. Örnek Hazırlamada Katı-faz Ekstraksiyon Metodu. F.Ü. Sağlık Bil.Dergisi, 20(3), 259-269.

YENİSOY-KARAKAŞ, S. 2006. Validation and Uncertainty Assessment of Rapid Extraction and Clean-up Methods for the Determination of 16 Organochlorine Pesticide Residues in Vegetables. Analytica Chimica Acta, 571, 298-307.

YILDIZ, M. O. GÜRKAN, C. TURGUT, Ü. KAYA ve G. ÜNAL. <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/031mehmetyildiz.pdf>, Erişim tarihi: 17.5.2005. Konu: Tarımsal Savaşımında Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları.

YÜCEL, Ü. 2006. <http://www.dogainsanisbirligidernegei.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>, Erişim tarihi: 17.5.2005. Konu: Pestisitlerin İnsan ve Çevre Üzerine Etkileri. Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Nükleer Kimya Bölümü.

ZAWIYAH, S., Y. B. CHE MAN, N. S. A. HAMID ve C. C. KEAT. 2006. Determination of Organochlorine and Pyrethroid Pesticides in Fruit and Vegetables

Using Solid Phase Extraction Clean-Up Cartridges. *Journal of Chromatography A*, 1127, 254-261.

ZAWIYAH, S., Y. B. CHE MAN, S. A. H. NAZIMAH, C. K. CHIN, I. TSUKAMOTO, A. H. HAMANYZA ve I. NORHAIZAN. 2007. Determination of Organochlorine and Pyrethroid Pesticides in Fruit and Vegetables Using SAX/PSA Clean-Up Column. *Food Chemistry*, 102, 98-103.

ZHU, X., J. YANG, Q.SU, J. CAI ve Y. GAO. 2005. Selective Solid- Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymer for the Analysis of Polar Organophosphorus Pesticides in Water and Soil Samples. *Journal of Chromatography A*, 1092, 161-169.

ZIEF, M. 2005. Solid Phase Extraction for Sample Preparation. Phillipsburg: JT Baker.

EKLER

EK-1: Diazinon ölçüm belirsizliğinin hesaplanması

Diazinon genişletilmiş belirsizliğinin hesaplanması için stok çözelti belirsizliği, seyreltme katsayısı belirsizliği, kalibrasyon eğrisi belirsizliği, tekrarlanabilirlik belirsizliği ve geri kazanım belirsizliği hesaplanmıştır. Çizelge 1.1.'de stok çözelti belirsizliği, Çizelge 1.2.'de seyreltme katsayısı belirsizliği, Çizelge 1.3.'de kalibrasyon eğrisi belirsizliği, Çizelge 1.4.'de tekrarlanabilirlik belirsizliği, Çizelge 1.5.'de geri kazanım belirsizliği ve Çizelge 1.6.'da birleşik belirsizliğin hesaplamaları verilmiştir.

Çizelge 1.1. Diazinon stok çözelti belirsizliği

Stok Çözelti Belirsizliği				
1000 ppm stok çözelti hazırlamak için 10 mg diazinon standardı ACN de çözümlenerek 10 ml' ye tamamlanır.				
	W	10	mg	$C = \frac{W}{V}$
	V	10	ml	
	C	1	mg/ml	
<i>saflık belirsizliği u(P)</i>				
<i>pestisit standardının saflığı %</i>				
96,5+1,00			0,58	
<i>standart madde tartımından gelen belirsizlik</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0003	Normal	2	0,0001
Tekrarlanabilirlik	0,0001	SD	1	0,0001
Bileşik belirsizlik				0,0002
<i>Balon hacim belirsizliği (10 ml)</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0241	Dikdörtgen	1,73	0,0139
Tekrarlanabilirlik	0,0216	SD	1	0,0216
Sıcaklık(10x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0105	Dikdörtgen	1,73	0,0061
Birleşik Belirsizlik				0,0264
Stok Çözelti Belirsizliği				
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X	
Tartım(mg)	10	0,0002	0,00002	
Hacim(ml)	10	0,0264	0,0026	
Saflık(P)	96,5	0,5780	0,0060	
Birleşik Belirsizlik(mg/L)	1000	6,5472	0,0065	

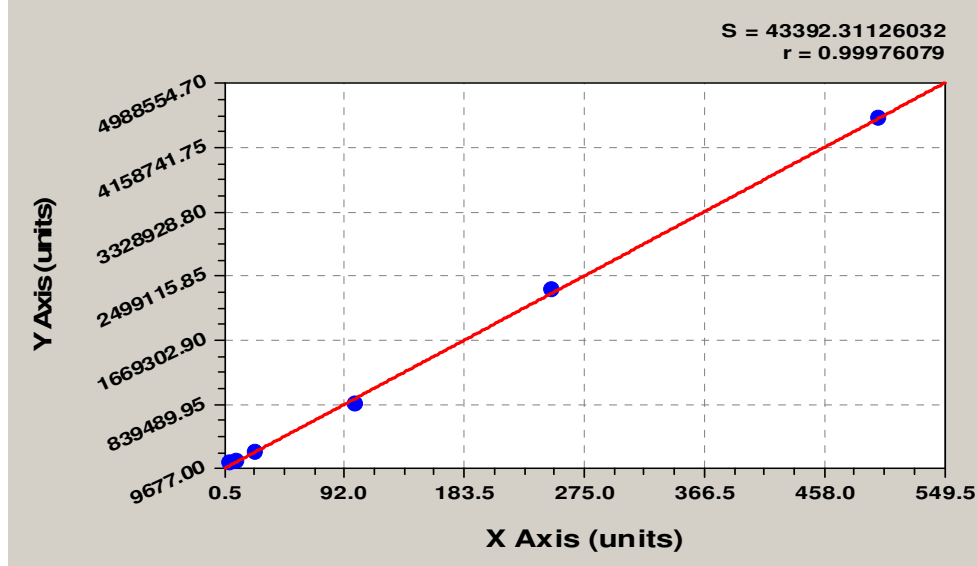
Çizelge 1.2. Seyreltme katsayısı belirsizliği

