

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI PESTİSİTLERİN AKILLI VE İKİLİ DAĞITICI SIVI SIVI
MİKROEKSTRAKSİYON STRATEJİLERİ İLE YÜKSEK DOĞRULUK VE
DUYARLILIKLA EŞZAMANLI TAYİNLERİ**

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATİH KAPUKIRAN

ŞUBAT 2019

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI PESTİSİTLERİN AKILLI VE İKİLİ DAĞITICI SIVI SIVI
MİKROEKSTRAKSİYON STRATEJİLERİ İLE YÜKSEK DOĞRULUK VE
DUYARLILIKLA EŞZAMANLI TAYİNLERİ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATİH KAPUKIRAN

DANIŞMAN : Dr. Öğr. Üyesi Nizamettin ÖZDOĞAN

İKİNCİ DANIŞMAN : Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

ZONGULDAK

Şubat 2019

KABUL:

Fatih KAPUKIRAN tarafından hazırlanan “Farklı Pestisitlerin Akıllı ve İkili Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Stratejileri ile Yüksek Doğruluk ve Duyarlılıkla Eş Zamanlı Tayinleri” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans/~~Doktora Tezi~~ olarak oybirliğiyle/oyçokluğuyla kabul edilmiştir. 18/02/2019

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nizamettin ÖZDOĞAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü



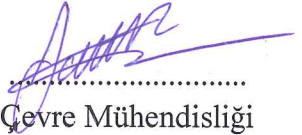
İkinci Danışman: Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



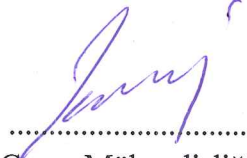
Üye: Prof. Dr. Süreyya ALTIN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü



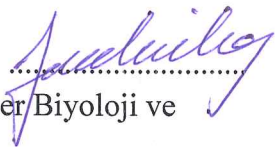
Üye: Doç. Dr. Kadir ÖZDEMİR

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü



Üye: Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler/Biyoloji ve Genetik



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

18/02/2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

FK

Fatih KAPUKIRAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI PESTİSİTLERİN AKILLI VE İKİLİ DAĞITICI SIVI SIVI MİKROEKSTRAKSİYON STRATEJİLERİ İLE YÜKSEK DOĞRULUK VE DUYARLILIKLA EŞZAMANLI TAYİNLERİ

Fatih KAPUKIRAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Nizamettin ÖZDOĞAN

İkinci Danışman: Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Şubat 2019, 75 sayfa

İnsan sağlığı açısından son derece ciddi riskler taşıyan pestisitlerin farklı çevre örneklerinde yüksek doğrulukta ve duyarlılıkta tayin edilebilmeleri son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Pestisitlerin atıksu numunelerinde eser seviyelerde tayinleri, su arıtım sistemlerinde bu pestisitlerin arıtılmalarına yönelik strateji geliştirilmesi ve evsel kullanım suyuna kontaminasyon riskinin doğru bir şekilde belirlenebilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu amaçla şimdiye dek literatürde birçok farklı pestisit türleri için farklı mikroekstraksiyon teknikleri üzerine çalışılmış olup bu pestisitlerin var olan yöntemlere kıyasla daha doğru ve duyarlı bir yöntemle tayin edilebilmelerine yönelik yeni stratejiler geliştirilmeye devam etmektedir. Bu çalışma kapsamında akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon ve ikili dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon stratejileri kullanılarak klorflurenol ve prokimidon analitlerinin eş

ÖZET (devam ediyor)

zamanlı olarak atıksu matrikslerinde yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayinlerinin yapılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda önderiştirme yöntemlerinin tüm değişken parametreleri optimize edilerek optimum şartlar altında her iki yöntemin de analitik performans değerleri tespit edilmiştir. Akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yönteminde klorflurenol ve prokimidon analitleri için gözlenebilme limitleri sırasıyla $3.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.44 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuş olup önderiştirme işlemleri yapılmayan doğrudan tayin yöntemine kıyasla duyarlılıkta sırasıyla 17 ve 159 kat iyileştirme sağlanmıştır. İkili sıvı sıvı mikroekstraksiyon yönteminde ise klorflurenol ve prokimidon analitleri için gözlenebilme limitleri sırasıyla $0.57 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.30 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuş olup bu yöntemde ise sırasıyla duyarlılıkta 105 ve 233 kat iyileştirme sağlanmıştır.

Sistem analitik performansı tespiti sonrası yüzde geri kazanım çalışmaları ile geliştirilen analitik yöntemlerin atıksu sistemlerine uygulanabilirliği test edilmiştir. Geliştirilen ikili dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yönteminin gerçek numunelerde etkinliğini test etmek amacıyla ile üniversite atıksuyu, baraj gölü ve hastane atıksuyu örneklerinde standart ilave (spike) çalışmaları yapılmış ve her iki analit için geri kazanım değerleri %87.3-116.5 aralığında tespit edilmiştir. Diğer geliştirilen akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yönteminde ise ileri biyolojik atıksu arıtma tesisi, hastane atıksuyu ve sulama kanalı atıksuyu örneklerinde analit spike çalışmaları yapılmış ve her iki analit için geri kazanım değerleri %86.3-115.4 arasında tespit edilmiştir. Geri kazanım sonuçlarının %100'e yakın olması geliştirilen yöntemlerin gerçek numunelere uygulanabilir olduğunu kanıtlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Pestisitler, Klorflurenol, Prokimidon, İkili dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon, Akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon, GC-MS

Bilim Kodu: 615.01.00

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF DIFFERENT PESTICIDES WITH SWITCHABLE AND BINARY DISPERSIVE LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION STRATEGIES WITH HIGH ACCURACY AND SENSITIVITY

Fatih KAPUKIRAN

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Environmental Engineering**

Thesis Advisor: Asist Prof. Dr. Nizamettin ÖZDOĞAN

Co-Advisor: Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

February 2019, 75 pages

In recent years, the determination of pesticides which pose great risks to human health has gained importance in different environmental samples. The determination of pesticides at trace levels in wastewater systems is extremely important because it helps to develop effective treatment strategies for the removal of contaminants from wastewater systems. For this purpose, different microextraction strategies have been used in the literature and each strategy provides new contributions towards high accuracy and sensitivity. Within the scope of this thesis, two accurate and sensitive methods namely: switchable liquid-liquid microextraction and binary liquid-liquid microextraction were used to preconcentrate clorflurenol and procymidone from wastewater matrices. All experimental parameters of the two analytical methods were optimized and the analytical performance of each system was determined under the optimum conditions obtained.

ABSTRACT (continued)

After determination of the system's analytical performance, applicability of the developed methods was validated by recovery studies in wastewater matrices. The limits of detection determined for clorflurenol and procymidone using switchable liquid-liquid microextraction was $3.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.44 \mu\text{g L}^{-1}$ for clorflurenol and procymidone, respectively. The enhancements in detection power recorded by this method for clorflurenol and procymidone were 17 and 59 folds, respectively. Similarly, the limits of detection determined using the binary dispersive liquid-liquid microextraction was $0.57 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.30 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The enhancements in detection power recorded over the conventional GC-MS were 105 and 233 folds for clorflurenol and procymidone, respectively. Spike studies were carried out to test the effectiveness of the analytical method in real wastewater samples by determining percent recoveries. Application of binary dispersive liquid-liquid microextraction to university wastewater, dam lake and Hospital wastewater samples spiked with the two analytes yielded percent recoveries in the range of 87.3-116.5%. Similarly, spiked recovery tests performed municipal wastewater, hospital wastewater and irrigation canal water using the switchable liquid-liquid microextraction method produced results in the range of 86.3-115.4%. The closeness of the results to 100 validates both methods as accurate and applicable to real samples.

Keywords: Pesticides, Clorflurenol, Procymidone, Binary Dispersive Liquid-Liquid Microextraction, Switchable Solvent Liquid-Liquid Microextraction, GC-MS

Science Code: 615.01.00

TEŞEKKÜR

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nde Yüksek Lisans Tezi olarak yaptığım bu çalışmada danışmanlığımı üstlenerek beni yönlendiren, yakın ilgi, anlayış ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nizamettin ÖZDOĞAN'a,

Eş danışmanlığımı üstlenerek, bana bu yolda her zaman ve her koşulda destek veren, sonsuz bilgi ve birikime sahip kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE'ye,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca benden yardımını ve güler yüzünü esirgemeyen Dr. Dotse Selali CHORMEY'e,

Tecrübe ve bilgisini esirgemeyen ve daima yardımına koşan Dr. Çağdaş BÜYÜKPINAR'a,

Laboratuvarımızda tüm çalışmalarda desteklerini gördüğüm Merve FIRAT, Süleyman BODUR'a, tez yazımı konusunda desteğini aldığım Arş. Gör. Elif ÖZTÜRK ER'e ve tüm "Bakırdere Araştırma Grubu" üyelerine,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her koşulda arkamda duran aileme sonsuz teşekkür ederim, iyi ki varsınız.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
1.1 PESTİSİTLER	1
1.1.1 Pestisitlerin Tanımı	1
1.1.2 Pestisitlerin Üretimi ve Kullanımı	1
1.1.3 Pestisitler ve Çevre	3
1.1.3.1 Sularda pestisit kalıntısı	4
1.1.3.2 Pestisitlerin insan sağlığı açısından etkileri	4
1.1.4 Pestisitlerin sınıflandırılması	5
1.1.4.1 Kimyasal sınıflandırma	5
1.1.4.2 Hedef organizmaya göre sınıflandırma	5
1.1.4.3 Etki biçimine göre sınıflandırma	6
1.1.5 İncelenen Pestisitler ile İlgili Genel Bilgiler.....	7
1.1.5.1 Klorflurenol.....	7
1.1.5.2 Prokimidon	8
1.1.6 Pestisitlerin izin verilen sınırları	8
1.1.7 Tezin Amacı.....	9

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER	11
2.1 LİTERATÜR TARAMASI	11
2.1.1 Ekstraksiyon.....	11
2.1.1.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon.....	11
2.1.1.2 Katı faz ekstraksiyon.....	13
2.1.2 Mikroekstraksiyon	14
2.1.2.1 Katı Faz Mikroekstraksiyon	14
2.1.2.2 Tek Damla Mikroekstraksiyon.....	15
2.1.2.3 Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyonu.....	16
2.1.2.4 Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon.....	17
2.1.3 Kromatografi.....	19
2.1.3.1 Gaz Kromatografisi	19
2.1.3.2 Gaz Kromatografi Kütle Spektrometresi.....	20
2.1.4 Validasyon	22
2.1.4.1 Gözlenebilme Limiti (GL) ve Tayin Limiti (TL).....	22
2.1.4.2 Çalışma Aralığı	23
2.1.4.3 Doğruluk, Kesinlik ve Geri Kazanım.....	23
BÖLÜM 3 GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1 DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	25
3.1.1 Kullanılan Ekipmanlar	25
3.1.1.1 GC-MS Donanımı	25
3.1.1.2 Kullanılan Diğer Ekipmanlar	26
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
3.1.3 Numuneler.....	27
3.1.3.1 İDSSME Yönteminde Kullanılan Numuneler.....	27
3.1.3.2 ASSME Yönteminde Kullanılan Numuneler	27
3.1.4 Deneysel Prosedürler	27
3.1.4.1 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon	27

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

3.1.4.2 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon	28
BÖLÜM 4 SONUÇ VE TARTIŞMA	31
4.1 GC-MS TAYİNİ.....	31
4.1.1 Klorflurenol ve Prokimidon Analitlerinin GC-MS ile Eşzamanlı Tayinleri	31
4.1.1.1 Klorflurenol analitinin GC-MS ile tayini	36
4.1.1.2 Prokimidon analitinin GC-MS ile Tayini.....	37
4.2 YÖNTEM GELİŞTİRME	38
4.2.1 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Geliştirilmesi	38
4.2.1.1 İDSSME Optimizasyonları	39
4.2.1.1.1 Ekstraksiyon Çözücü Tür Optimizasyonu	39
4.2.1.1.2 Dağıtıcı Solvent Optimizasyonu.....	40
4.2.1.1.3 Tuz Türü Optimizasyonu.....	41
4.2.1.1.4 Deneysel tasarım ve ekstraksiyon prosedürünün optimizasyonu	42
4.2.1.2 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyonu Sonrası Yöntem Analitik Performansı	48
4.2.1.3 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yöntemi Sonrası Geri Kazanım Çalışması	50
4.2.2 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Geliştirilmesi	51
4.2.2.1 ASSME Optimizasyonları.....	51
4.2.2.1.1 Sodyum hidroksit derişiminin belirlenmesi.....	52
4.2.2.1.2 Sodyum Hidroksit Hacminin Belirlenmesi.....	52
4.2.2.1.3 Akıllı çözücü hacminin belirlenmesi	53
4.2.2.1.4 Karıştırma süresinin belirlenmesi.....	54
4.2.2.1.5 Tampon çözeltisinin belirlenmesi.....	55
4.2.2.2 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Analitik Performansı.....	57
4.2.2.3 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yöntemi Geri Kazanım Çalışması	59

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ	75



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Klorflurenol kimyasal yapısı.....	8
Şekil 1.2 Prokimidon kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.1 Doğruluk ve kesinliğin şematik anlatımı	24
Şekil 3.1 GC-MS cihazı.	26
Şekil 3.2 İDSSME yönteminin şematik gösterimi.	28
Şekil 3.3 Akıllı çözücü sentezi.....	29
Şekil 3.4 ASSME yönteminin şematik gösterimi.....	30
Şekil 4.1 10 mg L ⁻¹ 'lik karışık standart çözeltide klorflurenol ve prokimidon için toplam iyon kromatogramı.....	32
Şekil 4.2 Klorflurenol için KSKK'de verilen spektrumda belirlenen iyonları.	33
Şekil 4.3 Prokimidon için KSKK'de verilen spektrumda belirlenen iyonları.....	34
Şekil 4.4 Klorflurenolün 152, 215, 216 ve 217 m/z oranına sahip iyonlarına ait ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı.....	34
Şekil 4.5 Prokimidonun 67, 68, 96 ve 283 m/z oranına sahip iyonlarına ait ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı.....	35
Şekil 4.6 Klorflurenol kalibrasyonu için en düşük seviyedeki konsantrasyonun tekrarlarının üst üste koyulmuş kromatogramı.	36
Şekil 4.7 Prokimidon kalibrasyonu için en düşük seviyedeki konsantrasyonun tekrarlarının üst üste koyulmuş kromatogramı.....	36
Şekil 4.8 Klorflurenol için doğrusal kalibrasyon grafiği.....	37
Şekil 4.9 Prokimidon için doğrusal kalibrasyon grafiği.....	38
Şekil 4.10 Klorflurenol ve prokimidon pik alanlarına karşı ekstraksiyon çözücülerinin grafiği.....	40
Şekil 4.11 Klorflurenol ve prokimidon pik alanlarına karşı dağıtıcı çözücülerinin grafiği.	41
Şekil 4.12 Klorflurenol ve prokimidon pik alanlarına karşı tuz türü grafiği.....	42
Şekil 4.13 Klorflurenol analitine ait doğrusal olasılık grafiği.....	46
Şekil 4.14 Prokimidon analitine ait doğrusal olasılık grafiği.....	46
Şekil 4.15 Klorflurenol analiti için değişken parametrelerin cevap faktörü üzerindeki etkisini gösteren 3 boyutlu yüzey cevap grafikleri.	47

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.16 Prokimidon analiti için değişken parametrelerin cevap faktörü üzerindeki etkisini gösteren 3 boyutlu yüzey cevap grafikleri	48
Şekil 4.17 Optimum İDSSME koşulları altında klorflurenol için doğrusal kalibrasyon grafiği.....	49
Şekil 4.18 Optimum İDSSME koşulları altında prokimidon için doğrusal kalibrasyon grafiği.....	50
Şekil 4.19 Pik alanlarına karşı sodyum hidroksit derişiminin belirlenmesi.	52
Şekil 4.20 Pik alanlarına karşı sodyum hidroksit miktarının belirlenmesi.	53
Şekil 4.21 Pik alanlarına karşı akıllı çözücü miktarının belirlenmesi.....	54
Şekil 4.22 Pik alanlarına karşı karıştırma süresinin belirlenmesi.	55
Şekil 4.23 Pik alanlarına karşı çözelti pH'sının belirlenmesi.	56
Şekil 4.24 Optimal ASSME koşulları altında klorflurenol analitinin doğrusal kalibrasyon grafiği.	58
Şekil 4.25 Optimal ASSME koşulları altında prokimidon analitinin doğrusal kalibrasyon grafiği.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Polarite, yoğunluk ve su ile karışmayan çözücüler.....	12
Çizelge 3.1 Kullanılan solvent ve kimyasallar.....	26
Çizelge 4.1 Klorflurenol ve prokimidon analitlerinin GC-MS sisteminde tayinlerine yönelik optimum sistem parametreleri.....	32
Çizelge 4.2 Klorflurenol analitine ait analitik değerler.....	37
Çizelge 4.3 Prokimidon analitine ait analitik değerler.....	38
Çizelge 4.4 Ekstraksiyon solvent optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.....	39
Çizelge 4.5 Dağıtıcı solvent optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.....	41
Çizelge 4.6 Tuz türü optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.....	42
Çizelge 4.7 Box-Behnken tasarım yönteminde incelenen faktörlerin seviye değerleri.....	43
Çizelge 4.8 Klorflurenol ve prokimidon için çok değişkenli optimizasyon çalışması ve üç değişken için gerçek değerler.....	43
Çizelge 4.9 Klorflurenol için ANOVA çalışmasına ait sonuçlar.....	45
Çizelge 4.10 Prokimidon için ANOVA çalışmasına ait sonuçlar.....	45
Çizelge 4.11 Klorflurenol ve prokimidon için optimum ekstraksiyon parametreleri ve değerleri.....	49
Çizelge 4.12 İDSSME koşulları altında klorflurenol ve prokimidon analitlerine ait analitik performans değerleri.....	50
Çizelge 4.13 Klorflurenol ve prokimidon analitleri için % geri kazanım sonuçları.....	51
Çizelge 4.14 Sodyum hidroksit derişimi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.....	52
Çizelge 4.15 Sodyum hidroksit hacmi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler..	53
Çizelge 4.16 Akıllı çözücü hacmi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.....	54
Çizelge 4.17 Karıştırma süresi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.....	55
Çizelge 4.18 Tampon çözelti optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.....	56
Çizelge 4.19 Klorflurenol ve prokimidon için optimum ekstraksiyon parametreleri ve değerleri.....	57
Çizelge 4.20 ASSME koşulları altında klorflurenol ve prokimidon analitlerine ait analitik değerler.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.21 Klorflurenol ve prokimidon analitleri için % geri kazanım sonuçları.	59
Çizelge 5.1 Geliştirilen analitik yöntemlerin performans değerleri.....	62



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

g	: Gram
°C	: Santigrat derece
mg	: Miligram
L	: Litre
mL	: Mililitre
A _{org}	: Organik Katı Faz
%	: Yüzde
cm ³	: Santimetreküp
min	: Dakika
eV	: Elektrovolt
m / z	: Kütle / Yük
µL	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
µm	: Mikrometre
s	: Saniye
v / v	: Hacim / Hacim
M	: Molarite
psi	: Basınç
cm	: Santimetre
R ²	: Korelasyon Katsayısı
µg	: Mikrogram
ρ	: Yoğunluk

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

KISALTMALAR

ACN	: Asetonitril
ACT	: Aseton
AED	: Atomik Emisyon Dedektörü
ASSME	: Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon
BaCl₂	: Baryum Klorür
CCl₄	: Karbon Tetraklorür
CHL	: Kloroform
DCE	: 1,2-dikloroetan
DCM	: Diklorometan
DDT	: Diklorodifeniltri-kloretan
DDTDME	: Doğrudan Daldırmalı Tek Damla Mikroekstraksiyon
DKKME	: Doğrudan Katı Katı Mikroekstraksiyon
DSSME	: Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon
EI	: Elektron İyonizasyonu
EtOH	: Etanol
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GC	: Gaz Kromatografi
İDSSME	: İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon
İFME	: İnce Film Mikroekstraksiyon
İS	: İyonik Sıvı
KBSE	: Karıştırıcı-Bar Sorptif Mikroekstraksiyon
KCI	: Potasyum Klorür
KFE	: Katı Faz Ekstraksiyon
KFME	: Katı Faz Mikroekstraksiyon
KNO₃	: Potasyum Nitrat
KSKK	: Kütle Spektrometrisi Kaynak Kütüphanesi
LC	: Sıvı Kromatografi
GL	: Gözlenebilme Limiti
TL	: Tayin Limiti
MKL	: Maksimum Kalıntı Limiti

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

MS	: Kütle Spektrometrisi
NaCl	: Sodyum Klorür
NIST	: Ulusal Bilim ve Teknoloji Enstitüsü
OCP	: Organoklorin Pestisitleri
OPP	: Organofosfat Pestisitleri
ppb	: Milyarda Bir Kısım
ppm	: Milyonda Bir Kısım
RSD	: Relatif Standart Sapma
SFE	: Sıvı Faz Ekstraksiyon
SFME	: Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
TBTDME	: Tepe Boşluklu Tek Damla Mikroekstraksiyon
TDME	: Tek Damla Mikroekstraksiyon
ÜBKFME	: Üst Boşluk Katı Faz Mikroekstraksiyonu
YKODME	: Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyonu



BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 PESTİSİTLER

1.1.1 Pestisitlerin Tanımı

Amerika Çevre Koruma Dairesi (U.S. Environmental Protection Agency, EPA)'ne göre; tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen haşereler, kemiriciler, mantarlar ve yabancı otlar gibi zararlılara karşı kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlara pestisit adı verilir [1].

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) tanımına göre pestisitler, bitki zararlılarını; insan ya da hayvan hastalıklarını taşıyan organizmaları; gıda, tarım ürünleri, ahşap ve ahşap ürünleri ya da hayvan yemlerinin üretim, işleme, depolanma, nakliye ya da pazarlanmasında zarara neden olan istenmeyen bitki ya da hayvan türlerini engellemek, yok etmek ya da kontrol altına almak için kullanılan, madde ya da madde karışımlarıdır [2].

1.1.2 Pestisitlerin Üretimi ve Kullanımı

Tarih boyunca insanlar, gıda kaynağı olarak kullandığı her türlü ürünü mikroorganizmalardan koruma çabası içerisinde olmuşlardır. Bu amaçla şimdiye dek, genelde pestisit olarak adlandırılan bir çok farklı kimyasal madde kullanmışlardır. Milâttan önce (M.Ö.) 1500 yıllarına ait kayıtlara göre o dönemdeki insanlar bit, pire ve eşek arılarına karşı pestisit kullanmışlardır. Kaynaklara göre; kükürt ve arsenik tarihte kullanılan ilk pestisitlerdir. Kükürt, Çinliler tarafından M.Ö. 1000 yıllarında fumigant olarak, 1800'lü yıllarda Avrupa'da ise fungusit olarak kullanılmış olup günümüzde ise önemli bir pestisit olarak kullanılmaya devam edilmektedir. 16. yüzyılda, Japonlar balina yağı ve sirke karışımlarını, Çinliler arsenik içeren bileşikleri, 17. yüzyıl sonlarında, tütün yapraklarından elde edilen sıvıları, 19. yüzyılda ise bakır sülfat, kireç gibi maddeler pestisit olarak kullanılmışlardır [3, 4].

1930'lu yıllardaki ilerlemelerle birlikte modern sentetik kimya biliminde birçok pestisit geliştirilmiştir. Organik insektisitlerin önemli bir kısmı, Almanya'da Schrader öncülüğünde bir grup kimyager tarafından sentezlenmiştir. Bu maddelerin son derece toksik olduğu anlaşılmış ve bunların bir kısmı aynı zamanda II. Dünya Savaşında nazilerin kontrolünde kimyasal savaş silahı olarak kullanılmıştır. Sinir gazı olarak nitelendirilen ve etkin kimyasal silah olan Tabun ve Sarinin sentezi sır olarak saklanmıştır. Schrader 1944 yılında, daha dayanıklı bir bileşik olan paration ve oksijen analogu paraoksonu sentezlemiştir. II. Dünya savaşından sonra da organik yapıdaki pestisitlerin üretimi ve kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Pestisit kullanımının artması sonucu su, toprak, hava ve besin zincirinde kalıntı kirliliği meydana gelerek üretim ve kullanım aşamalarındaki hatalar ile akut ve kronik zehirlenmelerde artış olduğu gözlenmiştir [1, 4, 5].

Pestisitlerin tarımsal alanda kullanılması, alınan mahsul miktarında ciddi bir artış meydana getirmektedir. 1930'lu yılların sonunda, gıda olarak tüketilmeyen pamuk ve tütün gibi ürünlerde diklorodifeniltriokloroetan (DDT) kullanılmıştır. Bunun devamında dünyada insektisit, herbisit ve fungusitlerin kullanımı artmıştır. II. Dünya savaşından sonra batı ülkeleri gıda üretimini arttırmak amacıyla pestisitlerle mücadelede kullanılan tarım ilaçlarının geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmalar neticesinde, günümüzde kullanılan pestisitler ile birlikte diğer tarım ilaçlarının da ortaya çıkması sağlamıştır. Bu pestisitlerin modern tarım yapılırken aşırı tüketimi bazı olumsuz etkilerin gözle görülür şekilde artmasına sebep olmuştur. Yeryüzündeki flora ve fauna zarar görmüş, yer altı suları, yüzeysel sular ile denizler de kirlenmiştir [6].

Günümüzde modern tarım uygulaması esnasında pestisitlerin yaygın kullanılmaları bazı problemlere sebep olmuştur [7]. Bunun nedenlerinden birisi; besin yoluyla aldığımız gıdalarda hangi oranda olması gerektiğine dair yeterli bilgi bulunmamasıdır. Mesela çiftlik hayvanları pestisit bulaşmış bitkilerle beslendiğinde pestisit kalıntıları hayvanın vücudunda "gut" bakterisine dönüşerek yer almaktadır. Bu hayvanların etinin tüketilmesi sonucu bu kimyasallar insan vücudunda özellikle de çocuklarda birikmekte ve hastalıklara neden olmaktadır [8].

1950 yıllarında Amerika'da gıda maddesi olmayan bazı ürünlerde DDT'nin kullanılması, toprağı ve suları kirletmiştir. Bu nedenle, pek çok hayvan çeşidinin (mesela Antartika'daki penguenlerin) olumsuz yönde etkilenmesine sebep olmuştur. Çok çeşitli hayvan türleri pestisit kirliliği sebebiyle dünyadan yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır. Ayrıca bazı çalışmalara göre pestisitler, topraktaki bir takım mikroskobik tür canlıları da etkilemektedir.

Bazı pestisitler çok güçlü olduğu için hedef organizmanın yanı sıra insan sağlığını ve çevreyi de olumsuz yönde etkilemektedir [9].

1.1.3 Pestisitler ve Çevre

Pestisitlerin püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı buharlaşma ve dağılma nedeniyle kaybolurken, diğer bir kısmı ise bitki üzerinde ve toprak yüzeyinde birikmektedir. Havaya karışan pestisit rüzgarlarla taşınabilmekte; yağmur, sis veya kar yağışı gibi hava olaylarıyla tekrar yeryüzüne dönebilmektedir. Böylelikle hedef olmayan diğer organizma ve bitkilere ulaşan pestisit, bu türler üzerinde toksik etkiye sebep olabilmektedir [10].

Pestisitlere bakarken sadece zararlıları öldüren ya da kontrol eden kimyasal maddeler olarak görülmemelidir. Nasıl ki bir sağlık ilacı insanla birlikte ele alınıyorsa, bir pestisitte kullanım alanında hastalıklarıyla, zararlarıyla, bitkiyle, insanla, çevre ve çevredeki diğer tür canlılarla birlikte değerlendirilmelidir. Talimatlara ve teknik kişi tarafından verilen açıklamalara uyulmadan kullanılan pestisitler, tüketime sunulan ürünler üzerinde ya da çevrede (su kaynakları, toprak gibi) kalıntı bırakmakla birlikte üretimi, formülasyonu ve tatbikatı gerçekleştirenler ile ilaçlanmış ürünleri yiyenler tarım ilaçlarının tehlikelerine maruz kalabilmektedirler.

