



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İMİDACLOPRİD PESTİSİTİNİN TOPRAKTAN *Cucurbita pepo* L. İLE

FİTOREMEDİASYONU

Tayfun POTUR

Bitki Koruma Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İMİDACLOPRİD PESTİSİTİNİN TOPRAKTAN *Cucurbita pepo* L. İLE
FİTOREMEDİASYONU**
Tayfun POTUR
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tezin Sunulduğu Tarih: **02/02/2018**

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Osman TIRYAKI

ÇANAKKALE

Tayfun POTUR tarafından Prof. Dr. Osman TİRYAKİ yönetiminde hazırlanan ve **02/02/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**İmidacloprid Pestisitinin Topraktan *Cucurbita pepo* L. İle Fitoremediasyonu**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Osman TİRYAKİ

.....

Başkan

Prof. Dr. İsmet YILDIRIM

.....

Üye

Doç. Dr. Cafer TÜRKMEN

.....

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2017-1214

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Tayfun POTUR

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada bana yol gösteren, çalışmanın baőından sonuna kadar tecrübe ve bilgilerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Osman TİR YAKİ' ye

Çalıőmamız FYL-2017-1214 kodlu proje ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi BAP koordinatrlğu tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı BAP birimine teşekkür ederim.

Son olarak maddi manevi desteklerini esirgemeyen Eőim ve Aileme teőekkürü bir borç bilirim.

Tayfun POTUR
anakkale, Őubat 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Asetik asit
BCF	Biyokonsantrasyon faktörü-Bioconcentration factor
ÇOBİLTUM	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama Merkezi
EPA	Çevre Koruma Ajansı-Environmental Protection Agency
FKT	Fırın kuru toprak
HKT	Hava kuru toprak
IRAC	İnsektisit Dayanıklılık Faaliyet Komitesi-Insecticide Resistance Action Committee
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği - International Union of Pure and Applied Chemistry
LOD	Tespit limiti-Limit of dedection
MC	Matrisli kalibrasyon-Matrix matched calibration
MeCN	Asetonitril-Acetonitrile
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
mg/kg	Miligram/Kilogram
NaAc	Sodyum asetat
NaCl	Sodyum klorür
ng	Nanogram
QuEChERS	Hızlı, Basit, Etkili, Güvenli ve Kesin Analiz Metodu-Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe
POPs	Kalıcı organik kirleticiler-Persistent organic pollutants
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı-Revolutions per minute
rcf	Oransal santrifüjleme kuvveti-Relative centrifugal force
RSD	Oransal standart sapma-Relative standard deviation
r _t	Alıkonma zamanı-Retention time
SC	Çözücü kalibrasyon-Solvent calibration
SD	Standart sapma-Standart deviation
TF	Translokasyon faktörü- Translocation factor
µl	Mikrolitre

ÖZET

İMİDACLOPRİD PESTİSİTİNİN TOPRAKTAN *Cucurbita pepo* L. İLE FİTOREMEDİASYONU

Tayfun POTUR

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Osman TİRYAKİ

02/02/2018, 48

Pestisitler tarımda faydalı bir araçtır, fakat çevreye de çok zararlı etkileri vardır. Kirlenmiş topraklardan pestisit arındırmak için birçok yöntem vardır. Bunlardan bir tanesi de fitoremediasyondur. Fitoremediasyon son yıllarda ortaya çıkan ve arıtımda bitkilerin kullanıldığı çevre dostu bir yöntemdir. Bu çalışmada imidacloprid pestisitinin fitoremediasyonunda kabak bitkisi (*Cucurbita pepo* L.) kullanılmıştır. Önerilen doz ve bu dozun 2 ve 3 katı oranlarında imidacloprid uygulanmış saksılara kabak ekilmiştir. Ondört gün sonra, imidaclopridin, toprak, kök, gövde ve yapraktaki dağılımına bakılmıştır. Biyokonsantrasyon faktörleri ($BCF = \text{Bitki kısmı konsantrasyonu} / \text{Toprak konsantrasyonu}$) ve translokasyon faktörleri ($TF = \text{Gövde BCF} / \text{Kök BCF}$) de sırasıyla 0,46-1,35 ve 0,50-0,58 arasında bulunmuştur. Daha önceden hiç pestisit uygulanmamış toprağa 500 ng/g dozda imidacloprid uygulanmış ve topraktan, SC ile %75,00-86,40 (ortalama %81,40) arasında, MC ile %78,68-93,24 (ortalama 86,88) geri alım elde edilmiştir. RSD değerleri ise sırasıyla %4,75 ve %5,64 olarak bulunmuştur. Tüm metodun ($n=14$) geri alımı %84,23 RSD'si ise %6,01 olarak bulunmuştur. Bunlar SANCO (2013) ile uyumludur. Bitki örneklerinde imidacloprid en çok kök daha sonra yaprak ve gövde kısımlarında tespit edilmiştir. Bitkinin pestisiti topraktan fitoekstraksiyon ile bünyesine aldığı ve pestisitinin fitostabilizasyon yöntemi ile kök çevresinde tutulduğu belirlenmiştir. Çalışmada imidacloprid %25,2 oranında fitoremedie edilebilmiştir.

Anahtar sözcükler: *Cucurbita pepo* L., Fitoremediasyon, İmidacloprid.

ABSTRACT

PHYTOREMEDIATION OF SOIL CONTAMINATED WITH IMIDACLOPRID PESTICIDE BY *Cucurbita pepo* L.

Tayfun POTUR

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Plant Protection

Advisor: Prof. Dr. Osman TİRYAKİ

02/02/2018, 48

Pesticides are useful tool in agriculture. But have also harmful effects on environment. There are several methods to remove pesticide from the polluted soil. One of them is a phytoremediation. Phytoremediation is an environmentally friendly method that has emerged in recent years. In this study, pumpkin plant (*Cucurbita pepo* L.) was used in the phytoremediation of imidacloprid. Pumpkin seeds were planted in the pooted soil which imidacloprid applied at the recommended dose and 2 and 3 fold. After 14 days, distribution of imidaclopridin soil, root, stem and leaves were examined. Bioconcentration factors ($BCF = \text{Concentration in plant part} / \text{Concentration in soil}$) and translocation factors ($TF = \text{Stem BCF} / \text{Root BCF}$) were found between 0.46-1.35 and 0.50-0.58, respectively. In the fortification study, which imidacloprid was applied to the untrated soil at 500 ng/g level, recovered imidacloprid from the soil were 75,00% to 86,40% (mean 81,40%) by SC and 78,68% to 93,24% (mean 86,88%) by MC. RSD values were 4,75% and 5,64% respectively. Overall recoveries of the method was 84,23% with a RSD of 6,01% (n=14). These figures are fit SANCO (2013). Among the plant samples, most of the imidacloprid was in root, later found in leaf and stem parts. It has been determined that the plant has taken the imidacloprid pesticide by phytoextraction mechanism and the pesticide has been kept around the root by the phytostabilization method. Imidacloprid was phytoremediated at 25,2% , in this study.

Keywords: *Cucurbita pepo* L., Phytoremediation, Imidacloprid.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	iii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	ivv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	5
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Fitoremediasyonun Kısa Tarihçesi.....	5
2.2. Fitoremediasyon ile Pestisitlerin Arındırılma Çalışmaları.....	10
2.3. QuEChERS Analiz Yöntemi.....	13
BÖLÜM 3	16
MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal	16
3.1.1. Pestisit ve Kimyasallar	16
3.1.2. Cihaz ve Malzemeler	17
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Denemenin Kurulması.....	18
3.2.2. Örnekleme	21
3.2.3. Ekstraksiyon ve Clean-up.....	22
3.2.3.1. Toprak Numuneleri.....	22
3.2.3.2. Bitki Numuneleri	26
3.2.4. Toprak Numunelerinde Geri Alım Çalışmaları.....	29
3.2.4.1. Fortifikasyon.....	29
BÖLÜM 4	30
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	30
4.1. Metot Validasyonu	30
4.1.1. Kromatografik Tekrar Edilebilirlik	30

4.1.2. Kalibrasyonun Doğrusallığı.....	30
4.1.3. Matris Etkisi (ME).....	32
4.1.4. Geri Alım (Recovery), Kesinlik (Precision).....	34
4.2. Çalışma Sonucu Elde Edilen Bulgular	35
BÖLÜM 5	41
SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	42
EKLERİ	I
EK 1. Student t testi tablo değerleri.....	II
EK 2. Dixon testi tablo değerleri.....	III
ÖZGEÇMİŞ	IV



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Pestisitlerin uygulama sonrası akıbeti (Anonim, 2018).....	2
Şekil 2.1. Fitoremediasyon yönteminin temel mekanizmaları (Favas ve ark., 2014).....	5
Şekil 2.2. Fitoekstraksiyon yöntemi (Longley, 2007)	6
Şekil 2.3. Fitodegradasyon yöntemi (Vanlı, 2007).....	6
Şekil 2.4. Fitovolatilizasyon yöntemi (Vanlı, 2007).....	7
Şekil 2.5. Fitostabilizasyon yöntemi (Pal, 2017)	7
Şekil 2.6. Rizodegradasyon yöntemi (Favas ve ark., 2014)	8
Şekil 2.7. Rizofiltrasyon yöntemi (Vanlı, 2007).....	8
Şekil 2.8. QuEChERS metodunun versiyonları (Çetinkaya-Açar, 2015).....	14
Şekil 3.1. Denemenin kurulması.....	18
Şekil 3.2. Toprakların elekten geçirilmesi ve saksılara doldurulması	19
Şekil 3.3. Toprağın sulanması.....	20
Şekil 3.4. Kabak tohumlarının ekim işlemi	21
Şekil 3.5. Toprak örneği alınması	21
Şekil 3.6. Falcon tüpüne doldurulmuş toprak örnekleri ve asetonitril ilavesi	22
Şekil 3.7. Asetonitril eklenen örneğin vortekste çalkalanması	23
Şekil 3.8. Örneklerin santrifüj ile ekstraksiyonu	24
Şekil 3.9. Ekstraksiyon sonrası clean-up için 6 ml süpernatant çekilmesi	24
Şekil 3.10. Clean-up sonrası kromatografik analize hazır örnekler.....	25
Şekil 3.11. Toprak örneklerinin analiz işlem akış şeması.....	25
Şekil 3.12. Bitki örneklerinin kısımlara ayrılması	26
Şekil 3.13. Örneklerin vortekste çalkalanması	26
Şekil 3.14. Ekstraksiyon sonrası örneklerin eppendorf tüplerine aktarılması	27
Şekil 3.15. Örneklerin clean-up için santrifüjlenmesi	27
Şekil 3.16. Clean-up sonrası kromatografik analize hazır örnekler.....	28
Şekil 3.17. Bitki örneklerinin analiz işlem akış şeması	28
Şekil 4.1. Çözücü kalibrasyonda (sc) imidaclopridin eğrisi	32
Şekil 4.2. Toprak matrisli kalibrasyonda (mctoprak) imidaclopridin eğrisi.....	32
Şekil 4.3. İmidaclopridin (50 pg/µl) asetonitril çözücüsünde kromatogramı	33
Şekil 4.4. İmidaclopridin (50 pg/µl) mc _{toprak} 'da kromatogramı	34
Şekil 4.5. TF ve BCF ortalama değerleri	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Pestisitlerin ve bazı kimyasalların toprakta yarılanma süresine göre sınıflandırılması(Yılmaz ve Alagöz, 2008).....	1
Çizelge 2.1. Fitoremediasyon yönteminde kirleticilere uygun bitki çeşitleri	9
Çizelge 2.2. Fitoremediasyonda uzaklaştırma ve imha yolları	10
Çizelge 3.1. İmidaclopridin fizikokimyasal özellikleri(Romeh, 2010; FOOTPRINT, 2018)	16
Çizelge 3.2. İmidaclopridin çevresel ve toksikolojik özellikleri(Romeh, 2010; FOOTPRINT, 2018)	17
Çizelge 3.3. LC-MS/MS çalışma koşulları	18
Çizelge 3.4. Toprak bünyesi analiz sonuçları	19
Çizelge 4.1. İmidaclopridin alıkonma zaman sınırları (n=7).....	30
Çizelge 4.2. İmidaclopridin kalibrasyon verileri (Doğrusal sınır, 25–3000 ng/ml)	31
Çizelge 4.3. İmidaclopridin oluşturduğu matris etkisinin önemi (Student t testi).....	33
Çizelge 4.4. Gerçekleştirilen fortifikasyon ve tekerrürler	34
Çizelge 4.5. QuEChERS metodu uygulanan geri alım çalışmasında imidaclopridin geri alım, % RSD değerleri (500 ng/g Fortifikasyon seviyesi verileri)	35
Çizelge 4.6. Toprakta farklı günlerde imidacloprid konsantrasyonları, ng/g	36
Çizelge 4.7. Bitki örneklerindeki imidacloprid konsantrasyonları (MCToprak)*, ng/g	37
Çizelge 4.8. Biyokonsantrasyon faktörü değerleri.....	38