Seyreltme Katsayısı Belirsizliği				
Ön işlem: 10 g örnek 10 mL etil asetat ile ekstrakte edilir.				
SPE: 2 mL (2 g) kartuşa yüklenen örnek, 2 mL etil asetat ile elue edilir, son hacim 4 mL olur.				
Tartım				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0014	Normal	2	0,0007
Tekrarlanabilirlik	0,0001	SD	1	0,0001
Birleşik Belirsizlik				0,0007
Pipet hacim belirsizliği (10 ml)				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0526	Dikdörtgen	1,73	0,0304
Tekrarlanabilirlik	0,0219	SD	1	0,0219
Sıcaklık (10x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0105	Dikdörtgen	1,73	0,0061
Birleşik Belirsizlik				0,0380
Pipet hacim belirsizliği (2ml)				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0109	Dikdörtgen	1,73	0,0063
Sıcaklık(2x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0021	Dikdörtgen	1,73	0,0012
Birleşik Belirsizlik				0,0064
Pipet hacim belirsizliği (2 ml)				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0109	Dikdörtgen	1,73	0,0063
Sıcaklık(2x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0021	Dikdörtgen	1,73	0,0012
Birleşik Belirsizlik				0,0064
Seyreltme Katsayısı Belirsizliği				
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X	
Tartım (g)	10	0,0007	7,13E-05	
Hacim (ml)	10	0,0380	0,0038	
Hacim (ml)	2	0,0064	0,0032	
Hacim (ml)	2	0,0064	0,0032	
Birleşik Belirsizlik		0,5	0,0030	0,0059

Çizelge 1.3. Diazinon kalibrasyon eğrisi belirsizliği

Kalibrasyon Belirsizliği			
S: Residual Standart Sapma			
B1: Eğim			
p: Örnek ölçümü için okuma sayısı			
n: Kalibrasyon için yapılan ölçüm sayısı			
C ₀ :Tayin edilen çözelti derişimi			
c :farklı kalibrasyon standartlarının ortalaması			
i: Kalibrasyon standardını gösteren indis			
c _j Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ölçüm sonucu			
Linear Fit: y=a+bx			
Coefficient Data:			
a =	16760,526		
b =	9071,4852		
	Kalibrasyon verileri		
konsantrasyon(ppb)	alan	C _i	(c _i -C)
5	96770	8,82	-139,51
10	109174	10,19	-138,15
25	238303	24,42	-123,91
100	858033	92,74	-55,60
250	2328058	254,79	106,45
500	4543847	499,05	350,71
	S _{xx}	148,333	191324,8568
S	43392,31		
B1	9071,4852		
p	2		
n	12		
Co	81,00		
Cort	148,33		
Sxx	191324,9		
(C₀-Cort)*2	0,024		
1/p	0,500		
1/n	0,083		
1/p+1/n+(C₀-Cort)/Sxx	0,779		
S/B1	4,783		
U(Co)	3,73		

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [(A_j - (B_0 + B_1 c_j))]^2}{n-2}} \quad S_{xx} = \sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2 \quad U(c_0) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{xx}}}$$



Linear Fit: $y=a+bx$
Coefficient Data:
a = 16760.526
b = 9071.4852

Şekil 1.1. CurveExpert 1.3 - Diazinon kalibrasyon eğrisi grafiği

Çizelge 1.4. Diazinon tekrarlanabilirlik belirsizliği

Paralel	1	2	3	4	ort	sd	RSD
1	8,82	9,91	8,32	9,06	9,03	0,66	0,07
2	8,93	9,84	8,42	8,42	8,90	0,67	0,08
3	8,71	8,89	8,14	9,05	8,70	0,40	0,05
						ort.RSD	0,06
Tekrarlanabilirlik Belirsizliği RSD					0,0187		

Çizelge 1.5. Diazinon geri kazanım belirsizliği

Geri kazanım Belirsizliği				
250 mg/L konsantrasyonunda spike örnek hazırlanmıştır.				
Pipet hacim belirsizliği (2 ml)				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0109	Dikdörtgen	1,73	0,0063
Sıcaklık(2x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0021	Dikdörtgen	1,73	0,0012
Birleşik Belirsizlik				0,0064
Spike Belirsizliği				
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X	
Hacim (ml)	0,5	0,0064	0,0128	
Birleşik Belirsizlik	250	3,2082	0,0128	
Sertifika değeri(250 ± 1,1)				
	250	3,2		
No	Bulunan			
1	241,69			
2	236,58			
3	245,40			
4	259,03			
5	259,16			
6	260,34			
7	262,22			
8	241,74			
9	230,15			
10	261,27			
11	259,03			
12	261,30			
Ort	251,49			
SD	11,54			
RSD	0,05			
(R	1,0060			
SDm	3,3303			