Yoğun ve bilinçsiz bir şekilde pestisit kullanımının sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da parçalanma ürünleri kalabilmektedir. Pestisit kalıntılarının önemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturucu etkileri saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu nedenle 1960 yılında FAO ve dünya sağlık örgütü (WHO) “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi”ni kurmuş ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapılarak, bilimsel araştırma verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır. Ülkemizde de tarımsal ürünlerde kullanılan pestisitlerin gıdalarda bulunması müsaade edilebilir maksimum miktarları ürün ve ilaç bazında belirlenmiştir [3].

1.1.3.1 Sularda pestisit kalıntısı

Dünya nüfusunun büyük bir kısmı için önemli içme suyu kaynaklarını oluşturan yer altı suları ve yüzey sularının kalitesi, su ortamına karışan pestisitler sebebiyle sürekli olarak düşmektedir. Pestisitler mahsullere püskürtülerek uygulandığında, sularda en yüksek derişim seviyeleri, baharda karlar tamamen eridiğinde elde edilmiştir. Pestisitlerin sucul ortama geçişlerinin birçok kaynağı vardır. Pestisitler hem alan kaynakları hem de noktasal kaynaklardan gelebilmektedir. Hatta hava yoluyla uzun mesafeler boyunca bile taşınabilmektedir. Pestisitler sucul çevrede bulduklarında çeşitli proseslere maruz kalmaktadır. Fiziksel (birikme, seyrelme, tortu ve difüzyon), kimyasal (hidroliz ve oksitlenme) ve biyokimyasal (biyolojik bozunma, biyolojik taşınma ve biyolojik birikme) olabilen bu prosesler, bu toksik maddelerin seviyelerinde önemli bir artışa neden olmaktadır. Pestisitlerin sucul organizmalarda birikmesi geri dönüşümü olmayan birçok tehlikeye yol açabilmektedir. Son zamanlarda, insanlar herhangi bir kimyasal bileşikler ve endüstriyel kirliliklerden daha çok ve sık olarak pestisitlerle temas etmektedirler. Bu yüzden pestisitlerin özelliklerinin bilinmesi oldukça önemli olmakla birlikte, çevrede bu bileşiklerin nerelerde ve nasıl biriktiği özellikle doğal su kaynakları açısından son derece kritiktir [11].

1.1.3.2 Pestisitlerin insan sağlığı açısından etkileri

Pestisitler dünya pazarını doldurabilecek yeterli gıda üretiminin olabilmesi için modern gıda üretiminde önemli bir yere sahiptirler. Artan dünya nüfusu ile ortaya çıkan gıda ihtiyacını karşılayabilmek için günümüzde yoğun bir şekilde tüketilmektedirler [12].

20. yüzyıl ortalarında dünyada organik pestisitlerin satışında ve kullanımında ciddi artış gözlenmiştir. Bu artış sonucunda toksik kimyasallar hem çevreye hem de insan sağlığı üzerinde çok zararlı etkilere neden olmuştur. Ayrıca uzun süreden beri kullanımı yasaklı olmasına rağmen DDT ve toksafen, kutupların yüksek kısımları gibi yeryüzünün ücra bölgelerinde bile bulunabilmektedir. Bu durum da pestisitlerin global hava sirkülasyonu ile taşındığını göstermektedir [13].

Pestisitler vücuda alındıklarında bir kısmı enzimler etkisiyle bozularak vücuttan atılmaktadır. Diğer bir kısmı ise de vücutta birikim yaparak toksisite göstermektedirler [14]. Pestisitlerin insan vücuduna nüfuzu deri, solunum ve sindirim yolları ile gerçekleşmektedir. Zehirlenme

olayı akut (tek seferde yüksek doz) ya da kronik (birikim sonucu uzun sürede) olabilmektedir. Kronik zehirlenme sonucu akciğer hastalıkları, beyinde hasar ve kanser gibi hastalıklar görülmektedir.

1.1.4 Pestisitlerin sınıflandırılması

Doğal ve sentetik pestisitler herkes için genel gruplar olarak kabul edilmektedir. Doğal pestisitler insanlar için daha az risk oluştursa da, geniş uygulama alanı nedeniyle çoğunlukla sentetik pestisitler tercih edilmektedir. Pestisitler genel olarak kimyasal, hedef organizmaya ve etki biçimine göre sınıflandırılabilirler [15].

1.1.4.1 Kimyasal sınıflandırma

Yapılarına göre pestisitler 4 ana başlıkta toplanmıştır organoklorin pestisitleri (OCP'ler), organofosfat pestisitleri (OPP'ler), karbamatlar ve piretroidler [16]. OCP'ler esas olarak, tarım arazilerinde zararlıların ve hastalıkların kontrolünde kullanılmaktadırlar. OCP'ler çok kararlı ve dayanıklı olduklarından çevrede çok uzun süre kalmaktadırlar. Bu sebeple, insanlar ve diğer organizmalar için büyük risk oluşturmaktadırlar [17]. OPP'ler ise genellikle fosforik asitten türetilmektedir ve bu nedenle fosfat fonksiyonel grubunu içermektedirler [18]. Pek çok organoklorlu pestisit örneğin DDT, toxaphene, aldrin birçok ülkede yasaklanmış ya da çok sıkı düzenlemeler altında uygulanmaktadırlar [19].

1.1.4.2 Hedef organizmaya göre sınıflandırma

Bazı haşere zararlıları arasında kemirgenler, mantarlar, böcekler, otlar, nematodlar, yumuşakçalar ve bakteriler bulunmaktadır ve bunları kontrol etmek için kullanılan böcek ilaçları, sırasıyla rodentisit, fungusit, insektisit, herbisit, nematisit, molluskisit ve bakterisit olarak adlandırılmaktadırlar. Bu sınıflandırmalar geniştir ve her grupta farklı zararlıları kapsamaktadırlar. [20].

1.1.4.3 Etki biçimine göre sınıflandırma

Etki biçimine göre sınıflandırma, pestisitlerin kimyasal sınıfı ile ilgilidir. Başka bir deyişle, aynı kimyasal sınıfın pestisitleri, zararlıları benzer şekilde etkilemektedir. Genel olarak pestisitler, konakçıları veya haşereleri öldürerek ya da mekanizmalarının normal işlevini değiştirerek tedavi etmekte ya da korumaktadırlar. Örneğin piretroidler hedef organizmayı öldüren pestisit örnekleridir. Piretroidlerin etki şekli, konakçı organizmanın sinir zarlarına, genellikle böceklere saldıran güçlü bir nörotoksin veya nöropondur [21]. Pestisitün uygun bir miktarı sinir aşırı uyarılmasına yol açmaktadır. Sodyum ve potasyum iletkenliğini değiştirmekte, felç ve sonuçta ölümle neden olmaktadır [22].

Karbamatlar ve OPP'ler, konakçı organizmalara karşı aynı etkiye sahiptir. Her iki pestisit grubunun, karbamatlar için karbamillenme ve OPP'ler için fosforilasyon ile enzim kolinesterazı inhibe ettiği bilinmektedir. Kolinesteraz, asetilkolinin (nörotransmitter) asetik asit ve koline hidrolizi için bir katalizördür. Enzimin inhibisyonu bu nedenle nöron iletimini bozan asetilkolinin birikmesine yol açmaktadır. Bu, inhibisyonun geri döndürülemez olduğu durumlarda felç ve ölüm gibi sonuçlara sebep olmaktadır [22].

OCP'ler sinir sistemine saldırarak piretroidlere benzer şekilde çalışmakta ve hem periferik hem de merkezi sinir sistemini etkilediği bilinmektedir. OCP'ler, hücre zarlarının elektrofizyolojik özelliklerini veya iyonik dengesini, özellikle sinir aksonları tarafından potasyum ve sodyum değişimini değiştirmektedir. Etkiler tersinirdir ve bu nedenle ölüm, pestisitün toksisite düzeyine bağlı olmaktadır [23]. Triflumizol, hem iyileştirici hem de koruyucu etki mekanizmalarına sahip bir imidazol fungusittir ve paclobutrazol, hem bitki büyüme düzenleyicisi hem de mantar öldürücü olarak hareket eden bir triazol pestisittir [24, 25].

Herbisitlerin etki mekanizmaları

Herbisit sınıflarının birçoğu, diğer fizyolojik işlemlerden çok fotosentetik inhibitör görevi görür. Ticari olarak temin edilebilen fotosentetik inhibitörlerin hepsi, kinon bağlayıcı proteine bağlanır ve bu nedenle fotosentetik elektron taşınmasını engeller [26]. Herbisit sınıflarının bazıları ise hücre bölünmesi için spesifik olan bir moleküler bölgeye saldırarak doğrudan hücre bölünmesini bozduğu bilinmektedir. Bu herbisitler, mikrotübüllerin oluşturulduğu protein olan tubulini bağlar. Hücre bölünmesi ve hücre duvarı oluşumu için mikrotübüller gereklidir [27]. Üç amino asit biyosentezi enzimi, 5-enolpiruvil-shikimate-3-fosfat sentez (EPSP sentez),

asetolaktat sentez (ALS) ve glutamin sentez (GS) herbisit etkisinin önemli bölgelerini oluşturur. Bu etki alanları, birkaç herbisit sınıfının birincil etki alanını kesin olarak oluşturur ve amino asitlerin biyosentezini önler. Bazı herbisit sınıfları ise yeşil dokunun hızlı bir şekilde foto-ağartmaya (photobleaching) neden olur. Bitki dokusu kendisini aşırı süperoksit radikalinden koruyamadığında, hızlı lipid peroksidasyonu ve foto-ağartma meydana gelir [28].

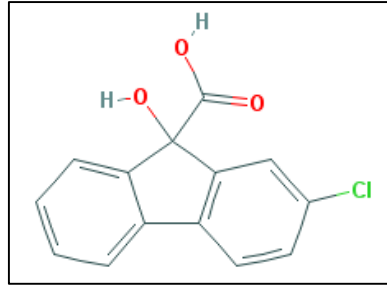
Fungisitlerin etki mekanizmaları

Proteinler canlı organizmalardaki en önemli yapı taşlarıdır. Hücre iskeletini oluşturmak, hücreler arasında sinyal iletmek ve biyokimyasal reaksiyonları katalize etmek gibi önemli biyolojik fonksiyonlara sahiptirler [29]. Proteinler amino asitlerden yapılıdır. Bazı fungisitler, etkilenen organizmaların biyolojik işlevlerini etkileyen amino asitlerin ve proteinlerin biyosentezine müdahale eder. Ayrıca fungisitler, bir organizmada sinyal iletimini kesebilir, bu da gliserol ve proteinler gibi önemli kimyasalların sentezini etkiler [30]. Farklı etki biçimlerine sahip bazı fungisitlerin mantar ölümüne yol açan mikrobiyal solunumun inhibe ettiği bilinmektedir [31]. Bazı fungisitlerin hedef mantarlarda mitoz ve hücre bölünmesini etkilediği bilinmektedir [32]. Bazı fungisitler ise RNA polimeraz I sisteminin aktivitesini inhibe ederek nükleik asit sentezini etkiler [31].

1.1.5 İncelenen Pestisitler ile İlgili Genel Bilgiler

1.1.5.1 Klorflurenol

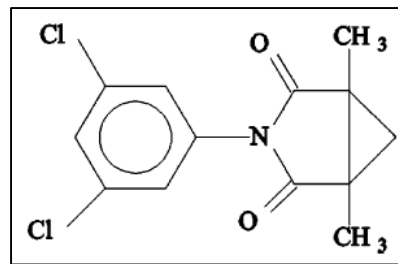
Klorflurenol etken maddesi, $C_{14}H_9ClO_3$ kimyasal formüle, $260.67 \text{ g mol}^{-1}$ molekül ağırlığına, $152 \text{ }^\circ\text{C}$ erime noktasına sahip ve suda çözünürlüğü 21.8 mg L^{-1} ($20 \text{ }^\circ\text{C}$) olan bir kimyasaldır. Bitkilerin büyümesini düzenlemede kullanılan klorflurenol herbisitinin kimyasal yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir. Genellikle geniş yapraklı yabani otlar, ağaçlar, çalılar ve sarmaşıkların büyümesini geciktirmek için kullanılmaktadır. Otsu bitkilere, bitki örtüsü ve/veya kökler yoluyla nüfuz etmekte ve bitkinin içinde serbestçe hareket etmektedir. Klorflurenol vücuda kirlenmiş sulardan girebilmekte ve bu da bebeklerde ve çocuklarda kronik etki riski taşımaktadır [33].



Şekil 1.1 Klorflurenol kimyasal yapısı.

1.1.5.2 Prokimidon

Prokimidon [N-(3,5-diklorafenil) – 1,2-dimetil-siklopropan dikarboksimid] etken maddesi, $C_{13}H_{11}Cl_2NO_2$ kimyasal formüle, $284.14 \text{ g mol}^{-1}$ molekül ağırlığına ve $136.2 \text{ } ^\circ\text{C}$ erime noktasına sahip, suda çözünürlüğü 4.5 mg L^{-1} ($20 \text{ } ^\circ\text{C}$), karakteristik bir kokusu olan, beyaz renkte ve toz veya kristal formunda katı bir kimyasaldır. Prokimidonun kimyasal yapısı Şekil 1.2’de gösterilmiştir. Prokimidon, özellikle meyve yetiştiriciliğinde ve bahçecilikte çok yaygın olarak kullanılan bir dikarboksimid fungusittir [34, 35]. Yenilebilir mahsuller ve süs bitkilerinde mantar büyümesini frenlemek için kullanılan mantar öldürücü bir ilaçtır. Solunum yoluyla yüksek dozda doğrudan maruz kalma durumunda kusma, bulantı ve göz tahrişlerine yol açabilmektedir [36].



Şekil 1.2 Prokimidon kimyasal yapısı.

1.1.6 Pestisitlerin izin verilen sınırları

Pestisitler, iyi tarımsal uygulamalara dayanan bitki döngüsünün veya hayvan yaşamının farklı aşamalarında uygulanmaktadır. İyi tarımsal uygulama, kullanılan pestisit miktarlarını/ konsantrasyonlarını, kullanım sıklığını ve uygulandığı aşamayı belirleyerek tüketici güvenliğini sağlamayı amaçlamaktadır [37].

Hasat öncesi uygulanan pestisitler, haşerelerin yüksek gıda kalitesine ve miktarına yol açan etkili olgunlaşmaya izin verecek şekilde uzak tutulması amacıyla kullanılmaktadır. Hasat sonrası uygulamalar, uzun bir depolama süresi için ekili ürünlerin bütünlüğünü korumaya yöneliktir [38]. Piyasadaki tarımsal ürünlerdeki pestisit kalıntılarının kabul edilebilir seviyeleri, kamu güvenliğinin sağlanması için düzenleyici otoriteler tarafından belirlenmektedir. Bu kabul edilebilir seviyeler, sırasıyla EPA ve Avrupa Birliği tarafından “tolerans” ve “maksimum kalıntı limitleri” (MKL) olarak adlandırılmaktadır [39].

Bu seviyeler risk değerlendirmeleri yapılarak veya pestisitlerin toksikoloji profilleri kullanılarak belirlenmektedir. Pestisitlerin kabul edilebilir günlük alımı (ADI), kronik toksisiteyi ölçerken, akut referans dozu, toksikoloji profili için akut toksisiteyi ölçmektedir [37].

Risk değerlendirmesi gerçek veya beklenen kalıntı rakamlarına dayanabilmekte ve maruziyet türlerini, yaş grubunu ve etki türünü dikkate almaktadır [39].

Tüm pestisitlerin kanunla tescillenmesi ve ticari uygulamalarına izin verilmeden önce risk değerlendirmesi yapılarak tolerans/MKL'nin ayarlanması gerekmektedir. Bir pestisit makul bir risk tespit edildiğinde onaylanmakta ve onaylanmış pestisitler, kullanım miktarı ve sıklığı hakkında özel talimatlar yazan etiketlerle paketlenmektedir [40].

1.1.7 Tezin Amacı

Gelişen endüstri ile birlikte insan sağlığı açısından son derece riskler taşıyan pestisitlerin farklı çevre örneklerindeki tainleri son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Pestisitlerin atıksu sistemlerinde eser seviyelerde tainleri, belirtilen analitlerin atıksu sistemlerinde arıtılmalarına yönelik strateji geliştirilmesi bakımından son derece önem taşımaktadır. Bu amaçla farklı türde pestisitlerin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tainlerine yönelik farklı mikroekstraksiyon stratejileri geliştirilerek literatüre kazandırılması oldukça önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amacı, prokimidon ve klorflurenol analitlerinin eser seviyelerde tainlerine yönelik ikili dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon ve akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon stratejilerini içeren iki farklı yöntem kullanılarak GC-MS (Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi) sistemi ile yüksek doğruluk ve duyarlılıkta yöntemler geliştirilmesidir. Bu amaçla, geliştirilen iki farklı yöntem için performans parametreleri belirlenmiş olup yöntemlerin uygulanabilirlikleri gerçek numuneler üzerinde yüzde geri kazanım çalışmaları ile test edilmiştir.



BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 LİTERATÜR TARAMASI

2.1.1 Ekstraksiyon

Tayin edilecek analitin yabancı maddelerden uzaklaştırılması uygulanacak analitik yöntemin doğruluğunu ve hassasiyetini arttırması için önem arz etmektedir. Ayrıca ekstraksiyon prosesinde temel amaç, yüksek oranda önderiştirme sağlayarak analiti bulunduğu ortamdan almaktır [41]. Ekstraksiyon, yoğun matriks (numunede analit dışındaki herşey) içeren örneklerde analitin doğru ve hassas bir şekilde tayin edilebilmesi için başvurulan bir yöntemdir. Ekstraksiyon ile tayini yapılmak istenen analit, yüksek hacimli yoğun matriks içeren çözeltiden düşük hacimli bir organik çözücüye alınmaktadır.

Literatürde en sık kullanılan ekstraksiyon yöntemleri sıvı sıvı ekstraksiyonu ve katı faz ekstraksiyonu olarak iki grupta toplanabilmektedir.

2.1.1.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon

Sıvı sıvı ekstraksiyon (SSE) yöntemi, iki sıvı içeren bir ekstraksiyon yöntemidir. Birbirleriyle karışmayan sıvılar arasında (genellikle sulu çözeltiden organik çözeltiye) analit(ler)in hareketini içermektedir. Örnek çözeltiye göre ekstraksiyon çözücüsünde daha iyi çözünürlük sergileyen analitler için yüksek bir ekstraksiyon verimliliği elde edilebilmektedir. Bu durum esas olarak birbirine karışmayan iki sıvı arasındaki polarite farklılıklarından kaynaklanmaktadır ve yoğunluk farkına göre fazın konumu, üst faz veya alt faz olarak değişiklik gösterebilmektedir. Suyun polarlık indeksi (9.0) oldukça yüksektir ve bu nedenle polarite indeksi 5.0 üstünde olan metanol, etanol, asetonitril ve aseton gibi çözücülerle birlikte karışabilmektedir [42]. Polarite indeksleri 5.0'dan düşük olan solventler genellikle su ile

karişmamaktadırlar. SSE için yaygın olarak kullanılan bazı çözücülerin listesi Çizelge 2.1'de verilmiştir. Bu çözücülerin sudaki çözünürlüğü, metanol ve asetonitril gibi orta polar çözücülerle karıştırıldığında artırılabilir [43].

SSE'de kullanılacak aparat tipine bağlı olarak, ekstraksiyon solventlerinin yoğunluğu, düşük yoğunluklu solventler ($<1.0 \text{ g mL}^{-1}$) için bir üst fazı ve yüksek yoğunluklu solventler için alt fazı belirlemektedir ($>1.0 \text{ g mL}^{-1}$). SSE'de yüksek derecede uçucu ve düşük yoğunluklu çözücülerin kullanılması, buharlaşan kayıpların ortaya çıkmasına neden olabilir ve buda hızlı bir analiz ve uygun bir aparat kullanılmasını gerektirmektedir. Ayırıcı huni, SSE için iyi kurulmuş bir aparamdır ve hem düşük hem de yüksek yoğunluklu çözücü ekstraksiyonları için uygundur. Bu, analitlerin ekstraksiyon çözücüsü içine kütle transferini kolaylaştırmak için kuvvetlice çalkalanan elle tutulan bir aparamdır [44]. SSE'de organik fazdaki analit miktarının sulu fazdaki miktara oranı bölme katsayısı (BK) olarak adlandırılmaktadır. BK, iki sıvı faz ($A_{\text{org}} \rightleftharpoons A_{\text{aq}}$) arasındaki analitin bir denge ifadesidir [45]. SSE'deki ekstraksiyon etkinliğini belirlemek için, organik fazda biriken analit fraksiyonu kullanılmaktadır. Organik faz fraksiyonu (q_{org}) dolaylı olarak $1-q_{\text{aq}}$ olarak hesaplanmaktadır; burada q_{aq} sulu fazdaki analit fraksiyonudur [46].

SSE genellikle geniş ekstraksiyon çözücü hacimlerinin kullanımını içermektedir, böylece SSE'den sonra ek olarak damıtma ve buharlaştırma gibi prosedürler daha saf veya daha konsantre bir analit elde etmek için gerçekleştirilebilmektedir [47].

Çizelge 2.1 Polarite, yoğunluk ve su ile karişmayan çözücüler [44].

Kimyasal	Polarite İndeksi	Sudaki Çözünürlüğü (%)	Yoğunluğu (g/cm^3)
Toluen	2.4	0.051	0.87
Pentan	0.0	0.0004	0.626
Metil etil keton	4.7	24	0.8050
Metil-t-butil eter	2.5	4.8	0.7404
Hekzan	0.0	0.001	0.6548
Heptan	0.0	0.0003	0.6795
Etil eter	2.8	6.89	0.7134
Etil asetat	4.4	8.7	0.902
Diklorometan	3.1	1.6	1.3266
1,2-Dikloroetan	3.5	0.81	1.253
Sikloheksan	0.20	0.01	0.7781
Kloroform	4.1	0.815	1.564
Karbon tetraklorür	1.6	0.08	1.5867
Bütanol	4.0	0.43	0.81
Benzen	2.7	0.18	0.8765

2.1.1.2 Katı faz ekstraksiyon

Katı faz ekstraksiyonunda (KFE) ekstraktant fazı, sorbent olarak adlandırılmakta ve bir katı üzerine sabitlenmiş bir katı veya sıvı olabilmektedir. KFE'de, numune sorbentten geçirilmekte ve ilgili analit, sorpsiyon adı verilen fiziko-kimyasal bir işlem tarafından tutulmaktadır. Sorpsiyonun ilk şekli, adsorpsiyon olarak adlandırılan bir yüzey olgusudur ve Van der Waals kuvvetleri veya dipol-dipol etkileşimleri tarafından meydana gelmektedir [48]. Adsorpsiyon aynı zamanda, düşük sıcaklıklarda etkili adsorpsiyona neden olan tersi bir ilişki ile sıcaklığa bağlıdır [49]. KFE ile muamele edilen numuneler genelde sıvıdır ve ayırma etkinliğini arttırmak için filtrasyon ve çözelti pH'ının ayarlanması gibi ön-muamele işlemleri gerektirebilmektedir. Filtrasyon, sorbent gözeneklerin tıkanmasını önlemek amacıyla gereklidir ve analitin geri kazanımı üzerinde oldukça etkilidir [50]. pH ayarı ise, bir analitin iyonik veya moleküler durumunu belirlemekte olup etkin bir ekstraksiyon verimi için çoğunlukla önem arz etmektedir [51].

Numune ön muamelesinden sonra, KFE adımlarının kronolojik sıralaması kolon koşullanması, numunenin yüklenmesi, kolonun yıkanması ve analitin elüsyonundan oluşmaktadır. Kolon şartlandırması, kolonun temizlenmesi ve sorbentin aktive edilmesine hizmet eden önemli bir adımdır. Şartlandırma için kullanılan çözücüler, numune çözeltisine benzer olmalı veya bu adımda ardışık olarak farklı çözücüler kullanılabilir. Analitlerin kolondan dışarı sızmasını önlemek için, örnek yükleme, orta ve sabit bir akış hızında gerçekleştirilmelidir [52]. Müdahaleler içeren karmaşık örnekler için, numune yüklemeye sonra yıkama, kolonda tutulan istenmeyen bileşenleri ortadan kaldırmaktadır. KFE'deki son aşama elüsyon olup, elüsyonun türü ve miktarı analit geri kazanımı ve önderiştirme faktöründe önemli bir rol oynamaktadır. Kayda değer analit geri kazanımı ve etkin ekstraksiyonlar ile sonuçlanan bir KFE prosedürü bu temel adımlara bağlıdır [53].

KFE'deki bu temel adımlardan önce, uygun bir sorbentin seçilmesi zorunludur. Bileşim olarak sorbentler geniş ölçüde silika ve alümina gibi inorganik dolgu maddelerinden ya da poliamit gibi polimerik dolgu maddelerinden oluşmaktadır [50]. KFE sorbentleri genel olarak normal faz, ters faz, afinite, iyon değiştirici ve kısıtlı erişimli sorbentler olarak sınıflandırılmaktadırlar [54, 55]. Kısıtlı erişimli ve iyon değiştirici sorbentler, spesifik analitler için tasarlanmıştır [56, 57].

2.1.2 Mikroekstraksiyon

SSE ve KFE, geleneksel ve geniş kapsamlı olarak kullanılan metotlardır, ancak uzun ekstraksiyon süreleri, yüksek miktarlarda toksik çözücülerin kullanımı, çoklu işlem adımları, büyük örnek miktarları ve açığa çıkan atıklar gibi dezavantajları vardır. Bu dezavantajları dengelemek amacıyla mikroekstraksiyon yöntemleri temel olarak SSE ve KFE'nin temel prensiplerine dayanılarak geliştirilmiştir [58]. Mikroekstraksiyonun diğer avantajları arasında hızlı analiz, düşük maliyet, düşük örnek miktarı, yüksek ekstraksiyon verimi ve yüksek analit geri kazanımı bulunmaktadır [59]. Mikroekstraksiyon yöntemleri geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin temel prensipleri üzerinden gittiklerinden, katı faz mikroekstraksiyonu (KFME) ve sıvı faz mikroekstraksiyonu (SFME) olarak iki ana gruba ayrılabilirler. Literatürde genel KFME ve SFME yöntemlerini açıklayan birçok mikroekstraksiyon terimleri ve kısaltmaları vardır. Bu mikroekstraksiyon yöntemlerinin kısaltmaları genellikle ekstraksiyon etkinliğini arttırmak için kullanılan yöntemleri temsil etmektedir [60, 61].

2.1.2.1 Katı Faz Mikroekstraksiyon

Katı faz mikroekstraksiyonu ilk defa 1990 yılında Pawliszyn ve arkadaşları tarafından klorlu organik bileşiklerin önderiştirilmesi için kullanılmıştır [62]. Bu çalışmada katı sorbent olarak silika optik fiberler kullanılmış olup daha sonraları fiberlerin sorbent olarak kullanıldığı ekstraksiyonlar KFME olarak adlandırılmıştır [63, 64]. Ancak günümüzde farklı türdeki analitlere özgü çeşitli katı malzemeler sorbent olarak kullanılabilirler.

Örnek çözeltilerdeki analit ile katı sorbentin etkileşimine dayanan KFME yöntemi, karıştırma türüne göre dinamik veya statik olarak adlandırılabilir. Statik yöntem, üst boşluk katı faz mikroekstraksiyonudur (ÜBKFME) ve uçucu analitlerin numunenin üst boşluğunda asılı bir sorbent materyaline tutunmasını içerir. ÜBKFME bir denge yöntemidir. Pestisitler ve endokrin bozucu bileşikler de dahil olmak üzere birçok uçucu bileşiğin tayininde kullanılabilir [65, 66]. Dinamik yöntem ise, doğrudan katı katı mikroekstraksiyonudur (DKKME) ve adından da anlaşılacağı gibi, sorbent malzeme, sürekli olarak karıştırılan numune çözeltisine doğrudan yerleştirilmektedir. DKKME'de ekstrakte edilen analitin miktarı, karıştırma süresine bağlıdır ve doğrudan numune çözeltisinden sorbent materyale tutunan uçucu olmayan analitler için uygulanabilir. DKKME ayrıca pestisit analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır [67]. Bunlardan başka, membran koruma ekstraksiyonu, örnek

matriksten sorbent materyaline seçici bir zardan nüfuz eden analitlere dayanan üçüncü bir çalışma yöntemidir. Membran, kirliliklerin kaplanmış fibere ulaşmasını engelleyen bir filtre görevi görmektedir [68].