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Günümüzde pestisitler ve kimyasallar konvansiyonel tarımın vazgeçilmez bir parçası haline gelmişlerdir. Üreticiler, ürünlerinin kalite ve verimini artırmak ve işçilik maliyetlerini azaltmak amacıyla tarımsal üretimde yoğun olarak kimyasal kullanılmaktadırlar. Bu kimyasalların başında gübreler gelse de pestisitler insan sağlığı ve çevre açısından daha tehlikelidir. Pestisitler tarımsal üretimde hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde yoğun olarak kullanılmaktadır. Pestisit Latince’de zararlı organizma anlamına gelen ‘pest’ ve engelleyen/yok eden anlamındaki ‘cide’ kelimelerinin bir araya gelmesiyle oluşan bir kelimedir. Pestisit, zararlı organizmaların zararlarını engellemek ya da olabildiğince azaltmak için kullanılan yapay ya da doğal kimyasal bileşiklerdir. Tarımsal üretimde pestisitlerin bu kadar çok kullanılma sebeplerinin arasında diğer yöntemlere oranla daha kısa zamanda etki göstermesi, daha ekonomik olması ve daha kolay şekilde uygulanabilmesi söylenebilir.

Pestisitleri birçok şekilde sınıflandırmak mümkün olmakla beraber topraktaki yarılanma sürelerine göre de sınıflandırılabilir. Pestisitler kalıcı değil, orta derece kalıcı, kalıcı ve devamlı kalıcı olarak 4 sınıfa ayrılırlar. Günümüzde kullanılan bazı pestisitlerin topraktaki yarılanma süreleri Çizelge 1.1’de gösterilmiştir.

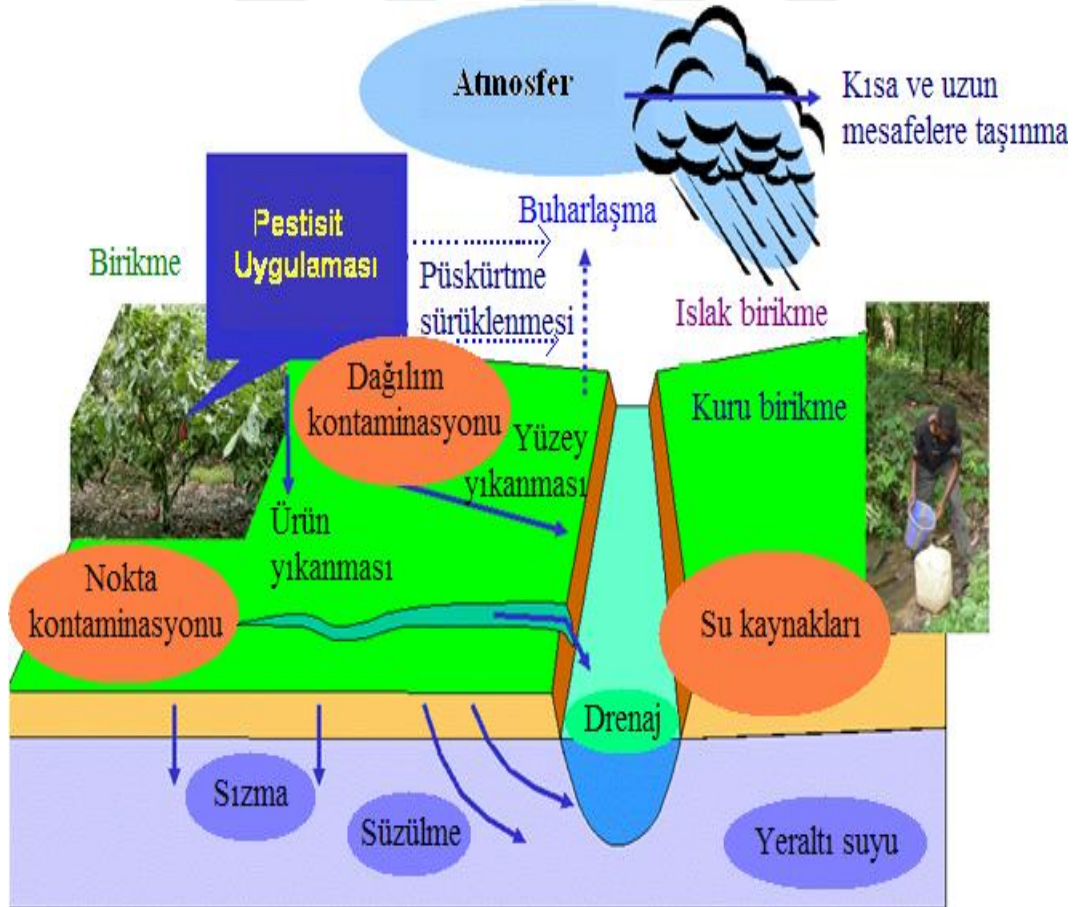
Çizelge 1.1. Pestisitlerin ve bazı kimyasalların toprakta yarılanma süresine göre sınıflandırılması (Yılmaz ve Alagöz, 2008)

	DT₅₀	Pestisit Grubu
Kalıcı Değil	1-12 Hafta	Organik Fosforlar ve Karbamatlılar
Orta Derece Kalıcı	1-18 Ay	2,4-D, Atrazin vb.
Kalıcı	2-5 Yıl	Klorlandırılmış Hidrokarbonlar
Devamlı Kalıcı	Hiç Bozulmaz	Civa, Arsenik ve Kurşun Bileşikleri

İmidacloprid pestisiti, insektisitlerin ana gruplarından neonikotinoitler içerisinde olup, insektisit dayanıklılık sınıflandırmasında (IRAC) 4A grubunda yer almaktadır. Saflığa bağlı olarak renksiz kremalı kristal toz halinde bulunur. Çözünmesi kolay, uçucu olmayan, toprakta kalıcılığı yüksek bir pestisittir. Toprakta yarılanma süresi 191 gün olup orta derece kalıcı sınıfta yer almaktadır. Toprakta oluşan metabolitleri 1-((6-kloro-3-piridinil) metil), N-nitro-1H-imidazol-2-amin ve 6-kloronikotinik asit olarak bilinmektedir.

Memeliler ve solucanlar için orta derecede toksik olduğu bilinmektedir. Ülkemizde domates, biber, patlıcan, bağ, elma ve armut gibi en çok tüketilen ürünlerde ruhsatlı bir insektisittir. İmidacloprid etken maddeli ticari preparatın toprağa uygulama dozu 100 ml/da olarak belirtilmiştir (FOOTPRINT, 2018).

Pestisit uygulaması durağan bir uygulama değildir. Bir tarımsal sistemde ilaç uygulamasından sonra çevrede olabilecek olaylar ya da pestisitlerin uygulamadan sonraki akıbetleri Şekil 1.1'de özetlenmiştir. Bunlar arasında yeraltı sularına sızma, bulaşma, rüzgârla uzun mesafelere taşınma, drenaj sistemi ile ana su kaynaklarına bulaşma ve soluduğumuz havada zerrecikler halinde asılı kalma sayılabilir (Tiryaki ve Temur, 2010). Şekil 1.1'de görülen pestisitlerin uygulama sonrası ne gibi olaylara neden olduğu düşünüldüğünde tarım ilacı uygulamanın ne kadar ciddi bir sorumluluk getirdiği anlaşılabilir. Ayrıca bir bölge de pestisit uygulaması yapılmamış ise bile yıllar önceden özellikle kalıcılığı yüksek pestisitlerin kalıntısı bulunabilmektedir. Bu da kirlenmiş alanların temizlenip arındırılmasının önemini birkaç kat artırmaktadır.



Şekil 1.1. Pestisitlerin uygulama sonrası akıbeti (Anonim, 2018)

Doğada pestisitlerin etkileri birbirinden farklı olabilmektedir. Örneğin bazı kirleticilerin etkileri akut olarak görülürken bazılarının etkileri kronik olduğu için etkilerin anlaşılması uzun yıllar alabilmektedir. Zamanla doğada kirleticilerin etkileri daha da artmış ve doğanın arıtılma ihtiyacı doğmuştur. Toprakların arıtılma ihtiyacıyla beraber arıtım yöntemleri ortaya çıkmaya başlamıştır. Fitoremediasyon da son yıllarda ön plana çıkan modern arıtım sistemlerinden bir tanesidir (Gratao ve ark., 2005).

Fitoremediasyon Türkçe'ye yeşil ıslah, bitkisel arıtım, bitkilerle temizlik ve bitkisel iyileştirme olarak çevrilir. Latince'de bitki anlamına gelen 'phyto' ve ıslah anlamına gelen 'remediation' kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuştur. Fitoremediasyon,pestisitler, ağır metaller vb. kirleticilerin topraktan veya sudan bitkilerle ya da bitkilerle ilişkili mikroorganizmalarla arıtıldığı çevre dostu bir arıtım yöntemidir. Fitoremediasyon yönteminin altında fitoekstraksiyon, fitodegradasyon(fitotransformasyon), fitovolatilizasyon, fitostabilizasyon, rizodegradasyon ve rizofiltrasyon olmak üzere 6 adet temel mekanizma yer almaktadır (Demir ve ark., 2010). Fitoremediasyon, kirlenmiş toprakları herhangi bir yere taşımadan yerinde yapılabilmesi özelliği ile birçok arıtım yöntemine göre daha avantajlıdır. Birçok yöntemde özellikle biyoremediasyonda kirlenmiş toprakların, arıtım bölgesi ya da tesisine taşınma zorunluluğu vardır.

Pestisitlerin topraktan fitoremediasyonunda çeşitli bitkilerle çalışma yapılmıştır. Hindistan hardalı, hibrit kavaklar, çimler, su sümbülü, ayçiçeği fitoremediasyonda kullanılan bitkiler arasında sayılabilir. Kabak türleri de hızlı çimlenme ve vejetatif aksam oluşturması, toprak seçiciliğinin az olması gibi avantajları nedeniyle fitoremediasyonda kullanılan ve başarı elde edilen bitkiler arasındadır.