Parametre			Değer	u(x)	u(x)/X
Spike Belirsizliği			250	3,2082	0,0128
Tekrarlanabilirlik			251	3,3303	0,0132
Toplam Belirsizlik					0,0184
R			1,0060		
U(R)					0,0186
t	0,32			$t = \frac{ 1 - R_m }{u(R_m)}$	
k=2	2				
t < tcrt olduğundan geri kazanım düzeltmesine gerek yoktur.					

Çizelge 1.6. Diazinon birleşik belirsizliği

Birleşik belirsizlik			
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X
Stok Çözelti Belirsizliği	1000	6,5472	0,0065
Seyreltme Katsayısı Belirsizliği	0,5	0,0030	0,0059
Kalibrasyon Belirsizliği	81,0	3,7268	0,0460
Tekrarlanabilirlik	1	0,0187	0,0187
Geri kazanım	1	0,0186	0,0186
Rölatif Bileşik Belirsizlik			0,0538
Ölçüm sonucu	81		
Standart Bileşik Belirsizlik		4,35	
Genişletilmiş Belirsizlik(k=2)		8,71	
Relatif Belirsizlik (%)		10,8	
RAPORLAMA			
µg/kg			
81	±	9	(%95 k=2)
mg/kg			
0,081	±	0,009	(%95 k=2)

$$u_c = C \sqrt{\left(\frac{uV_s}{V_s}\right)^2 + \left(\frac{uV_f}{V_f}\right)^2 + \left(\frac{u_C}{C_s}\right)^2 + \left(\frac{uP}{P}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2}$$

EK-2: Chlorpyrifos-ethyl ölçüm belirsizliğinin hesaplanması

Chlorpyrifos-ethyl genişletilmiş belirsizliğinin hesaplanması için stok çözelti belirsizliği, seyreltme katsayısı belirsizliği, kalibrasyon eğrisi belirsizliği, tekrarlanabilirlik belirsizliği ve geri kazanım belirsizliği hesaplanmıştır. Çizelge 2.1.'de stok çözelti belirsizliği, Çizelge 1.2.'de seyreltme katsayısı belirsizliği, Çizelge 2.2.'de kalibrasyon eğrisi belirsizliği, Çizelge 2.3.'de tekrarlanabilirlik belirsizliği, Çizelge 2.4.'de geri kazanım belirsizliği ve Çizelge 2.5.'de birleşik belirsizliğin hesaplamaları verilmiştir.

Çizelge 2.1. Chlorpyrifos-ethyl stok çözelti belirsizliği

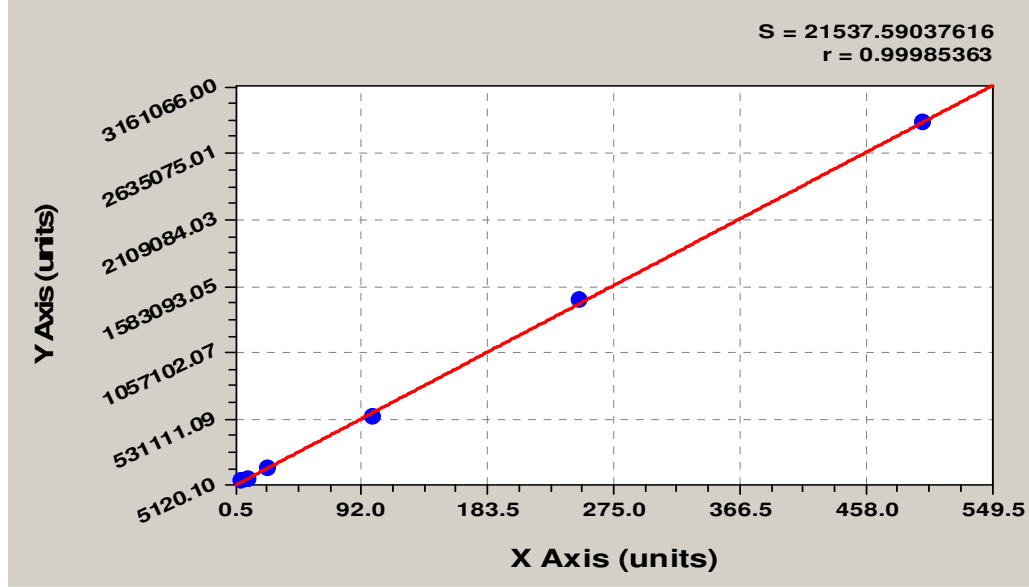
Stok Çözelti Belirsizliği				
1000 ppm stok çözelti hazırlamak için 10 mg chlorpyrifos-ethyl standardı ACN de çözümlenerek				
10 ml' ye tamamlanır.				
W	10	mg	$C = \frac{W}{V}$	
V	10	ml		
C	1	mg/ml		
<i>saflık belirsizliği u(P)</i>				
<i>pestisit standardının saflığı</i>				
<i>% 98,+0,50</i>		0,29		
<i>standart madde tartımından gelen belirsizlik</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0003	Normal	2	0,0001
Tekrarlanabilirlik	0,0001	SD	1	0,0001
Bileşik belirsizlik				0,0002
<i>Balon hacim belirsizliği (10 ml)</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0241	Dikdörtgen	1,73	0,0139
Tekrarlanabilirlik	0,0216	SD	1	0,0216
Sıcaklık(10x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0105	Dikdörtgen	1,73	0,0061
Birleşik Belirsizlik				0,0264
Stok Çözelti Belirsizliği				
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X	
Tartım(mg)	10	0,0002	0,00002	
Hacim(ml)	10	0,0264	0,0026	
Saflık(P)	98,4	0,2890	0,0029	
Birleşik Belirsizlik(mg/L)	1000	3,9513	0,0040	

