

**UHT VE PASTÖRİZE SÜTLERDE ORGANİK KLORLU PESTİSİTLERİN
TAYİNİ**

MELİS KARAKAŞ

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALINDA
YÜKSEK LİSANS
DERECESİ İÇİN GEREKLİ ÇALIŞMALARI YERİNE GETİREREK
ONAYA SUNULAN TEZ**

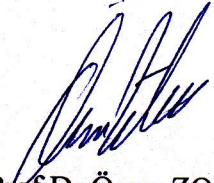
ŞUBAT 2013

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı



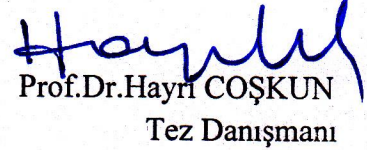
Prof.Dr. Yaşar DÜRÜST
Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora derecesinde bir tez olarak gerekli çalışmaları yerine getirdiğini onaylarım.



Prof.Dr.Ömer ZORBA
Bölüm Başkanı

Okuduğumuz bu tezin Yüksek Lisans derecesinde bir tez olarak onaylanması, düşüncemize göre, amaç ve kalite olarak tamamen uygundur.

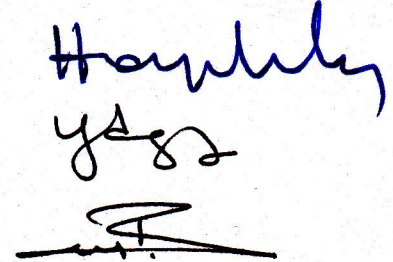


Prof.Dr.Hayri COŞKUN
Tez Danışmanı

Ortak Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

- 1- Prof.Dr.Hayri COŞKUN
- 2- Doç.Dr.Seyhun YURDUGÜL
- 3- Yrd.Doç.Dr.Hande Selen ERGE



ÖZET

UHT VE PASTÖRİZE SÜTLERDE ORGANİK KLORLU PESTİSİTLERİN TAYİNİ

Karakaş, Melis
Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hayri COŞKUN

Şubat 2013, 93 Sayfa

Bu çalışmada farklı markalarda UHT ve pastörize süt örneklerinde organik klorlu pestisitlerin tayinine yönelik iki farklı metot geliştirmek amaçlanmıştır. Metotlar arasındaki fark örnek hazırlama aşamasında kendini göstermiştir. Birinci metotta ekstraksiyon süt örneğinden gerçekleştirilirken, ikinci metotta süt yağından gerçekleştirilmiştir. İki farklı metodun oluşturulmasının sebebi yüksek geri kazanıma sahip metot elde etmektir.

Çalışmada süt örneklerinde 18 organik klorlu pestisit bileşiğinin (aldrin, 4,4'-DDD, 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, dieldrin, α - endosulfan, β - endosulfan, endosulfan - sulfat, endrin, endrin aldehit, endrin keton, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, θ -HCH, heptaklor, heptaklorepoksit, metoksiklor) tayini için metot geliştirilmiştir. Örnek hazırlama aşamasında bileşiklerin süt ve süt yağından ayrılması için sıvı/sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Örnekler GC-MS/MS cihazı ile analiz edilmiştir. Metodun güvenilirliğini göstermek için metot validasyonu ve belirsizlik hesaplaması yapılmıştır. Kantitatif analiz için iç standart tekniği kullanılmıştır. İç standart olarak pentakloronitrobenzene bileşiği kullanılmıştır. İç standardın geri kazanım değeri % 87'dir. Algılama sınırı her iki metot için 0.36 - 1.11 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında elde edilmiştir. Bu değerler Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen en yüksek kabul edilebilir değerlerin altında olarak elde edilmiştir. Elde edilen metotla 60 UHT ve 27 pastörize süt örneği analiz edilmiş fakat pestisit kalıntısına rastlanmamıştır. Bunun sebebi uzun yıllardan beri pestisit kullanımının yasaklanmış olması olabilir.

Anahtar Kelimeler: UHT ve Pastörize Süt, Kalıntı, Organik Klorlu Pestisit, GC-MS/MS

ABSTRACT

DETERMINATION of ORGANOCHLORINE PESTICIDES in UHT and PASTEURIZED MILK

Karakas, Melis
MSc, Department of Food Engineering
Supervisor: Prof. Dr. Hayri COŞKUN

February 2013, 93 pages

This study was carried out for the purpose of developing two different methods and analysis of organochlorinated pesticides in different commercial brands of UHT or pasteurized milk. The difference was created in the sample preparation part. While in the first method extraction was performed from milk sample, in the second method from milk fat. The aim of creating different methods was to obtain high recovery.

The method was developed to determine eighteen organochlorinated pesticides (aldrin, 4,4'-DDD, 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, dieldrin, α -endosulfane, β -endosulfane, endosulfan-sulphate, endrin, endrin aldehyde, endrin ketone, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, θ -HCH, heptachlor, heptachlorepoxyde, metoxychlor) in milk samples. In the sample preparation part liquid/liquid extraction was used to separate the compounds from milk and milk fat. The samples were analyzed by GC-MS/MS. In order to demonstrate the quality of the method, method validation and uncertainty calculation was performed. Internal standardization technique was used to quantify the results. Pentachloronitrobenzene was used as an internal standard. The average recovery of this compound was 87%. The limit of detection (LOD) of the methods was obtained in between 0,36 - 1,11 $\mu\text{g kg}^{-1}$ range. These values were below the maximum residue levels of Turkish Food Codex. Sixty UHT and twenty seven pasteurized milk samples were analyzed but no residues of pesticides were detected. The reason of this result was assumed as the prohibition of pesticide use since many years.

Keywords: UHT and pasteurized milk, residue, organochlorine pesticides, GC-MS/MS

İTHAF

Ailem'e

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenciliğim dönemimde her türlü desteğini gördüğüm ve tez çalışmam boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli ve saygı değer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hayri COŞKUN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları sırasında destek gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım TÜBİTAK UME Müdür Yardımcısı Sayın Doç. Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN hocama, verilerin değerlendirilmesi sırasında bilgisini ve yardımını esirgemeyen TÜBİTAK UME Kimya Grubu araştırmacılarından çok değerli arkadaşım Sayın Burcu BİNİCİ'ye teşekkür ederim.

Bu projeyi (Plastik madde içerisinde PBDE ve PBB tayini 110T135 nolu TÜBİTAK 1001-Projesi) maddi olarak destekleyen TÜBİTAK ARDEB'e, TÜBİTAK UME Müdürü Fatih ÜSTÜNER'e, proje yürütücüsü Mine BİLSEL'e ve TÜBİTAK UME Kimya grubu laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım ve çalışmaları boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme ve eşime teşekkür ederim.

ÖNSÖZ

Hayvanlarda, bitkilerde veya tarım ürünlerinde kullanılan ilaç ve kimyasal maddelerin çoğu, çevre ve gıdalar aracılığı ile insan vücuduna alınmakta, kan, süt ve yağ dokusunda birikmekte ve uzun yarılanma ömürleri (organik klorlu pestisit bileşikleri gibi) nedeniyle giderek artan miktarlarda birikebilmektedir. Pestisitlerin yoğun ve bilinçsiz kullanımları çeşitli gıdalarda kalıntı oluşturabilmektedir. Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturucu etkileri belirlenmiştir. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır ve bu gıdalardan bazıları süt ve süt ürünleri olabilmektedir.

Bu çalışma, bazı UHT ve pastörize süt örneklerinde organik klorlu pestisit tayini için iki farklı tayin metodunun geliştirilmesi ve geliştirilen metotların verim açısından karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışma TÜBİTAK UME Organik Kimya Grubu Laboratuvarlarında yapılmıştır. Çalışma sonunda, UHT ve pastörize sütlerde 2 adet ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiş ve ekstrakte edilmiş örneklerde organik klorlu pestisitlerin analizinde GC-MS/MS tayin metodu geliştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İTHAF.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
TABLOLAR DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	4
2.1. Süt.....	4
2.1.1. Sütün genel bileşimi.....	4
2.1.2. Sütte pestisit kalıntıları.....	6
2.1.3. Pestisitlerin süte bulaşma yolları.....	7
2.1.4. Süt ve süt ürünlerinden pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması.....	7
2.2. Pestisitler.....	8
2.2.1. Pestisitlerin sınıflandırılması.....	9
2.2.1.1. Kullanıldıkları zararlı grubuna göre.....	10
2.2.1.2. Kimyasal yapılarına göre.....	11
2.2.1.2.1. Organik klorlu pestisitler.....	11
2.3. Pestisitlerin Gıdalarda Analiz Yöntemleri.....	13
2.4. Çalışmada Seçilen Bazı Pestisitlerin Özellikleri.....	13
2.4.1. Aldrin.....	13
2.4.2. Dieldrin.....	14
2.4.3. Lindan.....	14
2.4.4. Endosülfan.....	15

2.4.5. Heptaklor.....	15
2.4.6. Heptaklorepoksit.....	15
2.4.7. DDT	16
2.5. Gıdalarda Pestisit Kalıntıları ile İlgili Yasal Düzenlemeler.....	17
2.6. Gaz Kromatografi – Tandem Kütle Spektrometre (GC-MS/MS).....	19
2.6.1. Gaz kromatografisi (GC)	19
2.6.2. Gaz kromatografisi ilkeleri	19
2.6.3. Kütle spektrometre (MS)	20
2.6.4. Tandem kütle spektrometre (MS-MS).....	20
BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT.....	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Kullanılan cihazlar	23
3.1.2. Kimyasal malzemeler.....	23
3.1.3. Standart çözeltiler	24
3.1.4. Süt numuneleri.....	25
3.2. Metot.....	25
BÖLÜM 4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
4.1. Metotlar ve Metotlardan Elde Edilen Bulgular.....	27
4.1.1. GC-MS/MS metodu	27
4.1.2. Kalibrasyon grafiklerinin oluşturulması	30
4.1.3. Pestisitlerin sütte ekstraksiyon metodu.....	41
4.1.3.1. Örnek hazırlama.....	41
4.1.3.2. Saflaştırma	42
4.1.4. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyon metodu	43
4.1.4.1. Örnek hazırlama.....	43
4.1.4.2. Saflaştırma	45
4.1.5. Metot validasyonu.....	46
4.1.5.1. Sütte pestisit tayini metot validasyonu	46
4.1.5.1.1. Doğrusallık/Çalışma aralığı	47
4.1.5.1.2. Algılama sınırı (LOD)/Tayin sınırı (LOQ).....	47
4.1.5.1.3. Doğruluk	48

4.1.5.1.4. Tekrarlanabilirlik	50
4.1.5.2. Süt yağında pestisit tayini metot validasyonu.....	51
4.1.5.2.1. Algılama sınırı (LOD)/Tayin sınırı (LOQ).....	51
4.1.5.2.2. Doğruluk	52
4.1.5.2.3. Tekrarlanabilirlik	53
4.1.6. Belirsizlik hesaplaması	54
4.1.6.1. Ana standart çözelti belirsizliği	54
4.1.6.2. İç standart çözelti belirsizliği	56
4.1.6.3. Eklenen iç standart çözelti miktarı ölçüm belirsizliği	56
4.1.6.4. Başlangıç ve son madde miktarı ölçüm belirsizliği	57
4.1.6.5. Kalibrasyon grafiği ölçüm belirsizliği	58
4.1.6.6. Geri kazanım standart ölçüm belirsizliği	59
4.1.6.7. Tekrarlanabilirlik standart ölçüm belirsizliği	60
4.1.6.8. Birleşik standart ölçüm belirsizliği ve genişletilmiş ölçüm belirsizliği	60
4.1.6.9. UHT ve pastörize süt örneklerinde pestisit kalıntı düzeyleri.....	66
BÖLÜM 5. SONUÇ.....	72
KAYNAKLAR	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

DDD	Diklorodifenildikloroetan
DDE	Diklorodifenildikloroetilen
DDT	Diklorodifeniltrikloroetan
HCH	Hekzaklorosikloheksan
US EPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
GTÖ	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	ABD' deki Gıda ve İlaç İdaresi
EEC	Avrupa Ekonomi Komisyonu
GC	Gaz kromatografisi
LOD	Belirleme alt limiti
LOQ	Hesaplama alt limiti
MRL	Maksimum kalıntı limiti
MS	Kütle spektrometresi
L	Litre
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
g	Gram
ppm	Milyonda bir kısım (mg kg^{-1})
ppb	Milyarda bir kısım ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
ppt	Trilyonda bir kısım (ng kg^{-1})
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
θ	Teta

TABLolar DİZİNİ

Tablo

Tablo 2.1.	Çiğ sütün tür özellikleri	5
Tablo 2.2.	Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisit bileşiklerinin moleküler yapısı	16
Tablo 2.3.	Süt ve süt ürünlerinde Türk Gıda Kodeksine göre pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri.....	18
Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisit.....	24
Tablo 3.2.	Süt numunesi alınan markalar ve numune sayıları	25
Tablo 4.1.	GC sıcaklık programı	28
Tablo 4.2.	Çalışmada kullanılan 18 organik klorlu pestisit ve iç standardın alıkonma zamanları.....	29
Tablo 4.3.	MS/MS metot parametreleri	29
Tablo 4.4.	Kalibrasyon çözeltileri konsantrasyon değerleri ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	31
Tablo 4.5.	Kalibrasyon eğrisinden elde edilen R^2 değerleri.....	31
Tablo 4.6.	Pestisitlerin süttten ekstraksiyonundan elde edilen LOD ve LOQ değerleri	48
Tablo 4.7.	Pestisitlerin süttten ekstraksiyonundan elde edilen % geri kazanım ve % RSD değerleri	49
Tablo 4.8.	Pestisitlerin süttten ekstraksiyonundan elde edilen gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (% RSD)	50
Tablo 4.9.	Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen LOD ve LOQ değerleri	51
Tablo 4.10.	Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen % geri kazanım ve % RSD değerleri.....	52
Tablo 4.11.	Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (% RSD)	53
Tablo 4.12.	Ana standart çözelti belirsizliği bileşiklerin tanımlanması.....	55
Tablo 4.13.	İç standart çözelti belirsizliği	56
Tablo 4.14.	Pestisitlerin süttten ekstraksiyonu için α - HCH belirsizlik bütçesi.....	61
Tablo 4.15.	Pestisitlerin süttten ekstraksiyonundan her bir bileşik için elde edilen ölçüm sonucu ve genişletilmiş belirsizlik değerleri.....	62

Tablo 4.16. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonu için α - HCH belirsizlik bütçesi	62
Tablo 4.17. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan her bir bileşik için elde edilen ölçüm sonucu ve genişletilmiş belirsizlik değerleri	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil

Şekil 2.1.	Kullanıldıkları zararlı grubuna göre pestisitlerin sınıflandırılması	10
Şekil 4.1.	Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisitlerin GS-MS/MS kromatogramı.....	28
Şekil 4.2.	α - HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	32
Şekil 4.3.	β - HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	32
Şekil 4.4.	γ - HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	33
Şekil 4.5.	θ - HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	33
Şekil 4.6.	Heptaklor bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	34
Şekil 4.7.	Aldrin bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	34
Şekil 4.8.	Heptaklorepoksit bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	35
Şekil 4.9.	α - Endosülfan bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	35
Şekil 4.10.	4,4'-DDE bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	36
Şekil 4.11.	Dieldrin bileşiğine ait kalibrasyon grafiği.....	36
Şekil 4.12.	Endrin bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	37
Şekil 4.13.	β - Endosülfan bileşiğine ait kalibrasyon grafiği.....	37
Şekil 4.14.	4,4'-DDD bileşiğine ait kalibrasyon grafiği.....	38
Şekil 4.15.	Endrin aldehit bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	38
Şekil 4.16.	Endosülfan sülfat bileşiğine ait kalibrasyon grafiği.....	39
Şekil 4.17.	4,4'-DDT bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	39
Şekil 4.18.	Endrin keton bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	40
Şekil 4.19.	Metoksiklor bileşiğine ait kalibrasyon grafiği	40
Şekil 4.20.	Pestisitlerin süttten ekstraksiyonunun GC-MS/MS kromatogramı	43
Şekil 4.21.	Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonunun GC-MS/MS kromatogramı.....	46

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Her yıl yeni tarım ilaçlarının kullanımına yer verildiği ülkemizde yılda ortalama 35.000 ton tarım ilacı kullanıldığı bilinmektedir [1]. Tarım ilaçları, çevre ve gıdalar aracılığı ile insan vücuduna alınmakta, kan, süt ve yağ dokusunda birikmekte ve uzun yarılanma ömürleri nedeniyle yaşam süresince vücutta kalarak özellikle bağışıklık sisteminde, üreme sisteminde ve hormonal sistemde ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadırlar.

Gıdaların üretimi, işlenmesi, depolanması ve taşınması sırasında hayvan yemlerini ve diğer tarımsal ürünleri kontrol ederek, hastalık ve zararlı etmenleri yok etmek için kullanılan herbisit, sebze ve meyvelere düzgün bir şekil kazandırmak amacıyla bitkinin büyüme hızını düzenlemek üzere kullanılan maddelere ise böcek öldürücü ya da pestisit adı verilmektedir. Söz konusu bu kimyasal maddelerin ürünler üzerindeki kalıntılarına da pestisit kalıntıları ismi verilmektedir [2].

Gıdalarda kirlenmeye neden olan çeşitli yapıda ve sayıda madde bulunmaktadır. Bunlardan bazıları bitkilerin bazıları ise gıdaların yapısında doğal olarak bulunurken; bazıları da biyolojik veya kimyasal kirletici olarak bulunurlar. Pestisitlerde gıdalarda kimyasal kirleticiler sınıfında yer alırlar [3].

Hayvanlarda, bitkilerde veya tarım ürünlerinde kullanılan ilaç ve kimyasal maddelerin çoğu, canlıların vücudunda kısmen parçalanarak etkisiz hale gelirken bazıları da (organik klorlu bileşikler, poliklorobifeniller, polibromobifeniller,

metaller, bazı mantar ilaçları gibi) çok yavaş bölünmelerinden dolayı, giderek artan miktarlarda birikmekte ve böylece gıda yoluyla insana kadar ulaşabilmekte [3].

Tarımsal ilaçlar suya, sebze ve meyvelere, tarım ürünlerine ve bu ürünlerle beslenen hayvanların et ve sütüne geçmektedirler. Zirai ilaçların kullanımı bir yandan tarımsal üretimi arttırırken diğer yandan da bu ilaçların bilinçsiz veya yanlış kullanımı sonucu doğrudan ya da dolaylı olarak canlı ve çevre sağlığını tehdit etmektedir. Pestisitlerin önerilen dozların üzerinde kullanılmaları, gerekmediği halde birden fazla pestisit karıştırılarak kullanılması veya tarla ilaçlamalarındaki kurallara dikkat edilmediği durumlarda gıda maddelerinde fazla miktarda birikmektedir. Yüksek dozda pestisit kalıntısı içeren bu gıdalar ile beslenen insanlar ve diğer canlılarda, akut ya da kronik zehirlenmeler görülebilmektedir [4].

Besin değeri olan hayvanlarda hastalıkların önlenmesi, kontrolü ve gelişiminin hızlandırılması, yemden yararlanma etkinliğinin artırılması amacıyla hayvanlara doğrudan veya yemlerine ve sularına katılarak uygulanan ilaçların kullanımlarından sonra, hayvanların doku ve organlarında ya da hayvanlardan elde edilen et ve süt gibi yenilebilir ürünlerde biriken veya depolanan ilaçlar ve bunların metabolitleri, parçalanma ürünleri, serbest veya bağlı haldeki ilaç ya da kimyasal maddelerin hepsi kalıntı olarak nitelenir. İlaç ve kimyasal maddenin, insan ve hayvanlar tarafından tüketilene kadar gıdalarda ve yemlerde bulunmasına izin verilen en fazla miktar maksimum kalıntı limit düzeyi veya güvenli miktar (MRL) olarak ifade edilir. Ağırlık/ağırlık esasına göre $mg\ kg^{-1}$, $\mu g\ kg^{-1}$ ile gösterilir. Doku ve organlardaki tolerans düzeyinin üzerindeki kalıntı miktarı toksikolojik olarak önem taşır ve insan sağlığı açısından tehlikeli kabul edilir [5-7].

Bahsedilen bu ilaç kalıntılarının istenmeyen etkilerinden kaçınmak için gıdalardaki ilaç ve kimyasal madde kalıntılarını ortaya koymak amacıyla güvenilir ve tekrarlanabilir analiz yöntemleri geliştirilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Gıda ve Tarım Örgütü (GTÖ), Avrupa Birliği'nin ilgili komisyonları, ABD'deki Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ülkemizde Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı gibi önemli ve güvenilir kurum ve kuruluşlar, yaptıkları çalışmalarla, meyve, sebze, et, yumurta, süt ve süt ürünleri gibi gıdalarda bahsedilen ilaçların kalıntılarının meydana getirebilecekleri ekonomik ve sosyal olumsuzlukların önlenmesi için çalışmalar yapmaktadır ve bu çalışmalar sayesinde tarım ilaçları kullanımı alanında etkin bir kontrol sağlanarak tüketici sağlığını korumaktadır. Bu amaçla ülkemizde de Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığınca, pestisitlerin de dahil olduğu bir Ulusal Kalıntı İzleme Planı yürütülmektedir [8].

BÖLÜM 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. Süt

Bir veya daha fazla süt hayvanından elde edilen, içerisine herhangi bir madde ilave edilmemiş veya içerisinden herhangi bir madde alınmamış, sıvı halde tüketime hazır olan ya da ileri gıda üretim işlemine tabi tutulacak olan normal meme bezi salgısına süt denir. Herhangi bir sıcaklık işleminin uygulanmadığı (ısıtma, kaynatma vb.) veya 40°C'nin üzerindeki bir sıcaklıkta işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısına ise çiğ süt denir [9,10].