Kabak (*Cucurbita pepo*) Cucurbitales takımını Cucurbitaceae familyası altında yer almaktadır. Kabağın tarihçesi yaklaşık olarak M.Ö. 7000'li yıllara dayandığı Meksika'da bulunan tohumlarla kanıtlanmıştır. Anavatan olarak Amerika ve Anadolu olduğu bilinmektedir. Kabaklar botanik bakımdan; yazlık kabak (*Cucurbita pepo*), kestane kabağı (*Cucurbita maxima*) ve bal kabağı (*Cucurbita moschata*) olarak üçe ayrılmaktadır(Günay, 1983; Fidan, 2014). Kabaklar soğuk iklimden hoşlanmaz ve zarar görürler. Tohumlar en iyi çimlenme başarısını 20-25°C'de göstermektedir. Vejetatif aksam gelişmesi için sıcaklığın en az 10°C olması gerekmektedir. Vejetasyon süresi 100-180 gün arasına değişmektedir (Fidan, 2014). Ülkemizde tohumluk olarak çoğunlukla sakız kabakları (*Cucurbita pepo*) ve bal kabağı (*Cucurbita moschata*) yetiştirilmektedir (Yanmaz, 2014). Resmi istatistik verilere göre ülkemizde 2016 yılında toplam 724 bin dekar alanda kabak yetiştirilmiş ve 394 bin ton verim elde edilmiştir. Bunlardan 42181 tonu çerezlik kabak,

351550 tonu ise sakız kabağıdır. Sakız kabağı 81349 ton ile en çok Antalya'da üretilmektedir. Antalya'yı 78175 ton ile Mersin ve 30466 ton ile Muğla izlemektedir. Çerezlik kabak ise 15053 ton ile en çok Kayseri'de yetiştirilmektedir. Kayseri'yi 13513 ton ile Nevşehir ve 4028 ton ile Aksaray takip etmektedir (TÜİK, 2016).

Bu tez çalışması, günlük hayatımızda yoğun olarak tükettiğimiz meyve ve sebzelerin birçoğunda ruhsatlı olan imidacloprid pestisitinin tarımsal arazilerden *Cucurbita pepo* L. bitkisi kullanılarak fitoremediasyon yöntemiyle arıtılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma boyunca elde edilen veriler gerekli hesaplamalar yapıldıktan sonra daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Denemenin başarılı sonuçlanması halinde imidacloprid insektisitinin doğada uzun zaman kalması önlenecek ve topraklarımız temizlenebilecektir.



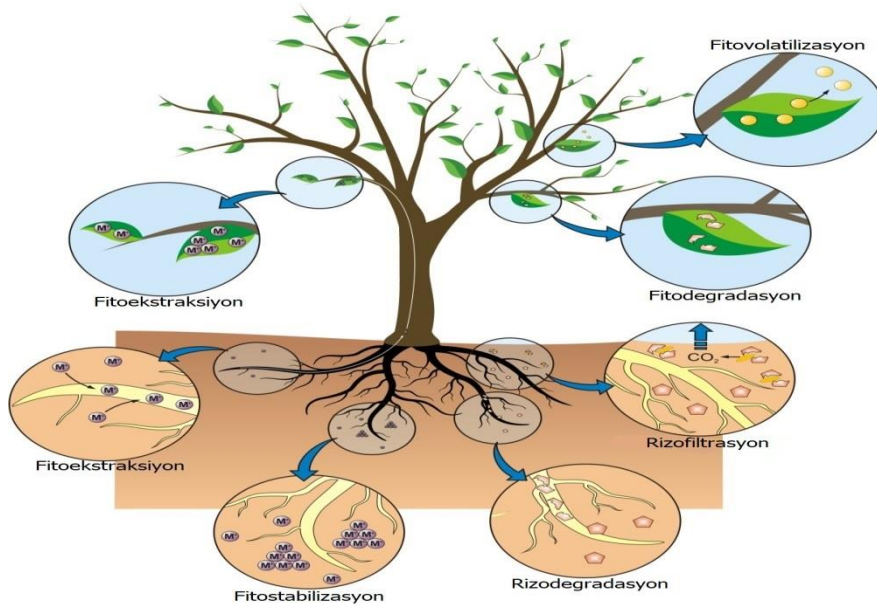
BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Fitoremediasyonun Kısa Tarihçesi

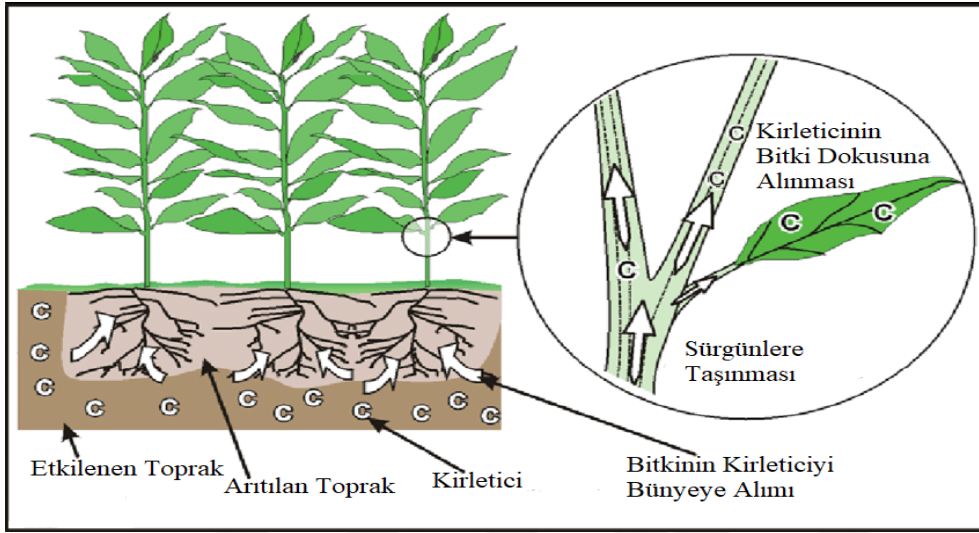
Fitoremediasyon, kirleticilerin sudan ve topraktan arındırılırken bitki ve bitkilerle ilişkili mikroorganizmaların kullanıldığı çevre dostu bir arıtım yöntemidir. Kısaca, kirlenmiş alanların temizlenmesinde bitkilerin kullanılmasıdır (Gratao ve ark.,2005; Demir ve ark., 2010). Memon ve ark. (2001), ise fitoremediasyonu kirleticilerin arıtımında yeşil bitkiler kullanılarak kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılması ya da daha zararsız formlara dönüştürülmesi olarak tanımlamaktadırlar.

Fitoremediasyonun ilk kez yaklaşık 300 yıl öncesinde atık su arıtımında kullanıldığı bilinmektedir (Hartman, 1975). 1970'li yıllarda çamur alanlardaki bulaşık ağır metallerin arıtımı için kullanılmış ve 1980'lerde uygun bitkilerin bulunmasıyla 1990'lı yıllardan günümüze yaklaşık olarak 200 farklı alanda uygulanan bir yöntem olmuştur (Gratao ve ark., 2005). Ancak bazı kaynaklara göre fitoremediasyon yönteminin 1991 yılında icat edildiği belirtilmektedir (Pilon-Smits, 2005). Pulford ve Watson (2002), yaptıkları çalışmada fitoekstraksiyon, fitodegradasyon, fitostabilizasyon, fitovolatilizasyon, rizofiltrasyon ve rizodegradasyon olmak üzere fitoremediasyon yönteminin 6 adet alt mekanizması olduğunu belirtmişlerdir. Bu mekanizmalardan bazıları bitkilerin toprak altı aksamlarında meydana gelirken bazıları ise toprak üstü aksamlarında meydana gelmektedir (Şekil 2.1).



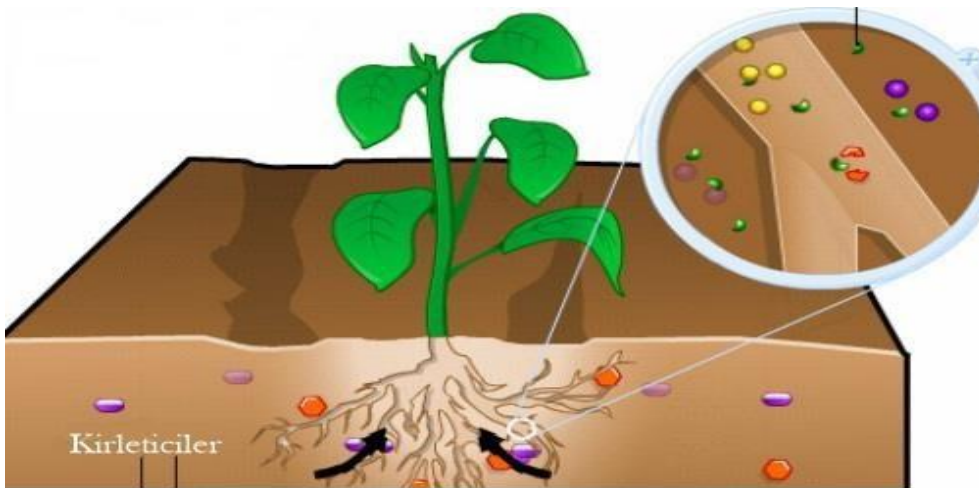
Şekil 2.1. Fitoremediasyon yönteminin temel mekanizmaları (Favas ve ark., 2014)

Fitoekstraksiyon, toprak ve su ortamındaki kirleticileri, bitkilerin kökleriyle alıp hasat edilebilir kısımlarında biriktirmesi sonucu uzaklaştırılmasıyla gerçekleşir (Alyüz ve ark., 2008) (Şekil 2.2). Genellikle bakır, çinko, kadmiyum, nikel ve kurşun ağır metalleriyle bulaşık toprakların arıtımında kullanılan bir yöntemdir (Hamutoğlu ve ark., 2012). Bu yönetime uygun yaklaşık 400 kadar bitki türü bilinmektedir.



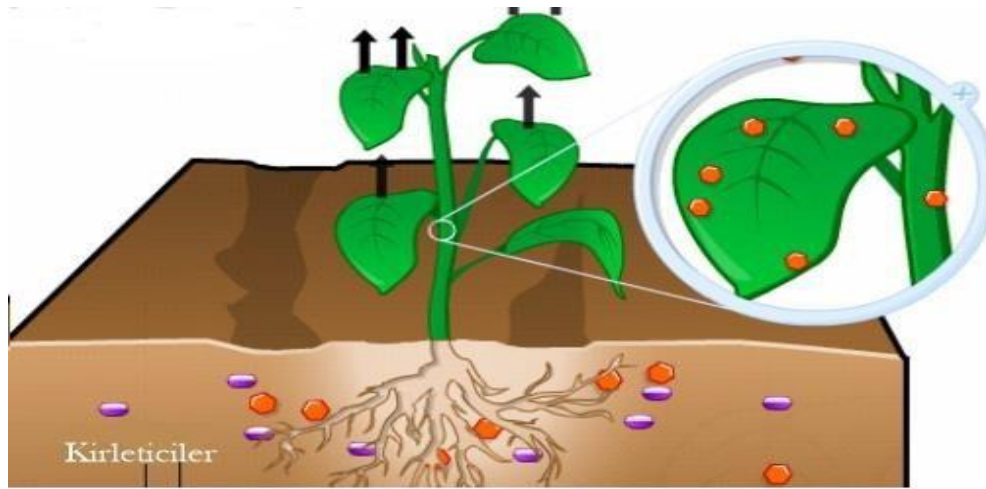
Şekil 2.2. Fitoekstraksiyon yöntemi (Longley, 2007)

Fitodegradasyon, Şekil 2.3'de görüldüğü gibi kirleticilerin bitki bünyesine alınarak metabolik işlemler sırasında doğaya zararsız formlara dönüştürülmesidir (EPA, 2000). Bu yönetime fitodegradasyon ya da bitkisel bozunma adı verilmektedir. Bu yöntem toprak, sediment, çamur ve yeraltı sularında uygulanabilmektedir. Bu yöntemle klorlu bileşikler, pestisitler, askeri kimyasal maddeler ve fenol bileşikleri arıtılabilmektedir.