Çizelge 1.2.'de verilen seyreltme katsayısı belirsizliği chlorpyrifos-ethyl için de geçerlidir.

Çizelge 2.2. Chlorpyrifos-ethyl kalibrasyon eğrisi belirsizliği

Kalibrasyon Belirsizliği			
S: Residual Standart Sapma			
B1: Eğim			
p: Örnek ölçümü için okuma sayısı			
n: Kalibrasyon için yapılan ölçüm sayısı			
C ₀ :Tayin edilen çözelti derişimi			
c :farklı kalibrasyon standartlarının ortalaması			
i: Kalibrasyon standardını gösteren indis			
c _j Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ölçüm sonucu			
Linear Fit: y=a+bx		x=(y-a)/b	
Coefficient Data:			
a =	9285.645		
b =	5756.344		
	Kalibrasyon verileri		
konsantrasyon(ppb)	alan	C _i	(c _i -C)
5	51201,03	-1,60	-0,14
10	63697,26	-1,60	-0,14
25	149903,7	-1,59	-0,12
100	558141,5	-1,52	-0,05
250	1477735	-1,36	0,11
500	2878351	-1,11	0,35
	S _{xx}	-1,463	0,1913
S	21537,59		
B1	5756.344		
p	2		
n	12		
C₀	74,00		
C_{ort}	-1,46		
S_{xx}	0,2		
(C₀-C_{ort})*2	29768,061		
1/p	0,500		
1/n	0,083		
1/p+1/n+(C₀-C_{ort})/S_{xx}	172,536		
S/B1	0,004		
U(C₀)	0,65		

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [(A_j - (B_0 + B_1 c_j))]^2}{n-2}} \quad S_{xx} = \sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2 \quad U(c_0) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{xx}}}$$



Linear Fit: $y=a+bx$
Coefficient Data:
a = 9285.645
b = 5756.5344

Çizelge 2.3. Chlorpyrifos-ethyl tekrarlanabilirlik belirsizliği

Paralel	1	2	3	4	ort	sd	RSD
1	8,90	9,12	8,53	8,47	8,75	0,31	0,04
2	7,84	8,85	8,40	9,41	8,63	0,67	0,08
3	8,46	8,47	8,23	9,58	8,68	0,61	0,07
						ort.RSD	0,06
Tekrarlanabilirlik Belirsizliği RSD					0,0176		

Çizelge 2.4. Chlorpyrifos-ethyl geri kazanım belirsizliği

Geri kazanım Belirsizliği				
250 mg/L konsantrasyonunda spike örnek hazırlanmıştır.				
Pipet hacim belirsizliği (2 ml)				
<i>Parametre</i>	<i>Değer(X)</i>	<i>Dağılum</i>	<i>Faktör</i>	<i>u(X)</i>
Kalibrasyon	0,0109	Dikdörtgen	1,73	0,0063
Sıcaklık(2x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0021	Dikdörtgen	1,73	0,0012
Birleşik Belirsizlik				0,0064
Spike Belirsizliği				
<i>Parametre</i>	<i>Değer(X)</i>	<i>u(x)</i>	<i>u(x)/X</i>	
Hacim (ml)	0,5	0,0064	0,0128	
Birleşik Belirsizlik	250	3,2082	0,0128	
Sertifika değeri(250 ± 1,1)				
	250	3,2		
No	Bulunan			
1	251,51			
2	262,83			
3	236,20			
4	248,70			
5	258,07			
6	262,20			
7	264,70			
8	250,45			
9	243,45			
10	227,38			
11	239,93			
12	230,14			
Ort	247,96			
SD	12,76			
RSD	0,05			
(R	0,9919			
SDm	3,6821			

Parametre			Değer	u(x)	u(x)/X
Spike Belirsizliği			250	3,2082	0,0128
Tekrarlanabilirlik			248	3,6821	0,0148
Toplam Belirsizlik					0,0196
R			0,9919		
U(R)					0,0195
t	0,42				
k=2	2				
t < tcrt olduğundan geri kazanım düzeltmesine gerek yoktur.					