Süt diğer gıdalara oranla daha besleyici ve daha fazla yaşamsal besin öğelerini içeren bir gıda maddesidir. İçerdiği bu besin öğeleri vücudun gelişebilmesi için gerekli olan organik ve inorganik maddelerden oluşur ve bu besin öğeleri organizma tarafından kolayca alınabilmekte ve sindirilebilmektedir. Sayılan tüm bu özelliklerinden dolayı süt, beslenme uzmanları tarafından temel gıda maddesi olarak kabul edilmektedir [11].

2.1.1. Sütün genel bileşimi

Sütün bileşimi türler arasında oldukça değişiklik göstermektedir ve bu durum Tablo 2.1' de gösterilmiştir [9]. Sütün bileşimini etkileyen en önemli faktörler ise; iklim şartları, beslenme şekli, hayvanın türü ve ırkı, mevsimsel değişimler, laktasyon dönemi, hastalıklar ve çevresel faktörlerdir [12].

Tablo 2.1. Çiğ sütün tür özellikleri

	%Protein	% Asitlik	%Yağ	%Yağsız kuru madde	Yoğunluk (g/cm³)
İnek sütü	2,8	0,13-0,20	3,5	8,5	1,028
Koyun sütü	3,1	0,16-0,35	5,5	10	1,030
Keçi sütü	2,8	0,15-0,28	4,1	8,5	1,026

Süt proteinleri; kazein, α -laktoalbumin, β -laktoglobulin, immunoglobulin (IgG1, IgG2, IgA, IgM), serum albumin, ve proteoz-pepton dur. Süt proteinlerinin biyolojik değeri, bitkisel proteinlere göre daha yüksektir. Süt yağı ise; enerji kaynağı olup ve vücudumuz için elzem olan ve yağda eriyen A, D, E, K vitaminlerinin taşınmasını sağlar [13,14].

Süt kalsiyum, sodyum, potasyum, magnezyum, fosfat, klor, sülfat, bakır, çinko, alüminyum ve demir gibi birçok, önemli mineralleri ve vücudun ihtiyaç duyduğu esansiyel aminoasitlerinde neredeyse tamamını bünyesinde bulundurur [12,15].

Süt ve ürünlerindeki kalsiyum; kemik ve dişlerin gelişiminde ve yapısının korunmasında etkiliyken bünyesinde bulundurduğu C ve B12 vitaminleri sayesinde anemi hastalığında ve zeka gelişiminde etkili, deri ve göz sağlığı için ise gereklidir [16].

Sonuç olarak sütte yukarıda sayılan ve doğal olarak bulunması gereken bileşenler dışında yardımcı maddeler ve bulaşanların bulunması birçok yönden istenmemektedir.

2.1.2. Sütte pestisit kalıntıları

Tarım ilaçlarının doğrudan ve bilinçsizce çevreye uygulanması ile kullanılan pestisit atıklarının sağılan hayvanlara bulaşma riski oldukça fazladır. Hayvanların meme bezinde bulunan kılcal damarlar, ilaçların süte geçmesi bakımından biyolojik zar görevi görürler. Sistemik olarak uygulanan; yağda çözünebilir, yüksek yoğunluklarda, suda çözünebilir ve iyonlaşabilir bileşikler veya tarım ilaçları meme bezi dokusuna, böylelikle de süte geçerler [16].

Dolayısıyla süte geçebilen bu maddeler hayvan sağlığı üzerine herhangi bir olumsuz etkide bulunmazken, süte gıda güvenliğini tehdit edebilecek bir etki gösterirler. Diğer yandan sütteki bu pestisit kalıntıları, sütün krema, peynir, tereyağı gibi konsantre ürünlere işlenmesi sırasında yoğunlaşarak insan sağlığı açısından daha tehlikeli boyutlara ulaşabilmektedir [4].

Süte geçebilen doğal nitelikteki bitkisel kaynaklı zehirli maddeler, pestisitler, mikotoksinler, metaller, çevre kirleticiler ve veteriner hekimlikte kullanılan ilaçlar, süt ve süt ürünlerinin halk sağlığı yönünden tehlikeli olmasına yol açarlar. Bu maddelerden bazıları bitkilerin ve dolayısıyla gıda maddelerinin yapısında doğal olarak, bazıları ise biyolojik veya kimyasal kirleticiler olarak bulunurlarken; bazıları da gıda maddelerinin korunması ve benzeri amaçlarla gıda maddelerine dışarıdan istemli olarak katılırlar. Süt ve süt ürünleri dünyanın birçok ülkesinde insanların temel gıda maddelerinden birini teşkil etmekte ve bu nedenle de diyetlerdeki belli başlı kalıntı ve bulaşanların en önemli kaynaklarından biri olarak potansiyel bir tehlike oluşturmaktadırlar. Bu durum özellikle, yetişkinlerden daha fazla süt ve süt ürünlerini tüketen bebekler ve çocuklarda daha fazla önem taşımaktadır. Bu nedenle

süt ve süt ürünlerinde mevcut bulaşanların ve bu bulaşanların kalıntılarının yoğunluklarının mümkün olan en düşük düzeyde olması gerekmektedir [18].

Bu nedenle üretilen her yeni pestisit, piyasaya sunulmadan önce farmakolojik ve toksikolojik testlere tabi tutulup, tolerans sınırının önceden belirlenmesi zorunludur [19].

2.1.3. Pestisitlerin süte bulaşma yolları

Pestisitlerin süte bulaşma yollarına bakıldığında, iki kısımda incelendiği görülmektedir. Bunlar; sağım öncesi bulaşma ve sağım sonrası bulaşmadır. Sağım öncesi bulaşma; doğrudan ve dolaylı bulaşma olarak ikiye ayrılmaktadır. Doğrudan bulaşma, hayvanın ilaçlanması ya da hayvanın bulunduğu ahırın dezenfeksiyonu sırasında hayvanın solunum ve deri yoluyla ilacı alması, tarlaların ilaçlanması sırasında da hayvanın ilaca maruz kalmasını içermektedir. Dolaylı bulaşma ise, hayvanın yediği yemler ve su yoluyla olan bulaşmadır. Kalıntı bırakan ilaçların sağım sonrası bulaşmasında ise, gerekli koruyucu önlemler alınmadan yapılan ilaçlamalar sonrasında süt kaplarının ve sağım ekipmanının pestisitlerle bulaşması söz konusudur. Bu tür bulaşmanın daha çok süt toplama merkezlerinde ve fabrikalarda olduğu bildirilmektedir [20].

2.1.4. Süt ve süt ürünlerinden pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması

Günümüzde pestisitlerin zararlı etkilerini en aza indirmek amacıyla teknolojik işlemlerin etkinlikleri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmakta, süt ve ürünlerinde en çok uygulanan yöntemler arasında ışınlama, ısı işlemler ve bazı katkı maddelerinin

ilavesi gösterilmektedir. Işınlama yönteminde; x, B, alfa, gama ışınlarının uygulanması, pestisit kalıntılarının azaltılması üzerinde etkili bir yöntemdir. Yapılan bir çalışmada 1 mg kg⁻¹ konsantrasyonunda metoksiklor, DDT ve heptaklor içeren ambalajlanmış süt ve tereyağları UV ışınlarına maruz bırakılmış ve üç pestisit de parçalandığı belirtilmiştir. Bir kimyasal madde olan hidrojen peroksidin kullanılması ile pestisit kalıntılarının parçalandığı bildirilmiştir [4].

Sütlerdeki pastörizasyon, sterilizasyon ve UHT uygulamalarının; peynir veya yoğurt yapımı sırasındaki fermentasyon işleminin, pestisit kalıntıları üzerinde pek etkili olmadığı; yağda kolay çözünmeleri nedeniyle pestisitlerin çoğunun peynir, krema ve süt yağında daha fazla miktarda bulunabileceği ifade edilmiştir [21].

Konu ile ilgili olarak bazı araştırmacılar yaptıkları bir çalışmada süt ve kremanın pastörizasyonu esnasında triklorfon ve diklorvosun pastörizasyondan etkilenmediğini, süt tozu elde edilirken dichlorvosun %65'inin, triklorfonun %35'inin evaporasyon sırasında kısmen buharlaşmaya uğradığını kısmen de parçalanma nedeniyle kaybolduğunu ve triklorfonun dışındaki diğer pestisitlerin ise yağda biriktiği bildirilmiştir [2].

2.2. Pestisitler

'Pest' kavramı, ürünlere, insanlara ve hayvanlara zarar veren canlıları ifade eder (böcekler, fareler, istenmeyen bitkiler, bakteri, virüs gibi çeşitli mikroorganizmalar). Pestisitler ise zararlı böceklerin ve bitkilerin etkilerinin önlenmesi, yok edilmesi, uzaklaştırılması veya azaltılması için kullanılan madde ve madde karışımı olarak tanımlanırlar [22].

Pestisitlerde aranılan en önemli özellik, zararlı hayvan ve böceklere karşı zehirli, ancak memeli hayvanlara ve insana karşı zehirsiz olmasıdır. Fakat pestisitlerin büyük çoğunluğu hem memeli hayvanlar hem de insanlar için aynı oranda zehirlidir. Ayrıca bazı pestisitler kullanıldığı bitki, toprak ve su ortamında yıllarca parçalanmadan kalabilmeleri nedeniyle tüm canlıların vücudunda birikime uğrarlar [23].

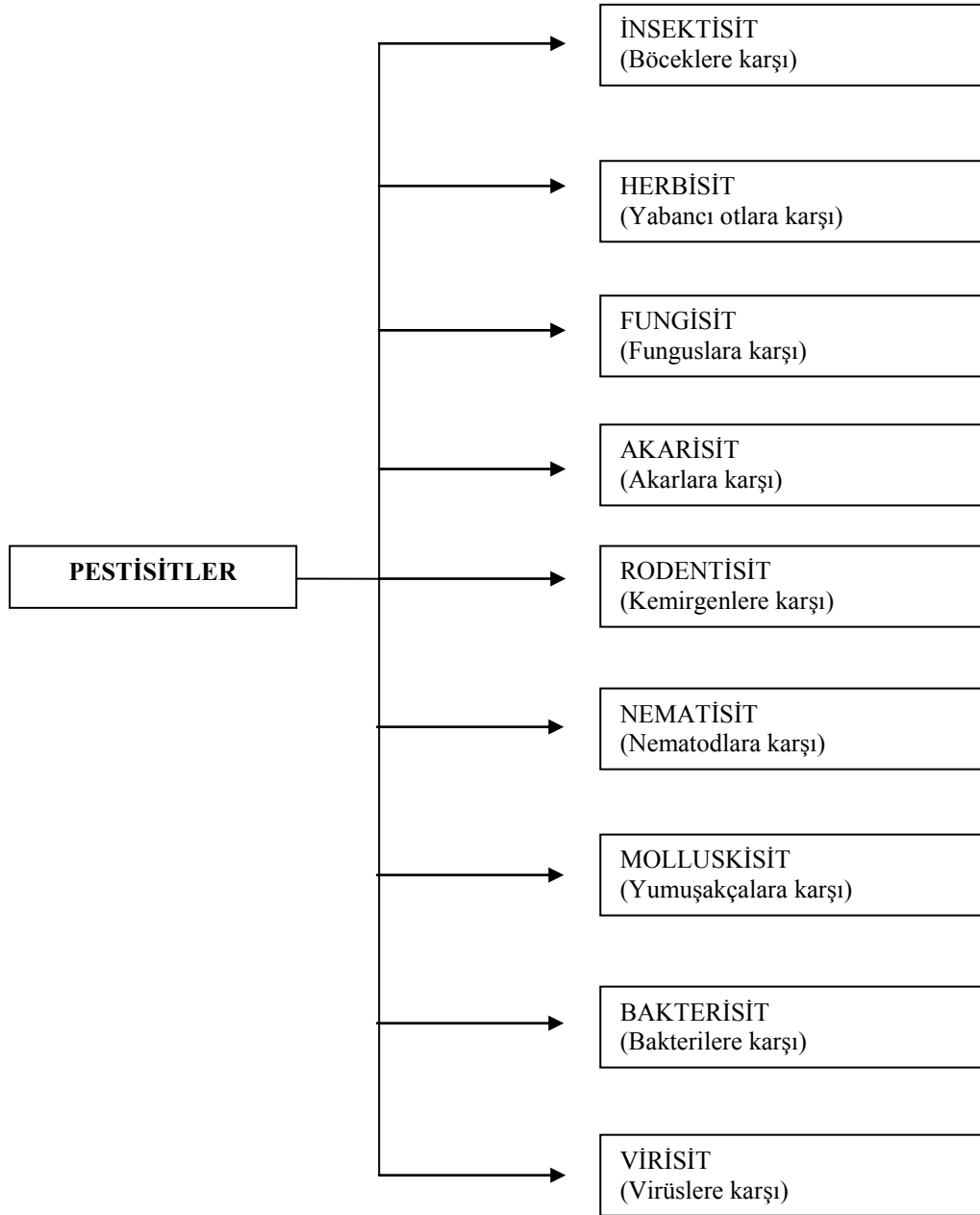
Pestisit kalıntıları, gıda, tarımsal ürün veya hayvan yeminde pestisit kullanımı sonucu biriken herhangi bir madde veya maddeler grubudur. Pestisit kalıntıları çevrede parçalanmadan uzun süre kalabilmekte ve kalıntıları toprak, su ve havadan bitkilere geçerek buradan da gıda zinciri yoluyla hayvan ve insan tarafından alınarak dokularda birikmekte ve son derece zararlı etkilere neden olabilmektedirler. Pestisit kalıntıları, pestisitlerin dönüşüm ürünleri, metabolitleri, reaksiyon ürünleri ve toksikolojik önemi olan safsızlıklar gibi tüm pestisit türevlerini içerirler. Bu kimyasal değişme veya parçalanma ürünleri de son kalıntı olarak ifade edilir [24].

2.2.1. Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitler çok değişik şekilde sınıflandırılmaktadırlar. Bu sınıflandırmalarda; kullanıldıkları zararlı grup, kimyasal yapı, toksite, formülasyon şekli, kullanma tekniği, ilacın fiziki hali, etki şekli, zararlının biyolojik dönemi, kontrol ettiği zararlının bulunduğu yer gibi kriterler etkilidir [25,26].

2.2.1.1. Kullanıldıkları zararlı grubuna göre

Kullanıldıkları zararlı grubu dikkate alınarak etken maddelerine göre pestisitlerin sınıflandırılmaları Şekil 2.1'de gösterildiği gibi yapılmaktadır [4].



Şekil 2.1. Kullanıldıkları zararlı grubuna göre pestisitlerin sınıflandırılması

Zararlı mücadelesinde kullanılan pestisit aktif maddelerinin % 37'si herbisit, % 24'ü insektisit, % 9'u fungusit ve % 29'u diğerk gruplara aittir [27].

2.2.1.2. Kimyasal yapılarına göre

Pestisitler kimyasal yapılarına göre organik klorlu pestisitler, organik fosforlu pestisitler ve karbamat grubu pestisitler olmak üzere üç ana başlık altında sınıflandırılmışlardır.

2.2.1.2.1. Organik klorlu pestisitler

Uygulamaya ilk konulan en önemli klorlu pestisit, DDT (diklorodifeniltrikloretan) dir. İlk kez 1847 yılında sentez edilmiştir. İnsektisidal özelliği ancak 1939 yılında Paul Müller tarafından açıklanmış ve ikinci dünya savaşından sonra da Malaryada, tifüs, tifo, lekeli humma ve kolera gibi salgın hastalıklara karşı insektisit olarak uzun yıllarca kullanılmıştır [28].

Bu grupta bulunan bileşiklerin tamamı yapılarında karbon-klor bağları da dahil olmak üzere, karbon, klor, hidrojen ve oksijen bulundurmaları, siklik karbon halkasına sahip olmaları, suda çözünmemeleri fakat yağda iyi çözünmeleri gibi birçok ortak özellik taşırlar [3].

Bu gruptaki pestisitler kimyasal açıdan diğerk pestisit gruplarına göre çok daha dayanıklıdır ve çevredeki bu dayanıklılıkları yıllarla ölçülüdür [29].

Bu bileşiklerde kendi içerisinde kimyasal yapılarına göre çeşitli alt gruplara ayrılırlar. Bunlar, heksaklorosikloheksan izomerleri (lindan gibi), siklodien grubu

(aldrin, dieldrin, endrin, endosulfan gibi), DDT ve izomerleri (metoksiklor, dikofol, klorobenzilat gibi)'dir [3].

Organik klorlu pestisitler, yağda çözünme özellikleri nedeniyle hayvanların vücut yağlarında depolanmaya eğilim gösterirler. Bu depolanma ana bileşik şeklinde olduğu gibi çeşitli metabolitlere dönüştükten sonra da meydana gelebilir. Örneğin, DDT memeli hayvanların vücudunda *p,p'*-DDT, *o,p'*-DDT halinde ve aynı zamanda dehidroklorinasyona uğrayarak DDE (1,1-dikloro-2,2-bis (*p*-klorofenil) etilen) şeklinde toplanır ve DDA (bis – *p* – klorofenil asetik asit) şekline çevrilerek idrarla atılır [30].

Bu gruba dahil olan pestisitlerin bozunma türevlerinin de hangi ürünler olduğu önemlidir. Örneğin; aldrin dieldrin'e, malathion maloxon'a, parathion paraxon'a ve heptaklor heptaklorepoksit haline dönüştükten sonra depolanırlar [30,31].

Yıllar geçtikçe organik klorlu pestisitlerin çeşitli zararları olduğu ortaya çıkmıştır. İlk olarak 1960'lı yıllarda, kullanımının başlamasıyla birlikte kuşlarda ölüm oranını arttırdığı ve üreme performansı üzerine olumsuz etki ederek yumurta kabuğunda incelmelere neden olduğu bildirilmiştir [32].

Yapılan deneysel çalışmalarda bu bileşiklerin hormonal sistem üzerinde de istenmeyen etkilerinin olduğu ortaya konmuştur. DDT'nin *op'* izomerlerinin östrojenik etkisi olduğu, α ve β östrojen reseptörü üzerinden etki gösterdiği belirtilmiştir. Organik klorlu pestisitlerin diğer gruplara göre çok daha fazla kullanılmalarından ve daha dayanıklı olmalarından dolayı çevre kirliliği meydana getirdikleri bilinmektedir. [27].

Bu gruba ait pestisitlerin, 1970'li yıllarda toksik etkilerinin ortaya konması ile birçok gelişmiş ülkede kullanımları sınırlandırılmış veya yasaklanmıştır [33].

Ülkemizde ise lindan ve aldrinin kullanımları 1979 tarihinde yasaklanmış, DDT ve HCH'nin uygulamaları ise 1978 yılında sınırlandırılmış, 1985 yılında ise tamamen yasaklanmıştır [34].

2.3. Pestisitlerin Gıdalarda Analiz Yöntemleri

Pestisitlerin bitkisel ve hayvansal kökenli gıdalarda analizi için birden fazla metot geliştirilmiştir. Geçmişte aldrin, lindan, DDT ve izomerleri gibi bileşiklerin analizinde kolorimetrik ve kromatografik yöntemlerden faydalanılmıştır. Kromatografik yöntemler arasında kâğıt kromatografi, ince tabaka kromatografi ve gaz kromatografi (GC)-elektron yakalama detektörü (ECD) yer almaktadır. Bu bileşikler yapılarında klor içerdiklerinden dolayı GC-ECD ile oldukça duyarlı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak günümüzde GC-ECD den çok daha fazla duyarlı, GC-MS/MS cihazları kullanılmaya başlamıştır. Metotlarda analiz öncesi ekstraksiyon ve temizleme işlemi önemli aşamaları oluşturmaktadır. Süt gibi yağ içeren örneklerin analizinde ekstraksiyon için; asetonitril, hekzan/aseton, aseton, petrol eteri, etil asetat, metilen klorid ve kloroform gibi organik çözücüler kullanılmaktadır. Sütten süt yağının ekstraksiyonunda ise; asetonitril ve petrol eterinden faydalanılmaktadır [3,35].

2.4. Çalışmada Seçilen Bazı Pestisitlerin Özellikleri

2.4.1. Aldrin

Aldrin, özellikle mısır, pamuk ve patates üretiminde beyaz karıncalar gibi toprak zararlılarını kontrol etmek amacıyla kullanılan bileşiklerdir. Bitkilerde ve

hayvanlarda aldrin, yoğun asit ve fenol içeren ortamlarda çok hızlı bir şekilde dieldrin bileşimine dönüşmektedir [36].

2.4.2. Dieldrin

Dieldrin; aldrinin oksijenlenmiş bir metabolitidir ve çevrede aldrin'den daha kalıcıdır. Endrin'in stereo izomeri olup, topraktaki partiküllere sıkıca bağlanır ve yüzey sularında dirençlidir [37].

Hayvanlarda ve insanlarda depo şekli dieldrin'dir ve vücuttan çok yavaş bir şekilde uzaklaşır [38].

2.4.3. Lindan

Lindan, toprakta yaşayan ve bitkilerle beslenen böceklerle mücadele etmek için geniş amaçlı olarak kullanılan organik klorlu bir pestisittir. Çeşitli mahsullerin korunmasında, ambarlarda, böceklerden dolayı oluşan hastalıkların önlenmesinde kullanımı yaygındır. Teknik lindan, heksaklorosikloheksan kısaca HCH'nin gama izomeridir. Lindan'ın içerisinde beş farklı izomer de bulunmaktadır fakat gama izomeri % 99 oranındadır. Ayrıca gama izomeri en etkili olan izomerdir [39].

Çeşitli hayvanlarla yapılan deneyler sonucunda lindan'ın, merkezi sinir sisteminde, karaciğerde, böbreklerde ve pankreasta zehirli etki ettiği gösterdiği gözlenmiştir [40].