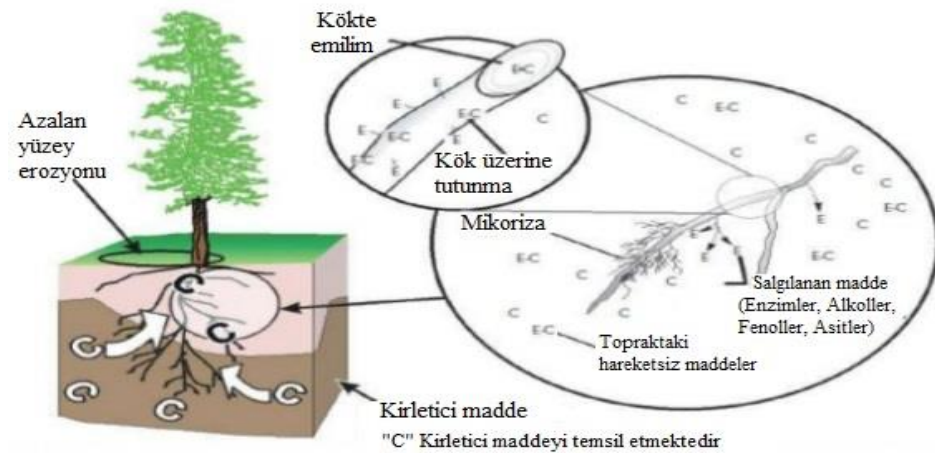
Şekil 2.3. Fitodegradasyon yöntemi (Vanlı, 2007)

Fitovolatilizasyon, bitkilerin bünyesine alınan kirleticilerin buhar yada gaz fazına dönüştürülerek ortamdan uzaklaştırılmasıdır (Şekil 2.4). Bitki topraktan aldığı zararlı maddeleri modifiye ederek daha az zararlı ya da zararsız hale getirerek uçucu formda atmosfere verir. Bu yöntem organik (klorlu çözücüler) ve inorganik (Hg, Se) kirleticilerin arıtımında uygulanabilmektedir.



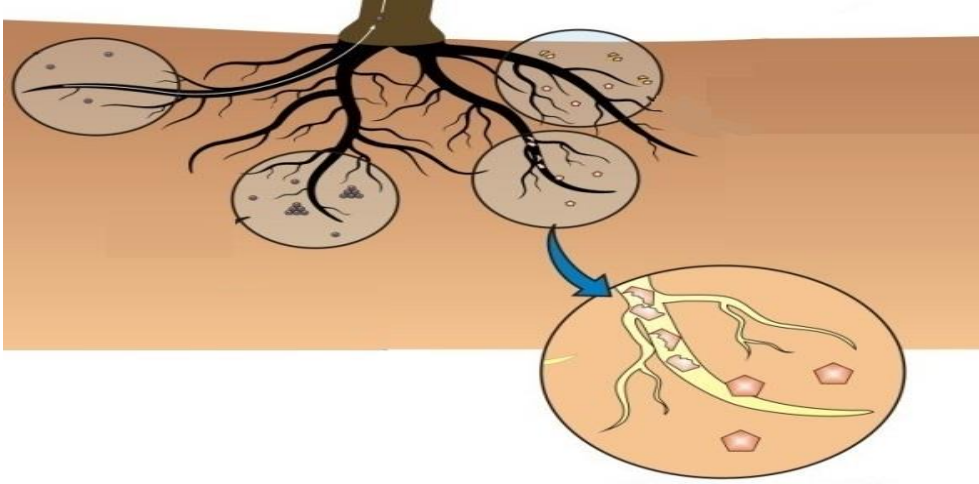
Şekil 2.4. Fitovolatilizasyon yöntemi (Vanlı, 2007)

Fitostabilizasyon, Şekil 2.5'te görüldüğü üzere topraktaki kirleticiler, bitkilerin köklerinin içinde veya çevresinde tutulmasıyla/birikmesiyle arıtılabilmekte ve değişik sebeplerle taşınmaları da önlenmektedir (EPA, 2000). Bu yöntem toprak, sediment ve çamurda uygulanabilen bir yöntemdir (Henry, 2000). Bu yöntem için terleme oranı yüksek bitkilerin uygun olduğu bildirilmiştir (Arlı, 2006).



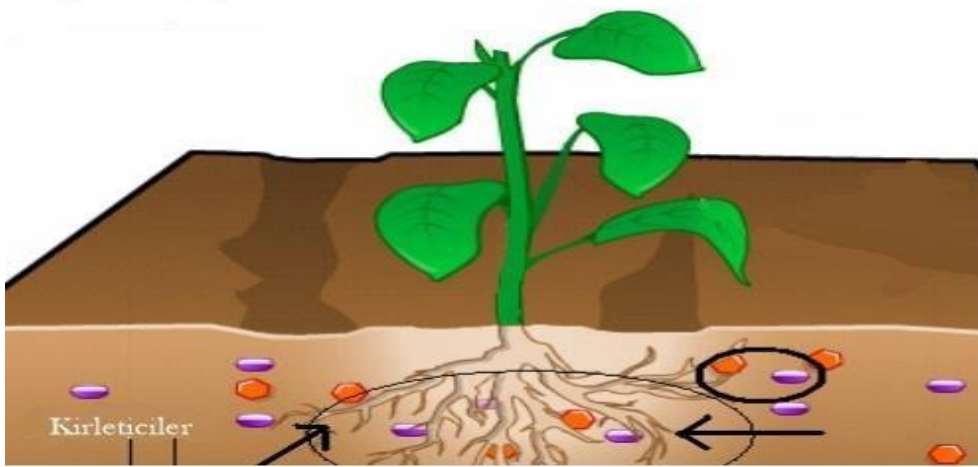
Şekil 2.5. Fitostabilizasyon yöntemi (Pal, 2017)

Rizodegradasyon, bitki kökleri ve köklerinde yer alan mikroorganizmaların aktiviteleri sonucunda organik maddelerin bozunmasıdır (Yıldız, 2008) (Şekil 2.6). Pestisitler, petrolü hidrokarbonlar, çok halkalı aromatik hidrokarbonlar, BTEX (benzen, toluen, etilbenzen, ksilen), klorlu çözücüler, pentaklorofenol ve poliklorinatlı bifeniller bu yöntem ile bozunabilen kirleticiler arasında yer almaktadır (Orman ve ark., 2011).



Şekil 2.6. Rizodegradasyon yöntemi (Favas ve ark., 2014)

Rizofiltrasyon, kirleticilerin köklerin içine girmesi veya köklerin üzerinde tutunmasıdır (Orman ve ark., 2011) (Şekil 2.7). Bu yöntemde temel işlem kirleticilerin bitki kökleri üzerinde veya içerisinde hareketsizliğinin sağlanmasıdır. Bu yöntem için kullanılacak bitkilerin ilk olarak kirleticiye adaptasyonu sağlanmalıdır (Yıldız, 2008).



Şekil 2.7. Rizofiltrasyon yöntemi (Vanlı, 2007)

Fitoremediasyon, ülkemizde ağır metallere kirlenmiş toprakların arıtımı konusunda çalışma yapılmış bir yöntemdir. Son yıllarda pestisitlerle kirlenmiş toprakların arıtımında da kullanılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir. White ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada DDT pestisitinin topraktaki en kararlı metaboliti olan *p,p'*-DDE'nin topraktan arıtımında *Cucurbita pepo* ssp *texana* ve *Cucurbita pepo* ssp *pepo* bitkilerini kullanmışlardır. Bir başka çalışmada ise Romeh (2010), imidacloprid pestisitiyle bulaşık su ve toprağın arıtımında *Plantago major* bitkisini kullanmış ve pestisit sudan rizofiltrasyon, topraktan ise fitoakümülyasyon veya fitodegradasyon yöntemleri ile alındığını saptamıştır. Fitoakümülyasyon, topraktaki pestisitlerin kökler yardımıyla bitki bünyesine alınıp sürgünlere taşınmasıdır.

Vanlı ve Yazgan (2008), yaptıkları çalışmada fitoremediasyonun alt mekanizmalarında kirleticilere uygun bitki çeşitlerini belirtmişlerdir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Fitoremediasyon yönteminde kirleticilere uygun bitki çeşitleri

Yöntem	Ortam	Kirletici	Kullanılan Bitki
Fitoekstraksiyon	Çamur, Toprak, Sediment	Metaller, Metalloidler, Radinüleidler	Hindistan hardalı, Hibrit kavaklar, Ayçiçeği
Fitodegradasyon	Çamur, Toprak, Sediment, Yeraltı ve Yüzey suyu	Organik bileşikler, Klorinat çözücüler, Herbisit, Fenoller	Alg, Servi, Siyah söğüt, Hibrit kavaklar
Fitostabilizasyon	Çamur, Toprak, Sediment	Klorinat çözücüler, Bazı İnorganikler (Se, Hg,)	Yonca, Kavaklar, Hindistan hardalı
Fitovolatilizasyon	Çamur, Toprak, Sediment, Yeraltı ve Yüzey suyu	As, Cd, Cr, Cu, Hs, Pb, Zn	Hindistan hardalı, Hibrit kavaklar, Ayçiçeği
Rizodegradasyon	Çamur, Toprak, Sediment, Yeraltı ve Yüzey suyu	Organik bileşikler	Kırmızı dut, Çim, Çeltik, Su kamışı, Kavaklar
Rizofiltrasyon	Yeraltı ve Yüzey suyu	Metaller, Radyonükleidler	Hindistan hardalı, Su sümbülü, Ayçiçeği

Fitoremediasyonun amacı kirleticinin ortamdaki uzaklaştırılmasıdır. Uzaklaştırmayı bazen bitkiler metabolik olaylar esnasında kirleticiyi zararsız formlara dönüştürerek yaparken bazı bitkiler ise bünyesinde kirleticiyi biriktirerek yapmaktadır. Kirleticiyi bünyede biriktirerek uzaklaştırma esasına dayanan yöntemlerde kullanılan bitkiler imha edilerek ya da uygun depolama alanlarında bekletilerek uzaklaştırma sağlanmaktadır. İmha kurutularak, yakılıp kül haline getirilerek, kompost yapılarak ya da yeniden dönüşüme sokularak yapılabilmektedir. Fitoremediasyon yönteminin alt mekanizmalarına ait uzaklaştırma yolları Çizelge 2.2’de gösterilmiştir (Orman ve ark., 2011).

Çizelge 2.2. Fitoremediasyonda uzaklaştırma ve imha yolları

Yöntem	Parçalanma/İmha	Alan Dışına Çıkarma
Fitoekstraksiyon		X
Fitodegradasyon	X	
Fitostabilizasyon		X
Fitovolatilizasyon		X
Rizodegradasyon	X	
Rizofiltrasyon		X

Her yöntemin olduğu gibi fitoremediasyon yönteminin de olumlu ve olumsuz tarafları vardır. Örneğin diğer yöntemlere oranla daha ucuz olması, kirli alanların yerinde arıtımına olanak sağlaması, fitoremediasyonla arıtım yapılan alanların kamuya açık yeşil alan olarak kullanılabilmesi gibi olumlu tarafları vardır. Ayrıca arıtımda kullanılan bitkiler kompost yapılarak bitki besini haline getirilebilir ve kirleticinin arıtımı daha kolay olur (Orman ve ark., 2011; Tiryaki ve Potur, 2017). Olumsuz taraflarına bakacak olursak bu yöntem diğer yöntemlere oranla daha uzun zaman gerektirmekte ve kirleticiyi tamamiyle ortamdaki arıtamamaktadır. Ayrıca bu yöntemin en tehlikeli olumsuzluğu ise metabolitler ana pestisitlerden daha zararlı hale gelebilir veya kirletici, bitkinin işlenmiş ürünlerinde kalıntıya neden olabilir (Yıldız, 2008).