Bu yöntemlere ek olarak ince film mikroekstraksiyonu (İFME) da literatürde sunulan yöntemlerdendir. İFME yöntemi, analitlerin etkili bir şekilde toplanması için geniş yüzey alanına sahip olan düz filmleri kullanmaktadır ve bu da onu daha hassas bir yöntem haline getirmektedir. İFME, ilk defa Mirnaghi ve arkadaşları tarafından bildirilmiş olan örnek analizi için tam otomatikleştirilmiş bir yöntemdir [69].

2.1.2.2 Tek Damla Mikroekstraksiyon

KFME'nin başarılı bir şekilde tanıtılmasından ve uygulanmasından sonra, çeşitli modifikasyonlar yapılmış olup ilerleyen süreçte fiberler dışındaki diğer malzemeler sorbent olarak kullanılmaya başlanmıştır. Tek damla mikroekstraksiyon (TDME), KFME'den birkaç yıl sonra Liu ve Dasgupta tarafından amonyak ve kükürt oksit için örnekleme yöntemi olarak sunulmuştur [70]. Ancak bu yöntem daha sonraları yayımlanan Jeannot ve Cantwell'in çalışmaları [71] ile dikkat çekmeye başlamış olup pek çok araştırmacı bu yöntemi geliştirmeye yönelik çaba harcamıştır. He ve Lee tarafından yapılan çalışmada teflon çubuğun yerine 2.0 µL'nin altında mikrodamlar oluşturulabilmesini mümkün kılan bir mikro-şırınga kullanılarak önderiştirme faktörü ve ekstraksiyon hızı yüksek oranda artırılabilmiştir [72]. TDME'nin en zayıf noktası ekstraksiyon işlemi sırasında mikrodamların mikro-şırınga ucunda tutulmasını sağlamaktır. Bu durum örneğin karıştırılmasının ve ısıtılmasının gerektiği durumlarda daha da güç hale gelmektedir. Bu zorluğa rağmen TDME, düşük hacimde organik çözücü tüketimi nedeniyle oldukça yeşil bir yöntemdir ve ayrıca yüksek önderiştirme ile sonuçlanmaktadır [73]. TDME, gaz ve sıvı numunelere kolayca uygulanabilmektedir ancak katı numunelerde serbest uçucu analitleri tepe boşluğuna ulaştırmak için katı numunenin ısıtılması gerekmektedir.

Gerçekleştirilen iki ana tip TDME analizi vardır ve bunlar doğrudan daldırılmalı tek damla mikroekstraksiyon (DDTDME) ve tepe boşluklu tek damla mikroekstraksiyon (TBTDME) yöntemleridir. DDTDME yönteminde mikrodamla uçucu olmayan analitleri toplamak üzere sürekli olarak karıştırılan bir numune çözeltisinin içerisine daldırılırken, TBTDME yönteminde ise mikrodamla uçucu ve yarı uçucu analitleri toplamak üzere tepe boşluğunda tutulmaktadır [74]. DDTDME ve TBTDME yöntemlerinden elde edilen ekstraksiyon verimliliği, damla

boyutu, numune miktarı, karışım oranı, sıcaklık ve ekstraksiyon süresi gibi deneysel parametreler üzerinde optimizasyon çalışmaları yapılarak artırılabilir [75]. Daha önce bahsedildiği gibi, katı numunelerde serbest uçucu analitin alınması için hafifçe ısıtılabilir (60-150 °C), ancak bunun etkili olması için katı numunenin yüzey alanını ve homojenliğini arttırmak için çok ince parçacıklar halinde öğütülmesi gerekmektedir [76].

TDME'de mikrodamların korunmasındaki zorlukların üstesinden gelmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Mikrodamlar, viskozitesi düşük olan organik çözücüler kullanılarak oluşturulduğunda kolayca kaybolabilmektedir. Bu nedenle mikrodamla bütünlüğünün korunmasını sağlamak için viskozitesi yüksek çözücüler ile çalışılmalıdır. Yeni nesil yeşil çözücülerden olan iyonik sıvılar (İS'ler), yüksek viskoziteleri ve etkin ekstraksiyon için büyük damla oluşturma kapasiteleri nedeniyle TDME'ye uygundur [77]. Ancak bununla birlikte İS'lerin düşük uçuculukları, enjektör ve kolonun hızlı kirlenmesine/ tıkanmasına yol açarak GC sistemine zarar vermektedir. [78]. Bu durumun üstesinden gelmek için iyonik mikrodamla giriş ünitesinde askıya alınarak sadece uçucu analitlerin GC sistemine girmesi sağlanabilmektedir [79]. Manyetik iyonik sıvılar (MİS'ler) kullanılması ile de mikrodamla dış manyetik etki altında kolayca kontrol edilebilmektedir [80].

Mikrodamla stabilitesi, şırınga ucunun teflon kılıflar veya teflon tüpler ile modifiye edilmesi ile kolayca artırılabilir [81, 82]. 1999 yılında Pedersen-Bjergaard ve Rasmussen, oyuk fiber sıvı faz mikro ekstraksiyon olarak adlandırılan sabitlenmiş çözücü damlalı bir gözenekli fiber kullanılarak TDME'yi modifiye etmiştir [83]. Bu yöntemin ana bileşenleri; donör faz olarak analitleri içeren sulu numuneden, gözenekleri içerisinde organik çözücüyü tutan bir fiberden ve fiber içerisine hapsolmuş bir organik çözücüden oluşmaktadır [84, 85]. Literatürde, farklı matrikslerdeki pestisitlerin, alkilfenollerin ve diğer kirleticilerin belirlenmesi için TDME'yi kullanan birçok çalışma bulunmaktadır [86-88].

2.1.2.3 Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyonu

2007 yılında Khalili Zanjani ve arkadaşları yüzen katı organik damla mikroekstraksiyonu (YKODME) yöntemini PAH tayini yapmak üzere örnek matriksinin ekstraksiyon çözücüsüne geçişini önlemek amacıyla kullanılmışlardır [89]. YKODME yöntemi, numune çözeltisinden ayrılan ekstraksiyon çözücüsünün hızlı bir şekilde dondurulmasını ve ardından farklı bir tüpe alınarak eridikten sonra analiz edilmesini içermektedir. Soğuk bir donma banyosu katılaşmayı

sağlamakta ve oda sıcaklığına yakın, yani 10-30 °C sıcaklık aralığında erime meydana gelebilmektedir. Katılaştırılmış ekstraktın kolay toplanması için kullanılan çözücü, numune çözeltilisinden daha düşük bir yoğunluğa sahip olmalıdır. Böylece ekstraktant üst faz olarak yerleşmektedir. YKODME için uygun çözücü örnekleri arasında 1-undekanol, 1-dodekanol, n-heksadekan, 1-klorooktadekan, 1-bromoheksadekan ve 2-dodekanol bulunmaktadır [90]. YKODME'nin optimizasyonu, yöntemin spesifik yapısı nedeniyle çok önemlidir ve bunun ilgili analit(ler) için yüksek ekstraksiyon verimliliği elde etmek için gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Yukarıda belirtildiği gibi, bu yöntem, spesifik çözücüler gerektirmekte ve her analit veya analit seti için uygun bir çözücünün seçilmesi ön deriştirme faktörünü önemli ölçüde etkilemektedir. Analitin ekstraksiyon çözücüsüne geçişini hızlandırmak için numuneye ısıtma uygulanabilmektedir, ancak termal olarak kararsız bileşikler olumsuz etkilememek ve ekstraktantı kaybetmemek için numune çözeltilisinin aşırı ısıtılmamasına dikkat edilmelidir [91]. YKODME yönteminde, fazların daha verimli bir şekilde ayrılması için numune çözeltilisine tuz ilavesi yapılabilmektedir [92]. Ayrıca kullanılan çözücülerin viskozitesi, düşük karbon sayılı alkollerle seyreltilerek ilgili enstrümental yöntemle uyumlu hale getirilebilmektedir [90, 93]. Sulu matrislerde pestisit ve endokrin bozucu bileşiklerin tayinleri için YKODME yöntemi kullanılmıştır [94-96].

2.1.2.4 Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon

2006 yılında Rezaee ve ark., dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon (DSSME) olarak adlandırdıkları basit, hızlı, yeşil ve etkili bir ekstraksiyon yöntemi raporlamışlardır. Bu yöntem oldukça basittir, çünkü sadece bir şırınga ve ekstraksiyon fazı olarak organik çözücü gerektirmektedir. Düşük hacimde organik çözücü tüketimi gerektirir ve ekstraksiyon adımları oldukça kısa zamanda tamamlanabilmektedir. DSSME, çok yüksek verim sağlayan ve çeşitli örneklerle kolayca uygulanabilen çok etkili bir yöntemdir [97]. Rezaee ve arkadaşları tarafından bildirilen DSSME yöntemi, sulu numune ortamında ekstraksiyon çözücüsünün (tetrakloroetilen) yüzey alanını arttırmak için bir dağıtıcı çözücünün (aseton) kullanılmasından dolayı diğer ekstraksiyon yöntemlerinden farklıdır [98]. Bu artan yüzey alanı, analitlerin kütle transferini arttırmak için uzun karıştırma süreleri gerektiren diğer SSE yöntemlerine kıyasla, DSSME'nin yüksek ekstraksiyon etkinliğini hesaba katmaktadır. Dağıtıcı çözücü, DSSME'de çok önemli bir rol oynamakta ve bu amaçla kullanılacak çözücü, hem ekstraksiyon çözücüsü hem de numune çözeltilisiyle karışabilir olmalıdır [49]. Orta aralıktaki polarite değerlerine (≈ 5.0) sahip olan etanol, metanol, asetonitril ve aseton gibi organik çözücüler, çoğu ekstraksiyon

çözücüsü ve numune çözeltilisi için genellikle bu gereksinimi karşılamaktadır. Etkili bir dispersiyon elde etmek için, dağıtıcı çözücünün mililitre hacimleri, ekstraksiyon çözücüsünün mikrolitre hacimleriyle karıştırılmakta ve hızlı bir şekilde numune çözeltilisine enjekte edilmektedir [99].

Her bir analit için ekstraksiyon verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için kapsamlı bir optimizasyon çalışması yapılmalıdır ve çalışmaya ekstraksiyon solventinin seçimi ile başlanması en uygun yoldur. Bunun için çoğunlukla yüksek yoğunluklu organik çözücüler kullanılmıştır. Bu durumda numune çözeltilisinden daha yüksek yoğunluğa sahip ekstraksiyon çözücüsü, numune çözeltilisinin altında ayrı bir faz olarak toplanmaktadır. Böylelikle buharlaşmadan kaynaklanan çözücü kayıpları da önlenmektedir [100]. Bu optimizasyon adımlarını dağıtıcı çözücünün türü ve miktarı, tuz etkisi ve çözelti pH'ı takip etmektedir [90]. Bunlara ek olarak, eğer ekstraksiyon verimi üzerinde önemli bir etkisi olduğu saptanırsa karıştırma türü ve süresi de optimizasyon adımlarına dahil edilmelidir. Vorteks destekli ve ultrasonikasyon destekli DSSME yöntemi literatürde en sık çalışılan yöntemlerdendir [101, 102].

DSSME yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen çoklu analit tayinlerinde, seçilen ekstraksiyon çözücüsünün tüm analitler için optimum sonuçlar vermemesi muhtemeldir. Bu durumda analitlerin çoğunluğunun davranışına bakılarak optimizasyon yapılmalıdır. Tek ekstraksiyon çözücüsü kullanılmasının getirdiği dezavantajın elimine edilmesine yönelik Maham ve arkadaşları elma suyundan patulin ekstraksiyonu için ikili dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon (İDSSME) yöntemini sunmuşlardır [103]. İDSSME, iki ekstraksiyon çözücüsünü bir dağıtıcı çözücü ile birleştirmekte ve bu üçlü karışımın sulu örnek çözeltilisine enjeksiyonunu içermektedir. İki ekstraksiyon çözücüsünün suyla karışmaz olması zorunlu değildir, fakat birbiriyle karışabilir olması gerekmektedir. Ayrıca dispersiyon çözücüsü, üç çözücü sisteminin tümü ile karışabilir olmalıdır. Kiarostami ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, idrarda tramadol tayini için kullanılan İDSSME yöntemi, tekli ekstraksiyon çözücüsünün kullanıldığı yöntemlerden daha düşük tayin limitlerine ulaşılmasını sağlamıştır [104]. DSSME literatürde yaygın olarak kullanılan bir ekstraksiyon metodudur ve şimdiye dek çeşitli örnek matrislerden pestisitlerin, endokrin bozucu bileşiklerin ve diğer birçok analitin belirlenmesinde kullanımını içeren birçok analitik yöntem geliştirilmiştir [105-109].

2.1.3 Kromatografi

Kromatografi bir sabit faz üzerinden yürütülen hareketli faz yardımıyla analitlerin ayrılmasını ve saflaştırılmasını sağlayan bir yöntemdir. Burada sabit faz sıvı, katı ya da jelden hareketli faz (mobil faz) ise gaz veya sıvıdan oluşmaktadır [23]. Kromatografik ayrılmadan sonra nitel ve nicel analiz için ayırma sistemine uygun bir dedektör bağlıdır [110]. Kromatografi çok geniş bir konudur ve bu nedenle birkaç sınıflandırma yapılabilmektedir. Sınıflandırma grubu, iki faz arasında ayrılma, sabit faz üzerine adsorpsiyon, sabit faz ile analitik iyonlar arasındaki iyon değişimi ve sabit fazın afinitesini veya özgülüğünü içeren ayırma ilkesine dayanmaktadır [111]. Kağıt kromatografisi ve ince tabakadan oluşan düzlemsel kromatografi (TLC) ve kolon kromatografisi, sabit fazın boyutuna göre iki sınıflandırma grubudur. Mobil faz türüne göre sınıflandırma literatürde en sık kullanılan sınıflandırma yöntemi olup sıvı kromatografi (LC), gaz sıvı kromatografisi (GSC), gaz katı kromatografisi (GSC) ve süperkritik sıvı kromatografisinden (SFC) oluşmaktadır [112].

2.1.3.1 Gaz Kromatografisi

Bir gaz kromatografisi (GC) sisteminin bileşenleri, sıvı kromatografi (LC) sistemine benzerdir, ancak gaz akışını sağlamak için pompaların yerine gaz valfleri kullanılmaktadır. Analit(ler)'in buhar fazına geçişi ve kolonları ısıtmak için fırın kullanılmaktadır. Bu nedenle GC buhar basıncı yüksek (düşük kaynama noktası) olan analitler için uygundur [97]. GC'de taşıyıcı gaz olarak azot ve helyum gibi yüksek saflıkta olan inert gazlar için kullanılmaktadır [113]. Bununla birlikte, GC'nin enjektör ünitesi, manuel veya otomatik olarak kontrol edilebilen bir şırınga enjektörü veya vanası olabilmektedir [114]. Enjeksiyonlar bölünmüş veya bölünemez modda yapılabilmektedir. Bölünmüş mod, ayırık valfi kapatarak tüm numuneyi kolona iletirken, bölünmüş modda enjekte edilen numunenin sadece bir kısmı kolona gönderilmektedir [115].

GC'deki iki temel kolon tipi bulunmaktadır. Bunlar; açık boru şekilli sütunlar ve dolgu kolonlardır. Birincisi, sabit faz ile kaplanmış iç kolon yüzey duvarına sahipken, ikincisi sabit faz ince filmlerle doldurulmuş bir inert granüler desteğe sahiptir [116]. GC fırını, genellikle kolon üzerinde hasar görebilecek fırın duvarlarıyla doğrudan teması önlemek için askıda tutulan sütunu barındırmaktadır. Bileşiklerin kaynama noktalarına göre birbirinden ayrılmalarına uygun bir fırın sıcaklık programı geliştirilmesi gerekmektedir. Sıcaklık programı ayarlanırken hızlı bir sıcaklık rampası (>30 ° C/min) daha keskin pikler elde etmek ve ikinci analitin hızlı

elüsyonu ile analit pikleri arasındaki mesafeyi kısaltmak için tercih edilirken, yavaş sıcaklık rampası ($<10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$) ise çakışan pikleri ayırmak için kullanılmaktadır [117].

GC'de, ayrılan analitlerin kalitatif ve kantitatif tayinleri için farklı prensiplerde çalışan dedektörler kullanılabilir. Alev iyonizasyon dedektörü (FID) GC'de çok yaygın kullanılan bir dedektördür. Bu sistemde, elüsyon yapan bileşiklerin temizlendiği alevi oluşturmak için genellikle hidrojen gazı ve hava yaygın olarak kullanılmaktadır. İki elektrot arasında potansiyel uygulanması, iyonların göç etmesine ve analit konsantrasyonu ile doğru orantılı kaydedilebilir akım üretmesine neden olmaktadır [118].

Elektron yakalama dedektörü (ECD), elektronegatif bileşikler (çoğunlukla halojen içeren bileşikler) için seçici bir dedektördür ve serbest elektronların yakalanması prensibine göre çalışmaktadır. Yüksek enerjili radyoaktif beta parçacık kaynakları analitlerin yokluğunda serbest akan elektronların sabit bir akımını üretmek için taşıyıcı gazı bombardıman etmekte ve bu elektron akımına göre ayrılan nitro, halojen ve fosfor grubu bileşikler, indirgenmiş bir akımı kaydetmek için elektronları yakalamaktadır [119].

Termal iletkenlik dedektörü (TCD), evrensel bir dedektördür ve termal iletkenlikteki azalma prensibine dayanmaktadır. TCD'nin kurulumu, paralel tüplerde bulunan iki ısıtma bobini ve ilave gazı içermektedir. Tüplerden biri bir referans tüpü olarak işlev görmekte ve analitlerin yokluğunda paralel borular aynı iletkenliği sergilemektedirler, ancak elüsyonu yapılan bileşikler iletkenliği referans tüpüne göre azaltmaktadır ve bu düşüş konsantrasyon ile orantılıdır. Hidrojen veya helyum çok yüksek ısı iletkenliğine sahiptir ve bu nedenle taşıyıcı gaz olarak kullanılmaktadırlar, çünkü diğer bileşiklerin varlığı iletkenlikte ani bir azalmaya neden olmaktadır [120]. Diğer yaygın GC dedektörleri arasında alev fotometrik dedektör (FPD), azot fosfor dedektörü (NPD), fotoiyonizasyon dedektörü (PID) ve atomik emisyon dedektörü (AED) yer almaktadır. Tüm dedektör yanıtları, dedektör transdüktörleri tarafından ölçülebilir sinyallere dönüştürülmektedir [121].

2.1.3.2 Gaz Kromatografi Kütle Spektrometresi

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) uçucu organik bileşiklerin belirlenmesi için çok hassas, doğru ve duyarlı bir analitik yöntemdir. Uygun bir kolonun seçimi ve uygun bir sıcaklık programının geliştirilmesi, iyi ayrılmış piklere neden olmaktadır. Önceki bölümde sözü

edilen dedektörler, duyarlılık, seçicilik ve dinamik aralığa göre farklı avantaj ve dezavantajlara sahiptir, ancak GC-MS sisteminin kütle spektrumundan gelen genel bir üstünlüğü vardır. Kütle spektrometresi, iyon kaynağı, kütle analizörü ve bir dedektör içeren üç temel parçadan oluşmaktadır [122].

GC-MS'deki en yaygın iyon kaynağı, 70 eV'lik bir enerjide çalışan elektron iyonizasyonudur (EI). EI, bileşiklerin tekrarlanabilir parçalanmalarına sebebiyet vermektedir. Bu tekrarlanabilir parçalanmalar sayesinde Ulusal Bilim ve Teknoloji Enstitüsü (NIST) tarafından bilim adamları için çok yararlı olan ve çok sayıda kimyasalı içeren kütle spektrumu kütüphanesi oluşturulmuştur. Bununla birlikte EI, moleküler iyondan tamamen farklı olan majör fragmanları üreten ve NIST kütüphanesinde bulunmayan bileşiklerin tanımlanmasını da sağlayan sert bir iyonizasyon tekniğidir [123]. Kimyasal iyonlaşma ve atmosferik basınçlı kimyasal iyonlaşma, çok az parçalanmaya neden olan ve bileşiklerin yapısal bilgilerinin elde edilmesinde çok yararlı olan yumuşak iyonizasyon modlarıdır [124]. Bir dizi elektrot, parçalanmış iyonları kütle analiz cihazına odaklamakta ve hareket ettirmektedir. İyonlar kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılmaktadırlar. En genel kütle analizörleri, kuadrupol ve iyon tuzağıdır, ancak aynı zamanda bazı cihazlar uçuş zamanlı ve orbitrap kütle analizörleri ile donatılmıştır [125]. Elektron çoğaltıcı, kütle spektrometresinde en yaygın dedektördür.

Kütle analizöründen gelen iyonlar elektron çarpanına bitişik bir katoda çarparak elektron(lar)ın serbest kalmasını sağlayarak elektron çarpanında bir dizi sinyale çarpmakta ve böylelikle arttırılmış bir sinyal elde edilmektedir [126]. GC-MS'de veri edinimi iki temel modda gerçekleştirilebilmektedir; aralığını belirten bir tarama modu veya m/z iyonlarını izleyen seçilmiş m/z oranları ile iyon izleme modu (SIM). Tarama modu, yüksek tarama hızında çok fazla veri toplamakta ve bu nedenle bazı analitik sinyalleri kaçırabilmektedir ancak SIM modu, algılama gücünde yaklaşık 10-100 kat artışa neden olan birim zaman başına daha fazla sinyal biriktirmektedir [127]. GC-MS'de SIM mod analizi, karmaşık bir örnek matriksinde bir analitin seçici ve spesifik olarak belirlenmesini sağlamaktadır.

GC-MS, sıvı kromatografiye ve farklı dedektörlere sahip diğer GC sistemlerine kıyasla, uçucu ve bazı yarı uçucu bileşiklerin belirlenmesinde çeşitli avantajlara sahiptir. GC-MS'nin bazı avantajları arasında hızlı analiz, mobil fazın basitliği, karmaşık bir matriksin bileşenlerini ayırma becerisi, çoğu bileşik için yüksek duyarlılık ve molekül yapısını belirleme becerisi yer almaktadır [128]. GC-MS sisteminde iki ya da daha fazla kütle analizörünün kullanıldığı

sistemlere tandem kütle spektrometresi ya da kütle/kütle spektrometresi (MS/MS) adı verilmektedir. Birinci MS, iyon fragmanlarının m/z oranlarına göre düzenli bir şekilde ayrılmasının rolünü yerine getirirken, MS/MS kısmında bileşik(ler)in ana iyonu, iki MS arasında bulunan bir çarpışma odasına odaklanmaktadır. Burada ana iyon, zayıf bağların parçalanması ile fragmanlarına ayrılmaktadır. Böylece, elde edilen kütle spektrumu verileri sadece ana iyonu temsil etmektedir [129]. MS/MS, istenmeyen iyonları ortadan kaldırarak daha temiz spektrum alınmasını sağlamak ve bileşiklerin spesifik yapısal bilgilerini vermektedir. MS/MS, analitin tespiti ve ölçümü için kromatografik ayırma gerektirmeyen çok hassas bir tekniktir ve doğal ürünler, gıdalar, çevre, adli tıp ve daha birçok alanda karmaşık örnekler ile çalışıldığında oldukça yararlıdır [126].

2.1.4 Validasyon

Bir yöntemin validasyonunun yapılması için kullanılan parametreler; gözlenebilme limiti (GL), tayin limiti (TL), çalışma aralığı, kesinlik (%RSD), doğruluk, geri kazanım, sağlamlık, tutarlılık, doğrusalık ve stabiledir [130]. En sık kullanılan yöntem doğrulama parametreleri aşağıda ayrıntıları ile sunulmuştur.

2.1.4.1 Gözlenebilme Limiti (GL) ve Tayin Limiti (TL)

Bir cihaz tarafından en düşük miktarda tespit edilebilen analit, gözlenebilme limiti olarak adlandırılmaktadır. Bir yanıt almasına rağmen, hata oranının yüksek olması nedeniyle tam bir değer olarak nitelendirilecek kadar yüksek değildir. Bir analizin kör denemeleri önemli sonuçlar verdiği zaman gözlenebilme limitini hesaplamak için de kullanılabilir. Tayin limiti, gözlenebilme limitinin yaklaşık 3 katıdır ve cihaz tarafından tam ve doğru bir şekilde ölçülebildiğinden tespit edilebilen en düşük konsantrasyonu temsil etmektedir. Gözlenebilme ve tayin limitleri matematiksel olarak aşağıdaki ifadelerden hesaplanabilmektedir;

$$GL = 3 \times SD/m$$

$$TL = 10 \times SD/m$$

SD: En düşük konsantrasyonun ya da kör denemenin altı ila on tekrarlı ölçümünün yapılmasıyla hesaplanan standart sapma

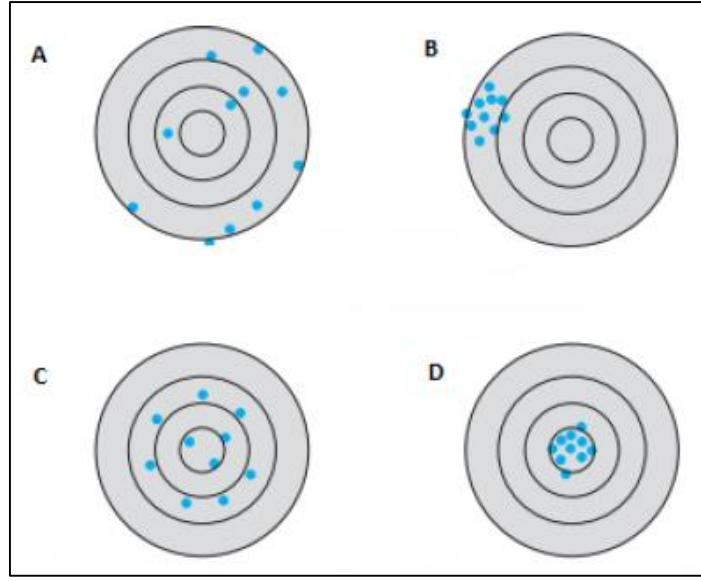
m: doğrusal kalibrasyon grafiğinin eğimi [49].

2.1.4.2 Çalışma Aralığı

Çalışma aralığı, doğrusallığı gösteren en düşük ve en yüksek konsantrasyonlar arasındaki bölgeyi temsil etmektedir. Çalışma aralığındaki konsantrasyonlar, en düşük konsantrasyondan başlayarak en yüksek konsantrasyona kadar doğrusal olarak orantılı bir şekilde artış göstermekte ve bu bölgeden sonra doğrusallıktan sapma gözlemlenmektedir. Bu sapma, dedektörün yüksek konsantrasyonları orantılı bir şekilde ayırt edememesi sonucunda ortaya çıkmaktadır [130].

2.1.4.3 Doğruluk, Kesinlik ve Geri Kazanım

Kesinlik deneysel sonuçların birbirlerine yakınlığını ifade eder ve standart sapmanın ortalama değerine oranı olan tekrarlı ölçümlerin yüzde bağıl standart sapması (RSD) ile temsil edilmektedir. %10'dan az olan %RSD değerlerinin iyi bir hassasiyet gösterdiği düşünülebilmektedir. Doğruluk, sertifikalı bir referans materyali analiz ederek belirlenmekte, deney sonuçlarının sertifikalı değere yakınlığına dayanarak değerlendirilmektedir. Şekil 2.1'de verilen doğruluk ve kesinliğin şematik gösteriminde doğru değer doğruluğa olan yakınlık yani dartın orta noktası; kesinlik ise noktaların yani sonuçların birbirine yakınlığıdır. A durumunda düşük doğruluk, düşük kesinlik gösterilmiştir. Burada elde edilen sonuçların ne doğruluğa, ne de kesinliği iyidir. B durumu en tehlikeli durum olmakla birlikte yüksek kesinlik ve düşük doğruluğa sahiptir ve yanlılılığı çok yüksektir. C dartında kesinlik kötü doğruluk iyidir ve D dartında hem doğruluk hem de kesinlik yüksektir. D dartı elde edilemek istenen en ideal sonuçtur [131].