2.4.4. Endosülfan

Endosülfan, 1950'lerin ortalarında geliştirilmiş bir insektisittir. α ve β izomerlerden oluşur. Özellikle üzüm, çay, meyve ve sebzelerin yetiştirilmesinde kullanılır. Endosülfan izomerleri, suda parçalandığında endosülfan diole dönüşür. Toprakta ise parçalanma ürünü endosülfan sülfattır [41].

2.4.5. Heptaklor

Toprağa, tohuma ya da doğrudan yaprağa uygulanabilen sentetik yapılı ve kalıcı bir insektisittir. Heptaklor 1953-1974 yılları arasında tarımda sıkça kullanılmış ve bu kullanım sırasında toprağa ve yüzey sularına geçmiştir. Heptaklor molekülleri toprağa kuvvetlice bağlanan ve suda kolay çözünmeyen moleküllerdir. Ilıman topraklarda yarılanma ömürleri yaklaşık 2 yıldır [42].

2.4.6. Heptaklorepoksit

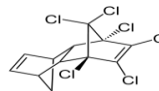
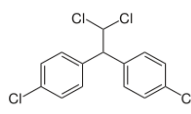
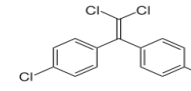
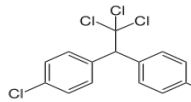
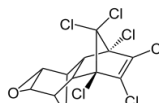
Heptaklorepoksit, heptaklorun en tehlikeli bozunma ürünüdür. Heptaklor, bir saat kadar kısa bir süre içerisinde heptaklorepoksite dönüşmektedir. Üretimi yapılan veya heptaklor gibi pestisit olarak kullanılan bir madde değildir. Toprakta daha kalıcıdır. Kullanımı 52 ülkede yasaklanmış ve 7 ülkede kısıtlanmıştır [43].

2.4.7. DDT

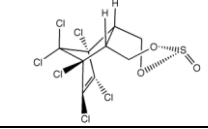
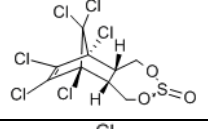
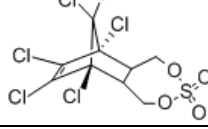
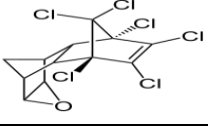
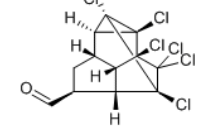
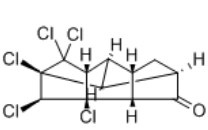
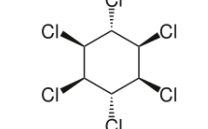
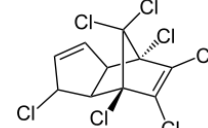
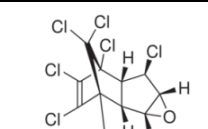
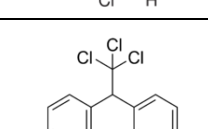
Uzun yıllar hem tarımsal alanda çeşitli haşerelere karşı hem de halk sağlığı alanında özellikle vektörlerle taşınan salgın hastalıkların mücadelesinde insektisit olarak kullanılmıştır. Kimyasal yönden son derece dayanıklı, suda çözünmeyen; klor içeren çözücülerde iyi derecede çözünen, polar çözücüler ve petrol yağlarında ise orta derecede çözünen bir yapıya sahiptir. Ergime noktasının üstündeki derecelerde ve alkali çözeltilerde deklorinasyona uğrayarak insektisit etkisi olmayan DDE metabolitine dönüşür. WHO'nun zehirlilik sınıflandırmasına göre orta derecede zehirli sınıfta yer almaktadır [35].

Çalışmada kullanılan pestisit bileşiklerinin molekül yapıları Tablo 2.2'de verilmektedir.

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisit bileşiklerinin moleküler yapıları

Pestisitler	Molekül formülü	Molekül ağırlığı (g/mol)	Yapısı
Aldrin	$C_{12}H_8Cl_6$	364.91	
4,4'-DDD	$C_{14}H_{10}Cl_4$	320.04	
4,4'-DDE	$C_{14}H_8Cl_4$	318.02	
4,4'-DDT	$C_{14}H_9Cl_5$	354.49	
Dieldrin	$C_{12}H_8Cl_6O$	380.91	

Tablo 2.2. (devam) Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisit bileşiklerinin moleküler yapısı

α – Endosülfan	$C_9H_6Cl_6O_3S$	406.95	
β – Endosülfan	$C_9H_6Cl_6O_3S$	406.93	
Endosülfan - sülfat	$C_9H_6Cl_6O_4S$	422.92	
Endrin	$C_{12}H_8Cl_6O$	380.91	
Endrin aldehit	$C_{12}H_8Cl_6O$	380.91	
Endrin keton	$C_{12}H_9Cl_5O$	346.46	
α , β , θ , γ HCH	$C_6H_6Cl_6$	290.83	
Heptaklor	$C_{10}H_5Cl_7$	373.32	
Heptaklorepoksit	$C_{10}H_5Cl_7O$	389.32	
Metoksiklor	$C_{16}H_{15}Cl_3O_2$	345.65	

2.5. Gıdalarda Pestisit Kalıntıları ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Pestisit kalıntıları ile ilgili tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli yasal düzenlemeler yapılmıştır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından pestisitlerin gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limitleri (MRL) tespit edilmiştir. Ülkemizde ise 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi, 11.01.2005 tarih ve 25697 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan "Gıdalarda Maksimum Bitki Koruma Ürünleri Kalıntı Limitleri Tebliği, Tebliğ No 2004/42" ve 9 Mart 2007 tarih ve 26457 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan "Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ, Tebliğ No 2007/17" ile pestisitlerin gıdalarda bulunmasına izin verilen MRL düzeyleri belirlenmiştir [7, 44, 45]. Bununla birlikte Avrupa Birliği gıdalarda oluşan kalıntıların takip edilmesi ve gerekli tedbirlerin alınması amacıyla "Kalıntı İzleme Programı" oluşturmuştur [46, 47, 48]. Buna paralel olarak da Tarım Bakanlığı çeşitli gıda türleri ile birlikte sütlerde pestisit kalıntılarının takibi için "Ulusal Kalıntı Kontrol Planı'nı" yürürlüğe koymuştur [49]. Çalışmada kullanılan pestisit bileşiklerinin kabul edilebilir maksimum kalıntı limitleri Tablo 2.3'te verilmiştir [44].

Tablo 2.3. Süt ve süt ürünlerinde Türk Gıda Kodeksine göre pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri

Pestisit	Kabul edilebilir maksimum kalıntı limiti (mg kg ⁻¹)
Endrin*	0.0008
Aldrin*	0.006
Dieldrin*	0.006
Endosülfan*	0.004
Heptaklor*	0.006
Lindan*	0.010
DDT*	0.020

* "Yağda çözünür pestisit kalıntıları süt ürünüde yağ miktarı %2'den az ise, süt için verilen kabul edilebilir en yüksek değerin yarısı, yağ miktarı %2'den fazla ise, süt için verilen kabul edilebilir en yüksek değerin 25 katı olarak yağ üzerinden uygulanır."

2.6. Gaz Kromatografi – Tandem Kütle Spektrometre (GC-MS/MS)

2.6.1. Gaz kromatografisi (GC)

Gaz kromatografide (GC), numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. Ortamdaki diğer bileşiklerle etkileşime girmeyen (inert) bir hareketli gaz fazı ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz fazı, analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi analiti kolon boyunca taşımaktır [50].

2.6.2. Gaz kromatografisi ilkeleri

Kromatografi, karmaşık karışımlarda bulunan birbirine yakın özellikteki maddeleri ayırmak için kullanılan birçok farklı yöntemi içermektedir ve bu ayırmaların çoğu başka yöntemlerle yapılamamaktadır. Bütün kromatografik ayırmalarda numune, gaz, sıvı veya bir süper kritik akışkan olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş kendisiyle karışmayan bir durgun faz içinden geçmeye zorlanır. Bu iki faz, numune bileşenlerinin hareketli ve durgun fazlarda farklı oranlarda dağılacağı şekilde seçilir. Durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederler. Buna karşılık durgun faz tarafından zayıfça tutulan bileşenler hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri birbirinden nitel ve/veya nicel olarak analiz edilebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar [50].

2.6.3. Kütle spektrometre (MS)

Kütle spektrometre , geniş uygulama alanı olan ve maddelerin, elemental bileşimlerinin belirlenmesinde, organik, inorganik ve biyolojik moleküllerin yapılarının aydınlatılmasında, karmaşık karışımların nitel ve nicel analizlerinde, katı yüzeylerin yapılarının ve bileşimlerinin aydınlatılmasında, bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında kullanılan yararlı bir yöntemdir. Kütle spektrometrelerde, molekül üzerine genellikle 70 eV'luk yüksek bir enerji uygulanır. Yüksek enerjili elektronlar ile analit molekülleri arasındaki çarpışmalar moleküle genel olarak onu uyaracak kadar yüksek enerji verir. Uyarılmış molekülün durulması, sık sık parçalanma şeklinde olur ve daha düşük kütleli iyonlar ortaya çıkar. Diğer yüklü parçalanma ürünleri daha az miktarda oluşur. Elektron çarpması sonucu elde edilen pozitif iyonlar, kütle spektrometrenin slit aralığından geçirilir ve kütle/yük oranına göre bir kütle spektrumu halini alır. Her spektrumda en büyük olan pik temel pik olarak adlandırılır ve bu pik 100 değerine karşılık olarak kabul edilir. Geri kalan piklerin yükseklikleri bu temel pike oranlanarak, temel pikin yüzdesi cinsinden uygun yükseklikte verilir. Modern kütle spektrometreleri temel kabul edilecek piki seçecek ve diğer pikleri bu temel pike göre belirleyecek şekilde programlanırlar [50].

2.6.4. Tandem kütle spektrometre (MS-MS)

Bir başka önemli ikili yöntem de bir kütle spektrometrenin bir başka kütle spektrometre ile birleştirilmesidir. Bu birleşmede ilk kütle spektrometre, bir karışımdaki farklı bileşiklerin moleküler iyonlarını izole etmede kullanılır. Bu

iyonlar daha sonra ikinci kütle spektrometreye gönderilebilirler ve burada, ilk spektrometrede oluşan her bir iyon için ayrı ayrı bir dizi kütle spektrumu vermek üzere parçalanırlar. Bu tekniğe tandem kütle spektrometre, kısaca MS-MS adı verilmektedir. Bir tandem cihazında ilk spektrometrede yumuşak bir iyonlaştırma kaynağı (genellikle kimyasal iyonlaştırma) kullanılır, böylelikle birinci cihazdan çıkan iyonlar büyük ölçüde moleküler iyonlar veya protonlanmış molekül iyonlardır. Bu iyonlar, ikinci spektrometreye girdikten sonra ikinci bir iyon kaynağından geçerler. Genellikle bu ikinci iyon kaynağı, içinden helyum pompalanan alansız bir çarpışma haznesi içerir. Hızlı hareket eden ana iyonlarla helyum atomlarının çarpışması sonucu daha küçük iyonik parçalar oluşur. Bu küçük iyonların spektrumu ikinci spektrometre tarafından ortaya çıkarılır. Bu gibi uygulamalarda ilk spektrometre GC/MS ve LC/MS cihazlarında olduğu gibi kromatografi kolonunun yaptığı işi yapar, yani ikinci spektrometre, tek tek tanımak üzere, birinciden gelen bu iyonlardan daha küçük saf iyonik türler üretir. Kütle spektrometrenin ilk olarak gaz kromatografi daha sonra da sıvı kromatografi ile birleştirilmesi sonucu kompleks organik ve biyolojik karışımların analizinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Tandem kütle spektrometre de GC/MS ve LC/MS ile aynı avantajları sağlamaktadır, ancak bunlardan çok daha hızlıdır. Kromatografik bir kolonda ayırma birkaç dakikadan birkaç saate kadar değişen bir zaman aralığında yapılırken, tandem kütle spektrometre ile yapılan ayırmalar birkaç milisaniyede yapılabilmektedir. Buna ilaveten, kromatografik teknikler numunenin bol miktarda hareketli faz ile seyreltilmesini ve daha sonra hareketli fazın uzaklaştırılmasını gerektirir. Bu durum, bozucu etkileri artırabilir. Oysa tandem kütle spektrometre kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan kimyasal gürültünün daha az olması nedeniyle, diğer iki ikili kromatografik tekniğe oranla daha duyarlıdır. Tandem kütle spektrometrelerinin

başlıca sakıncası ise, diğer iki kromatografik tekniğe göre, daha pahalı cihazlar gerektirmesidir ve bu fiyat farkı da, tandemlerin kullanımını arttıka azalmaktadır [50].

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan cihazlar

Gaz kromatografi-kütle spektrometresi cihazı: Thermo Electron Trace 2000 GC -

Thermo Electron Polaris Q İyon Trap (Germany)

Azot altında buharlaştırma sistemi : Peak Scientific Inc. (Scotland)

Hassas terazi: Mettler Toledo, AX205 (Switzerland)

Otomatik pipet: Brand (10-100 µL ve 100-1000 µL)

Rotary evaporatör: Heidolph, Laborata 4001(Germany)

Santrifüj: Sigma, 3-18 K (Germany)

Tüp karıştırıcı: VWR, 444-1372 (Germany)

Ultrasonik banyo: Bandelin SONOREX (Germany)

Ultra saf su cihazı: Millipore, Milli Q -Gard 1 (France)

Disperser örnek parçalayıcı: Polytron, PT 3100D (Switzerland)

3.1.2. Kimyasal malzemeler

Aseton: MERCK (K42506720)

Asetonitril: MERCK (M100030)

Etanol: J.T.Baker (8006)

Etilasetat: Labkim (16110001)

n-hekzan: MERCK (K38506891)

Izooktan: MERCK (I461927)

Petrol eteri: Sigma Aldrich (40-60 °C) (24587)

Susuz sodyum sülfat: MERCK (A0252449)

Florisil: Alfa Aesar 60-120 mesh (10138634)

3.1.3. Standart çözeltiler

Pestisit standart çözeltisi olarak 2000 mg kg⁻¹ konsantrasyona sahip karışım kullanılmıştır (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Germany). Karışımın içerdiği pestisit bileşikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisit

α - HCH	Dieldrin
β - HCH	Endrin
γ - HCH (Lindan)	β - Endosülfan
θ - HCH	4,4' DDD
Heptaklor	Endrin aldehit
Aldrin	Endosülfan sülfat
Heptaklorepoksit	4,4' DDT
α - endosülfan	Endrin keton
4,4' DDE	Metoksiklor

İç standart çözeltisi olarak ise 100 mg kg⁻¹ konsantrasyon değerine sahip pentakloronitrobenzen kullanılmıştır (Absolute Standarts Inc.,USA).

3.1.4. Süt numuneleri

Analizi yapılan pastörize ve UHT süt örnekleri Kocaeli ili Gebze ilçesindeki süpermarketlerden, Mart–Ağustos 2012 tarihleri arasında 5 farklı UHT süt ve 3 farklı pastörize süt markası olacak şekilde, her marka kendi içerisinde farklı partileri temsil edecek şekilde satın alınmıştır [49]. Her bir örneğin miktarı 1 L'dir. Pastörize süt örnekleri soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş ve analiz yapılana kadar -18 °C'de, UHT süt örnekleri ise + 4 °C'de saklanmıştır. Süt örneklerinin temin edildiği marka ve numune sayısı Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Süt numunesi alınan markalar ve numune sayıları

Markalar	Numune Sayısı
A marka UHT Süt	12
B marka UHT Süt	12
C marka UHT Süt	12
D marka UHT Süt	12
E marka UHT Süt	12
F marka Pastörize Süt	9
G marka Pastörize Süt	9
H marka Pastörize Süt	9
Toplam	87

3.2. Metot

Pestisitlerin ekstraksiyonunda iki farklı yöntem geliştirilmiştir. Birinci yöntemde pestisitler doğrudan süttten ekstrakte edilmiş, ikinci yöntemde pestisitler süt yağından ekstrakte edilmiştir. Her iki yöntemde de ekstraksiyon metodu olarak sıvı/sıvı ekstraksiyonu kullanılmıştır. Çalışma boyunca süt örneklerindeki pestisit

analizlerinde aynı Gaz Kromatografi ve Ktle Spektrofotometri (GC-MS/MS) metodu ile çalışılmıştır. Sonuçların kantitatif olarak değerlendirilmesi için iç standart yntemi kullanılmıştır. Elde edilen metotların gvenilirliğini ispatlamak için her iki metodun metot validasyonu yapılmış ve metotların belirsizlik bütçesi çıkarılmıştır. Metotların geliştirilmesi için literatürde yapılan birçok çalışmadan faydalanılmıştır [51-62].

BÖLÜM 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmadaki ekstraksiyon yöntemleri, GC-MS/MS metodu, metot validasyonu ve belirsizlik hesaplaması ile ilgili yapılan çalışmalar ve çalışmaların sonundan elde edilen bulgular aşağıda anlatılmıştır.

4.1. Metotlar ve Metotlardan Elde Edilen Bulgular

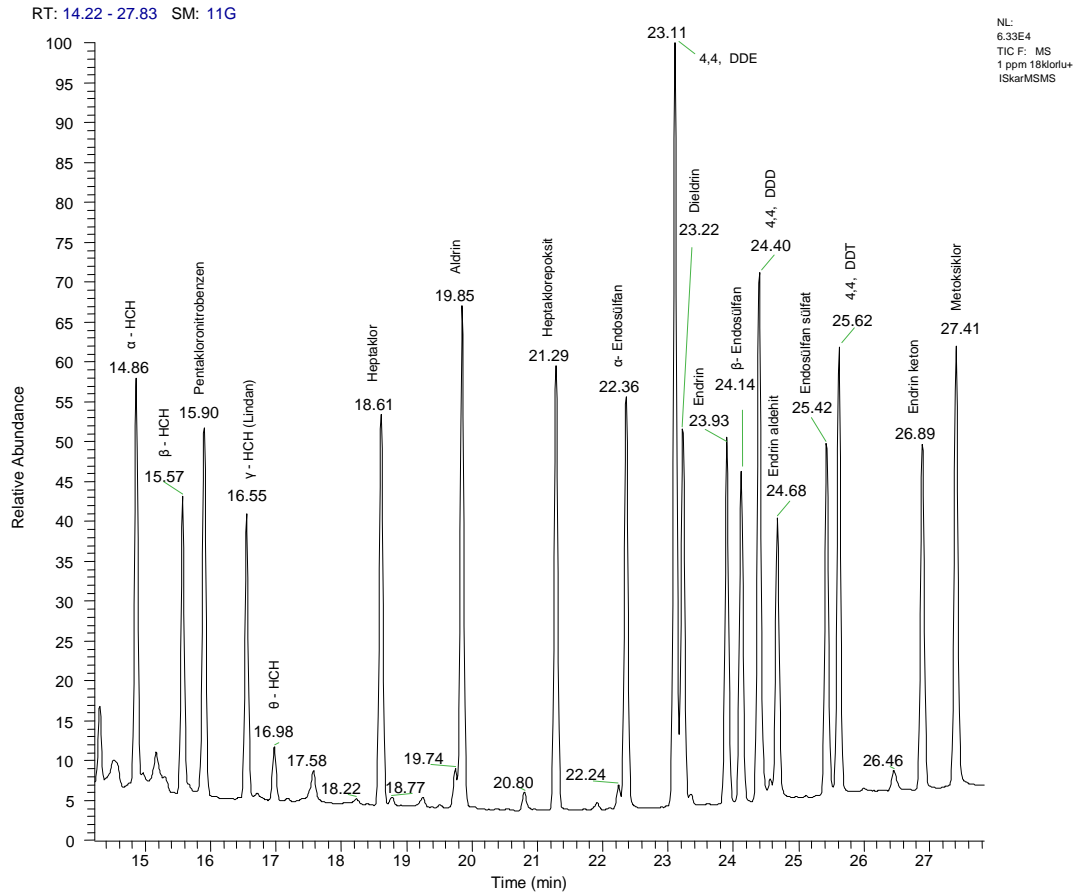
4.1.1. GC-MS/MS metodu

GC-MS/MS tayin metodu geliştirmek için 2000 mg kg⁻¹ konsantrasyonuna sahip 18 klorlu pestisit standart çözeltisi ve 100 mg kg⁻¹ konsantrasyonuna sahip pentakloronitrobenzen iç standart çözeltisinden 1 mg kg⁻¹ konsantrasyonunda bir karışım hazırlanmıştır. Geliştirilen metotta iyon kaynağı, enjeksiyon ve ara bağlantı sıcaklık değerleri sırasıyla 230 °C, 280 °C ve 280 °C dir. Taşıyıcı gaz olarak yüksek saflıkta 1 mL dk⁻¹ sabit akış hızında helyum kullanılmıştır. Splitless enjeksiyon koşulunda, kütle spektrometre kısmında iyonlaştırma türü olarak EI (elektron etki iyonlaştırma) tekniği kullanılmıştır. GC kolonu olarak 30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm film kalınlığı HT-5 özelliklerine sahip kolon kullanılmıştır. GC kısmında kullanılan sıcaklık programı Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. GC sıcaklık programı

	Hız (°C dk ⁻¹)	Sıcaklık (°C)	Bekleme Zamanı (dk)
Başlangıç		75	0
Birinci adım	8	190	2
İkinci adım	6	250	3

Belirlenen bu metot ile Şekil 4.1'de de görüldüğü gibi kromatogramda bileşiklere ait piklerin tam olarak ayrılması sağlanabilmiştir. Bileşiklere ait alıkönma zamanları Tablo 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan 18 klorlu pestisitlerin GS-MS/MS kromatogramı

Tablo 4.2. Çalışmada kullanılan 18 organik klorlu pestisit ve iç standardın alıkonma zamanları

Bileşik	Alıkonma Zamanı (dk)	Bileşik	Alıkonma Zamanı (dk)
α - HCH	14.86	Dieldrin	23.22
β - HCH	15.57	Endrin	23.93
Pentakloronitrobenzen	15.90	β - Endosülfan	24.14
γ - HCH (Lindan)	16.55	4,4'-DDD	24.40
θ - HCH	16.98	Endrin aldehit	24.68
Heptaklor	18.61	Endosülfan sülfat	25.42
Aldrin	19.85	4,4' - DDT	25.62
Heptaklorepoksit	21.29	Endrin keton	26.89
α - Endosülfan	22.36	Metoksiklor	27.41
4,4'-DDE	23.11		

Metot oluşturulurken, belirlenmesi gereken diğer iki parametrede, MS kısmında iyonlaşma üzerinde etkili olan voltaj ve izole edilmiş iyon (m/z) değerlerinin belirlenmesidir. Bu değerler göz önünde bulundurularak hedef analitlerin kantitatif ölçümü yapılmıştır. Elde edilen değerler Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. MS/MS metot parametreleri

Bileşik	İzole edilmiş iyon (m/z)	MA (g mol^{-1})	Voltaj
Aldrin	262.9	364.91	0.8
4,4-DDD	235.1	320.04	2
4,4-DDE	246.1	318.02	2
4,4-DDT	235.1	354.49	0.8
Dieldrin	263.0	380.91	1.4
α – Endosülfan	241.0	406.95	2
β – Endosülfan	243.0	406.93	2
Endosülfan sülfat	271.9	422.92	0.8
Endrin	243.0	380.91	2
Endrin aldehit	345.0	380.91	1.5
Endrin keton	316.9	346.46	2
α - HCH	181.0	290.83	2
β - HCH	181.0	290.83	2
θ - HCH	181.0	290.83	2
γ - HCH	181.0	290.83	2
Heptaklor	271.9	373.32	1
Heptaklorepoksit	253.0	389.32	2
Metoksiklor	227.2	345.65	1
Pentakloronitrobenzen	236.9	295.36	1

MS kısmında bileşiklerin doğru bir şekilde kantitatif tayinlerinin yapılması için bileşiklere ait olan izole edilmiş ürün iyonlarının tam olarak elde edilmesi gerekmektedir. Bunun için de molekül üzerine uygulanan voltaj önemli bir parametredir.