2.2. Fitoremediasyon ile Pestisitlerin Arındırılma Çalışmaları

Pestisitlerin fitoremediasyonla arıtımı konusunda White ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada DDT’nin topraktaki en kararlı metaboliti olan, *p,p'*-DDE ile 200-1200 ng/g konsantrasyonda kirli toprakların fitoremediasyonunda *Cucurbita pepo* bitkisinin 21 farklı

kültür çeşidini kullanmışlardır. Araştırmacılar bitkilerin kök, gövde, yaprak ve meyvelerinden örnekler almışlar ve analiz sonucunda en başarılı türlerin *Cucurbita pepo* ssp *pepo* ve *Cucurbita pepo* ssp *texana* olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bitkideki pestisit kalıntısını tespit ederken bitki örneklerine ait biyokonsantrasyon faktörü (BCF) ve translokasyon faktörünü de (TF) hesaplamışlardır. BCF değerleri, bitki kısımlarından elde edilen kirletici miktarının aynı parseldeki toprak örneğinden elde edilen kirletici miktarına bölünmesiyle bulunmaktadır. TF ise bitkinin gövde kısmından elde edilen BCF değerinin kök kısmından elde edilen BCF değerine oranıdır. Kalıntının köklerde biriktiğinin söylenebilmesi için $BCF > 1$ 'den olması gerektiğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada ssp *pepo* için BCF değerlerini kök için 7,22, gövde için 5,40, yaprak için 0,87 ve meyve için 0,28 bulmuşlardır. Araştırmacılar ssp *texana* için BCF değerlerini kök için 2,37, gövde için 0,45, yaprak için 0,13 ve meyve için 0,08 bulduklarını bildirmişlerdir. Bitkilere ait TF değerlerini ssp *pepo* için 0,74, ssp *texana* için 0,19 bulmuşlardır. Aynı araştırmacı grubu yaptıkları başka bir çalışmada 8 *Cucurbita pepo* çeşidini *p,p'*-DDE fitoekstraksiyonu için kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre 4 çeşidin akümülatör olduğunu belirtirken *Cucumis sativus* ve *Cucurbita pepo* ssp *ovifera* türlerinin akümülatör olmadığını yani *p,p'*-DDE'yi bünyelerine almadıklarını belirlemişlerdir. Ayrıca makro ve mikro besin elementlerinin fitoekstraksiyona etki ettiğini ve POP'ların (Kalıcı organik kirleticiler, Persistent Organic Pollutants) fitoekstraksiyonu azaltabileceğini bildirmişlerdir (White ve ark., 2005a).

White ve ark. (2005b), yaptıkları başka bir çalışmada *p,p'*-DDE ile (90-1200 ng/g) bulaşık alanların fitoremediasyonunda fiğ, çavdar, hardal, kanola, güvercin bezelye, yonca, yer fıstığı ve beyaz acı bakla bitkisinin 3 çeşidini kullanmışlardır. Bütün bitkilerde *p,p'*-DDE kalıntısına rastladıklarını ve güvercin bezelyesi haricindeki bütün bitkilerde köklerdeki konsantrasyonun diğer kısımlara oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar en yüksek kök BCF değerinin 6 ile yoncada bulunduğunu en düşük değerin ise 0,41 ile güvercin bezelyesine ait olduğunu tespit etmişlerdir. TF değerlerini ise 0,04 ile 0,37 arasında bulmuşlardır. En yüksek TF değerini kanolada, en düşük TF değerini ise yonca ve beyaz acı baklanın 2 çeşidinde tespit etmişlerdir.

Dosnon-Olette ve ark. (2009), laboratuvar koşullarında yaptıkları çalışmada 5 sucul bitkinin dimethomorph ve pyrimethanil fungusitlerinin arıtımını araştırmışlardır. Çalışmada *Lemna minor*, *Carya aquatica*, *Caltha palustris*, *Spirodela polyrhiza*, *Elodea canadensis* bitkilerini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda en iyi sonuçların dimethomorph için 48 mg,

pyrimethanil için ise 33 mg olduğunu tespit etmişlerdir. En iyi sonuçları veren bitkilerin *L. minor* ve *S. polyrhiza* olduğunu bildirmişlerdir.

Romeh (2010), yaptığı çalışmada imidacloprid pestisitinin su ve toprak ortamında fitoremediasyonunda *Plantago major* bitkisini kullanmıştır. *Plantago major* Türkçe’de sinirli ot olarak bilinmektedir. Araştırmacı pestisitini toprakta en iyi şekilde yayılmasını sağlayabilmek için toprağı %60 oranında suya doyumuştur. Toprak örneklerini 1, 3,7 ve 14. günde almıştır. Örnekleri QuEChERS (Quik, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) yöntemiyle analize hazırlamıştır. Çalışma sonunda elde ettiği verilere göre *Plantago major* bitkisi, imidacloprid pestisitini su ortamından rizofiltrasyon ve rizodegradasyon yöntemleriyle, toprak ortamından ise fitodegradasyon ve fitoakümülyasyon yöntemleriyle arıttığını bildirmiştir.

İbrahim ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada atrazin herbisitinin arıtımında mısır bitkisini kullanmışlardır. Sera ortamında yapılan çalışmada 0,5 ve 1 ppm dozundaki atrazin herbisitini saksılara uygulayarak mısır tohumlarını ekmişlerdir. Ekimden 15, 30, 45 ve 60 gün sonra bitkileri hasat ederek mısır yerine buğday ekmişlerdir. Buğday ekiminden 7 gün sonra sürgün ve kök uzunluklarını ölçmüşler ve sonucunda mısır ekilerek arıtılan toprakta yetişen buğdayın kök ve sürgün uzunluğunun arıtılmamış toprağı oranla daha uzun olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak mısırın atrazinle bulaşık alanların fitoremediasyonu için yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada Wang ve ark.(2013), 6 adet sucul bitki türünün 28°C sabit sıcaklıkta, steril olmayan su ortamında chlorpyrifosun parçalanmasına etkilerini araştırmışlardır. Elde ettikleri verilere göre bitkilerin olduğu ortamda chlorpyrifos kalıntısının temizlenme oranının kontrolden %1,26-5,56 daha yüksek olduğunu ve kullandıkları bitkiler arasında en iyi sonucu *Scirpus validus* ve *Typha angustifolia* bitkilerinin verdiğini belirtmişlerdir.

Liu ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada Morinda köklerinde 30 adet organik fosforlu pestisit için çoklu kalıntı analizi yapmışlardır. Örneklerin ekstraksiyon ve clean-up (ekstraktın istenmeyen bileşiklerden arındırılması, temizlenmesi) aşamalarını modifiye edilmiş QuEChERS yöntemiyle yapmışlardır. Analizleri GC-FPD cihazında yapmışlardır. Analiz sonucunda elde edilen geri alım değerlerinin SANCO (2013)’ya uygun olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 40 örnekte fenitrothion bulduklarını belirterek yöntemin pestisit kalıntı analizlerinde doğru, seçici, hassas ve güvenilir sonuçlar verdiğini kanıtlamışlardır. Ayrıca bu çalışmayla maden arama ve işleme yapılan alanlara yakın kırsal bölgelerde pestisit kalıntı analizlerinin yapılmasının gerekli olduğunu kanıtlamışlardır.

Albright ve Coats (2014), yaptıkları çalışmada ¹⁴C-atrazin herbisitinin kalıntısını temizlemek için fitoremediasyon yöntemini kullanmışlardır. Saksılara *Panicum virgatum* bitkisini ekmişler ve bu saksıları 4 ppm dozunda ¹⁴C atrazin ile muamele etmişlerdir. Yapılan kromatografik analizler sonucunda pestisit ve metabolitlerinin konsantrasyonlarında azalma görüldüğünü belirtmişlerdir.

Alagic ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada Sırbistan'da madencilik alanlarına yakın kırsal bölgelerden yabancı böğürtlen örnekleri almışlardır. Kök ve toprak örneklerinde yüksek molekül ağırlıklı polisiklik aromatik hidrokarbonları (High-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons, HMW PAHs) araştırmışlardır. Toplanan örnekleri GC-MS cihazında analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda RSD değerlerini %5,03 ile %29,13 bulmuşlardır. Analiz sonucunda yabancı böğürtlen kökünde yoğun derecede HMW PAHs bulduklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar yabancı böğürtlenin fitoremediasyon için potansiyelli bir bitki olduğunu belirterek fitoekstraksiyon, fitostabilizasyon, rizodegradasyon ve fitoakümüülasyon mekanizmaları için uygun olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada BCF değerlerini 0,04 ile 1,16 arasında bulmuşlardır.

Romeh ve Hendawi (2017), soya bitkisinin farklı bakterilerle kombinasyonlarını fenamiphos etkili maddesinin fitoremediasyonunda kullanmışlardır. *Glycine max* ve *Pseudomonas fluorescens* kombinasyonunun diğer kombinasyonlardan daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir. *Glycine max-Pseudomonas fluorescens* ve *Glycine max-S. marcescens* kombinasyonlarındaki bitki, kök ve yapraklarında fenamiphossülfoksit (FSO), fenamiphos sülfon (FSO₂) ve fenamiphos fenol (F-fenol) olmak üzere 3 ana metabolit tespit etmişlerdir.

2.3. QuEChERS Analiz Yöntemi

QuEChERS yöntemini ilk olarak Anastassiades ve ark.(2003), sebze ve meyvelerde kalıntı analizlerinde kullanmışlardır. QuEChERS yönteminin temelini asetonitril (MeCN) ekstraksiyonu ve dispersive-SPE clean-up sistemi oluşturmaktadır. QuEChERS yönteminin diğer yöntemlere göre daha hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli olduğunu belirtmişlerdir. Yöntemin adını özelliklerinin İngilizce yazılışlarının baş harflerinin birleştirilmesiyle oluşturmuşlardır. QuEChERS metodunda birçok pestisit için geri alım oranlarının %85-101 arasında, tekrar edilebilirliğinin de yani oransal standart sapmasının (RSD) ise %5'den küçük olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar geri kazanım oranlarının artırılabilmesi için pH'nın 3-5 seviyelerinde olması gerektiğini tespit etmişlerdir. SANCO,

(2013)'ya göre geri kazanım limitlerinin %70-120 arasında, RSD'nin de %20'den yüksek olmaması gerekmektedir. 2005 yılında yapılan başka bir çalışmada aynı ekipten 2 araştırmacı QuEChERS yöntemini modifiye etmişlerdir. Lehotay ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada diğer yöntemlere oranla daha güçlü asetat tamponlama uygulamışlardır. Anastassiades ve ark. (2007), ise diğer yöntemlere oranla daha zayıf sitrat tamponlama uygulamışlardır. Lehotay ve ark. (2005)'nin keşfettiği güçlü asetat tamponlama değişikliği "AOAC Official Method 2007.01" resmi metodu olarak Anastassiades ve ark. (2007)'nin keşfettiği zayıf sitrat tamponlama uygulaması ise "European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662" resmi metodu olmuştur (Pay ve ark., 2007). QuEChERS yöntemine ait versiyonlar Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.8. QuEChERS metodunun versiyonları (Çetinkaya-Açar, 2015)

Schenck ve Hobbs (2004), QuEChERS yöntemini asetonitril içerisine %1'lik asetik asit ilavesi ile modifiye ederek, Luke ve Fillion metotları ile karşılaştırmışlar ve modifiye edilen QuEChERS metodunun diğer metotlara kıyasla daha düşük deteksiyon limitine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Aysal ve ark. (2004), modifiye edilmiş QuEChERS metodunu 25 pestisitte değişik matris seviyelerinde çalışmalar yapmışlardır. Araştırmacılar metodun ortalama geri alımını

%93 belirtmişler ve bu GC-ECD/NPD kullanılarak yaptıkları analizlerde başarılı sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir.