Çizelge 2.5. Chlorpyrifos-ethyl birleşik belirsizliği

Birleşik belirsizlik			
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X
Stok Çözelti Belirsizliği	1000	3,9513	0,0040
Seyreltme Katsayısı Belirsizliği	0,5	0,0030	0,0059
Kalibrasyon Belirsizliği	74,0	0,6456	0,0087
Tekrarlanabilirlik	1	0,0176	0,0176
Geri kazanım	1	0,0195	0,0195
Rölatif Bileşik Belirsizlik			0,0285
Ölçüm sonucu	74		
Standart Bileşik Belirsizlik		2,11	
Genişletilmiş Belirsizlik(k=2)		4,22	
Relatif Belirsizlik (%)		5,7	
RAPORLAMA			
µg/kg			
74	±	4	(%95 k=2)
mg/kg			
0,074	±	0,004	(%95 k=2)

$$u_c = C \sqrt{\left(\frac{uV_s}{V_s}\right)^2 + \left(\frac{uV_f}{V_f}\right)^2 + \left(\frac{u_c}{C_s}\right)^2 + \left(\frac{uP}{P}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2}$$

EK-3: Parathion-methyl ölçüm belirsizliğinin hesaplanması

Parathion-methyl genişletilmiş belirsizliğinin hesaplanması için stok çözelti belirsizliği, seyreltme katsayısı belirsizliği, kalibrasyon eğrisi belirsizliği, tekrarlanabilirlik belirsizliği ve geri kazanım belirsizliği hesaplanmıştır. Çizelge 3.1.'de stok çözelti belirsizliği, Çizelge 1.2.'de seyreltme katsayısı belirsizliği, Çizelge 3.2.'de kalibrasyon eğrisi belirsizliği, Çizelge 3.3.'de tekrarlanabilirlik belirsizliği, Çizelge 3.4.'de geri kazanım belirsizliği ve Çizelge 3.5.'de birleşik belirsizliğin hesaplamaları verilmiştir.

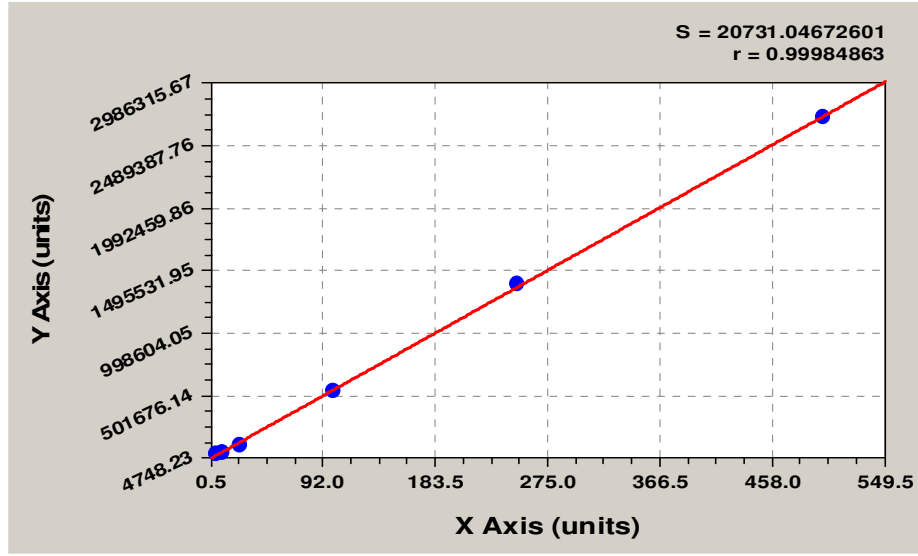
Çizelge 3.1. Parathion-methyl stok çözelti belirsizliği

Stok Çözelti Belirsizliği				
1000 ppm stok çözelti hazırlamak için 10 mg parathion-methyl standardı ACN de çözümlenerek				
10 ml' ye tamamlanır.				
W	10	mg	$C = \frac{W}{V}$	
V	10	ml		
C	1	mg/ml		
<i>saflık belirsizliği u(P)</i>				
<i>pestisit standardının saflığı %</i>				
98,5+0,50		0,29		
<i>standart madde tartımından gelen belirsizlik</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0003	Normal	2	0,0001
Tekrarlanabilirlik	0,0001	SD	1	0,0001
Bileşik belirsizlik				0,0002
<i>Balon hacim belirsizliği (10 ml)</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0241	Dikdörtgen	1,73	0,0139
Tekrarlanabilirlik	0,0216	SD	1	0,0216
Sıcaklık(10x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0105	Dikdörtgen	1,73	0,0061
Birleşik Belirsizlik				0,0264
Stok Çözelti Belirsizliği				
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X	
Tartım(mg)	10	0,0002	0,00002	
Hacim(ml)	10	0,0264	0,0026	
Saflık(P)	98,5	0,2890	0,0029	
Birleşik Belirsizlik(mg/L)				0,0039

Çizelge 1.2.'de verilen seyreltme katsayısı belirsizliği parathion-methyl için de geçerlidir.