4.1.2. Kalibrasyon grafiklerinin oluşturulması

Kalibrasyon grafiklerinin oluşturulması amacıyla çalışmada kullanılan pestisitlerin izin verilen maksimum kalıntı limit konsantrasyon değerleri araştırılmış ve bu değerler göz önünde bulundurularak 18 klorlu pestisit standart karışımı ve iç standart ile kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan 18 klorlu pestisit karışımı için 100 mg kg^{-1} konsantrasyonunda birinci ara stok çözeltisi ve bu çözelti kullanılarak 2 mg kg^{-1} konsantrasyonunda ikinci ara stok çözeltisi gravimetrik olarak hazırlanmıştır. İç standart olarak kullanılan ve 100 mg kg^{-1} konsantrasyonundaki iç standarttan ise 2 mg kg^{-1} konsantrasyonunda ara stok çözeltisi gravimetrik olarak hazırlanmıştır. Daha sonra 2 mg kg^{-1} lık ana bileşen ve iç standart stok çözeltileri kullanılarak 5 farklı konsantrasyon seviyesinde gravimetrik olarak kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerde, ana bileşenlerin konsantrasyon değerleri her bir çözeltide farklı, iç standart çözeltisinin konsantrasyon değeri ise her bir çözeltide aynıdır. Çözücü olarak asetonitril kullanılmıştır. Tablo 4.4'te kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyon değerleri ($\mu\text{g kg}^{-1}$) ve Tablo 4.5'te kalibrasyon eğrisinden elde edilen determinasyon katsayıları (R^2) verilmiştir.

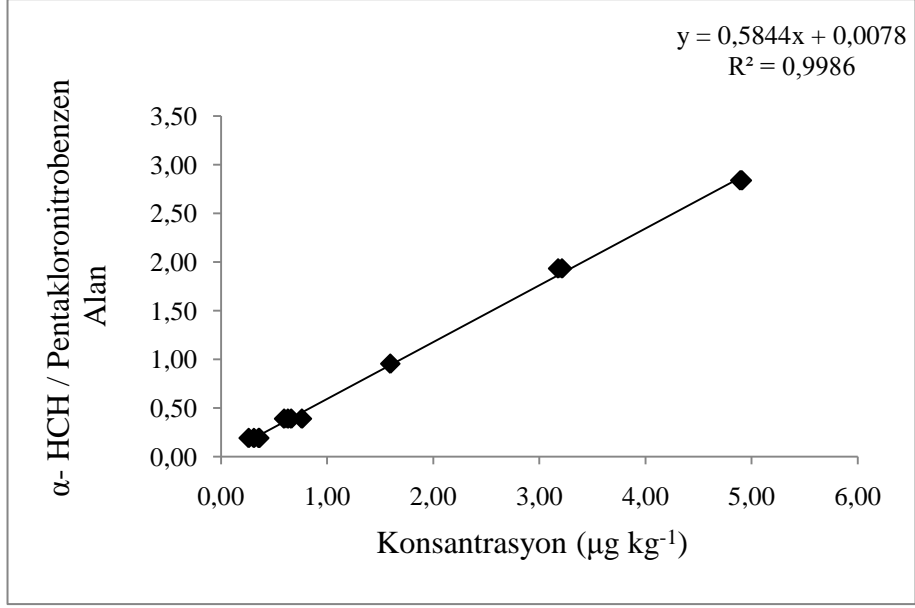
Tablo 4.4. Kalibrasyon çözeltileri konsantrasyon değerleri ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

Seviye	Ana Bileşenler (18 klorlu pestisit)	İç Standart
A	50	250
B	100	250
C	250	250
D	500	250
E	750	250

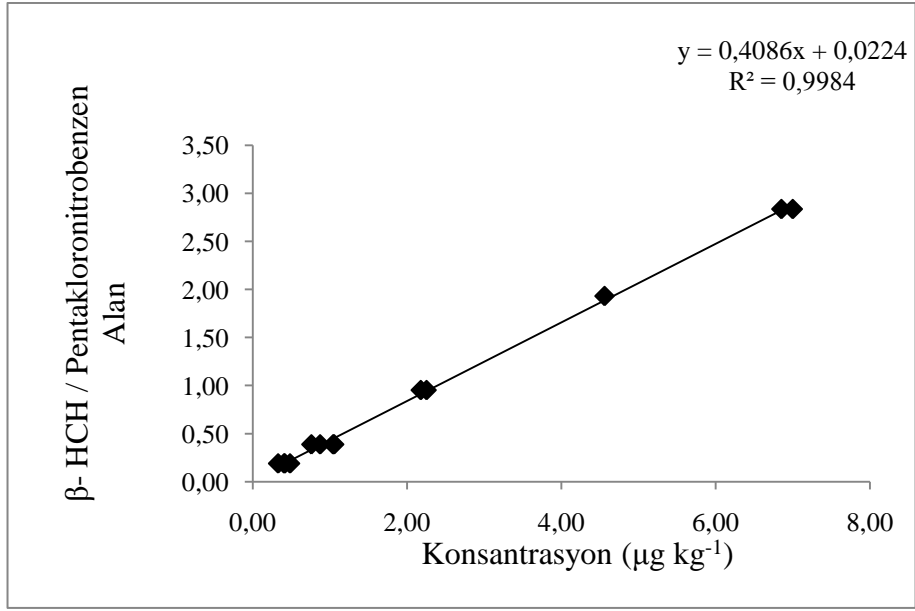
Tablo 4.5. Kalibrasyon eğrisinden elde edilen R^2 değerleri

Bileşik	R^2	Bileşik	R^2
α - HCH	0.9986	Dieldrin	0.9952
β - HCH	0.9984	Endrin	0.9982
γ - HCH (Lindan)	0.9982	β - Endosülfan	0.9967
θ - HCH	0.9983	4,4'-DDD	0.9983
Heptaklor	0.9972	Endrin aldehit	0.9985
Aldrin	0.9987	Endosülfan sülfat	0.9981
Heptaklorepoksit	0.9974	4,4'-DDT	0.9991
α - Endosülfan	0.9991	Endrin keton	0.9980
4,4'-DDE	0.9983	Metoksiklor	0.9969

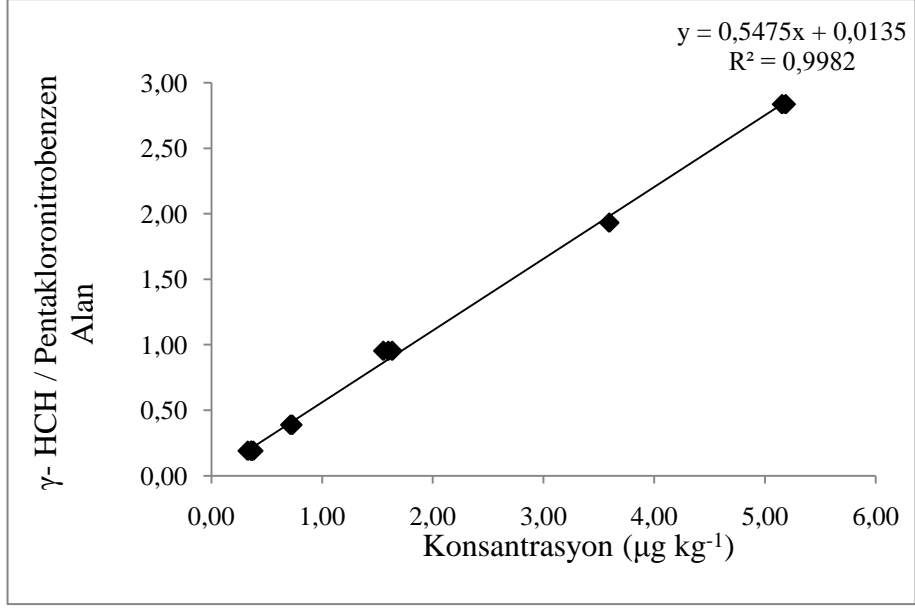
Çözeltilerin analiz edilmesinde elde edilen kalibrasyon grafikleri Şekil 4.2-4.19 arasında verilmiştir. Grafiklerde x-ekseni çözelti konsantrasyonunu, y-ekseni kromatogramda elde edilen pik altında kalan alanı temsil etmektedir.



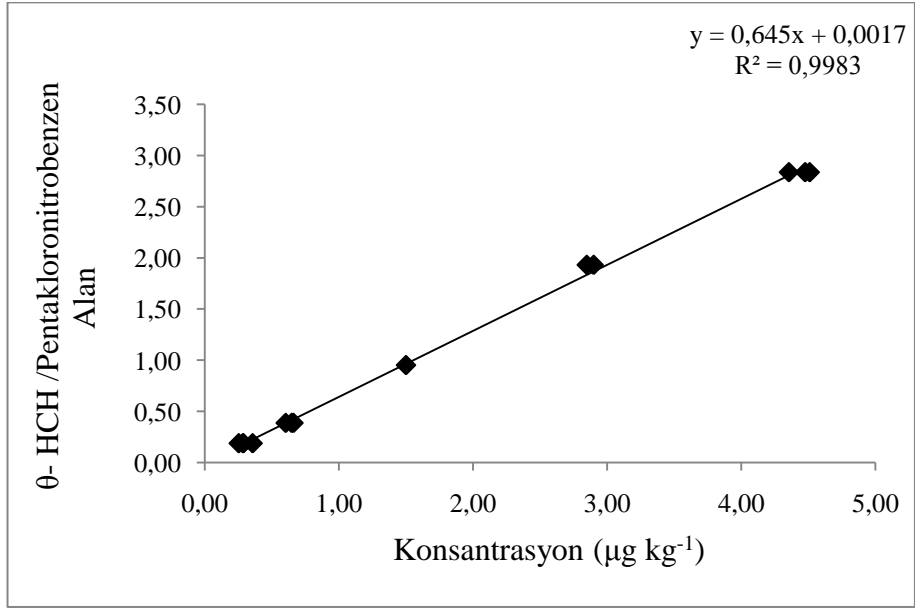
Şekil 4.2. α- HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



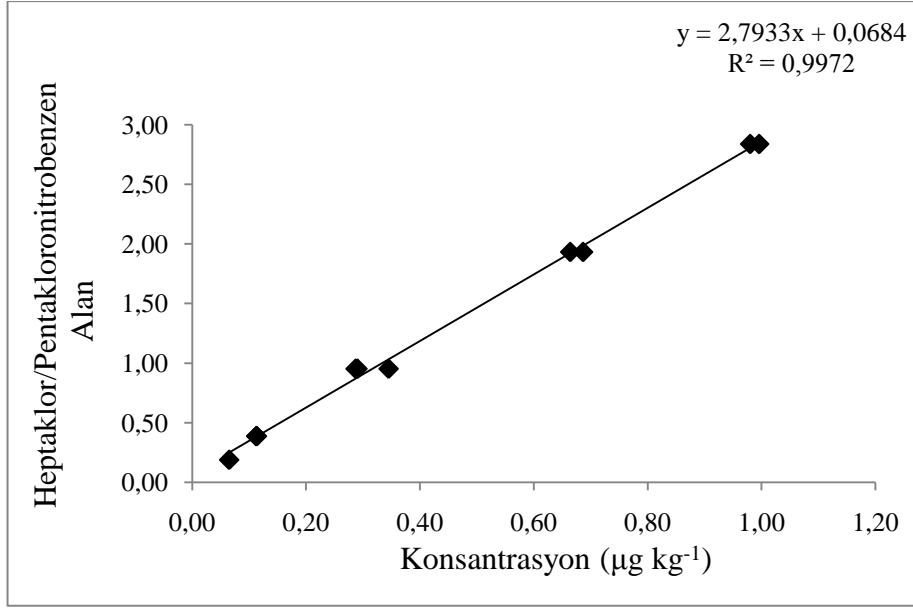
Şekil 4.3. β- HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



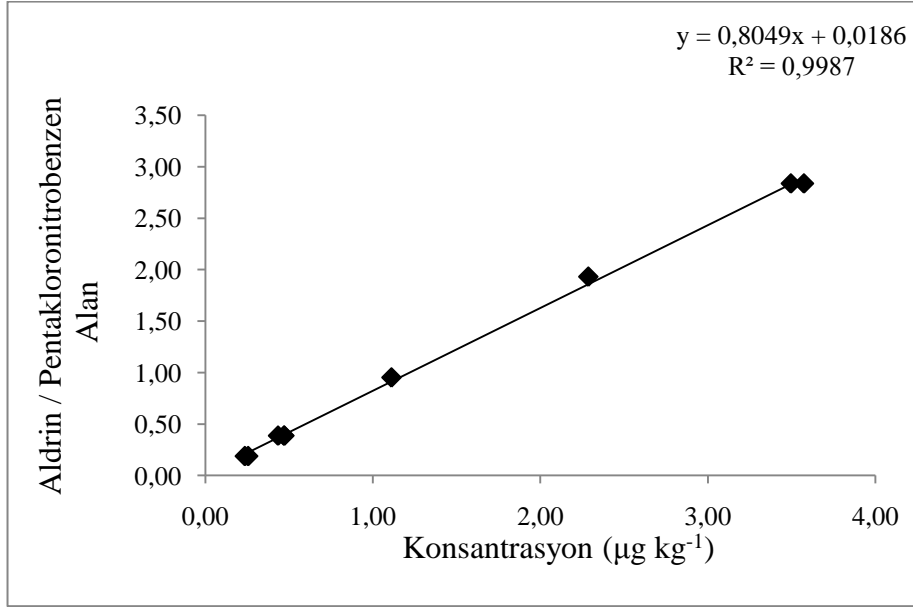
Şekil 4.4. γ - HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



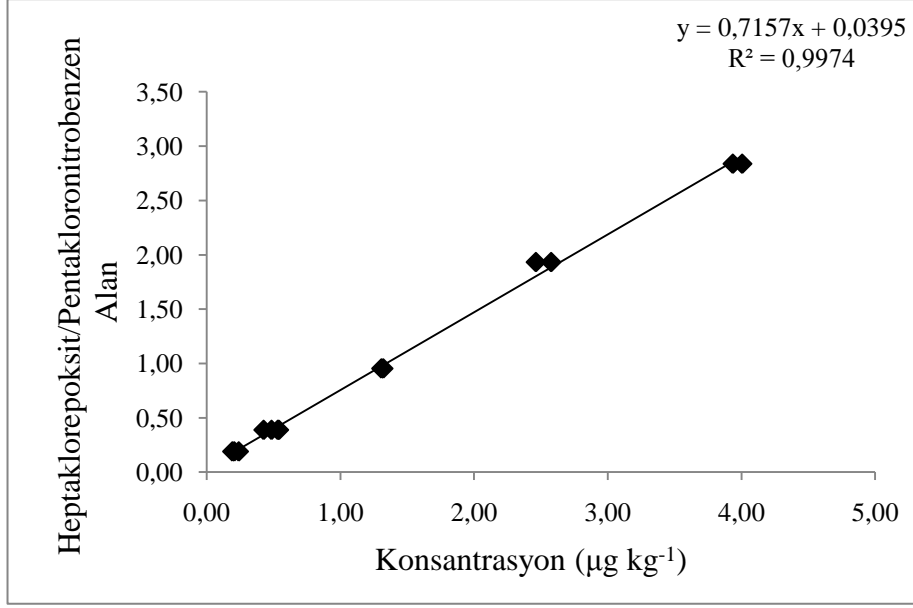
Şekil 4.5. θ - HCH bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



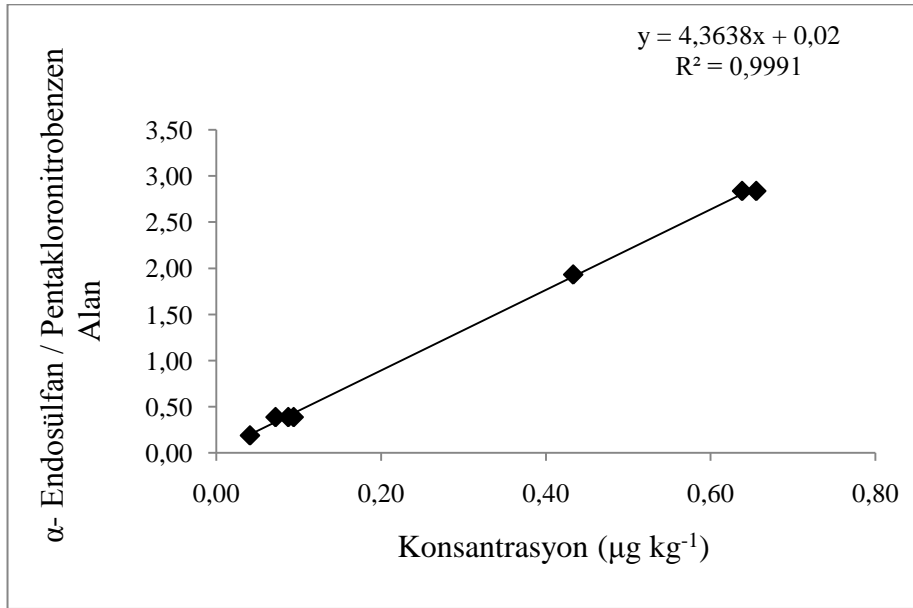
Şekil 4.6. Heptaklor bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



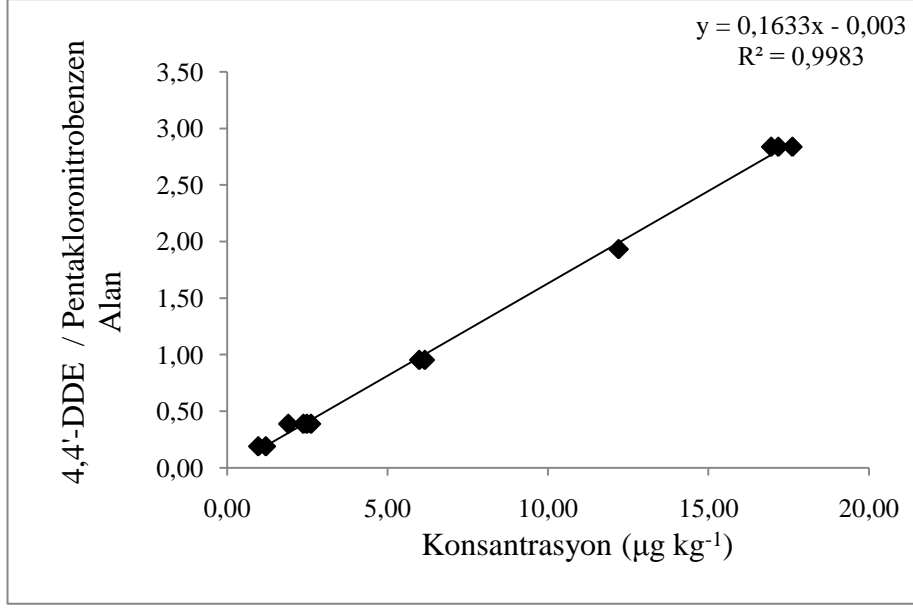
Şekil 4.7. Aldrin bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