Şekil 2.1 Doğruluk ve kesinliğin şematik anlatımı [131].

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu tez çalışması kapsamında ikili dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon (İDSME) ve akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon (ASSME) stratejileri kullanılarak tez kapsamında belirtilen klorflurenol ve prokimidon analitlerinin eş zamanlı olarak atıksu matrikslerinde yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayinleri yapılmıştır. Bu kapsamda sistemin tüm değişken parametreleri optimize edilerek optimum şartlar altında sistemin analitik performansının tespit edilmeye çalışılmıştır. Sistemin analitik performansı tespiti sonrası geri kazanım çalışmaları ile geliştirilen analitik yöntemlerin atıksu sistemlerine uygulanabilirliği test edilmiştir.

3.1.1 Kullanılan Ekipmanlar

3.1.1.1 GC-MS Donanımı

- Gaz Kromatografisi (GC): Hewlett Packard HP 6890 (Şekil 3.1’de gösterilmiştir.)
- Kütle Seçici Dedektör (MS): Hewlett Packard 5973
- Enjeksiyon Sistemi: Hewlett Packard HP 6890
- GC Otomatik Örnekleyici Kontrolü: Hewlett Packard G1512A
- Pompa: Hewlett Packard HP G1099-80024
- MSD ChemStation Programı



Şekil 3.1 GC-MS cihazı.

3.1.1.2 Kullanılan Diğer Ekipmanlar

- Mikro pipet: PhysioCare Concept - Eppendorf Research Plus (100-1000 µL; 0.50-5 mL)
- Hassas terazi: Sartorius Analytic A 120 S
- pH metre: Hanna HI 2211
- Vorteks: Isolab MI0101002
- Santrifüj: Hettich EBA20
- Derin dondurucu: Uğur Derin Dondurucu UCF 1600 L
- Mikroialler: Agilent
- Cam malzemeler: Balon joje, beher, erlen, mezür

3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Klorflurenol ve prokimidon analitleri Dr. Ehrenstorfer (Augsberg, Germany) firmasından temin edilmiştir. Saf su Yıldız Teknik Üniversitesi Analitik Kimya Laboratuvarından ELGA LC 134 Reference System cihazı ile elde edilmiştir. Bunlara ek olarak deneylerde kullanılan kimyasallar Çizelge 3.1`de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan solvent ve kimyasallar.

Metanol (>%99): Merck	Etil Asetat: Merck
Asetonitril (>%99): Merck	Kloroform: Merck
İzopropil Alkol: Merck	Sodyum Klorür: Merck
1,2-Diklorometan: Merck	Potasyum Nitrat: Merck
Dikloroetan: Merck	Potasyum Klorür: Merck
Etanol: Merck	Baryum Klorür: Merck
Aseton: Merck	N, N-Dimetilbenzilamin

3.1.3 Numuneler

3.1.3.1 İDSSME Yönteminde Kullanılan Numuneler

Atıksu numuneleri bir üniversitemizin kampüsündeki atıksu giderinden alınırken, göl suyu numuneleri ülkemizde yer alan bir barajdan temin edilmiştir. Diğer atıksu numunesi ise İstanbul ilinde bulunan hastane atıksuyundan alınmıştır ve tüm numuneler -4 °C’de saklanmıştır. Atıksu numuneleri analizden önce 125 mm filtre kağıdı ve sonrasında ise RC 0.45 µm şırınga filtresi kullanılarak süzülmüştür.

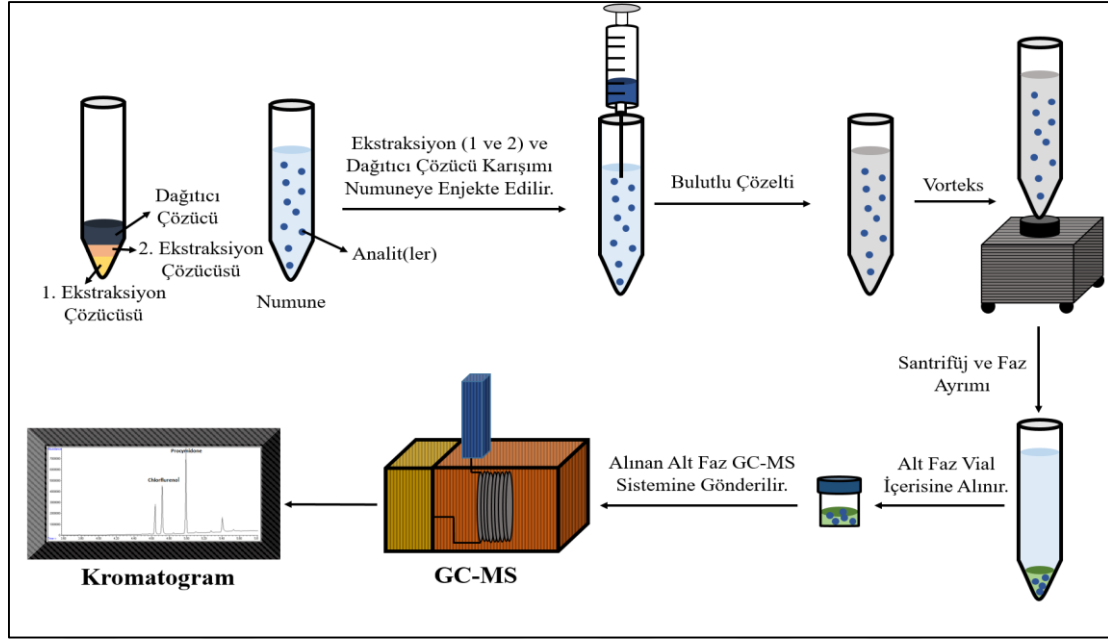
3.1.3.2 ASSME Yönteminde Kullanılan Numuneler

Atık su numuneleri İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi’den temin edilmiştir. Diğer atıksu numuneleri İstanbul ilinde bulunan hastane atıksuyundan alınmıştır ve tüm numuneler -4 °C’de saklanmıştır. Bir diğer numune ise Antalya’da bulunan sulama kanalından temin edilmiştir. Atıksu numuneleri analizden önce 125 mm filtre kağıdı ve sonrasında ise RC 0.45 µm şırınga filtresi kullanılarak süzülmüştür.

3.1.4 Deneysel Prosedürler

3.1.4.1 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon

2.5 mL dağıtıcı çözücü (etanol) üzerine ikili ekstraksiyon çözücü olarak belirlenen 100 µL hacminde 1,2-dikloroetan ve 100 µL hacminde diklorometan ilave edilmiştir. Bu üçlü çözücü karışımının 8.0 mL numune/standart çözeltisine enjekte edilmesinden sonra ekstraksiyon verimini arttırmak için 15 s vorteksleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çözücülerin santrifüj tüpünün altında kolay toplanmasını arttırmak için 120 s süresince ve 6000 rpm’de santrifüjleme yapılmıştır. Santrifüj işleminin ardından tabanda oluşan alt fazlar otomatik pipet yardımıyla vial içerisine (≈ 50 µL) alınarak GC-MS cihazına verilmiştir. İDSSME yöntemi şematik olarak Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

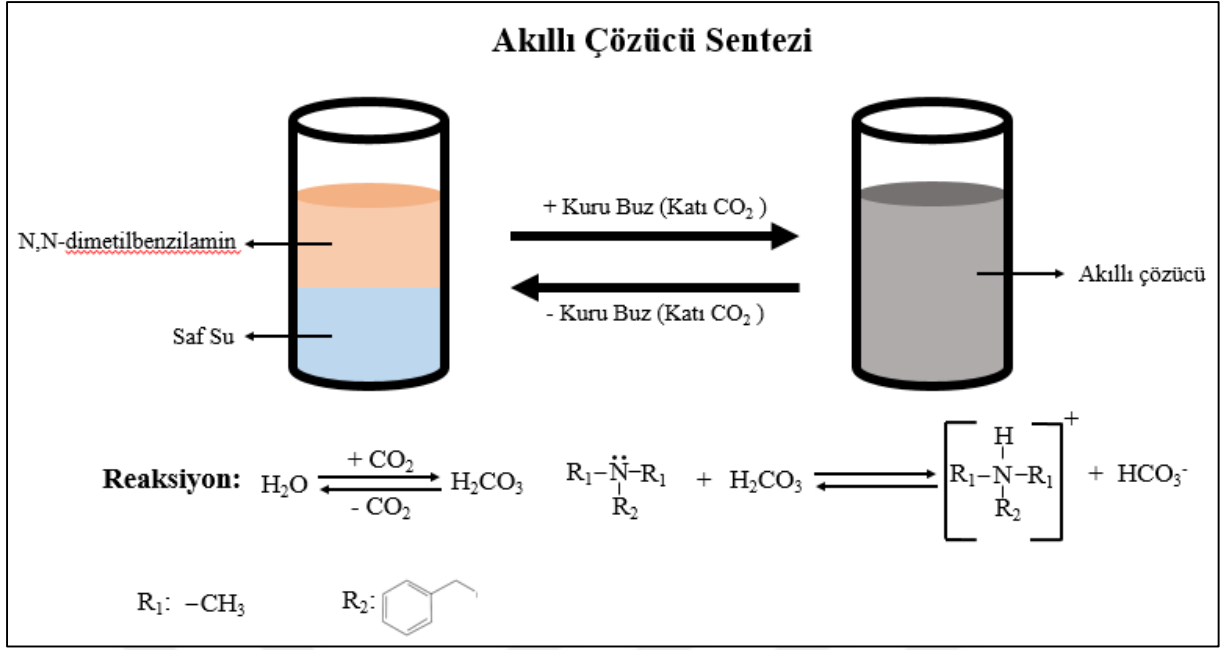


Şekil 3.2 IDSSME yönteminin şematik gösterimi.

3.1.4.2 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon

Akıllı Çözücü Sentezi

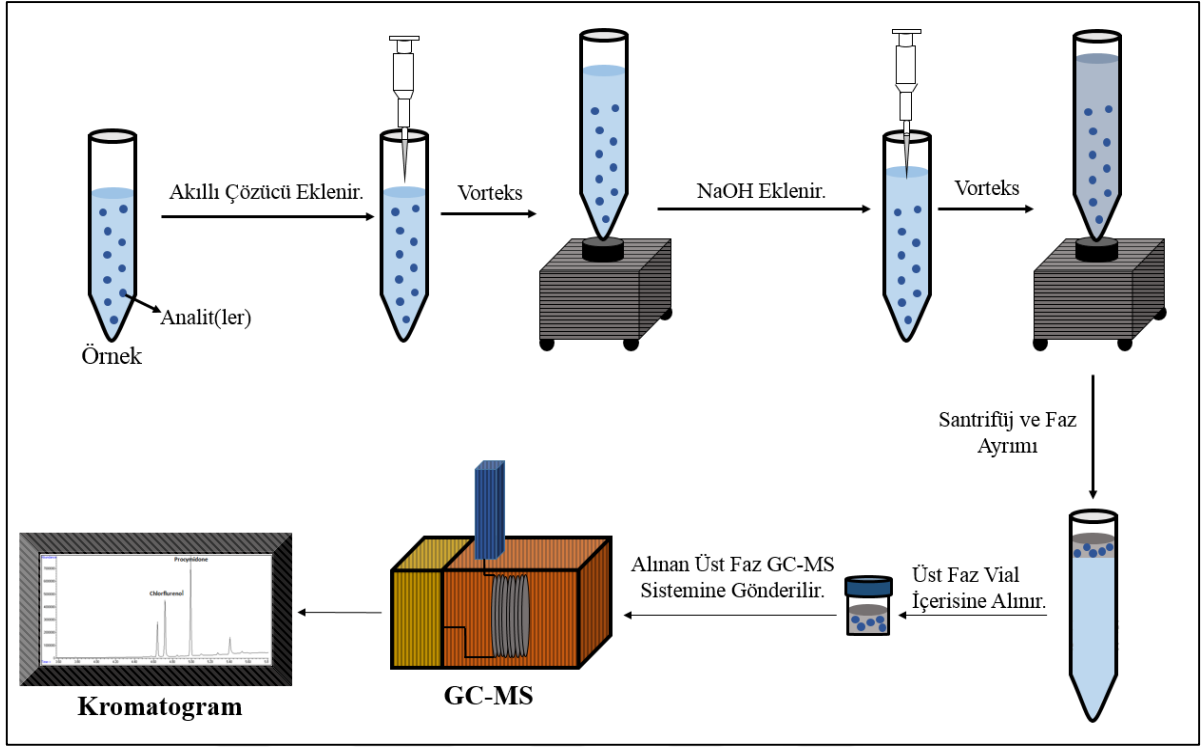
Akıllı çözücü sentezi için erlenmeyer içerisinde 1:1 (v/v) oranında su ve N, N-Dimetilbenzilamin ilave edilmiştir. İki ayrı faz gözlemlenmiş ve protonlanmanın sağlanması için periyodik olarak kuru buz (katı CO₂) (yaklaşık 15 g) eklenerek sürekli olarak manyetik karıştırma uygulanmıştır. Aminin protonasyonu ile sislili CO₂ gazları salınmaya başlamış olup bu salınımı önlemek amacıyla şişe delikli parafilm ile kaplanmıştır. Kuru buz ilavesi tek bir çözücü fazı gözlemlenene kadar sürdürülmüştür. Sentezin tamamlandığından emin olmak amacıyla çözelti manyetik karıştırıcı üzerinden alınarak hareketsiz bir zeminde 30 dakika bekletilmiştir. Faz ayrımı gözlemlenmediği durumda reaksiyon tamamlanmıştır. Sentezlenen akıllı (switchable) çözücü polipropilen plastik bir tüp içerisinde 4.0 °C'de saklanmıştır. Akıllı çözücü sentezi Şekil 3.3`de özetlenmiştir.



Şekil 3.3 Akıllı çözücü sentezi.

Prosedür

Akıllı çözücü buzdolabından çıkarılarak ekstraksiyon için kullanılmadan önce oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Daha sonra 2.0 mL akıllı çözücü bir otomatik pipet yardımıyla alınarak numune/standart çözeltisini (8.0 mL) içeren 15 mL'lik bir santrifüj tüpüne ilave edilmiştir. Elde edilen karışımın homojen olması için karışım maksimum hızda vorteksleme işlemi yapılmıştır. Ardından protonlanmanın geri çevrilmesi amacıyla, karışıma 0.5 M sodyum hidroksit (1.5 mL) ilave edilmiş ve yeniden 30 saniye boyunca vorteksleme işlemi yapılmıştır. Sulu fazdan aminin ayrılması, 6000 rpm'de 120 s santrifüjleme ile hızlandırılmıştır. GC-MS sistemine gönderilmek üzere üst amin fazından uygun miktar temiz bir vial içerisine alınmıştır. ASSME yöntemi şematik olarak Şekil 3.4`te gösterilmiştir.



Şekil 3.4 ASSME yönteminin şematik gösterimi.

BÖLÜM 4

SONUÇ VE TARTIŞMA

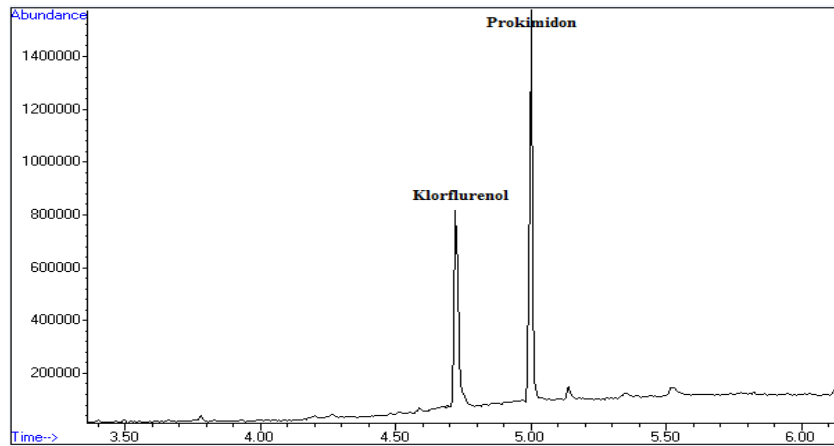
4.1 GC-MS TAYİNİ

4.1.1 Klorflurenol ve Prokimidon Analitlerinin GC-MS ile Eşzamanlı Tayinleri

Klorflurenol ve prokimidon analitlerinin GC-MS sisteminde eser seviyelerde tayin edilmelerine yönelik farklı sıcaklık programları denenmiş, simetrik ve keskin sinyallerin elde edildiği sıcaklık gradyanlı programı optimum olarak kabul edilmiştir. Sistem parametrelerinin optimizasyonu sonrası yöntemlerin analitik performansları belirlenmeye çalışılmıştır. Gözlenebilme limiti (GL) ve tayin limiti (TL) hesaplamaları için belirli konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmış ve bu standart çözeltiler hazırlanırken etken madde klorflurenol ve prokimidon karışımı asetonitril içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan standart çözeltiler, GC-MS sisteminde optimum şartlarda analiz edilmiştir. GC-MS sisteminde klorflurenol ve prokimidon analitlerinin tayinine yönelik tespit edilen optimum parametreler Çizelge 4.1’de görülmektedir. Optimizasyon çalışmaları 10 mg L⁻¹ derişimindeki standart karışım çözeltilisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu standart karışım çözeltilisine ait toplam iyon kromatogramı Şekil 4.1’de verilmiştir. Kullanılan sıcaklık programı, analitlerin keskin pikler ile kromatografik olarak iyi ayrılmasını ve kolay tanınmasını sağlamaktadır.

Çizelge 4.1 Klorflurenol ve prokimidon analitlerinin GC-MS sisteminde tayinlerine yönelik optimum sistem parametreleri.

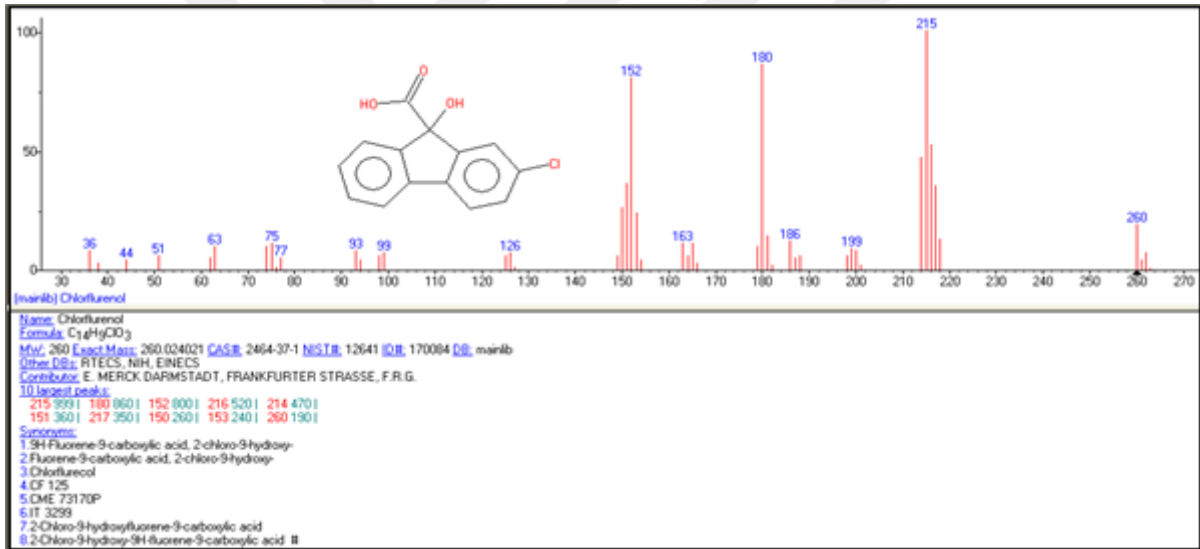
Parametre	Değer
İğne boyutu	10 µL
Enjeksiyon hacmi	1.0 µL
Ön ısıtıcı	250 °C
Basınç	13.11 psi
Toplam akış hızı	64.1 mL dakika ⁻¹
Enjeksiyon modu	Splitless
Temizleme (purge) akış hızı	60 mL dakika ⁻¹
<i>Kolon Parametreleri</i>	
Mod	Sabit akış
Akış hızı	1.4 ml dakika ⁻¹
Basınç	13.11 psi
Ortalama hız	44 cm s ⁻¹
<i>Fırın Parametreleri</i>	
Zaman	Sıcaklık
0	70 °C
0-3 dakika	180 °C (50 °C dakika ⁻¹)
3- 7 dakika	280 °C (40 °C dakika ⁻¹)



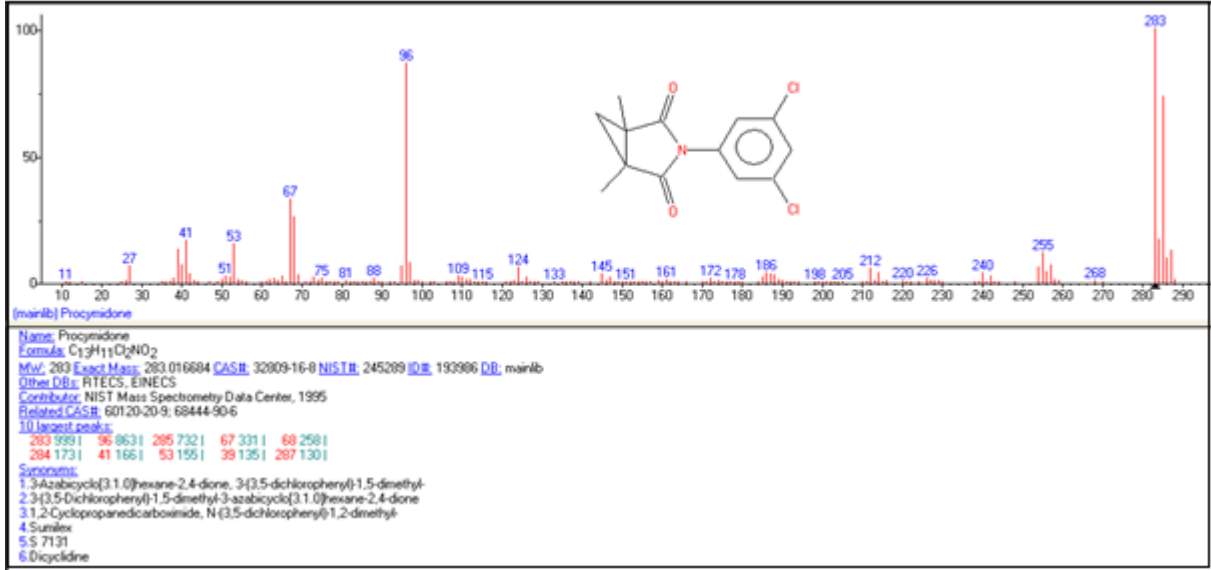
Şekil 4.1 10 mg L⁻¹'lik karışık standart çözeltilerde klorflurenol ve prokimidon için toplam iyon kromatogramı.

Her bir analitin piklerinin tespiti için, Kütle Spektrometrisi Kaynak Kütüphanesi (KSKK) kullanılarak en yüksek piki veren, beş iyon (m/z) tespit edilmiş olup Şekil 4.2 ve 4.3'te klorflurenol ve prokimidon için elde edilen kütle spektrumları sırasıyla gösterilmiştir.

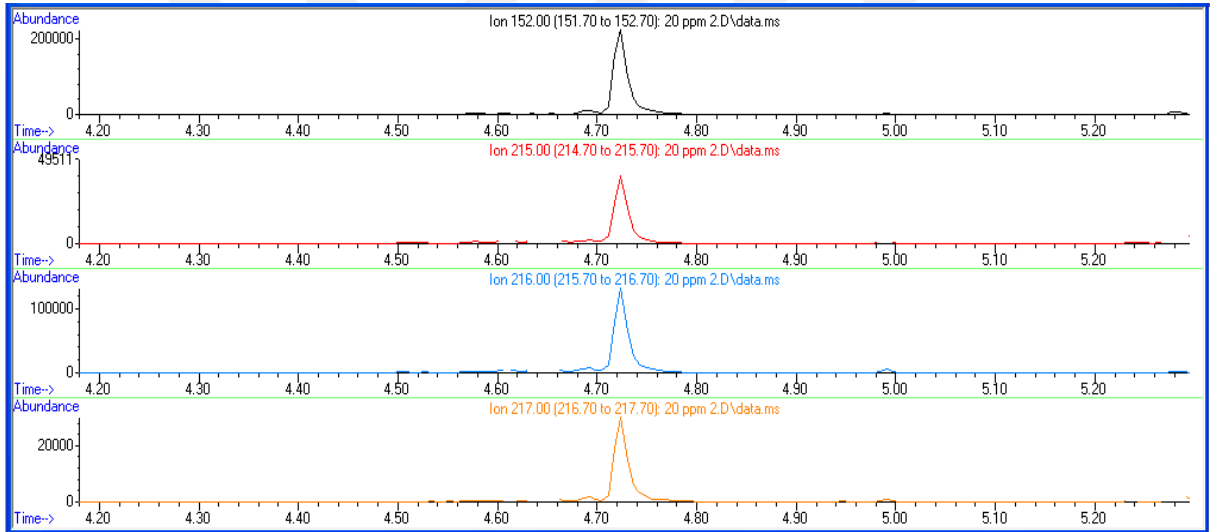
Analiz sonucu elde edilen kromatogramda görülen sonuçlar iki ayrı pestisite aittir. Her bir pestisitın alıkonma zamanını (retention time, RT) belirleyebilmek için KSKK'den ve ekstrakte edilmiş iyon kromatogramlarından yararlanılmıştır. Burada pestisitlere ait bilgilere göre; klorflurenol (m/z: 215, 180, 152, 216, 214), prokimidon (m/z: 283, 96, 285, 67,68) analitlerinin en yüksek şiddetteki iyonları sisteme sırasıyla girilmiştir. Ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı sayesinde Şekil 4.4 ve 4.5'de gösterildiği üzere her bir pestisitın alıkonma zamanları bulunmuştur. Kullanılan GC-MS cihazında RT; klorflurenol için 4.72 dakika, prokimidon için 5.0 dakika olarak belirlenmiştir.



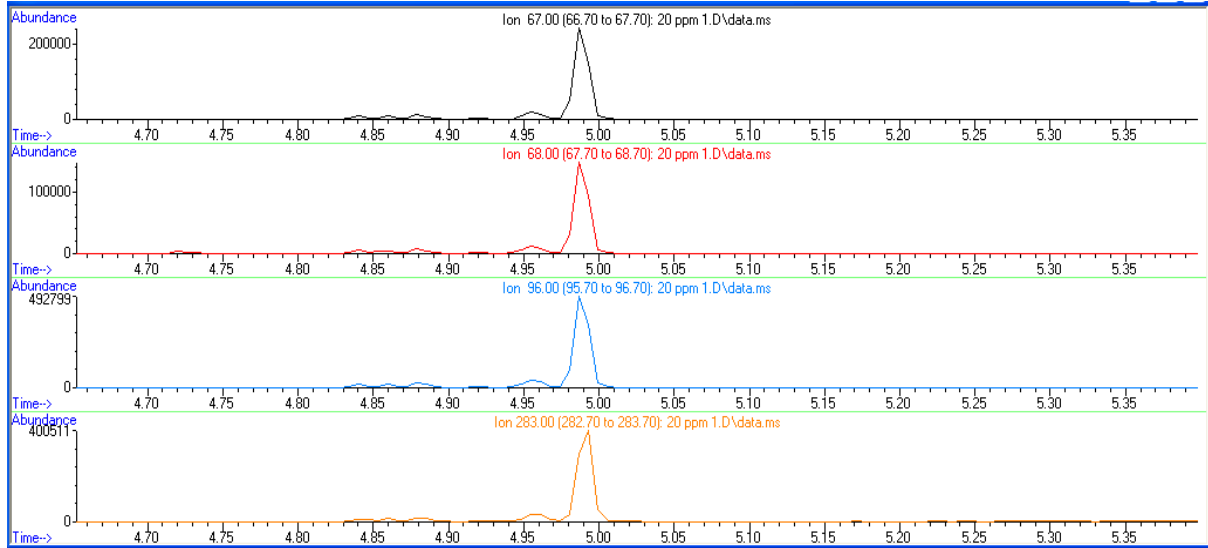
Şekil 4.2 Klorflurenol için KSKK'de verilen spektrumda belirlenen iyonları.