Çizelge 3.2. Parathion-methyl kalibrasyon eğrisi belirsizliği

Kalibrasyon Belirsizliği			
S: Residual Standart Sapma			
B1: Eğim			
p: Örnek ölçümü için okuma sayısı			
n: Kalibrasyon için yapılan ölçüm sayısı			
c0 :Tayin edilen çözelti derişimi			
c :farklı kalibrasyon standartlarının ortalaması			
i: Kalibrasyon standardını gösteren indis			
cj Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ölçüm sonucu			
Linear Fit: $y=a+bx$			
Coefficient Data:			
a =	5439,2814		
b =	2448,5642		
	Kalibrasyon verileri		
konsantrasyon(ppb)	alan	Ci	(ci-C)
5	47482,35	17,17	-312,90
10	62118,26	23,15	-306,92
25	116019,245	45,16	-284,91
100	543443,21	219,72	-110,35
250	1393645,75	566,95	236,87
500	2719149	1108,29	778,21
	Sxx	330,072	947188,1093
S	20731,05		
B1	2448,5642		
p	2		
n	12		
Co	100,00		
Cort	330,07		
Sxx	947188,1		
(C0-Cort)*2	0,056		
1/p	0,500		
1/n	0,083		
1/p+1/n+(C0-Cort)/Sxx	0,800		
S/B1	8,467		
U(Co)	6,77		



Linear Fit: $y=a+bx$
 Coefficient Data:
 a = 5439,2814
 b = 2448,5642

Çizelge 3.3. Parathion-methyl tekrarlanabilirlik belirsizliği

Paralel	1	2	3	4	ort	sd	RSD
1	8,72	9,25	8,64	9,73	9,08	0,51	0,06
2	8,64	9,13	7,49	9,63	8,72	0,92	0,11
3	9,62	9,25	8,24	9,51	9,15	0,63	0,07
						Ort.RSD	0,08
Tekrarlanabilirlik Belirsizliği RSD					0,0221		

Çizelge 3.4. Parathion-methyl geri kazanım belirsizliği

Geri kazanım Belirsizliği				
250 mg/L konsantrasyonunda spike örnek hazırlanmıştır.				
Pipet hacim belirsizliği (2 ml)				
<i>Parametre</i>	<i>Değer(X)</i>	<i>Dağılım</i>	<i>Faktör</i>	<i>u(X)</i>
Kalibrasyon	0,0109	Dikdörtgen	1,73	0,0063
Sıcaklık(2x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0021	Dikdörtgen	1,73	0,0012
Birleşik Belirsizlik				0,0064
Spike Belirsizliği				
<i>Parametre</i>	<i>Değer(X)</i>	<i>u(x)</i>	<i>u(x)/X</i>	
Hacim (ml)	0,5	0,0064	0,0128	
Birleşik Belirsizlik	250	3,2082	0,0128	
Sertifika değeri(250 ± 1,1)				
	250	3,2		
No	Bulunan			
1	254,10			
2	245,10			
3	263,15			
4	256,71			
5	252,76			
6	251,81			
7	230,35			
8	249,54			
9	262,96			
10	230,98			
11	239,11			
12	245,91			
Ort	248,54			
SD	10,85			
RSD	0,04			
(R	0,9942			
SDm	3,1329			

Parametre			Değer	u(x)	u(x)/X
Spike Belirsizliği			250	3,2082	0,0128
Tekrarlanabilirlik			249	3,1329	0,0126
Toplam Belirsizlik					0,0180
R			0,9942		
U(R)					0,0179
t	0,33			$t = \frac{ 1 - R_m }{u(R_m)}$	
k=2	2				
t < tcrt olduğundan geri kazanım düzeltmesine gerek yoktur.					

Çizelge 3.5. Parathion-methyl birleşik belirsizliği

Birleşik belirsizlik			
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X
Stok Çözelti Belirsizliği	1000	3,9491	0,0039
Seyreltme Katsayısı Belirsizliği	0,5	0,0030	0,0059
Kalibrasyon Belirsizliği	100,0	6,7692	0,0677
Tekrarlanabilirlik	1	0,0221	0,0221
Geri kazanım	1	0,0179	0,0179
Rölatif Bileşik Belirsizlik			0,0738
Ölçüm sonucu	100		
Standart Bileşik Belirsizlik		7,38	
Genişletilmiş Belirsizlik(k=2)		14,75	
Relatif Belirsizlik (%)		14,8	
RAPORLAMA			
µg/kg			
100	±	15	(%95 k=2)
mg/kg			
0,1		0,015	(%95 k=2)

$$u_c = C \sqrt{\left(\frac{uV_s}{V_s}\right)^2 + \left(\frac{uV_f}{V_f}\right)^2 + \left(\frac{u_C}{C_s}\right)^2 + \left(\frac{uP}{P}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2}$$

EK-4: Chlorpyrifos-methyl ölçüm belirsizliğinin hesaplanması

Chlorpyrifos-methyl genişletilmiş belirsizliğinin hesaplanması için stok çözelti belirsizliği, seyreltme katsayısı belirsizliği, kalibrasyon eğrisi belirsizliği, tekrarlanabilirlik belirsizliği ve geri kazanım belirsizliği hesaplanmıştır. Çizelge 4.1.'de stok çözelti belirsizliği, Çizelge 1.2.'de seyreltme katsayısı belirsizliği, Çizelge 4.2.'de kalibrasyon eğrisi belirsizliği, Çizelge 4.3.'de tekrarlanabilirlik belirsizliği, Çizelge 4.4.'de geri kazanım belirsizliği ve Çizelge 4.5.'de birleşik belirsizliğin hesaplamaları verilmiştir.