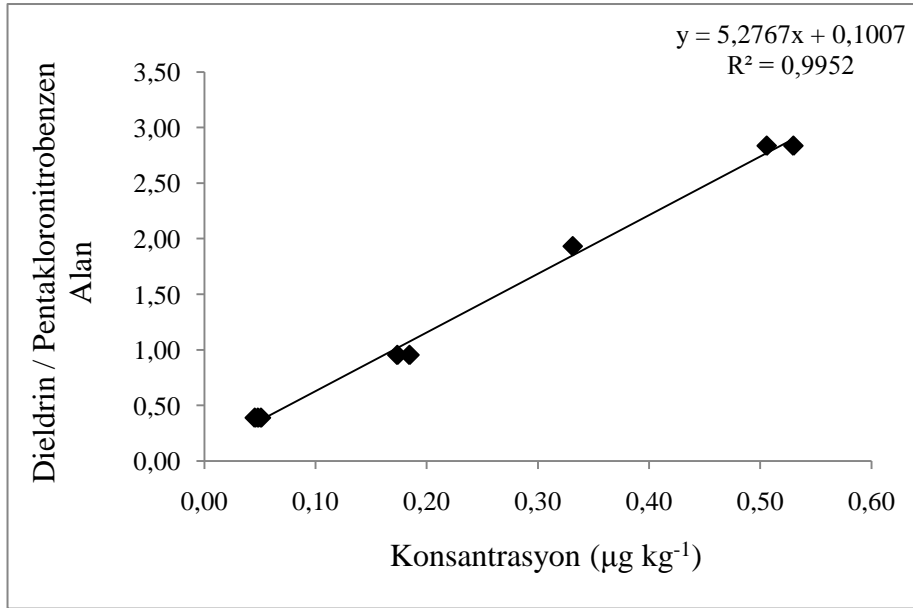
Şekil 4.8. Heptaklorepoksit bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



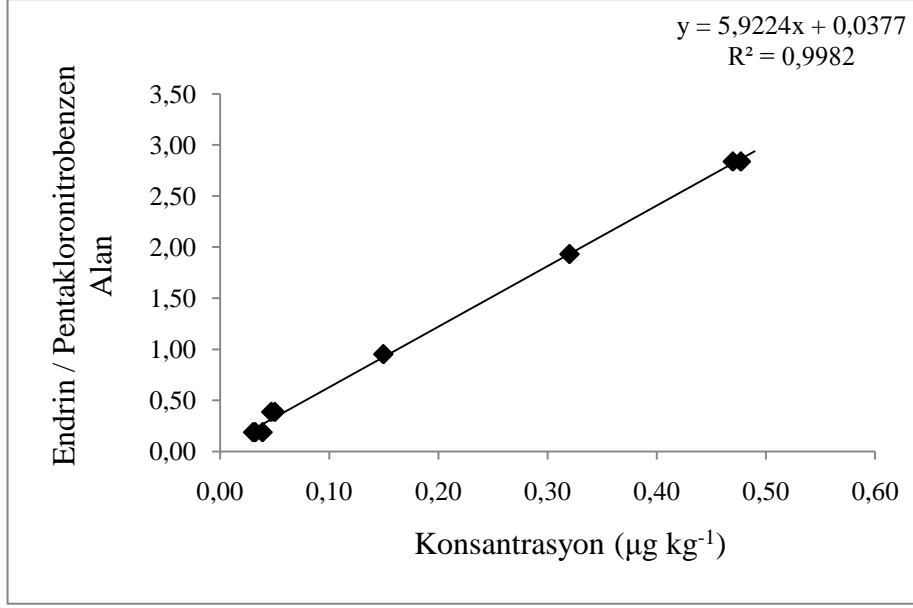
Şekil 4.9. α - Endosülfan bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



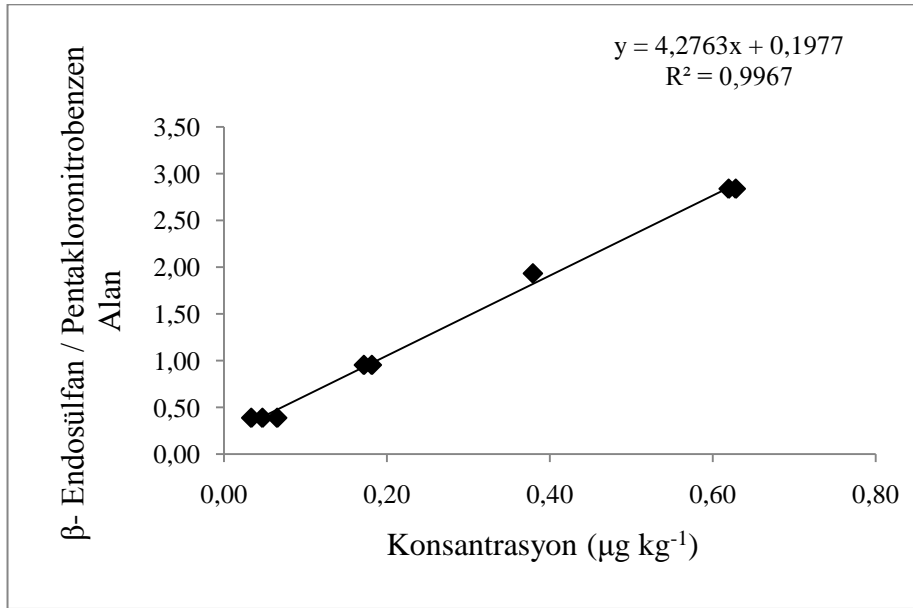
Şekil 4.10. 4,4'-DDE bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



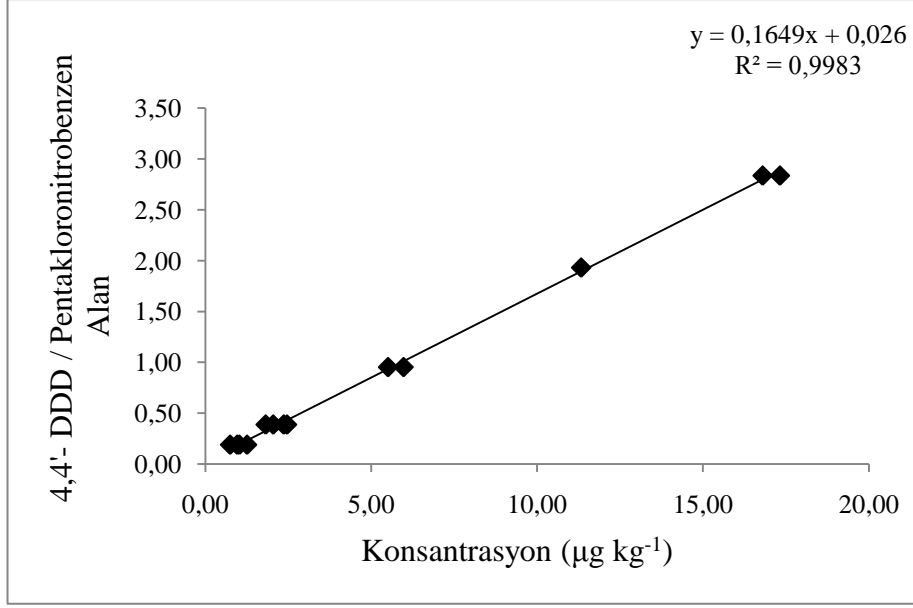
Şekil 4.11. Dieldrin bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



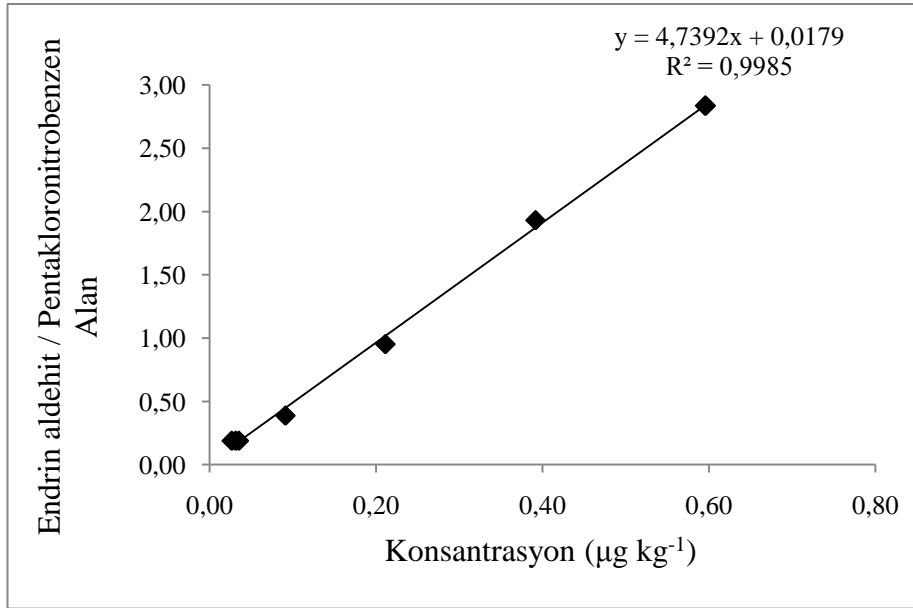
Şekil 4.12. Endrin bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



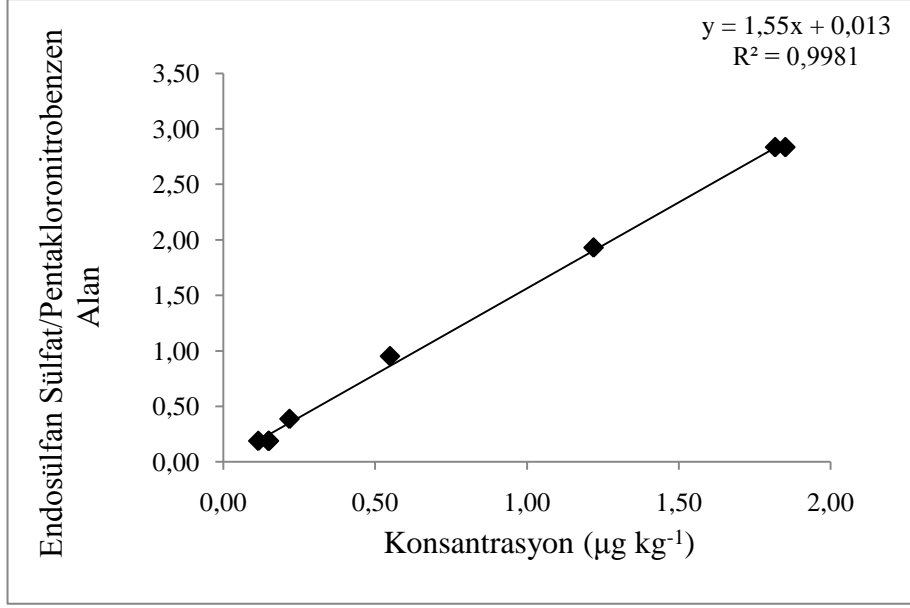
Şekil 4.13. β- Endosülfan bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



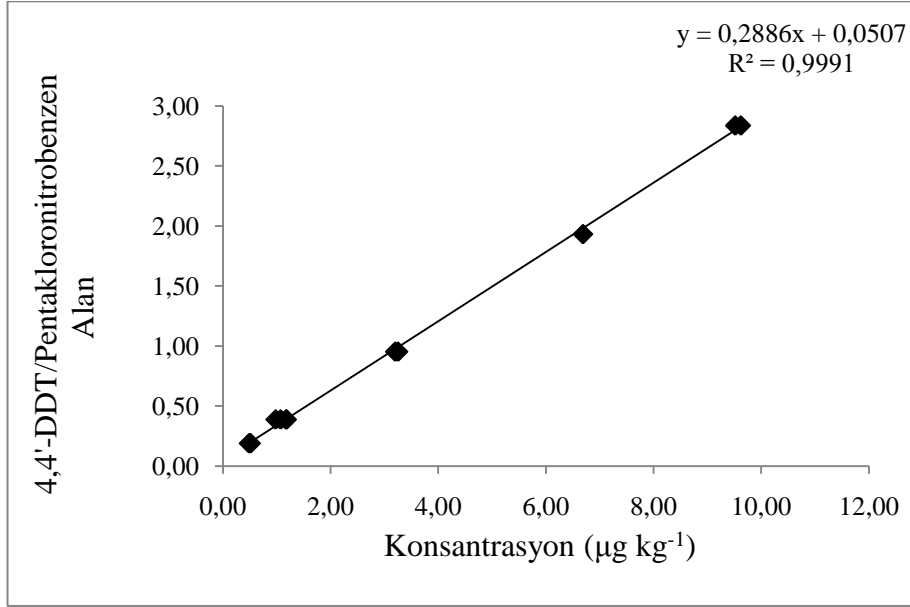
Şekil 4.14. 4,4'-DDD bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



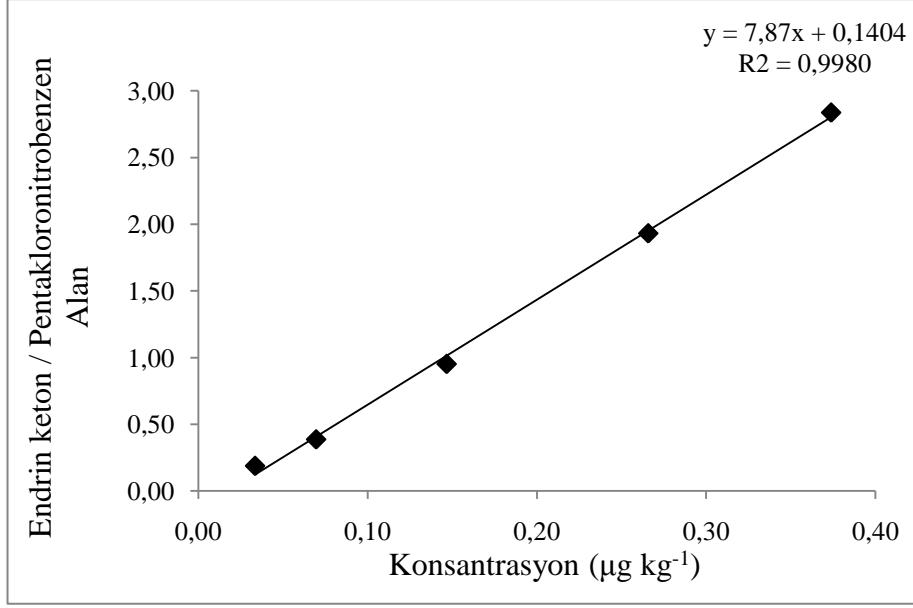
Şekil 4.15. Endrin aldehit bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



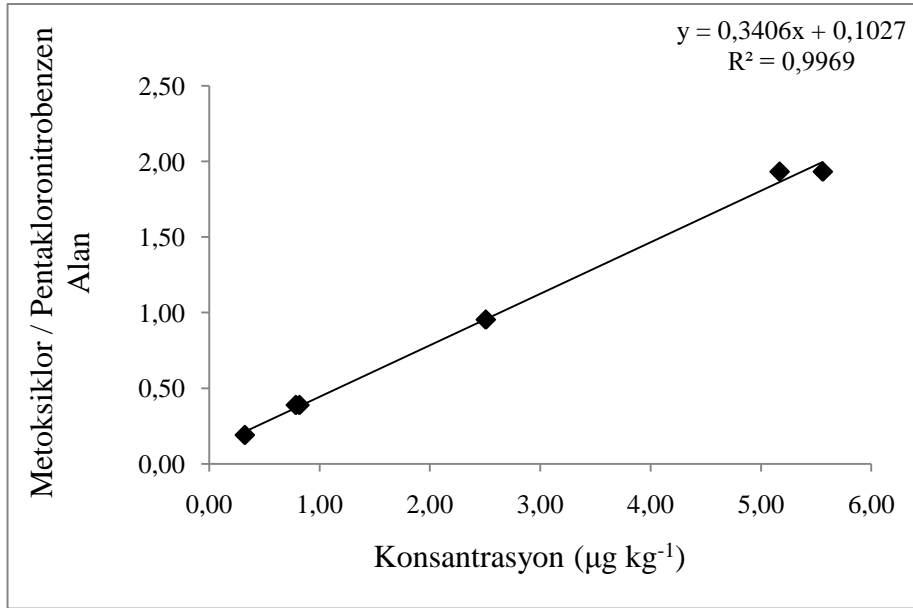
Şekil 4.16. Endosülfan sülfat bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



Şekil 4.17. 4,4'-DDT bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



Şekil 4.18. Endrin keton bileşiğine ait kalibrasyon grafiği



Şekil 4.19. Metoksiklor bileşiğine ait kalibrasyon grafiği

4.1.3. Pestisitlerin sütte ekstraksiyon metodu

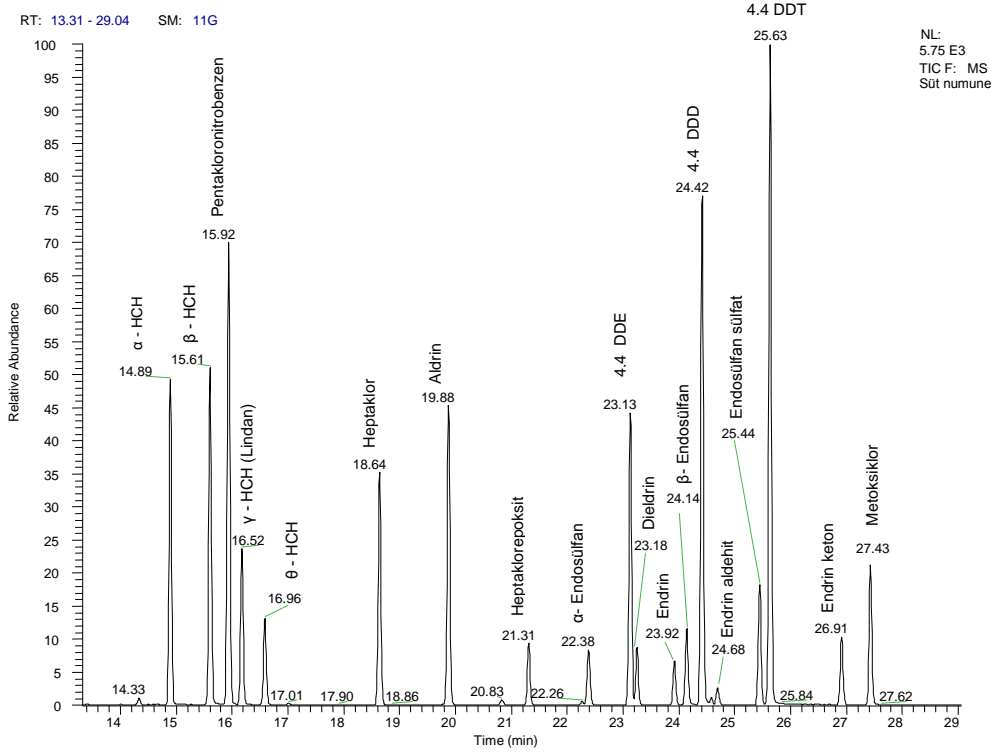
4.1.3.1. Örnek hazırlama

Oda sıcaklığına getirilen 20 g süt numunesi cam kavanoza koyulmuştur. Üzerine iç standart ekleme yönteminin uygulanması amacıyla 105 µL iç standart çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra kavanoza 60 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı ilave edilip, numune beş dakika vortekse tabi tutulmuştur. Vorteks işleminden sonra numune ve çözücü karışımı 20 dk boyunca ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Diğer tarafta, örnek içerisindeki suyu uzaklaştırmak için, 15 cm iç çapa sahip cam huniye önce bir miktar cam yünü ve üzerine 30 g susuz sodyum sülfat koyulmuştur. Sodyum sülfat, yapılacak işleme hazırlanması için 10 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı ile ıslatılmıştır. Huninin altına 250 mL'lik buharlaştırma balonu yerleştirilmiş ve ultrasonik banyodan alınan numunenin üst kısmındaki petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü fazı cam huniye hazırlanmış olan sodyum sülfattan geçirilmiştir. Kalan süt numunesinin üzerine tekrar 30 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı eklenerek ultrasonik banyoda 10 dakika daha bekletilmiş ve daha sonra yine üst faz alınarak sodyum sülfattan geçirilmiştir. Son olarak 10 mL petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı daha eklenmiş, kavanozun kapağı kapatılmış ve 1 dakikalık vorteksin ardından çözücü fazı sodyum sülfattan geçirilmiştir. Kalan kısmın tamamı cam huniye aktarılmış ve numune şişesi üç defa 5 mL petroleteri:etilasetat (3:2) ile yıkanarak huniye aktarılmıştır. Çözücü karışımı ve numune huniden iyice süzöldükten sonra, süzöntü döner buharlaştırıcıda 1 mL'den daha az kalana kadar buharlaştırılmıştır. Döner buharlaştırıcıdan alınan

balon petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı ile iyice yıkanarak 10 mL'lik şişelere alınmıştır. Daha sonra karışımın miktarı azot altında 3 gram'a indirilmiştir.

4.1.3.2. Saflaştırma

Elde edilen ekstraktın safsızlıklarından arındırılması için 30 cm boy ve 1.5 cm iç çapa sahip olan cam kolon içine öncelikle bir miktar cam yünü koyulmuştur. Daha sonra 8 g florisil (675 °C de aktive edilmiş) ve 2 g susuz sodyum sülfat eklenmiştir. Kolonun şartlandırılması için 20 mL *n*-hekzan kullanılmıştır. Kolon kurumasına izin verilmeden, 3 g ekstrakt kolona yüklenmiştir. Yükleme işleminden sonra ekstraktın bulunduğu cam şişe iki defa 3 mL *n*-hekzan ile yıkanarak kolona aktarılmıştır. Elüsyon işlemi için 50 mL *n*-hekzan kullanılmıştır. Buharlaştırma balonunda toplanan karışıma tutucu olarak 100 µL izooktan ilave edilmiş ve karışımın çözücüsü 1 mL'den daha az kalana kadar buharlaştırılmıştır. Döner buharlaştırıcıdan alınan balon *n*-hekzan ile yıkanarak 10 mL'lik cam şişelere alınmıştır. Numunenin son miktarı azot altında 500 mg'a indirilip 0.2 µm'lik PTFE filtreden geçirilerek 1.5 mL lik GC şişesine aktarılmış ve GC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. Bu metoda ait GC-MS/MS kromatogramı Şekil 4.20'de verilmiştir.