Şekil 4.3 Proximidon için KSKK’de verilen spektrumda belirlenen iyonları.



Şekil 4.4 Klorflurenolun 152, 215, 216 ve 217 m/z oranına sahip iyonlarına ait ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı.



Şekil 4.5 Prokimidonun 67, 68, 96 ve 283 m/z oranına sahip iyonlarına ait ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı.

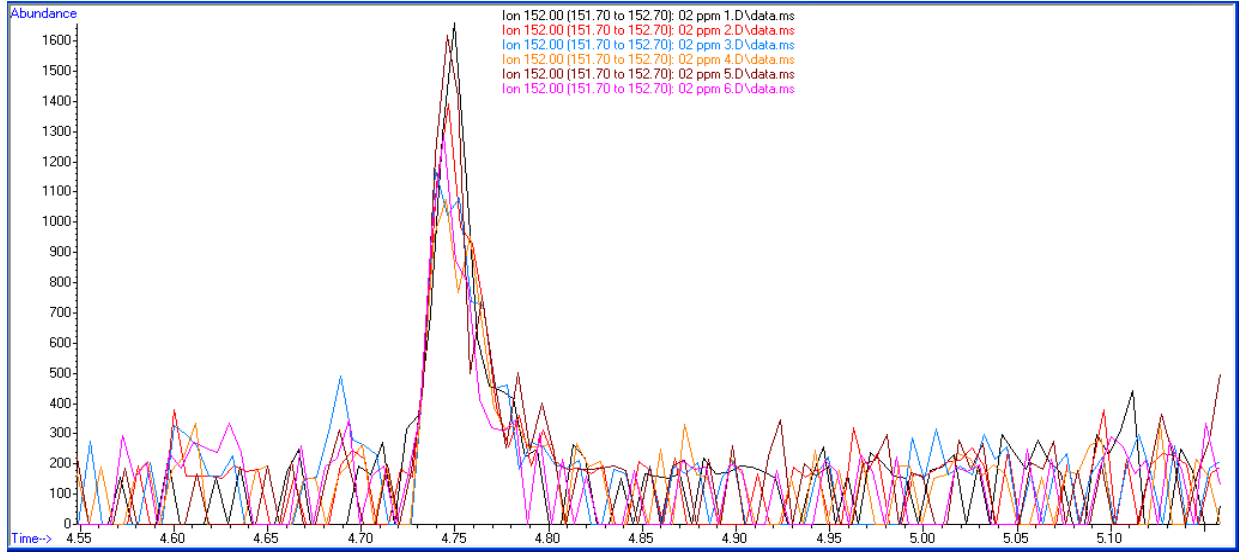
Ana iyonların tespit edilmesinin ardından, kalibrasyon standartları 0.10 mg L^{-1} ile 100 mg L^{-1} aralığında hazırlanmış olup standart örnekler GC-MS cihazında analiz edilmiştir. Her bir analit için en yüksek sinyal elde edilen iyonların (klorflurenol için m/z: 152, prokimidon için m/z: 283) pik alanları esas alınmıştır. Yöntemin analitik performansı, gözlenebilme limiti ve tayin limiti, lineer aralık, yüzde bağıl standart sapma (%RSD) ve korelasyon katsayısı (R^2) terimleri bakımından değerlendirilmiştir. GL ve TL değerleri aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır.

$$GL=3 \times SD/m \quad (4.1)$$

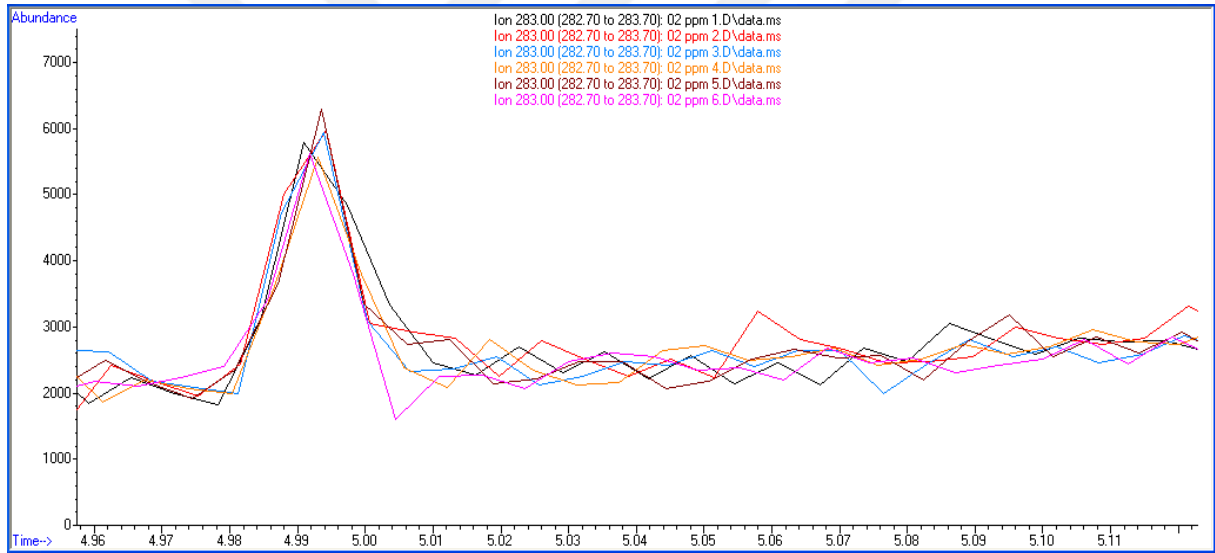
$$TL=10 \times SD/m \quad (4.2)$$

Buradaki SD en düşük konsantrasyona sahip karışım standardına ait standart sapmayı, m ise kalibrasyon doğrusundan elde edilen doğru denkleminin eğimi temsil etmektedir.

Kalibrasyon doğrusundaki en düşük konsantrasyon, sırasıyla klorflurenol ve prokimidon için Şekil 4.6 ve 4.7’de gösterildiği gibi gürültü seviyesinin en az üç katı olan sinyal yüksekliğine bağlı olarak seçilmiştir.



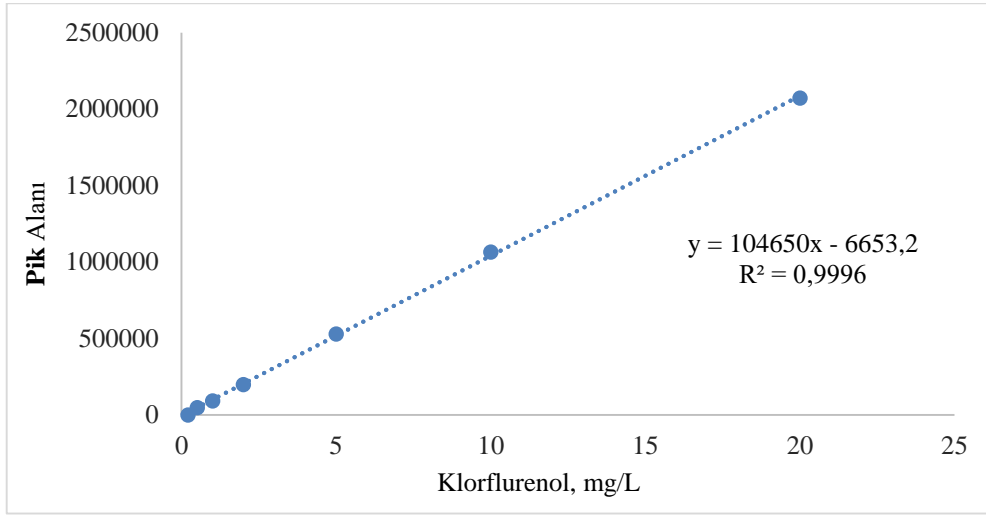
Şekil 4.6 Klorflurenol kalibrasyonu için en düşük seviyedeki konsantrasyonun tekrarlarının üst üste koyulmuş kromatogramı.



Şekil 4.7 Prokimidon kalibrasyonu için en düşük seviyedeki konsantrasyonun tekrarlarının üst üste koyulmuş kromatogramı.

4.1.1.1 Klorflurenol analitinin GC-MS ile tayini

0.10 – 100 mg L⁻¹ arasında karışık standart çözeltileri hazırlanarak sistemin analitik performansı belirlenmiştir. Konsantrasyona karşı analit pik alanına ait kalibrasyon grafiği Şekil 4.8’de gösterilmektedir. Bu doğru esas alınarak lineer çalışma aralığı 0.20 – 20 mg L⁻¹ olarak belirlenmiştir. Kalibrasyon doğrusuna ait korelasyon katsayısı, gözlenebilme limiti ve tayin limiti Çizelge 4.2’de verildiği üzere sırasıyla 0.9996, 0.06 mg L⁻¹ ve 0.19 mg L⁻¹ olarak bulunmuştur. Elde edilen %RSD değerlerinin düşük olması yüksek duyarlılığı göstermektedir.



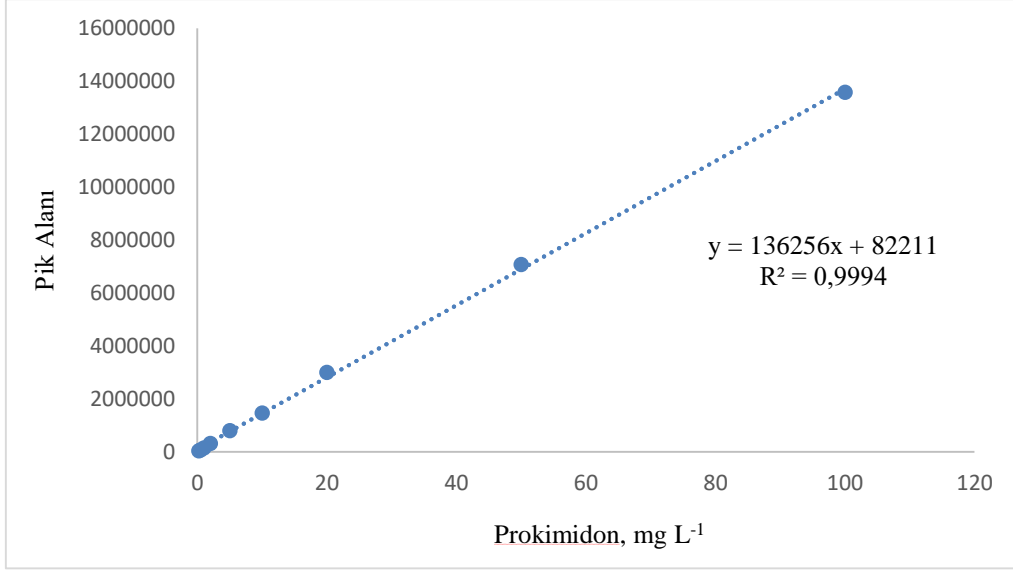
Şekil 4.8 Klorflurenol için doğrusal kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.2 Klorflurenol analitine ait analitik değerler.

GL	0.06 mg L ⁻¹
TL	0.19 mg L ⁻¹
Doğru denklemi	Y=104650x – 6653.2
R²	0.9996
%RSD	6.65
Dinamik çalışma aralığı	0.20-20 mg L ⁻¹

4.1.1.2 Prokimidon analitinin GC-MS ile Tayini

0.10 – 100 mg L⁻¹ arasındaki klorflurenol ve prokimidon karışık standart çözeltileri hazırlanarak oluşturulan prokimidon doğrusal kalibrasyon grafiği Şekil 4.9’da verilmiştir. Bu doğruya göre prokimidon analiti için lineer çalışma aralığı 0.20 – 100 mg L⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bölüm 4.1.1.1’de bahsedilen yöntem performans değerleri prokimidon analiti için de belirlenmiş olup Çizelge 4.3’te özetlenmiştir. Buna göre prokimidon analiti için korelasyon katsayısı, gözlenebilme limiti ve tayin limiti sırasıyla 0.9994, 0.07 mg L⁻¹ ve 0.24 mg L⁻¹ olarak bulunmuştur. Prokimidon analiti için de düşük %RSD değerleri elde edilmiş olup yüksek duyarlılık sağlanmıştır.



Şekil 4.9 Prokimidon için doğrusal kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.3 Prokimidon analitine ait analitik değerler.

GL	0.07 mg L ⁻¹
TL	0.24 mg L ⁻¹
Doğru denklemi	Y=136256x + 82211
R²	0.9994
%RSD	5.90
Dinamik çalışma aralığı	0.20-100 mg L ⁻¹

4.2 YÖNTEM GELİŞTİRME

4.2.1 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Geliştirilmesi

Klorflurenol ve prokimidon analitlerinin eser seviyelerde tayin edilebilmeleri için GC-MS sistemine verilmeden önce ikili dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyonu yöntemi uygulanarak analitlerin önderiştirilmesi sağlanmıştır. Önderiştirme işleminde yüksek hacimli sulu çözelti içerisinde bulunan analitler düşük hacimli bir organik sıvı içerisine alınmaktadır. Analitlerin önderiştirilmelerinin yanı sıra uygulanan mikroekstraksiyon işlemi ile analitlerin yoğun matriksten ayrılması ve bu şekilde analit tayinini etkileyebilecek matriks etkilerinin ortadan kaldırılması/azaltılması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda mikroekstraksiyon sisteminin değişken tüm deneysel parametreleri optimize edilmiştir. Bir parametreyi optimize ederken, diğer

parametreler sabit tutulmuştur. Optimizasyonların her biri 50 µg L⁻¹ sulu standartlarla yapılmıştır.

4.2.1.1 İDSSME Optimizasyonları

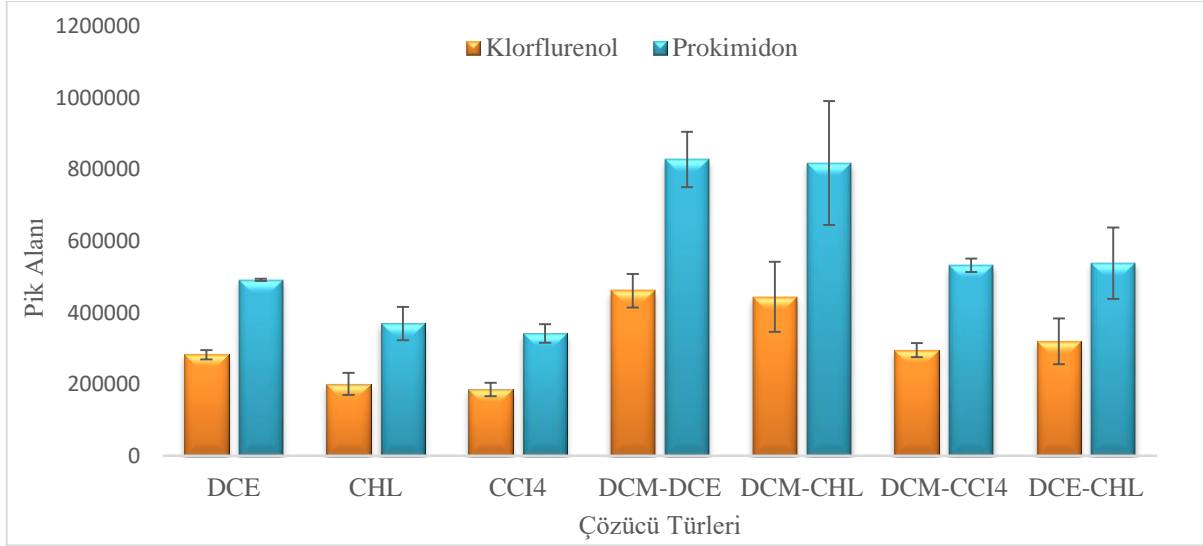
Ekstraksiyon metodunun optimizasyonunda amaç, ekstraksiyon verimini yükseltmek ve yüksek doğruluk ve duyarlılıkla tayinler gerçekleştirmektir.

4.2.1.1.1 Ekstraksiyon Çözücü Tür Optimizasyonu

İdeal bir ekstraksiyon çözücüsü; sulu faz ile karışmamalı, dağıtıcı çözücü ile karışmalı ve hedeflenen analiti yüksek verimde bünyesine alabilmelidir. İDSSME optimizasyonlarının ilk basamağı olan ekstraksiyon çözücü türü seçiminde organik çözücü olarak öncelikle, yoğunluğu 1'den yani sudan fazla olan ($\rho > 1.00$) ve suyla karışmayan organik çözücü olarak diklorometan (DCM) ($\rho = 1.33$), 1,2-dikloroetan (DCE) ($\rho = 1.25$), kloroform (CHL) ($\rho = 1.56$) ve karbon tetraklorür (CCl₄) ($\rho = 1.59$) ardından ise ikili çözücü oluşturulması istendiğinden, ikili organik çözücüler olarak DCE-CHL, DCM-CHL, DCM-CCl₄ ve DCM-DCE ile deney yapılmıştır.

Çizelge 4.4 Ekstraksiyon solvent optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

Ekstraksiyon Solvent Miktarı	300 µL
Dağıtıcı Solvent	Etanol
Dağıtıcı Solvent Miktarı	3.0 mL
Karıştırma Türü	Vorteks
Karıştırma Süresi	15 s



Şekil 4.10 Klorflurenol ve prokimidon pik alanlarına karşı ekstraksiyon çözücülerinin grafiği.

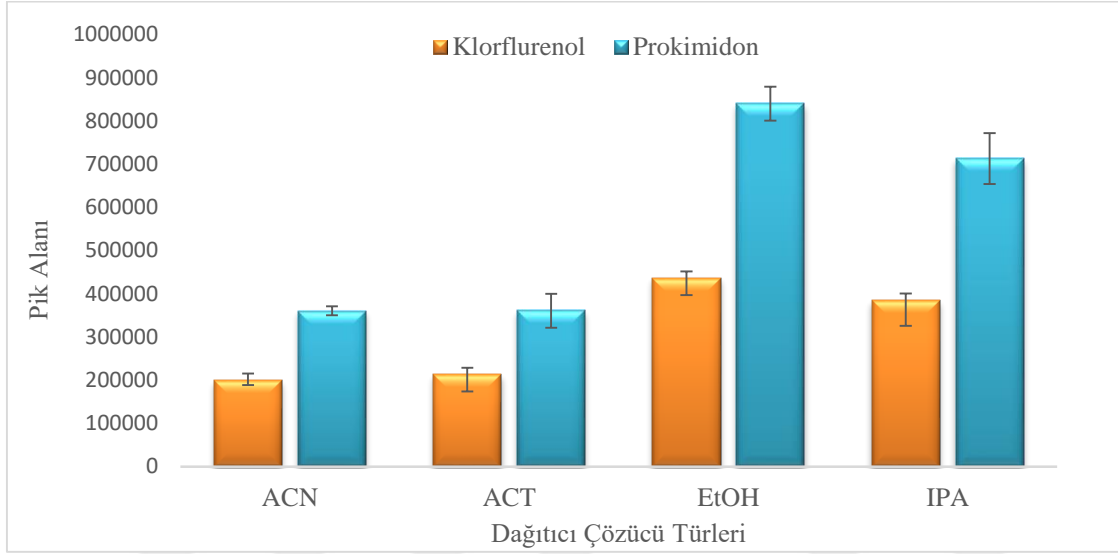
Ekstraksiyon çözücüsünün ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla Şekil 4.10`da görüldüğü üzere farklı ekstraksiyon çözücüsü kullanılarak elde edilen pik alanlarının grafiği oluşturulmuştur. Diklorometanın kullanıldığı karışım haricinde diğer bütün karışımlarda ikinci bir faz oluşumu gözlemlenmiştir. Diklorometanın kullanıldığı karışımda faz ayrımı gözlenmemesi diklorometanın su içerisindeki yüksek çözünürlük değerine bağlanmaktadır. En yüksek pik alanı en iyi ekstraksiyon verimini temsil ettiğinden en yüksek değer elde edildiği DCM-DCE ikili çözücüsü optimum ekstraksiyon çözücüsü olarak seçilmiştir.

4.2.1.1.2 Dağıtıcı Solvent Optimizasyonu

Dağıtıcı çözücü ince partiküller halinde, yüzey alanını artırarak ve örnek içerisinde dağılarak bulutlu bir çözelti oluşturmaktadır. Böylelikle, ekstraksiyon çözücüsü ile analitin daha kolay etkileşmesiyle birlikte hedeflenen analitin daha yüksek verimde ekstraksiyonu sağlanmaktadır. Deneyde verilen sabit parametreler ile dağıtıcı çözücü olarak aseton (ACT), asetonitril (ACN), etanol (EtOH) ve izopropil alkol (IPA) ile çalışılarak optimum dağıtıcı çözücü seçimi yapılmıştır.

Çizelge 4.5 Dağıtıcı solvent optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

Ekstraksiyon Solvent	DCM-DCE
Ekstraksiyon Solvent Miktarı	300 µL
Dağıtıcı Solvent Miktarı	3.0 mL
Karıştırma Türü	Vorteks
Karıştırma Süresi	15 s



Şekil 4.11 Klorflurenol ve prokimidon pik alanlarına karşı dağıtıcı çözücülerinin grafiği.

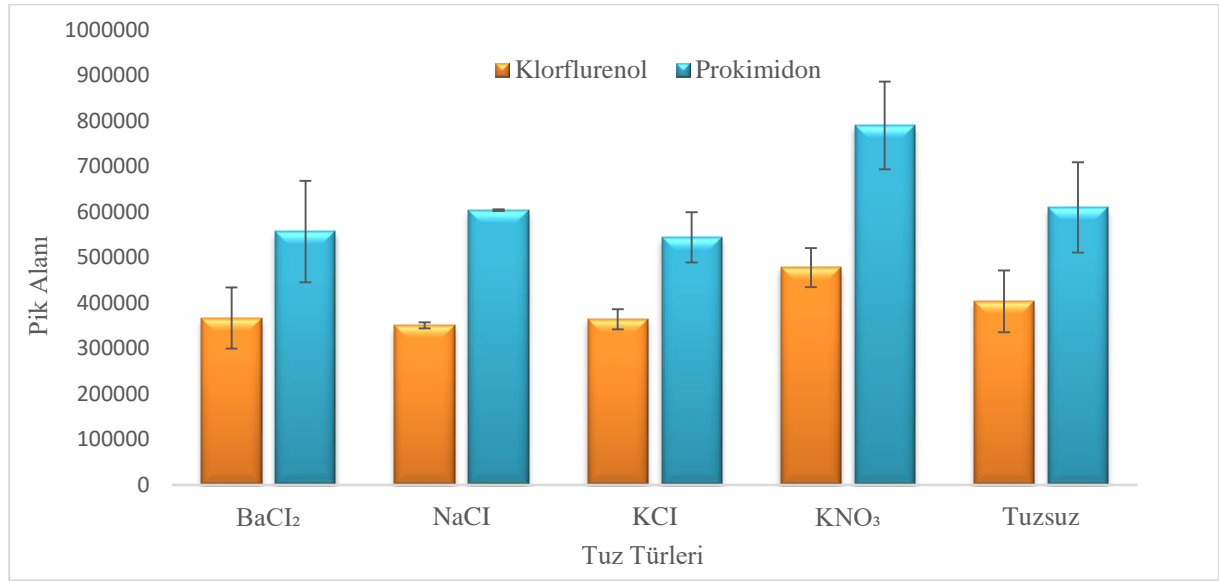
Deney sonucunda dağıtıcı çözücü olarak EtOH Şekil 4.11’de görüldüğü gibi diğer çözücü türlerine göre daha yüksek ekstraksiyon verimi sağladığından EtOH optimum dağıtıcı çözücü olarak seçilerek çalışmalara devam edilmiştir.

4.2.1.1.3 Tuz Türü Optimizasyonu

Tuz optimizasyonunda amaç, tuz ile suyu doyurup yüksek çözünürlükte sulu faz elde etmek ve analitlerin sudaki çözünürlüğünü düşürmektir. Bu nedenle 4 farklı tuz türü test edilmiş olup tuz etkisini değerlendirmek amacıyla tuzun kullanılmadığı ekstraksiyon ile karşılaştırma yapılmıştır. Ekstraksiyonu gerçekleştirmeden önce her bir tuzun 1.0 gram standart çözeltilerde tamamen çözündürülmüştür. Tuz türü optimizasyonu için diğer tüm parametreler sabit tutularak, baryum klorür ($BaCl_2$), potasyum klorür (KCl), potasyum nitrat (KNO_3), sodyum klorür (NaCl) tuzlarının kullanıldığı ve de herhangi bir tuz ilavesinin yapılmadığı ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.6 Tuz türü optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

Ekstraksiyon Solvent	DCM-DCE
Ekstraksiyon Solvent Miktarı	300 µL
Dağıtıcı Solvent	Etanol
Dağıtıcı Solvent Miktarı	3.0 mL
Karıştırma Türü	Vorteks
Karıştırma Süresi	15 s



Şekil 4.12 Klorflurenol ve prokimidon pik alanlarına karşı tuz türü grafiği.

Şekil 4.12’de görüldüğü üzere KNO₃ tuzu kullanılan çözeltide en yüksek pik alanı elde edilmiş olup, sonraki deneylere KNO₃ tuzu eklenerek devam edilmiştir.

4.2.1.1.4 Deneysel tasarım ve ekstraksiyon prosedürünün optimizasyonu

İDSSME süreci için en uygun deney koşullarını belirlemek için çok değişkenli deney tasarımı olan Box-Behnken deneysel tasarımı uygulanmıştır. Deneysel tasarımda ikili çözücü 1 (diklorometan), ikili çözücü 2 (1,2-dikloroetan), dağıtıcı çözücü (etanol) ve tuz miktarı (KNO₃) miktarı değişken parametreler olarak belirlenmiştir.

Klorflurenol ve prokimidon analitlerine ait optimum deneysel koşulları bulmak için üç faktör ve üç seviye için uygulanan Box-Behnken deneysel tasarımına ait faktörler ve seviyelerde

kullanılan madde miktarları, Çizelge 4.7’de gösterilmektedir. Her parametre düşük (-1), orta (0) ve yüksek (+1) olmak üzere üç seviyede test edilmiş olup aynı zamanda 5 adet rastgele dağıtılmış merkez noktayı içeren toplam 17 deneysel kombinasyon ile Çizelge 4.8’de verilen tasarım matrisi oluşturulmuştur.

Çizelge 4.7 Box-Behnken tasarım yönteminde incelenen faktörlerin seviye değerleri.

Faktör	Seviye (kodlanmış)		
	-1	0	+1
	Seviye (gerçek)		
A - DCE-DCM (μ L)	200	300	400
B - Etanol (mL)	1.0	2.0	3.0
C - KNO ₃ (g)	0.50	1.0	1.5

Çizelge 4.8 Klorflurenol ve prokimidon için çok değişkenli optimizasyon çalışması ve üç değişken için gerçek değerler.