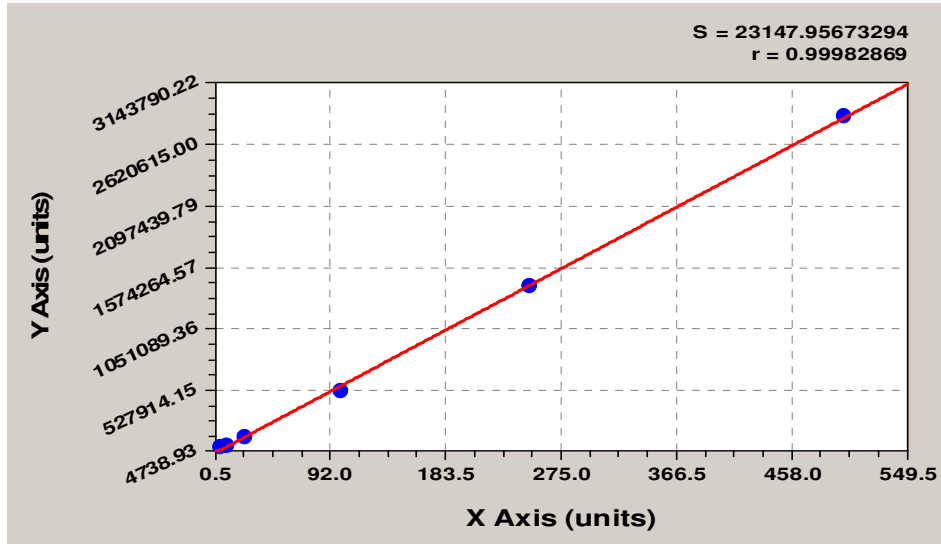
Çizelge 4.1. Chlorpyrifos-methyl stok çözelti belirsizliği

Stok Çözelti Belirsizliği				
1000 ppm stok çözelti hazırlamak için 10 mg chlorpyrifos-methyl standardı ACN de çözülerek				
10 ml' ye tamamlanır.				
W	10	mg	$C = \frac{W}{V}$	
V	10	ml		
C	1	mg/ml		
<i>saflık belirsizliği u(P)</i>				
<i>pestisit standardının saflığı</i>				
% 97, +0,50		0,29		
<i>standart madde tartımından gelen belirsizlik</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0003	Normal	2	0,0001
Tekrarlanabilirlik	0,0001	SD	1	0,0001
Bileşik belirsizlik				0,0002
<i>Balon hacim belirsizliği (10 ml)</i>				
Parametre	Değer(X)	Dağılım	Faktör	u(X)
Kalibrasyon	0,0241	Dikdörtgen	1,73	0,0139
Tekrarlanabilirlik	0,0216	SD	1	0,0216
Sıcaklık(10x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0105	Dikdörtgen	1,73	0,0061
Birleşik Belirsizlik				0,0264
Stok Çözelti Belirsizliği				
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X	
Tartım(mg)	10	0,0002	0,00002	
Hacim(ml)	10	0,0264	0,0026	
Saflık(P)	97,1	0,2890	0,0030	
Birleşik Belirsizlik(mg/L)	1000	3,9806	0,0040	

Çizelge 1.2.'de verilen seyreltme katsayısı belirsizliği chlorpyrifos-methyl için de geçerlidir.

Çizelge 4.2. Chlorpyrifos-methyl kalibrasyon eğrisi belirsizliği

Kalibrasyon Belirsizliği			
S: Residual Standart Sapma			
B1: Eğim			
p: Örnek ölçümü için okuma sayısı			
n: Kalibrasyon için yapılan ölçüm sayısı			
c0 :Tayin edilen çözelti derişimi			
c :farklı kalibrasyon standartlarının ortalaması			
i: Kalibrasyon standardını gösteren indis			
cj Kalibrasyon eğrisinden hesaplanan ölçüm sonucu			
Linear Fit: $y=a+bx$			
Coefficient Data:			
a =	6053,7593		
b =	5718,7061		
	Kalibrasyon verileri		
konsantrasyon(ppb)	alan	Ci	(ci-C)
5	47389,32	7,23	-138,99
10	64390,33	10,20	-136,02
25	128619,425	21,43	-124,78
100	531459,6025	91,87	-54,34
250	1419167,97	247,10	100,89
500	2862299,225	499,46	353,24
	Sxx	146,216	191298,8708
S	23147,96		
B1	5718,7061		
p	2		
n	12		
Co	100,00		
Cort	146,22		
Sxx	191298,9		
(C0-Cort)*2	0,011		
1/p	0,500		
1/n	0,083		
1/p+1/n+(C0-Cort)/Sxx	0,771		
S/B1	4,048		
U(Co)	3,12		