Lehotay ve ark. (2005), analiz sürecinde stabilite problemi olan chlorthalonil, dichlofluanid, folpet ve pymetrozine gibi pestisitler için QuEChERS yöntemini modifiye etmişlerdir. Araştırmacılar yöntemin modifikasyonunda her bir gram örnek matrisi için; MeCN içerisine asidik ortam elde edebilmek amacıyla 1 ml %1'lik asetik asit ilave etmişlerdir. Ayrıca yine her bir gram örnek için 0,4 g susuz MgSO₄ ve sodyum asetatı (NaAc) karıştırmışlardır. Geliştirdikleri metotla 32 pestisit için farklı örnek matrislerinden %95±10 arasında geri alım elde etmişlerdir.

Liu ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada bitki örnekleri için QuEChERS yöntemini modifiye etmişlerdir. Ekstraksiyon aşamasında 2 g bitki örneği için 10 ml saf su ekleyerek 30 dk bekletmişlerdir. Daha sonra 10 ml MeCN (%0,1AA) ekleyerek 1 dk boyunca vortekste çalkalamışlardır. Altı gram MgSO₄ ve 1,5 g NaAc çözeltiye ekleyerek 30 sn vortekste çalkalayarak 10000 rcf'de 5 dk santrifüjlemişlerdir. Clean-up aşamasında ise 1 ml süpernatant çekmişler ve 150 mg MgSO₄ ve 50 mg PSA ekleyerek 3 dk vortekste çalkalamışlardır. Daha sonra örnekleri 10000 rcf'de 5 dk santrifüjleme işleminden sonra 1 ml süpernatant çekerek analize hazır duruma getirmişlerdir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

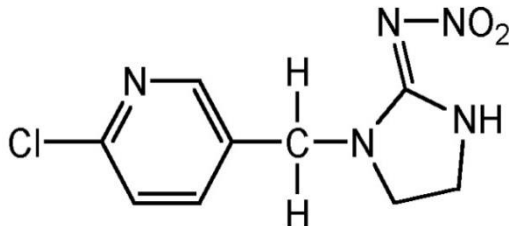
3.1. Materyal

3.1.1. Pestisit ve Kimyasallar

İmidacloprid etken maddesi %99,0 saflığında (Dr. Ehrenstorfer) temin edilmiştir. Çalışmada Bayer Cropscience firmasının Confidor SC 350 formülasyonlu ticari preparatı kullanılmıştır. İmidacloprid pestisitinin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 3.1’de, toksikolojik ve çevresel özellikleri ise Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Örneklerin analizlerinde kullanılan kimyasallar ve saflıkları şöyledir: Asetonitril (MeCN, %99,9 saflıkta LiChrosolv, Merck), Asetik asit (CH₃COOH, Sigma-Aldrich), Magnezyum sülfat heptahidrat (MgSO₄*7H₂O, Merck), Sodyum klorür (NaCl, Merck), Sodyum sitrat (C₆H₅Na₃O₇, Merck), Sitrik asit (Di-sodyum hidrojen sitrat, C₆H₈O₇, %99,0 saflıkta, Acros organic), PSA (Primary Secondary Amine, 40 µm, 100 g, Part #: 12213024, Analitik saflıkta, Varian).

Çizelge 3.1. İmidaclopridin fizikokimyasal özellikleri (Romeh, 2010; FOOTPRINT, 2018)

Pestisit	İmidacloprid		
Pestisit Türü	İnsektisit	Molekül Ağırlığı	255,7 g/mol
Grubu	Neonikotinoid	Kimyasal Formül	Cl ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂
Etki Şekli	Kontak ve mide zehiri, Asetilkolin reseptör (nAChR) antagonisti		
CAS RN	138261-41-3		
IUPAC İsmi	(E)-1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine		
Üretici Firmalar	Bayer CropScience Makhteshim-Agan (Adama) Scotts		
Ürün İsimleri	Admire, Chinook, Confidor, Gaucho		

Çizelge 3.2. İmidaclopridin çevresel ve toksikolojik özellikleri (Romeh, 2010; FOOTPRINT, 2018)

Çevresel Durumu			Ekotoksikolojik Durumu		
Özellik		Değer	Özellik		Değer
Kaynama Noktası		144	Biyokonsantrasyon	BCF	0,61 l/kg
Parçalanma Noktası		230		CT ₅₀	Bilinmemektedir
20°C deki Çözünürlüğü	Su	514	Memelilere Akut LD ₅₀		131
	Dichloromethane	67x10 ³	Kuşlara Akut LD ₅₀		31
	Toluene	69x10	Balıklara Akut 96 Saat LC ₅₀		>83 mg/l
	Hekzan	1x10 ²	ADI		0,06 mg/kg bw/gün
	Propanol	23x10 ²			
20°C deki	Buhar Basıncı	1x10 ⁻⁰⁷ mmHg	İnsan Sağlığına Etkisi		Üreme ve gelişmeye olumsuz etkisi vardır. Cilt hassasiyeti, endokrin sistem ve fototoksikant hakkında bir bilgi yoktur. İnsanlara orta derece toksiktir. Karaciğer, tiroid, böbrek, kalp ve dalağa toksik olabilmektedir.
	Henry Sabitesi	6,5x10 ⁻¹¹ atm m ³ mol ⁻¹			
GUS Potansiyel Filtreleme İndeksi		3,74			
Topraktaki Bozunma DT ₅₀		191 gün			
Doğrusal K _{oc} değeri		132-310			

3.1.2. Cihaz ve Malzemeler

Bu çalışmada 50 ml'lik tüpe uygun rotorlu Hettich EBA 280 marka 4500 rpm (dakikada devir sayısı, revolution per minute) hızındave Eppendorf 5810R marka 10000 rcf (oransal santrifüjleme kuvveti, relative centrifugal force) hızında santrifüj kullanılmıştır. Ayrıca 1,5 ml Eppendorf tüpüne uygun rotorlu santrifüj (Nüve NF 048), hassas terazi (Shimadzu ATX224, ±0,0001 g), Vorteks karıştırıcı (WiseMix), cam GC viyali (1,5 ml) kullanılmıştır. Bu cihazların yanında mikropipet, hamilton şırınga, 10 ml'lik cam pipet, 100 ml'lik cam mezür, 50 ml Falcon tüpü, 1,5 ml Eppendorf tüpü, tartım kapları, tek kullanımlık damlalık, beher, erlenmayer gibi cam malzeme ve temel laboratuvar ekipmanları kullanılmıştır. Kromatografik analizlerde Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama Merkezi (ÇOBİLTUM)'nde bulunan Shimadzu marka LC/MS-8040 model LC/MS'den hizmet alımı şeklinde yararlanılmıştır. Kromatografik sisteme pozitif ESI MRM modunda çalışan Triple Quadrupole Shimadzu LC-MS/MS-8040 kütle spektrofotometresi bağlanmıştır. LC ve MS/MS sisteminin çalışma koşulları Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. LC-MS/MS çalışma koşulları litre; santigrad derece

LC Parametreleri		MS/MS Parametreleri	
Kolon	ODS-4 C ₁₈ (150 × 4.6 mm iç çapı, 3 µm partikül büyüklüğü)	Arayüzey	
Haraketli Faz A	Sulu Amonyum Asetat (10 mM)	Kuru Gaz Akış Hızı	15 l/dk
Haraketli Faz B	MeCN	Spreyeme Gaz Akış Hızı	3 l/dk
Fırın Sıcaklığı	40 °C	Isı Blok Sıcaklığı	400 °C
Enjeksiyon Hacmi	2 µl	DL Sıcaklığı	250 °C
Akış Hızı	0.5 ml/min	İyonlaşma Modu	pozitif
		ESI Voltajı	3.5 kV
Toplam elusyon zamanı	15 dak		

3.2. Yöntem

3.2.1. Denemenin Kurulması

Denemenin kurulacağı alan çapalanarak düzleştirilmiştir. Saksılar (37 X 30 cm ebatlı) uygun şekilde etiketlenip yerleştirilmiştir (Şekil 3.1). Denemede her ilaç dozuna ait 5 tekrerrür ve 5 kontrol (ilaçlı bitkisiz) saksı olmak üzere, 1 dozda 10 saksı yer almaktadır.



Şekil 3.1. Denemenin kurulması

Arazinin işlenmeyen bir bölgesinden alınan toprak 2 mm'lik elekten geçirilerek saksılara doldurulmuştur (Alagic ve ark., 2016) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Toprakların elekten geçirilmesi ve saksılara doldurulması

Her saksıya 10 kg toprak koyulmuş ve bünye analizinde kullanılmak üzere her saksıdan 100 g toprak numunesi alınmıştır. Toprağın bünye özellikleri Çizelge 3.4'te gösterilmiştir. Saksılar yeraltı suyuyla sulanarak toprak saturasyonu %60 oranına getirilmiştir (Romeh, 2010) (Şekil 3.3).

Çizelge 3.4. Toprak bünyesi analiz sonuçları

Yapılan Analiz	Sonuç	Uygulanan Yöntem
Tekstür	Tınlı kum	Hidrometre ile (Bouyoucos, 1951)
Organik Madde	1,75 (Fakir)	Modifiye Walkley-Black yöntemiyle (Jackson, 1958)
Kireç	1,46 (Kireçsiz)	Scheibler kalsimetresi (Allison ve Moodie, 1965)
pH	7,16 (Nötr)	pH-metre ve EC-metre ile (Richards, 1954;
EC	0,03 (Tuzsuz)	Grewelling ve Peech, 1960)



Şekil 3.3. Toprağın sulanması

Kontrol saksıları haricindeki diğer saksılara 4-5 cm derinliğinde 1 adet *Cucurbita pepo* L. tohumu ekilmiştir(Şekil 3.4). Tohumların ekilmesiyle beraber pestisit uygulamaları yapılmıştır. Pestisitler toprağa karıştırılmamış damlama sulama tekniğine uygun şekilde toprağa verilmiştir. Pestisitlerin doz hesaplamaları yapılırken damlama sulama için önerilen doz (100 ml/da) göz önünde bulundurulmuş ve aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (Romeh, 2010). Kontrol parsellerinde ilaç uygulaması yapılmış ancak bitki yetiştirilmemiştir.

$$\pi r^2 = 3,14 * (18,50)^2 = 1074,68 \text{ cm}^2 / 1 \text{ saksı alanı}$$

$$1000 \text{ m}^2$$

$$35 \text{ g em}$$

$$1,074 \text{ m}^2$$

$$x \text{ g em}$$

$$\rightarrow x = 0,037 \text{ g em (0,105 ml preparat)/10 saksı (Doz1)}$$

$$x = 0,074 \text{ g em (0,210 ml preparat)/10 saksı (Doz2)}$$

$$x = 0,111 \text{ g em (0,315 ml preparat)/10 saksı (Doz3)}$$



Şekil 3.4. Kabak tohumlarının ekim işlemi

3.2.2. Örnekleme

Pestisit uygulamasından sonra her saksının 3 ayrı noktasından saksıyı temsil edecek şekilde 0-5cm derinlikten 10'ar g olarak toplamda 30 g olacak şekilde 1. Günün (başlangıç örneği) toprak örnekleri pestisitten ari el burgusu yardımıyla alınmıştır (Şekil 3.5).