Deney No	A (μ L)	B (mL)	C (g)	R1 pestisit pik alanı	R2 pestisit pik alanı
1	200	2.5	1.0	294369	879268
2	400	2.5	1.0	78756.7	190320
3	200	1.5	1.5	245655	516309
4	400	1.5	0.50	80258.3	174720
5	300	0.50	0.50	133444	259731
6	400	1.5	1.5	98608	188843
7	200	1.5	0.50	293175	523869
8	300	0.50	1.5	143872	276567
9	300	1.5	1.0	168822	286778
10	300	1.5	1.0	150628	291015
11	300	1.5	1.0	167181	288947
12	200	2.5	0.50	211799	375835
13	200	0.50	1.0	245478	431856
14	300	1.5	1.0	173391	307694
15	300	2.5	1.5	214191	405218
16	400	0.50	1.0	90888	177001
17	300	1.5	1.0	177911	306057

A:Ekstraksiyon çözücü miktarı B: Dağıtıcı çözücü miktarı C:Tuz miktarı R1:Klorflurenol, R2: Prokimidon

Denklem 4.3'deki kuadratik polinom ifadesi, bağımsız değişkenler olan X_1 , X_2 ve X_3 'ü tanımlamak için kullanılmıştır. Yanıt (Y) ifadesi ayrıca bir sabit (β_0), doğrusal katsayılar (β_1 , β_2 ve β_3), etkileşim katsayıları (β_{12} , β_{13} ve β_{23}) ve kuadratik katsayıları (β_{11} , β_{22} ve β_{33}) içermektedir.

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3 + \beta_{11}X_2^2 + \beta_{22}X_2^2 + \beta_{33}X_3^2 \quad (4.3)$$

Design-Expert 7.0.0 yazılımı kullanılarak elde edilen model sonucu anlamlı kabul edilen ve de yanıt ve değişkenler arasındaki ampirik ilişkiyi gösteren eşitlikler Denklem 4.4 ve 4.5'de verilmiştir.

$$\text{(Klorflurenol)} R=1.764E+005-91270.67*A + 23179.25*B - 2043.67*C \quad (4.4)$$

$$\text{(Prokimidon)} R=2.886E+005 - 2.026E+005*A + 88185.87*B + 6597.75*C - 1.085E+005 *A*B + 71622.57*A^2 + 50025.41*B^2 \quad (4.5)$$

Sunulan model ile deneysel çalışma arasındaki uyum varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir. ANOVA sonuçları klorflurenol için Çizelge 4.9'da prokimidon için ise Çizelge 4.10'da verilmiştir. ANOVA sonuçlarında gösterildiği üzere değişkenlerin ve etkileşimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek için P-değerleri kullanılmıştır. Her bir değişkenin girdisini ve bunların yanıt varyansına olan etkileşimlerini test etmek için ise F değeri kullanılmıştır. %95 güvenirlilik düzeyinde P-değerlerinin 0.05'ye eşit veya daha az olması modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Her iki analit için de P değerleri <0.0001 olarak bulunmuştur. Modele ait veri kümesinin dağılımını gösteren klorflurenol ve prokimidon analitleri için normal olasılık grafikleri sırasıyla Şekil 4.13 ve 4.14'te verilmiştir. Klorflurenol ve prokimidon için sırasıyla elde edilen 0.94 ve 0.97 doğrusal korelasyon katsayıları (R^2), tahmin edilen veriler ile deneysel verilerin yüksek oranda uyumlu olduğunu kanıtlamıştır. Ayarlanmış R^2 değerlerinin klorflurenol ve prokimidon için sırasıyla 0.92 ve 0.95 değerleri ile R^2 değerine oldukça yakın olması modelin doğru ve güvenilir olduğunu göstermektedir.

Ana değişkenlerin etkileri ve etkileşimleri klorflurenol ve prokimidon analitleri için sırasıyla Şekil 4.15 ve 4.16'da gösterilen 3 boyutlu yüzey cevap grafikleri ile incelenmiştir. Ana değişkenler olarak dağıtıcı çözücü miktarı için cevap üzerinde pozitif ana etki gözlenirken, ikili ekstraksiyon çözücüsü için negatif etki kaydedilmiştir. Her iki değişken de modele göre istatistiksel olarak anlamlıdır. ANOVA sonuçlarından belirlenen en etkili değişken 1,2-dikloroetan hacminin ardından diklorometan hacmi ve etanol hacmidir. 1,2-dikloroetan ve diklorometan ikili çözücüsünün negatif ana etkisi, düşük hacimde elde edilen yüksek önderiştirme ile ilgilidir. Bu durum analitlerin düşük ekstraksiyon çözücülerinde dahi ekstraksiyon çözücüsünde verimli bir şekilde toplanabildiğini göstermektedir. Dağıtıcı çözücü

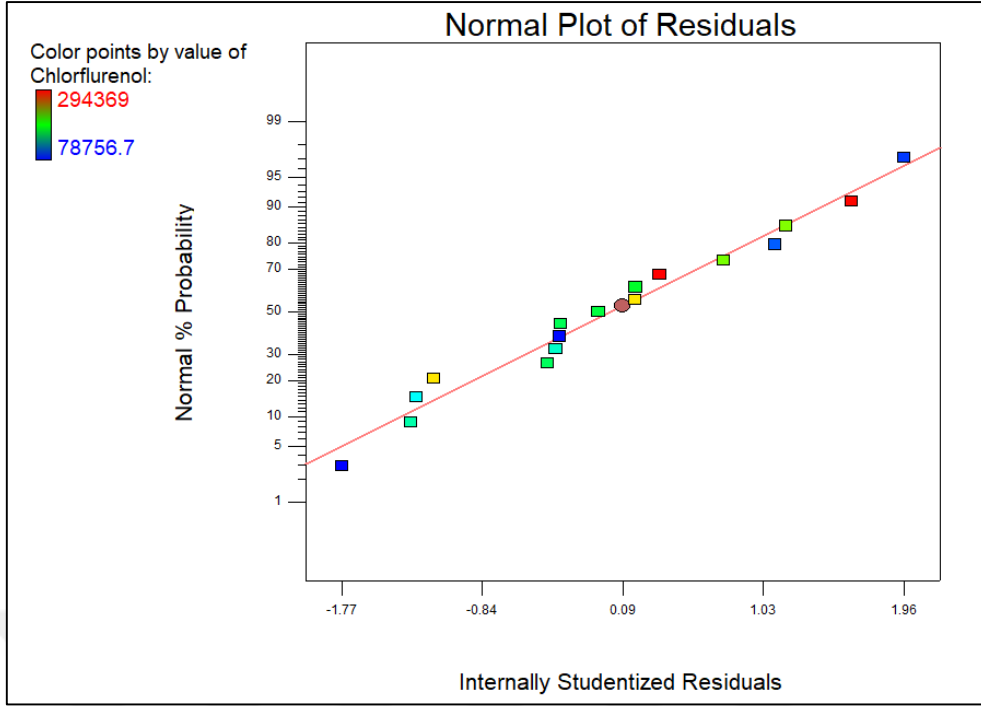
olan etanolün pozitif ana etkisi, yüksek etanol hacminin daha verimli bir dispersiyon ile sonuçlandığını göstermektedir. Bu durum ekstraksiyon çözücüsünün çözelti içerisindeki dağılmasında dağıtıcı çözücünün önemini kanıtlamaktadır. Prokimidon analiti için deneysel tasarımda ayrıca ekstraksiyon çözücüsü - dağıtıcı çözücü etkileşimi (AB) ve aynı zamanda ekstraksiyon çözücüsü ve dağıtıcı çözünün kuadratik etkileri cevap faktörü üzerinde anlamlı bulunmuştur. Deneysel tasarımdan elde edilen optimum parametreler; ekstraksiyon çözücüsü için 100 µL 1,2-dikloroetan ve 100 µL dikloroetan ikili karışımı; dağıtıcı çözücü olarak ise 2.5 mL etanol olarak belirlenmiştir. Tuz etkisi deneysel tasarımda cevap üzerinde anlamlı bir etki göstermediğinden sonraki deneysel çalışmalara tuzsuz olarak devam edilmiştir.

Çizelge 4.9 Klorflurenol için ANOVA çalışmasına ait sonuçlar.

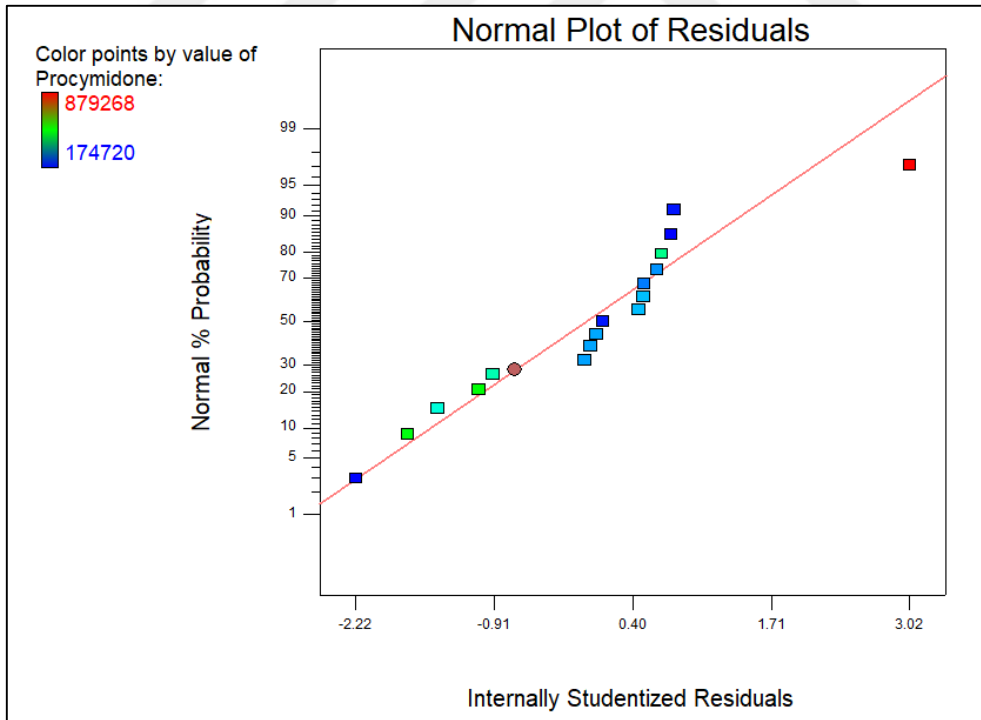
Kaynak	Kareler toplamı	Bağıntı derecesi	Ortalamaların karesi	F-Değeri	p-Değeri
Model	7.097E+10	3	2.366E+010	66.34	<0.0001
A-İkili	6.664E+10	1	6.664E+010	186.87	<0.0001
B-EtOH	4.298E+10	1	4.298E+009	12.05	0.0041
Artan	4.636E+009	13	3.566E+008		
Uyumsuzluk	4.207E+009	9	4.674E+008	4.35	0.0852
Hata	4.296E+008	4	1.074E+008		
Genel Toplam	7.561E+010	16			
R²	0.9387				
R² düzeltilmiş	0.9245				

Çizelge 4.10 Prokimidon için ANOVA çalışmasına ait sonuçlar.

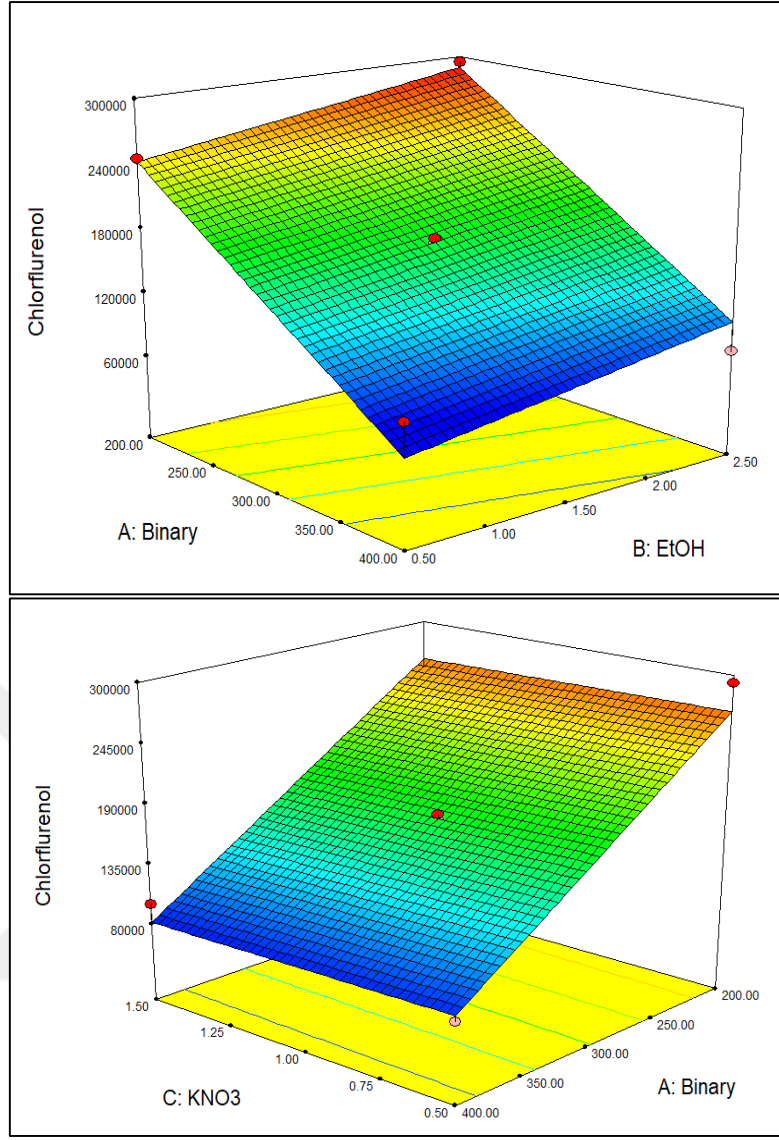
Kaynak	Kareler toplamı	Bağıntı derecesi	Ortalamaların karesi	F-Değeri	p-Değeri
Model	4.719E+011	6	7.865E+010	46.74	<0.001
A-İkili	3.282E+011	1	3.282E+011	195.05	<0.0001
B-EtOH	6.221E+010	1	6.221E+010	36.97	0.0011
AB	4.711E+010	1	4.711E+010	28.00	0.0004
A²	2.166E+010	1	2.166E+010	12.87	0.0049
B²	1.057E+010	1	1.057E+010	6.28	0.0311
Artan	1.683E+010	10	1.683E+010		
Uyumsuzluk	1.684E+010	6	2.738E+009	27.56	0.0032
Hata	3.975E+008	4	9.937E+007		
Genel Toplam	4.887E+011	16			
R²	0.9656				
R² düzeltilmiş	0.9449				



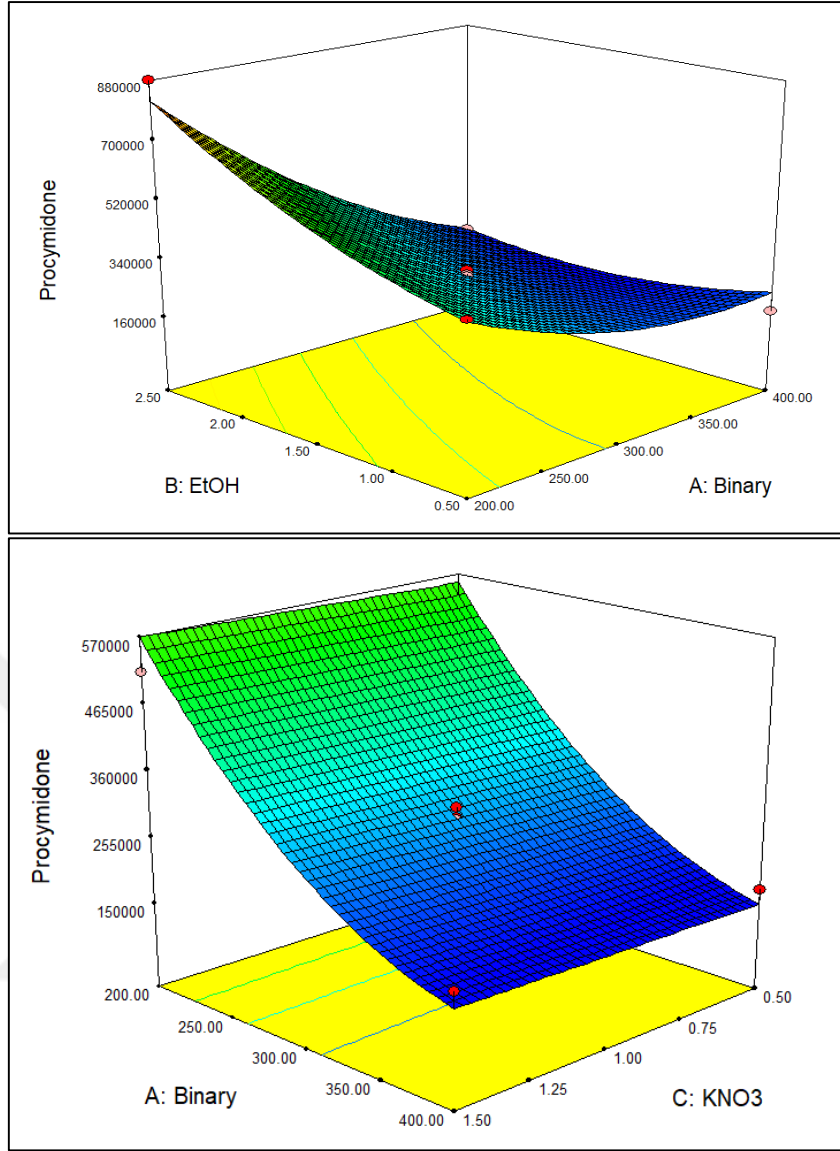
Şekil 4.13 Klorflurenol analitine ait doğrusal olasılık grafiği.



Şekil 4.14 Prokimidon analitine ait doğrusal olasılık grafiği.



Şekil 4.15 Klorfluoreneol analiti için değişken parametrelerin cevap faktörü üzerindeki etkisini gösteren 3 boyutlu yüzey cevap grafikleri.



Şekil 4.16 Prokimidon analiti için değişken parametrelerin cevap faktörü üzerindeki etkisini gösteren 3 boyutlu yüzey cevap grafikleri.

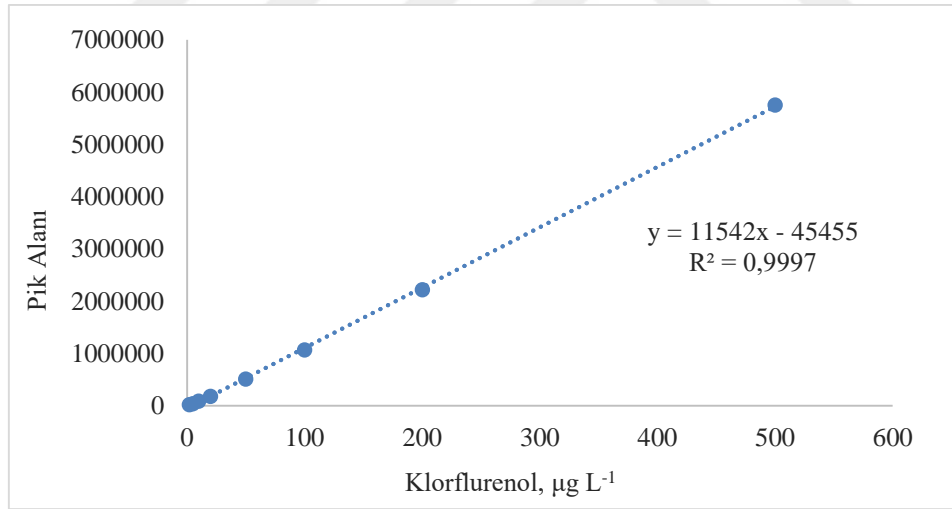
4.2.1.2 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyonu Sonrası Yöntem Analitik Performansı

İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon yönteminin optimum parametreleri Çizelge 4.11’de verilmiştir. Bu parametreler kullanılarak 1.0 ile 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ arasında bir kalibrasyon standartları hazırlanarak standart çözeltilere optimum koşullar altında önderiştirme uygulanmıştır. Önderiştirme sonrası analiz edilen standart çözeltilerde klorflurenol ve prokimidon analitleri tayin edilmiş olup bu analitlere ait kalibrasyon grafikleri sırasıyla Şekil 4.17 ve 4.18’de verilmiştir. Klorflurenol ve prokimidon analitleri için lineer çalışma aralıkları sırasıyla 2.0 – 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 1.0 – 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenirken gözlenebilme limitleri sırasıyla 0.57 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 0.30 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Önderiştirme işlemi uygulanmayan yonteme kıyasla

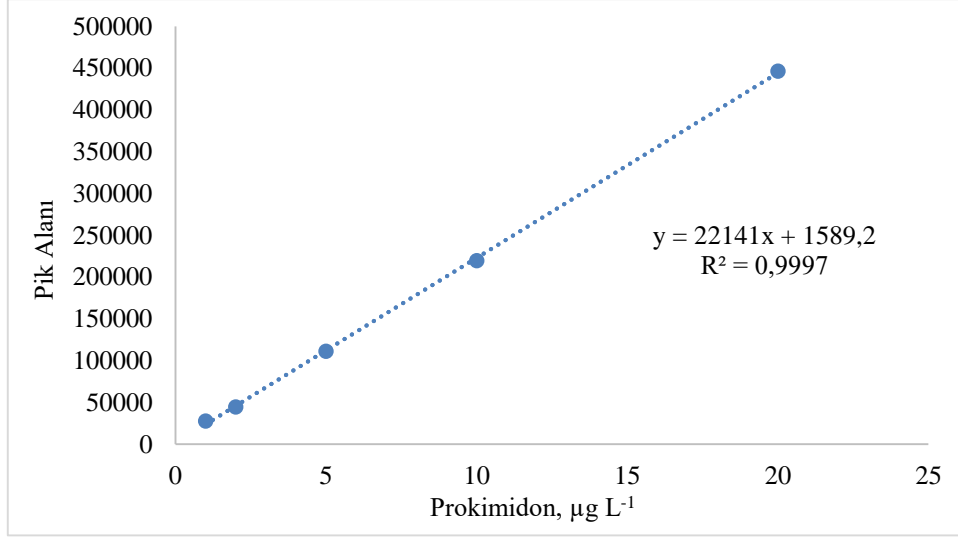
geliştirilen bu yöntem sonrası klorflurenol ve prokimidon analitleri için yöntem duyarlılığında sırasıyla 105 ve 233 kat artış elde edilmiştir. İki analit için elde edilen düşük %RSD değerleri, hem ekstraksiyon işlemi hem de enstrümantal analizler için iyi bir kesinlik göstermiştir. Her iki analit için de analitik performans değerleri Çizelge 4.12’de özetlendiği gibidir.

Çizelge 4.11 Klorflurenol ve prokimidon için optimum ekstraksiyon parametreleri ve değerleri.

Parametreler	Optimum Koşullar
Ekstraksiyon çözücü türü	Diklorometan - 1,2 Dikloroetan
Ekstraksiyon çözücü miktarı	100 µL - 100 µL
Dağıtıcı çözücü türü	Etanol
Dağıtıcı çözücü miktarı	2.5 mL
Tuz türü	Tuzsuz
Karıştırma türü	Vorteks
Karıştırma süresi	15 s



Şekil 4.17 Optimum İDSSME koşulları altında klorflurenol için doğrusal kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.18 Optimum İDSSME koşulları altında prokimidon için doğrusal kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.12 İDSSME koşulları altında klorflurenol ve prokimidon analitlerine ait analitik performans değerleri.

	Klorflurenol	Prokimidon
GL	0.57 µg L ⁻¹	0.30 µg L ⁻¹
TL	1.9 µg L ⁻¹	1.0 µg L ⁻¹
Doğru denklemi	Y=11542x-45420	Y=22141x-1589.2
R²	0.9997	0.9998
%RSD	9.6	5.17
Dinamik çalışma aralığı	2.0 – 500 µg L ⁻¹	1.0 – 20 µg L ⁻¹

4.2.1.3 İkili Dağıtıcı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yöntemi Sonrası Geri Kazanım Çalışması

Geliştirilen yöntemlerin zamanlı örneklere uygulanabilirliği, geri kazanım çalışmaları yapılarak test edilmiştir. Çoğu çevresel ve biyolojik numunenin karmaşık yapısı nedeniyle, analitler üzerinde matriks etkisi ortaya çıkmakta ve bu etki çoğu zaman baskılama kimi zaman ise iyon şiddetini artırıcı etki olarak kendisini göstermektedir. Bu nedenle belirli bir numune matriksine uygulanan geri kazanım çalışmaları ile geliştirilen yöntemin uygulanabilir olup olmadığı belirlenmelidir. Bu çalışmada, geri kazanım çalışmaları üniversite atıksuyu, baraj gölü ve hastane atıksuyu numuneleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Geri kazanım çalışmaları öncesi bu gerçek numuneler içerisinde ilgili analitlerin bulunup bulunmadığını tespit etmek amacıyla

numunelere blank analizleri yapılmıştır. Gerçek numunelerin hiçbirinde ilgili analitlere ait sinyal gözlenmemiştir. Geri kazanım çalışması için gerçek numunelere ilgili analitler, lineer çalışma aralığında olacak şekilde spike yapılmıştır. Bu amaçla, 50 µg L⁻¹ ve 100 µg L⁻¹ 'lik son derişimlerde spike yapılan numune çözeltileri optimum koşullar altında ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Analitler için elde edilen pik alanları aynı derişimdeki standart çözeltiler için elde edilen pik alanları ile kıyaslanarak %geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Klorflurenol ve prokimidon analitleri için %geri kazanım değerleri sırasıyla 50 µg L⁻¹ için % 87.3-105.0; 100 µg L⁻¹ için ise %99.6 - 116.5 aralığında bulunmuştur. Gerçek numuneler için elde edilen %geri kazanım sonuçları Çizelge 4.13'de detaylı olarak verilmiştir. Bu sonuçlar, İDSSME yönteminin atık su matriksindeki klorflurenol ve prokimidon analitlerini doğru bir şekilde tayin etmek için kullanılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.13 Klorflurenol ve prokimidon analitleri için % geri kazanım sonuçları.

		50 µg L ⁻¹	100 µg L ⁻¹
Üniversite Atıksuyu	Klorflurenol	% 99.4 ± 12.9	% 99.9 ± 3.5
	Prokimidon	% 87.3 ± 11.3	% 102.2 ± 3.6
Baraj Gölü	Klorflurenol	% 105.0 ± 7.8	% 100.7 ± 3.1
	Prokimidon	% 100.1 ± 7.4	% 104.4 ± 3.2
Hastane Atıksuyu	Klorflurenol	% 101.1 ± 4.7	% 99.6 ± 7.3
	Prokimidon	% 90.2 ± 4.2	% 116.5 ± 8.5

4.2.2 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Geliştirilmesi

Çalışmanın bu aşamasında analitlerin akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon/önderiştirme sonrası GC-MS cihazında eser seviyelerde tayin edilmelerine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Optimizasyonların her biri 50 µg L⁻¹ sulu standartlarla yapılmıştır.

4.2.2.1 ASSME Optimizasyonları

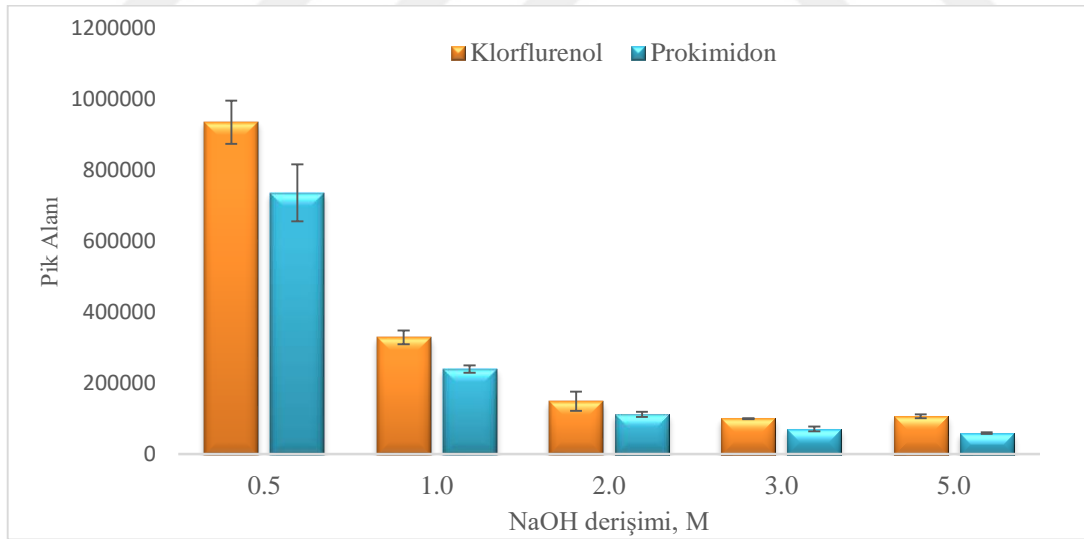
ASSME optimizasyonlarının amacı ekstraksiyon verimini yükseltmek, yüksek doğruluk ve duyarlılıkla tayinler gerçekleştirmektir.