Şekil 4.20. Pestisitlerin süttten ekstraksiyonunun GC-MS/MS kromatogramı

4.1.4. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyon metodu

4.1.4.1. Örnek hazırlama

Oda sıcaklığına getirilen 200 g süt numunesi 1000 mL'lik ayırma hunisine koyulmuştur. İçerisine önce 105 µL iç standart çözeltisi ve sonra sütü, yağın ayrılmasına hazırlamak için 200 mL aseton eklenmiştir. Daha sonra ayırma hunisi içerisindeki karışım 10 dakika süre ile disperser örnek parçalayıcı kullanılarak karıştırılmıştır.

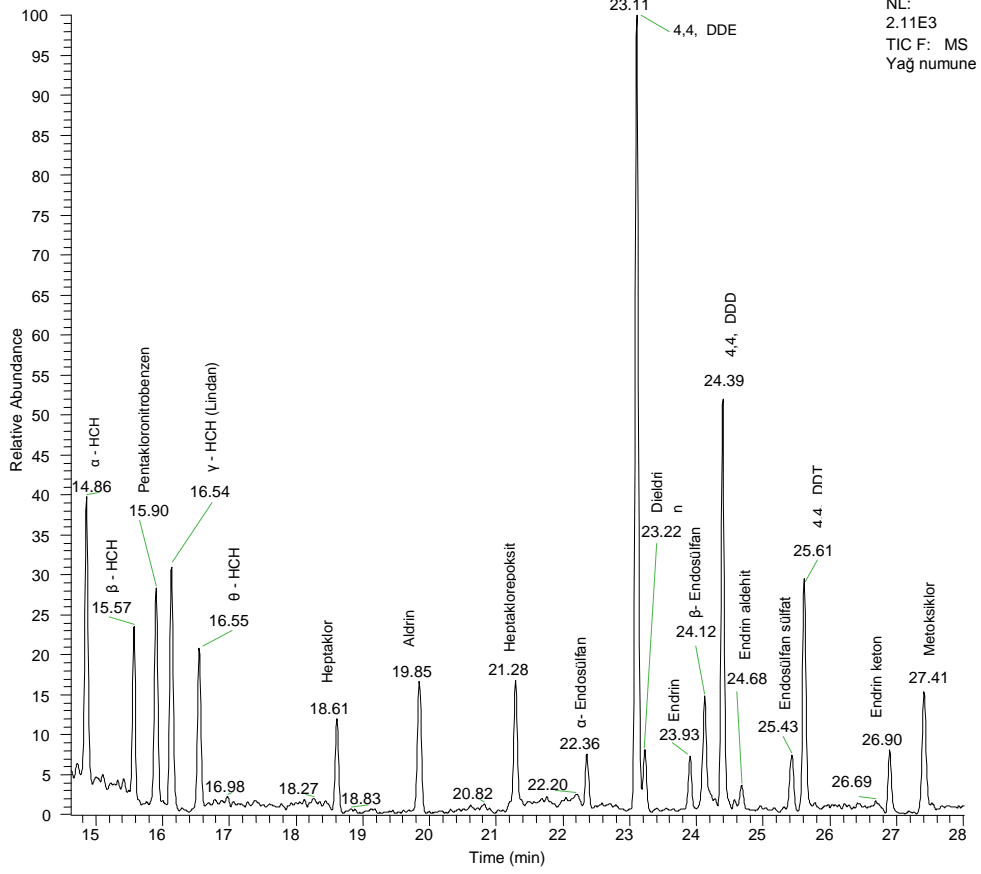
Sonra 200 mL petroleteri eklenerek ayırma hunisi 10 dk boyunca elde çalkalanmıştır. Yaklaşık 15-20 dk içerisinde ayırma hunisinde iki faz oluşmak üzere ayırım gerçekleşmiştir. Karışımdaki asetonun uzaklaştırılması için ayırma hunisine yavaş yavaş 200 mL saf su eklenmiş, 5 dk karıştırılmış ve yine faz ayırımının

oluşması için beklenmiştir. Bu durumda ayırma hunisinde üç faz oluşmuştur. Faz ayırımının daha net gözlenmesi için yaklaşık 50 mL etilalkol kullanılmıştır. Ayırma hunisinin altında toplanan saf su ve aseton fazı daha sonra içerisine 100 mL petroleteri ilave edilip sıvı sıvı ekstraksiyonun adımlarının tekrar edilmesi için bir behere toplanmıştır. Ayırma hunisinin üstünde oluşan içersinde yağ ve petroleteri olan faz ise polipropilen santrifüj tüplerine alınarak 4000 rpm'de, 20°C sıcaklıkta 10 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz 500 mL'lik buharlaştırma balonuna aktarılmıştır. Diğer tarafta, örnek içerisnde kalan eser miktardaki suyu uzaklaştırmak için, 15 cm iç çapa sahip cam huniye önce bir miktar cam yünü ve üzerine 30 g susuz sodyum sülfat koyulmuştur. Santrifüj sonrası 500 mL'lik buharlaştırma balona alınan petrol eteri ve süt yağı karışımı sodyum sülfattan geçirilerek 250 mL'lik buharlaştırma balonunda toplanmıştır. Daha sonra balonda toplanan karışımdaki çözücü döner buharlaştırıcıda 5 mL kalana kadar buharlaştırılmıştır. Buharlandırmadan sonra balonda kalan yağ 10 mL'lik cam şişeye alınmış ve balon yaklaşık 2 mL petroleteri ile yıkanmıştır. Daha sonra şişede toplanan yağdaki çözücü azot altında buharlaştırılmıştır. Kalan yağ numunesinin 0.5 g'ı 250 mL'lik buharlaştırma balonuna alınmış, üzerine 15 g sodyum sülfat ve 100 mL petroleteri eklenmiş, buharlaştırma balonunun ağzı bir kapak yardımıyla kapatılarak 5 dk boyunca karıştırılmıştır. Bu sürenin sonunda çözücü karışımı süzgeç kâğıdından süzülerek başka bir 250 mL'lik buharlaştırma balonuna toplanmış ve örnek içerisndeki çözücü döner buharlaştırıcı ile örnek miktarı 1 mL kalana kadar buharlaştırılmıştır. Buharlandırma sonrası balonda kalan numune en az 5 mL petroleteri ile yıkanarak cam şişelere alınmış ve daha sonra azot altında son miktar 1 g olarak ayarlanmış ve bu kısma saflaştırma işlemi uygulanmıştır.

4.1.4.2. Saflaştırma

Elde edilen ekstraktın safsızlıklarından arındırılması için 30 cm boy ve 1.5 cm iç çapa sahip olan cam kolon içine öncelikle bir miktar cam yünü koyulmuştur. Daha sonra 10 g florisil (675 °C de aktive edilmiş) ve 2 g susuz sodyum sülfat eklenmiştir. Kolonun şartlandırılması için 20 mL *n*-hekzan kullanılmıştır. Kolon kurumasına izin verilmeden, 1 g ekstrakt kolona yüklenmiştir. Yükleme işleminden sonra ekstraktın bulunduğu cam şişe iki defa 3 mL *n*-hekzan ile yıkanarak kolona aktarılmıştır. Elüsyon işlemi için 80 mL *n*-hekzan kullanılmıştır. Buharlaştırma balonunda toplanan karışıma tutucu olarak 100 µL izooktan ilave edilmiş ve karışımın çözücüsü 1 mL den daha az kalana kadar buharlaştırılmıştır. Döner buharlaştırıcıdan alınan balon *n*-hekzan ile yıkanarak 10 mL'lik cam şişelere alınmıştır. Numunenin son miktarı azot altında 500 mg a indirilip 0.2 µm'lik PTFE filtreden geçirilerek 1.5 mL'lik GC şişesine aktarılmış ve GC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. Bu metoda ait GC-MS/MS kromatogramı Şekil 4.21'de verilmiştir.

RT: 14.62 - 28.00 SM: 11G



Şekil 4.21. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonunun GC-MS/MS kromatogramı

4.1.5. Metot validasyonu

4.1.5.1. Sütte pestisit tayini metot validasyonu

Sütte 18 klorlu pestisit bileşiklerinin tayinine ilişkin metot geliştirme aşaması tamamlandıktan sonra geliştirilen metodun validasyonu yapıp belirsizlik bütçesi çıkarılmıştır. Metot validasyonu için doğrusallık/çalışma aralığı, algılama sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), doğruluk ve tekrarlanabilirlik parametreleri incelenmiştir.

4.1.5.1.1. Doğrusallık/Çalışma aralığı

Doğrusallık elde edilen sonuçların analit konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişkide olduğu konsantrasyon aralığıdır. Çalışma aralığı ise metodun uygulanabildiği aralıktır. Çalışılan aralıkta doğrusallığın elde edildiğinin göstergesi determinasyon katsayılarının (R^2) 0.9950'e eşit veya üstünde olmasıdır [51]. Bu çalışmada söz konusu bileşikler için Tablo 4.4'te belirtilen en küçük ve en yüksek konsantrasyon değerleri arasında doğrusallık sağlanabilmiştir. Tablo 4.5'te verilen determinasyon katsayılarının hedefi sağlaması bunun kanıtıdır. Doğrusal ve çalışma aralığını tespit etmek için kalibrasyon çözeltileri gravimetrik olarak Tablo 4.4'te belirtilen beş konsantrasyon seviyesinde hazırlanmıştır.

4.1.5.1.2. Algılama sınırı (LOD)/Tayin sınırı (LOQ)

Algılama sınırı, bir ölçüm metodu ile algılanabilen fakat miktarının tespit edilemediği analit derişimidir. Tayin sınırı ise bir ölçüm metodu ile kabul edilebilir kesinlikte ve doğrulukta ölçülebilen en düşük analit derişimidir. Bu iki parametre iki şekilde hesaplanabilir. Bunlardan ilkinde boş örnek içerisine analitler düşük konsantrasyon değerlerinde eklenir ve bu örnek üzerinde metodun 10 defa uygulamasıyla elde edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı alınarak LOD, 10 katı alınarak da LOQ hesaplanır. Diğerinde ise kromatografik cihazdan alınan sinyal/gürültü oranının yine 3 katı alınarak LOD, 10 katı alınarak LOQ hesaplanır [51].

Çalışmada, pestisit içermeyen (boş) 20 g süt numunesinin içerisine her bir pestisit bileşiğinin konsantrasyonu $2 \mu\text{g kg}^{-1}$ olacak şekilde 2 mg kg^{-1}

konsantrasyonundaki standart stok çözültiden 20 mg eklenmiştir. Bu örnek üzerinde metot 10 defa uygulanmıştır ve elde edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı alınarak LOD değerleri, 10 katı alınarak da LOQ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerler Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Pestisitlerin süttten ekstraksiyonundan elde edilen LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
α - HCH	0.37	1.24
β - HCH	0.39	1.31
γ - HCH (Lindan)	0.36	1.20
θ - HCH	0.38	1.25
Heptaklor	0.50	1.65
Aldrin	0.40	1.35
Heptaklorepoksit	0.39	1.31
α - endosülfan	0.47	1.55
4,4'-DDE	0.36	1.20
Dieldrin	0.46	1.52
Endrin	0.38	1.26
β - Endosülfan	0.37	1.23
4,4'-DDD	0.34	1.13
Endrin aldehit	0.35	1.18
Endosülfan sülfat	0.56	1.86
4,4'-DDT	0.53	1.75
Endrin keton	0.49	1.62
Metoksiklor	0.51	1.71

4.1.5.1.3. Doğruluk

Doğruluk, ölçülen büyüklük ile ölçülenin gerçek büyüklük değeri arasındaki yakınlıktır [51]. Doğruluğun değerlendirilmesi standart ekleme yöntemiyle hazırlanmış örnekler üzerinde çalışılarak yapılmıştır. Çalışılan doğrusal aralık göz

önüne alınarak, standart ekleme gravimetrik olarak bu aralıkta üç farklı konsantrasyon seviyesinde yapılmıştır. Her bir konsantrasyon seviyesinde örnek üç tekrarlı çalışılarak geri kazanım ve bunların % bağıl standart sapma (% RSD) değerleri elde edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.7'de verilmiştir.

Yapılan çalışmada % geri kazanımı hesaplamak için Eşitlik 1, %RSD hesaplamak için Eşitlik 2 kullanılmıştır [51].

$$\% \text{GeriKazanım} = \frac{\text{Bulunan Konsantrasyon}}{\text{Teorik Konsantrasyon}} * 100 \quad (1)$$

$$\% \text{RSD} = \frac{\text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama}} * 100 \quad (2)$$

Tablo 4.7. Pestisitlerin sütte ekstraksiyonundan elde edilen % geri kazanım ve % RSD değerleri

Bileşik	% Geri Kazanım Değerleri	% RSD
α - HCH	91.2	4.0
β - HCH	93.4	3.4
γ - HCH (Lindan)	92.0	3.0
θ - HCH	102.0	3.5
Heptaklor	95.0	3.1
Aldrin	86.0	3.2
Heptaklorepoksit	83.3	3.2
α - Endosülfan	78.0	4.1
4,4'-DDE	93.0	3.5
Dieldrin	82.0	4.8
Endrin	90.0	2.8
β - Endosülfan	95.4	3.5
4,4'-DDD	86.7	3.1
Endrin aldehit	82.3	2.9
Endosülfan sülfat	91.3	2.7
4,4'-DDT	96.1	2.0
Endrin keton	89.0	4.3
Metoksiklor	91.6	4.2

4.1.5.1.4. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik, aynı ölçüm koşulları altında gerçekleştirilen, aynı ölçüm büyüklüğüne ait birbirini izleyen ölçüm sonuçları arasındaki yakınlık derecesidir [51]. Tekrarlanabilirlik ölçümleri tek konsantrasyon değerinde standart ekleme yapılmış süt örneğinin günde üç paralel çalışılarak 5 gün boyunca metodun uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümlerle hem gün içerisindeki tekrarlanabilirlik hem de günler arası tekrarlanabilirlik tespit edilmiştir. Tekrarlanabilirlik ölçüsü yüzde bağıl standart sapma (%RSD) ile ifade edilir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Pestisitlerin süttten ekstraksiyonundan elde edilen gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (% RSD)

Bileşik	Gün içi	Günler Arası
α - HCH	3.0	3.6
β - HCH	3.9	4.2
γ - HCH (Lindan)	4.1	5.7
θ - HCH	5.4	4.6
Heptaklor	4.9	3.1
Aldrin	3.1	4.2
Heptaklorepoksit	2.9	3.3
α - Endosülfan	2.7	4.0
4,4'-DDE	2.0	3.5
Dieldrin	4.3	4.2
Endrin	4.2	3.3
β - Endosülfan	4.0	4.0
4,4'-DDD	3.4	3.1
Endrin aldehit	3.0	2.9
Endosülfan sülfat	3.8	2.7
4,4'-DDT	3.6	2.0
Endrin keton	2.9	4.3
Metoksiklor	4.5	4.2

4.1.5.2. Süt yağında pestisit tayini metot validasyonu

Yapılan çalışmada iki farklı analiz metodu geliştirildiği için iki metot validasyon işlemi yapılmıştır. İkinci metotta validasyon parametrelerinden biri olan doğrusal aralık ve çalışma aralığı birinci metotta olduğu gibi incelenmiştir. Fakat algılama sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), doğruluk ve tekrarlanabilirlik parametreleri için ayrı deneysel çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmaların içeriği ve elde edilen sonuçlar aşağıdaki bölümlerde açıklanmıştır.

4.1.5.2.1. Algılama sınırı (LOD)/Tayin sınırı (LOQ)

Çalışmada, pestisit içermeyen (boş) 200 g süt numunesinin içerisine her bir pestisit bileşiğinin konsantrasyonu $3 \mu\text{g kg}^{-1}$ olacak şekilde 2 mg kg^{-1} konsantrasyonundaki standart stok çözeltilerden 300 mg eklenmiştir. Bu örnek üzerinde metot 10 defa uygulanmıştır ve elde edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı alınarak LOD değerleri, 10 katı alınarak da LOQ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerler Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
α - HCH	0.81	2.70
β - HCH	0.80	2.67
γ - HCH (Lindan)	0.81	2.70
θ - HCH	0.78	2.60
Heptaklor	0.84	2.80
Aldrin	0.90	2.00
Heptaklorepoksit	0.93	2.10
α - endosülfan	0.89	2.95
4,4'-DDE	0.75	2.50

Tablo 4.9. (devam) Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen LOD ve LOQ değerleri

Dieldrin	0.84	2.80
Endrin	1.05	2.50
β - Endosülfan	0.80	2.65
4,4'-DDD	1.11	2.70
Endrin aldehit	0.98	2.30
Endosülfan sülfat	0.86	2.85
4,4'-DDT	0.72	2.40
Endrin keton	0.93	2.10
Metoksiklor	0.93	2.10

4.1.5.2.2. Doğruluk

Doğruluğun değerlendirilmesi standart ekleme yöntemiyle hazırlanmış örnekler üzerinde çalışılarak yapılmıştır. Çalışılan doğrusal aralık göz önüne alınarak, standart ekleme gravimetrik olarak bu aralıkta üç farklı konsantrasyon seviyesinde yapılmıştır. Her bir konsantrasyon seviyesinde örnek üç tekrarlı çalışılarak geri kazanım ve bunların % bağıl standart sapma (% RSD) değerleri elde edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen % geri kazanım ve % RSD değerleri

Bileşik	Geri Kazanım Değerleri %	% RSD
α - HCH	78.0	2.9
β - HCH	73.0	2.7
γ - HCH (Lindan)	80.0	2.0
θ - HCH	72.1	4.3
Heptaklor	83.5	4.2
Aldrin	75.0	3.2
Heptaklorepoksit	70.0	3.2
α - Endosülfan	67.1	4.1

Tablo 4.10. (devam) Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen % geri kazanım ve % RSD değerleri

4,4'-DDE	86.0	3.5
Dieldrin	79.2	4.8
Endrin	81.0	2.8
β - Endosülfan	78.0	3.5
4,4'-DDD	70.0	3.1
Endrin aldehit	71.1	2.0
Endosülfan sülfat	82.0	4.3
4,4'-DDT	84.0	4.2
Endrin keton	73.0	3.2
Metoksiklor	80.1	3.2

4.1.5.2.3. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik ölçümleri tek konsantrasyon değerinde standart ekleme yapılmış süt örneğinin günde üç paralel çalışılarak 5 gün boyunca metodun uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümlerle hem gün içerisindeki tekrarlanabilirlik hem de günler arası tekrarlanabilirlik tespit edilmiştir. Tekrarlanabilirlik ölçüsü yüzde bağıl standart sapma (%RSD) ile ifade edilir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (% RSD)

Bileşik	Gün içi	Günler Arası
α - HCH	4,0	3,6
β - HCH	3,1	4,2
γ - HCH (Lindan)	2,9	5,7
θ - HCH	2,7	4,6
Heptaklor	2,0	3,1
Aldrin	4,3	4,2
Heptaklorepoksit	4,2	3,3

Tablo 4.11. (devam) Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan elde edilen gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (% RSD)

α - Endosülfan	2,7	4,0
4,4'-DDE	2,0	3,5
Dieldrin	4,3	4,2
Endrin	4,2	3,3
β - Endosülfan	4,0	4,3
4,4'-DDD	3,4	4,2
Endrin aldehit	3,0	2,7
Endosülfan sülfat	3,8	2,0
4,4'-DDT	3,6	4,3
Endrin keton	2,9	4,2
Metoksiklor	4,5	4,6

4.1.6. Belirsizlik hesaplaması

Geliştirilen metoda ait ölçüm belirsizliğini hesaplamak için aŐaęıdan yukarı yaklaŐım kullanılmıştır [51]. Belirsizlik kaynakları, kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılmak üzere hazırlanan ana ve i olmak üzere iki stok çözelti, metot uygulamasının baŐında örneğe i standardın eklenmesi, örneğin tartımı, örneğin son miktarının ayarlanması, kalibrasyon grafiği, geri kazanım ve tekrarlanabilirliktir.

4.1.6.1. Ana standart çözelti belirsizliği

Ana standart stok çözeltinin hazırlanmasından gelen ölçüm belirsizliği EŞitlik 4 ile hesaplanmaktadır. Çözelti gravimetrik olarak hazırlanmıştır. Ölçüme ait belirsizlik bileşenleri Tablo 4.12'de verilmiştir. Ana standart stok çözeltiye ait belirsizlik $u_c(AS)$ Şeklinde ifade edilmektedir.

Tablo 4.12. Ana standart çözelti belirsizliği bileşiklerin tanımlanması

Belirsizlik Bileşenleri	Değer	Standart Belirsizlik
Bileşiğin saflığı	$S_{\text{bileşik}}$	$u_{S_{\text{bileşik}}}$
Kütle		
Bileşiğin tartımı	$m_{\text{bileşik}}$	
Kalibrasyon		$u_{C_{\text{bileşik}}}$
Çözücünün tartımı	$m_{\text{çözücü}}$	
Kalibrasyon		$u_{C_{\text{çözücü}}}$
Daranın tartımı	m_{dara}	
Kalibrasyon		$u_{C_{\text{dara}}}$

Kütle standart ölçüm belirsizliği

$$u(m_{\text{Bileşik}}) = \sqrt{u_{C_{\text{bileşik}}}^2 + u_{C_{\text{çözücü}}}^2 + u_{C_{\text{dara}}}^2} \quad (3)$$

Ana standart çözelti birleşik standart ölçüm belirsizliği

$$\frac{u_c(AS)}{c_{AS}} = \sqrt{\left(\frac{u(S_{\text{Bileşik}})}{S_{\text{Bileşik}}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{\text{Bileşik}})}{m_{\text{Bileşik}}}\right)^2} \quad (4)$$

18 klorlu pestisit içeren stok çözelti hazırlandıktan sonra bu çözelti gravimetrik olarak daha düşük konsantrasyona seyreltilmiştir. Seyreltme işleminden gelen belirsizlik değeri de yine Eşitlik 3 ve 4 kullanılarak hesaplanmıştır [51].