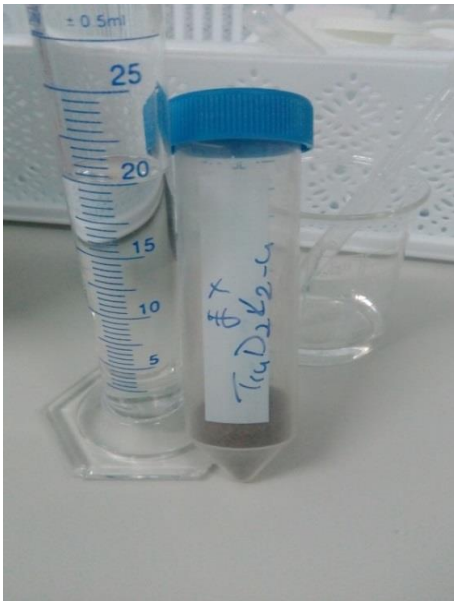
Şekil 3.5. Toprak örneği alınması

Toprak örnekleri 3,7 ve 14. günde aynı şekilde alınmış ve kilitli poşetlere koyulup +4°C'de analiz sürecine kadar muhafaza edilmiştir (Romeh, 2010). Bitki örnekleri için bitkiler pestisit uygulamasından 14 gün sonra sökülüp kilitli poşetlere alınmış ve -20°C'de analiz sürecine kadar muhafaza edilmiştir (Liu ve ark., 2016). Bitkiler 4. ve 5. günde çimlenip toprak yüzeyine çıkmıştır. Ancak D₂₋₅ ve D₃₋₄ saksılarındaki bitkiler 7. günde toprak yüzeyine çıkmıştır. Denemenin kurulmasından itibaren iki günde bir sulama ve toprak havalandırma işlemleri yapılmıştır. Çalışma sonunda 120 adet toprak, 15 kök, 15 gövde ve 15 yaprak olmak üzere toplamda 45 bitki numunesi analize alınmıştır. Analiz için bitki örnekleri kök, gövde ve yaprak olmak üzere 3 ayrı bölüme ayrılmıştır (White ve ark., 2003).

3.2.3. Ekstraksiyon ve Clean-up

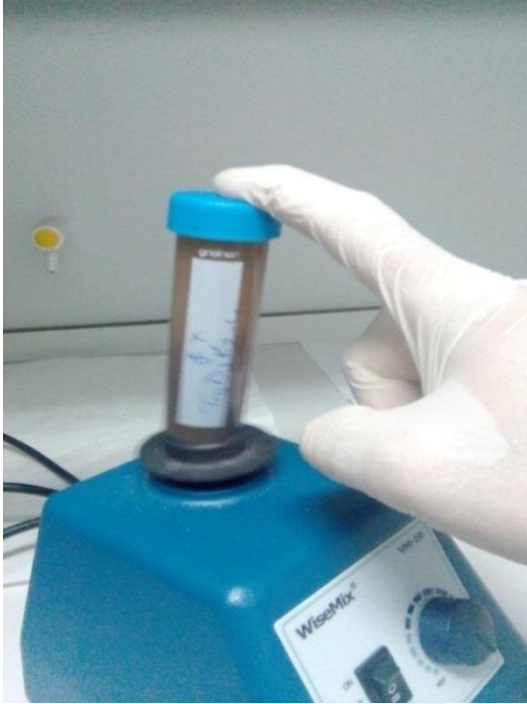
3.2.3.1. Toprak Numuneleri

Toprak numunelerinin muhafaza edildikleri soğutucudan çıkartılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Oda sıcaklığına gelen toprak numuneleri havan-havanaeli yardımıyla küçük parçalar haline getirilmiştir. Toprak örneklerinin ekstraksiyon ve clean-up aşamalarında Lesueur ve ark. (2008), ve Temur ve ark. (2012), tarafından uygulanan QuEChERS analiz yöntemi izlenmiştir. Küçük parçalar haline getirilen örneklerden homojenizasyon için 10 g toprak tartılarak 50 ml'lik Falcon tüpüne konulmuştur. Falcon tüpüne toprak örneği konulduktan sonra mezür yardımıyla 20 ml asetonitril (MeCN) numunenin üzerine eklenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Falcon tüpüne doldurulmuş toprak örnekleri ve asetonitril ilavesi

Asetonitril eklenen toprak örneği vortekste 1 dk çalkalanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Asetonitril eklenen örneğin Vortekste çalkalanması

Çalkalama işleminden hemen sonra 8,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g sodyum klorür, 1 g sodyum sitrat ve 0,5 g sitrik asit eklenilerek $MgSO_4$ topaklanmasını önlemek amacıyla acilen 1 dk vortekste çalkalanmıştır (Temur ve ark., 2012). Literatür çalışmalarında $MgSO_4$ hesaplamaları susuz formülasyona göre yapılmıştır. Ancak çalışma sırasında $MgSO_4$ sulu formülasyonda kullanılmıştır. Sulu ve susuz $MgSO_4$ hesaplaması aşağıda gösterilmiştir.

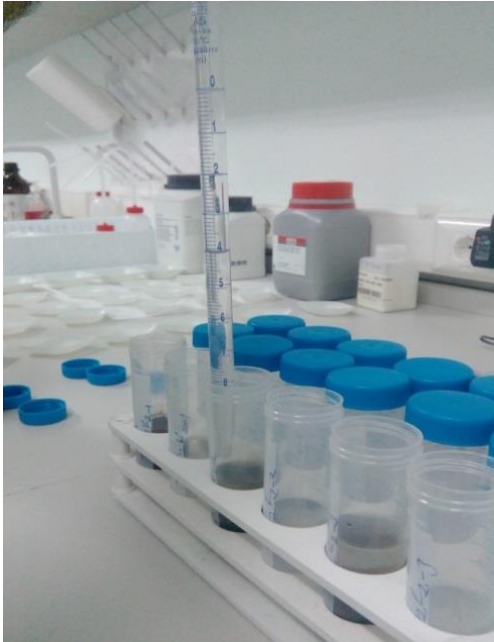
$MgSO_4 \cdot 7H_2O = 246,48 \text{ g/mol}$ $*7(1*2+16) = 126 \text{ g/mol}$ $MgSO_4 = 120,48 \text{ g/mol}$	Bitki örneklerinde Ekstraksiyon: 120,48 g $MgSO_4$ 'dan 6 g alınır 246,48 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 'dan x g alınır. $X = 12,27 \text{ g/2 g}$ örnek için alınmalıdır.
Toprak örneklerinde Ekstraksiyon: 120,48 g $MgSO_4$ 'dan 4 g alınır 246,48 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 'dan x g alınır. $X = 8,2 \text{ g}$ alınmalıdır.	Bitki örneklerinde Clean-up: 120,48 g $MgSO_4$ 'dan 150 mg alınır 246,48 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 'dan x mg alınır. $X = 306 \text{ mg}$ alınmalıdır.
Toprak örneklerinde Clean-up: 120,48 g $MgSO_4$ 'dan 900 mg alınır 246,48 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 'dan x mg alınır. $X = 1841 \text{ mg}$ (1,8 g)/6 ml örnek için alınmalıdır.	Kök örnekleri 2 g çıkmadığı için 0,5 g örnek tartılmış ve kimyasal hesaplamaları da 0,5 g

Vortekste karıştırma işlemi biten tüpler 4500 rpm hızında 10 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Böylelikle ekstraksiyon aşaması tamamlanmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8.Örneklerin santrifüj ile ekstraksiyonu

Santrifüjden çıkartılan tüplerden cam pipet yardımıyla 6 ml çekilerek temiz tüplere clean-up için aktarılmıştır (Şekil 3.9).



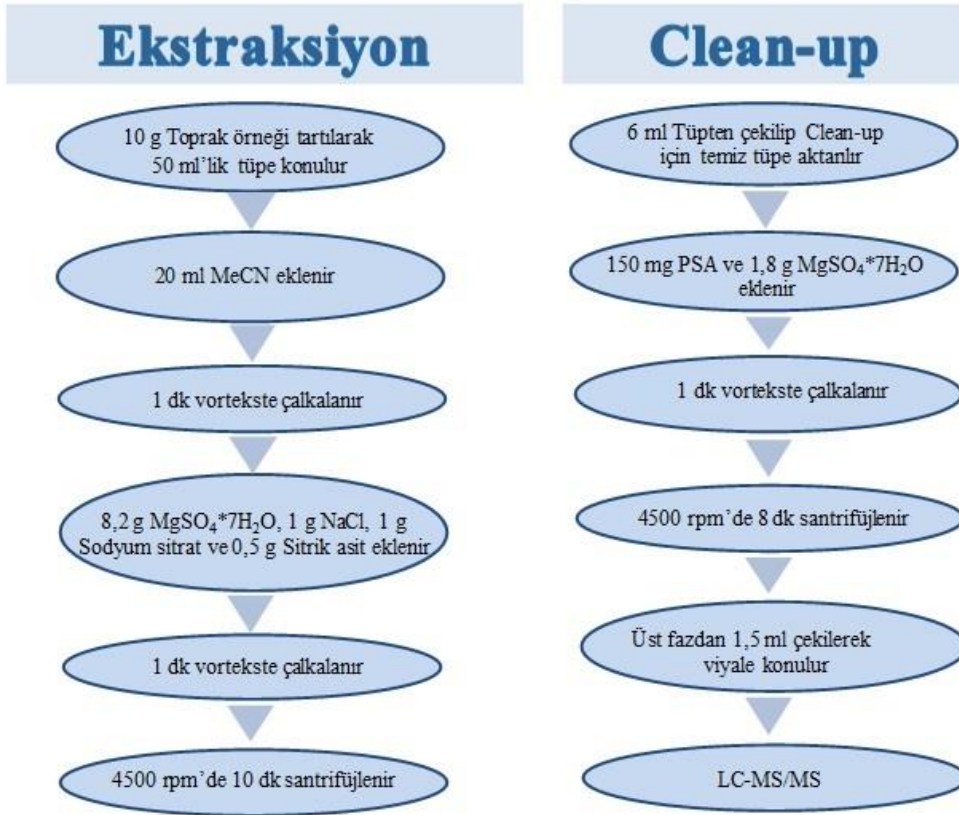
Şekil 3.9. Ekstraksiyon sonrası clean-up için 6 ml süpernatant çekilmesi

Üzerine 1,8 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ve 150 mg PSA eklenerek vortekste tekrar çalkalanmıştır. Daha sonra tüpler 4500 rpm hızında 8 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj

işlemi sonunda mikropipet yardımıyla süpernatantın üst fazından 1,5 ml çekilerek kromatografik analiz için GC viyallerine koyulmuştur(Şekil 3.10). Ekstraksiyon ve clean-up işlemleri akış şeması Şekil 3.11’de gösterilmiştir. GC viyallerinin kapağı kapatıldıktan sonra parafilm ile sıkıca sarılmış ve +4°C’de kromatografik analizlere kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.10.Clean-up sonrası kromatografik analize hazır örnekler



Şekil 3.11. Toprak örneklerinin analiz işlem akış şeması

3.2.3.2. Bitki Numuneleri

Muhafaza edilen bitki örnekleri oda sıcaklığına getirilmiş ve kök, gövde, yaprak olarak ayrılmıştır (Şekil 3.12). Bitki örneklerinin analizleri için Liu ve ark. (2016), tarafından modifiye edilen QuEChERS analiz yöntemi kullanılmıştır.