4.2.2.1.1 Sodyum hidroksit derişiminin belirlenmesi

ASSME tekniğinde, karışabilir çözücüğü faz ayrılması için karışmaz hale getirmek için NaOH, hava ve atıl gazlar kullanılabilir [132]. Bu çalışmada, protonlanmış N, N dimetilbenzilamini N, N dimetilbenzilamine dönüştürmek için sulu faz ile karışmaz, kütle transferi ve ekstraksiyonunu analiz etmek için NaOH kullanılmıştır. N, N-dimetilbenzilamin deprotonasyonu için optimum NaOH, 0.50, 1.0, 2.0, 3.0 ve 5.0 M çözeltilerinin her biri 1.0 mL test edilerek belirlenmiştir. Şekil 4.19'da gösterildiği gibi, 0.50 M NaOH, iki analit için de en yüksek pik alanlarını vermiştir. Bu optimizasyon aşamasında deprotonasyonu gerçekleştirmek için optimum konsantrasyon 0.50 M NaOH olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.14 Sodyum hidroksit derişimi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

Akıllı Çözücü Miktarı	1.5 mL
NaOH Hacmi	2.0 mL
Karıştırma Türü	Vorteks
Karıştırma Süresi	15 s



Şekil 4.19 Pik alanlarına karşı sodyum hidroksit derişiminin belirlenmesi.

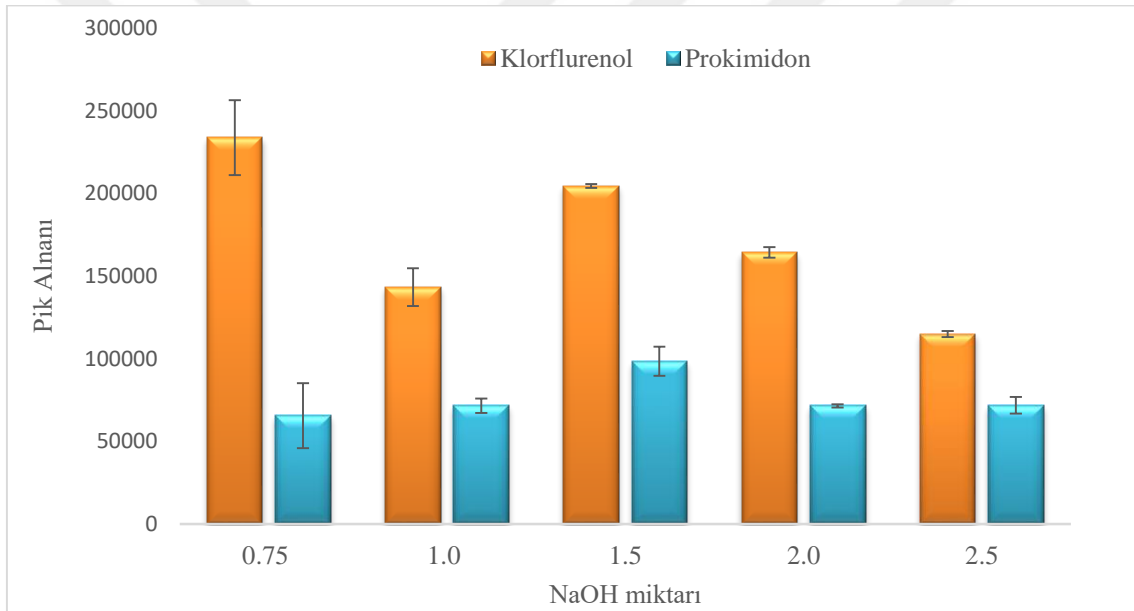
4.2.2.1.2 Sodyum Hidroksit Hacminin Belirlenmesi

Ekstraksiyon etkinliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olan bu yöntemin bir başka parametresi NaOH hacmidir. Numune çözeltilisinin fazla seyreltilmesinin, analitlerin zenginleştirme

faktörünü azaltabildiği iyi bilinmektedir. Protonlanmış N,N-dimetilbenzilamin enjeksiyonundan sonra, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 mL 0.50 M NaOH ilave edilmiştir. 0.75 ve 1.0 mL NaOH ilavesinde üst fazlar GC-MS cihazında tayin etmek için yeterli olmadığından 1.5 mL NaOH ile devam edilmiştir.

Çizelge 4.15 Sodyum hidroksit hacmi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

Akıllı Çözücü Miktarı	1.5 mL
NaOH Derişimi	0.50 M
Karıştırma Türü	Vorteks
Karıştırma Süresi	15 s



Şekil 4.20 Pik alanlarına karşı sodyum hidroksit miktarının belirlenmesi.

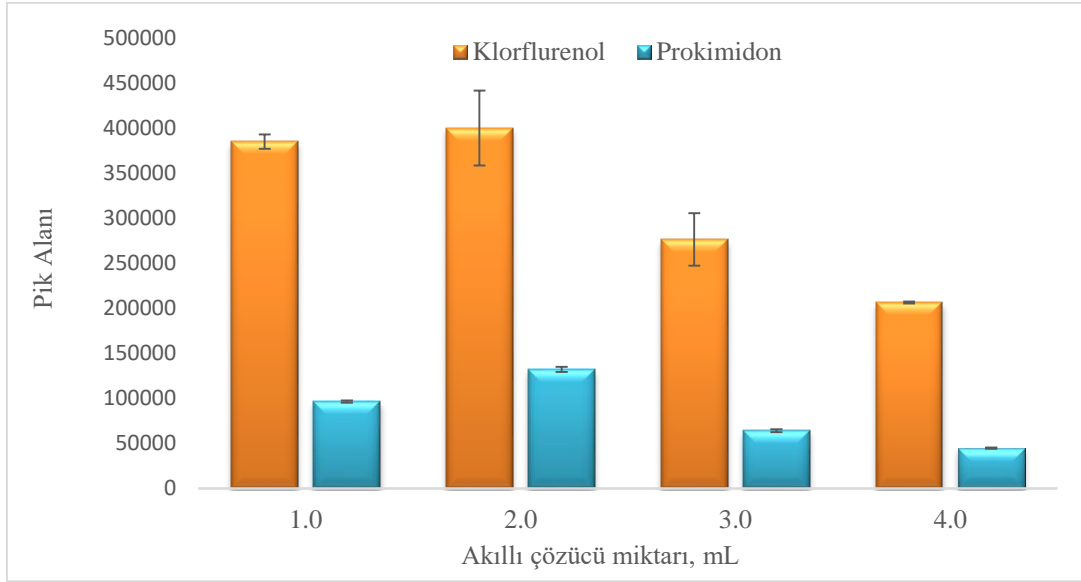
4.2.2.1.3 Akıllı çözücü hacminin belirlenmesi

Protonlu N, N-dimetilbenzilamin bu çalışma için ekstraksiyon çözücüsü olarak değerlendirilmiş ve analitler için yüksek ekstraksiyon kabiliyeti elde etmek için uygun hacmi araştırılmıştır. Protonlu N, N-dimetilbenzilamin hacimleri, 1.0 ile 4.0 mL arasında sulu standartlara uygulandı. Analitlerin pik bölgeleri arasındaki karşılaştırma yapıldığında, 2.0 mL protonlanmış N, N-dimetilbenzilaminin iki analit için optimum hacim olduğu bulunmuştur. 1.0 mL protonlanmış N, N - dimetilbenzilamin, analitleri sulu çözeltiden toplamak için yeterli olmadığı görülmüştür. 3.0 mL hacim ile ekstra edilen analitlerin pik alanları önemli ölçüde

azalmıştır (Şekil 4.21) ve bu ekstraksiyondan sonra elde edilen ekstra hacim ile analitlerin seyreltilmesine bağlanabilir. Bu nedenle, daha fazla optimizasyon için 2.0 mL protonlanmış N, N-dimetilbenzilamin kullanılmıştır.

Çizelge 4.16 Akıllı çözücü hacmi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

NaOH Derişimi	0.50 M
NaOH Hacmi	1.5 mL
Karıştırma Türü	Vorteks
Karıştırma Süresi	15 s



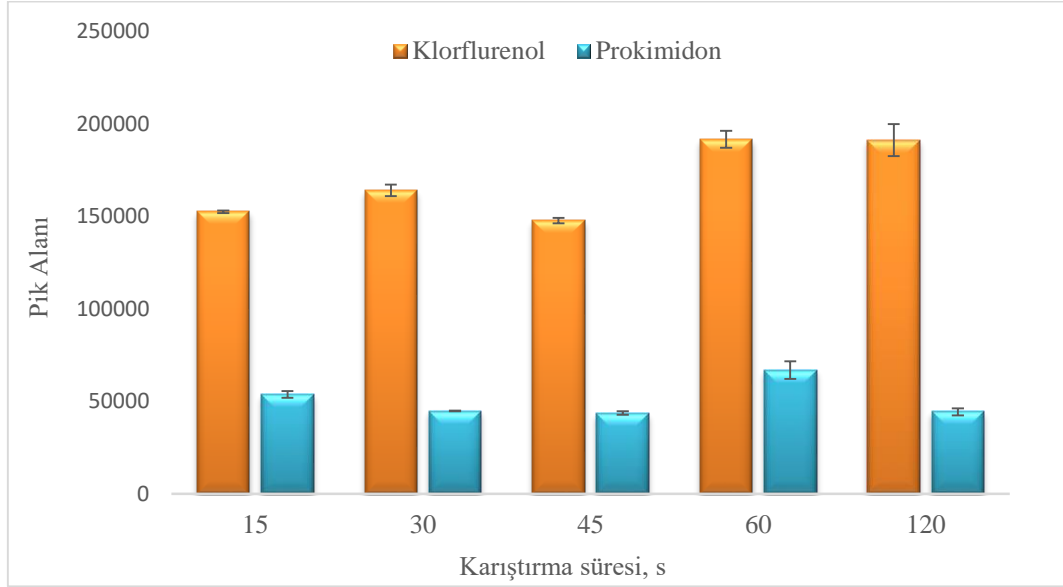
Şekil 4.21 Pik alanlarına karşı akıllı çözücü miktarının belirlenmesi.

4.2.2.1.4 Karıştırma süresinin belirlenmesi

Numuneye sodyum hidroksit ilave edildiğinde homojen olarak dağılmasını sağlamak için karıştırma işlemi gerekmektedir. Bu nedenle tam homojenliğin sağlanması açısından karıştırma süresi de optimize edilmiştir. Karıştırma işlemi vorteks yardımıyla gerçekleştirilmiş olup 15, 30, 45, 60 ve 120 saniye karıştırma süreleri denenmiştir.

Çizelge 4.17 Karıştırma süresi optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

NaOH Derişimi	0.50 M
NaOH Hacmi	1.5 mL
Akıllı Çözücü Miktarı	2.0 mL
Karıştırma Türü	Vorteks



Şekil 4.22 Pik alanlarına karşı karıştırma süresinin belirlenmesi.

Şekil 4.22’de görüldüğü gibi 60 ve 120 s karıştırma süreleri birbirlerine yakın ve en iyi sonuçları vermektedir. Ekstraksiyon işleminin hızlı gerçekleştirilebilmesi için karıştırma süresi 60 s olarak belirlenmiştir.

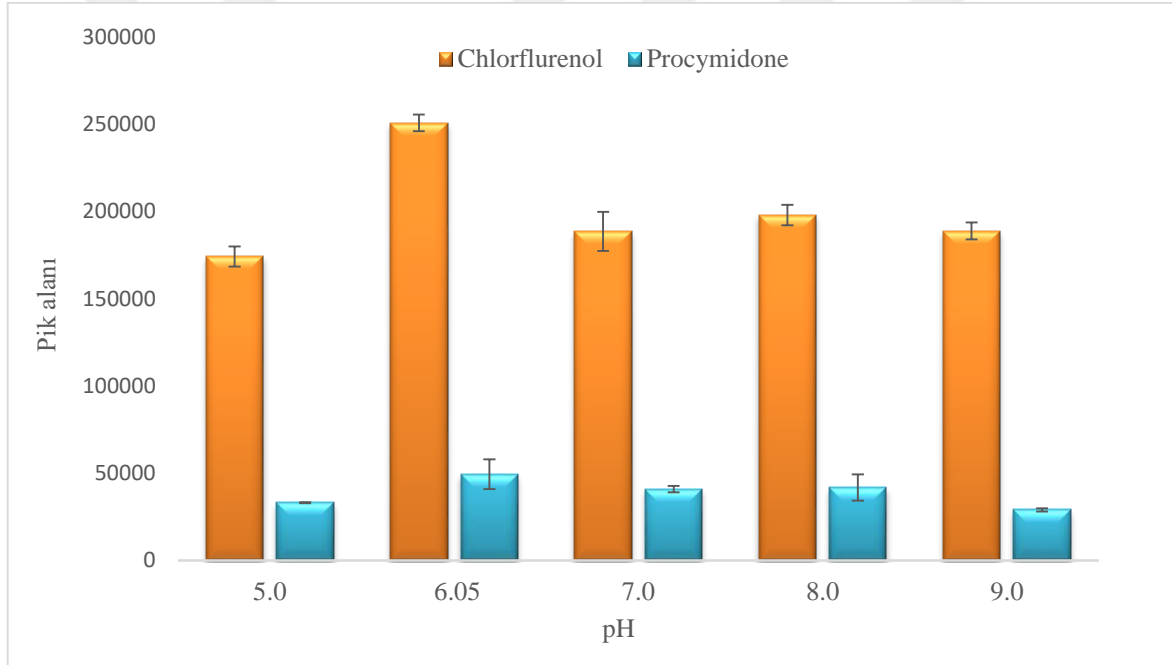
4.2.2.1.5 Tampon çözeltisinin belirlenmesi

İnorganik analitlerden farklı olarak, organik analitler, moleküler formlarından dolayı ekstraksiyon çözücüleri ile kolayca toplanabilmektedirler. Bu moleküler form, analit çözeltisinin pH değerinin değiştirildiği ve farklı pH ortamlarındaki ekstraksiyon çözücüsünün özelliklerinin de değiştiği zaman ayrışmaya uğrayabilmektedir. Bu nedenle çözelti pH’sı, pH 5 – 10 aralığında çalışılarak optimize edilmiştir. İki analit için de en düşük pik alan değerleri Şekil 4.23’te görüldüğü üzere pH 5 değeri için kaydedilmiştir. Bu sonuçtan, asidik ortamın, farklı pKa değerlerine sahip olan analitler yerine ekstraksiyon çözücüsü üzerinde önemli bir etkisi olduğu çıkarılabilmektedir. Aynı genel eğilim, diğer pH değerlerinde de, yani pH 7’den

sonra da marjinal düşüşler olarak gözlenmiştir. Kullanılan deiyonize suyun pH değeri, pH 6 ve 7 arasında olduğundan, çözeltinin kendi pH değeri olan 6.05 ile optimizasyonlara devam edilmiştir.

Çizelge 4.18 Tampon çözelti optimizasyonunda kullanılan deneysel parametreler.

NaOH Derişimi	0.50 M
NaOH Hacmi	1.5 mL
Akıllı Çözücü Miktarı	2.0 mL
Karıştırma Türü	Vorteks
Karıştırma Süresi	60 s
Tampon Çözelti	Doğal pH (6.05)



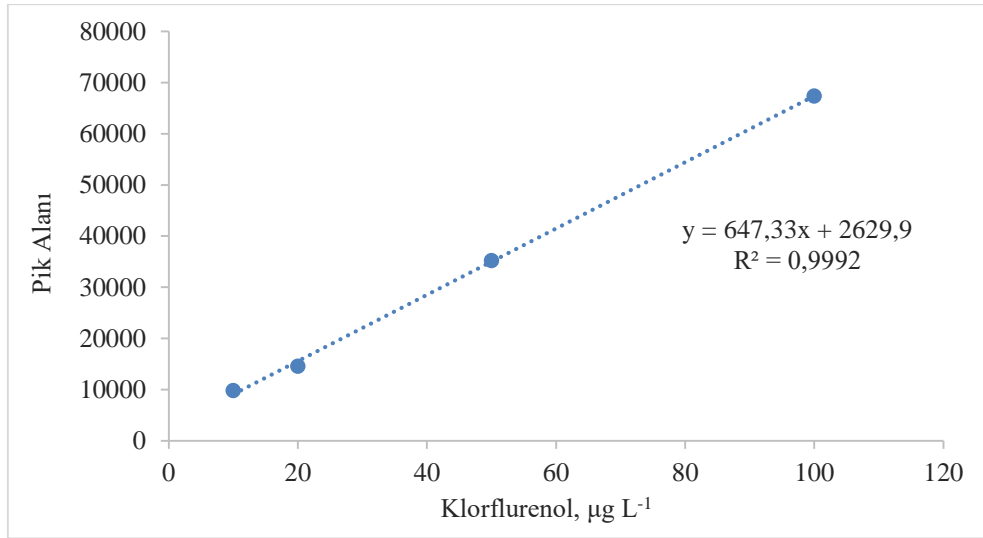
Şekil 4.23 Pik alanlarına karşı çözelti pH'sının belirlenmesi.

4.2.2.2 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yönteminin Analitik Performansı

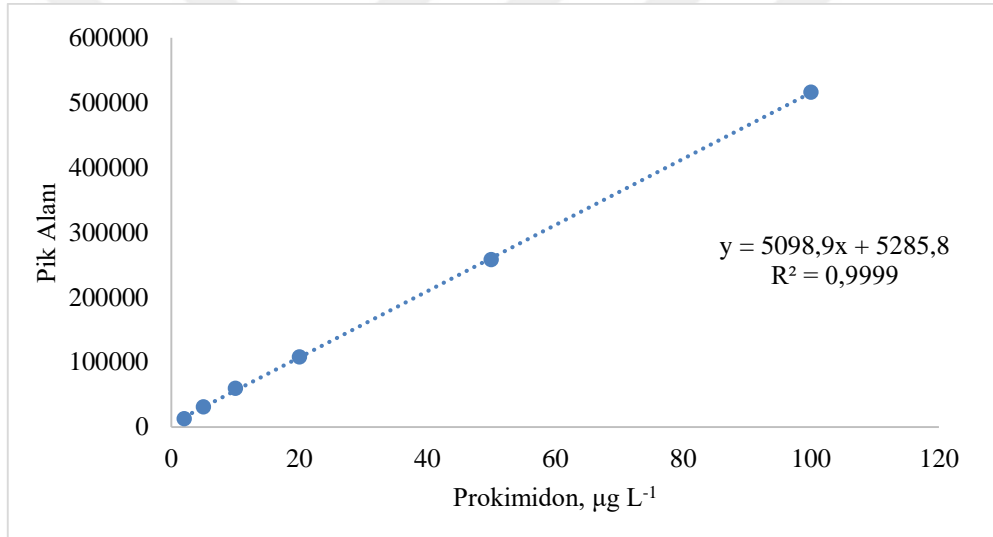
Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon yönteminin optimum parametreleri Çizelge 4.19’da özetlenmiştir. Bu optimum koşullar altında derişimi 1.0 ile 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ arasında değişen kalibrasyon standartlarına ASSME yöntemi uygulanarak geliştirilen yöntemin analitik performans değerleri belirlenmiştir. Klorflurenol ve prokimidon analitleri için önderiştirme işlemleri sonrası elde edilen kalibrasyon doğruları sırasıyla Şekil 4.24 ve 4.25’te verilmiştir. Bu analitler için lineer çalışma aralığı 10 – 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 2.0 – 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenmiş olup analitlerin gözlenebilme limitleri ise sırasıyla 3.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 0.44 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Önderiştirme uygulanmayan yöntemle kıyasla geliştirilen bu yöntem klorflurenol ve prokimidon analitleri için duyarlılıkta sırasıyla 17 ve 159 kat artma sağlamıştır. Elde edilen düşük %RSD değerleri yöntemin tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. Her iki analit için de yöntem performans değerleri Çizelge 4.20’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.19 Klorflurenol ve prokimidon için optimum ekstraksiyon parametreleri ve değerleri.

Parametreler	Optimum Koşullar
Akıllı çözücü miktarı	2.0 mL
NaOH derişimi	0.50 M
NaOH miktarı	1.5 mL
Karıştırma türü	Vorteks
Karıştırma süresi	30 s
pH	6.05



Şekil 4.24 Optimal ASSME koşulları altında klorflurenol analitinin doğrusal kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.25 Optimal ASSME koşulları altında prokimidon analitinin doğrusal kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.20 ASSME koşulları altında klorflurenol ve prokimidon analitlerine ait analitik değerler.

	Klorflurenol	Prokimidon
GL	3.5 µg L ⁻¹	0.44 µg L ⁻¹
TL	11.8 µg L ⁻¹	1.5 µg L ⁻¹
Doğru denklemi	Y=647.33x-2629.9	Y=5098.9x-5285.8
R ²	0.9992	0.9999
%RSD	7.7	5.8
Dinamik çalışma aralığı	10 – 100 µg L ⁻¹	2.0 – 100 µg L ⁻¹

4.2.2.3 Akıllı Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon Yöntemi Geri Kazanım Çalışması

Akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi gerçek örneklerle uygulanarak, yüzde geri kazanım çalışması için $15 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $75 \mu\text{g L}^{-1}$ derişimlerinde analiti içerecek şekilde gerçek örneklerle spike yapılmıştır. Spike yapılmamış numuneler önceden analiz edilerek ilgili analitleri içermedikleri saptanmıştır. Geliştirilen akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ile klorflurenol ve prokimidon analitleri için geri kazanım çalışmaları biyolojik atıksu arıtma tesisi suyu, hastane atıksuyu ve sulama kanalı suyu numuneleri ile gerçekleştirilmiştir. Spike yapılan numuneler optimum ekstraksiyon koşullarına tabi tutularak önderiştirme sonrası ilgili analitler GC-MS sisteminde tayin edilmiştir. Aynı derişimdeki standart çözeltiler ile kıyaslanarak elde edilen %geri kazanım sonuçları klorflurenol ve prokimidon analitleri için sırasıyla; $15 \mu\text{g L}^{-1}$ için %97.1 - 115.1 aralığında; $75 \mu\text{g L}^{-1}$ için ise %86.3 - 115.4 aralığında bulunmuştur. Her iki analit için de gerçek numunelerde elde edilen % geri kazanım sonuçları Çizelge 4.21’de özetlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar uygulanan akıllı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ile atıksu matrislerinde ilgili analitlerin yüksek doğrulukta tayin edilebildiğini göstermektedir.

Çizelge 4.21 Klorflurenol ve prokimidon analitleri için % geri kazanım sonuçları.

		$15 \mu\text{g L}^{-1}$	$75 \mu\text{g L}^{-1}$
İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi	Klorflurenol	% 104.4 ± 2.0	% 115.4 ± 0.50
	Prokimidon	% 115.1 ± 15.3	% 98.1 ± 10.2
Hastane Atıksuyu	Klorflurenol	% 99.1 ± 4.3	% 103.2 ± 5.8
	Prokimidon	% 101.4 ± 5.2	% 99.5 ± 8.3
Sulama Kanalı Suyu	Klorflurenol	% 101.4 ± 5.8	% 92.5 ± 1.3
	Prokimidon	% 97.1 ± 5.8	% 86.3 ± 2.4



BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında klorflurenol ve prokimidon analitlerinin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta kantitatif tayinlerine yönelik GC-MS sisteminde analizi öncesi uygulanmak üzere iki farklı mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. İki mikroekstraksiyon yöntemi için de tüm değişken parametreler optimize edilmiştir. Yöntemlerin analitik performans değerleri bu optimum koşullar altında kıyaslanmıştır. Analiz öncesi önderiştirme olmadan geliştirilen doğrudan tayin yönteminde klorflurenol ve prokimidon analitleri için GL/TL değerleri sırasıyla $0.06 \text{ mg L}^{-1} / 0.19 \text{ mg L}^{-1}$ ve $0.07 \text{ mg L}^{-1} / 0.21 \text{ mg L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Önderiştirme işlemi sonrasında ise İDSSME yönteminde klorflurenol ve prokimidon analitleri için GL/TL değerleri sırasıyla $0.57 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} / 1.9 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} / 1.0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Geliştirilen ikinci önderiştirme yöntemi olan ASSME yönteminde ise klorflurenol ve prokimidon analitleri için GL/TL değerleri sırasıyla $3.5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} / 11.8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.44 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} / 1.5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Geliştirilen bu yöntemler ile birlikte klorflurenol ve prokimidon analitleri için tayin duyarlılığında ASSME yönteminde sırasıyla 17 ve 159 kat ve İDSSME yönteminde ise 105 ve 233 kat iyileştirme sağlanmıştır. Geliştirilen tayin yöntemlerinin analitik performansları Çizelge 5.1’de görülmektedir.

Geliştirilen analitik yöntemlerin gerçek numunelere uygulanabilirliğini belirlemek amacıyla farklı çevre örneklerinde % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla örneklere optimum koşulları belirlenmiş olan mikroekstraksiyon yöntemleri uygulanmıştır. Elde edilen yüksek geri kazanım değerleri yöntemin gerçek numunelere başarıyla uygulanabilir olduğunu göstermiştir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar, geliştirilen tayin yönteminin belirtilen matrikslerde ilgili analitlerin tayini için yüksek doğruluk ve duyarlılıkla kullanılabileceğini kanıtlanmıştır. Ayrıca İDSSME ve ASSME yöntemleri ile klorflurenol ve prokimidon analitlerinin eser seviyelerde ucuz ve çevre dostu bir yöntem ile tayini mümkün kılınmıştır. ICP-MS ve ICP-OES gibi ileri teknolojik cihazlar ile yarışabilecek yüksek doğruluk ve duyarlılıkla, ucuz ve çevre dostu bir analitik literatüre kazandırılmıştır. Atıksu örneklerinde

bulunan analitlerin arıtım kontrollerinin yapılmasında arıtım öncesi/arıtım sonrası tayinlerde geliştirilen yöntemlerin kullanılabilceği açıkça ortaya konulmuştur. Geliştirilen tayin yöntemleri kullanılarak belirtilen analitlerin farklı atıksu örneklerinde yüksek verimde arıtmalarının yapılması gelecek hedefi olarak belirlenmiştir.

Çizelge 5.1 Geliştirilen analitik yöntemlerin performans değerleri.