4.1.6.2. İç standart çözelti belirsizliği

İç standart çözeltinin hazırlanmasından gelen ölçüm belirsizliği Eşitlik 3 ile hesaplanmaktadır. Çözelti gravimetrik olarak hazırlanmıştır. Ölçüme ait belirsizlik bileşenleri Tablo 4.13'te verilmiştir. İç standart stok çözeltilere ait belirsizlik $u_c(IS)$ şeklinde ifade edilmektedir.

Tablo 4.13. İç standart çözelti belirsizliği

Belirsizlik Bileşenleri	Değer	Standart Belirsizlik
İç Standart Bileşiğin saflığı	$S_{\text{bileşik}}$	$u_{S_{\text{bileşik}}}$
Kütle		
Bileşiğin tartımı	$m_{\text{bileşik}}$	
Kalibrasyon		$u_{C_{\text{bileşik}}}$
Çözücünün tartımı	$m_{\text{çözücü}}$	
Kalibrasyon		$u_{C_{\text{mçözücü}}}$
Daranın tartımı	m_{dara}	
Kalibrasyon		$u_{C_{\text{mdara}}}$

4.1.6.3. Eklenen iç standart çözelti miktarı ölçüm belirsizliği

Metottan gelen hataları elimine etmek amacıyla metot uygulanmadan önce örneğe bir miktar iç standart çözelti eklenmiştir. Ekleme hava sızdırmaz şırınga ile yapılmıştır. Hacimden kaynaklanan standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 5 ile hesaplanır ve iki bileşenden oluşur [51]. Bunların ilki şırınganın kalibrasyonundan gelen, diğer

ise sıcaklıktan gelen belirsizliktir. İç standart çözeltinin eklenmesine ait standart ölçüm belirsizliği $u(V_{BM})$ şeklinde ifade edilmektedir.

$$u(V_{BM}) = \sqrt{(u_{V_{kalibrasyon}})^2 + (u_{V_{sıcaklık}})^2} \quad (5)$$

Hacimsel kalibrasyona bağlı belirsizlik değeri şıngının üreticisi tarafından sağlanan sertifikada yer almaktadır. Sıcaklığa bağlı standart ölçüm belirsizliği ise Eşitlik 6 ile hesaplanmaktadır [51].

$$u(V_{Sıcaklık}) = \frac{\Delta TVQ}{\sqrt{3}} \quad (6)$$

Buradaki V , ölçülen hacim miktarı, Q , kullanılan çözücünün oda sıcaklığındaki hacimsel genişleme katsayısı, ΔT , laboratuvar sıcaklık değişimi, $\sqrt{3}$ ise dikdörtgen dağılım katsayısıdır. Belirsizlik hesaplamalarında ölçüm sonuçlarının dağılımıyla ilgili kabul yapmak gerekir. Sıcaklıkla ilgili yapılan kabul ise dikdörtgen dağılımdır [51].

4.1.6.4. Başlangıç ve son madde miktarı ölçüm belirsizliği

Geliştirilen metotta başlangıçtaki ve cihaza verilmeden önceki örnek miktarı gravimetrik olarak ayarlanmıştır. Bu ölçümlere ilişkin standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 7 ile hesaplanır [51]. Başlangıç maddesinin ölçümünden gelen belirsizlik

değeri u_{mBM} ile son maddenin ölçümünden gelen belirsizlik değeri ise u_{mSM} ile ifade edilir.

$$u(m_{B-SM}) = \sqrt{(u_{Cmörnek})^2 + (u_{Cmdara})^2} \quad (7)$$

Burada u_{cm} sembolü terazinin kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliğini ifade eder.

4.1.6.5. Kalibrasyon grafiği ölçüm belirsizliği

Oluşturulan kalibrasyon grafiğinden kaynaklanan standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 8 ile hesaplanır ve $u(c_0)$ ile ifade edilir [51].

$$u(c_0) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{xx}}} \quad S_{xx} = \sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2 \quad (8)$$

S : Artık standart sapma

B1 : Eğim

p : Örnek ölçümü için okuma sayısı

n : Kalibrasyon için yapılan ölçüm sayısı

c_0 : Tayin edilen çözelti derişimi

\bar{c} : Farklı kalibrasyon standartlarının ortalama çözelti derişimi

4.1.6.6. Geri kazanım standart ölçüm belirsizliği

Geri kazanım belirsizliği, geliştirilen metotta ekstraksiyon ve saflaştırma işlemlerinden gelen belirsizliğin ifade ediliş şeklidir. Belirsizlik değeri $u(R_m)$ ile ifade edilir ve Eşitlik 9 ile hesaplanır [51].

$$u(R_m) = R_m \sqrt{\left(\frac{u(C_{göz})}{C_{göz}}\right)^2 + \left(\frac{u(C_{gerçek})}{C_{gerçek}}\right)^2} \quad (9)$$

$$R_m = \frac{\overline{C_{göz}}}{C_{gerçek}}$$

Buradaki $C_{gerçek}$ değeri standart ekleme ile hazırlanan malzemenin konsantrasyon değeridir. Bu değerlere ait belirsizlik $u_{Cgerçek}$ olarak ifade edilir ve gravimetrik ekleme yapıldığı için Eşitlik 10 ile hesaplanır [51].

$$u(C_{gerçek}) = \sqrt{u_{Cmörnek}^2 + u_{Cmstandart}^2 + u_{Cmdara}^2} \quad (10)$$

Buradaki u_{Cm} sembolü tartım yapılırken terazinin kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliğini ifade eder. Terazi, örnek, standart ve daranın tartımında kullanıldığı için bu değer üç defa hesaba katılmıştır.

$C_{göz}$ malzemenin analizi ile elde edilen konsantrasyon değeridir. Bu değer de Eşitlik 11 ile hesaplanır [51].

$$u(C_{göz}) = \frac{SD}{\sqrt{N}} \quad (11)$$

Buradaki SD, yapılan ölçümlerin standart sapması N ise yapılan ölçüm sayısıdır. Analizler gün içinde 3 defa tekrarlandığı için bu değer 3 dür.

4.1.6.7. Tekrarlanabilirlik standart ölçüm belirsizliği

Metodun tekrarlanabilirliğinden gelen standart ölçüm belirsizliğini hesaplamak için bir günde üç paralel örnekle 5 gün boyunca metot uygulanmıştır. Bu ölçümlerle hem gün içerisindeki tekrarlanabilirlik hem de günler arası tekrarlanabilirlik tespit edilmiştir. Tekrarlanabilirliğe ilişkin standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 12 ile hesaplanmaktadır [51]. Tekrarlanabilirlik ölçüsü yüzde bağıl standart sapma (%RSD) ile ifade edilir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.7'de verilmiştir.

$$u(T) = \frac{SD}{\sqrt{N}} \quad (12)$$

Buradaki SD yapılan ölçümlerin standart sapması N ise yapılan ölçüm sayısıdır. Analizler gün içinde 3 paralel olmak üzere 5 farklı günde gerçekleştirildiği için N sayısı 15 tir.

4.1.6.8. Birleşik standart ölçüm belirsizliği ve genişletilmiş ölçüm belirsizliği

Metoda ait birleşik standart ölçüm belirsizliğini hesaplamak için incelen tüm parametreler Eşitlik 13'te olduğu gibi birleştirilir ve böylelikle metodun birleşik standart ölçüm belirsizliği, u_{Analit} , hesaplanmış olur. Genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri ise raporlamada kullanılan belirsizlik değeridir ve birleşik standart ölçüm belirsizliğinin % 95 güven aralığında kapsam faktörü (k) 2 ile çarpılmasıyla elde edilir [51].

Eşitlik 13

$$\frac{u_c(Analit)}{c_{analit}} = \sqrt{\left(\frac{u_c(AS)}{c_{AS}}\right)^2 + \left(\frac{u_c(IS)}{c_{IS}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{BM})}{m_{BM}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{SM})}{m_{SM}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{ISM})}{V_{ISM}}\right)^2 + \left(\frac{u(c_0)}{c_0}\right)^2 + u(R_m)^2 + u(T)^2}$$

Geliştirilen metotlar için tüm bu hesaplamalar yapılarak, örnek teşkil etmesi için sadece α -HCH bileşiğine ait ayrıntılı belirsizlik hesabı Tablo 4.14'te verilmiştir. Diğer tüm bileşiklerin ölçüm sonuçları ve genişletilmiş belirsizlik değerleri ise Tablo 4.15'te verilmiştir. Sadece bir bileşik için ayrıntılı hesaplamanın verilip, diğer bileşikler için sonuçların verilmesinin sebebi, hesaplamada belirsizlik parametrelerinden gelen rakamların her bileşik için aynı olmasıdır.

Tablo 4.14. Pestisitlerin süttten ekstraksiyonu için α - HCH belirsizlik bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti (mg kg ⁻¹)	2	0.0144	0.0072
IS stok çözelti (mg kg ⁻¹)	2	0.09	0.045
Başlangıç madde miktarı (g)	20	0.0045	0.000225
Son madde miktarı (g)	0,5	0.0003	0.0006
Eklenen IS miktarı (µL)	105	0.027	0.000257
Kalibrasyon Grafîği (µg kg ⁻¹)	100	0.089	0.00089
Geri Kazanım	1	0.005	0.005
Tekrarlanabilirlik	1	0.0015	0.0015
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0.045
Sonuç (µg kg ⁻¹)	12.5		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği ($u_{cAnalit}$)		0.56	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2) ($U_{cAnalit}$)		1.12	

Belirsizlik değeri ölçüm sonucu \pm genişletilmiş belirsizlik % 95 güven aralığında ve k=2 şeklinde raporlanır.

Tablo 4.15. Pestisitlerin sütün ekstraksiyonundan her bir bileşik için elde edilen ölçüm sonucu ve genişletilmiş belirsizlik değerleri

Bileşik	Sonuç±Genişletilmiş Belirsizlik
α - HCH	12.5 ± 1.12
β - HCH	13.0 ± 1.16
γ - HCH	11.0 ± 0.98
θ - HCH	14.0 ± 1.26
Heptaklor	16.0 ± 1.44
Aldrin	20.0 ± 1.80
Heptaklorepoksit	13.5 ± 1.20
α - Endosülfan	12.0 ± 1.08
4,4'-DDE	14.6 ± 1.30
Dieldrin	13.2 ± 1.18
Endrin	12.5 ± 1.12
β - Endosülfan	13.2 ± 1.18
4,4'-DDD	12.2 ± 1.08
Endrin aldehit	11.9 ± 1.08
Endosülfan sülfat	13.2 ± 1.18
4,4'-DDT	13.6 ± 1.22
Endrin keton	12.3 ± 1.10
Metoksiklor	13.8 ± 1.24

Yapılan çalışmada iki farklı metot geliştirilmiştir, fakat belirsizlik hesabı geliştirilen iki metot için de aynı adımları içermektedir. Hesaplamalarda ortaya çıkan tek fark metotta kullanılan başlangıç madde miktarıdır. Bu farklı duruma göre hesaplamalar yapılmış ve yine sadece hesaplamalar α - HCH bileşiği için ayrıntılı olarak Tablo 4.16'da verilirken, diğer bileşikler için sonuçlar Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.16. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonu için α - HCH belirsizlik bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti (mg kg ⁻¹)	2	0.0144	0.0072
IS stok çözelti (mg kg ⁻¹)	2	0.09	0.045
Başlangıç madde miktarı (g)	200	0.0045	0.0000225
Son madde miktarı (g)	0.5	0.0003	0.0006
Eklenen IS miktarı (μ L)	105	0.027	0.000257

Tablo 4.16. (devam) Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonu için α - HCH belirsizlik bütçesi

Kalibrasyon Grafiği ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	100	0.089	0.00089
Geri Kazanım	1	0.005	0.005
Tekrarlanabilirlik	1	0.0015	0.0015
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0.045
Sonuç ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	2.40		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği ($u_{cAnalit}$)		0.11	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2) ($U_{cAnalit}$)		0.22	

Tablo 4.17. Pestisitlerin süt yağından ekstraksiyonundan her bir bileşik için elde edilen ölçüm sonucu ve genişletilmiş belirsizlik değerleri

Bileşik	Sonuç±Genişletilmiş Belirsizlik
α - HCH	2.40 ± 0.22
β - HCH	2.13 ± 0.20
γ - HCH	2.02 ± 0.98
θ - HCH	1.40 ± 0.12
Heptaklor	1.61 ± 0.14
Aldrin	1.24 ± 0.11
Heptaklorepoksit	2.13 ± 0.19
α - Endosülfan	2.27 ± 0.20
4,4'-DDE	1.84 ± 0.17
Dieldrin	1.32 ± 0.11
Endrin	2.59 ± 0.23
β - Endosülfan	3.20 ± 0.29
4,4'-DDD	2.21 ± 0.20
Endrin aldehit	1.92 ± 0.17
Endosülfan sülfat	3.11 ± 0.28
4,4'-DDT	3.16 ± 0.28
Endrin keton	2.30 ± 0.20
Metoksiklor	1.38 ± 0.12

Gıdaların kalitesinin ve güvenliğinin ortaya konması ve son derece tehlikeli olan pestisitlerin doğada bulunma düzeylerinin belirlenmesi açısından gıdalarda pestisit kalıntılarının tayinlerinin önemi büyüktür. Bu nedenle dünyada her yıl neredeyse 200.000 üzerinde gıda örneği pestisit kalıntıları yönünden incelenmekte ve

gıda örneklerinde çoklu pestisit kalıntı tayini için çeşitli metotların geliştirilmesi birçok laboratuvarın ilgisini çekmiştir [52].

Bu nedenle sunulan tez çalışmasının amacı, Kocaeli ili Gebze ilçesindeki süpermarketlerden satın alınan farklı markalarda UHT ve pastörize süt örneklerinde organik klorlu pestisitlerin tayinine yönelik iki farklı metot geliştirmek amaçlanmıştır. Metotlar arasındaki fark örnek hazırlama aşamasında kendini göstermiştir. İki farklı metodun oluşturulmasının sebebi yüksek geri kazanıma sahip metot elde etmektir. Bu yöntemler kullanılarak 60 adet UHT ve 27 adet pastörize sütün 18 organik klorlu pestisit yönünden analizi yapılmıştır. Geliştirilen birinci metotta ekstraksiyon süttten gerçekleştirilirken, ikinci metotta süt yağından gerçekleştirilmiştir. Her iki ekstraksiyon metodunda sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi, organik bileşiklerin su içeren matrislerden ayrılması amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonun, tayini yapılacak olan bileşiğin polaritesine göre seçilebilmesi, çözücülerin kolaylıkla buharlaştırılabilmesi, tayini yapılacak olan bileşikler için seçici olması gibi birçok avantajı vardır. Bu yöntemin en önemli dezavantajı ise çok miktarda çözücü harcanmasıdır [53].

Pestisitlerin kalıntı analizlerinde yaygın olarak kullanılan çözücüler, hekzan, kloroform-metanol, dietileter-petroleteri, aseton-hekzan, hekzan-aseton-asetonitril, etilasetat-metanol-aseton, petroleteri-etilasetat'dır [54].

Çalışmada pestisitlerin süttten ekstraksiyonunda petroleteri:etilasetat (3:2) çözücü karışımı, pestisitlerin yağdan ekstraksiyonunda ise petroleteri:aseton (1:1) karışımı ve petrol eteri kullanılmıştır.

Hangi ekstraksiyon yöntemi kullanılırsa kullanılsın örnek ekstraktı sadece hedef analitleri değil aynı zamanda lipid, pigment, protein ve karbonhidrat gibi eş

ekstraktları da içermektedir. Bu eş ekstraktların analizden önce olası kontaminasyonlara ve aranılan bileşiklerle reaksiyona neden olmaması için ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Örneklerden, aranılan bileşiklerin dışında istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılması veya saflaştırılması gerekmektedir. Saflaştırmada genellikle alümina, silika jel, florisil [Magnezyum silikat, (MgSiO₃)] veya bunların birbirleriyle kombinasyonu olan absorbentler (emici) kullanılmaktadır. Bu absorbentler birçok gıda matriksi için uygun bulunmaktadır. Saflaştırma işlemindeki bir basamak olan elüsyon işleminde ise organik klorlu pestisitler için en uygun olan çözücünün hekzan olduğu bildirilmiştir [54].

Bu çalışmada sıvı-sıvı ekstraksiyonun ardından, her iki metotta uygulanan saflaştırma işleminde absorbent olarak florisil ve elüsyon çözücüsü olarak da hekzan kullanılmıştır. Organik klorlu pestisitlerin birçoğunda yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Genellikle, lipofilik (yağı seven) karakteri yüksek olan pestisitler lipid faz içinde dağılma eğilimi gösterdiklerinden dolayı lipofilik karaktere sahip olan pestisitlerin geri kazanım değerleri düşmektedir [55]. Çalışmada, birinci metottan (pestisitlerin süttten ekstraksiyonu) elde edilen geri kazanım değerleri % 83,3- 102,0 arasında iken, ikinci metotta (pestisitlerin yağdan ekstraksiyonu) elde edilen geri kazanım değerleri % 67 - 86 arasında bulunmuştur.

Geliştirilen birinci metottaki (pestisitlerin süttten ekstraksiyonu) LOD değerleri 0.36 - 0.56 µg kg⁻¹, LOQ değerleri 1.13-1.86 µg kg⁻¹ arasında değişim gösterirken, ikinci metottaki (pestisitlerin yağdan ekstraksiyonu) LOD değerleri 0.72 - 1.11 µg kg⁻¹, LOQ değerleri 2.00-2.95 µg kg⁻¹ arasında değişim göstermiştir.

Sunulan bu çalışmada aranılan pestisitlerin her birinden elde edilen LOQ değerlerinin, Türk Gıda Kodeksinde belirtilen MRL (maksimum kalıntı limiti)

değerlerinin altında olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle geliştirilen analiz yöntemi kullanılabilirlik açısından olumlu bulunmuştur.

4.1.6.9. UHT ve pastörize süt örneklerinde pestisit kalıntı düzeyleri

Dünya genelinde gıdalarda pestisit kalıntılarını belirlemeye yönelik çalışmalar ve bununla ilgili rutin analizler yapılmaktadır. Hayvansal kökenli gıdalarda örneğin sütte, peynirde, yumurtada, tereyağında ve benzeri ürünlerde başta organik klorlu pestisitler olmak üzere organik fosforlu pestisitler, piretroid grubu pestisitlere bakılmaktadır [53].

Sunulan tez çalışmasında organik klorlu pestisit yönünden kalıntı miktar tayini yapılan 60 adet UHT süt ve 27 adet pastörize süt örneklerinde aranılan 18 organik klorlu pestisit bileşiklerinin hiç birine rastlanılmamıştır. Elde edilen sonuç analiz edilen süt örnekleri için olumlu bir durumdur.

Sütlerde yapılan organik klorlu pestisit tayinine yönelik çalışmalarda, çalışmadan elde edilen bulgular benzer matriks, metodoloji ve cihazlar kullanılarak yapılan diğer çalışmalarla kıyaslanmıştır.

Yunanistan'da 1991-1992 yılları arasında toplanmış 38 adet süt örneğinde aldrin, dieldrin, heptaklor ve izomerleri, DDT ve izomerleri, endrin, α,β,γ HCH kalıntısına bakılmış ve 38 süt örneğinin 11 tanesinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmıştır. α -HCH kalıntısına rastlanılan 2 süt örneğinin Avrupa Ekonomi Komisyonu (EEC) nun 1993 yılında belirlediği izin verilen MRL ($10 \mu\text{g kg}^{-1}$) değerini geçtiği bildirilmiştir [56].

Hindistan'da 1993-1996 yılları arasında yapılmış olan benzer bir çalışmada farklı mevsimlerde toplanan 75 süt örneğinde aldrin, α,β,γ HCH, DDT ve izomerleri,

heptaklor ve izomerlerinin kalıntısına ve mevsimler arasındaki kalıntı miktar dağılımına bakılmış ve her bir süt örneğinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanıldığı bildirilmiştir. Çalışmanın sonunda sonbahar mevsimindeki sütlerde diğer mevsimlere göre daha fazla kalıntı miktarına rastlanıldığı gözlenmiştir. Analizi yapılan örneklerde yaz ve kış aylarında kalıntısına rastlanılan aldrinin, yaz, sonbahar, kış aylarında rastlanılan HCH ve toplam heptaklorun, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlen MRL (sırasıyla 0.15, 0.1 ve 0.15 $\mu\text{g kg}^{-1}$) değerinin üzerinde olduğu bildirilmiştir [57].

Yapılan bir başka benzeri çalışmada, Afrika'nın, Kampala şehrindeki süpermarketlerden alınan 54 çiğ süt ve 47 pastörize süt örneklerinde aldrin, dieldrin, lindan, α , β -endosülfan, DDT ve izomerleri yönünden GC-ECD ile analizi yapılmış ve bütün süt örneklerinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmıştır. Kalıntısına rastlanılan örneklerin doğrulanmasında GC-MS cihazı kullanılmıştır. Örneklerdeki kalıntısına rastlanılan lindan ve dieldrin için Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından belirlenen MRL (0.01 mg kg^{-1}) ve MRL (0.006 mg kg^{-1}) değerlerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir [58].