Linear Fit: $y=a+bx$

Coefficient Data:

a = 6053,7593

b = 5718,7061

Çizelge 4.3. Chlorpyrifos-methyl tekrarlanabilirlik belirsizliği

Paralel	1	2	3	4	ort	sd	RSD
1	8,44	9,45	8,70	8,29	8,72	0,52	0,06
2	8,48	8,47	6,99	8,85	8,20	0,83	0,10
3	9,00	9,28	8,31	8,01	8,65	0,59	0,07
						ort.RSD	0,08
Tekrarlanabilirlik Belirsizliği RSD					0,0220		

Çizelge 4.4. Chlorpyrifos-methyl geri kazanım belirsizliği

Geri kazanım Belirsizliği				
250 mg/L konsantrasyonunda spike örnek hazırlanmıştır.				
Pipet hacim belirsizliği (2 ml)				
<i>Parametre</i>	<i>Değer(X)</i>	<i>Dağılım</i>	<i>Faktör</i>	<i>u(X)</i>
Kalibrasyon	0,0109	Dikdörtgen	1,73	0,0063
Sıcaklık(2x2.1x10 ⁻⁴ x5)	0,0021	Dikdörtgen	1,73	0,0012
Birleşik Belirsizlik				0,0064
Spike Belirsizliği				
<i>Parametre</i>	<i>Değer(X)</i>	<i>u(x)</i>	<i>u(x)/X</i>	
Hacim (ml)	0,5	0,0064	0,0128	
Birleşik Belirsizlik	250	3,2082	0,0128	
Sertifika değeri(250 ± 1,1)				
	250	3,2		
No	Bulunan			
1	241,69			
2	236,58			
3	245,40			
4	259,03			
5	259,16			
6	260,34			
7	262,22			
8	241,74			
9	230,15			
10	261,27			
11	259,03			
12	261,30			
Ort	251,49			
SD	11,54			
RSD	0,05			
(R	1,0060			
SDm	3,3303			

Parametre			Değer	u(x)	u(x)/X
Spike Belirsizliği			250	3,2082	0,0128
Tekrarlanabilirlik			251	3,3303	0,0132
Toplam Belirsizlik					0,0184
R			1,0060		
U(R)					0,0186
t	0,32			$t = \frac{ 1 - R_m }{u(R_m)}$	
k=2	2				
t < tcrt olduğundan geri kazanım düzeltmesine gerek yoktur.					

Çizelge 4.5. Chlorpyrifos-methyl birleşik belirsizliği

Birleşik belirsizlik			
Parametre	Değer(X)	u(x)	u(x)/X
Stok Çözelti Belirsizliği	1000	3,9806	0,0040
Seyreltme Katsayısı Belirsizliği	0,5	0,0030	0,0059
Kalibrasyon Belirsizliği	100,0	3,1210	0,0312
Tekrarlanabilirlik	1	0,0220	0,0220
Geri kazanım	1	0,0186	0,0186
Rölatif Bileşik Belirsizlik			0,0430
Ölçüm sonucu	100		
Standart Bileşik Belirsizlik		4,30	
Genişletilmiş Belirsizlik (k=2)		8,61	
Relatif Belirsizlik (%)		8,6	
RAPORLAMA			
µg/kg			
100	±	9	(%95 k=2)
mg/kg			
0,1		0,009	(%95 k=2)

$$u_c = C \sqrt{\left(\frac{uV_s}{V_s}\right)^2 + \left(\frac{uV_f}{V_f}\right)^2 + \left(\frac{u_C}{C_s}\right)^2 + \left(\frac{uP}{P}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2}$$

EK-5: GC-FPD, GC-NPD, GC-MS ve Gilson ASPEC XL SPE otomasyon cihazı

Çalışmada kullanılan Thermo Finnigan Trace GC-FPD Şekil 5.1.'de, Agilent 6890 GC-NPD ve 5973 Network MS Şekil 5.2.'de ve Gilson ASPEC XL SPE otomasyon cihazı da Şekil 5.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. Thermo Finnigan Trace GC-FPD



Şekil 5.2. Agilent 6890 GC-NPD ve 5973 Network MS



Şekil 5.3. ASPEC XL SPE otomasyon cihazı

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca bilgi ve desteği ile yanımda olan ve tecrübeleriyle beni yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. Şeref GÜÇER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yrd. Doç. Dr. Cevdet Demir'e ve analitik kimya grubuna yardımlarından dolayı, ayrıca tez izleme komitemde bulunan Prof. Dr. Mahir ALKAN' a tavsiyelerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamı proje kapsamında gerçekleőtirmemi sağlayan Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü ve Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Manevi destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili aileme, eşime ve biricik kızım Aslı Ece'ye teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

Neslihan ÇALLI ALTUN 04.07.1976'da Bursa' da doğdu. İlköğrenimini Ziya Gökalp ve Merinos ilköğretim okullarında, orta ve lise öğrenimini ise Atatürk Lisesinde tamamladı. 1993 yılında Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı ve 1997'de birincilikle bitirdi. 1998 yılında Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde yüksek lisansa başladı ve aynı yıl araştırma görevlisi oldu. 2001 yılında yüksek lisansını tamamladıktan sonra Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü'nde çalışmaya başladı. Aynı yıl doktora programına kayıt oldu. Halen aynı enstitüde kimyager olarak görev yapmaktadır.