Yöntem	Parametre	Klorflurenol	Prokimidon
GC-MS (önderiştirme olmadan elde edilen veriler)	Gözlenebilme Limiti ($\mu\text{g L}^{-1}$)	60	70
	Tayin Limiti ($\mu\text{g L}^{-1}$)	190	240
	Çalışma Aralığı	200-20000	200-100000
ASSME (önderiştirme sonrası elde edilen veriler)	Gözlenebilme Limiti ($\mu\text{g L}^{-1}$)	3.5	0.44
	Tayin Limiti ($\mu\text{g L}^{-1}$)	11.8	1.5
	Çalışma Aralığı ($\mu\text{g L}^{-1}$)	10-100	2.0-100
	İyileştirme Faktörü ($\mu\text{g L}^{-1}$)	17	159
İDSSME (2. önderiştirme sonrası elde edilen veriler)	Gözlenebilme Limiti ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.57	0.30
	Tayin Limiti ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1.9	1.0
	Çalışma Aralığı ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2.0-500	1.0-20
	İyileştirme Faktörü	105	233

KAYNAKLAR

- [1] **Klassen C D (Ed.)** (2001) *Casaret and Doull's Toxicology: The Basic Science of Posions*. 9st edition, ISBN: 9781259863752, McGraw-Hill İnternational Editions, 763-784.
- [2] **FAO** (2002) *International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides*. ISBN 92-5-104914-9, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- [3] **Yücel Ü** (2007) *Pestisitlerin insan ve çevre üzerine etkileri*. Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Nükleer Kimya Bölümü, Ankara, 3 s.
- [4] **Dağhoğlu N** (2004) *Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneysel Olarak Gösterilmesi*. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adli Tıp Anabilim Dalı, Adana, 42 s.
- [5] **Vural N** (2005) *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73-342-373.
- [6] **Gao M, Song W, Zhang J and Guo J** (2013) Effect on enzymes and histopathology in earthworm (*Eisenia foetida*) induced by triazole fungicides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35(3): 427-433.
- [7] **Turan Y and Kockar F** (2002) The inhibitory effects of some pesticides on human erythrocyte carbonic anhydrase activity(in vitro). *Fresenius Environmental Bulletin*, 11(1): 14-17.
- [8] **Alak G, Sönmez A ve Hisar O** (2011) Bazı pestisitlerin balıkların antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42(1): 91-93.
- [9] **Karaer F ve Gürlük S** (2003) Gelişmekte olan ülkelerde tarım-çevre-ekonomi etkileşimi. *Doğuş Üniversitesi Dergisi*, 4(2): 197-206.
- [10] **Kiziewicz B and Czczuga B** (2002) Bioaccumulation of organochlorine pesticides in the trophic chain alga-freshwater fish. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 1(32).
- [11] **Tankiewicz M, Fenik J and Biziuk M** (2010) Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(9): 1050-1063.
- [12] **Shaw I and Chadwick J (Ed.)** (2002) *Principles of Environmental Toxicology*. 1st edition, ISBN: 9781482284768, CRC Press, London, e-book, 216 pp.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [13] Rathore H S and Nollet L M L (2012) *Pesticides: evaluation of environmental pollution*. 1st edition, ISBN: 978-1-4398-3624-8, CRC Press, e-book, 659 pp.
- [14] Gürcan T (2001) Tarımsal ilaç kalıntıları ve önemi. *Dünya Gıda Dergisi*, 67-72.
- [15] Chormey D S, Karakuş Y, Karakaya S, Özsöyler Ç, Bozdoğan A E and Bakırdere S (2017) Multivariate optimization of dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of paclobutrazol and triflumizole in water by GC–MS. *Journal of Separation Science*, 40(23): 4541-4548.
- [16] Martin-Reina J, Duarte J A, Cerrillos L, Bautista J D and Moreno I (2017) Insecticide reproductive toxicity profile: organophosphate, carbamate and pyrethroids. *Journal of Toxins*, 4(1): 1-7.
- [17] Waliszewski S M, Gomez-Arroyo S, Infanzon R M, Carvajal O, Villalobos-Pietrini R, Trujillo P and Maxwell M (2004) Persistent organochlorine pesticide levels in bovine fat from Mexico. *Food Additives and Contaminants*, 21(8): 774-780.
- [18] Garcia F P, Ascencio S Y C, Oyarzun J C G, Hernandez A C and Alavarado P V (2012) Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology*, 1(11): 279-293.
- [19] Ssebugere P, Wasswa J, Mbabazi J, Nyanzi S A, Kiremire B T and Marco J A M (2010) Organochlorine pesticides in soils from south-western Uganda. *Chemosphere*, 78(10): 1250-1255.
- [20] Burkhart C G (2004) Relationship of treatment-resistant head lice to the safety and efficacy of pediculicides. *Mayo Clinic Proceedings*. 79(5): 661-666
- [21] Roma G C, Camargo-Mathias M I, de Oliveira P R, Furquim K C S and Bechara G H (2013) Neurotoxic action of permethrin in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae) female ticks. Morphological and cytochemical evaluation of the central nervous system. *Veterinary Parasitology*, 196(3-4): 482-491.
- [22] Zhou T, Zhou W, Wang Q, Dai P, Liu F, Zhang Y and Sun J (2011) Effects of pyrethroids on neuronal excitability of adult honeybees *Apis mellifera*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(1): 35-40.
- [23] Caballero B, Trugo L and Finglas P (2003) *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd edition, ISBN: 978-0-12-227055-0, Academic Press, 6000 pp.
- [24] Khalil I A, Mercer E I and Wang Z X (1990) Effect of triazole fungicides on the growth, chloroplast pigments and sterol biosynthesis of maize (*Zea mays* L.). *Plant Science*, 66(1): 21-28.
- [25] Li X, Pham H T, Janesick A S and Blumberg B (2012) Triflumizole is an obesogen in mice that acts through peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ). *Environmental Health Perspectives*, 120(12): 1720.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [26] **Fedtke C and Trebst A** (1987) Advances in understanding herbicide modes of action. in *Pesticide science and biotechnology* (R. Greenhalgh, T.R. Roberts, EDS.).Oxford [Oxfordshire]: Blackwell Scientific Publications.
- [27] **Hess F D** (1987) Herbicide effects on the cell cycle of meristematic plant cells. *Reviews of weed science (USA)*, 83-203.
- [28] **Duke S O** (1990) Overview of herbicide mechanisms of action. *Environmental Health Perspectives*, 87: 263-271.
- [29] **Lodish H, Berk A, Zipursky S.L, Matsudaira P, Baltimore D and Darnell J** (2000) *Molecular Cell Biolog.* 4th edition, ISBN-10: 0-7167-3136-3, New York.
- [30] **Hagiwara D, Asano Y, Marui J, Yoshimi A, Mizuno T and Abe K** (2009) Transcriptional profiling for *Aspergillus nidulans* HogA MAPK signaling pathway in response to fludioxonil and osmotic stress. *Fungal Genetics and Biology*, 46(11): 868-878.
- [31] **Yang C, Hamel C, Vujanovic V and Gan Y** (2011) Fungicide: modes of action and possible impact on nontarget microorganisms. *ISRN Ecology*, : 1-8.
- [32] **McCarroll E N, Protzel A, Ioannou Y, Stack H F, Jackson M A, Waters M D and Dearfield K L** (2002) A survey of EPA/OPP and open literature on selected pesticide chemicals: III. Mutagenicity and carcinogenicity of benomyl and carbendazim. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 512(1): 1-35.
- [33] **URL-1** < https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/html/endosulfan_fs.html >, Ziyaret tarihi: 15.10.2018.
- [34] **Cabras P and Angioni A** (2000) Pesticide residues in grapes, wine, and their processing products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4): 967-973.
- [35] **Dolara P, Vezzani A, Caderni G, Coppi C and Torricelli F** (1993) Genetic toxicity of a mixture of fifteen pesticides commonly found in the Italian diet. *Cell Biology and Toxicology*, 9(4): 333-343.
- [36] **Özdoğan N, Kapukıran F, Mutluoğlu G, Chormey D S and Bakırdere S** (2018) Simultaneous determination of iprodione, procymidone, and chlorflurenol in lake water and wastewater matrices by GC-MS after multivariate optimization of binary dispersive liquid-liquid microextraction. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(10): 607.
- [37] **URL-2** < https://ec.europa.eu/food/plant_en >, Ziyaret tarihi: 15.10.2018.
- [38] **Midega C A, Murage A W, Pittchar J O and Khan Z R** (2016) Managing storage pests of maize: Farmers' knowledge, perceptions and practices in western Kenya. *Crop Protection*, 90: 42-149.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [39] URL-3 < <https://www.epa.gov/pesticide-tolerances/about-pesticide-tolerances> >, Ziyaret tarihi: 15.10.2018.
- [40] Hoi P V, Mol A and Oosterveer P (2013) State governance of pesticide use and trade in Vietnam. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 67: 19-26.
- [41] Bakırdere S (2009) Speciation Studies Using HPLC-ICP-MS and HPLC-ES-MS. *PhD*, Middle East Technical University, The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ankara.
- [42] URL-4 < <http://www.pallavchemicals.com> >, Ziyaret tarihi: 15.10.2018.
- [43] Yolcu Ş M, Fırat M, Chormey D S, Büyükpınar Ç, Turak F and Bakırdere S (2018) Development and Validation of a Sensitive Method for Trace Nickel Determination by Slotted Quartz Tube Flame Atomic Absorption Spectrometry After Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(5): 715-719.
- [44] Chormey D S and Bakırdere S (2018) Principles and Recent Advancements in Microextraction Techniques. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 81: 257-294.
- [45] Wells M J (2003) Principles of extraction and the extraction of semivolatile organics from liquids. *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, Mitra S (Ed.), ISBN: 9780471328452, 162: 37.
- [46] URL-5 < <http://www.pitt.edu/~ceder/lab2/extraction.html> >, Ziyaret tarihi: 15.10.2018.
- [47] Fu S, Cheng H, Liu Y, Yang Z and Xu X (2009) Spatial character of polychlorinated biphenyls from soil and respirable particulate matter in Taiyuan, China. *Chemosphere*, 74(11): 1477-1484.
- [48] Smith G N, Grillo I, Rogers S E and Eastoe J (2015) Surfactants with colloids: Adsorption or absorption?. *Journal of Colloid and Interface Science*, 449: 205-214.
- [49] Fırat M, Bakırdere S, Fındıkoğlu M S, Kafa E B, Yazıcı E, Yolcu M, Büyükpınar Ç, Chormey D S, Sel S and Turak F (2017) Determination of trace amount of cadmium using dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 129: 37-41.
- [50] Poole C F (2003) New trends in solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(6): 362-373.
- [51] Pontis H (2017) *Methods for Analysis of Carbohydrate Metabolism in Photosynthetic Organisms*. 1st edition, ISBN: 9780128034033, Academic Press, Boston, 45-63.
- [52] Bielicka-Daszkiwicz K and Voelkel A (2009) Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents. *Talanta*, 80(2): 614-621.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [53] **Andrade-Eiroa A, Canle M, Leroy-Cancellieri V and Cerdà V** (2016) Solid-phase extraction of organic compounds: a critical review (Part I). *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80: 641-654.
- [54] **Galán-Cano F, Lucena R, Cárdenas S and Valcárcel M** (2013) Dispersive micro-solid phase extraction with ionic liquid-modified silica for the determination of organophosphate pesticides in water by ultra performance liquid chromatography. *Microchemical Journal*, 106: 311-317.
- [55] **Koinecke A, Kreuzig R and Bahadir M** (1997) Effects of modifiers, adsorbents and eluents in supercritical fluid extraction of selected pesticides in soil. *Journal of Chromatography A*, 786(1): 155-161.
- [56] **Stevenson D** (2000) Immuno-affinity solid-phase extraction. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 745(1): 39-48.
- [57] **Shahtaheri S, Katmeh M F, Kwasowski P and Stevenson D** (1995) Development and optimisation of an immunoaffinity-based solid-phase extraction for chlortoluron. *Journal of Chromatography A*, 697(1-2): 131-136.
- [58] **Pena-Pereira F, Lavilla I and Bendicho C** (2010) Liquid-phase microextraction techniques within the framework of green chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(7): 617-628.
- [59] **Kabir A and Furton K G** (2017) Novel sol-gel sorbents in sorptive microextraction. *Analytical Microextraction Techniques*, Valcarce M, Cardenas S and Lucena R (Ed.), ISBN: 1681083795, 128-69.
- [60] **Lu X, Zheng Z, Li H, Cao R, Zheng Y, Yu H, Xiao J, Miao S and Zheng B** (2017) Optimization of ultrasonic-microwave assisted extraction of oligosaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds. *Industrial Crops and Products*, 107: 546-557.
- [61] **Tarkan H M and Finch J A** (2005) Air-assisted solvent extraction: towards a novel extraction process. *Minerals Engineering*, 18(1): 83-88.
- [62] **Arthur C L and Pawliszyn J** (1990) Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19): 2145-2148.
- [63] **Ozbek N, Baysal A, Akman S and Dogan M** (2015) Solid-Phase Extraction. *Analytical Separation Science*, ISBN: 9783527333745, 1571-1594.
- [64] **Pyrzynska K** (2011) The use of novel materials as solid-phase extractors for chromatographic analysis. *Advances in Chromatography*, 49: 365-399.
- [65] **Chang S and Doong R** (2006) Concentration and fate of persistent organochlorine pesticides in estuarine sediments using headspace solid-phase microextraction. *Chemosphere*, 62(11): 1869-1878.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [66] **Llompart M, Celeiro M, Garcia-Jares C and Dagnac T** (2017) Microwave-Assisted Extraction of Pesticides and Emerging Pollutants in the Environment. *Green Extraction Techniques: Principles, Advances and Applications*, Ibanez E and Cifuentes A (Ed.), ISBN: 978-0-12-811082-9, Amsterdam, 76: 131-201.
- [67] **Souza-Silva E A and Pawliszyn J** (2015) Direct immersion solid-phase microextraction with matrix-compatible fiber coating for multiresidue pesticide analysis of grapes by gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry (DI-SPME-GC-ToFMS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(18): 4464-4477.
- [68] **Pawliszyn J** (1999) Applications of Solid Phase Microextraction. *The Royal Society of Chemistry*, 3-21.
- [69] **Mirnaghi F S, Chen Y, Sidisky L M and Pawliszyn J** (2011) Optimization of the coating procedure for a high-throughput 96-blade solid phase microextraction system coupled with LC–MS/MS for analysis of complex samples. *Analytical Chemistry*, 83(15): 6018-6025.
- [70] **Liu S and Dasgupta P K** (1995) Liquid droplet. A renewable gas sampling interface. *Analytical Chemistry*, 67(13): 2042-2049.
- [71] **Jeannot M A and Cantwell F F** (1996) Solvent microextraction into a single drop. *Analytical Chemistry*, 68(13): 2236-2240.
- [72] **He Y and Lee H K** (1997) Liquid-phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a conventional microsyringe. *Analytical Chemistry*, 69(22): 4634-4640.
- [73] **Kokosa J M** (2015) Recent trends in using single-drop microextraction and related techniques in green analytical methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71: 194-204.
- [74] **Romero J, López P, Rubio C, Batlle R and Nerín C** (2007) Strategies for single-drop microextraction optimisation and validation: application to the detection of potential antimicrobial agents. *Journal of Chromatography A*, 1166(1-2): 24-29.
- [75] **de Castro M D L and Molina M A** (2012) Green Sample Preparation with Non-Chromatographic Separation Techniques. *Handbook of Green Analytical Chemistry*, de la Guardia M and Garrigues S (Ed.), ISBN: 978-0-470-97201-4, Pondicherry, 125.
- [76] **Cabaleiro N and de la Calle I** (2014) 7 Miniaturized Alternatives to Conventional Sample Preparation Techniques for Solid Samples, *Miniaturization in Sample Preparation*. Pena Pereira F (Ed.), ISBN: 978-3-11-041018-1, 308-415.
- [77] **Stanisz E, Werner J and Zgoła-Grześkowiak A** (2014) Liquid-phase microextraction techniques based on ionic liquids for preconcentration and determination of metals. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 61: 54-66.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [78] **Aguilera-Herrador E, Lucena R, Cárdenas S and Valcárcel M** (2008) Direct coupling of ionic liquid based single-drop microextraction and GC/MS. *Analytical Chemistry*, 80(3): 793-800.
- [79] **Zhang J and Lee H K** (2010) Headspace ionic liquid-based microdrop liquid-phase microextraction followed by microdrop thermal desorption-gas chromatographic analysis. *Talanta*, 81(1-2): 537-542.
- [80] **An J, Rahn K L and Anderson J L** (2017) Headspace single drop microextraction versus dispersive liquid-liquid microextraction using magnetic ionic liquid extraction solvents. *Talanta*, 167: 268-278.
- [81] **Li X, Xue A, Chen H and Li S** (2013) Low-density solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction combined with single-drop microextraction for the fast determination of chlorophenols in environmental water samples by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, 1280: 9-15.
- [82] **Wen X, Deng Q, Wang J, Yang S and Zhao X** (2013) A new coupling of ionic liquid based-single drop microextraction with tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 105: 320-325.
- [83] **Pedersen-Bjergaard S and Rasmussen K E** (1999) Liquid- liquid- liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 71(14): 2650-2656.
- [84] **Rutkowska M, Dubalska K, Konieczka P and Namieśnik J** (2014) Microextraction techniques used in the procedures for determining organomercury and organotin compounds in environmental samples. *Molecules*, 19(6): 7581-7609.
- [85] **Sharifi V, Abbasi A and Nosrati A** (2016) Application of hollow fiber liquid phase microextraction and dispersive liquid-liquid microextraction techniques in analytical toxicology. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(2): 264-276.
- [86] **Chammui Y** (2016) Single-drop microextraction for extraction of some phenolic contents leached from bottle water samples. *International Food Research Journal*, 23(4): 1609-1613
- [87] **dos Anjos J P and de Andrade J B** (2014) Determination of nineteen pesticides residues (organophosphates, organochlorine, pyrethroids, carbamate, thiocarbamate and strobilurin) in coconut water by SDME/GC-MS. *Microchemical Journal*, 112: 119-126.
- [88] **dos Anjos J P and de Andrade J B** (2015) Simultaneous determination of pesticide multiresidues in white wine and rosé wine by SDME/GC-MS. *Microchemical Journal*, 120: 69-76.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [89] Zanjani M R K, Yamini Y, Shariati S and Jönsson J A (2007) A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. *Analytica Chimica Acta*, 585(2): 286-293.
- [90] Akkaya E, Chormey D S and Bakırdere S (2017) Sensitive determination of cadmium using solidified floating organic drop microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectroscopy. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(10): 501-513.
- [91] Biparva P and Matin A A (2012) Microextraction techniques as a sample preparation step for metal analysis. *Atomic Absorption Spectroscopy*, InTech, 1-30.
- [92] Aydın I, Chormey D S, Budak T, Firat M, Turak F and Bakırdere S (2018) Development of an Accurate and Sensitive Analytical Method for the Determination of Cadmium at Trace Levels Using Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Based on the Solidification of Floating Organic Drops Combined with Slotted Quartz Tube Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of AOAC International*, 101(3): 843-847.
- [93] Chamsaz M, Eftekhari M, Eftekhari A and Yekkebashi A (2013) 2-Nitroso-1-naphthol as a selective reagent for preconcentration of cobalt by vortex assisted combined with solidification of organic droplet and its determination by flame atomic absorption spectrometry. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(11): 9067-9075.
- [94] Liu Y, He M, Chen B and Hu B (2015) Solidification of floating organic drop microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection for the analysis of organophosphorus pesticides in water samples. *Analytical Methods*, 7(15): 6182-6189.
- [95] Pelit F O, Pelit L, Alaca C, Ertaş H ve Ertaş F N (2014) Preconcentration and Determination of Endocrine Disruptor Pesticides in Well Water by Solidified Floating Organic Drop Microextraction. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 42(9): 1284-1291.
- [96] Vinas P, Campillo N and Andruch V (2015) Recent achievements in solidified floating organic drop microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 68: 48-77.
- [97] Turan N B, Chormey D S, Büyükpınar Ç, Engin G O and Bakırdere S (2017) Quorum sensing: little talks for an effective bacterial coordination. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 91: 1-11.
- [98] Rezaee M, Assadi Y, Hosseini M R M, Aghaee E, Ahmadi F and Berijani S (2006) Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1116(1-2): 1-9.
- [99] Chormey D S, Er E Ö, Erarpat S, Özzeybek Ö, Arı B and Bakırdere S (2018) A novel analytical approach for the determination of parathion methyl in water: quadrupole isotope dilution mass spectrometry-dispersive liquid–liquid microextraction using multivariate optimization. *Analyst*, 143(5): 1141-1146.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [100] **Campillo N, Viñas P, Šandrejová J and Andruch V** (2017) Ten years of dispersive liquid–liquid microextraction and derived techniques. *Applied Spectroscopy Reviews*, 52(4): 267-415.
- [101] **Yan H, Cheng X and Liu B** (2011) Simultaneous determination of six phthalate esters in bottled milks using ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction coupled with gas chromatography. *Journal of Chromatography B*, 879(25): 2507-2512.
- [102] **Zhang Y and Lee H K** (2012) Determination of ultraviolet filters in water samples by vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1249: 25-31.
- [103] **Maham M, Karami-Osboo R, Kiarostami V and Waqif-Husain S** (2013) Novel Binary Solvents-Dispersive Liquid—Liquid Microextraction (BS-DLLME) method for determination of patulin in apple juice using high-performance liquid chromatography. *Food Analytical Methods*, 6(3): 761-766.
- [104] **Kiarostami V** (2014) Binary solvents dispersive liquid—liquid microextraction (BS-DLLME) method for determination of tramadol in urine using high-performance liquid chromatography. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1): 1-25.
- [105] **Ahmad W, Al-Sibaai A, Bashammakh A S, Alwael H and El-Shahawi M S** (2015) Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction for pesticide analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 72: 181-192.
- [106] **Bolzan C M, Caldas S S, Soares B M and Primel E G** (2015) Dispersive liquid–liquid microextraction for the preconcentration of multiple classes of pesticides in water. *Analytical Letters*, 48(17): 2754-2772.
- [107] **Pérez R A, Albero B, Tadeo J L and Sanchez-Brunete C** (2016) Determination of endocrine-disrupting compounds in water samples by magnetic nanoparticle-assisted dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(28): 8013-8023.
- [108] **Ravelo-Pérez L M, Hernández-Borges J, Asensio-Ramos M and Rodríguez-Delgado M A** (2009) Ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction for the extraction of pesticides from bananas. *Journal of Chromatography A*, 1216(43): 7336-7345.
- [109] **Zacharis C K, Rotsias I, Zachariadis P G and Zotos A** (2012) Dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of organochlorine pesticides residues in honey by gas chromatography-electron capture and ion trap mass spectrometric detection. *Food Chemistry*, 134(3): 1665-1672.
- [110] **Yashin Y I and Yashin A Y** (2012) *Chemical analysis of food: Techniques and applications*, Picó Y (Ed.), ISBN: 978-0-12-384862-8, Amsterdam, 798 pp.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [111] **Hansen S H** (2015) General chromatographic theory and principles. *Bioanalysis of Pharmaceuticals: Sample Preparation, Separation Techniques, and Mass Spectrometry*, Hansen S.H and Pedersen-Bjergaard S (Ed.), ISBN: 978-1-118-71682-3, 31-60.
- [112] **Rodrigues J C and Lanças F M** (2005) Analysis of complex samples by solvating gas chromatography (supercritical fluid to gas transition). *Journal of Chromatographic Science*, 43(6): 277-281.
- [113] **Mani D, Kalpana M S, Patil D J and Dayal A M** (2017) Organic Matter in Gas Shales: Origin, Evolution, and Characterization. *Shale Gas*, 25-54.
- [114] **Niessen W W A** (1999) Chromatography-MS, Methods. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, Lindon J.C (Ed.), ISBN: 9780123744135, Elsevier, Oxford, 293-300.
- [115] **Gómez-Coca R B, Cruz-Hidalgo R, Fernandes G D del Carmen Pérez-Camino M and Moreda W** (2014) Analysis of methanol and ethanol in virgin olive oil. *MethodsX*, 1: 207-211.
- [116] **Jennings W G and Poole C F** (2012) Milestones in the Development of Gas Chromatography, *Gas Chromatography*, Poole C F (Ed.), 1st edition, ISBN: 9780123855411, Elsevier, Amsterdam, 1-17.
- [117] **Jones C E, Kato S, Nakashima Y and Kajii Y** (2014) A novel fast gas chromatography method for higher time resolution measurements of speciated monoterpenes in air. *Atmospheric Measurement Techniques*, 7(5): 1259-1275.
- [118] **Stauffer E, Dolan J A and Newman R (Ed.)** (2008) Detection of Ignitable Liquid Residues at Fire Scenes, *Fire Debris Analysis*, 1st edition, ISBN: 9780080556260, Academic Press, Burlington, 131-161.
- [119] **Lovelock J E** (1974) The electron capture detector: Theory and practice. *Journal of Chromatography A*, 99: 3-12.
- [120] **Sudhakar P, Latha P and Reddy PV** (2016) *Phenotyping crop plants for physiological and biochemical traits*. 1st edition, ISBN: 9780128041109, e-book, Academic Press, 194 pp.
- [121] **Baigrie B D** (2003) Taints - Analysis and Identification. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 2st edition, Caballero B (Ed.), Academic Press, Oxford, 5724-5728.
- [122] **Patel S** (2014) Role of proteomics in biomarker discovery: prognosis and diagnosis of neuropsychiatric disorders. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 94: 39-75.
- [123] **Wachsmuth C J, Oefner P J and Dettmer K** (2013) Equipment and metabolite identification (ID) strategies for mass-based metabolomic analysis. *Metabolomics in Food and Nutrition*, 3-28.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [124] **Ossberger M** (2015) Food migration testing for food contact materials. *Global Legislation for Food Contact Materials*, Baughan J.S (Ed.), ISBN: 978-1-78242-023-1, Woodhead Publishing. 3-41.
- [125] **Burinsky D J** (2006) Mass spectrometry. *Comprehensive Analytical Chemistry*, Ahuja S and Jespersen N (Ed.), ISBN: 9780080467221, eBook, 319-396.
- [126] **Mellon F A** (2003) Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. *Mass Spectrometry - Principles and Instrumentation*, 3rd edition, Caballero B (Ed.), ISBN 978-0-470-03310-4, Academic Press, Oxford, 3739-3749.
- [127] **Quehenberger O, Armando A M and Dennis E A** (2011) High sensitivity quantitative lipidomics analysis of fatty acids in biological samples by gas chromatography–mass spectrometry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1811(11): 648-656.
- [128] **Stashenko E and Martinez J R** (2014) Gas chromatography-mass spectrometry. *Advances in Gas Chromatography*, Guo X (Ed.), ISBN: 978-953-51-1227-3, 1-38
- [129] **Stauffer E, Dolan J A and Newman R (Ed.)** (2008) Other Techniques of Analysis and the Future of Fire Debris Analysis. *Fire Debris Analysis*, 1st edition, ISBN : 9780080556260, eBook, Academic Press, Burlington. 495-527.
- [130] **Huber L** (1998) Validation of analytical methods: Review and strategy LC/GC international. *Lab Compliance*, 96-105.
- [131] **Skoog D A, West D M, Holler F J and Crouch S** (2014) *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9st edition, Nelson Education, ISBN 9780495558286, 1072 pp.
- [132] **Erarpat S, Çağlak A, Bodur S, Chormey D S, Engin G and Bakırdere S** (2018) Simultaneous Determination of Fluoxetine, Estrone, Pesticides, and Endocrine Disruptors in Wastewater by Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS) Following Switchable Solvent–Liquid Phase Microextraction (SS–LPME). *Analytical Letters*, 52(5): 869-878.



ÖZGEÇMİŞ

Fatih KAPUKIRAN, 07.11.1993 tarihinde Zonguldak'ta doğdu. İlköğretim ve lise eğitimini Zonguldak'ta tamamladı. 2012 yılında girdiği Bülent Ecevit Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nden Temmuz 2016' da mezun oldu. Eylül 2016'da Bülent Ecevit Üniversitesi Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı ve Şubat 2019'da mezun oldu. 2018 yılında girdiği Innova Kuyumculuk Hediyelik Eşya San. ve Tic. A.Ş. firmasında Çevre Mühendisi olarak çalışmalarına devam etmektedir. İyi derecede İngilizce bilmektedir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres : Mithatpaşa Mah. Dağyolu Sk. No:63/13 Merkez/ ZONGULDAK

Tel : (+90) 536 465 87 37

E-posta: fatih.kapukiran@hotmail.com.

ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDEKİ MAKALELER

1. Emel Alkan, Fatih Kapukıran, Elif Öztürk Er, Dotse Selali Chormey, Seyfullah Keyf, Nizamettin Özdoğan, Sezgin Bakırdere (2018). "Simultaneous determination of phorate and oxyfluorfen in well water samples with high accuracy by GC-MS after binary dispersive liquid-liquid microextraction". *Water Air and Soil Pollution* (Doi: 10.1007/s11270-018-3939-2)
2. Nizamettin Özdoğan, Fatih Kapukıran, Gülşen Mutluoğlu, Dotse Selali Chormey, Sezgin Bakırdere (2018). "Simultaneous determination of iprodione, procymidone and klorflurenol in lake water and wastewater matrices by GC-MS after multivariate optimization of binary dispersive liquid-liquid microextraction". *Environmental Monitoring and Assessment* (Doi: 10.1007/s10661-018-6961-3)