Brezilya'da 94 pastörize süt ve 38 pastörize edilmemiş süt olmak üzere toplam 132 süt örneğinde yapılan bir çalışmada, organik klorlu pestisit, organik fosforlu pestisit, karbamat ve sentetik piretroid pestisit gruplarından 78 bileşik kalıntısı üzerine çalışılmıştır. Süt örneklerinde öncelikle sıvı-sıvı ekstraksiyon, ardından jel geçirgenlik kromatografisi uygulanmıştır ve daha sonra süt örnekleri, ECD, FPD ve NPD olmak üzere 3 farklı detektör ve farklı polarite özelliklerine sahip kapiller kolonlar kullanılarak analiz edilmiştir. Pastörize olmayan 38 süt örneğinin % 10.2'sinde endosülfan, 94 adet pastörize süt örneğinin % 8.5'inde endosülfan, % 1.1'inde α -HCH saptanmıştır [59].

İspanya'daki bir marketten alınan 97 adet % 3.2 yağ içeren süt örneklerinde organik klorlu pestisit kalıntısına üzerine bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada iki basamak saflaştırma işlemi uygulanmıştır. İlk saflaştırmada p,p'-DDE, aldrin ve heptaklor bileşikleri için elüsyon çözücüsü olarak *n*-hekzan, ikinci temizleme basamağında dieldrin, heptaklorepoksit, DDT ve izomerleri, HCH grubu ve klordan için ise elüsyon çözücüsü olarak *n*-hekzan:metilenklorid (1:1) kullanılmıştır. Bakılan 97 süt örneğinin %1 - 95.5'inde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmış ve bazılarının MRL değerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir [60].

Sunulan tez çalışmasına benzer bir çalışmada, Arjantin'de 1988-1990 yılları arasında 120 pastörize sütte yapılmıştır. Sütlerde α -HCH, γ -HCH, heptaklor ve türevleri, aldrin, dieldrin, α -endosülfan, β -endosülfan, DDT ve izomerlerinin kalıntıları incelenmiştir. İncelenen sütlerden %98'inde heptaklor ve türevlerine, 30 süt örneğinde α -endosülfan ve β -endosülfan kalıntısına rastlanılmıştır. Bulunan kalıntıların tolerans limitinin üzerinde olduğu belirlenmiştir [61].

Organik süt ve organik olmayan sütler üzerine İtalya'da yapılan bir çalışmada, organik klorlu pestisit, poliklorlu bifenil (PCB), bazı ağır metaller ve aflatoksin kalıntısına bakılmıştır. Çalışma, 78 adet organik süt ve 78 adet organik olmayan süt örnekleri üzerinde yapılmıştır. Sonuçta, sadece tek bir organik olmayan süt örneğinde p,p'-DDE kalıntısına rastlanılmış diğer 155 süt örneğinde ise herhangi bir pestisit kalıntısına rastlanılmamıştır. Çalışma sonunda organik olan ve organik olmayan ürünler arasında herhangi bir fark bulunmamıştır [62].

Kahramanmaraş ilinden alınan 37 insan sütü örneğinde HCH ve izomerleri, 11 adet PCB, DDT ve metabolitleri ve 7 adet polibromlu bifenil (PBB) kalıntısına bakılmıştır. Süt örneklerinin hiçbirinde α -HCH kalıntısına rastlanmazken, örneklerin

tümünde p,p'- DDE ve p,p'-DDT kalıntılarına, % 97'sinde β -HCH kalıntısına rastlanılmıştır [63].

Van ve Manisa illerinden toplanan 104 insan sütü örneğinde organik klorlu pestisit incelenmiştir. Süt örneklerinin tümünde β - HCH ve p,p' - DDE, % 93'ünde α -HCH, % 45'inde γ -HCH, % 96 sında HCB, % 96'sında heptaklorepoksit ve % 44'ünde p,p' - DDT kalıntısına rastlanıldığı bildirilmiştir [33].

Yapılan bir başka çalışmada ise, Ekim 2005-Aralık 2007 yılları arasında 41 farklı ilden gelen 124 çiğ süt numunesi yedi organik fosforlu pestisit (diazinon, diklorvos, dimetoat, metidatyon, klorprifos, koumafos, malatyon) yönünden analiz edilmiş ve bakılan hiçbir süt örneğinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmamıştır [17].

Samsunun çeşitli ilçelerinden toplanan 100 çiğ süt örneğinde yapılan bir çalışmada çoklu kalıntı analiz yöntemiyle 9 adet organik klorlu pestisit (aldrin, DDT ve izomerleri, α , β , γ -HCH) ve beş adet sentetik piretroid pestisit (deltametrin, permetrin, sipermetrin, alfasipermetrin, siflutrin) yönünden analiz edilmiştir.

Pestisitlerin tayini için GC-ECD kullanılmış ve şüpheli örneklerin doğrulaması GC-MS cihazı ile yapılmış. Bakılan örneklerin hiçbirinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmamıştır [3].

Ülkemizde 2012 yılında Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından yürütülen "Ulusal Kalıntı Kontrol Planı" uyarınca 30 adet inek sütünde organik klorlu pestisitlerden DDT, α -HCH, HCB ve aldrin, 29 adet inek sütünde organik fosforlu pestisitlerden ise triklorfon, malatyon, diazinonun kalıntı miktarı incelenmiş ve incelenen inek sütü örneklerinin hiçbirinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmamıştır [49].

Çalışmanın sonunda alınan sonuçlar "Ulusal Kalıntı Kontrol Planı" sonuçlarıyla ve Türkiye'deki ve dünya genelindeki bazı benzeri çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir.

İncelenen UHT ve pastörize sütlerde aranılan organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının rastlanılmamasının en önemli sebebi olarak, çevre ve insan sağlığına zararlarından dolayı bu bileşiklerin kullanımının ülkemizde yıllar önce yasaklanmış olması gösterilebilmektedir. Aranılan pestisitlerden günümüzde ülkemizde kullanımı yasal olan yalnızca endosülfan'dır. Fakat aranılan diğer bileşiklerin yarılanma ömürlerinin çok uzun olması, sebze, meyve ve hayvansal gıdalarda halen kalıntılarının rastlanılmasına neden olmaktadır. Endosülfanın kullanılmasına izin verilmesinin sebebi ise, diğer organik klorlu pestisitlere göre doğada daha az kalıcı olmasıdır.

Analiz edilen süt örneklerinde aranılan pestisit bileşiklerine rastlanılmamasının diğer sebepleri ise, çalışma sırasında incelenen organik klorlu pestisitlerin dışında kalan pestisitlere bakılmamış olması, fabrika tarafından sütlerin alındığı bölgedeki çiftçilerin bilinçli olması ve diğerlerine göre daha az etkiye sahip olsa bile sütlere uygulanan ısı işlemlerin kalıntı düzeylerinde azalmalara sebep olması gösterilebilir. Bu çalışma sadece UHT ve pastörize sütleri, çalışmada kalıntısına bakılan 18 organik klorlu pestisit bileşimini kapsamaktadır.

Günümüzde artan sanayileşme, gıda ihtiyacının her geçen gün daha fazla artması, söz konusu pestisitlerin çok daha fazla kullanılmasına neden olmuştur. Bu nedenle kullanılan pestisitlerin tarım ve hayvancılıkta kullanılması ve bunun yanı sıra çeşitli hastalıkları engellemesi ve daha rahat bir yaşam oluşturmasının yanında; doğrudan insan sağlığına olumsuz etkileri özellikle organik klorlu pestisitlerin, canlı organizmalarda birikime sebep olması bunun sonucunda da zehirlenme, kanser ve

mutasyon gibi hasarların meydana gelmesi, gıda hijyenini olumsuz yönde etkilemesi pestisitlerin kullanımı ile ilgili tedbirlerin temel noktasını oluşturmaktadır.

Pestisitlerin kullanımından kaçınılmak söz konusu olmadığına göre; tarım ilaçlarının zararlı etkilerinden korunmak veya kaçınmak için çiftçilerin bilinçlendirilip konunun önemini anlatılması, kullanılan ilaç miktarının azaltılması, ilaçlı bitkilerle beslenen hayvanların veya direk ilacın hayvana uygulandığı durumlarda hayvandan elde edilen sütlerin tüketime sunulmaması gibi basit süreçlerle gıdalardaki pestisit kalıntılarını azaltmak mümkün olabilir.

BÖLÜM 5. SONUÇ

Sonuç olarak, UHT ve pastörize süt örnekleri kullanılarak iki farklı ekstraksiyon metodu ve organik klorlu pestisitlerin tespiti için de GC-MS/MS tayin metodu geliştirilmiştir. Geliştirilen metotların validasyonu yapılmış ve belirsizlik bütçesi hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalarda, organik klorlu pestisitler yönünden yöntemin duyarlılığının, doğruluğunun ve tekrarlanabilirliğinin yeterli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla sunulan tez çalışmasında kullanılan her bir yöntemin güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda, ülkemizde UHT ve pastörize süt örneklerinde daha önce benzeri bir çalışmanın yapılmamış olması, UHT ve pastörize süt örneklerinde iki farklı yöntem kullanılarak pestisit kalıntılarının tespiti üzerine yapılan ilk çalışma olması özelliğini taşımaktadır. Bu geliştirilen yöntemler gelecekteki bu ve bunun gibi benzeri çalışmalara ışık tutacaktır.

İlaveten, çalışmada analizi yapılan 60 UHT ve 27 pastörize süt örneklerinde aranılan pestisitlerin kalıntısına rastlanılmaması insan sağlığı açısından olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Ancak bu türden çalışmaların planlı ve rutin olarak yapılması ayrı bir önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Kutlu, Ş. (2006). Pestisit Güvenliği. II. Ulusal Çevre Hekimliği Kongresi. Ankara.
2. Kuter, Ü. (1994). Sütlerde bazı organikfosforlu pestisitlerin ve bunların süt mamüllerine geçiş oranlarının belirlenmesi üzerine bir araştırma, E.Ü. Fen Bilimleri Ens. Doktora Tezi, 1-96.
3. Güvenç, D. (2008). Samsun yöresinden toplanan çiğ süt örneklerinde bazı pestisid kalıntılarının araştırılması üzerine bir çalışma, Ondokuz Mayıs Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Doktora Tezi, 1-64.
4. Karakaya, M. ve Boyraz, N. (1992). Gıda kirlenmesinde pestisitler ve korunma yolları, Çevre Dergisi, 1(4) 11-15.
5. Riviere, J. E., Spoo, J. W. (1995). Chemical residues in tissues of food animals. In: Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Ed.: H. R. Adams, Section 13, Chapter 56. 7 th Ed., Iowa State University Press, Iowa, p.: 1148.
6. Karaçal, F. (2004). Ankara piyasasında satılan sütlerde bazı antibiyotik kalıntıları, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Doktora Tezi, 1-61.
7. Anonim, (2004). Tarım. T. C. Çevre ve Orman Bakanlığı Türkiye Çevre Atlası. Erişim: <http://www2.cedgm.gov.tr/dosya/cevreatlasi.htm>. Erişim Tarihi: 15.09.2012.
8. Daş, Y. K. (2004). Türkiye’de üretilen ballarda bazı organik fosforlu ve sentetik piretroid insektisid kalıntılarının incelenmesi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Doktora Tezi.
9. Anonim, (2000). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Tebliğ No: 2000/6. T. C. Resmi Gazete, 14.02.2000 Tarih ve Sayı 23964.

10. Anonim, (2002a). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner ilaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği. Tebliğ No: 2002/30. T. C. Resmi Gazete, 28.04.2002 Tarih ve 24739 Sayı.
11. Anonim, (2008). Sütün tanımı, bileşenleri ve inek sütü. Erişim: [http://www.gidacilar.net/sutun-tanimi-ve-bilesimi/sutun-tanimibilesenleri-ve-inek-sutu-13.html] Erisim Tarihi: 21.05.2012.
12. Anonim, (2012a). Süt ve ürünleri teknolojisi, Erişim: [http://www.kimyamuhendisi.com/dokumanlar/doc_download/22_5-sut-ve-sut-urunleri-teknolojisi.html] Erişim Tarihi: 05.08.2012.
13. Köksal, Y. (2006). Sağlık Pınarı; Süt.Tarım merkezi 20.11.2006, Erisim: [http://www.tarimmerkezi.com/yazar_kose.php?hid=1101]. Erisim Tarihi: 04.05.2012.
14. Göncüoğlu, M., Bilir Ormancı, F. S., Akgün, S. (2006). Peynirin değeri proteinde gizli. Tarım ve Hayvancılık, Cumhuriyet Gazetesi, 12.12.2006, s.: 5, Erisim: [http://www.cumhuriyet.com.tr/?em=cuth/w/t04.html]. Erisim Tarihi: 04.06.2012.
15. Belitz, H. D., Grosch, W. (1999). Food Chemistry, 2nd Ed., Chapter 9, 10 Germany
16. Anonim, (2006). Süt içmek için bir düzine neden. Tarım ve Hayvancılık, Cumhuriyet Gazetesi, s.:11,12.12.2006, Erişim: [http://www.cumhuriyet.com.tr/?em=cuth/w/t11.html]. Erişim Tarihi: 04.10.2012.
17. Keskin, F.İ. (2008). Türkiyede çiğ sütlerde bazı organik fosforlu insektisit kalıntılarının incelenmesi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Ens., Doktora Tezi, 1-62.
18. Çakır, S. (2008). Çukurova yöresinden toplanan sütlerde sentetik piretroid insektisid varlığının araştırılması. Ankara Üniv.,Sağlık Bilimleri Ens., Doktora Tezi, 1-70.
19. Lavy, T. and Skulman, B. (1997). Arkansas Pesticide News Department of Agronomy, Volume 15, 1-29.

20. Anonim, (2002b). Süt ve ürünlerinde pestisitler. Gıda Mühendisliği dergisi. Erişim:[http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/ad7c2ebb96fcba7_ek.pdf?dergi=12] Erişim: 10.03.2012.
21. Steinhart,C.E., Doyle, M.E., Cochrane, B.A. (1996). Food Safety, Marcel Dekker, Inc, Newyork.
22. Anonim, (1999). US EPA, (United States Enviromental Protection Agency), Summary of OPP reduced- risk pesticides initavite., 2 pp.
23. Güney, E. (1992). Çevre sorunları. Hatiboğlu Yayınları, Ankara.
24. Tatlı, Ö. (2006). Ege Bölgesine Özgü Bazı Yaş Meyve, Sebze ve Kurutulmuş Gıda Ürünlerinde Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Tespiti. Çukurova Üniv., Fen Bilimleri Ens. Yüksek Lisans Tezi, 1-133.
25. Öztürk, S. (1990). Tarım İlaçları, Hasad Yayıncılık, İstanbul, 65-71.
26. Anonim, (2007a) Gıda Bulaşanları, Erişim:[<http://www.turktox.org.tr/gida/fr.1-link.htm>.] Erişim tarihi: 07.04.2012.
27. Costa, L.G. (2008). Toxic effects of pesticides. In: Casarett&Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, Seventh ed., Ed, Klaassen, C.D. The McGraw-Hill Co. Inc., USA, 883-930.
28. Anonim, (1998a). Council Directive 98/179/EC Laying down detailed rules on official sampling for the monitoring of certain substances and residues thereof in live animals and animal products.
29. Stefanelli, P., Muccio, A. D., Ferrara, F., Barbini, D. A., Generali, T., Pelosi, P., Amendola, G., Vanni, F., Muccio, S. D., Ausili, A. (2004). Estimation of intake of organochlorine pesticides and chlorobiphenyls through edible fishes from the Italian Adriatic Sea during 1997. Food Control, 15: 27–38.
30. Ceylan, S. (1977). Klorlu hidrokarbon insektisidlerinin rezidülerinin süt, tereyağı, peynir ve iç yağlarında kromatografik yöntemlerle araştırılması. A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, 24 (2), 296-318.

31. Ağca, İ. (2006). Konyada satılan bazı balık türlerinde organoklorlu pestisit kalıntılarının analizi. Selçuk Üniv. Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 1-79.
32. Wright, D.A., Welbourn, P. (2002). Environmental Toxicology. First Ed., Cambridge University Press, England, 355-362.
33. Çok, I., Bilgili, A., Özdemir, M., Özbek, H., Bilgili, N., Burgaz, S. (1997). Organochlorine pesticide residues in human breast milk from agricultural regions of Turkey, 1995-1996. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 59, 577-582.
34. Acara, A. (2006). Türkiye'nin kalıcı organik kirletici maddelere (POP'ler) ilişkin Stockholm sözleşmesi için taslak ulusal uygulama planı. Unido-POP'ler Projesi. Proje No. GF/TUR/03/008, 1-237.
35. Who (1979). Environmental Health Criteria 9: DDT and Its Derivatives. World Health Organization, Geneva.
36. Tomlin, C.D.S. (2003). The e-Pesticide Manual. Twelfth ed., Version 2.2 British Crop Protection Council.
37. Anonim, (2001). Natural Resources Defence Council; Healthy Milk, Healthy Baby, Chemical Pollution And Mother's Milk. Chemicals: Dieldrin, Aldrin And Endrin. Erişim: [<http://www.Nrdc.Org/Breastmilk/Chem3.Asp>] Erişim tarihi: 21.03.2012.
38. Anonim, (2003). Agency For Toxic Substances And Disease Registry. Toxicological Profile 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD. Public Health Statement. Erişim: [<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp35-c1.pdf>] Erişim tarihi: 10.05.2012.
39. Yücer, M. (2006). Ruhsatlı Tarım ilaçları Hasad Yayıncılık, İstanbul.
40. Buhler, D. R. (1989). Transport, accumulation, and disappearance of pesticides. In Chemistry, Biochemistry, and Toxicology of Pesticides. Pesticide Education Program. Witt, J. M., Ed. Oregon State University Extension Service, Corvallis, OR, 6-14.

41. Anonim, (1984a). International Programme On Chemical Safety, Environmental Health Criteria 40 Endosulfan.
42. Anonim, (1984b). International Programme On Chemical Safety, Environmental Health Criteria 38 Heptachlor.
43. Anonim, (1993) Agency For Toxic Substances And Disease Registry.Toxicological Profile.Heptachlor/Heptachlor Epoxide Public Health Statements Erişim: [<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp12-c1.pdf>] Erişim tarihi:10.05.2012.
44. Anonim, (1997). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Pestisit Kalıntı Limitleri. T.C. Resmi Gazete 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayı.
45. Anonim, (2007b). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ, Tebliğ No: 2007/17. T.C. Resmi Gazete 9 Mart 2007 tarih ve 26457 sayı.
46. Anonim, (1996a). Council Directive 96/23/EC of 29 April 1996. On measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products and repealing Directives 85/358/EEC and 86/469/EEC and Decisions 89/187/EEC and 91/664/EEC, 125/10-30.
47. Anonim, (1996b). Council Directive 96/22/EC of 29 April 1996. Concerning the prohibition on the use in stockfarming on certain substances having a hormonal or thyrstatic action and of beta-agonists, and repealing Directives 81/602/EEC, 88/146EEC and 88/299EEC, 125/3-9.
48. Anonim, (1998b). Council Directive 98/179/EC 23 February 1998. Laying down detailed rules on official sampling for the monitoring of certain substances and residues thereof in live animals and animal products, 65/31-34.
49. Anonim, (2012b). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. Ulusal Kalıntı Kontrol Planı.
50. Skoog, D., A., Holler, F., J., Nieman, T., A., Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H. (1998). “Enstrumental Analiz İlkeleri”, Birinci baskı, Bilim Yayıncılık, 529-535.

51. Anonim, (2009). Tübitak UME, Kimyasal Ölçümlerde Metot Validasyonu ve Belirsizlik Hesaplamaları, Kocaeli.
52. Lehotay, S.J. (2006). Quick, easy, cheap, effective, rugged and safe approach for determining pesticide residues. In: Pesticide Protocols. Ed., Vidal J.L.M. Humana Press Totowa, New Jersey, 239-263.
53. Ridgway, K., Lalljie, S.P.D., Smith, R.M. (2007). Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. *Journal of Chromatography A*, 1153, 36-53.
54. Weber, C.I., Mureşan, Gh., Georgescu, B. (2008). Organochlorine pesticide residue analysis from cow milk. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 65(1-2).
55. Paya, P. Anastassiades, M., Mack, D., Sigolova, I., Tasdelen, B., Oliva, J., Barba, A. (2007). Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 389, 1697-1714.
56. Mallatou, H, Pappas, C.P., Kondyl, E., Albanis, T.A. (1997). Pesticide residue in milk and cheese from Greece. *The Science of the Total Environment*, 196, 111-117.
57. Jonh, P.J., Bakore, N., Bhatnagar, P. (2001). Assessment of organochlorine pesticide residue levels in dairy milk and buffalo milk from Jaipur City, Rajasthan, India. *Environmental International*, 26, 231-236.
58. Kampire, E., Kiremine, B.T., Nyanzi, S.A., Kishimba, M. (2011). Organochlorine pesticide in fresh and pasteurised cow's milk from Kampala markets, Uganda. *Chemosphere*, 84, 923-927.
59. Ciscato, C.H.P., Gebara, A.B., Spinosa, H.S. (2002). Pesticide residues in cow milk consumed in Sao Paulo city, Brazil. *Journal of Environmental Science and Health*, B37 (4), 323-330.
60. Martinez, M.P., Angulo, R., Pozo, R., Jodral, M. (1997). Organochlorine pesticides in pasteurised milk and associated health risks. *Food and Chemical Toxicology*, 35, 621-624.

61. Maitre, M.I., Sierra, P., Lenardon, A., Enrique, S., Marino, F. (1994). Pesticide residue levels in Argentinian pasteurised milk. *The Science of the Total Environment*, 155, 105-108
62. Ghidini, S., Zanardi, E., Battaglia, A., Varisco, G., Ferretti, E., Campanini, G., Chizzolini, R. (2005). Comparison of contaminant and residue levels in organic and conventional milk and meat products from northern Italy. *Food Additives and Contaminants*, 22 (1), 9-14.
63. Erdoğan, Ö., Covaci, A., Kurtul, N., Schepens, P. (2004). Levels of organohalogenated persistent pollutants in human milk from Kahramanmaraş region, Turkey. *Environment International*, 30, 659-666.