Şekil 3.12. Bitki örneklerinin kısımlara ayrılması

Bitki bölümleri bisturi yardımıyla petri içerisinde küçük parçalara ayrılmıştır. Küçültülen parçalardan 2 g tartılarak 50 ml'lik Falcon tüplerine koyulmuş ve üzerine 10 ml saf su eklenilerek 30 dk bekletilmiştir. Süre sonunda %0,1'lik asetik asit içeren 10 ml MeCN eklenmiş ve vortekste 1 dk çalkalanmıştır. Sonrasında 12,27 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1,5 g sodyum asetat (NaAc) eklenmiş ve 30 sn vortekste çalkalanmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Örneklerin Vortekste çalkalanması

Vorteks işleminden sonra tüpler 10000 rcf hızında 5 dk santrifüjlenmiştir. Böylelikle bitki örnekleri için ekstraksiyon işlemi tamamlanmış ve clean-up aşamasına geçilmiştir. Santrifüj işlemi biten tüplerden mikropipet ile 1 ml süpernatant alınarak Eppendorf santrifüj tüplerine konulmuştur (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Ekstraksiyon sonrası örneklerin Eppendorf tüplerine aktarılması

Süpernatant üzerine 306 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ve 50mg PSA eklenerek 3 dk vorteks yardımıyla çalkalanmıştır. Çalkalanan örnekler 10000 rcf hızında 5 dk santrifüjlenmiştir (Şekil 3.15).

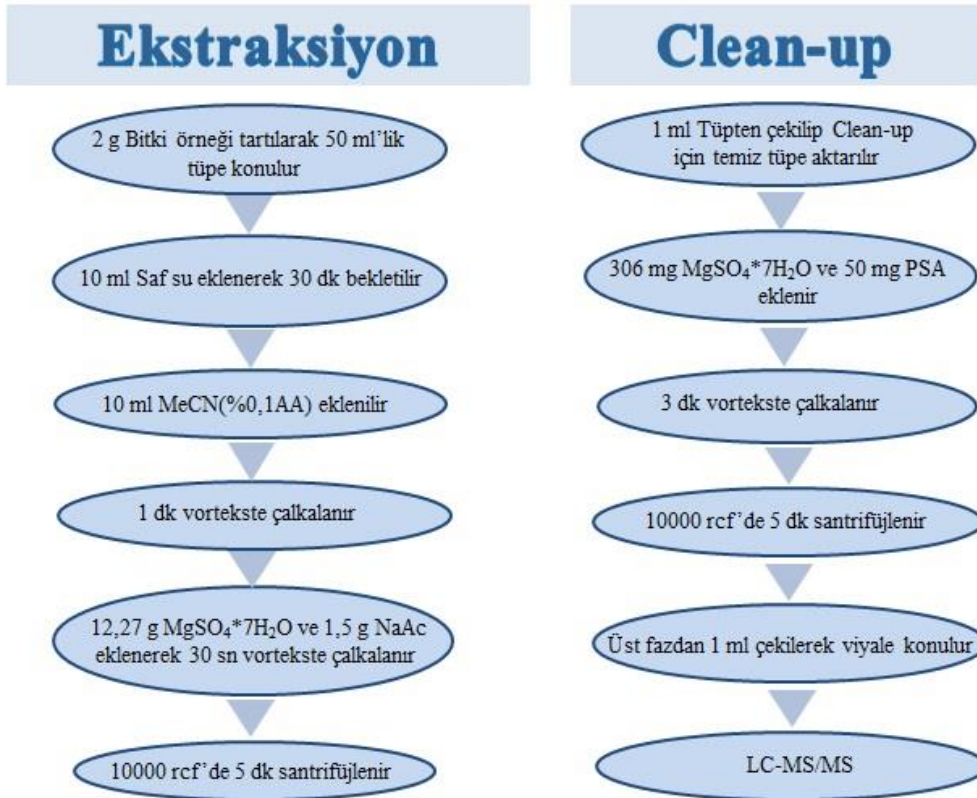


Şekil 3.15. Örneklerin clean-up için santrifüjlenmesi

Santrifüj işlemi biten tüplerin üst fazından mikropipet yardımıyla alınan 1 ml örnek etiketine uygun GC viyaline konulmuş ve viyal kapatıldıktan sonra parafilm ile sarılmıştır (Şekil 3.16). Bitki örnekleri için işlem akış şeması Şekil 3.17’de gösterilmiştir. Viyaller +4°C’ de analize kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.16. Clean-up sonrası kromatografik analize hazır örnekler



Şekil 3.17. Bitki örneklerinin analiz işlem akış şeması

3.2.4. Toprak Numunelerinde Geri Alım Çalışmaları

3.2.4.1. Fortifikasyon

Fortifikasyon QuEChERS metodunun kendi analiz koşullarında geri alımını bir anlamda da başarısını gösteren bir parametredir. Fortifikasyon için uygulama yapılmamış topraktan 250 g tartılarak küvet içerisine yerleştirilmiş folyonun üzerine ince bir tabaka şeklinde serilmiştir. Muhafaza edilen imidacloprid etken maddesinin standardı oda sıcaklığına getirilmiştir. Oda sıcaklığına gelen standarttan seyreltik solüsyon hazırlanmasında Denklem 3.1 kullanılmıştır. 432 µg/ml konsantrasyonundaki stok solüsyonundan 290 µl alınarak balon joje içerisine 250 ml hacimde 0,5 µg/ml konsantrasyonunda fortifikasyon solüsyonu hazırlanmıştır (Lesueur, 2008; Tiryaki, 2017). Çalışmanın fortifikasyon seviyesi 500 ng/g olarak belirlenmiştir.

$$\text{Mevcut Konst} * \text{Alınacak Hacim} = \text{İstenilen Konst.} * \text{Alınacak Hacim} \quad (3.1)$$

Tek kullanımlık pipet yardımıyla balon joje içerisindeki solüsyondan çekilerek toprak yüzeyi ıslatılmıştır. Toprak yüzeyinin ıslatılma işlemine 2 gün içerisinde aralıklarla devam edilmiştir. Islatma işlemi boyunca solüsyon her seferinde çalkalanarak kullanılmıştır. Bu işlem sonrasında pestisitlerin toprak partiküllerine iyi bir şekilde nüfuz edebilmeleri için 7 gün bekletilmiştir (Lesueur, 2008; Temur ve ark., 2012). Yedinci günün sonunda topraktan 7 adet 10 g toprak örneği alınarak ekstraksiyon ve clean-up aşamaları gerçekleştirilmiştir. Toprak örneklerine uygulanan ekstraksiyon ve clean-up prosedürleri bu örneklere de uygulanmıştır. Clean-up aşamasının sonunda alınan 1,5 ml örnek mikropipet yardımıyla GC vialine konulmuş ve ağzı parafilm ile sarılmıştır. Viyaller +4°C' de muhafaza edilmiştir.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Metod Validasyonu

Çeşitli SANCO dokümanlarında (SANCO, 2013) ve diğer literatürlerde (Tiryaki, 2017) belirtildiği üzere çalışılan metodun kendi laboratuvar koşullarında çalıştığına ya da işlediğinin bir seri performans parametreleriyle ispatlanması gerekir. Bu anlamda verilen ilgili performans kriterleri ile ilgili hesaplanan değerler sırasıyla verilmiştir.

Cihaz yazılımındaki programdan LOD (Tesbit Limiti-Limit of Dedection) değeri 81 ppb olarak bulunmuştur.

4.1.1. Kromatografik Tekrar Edilebilirlik

Analizler sonucu elde edilen alıkonma zamanı (retention time, r_t), tekrar edilebilirliği toprak örneklerinde matrisli kalibrasyonla hesaplanmıştır (Rashid ve ark., 2010). İmidaclopridin kromatogramda piklerin görüldüğü alıkonma zaman sınırları ve standart sapma (%RSD) değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. İmidaclopridin alıkonma zaman sınırları (n=7)

Örnek Matrisi	Alıkonma Zamanı (retention time, r_t) Sınırı	RSD, %
MC _{Toprak}	8,221 - 8,354	0,38

4.1.2. Kalibrasyonun Doğrusallığı

İmidacloprid standart solüsyonu hazırlanırken Denklem 3.1 kullanılmış ve 432 ng/ml konsantrasyonundaki stok solüsyonundan 2,314 ml alınarak 10 ml hacimde 100 µg/ml çalışma solüsyonu hazırlanmıştır. İmidaclopridin kalibrasyon eğrisi solvent kalibrasyon (SC) ve Toprak matrisli kalibrasyon (MC_{Toprak}) olmak üzere ayrı ayrı yapılmıştır. 25-3000 ng/ml sınırlarında 6 seviyeli (25, 50, 250, 750, 1500 ve 3000 ng/ml) kalibrasyon yapılmıştır. İlgili kalibrasyon verileri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

MC kalibrasyonu yaparken kalibrasyon çözücülerindeki örnek eşdeğer miktarı ile gerçek analiz edilecek örnek ekstraktlarındaki örnek eş değer miktarı aynı olmalıdır. Bu değer (SEQ) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

20 ml MeCN	→	10 g Toprak örneği	
6 ml Süpernatant	→	3 g Toprak örneği	→ Ekstraksiyon
1,5 ml Süpernatant	→	0,75 g Toprak örneği	→ Clean-up
2 µl enjeksiyon	→	1 mg Toprak örneği	→ Kromatografi

Çizelge 4.2. İmidaclopridin kalibrasyon verileri (Doğrusal sınır, 25–3000 ng/ml)

Kalibrasyon Türü	Kalibrasyon veya analitik fonksiyon, ^a y=a+bx	Korelasyon sabitesi, r	Oransal kalıntısasal standart sapma, S _{Δy/ŷ}
Solvent kalibrasyonu, SC	y=29,161+ 8,6926x	0,99	0,098
Örnek matrisli kalibrasyon MC _{Toprak} (0,5mg/µl SEQ) ^b	y =80,863+ 71,847x	0,99	0,097

^aX= LC-MS/MS sistemine enjekte edilen miktar, y=dedektörden elde edilen pik alanı.

^b1 µl ekstrakt 0,5 mg toprağa karşılıktır, Sample equivalent, SEQ

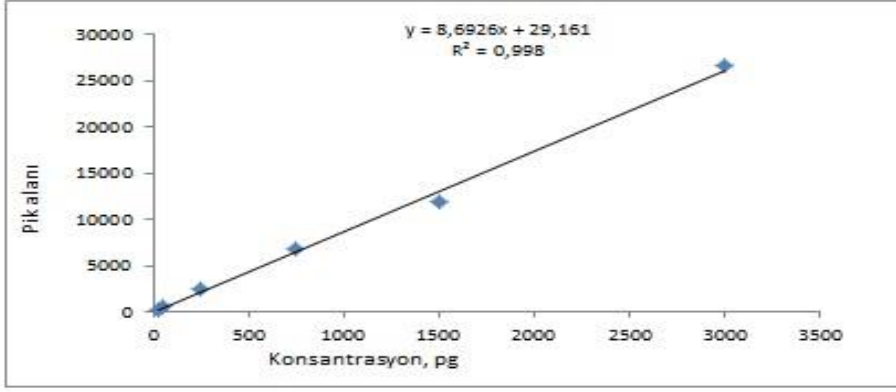
Doğrusallık SC ve MC_{Toprak} kalibrasyonlarında hesaplanmıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü üzere SC ve MC_{Toprak} kalibrasyon eğrileri istenen limitler içinde ($r \geq 0,999$ ve $S_{\Delta y/\hat{y}} = \leq 0,1$) olduğundan doğrusaldır (Huber, 2004; Temur, 2012). Her 2 kalibrasyon sistemine ait grafikler Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de görülmektedir. Hem solvent hem de toprak örneği (matrisi) ile hazırlanan kalibrasyon grafiklerine ait denklemler Çizelge 4.2’de verilmiş olup r değerleri, 0.99’dan yüksek bulunmuştur. Oransal kalıntısasal standart sapma (S_{Δy/ŷ}) Denklem 4.1’e göre hesaplanmıştır. Sonuç, doğrusallık için gereken 0,1 değerinden düşük bulunmuştur (Huber, 2004; Miller ve Ambrus, 2005).

$$S_{\Delta y/\hat{y}} = \sqrt{\frac{\sum(Y_{rel,i} - \bar{Y}_{rel})^2}{n - 2}} \quad (4.1)$$

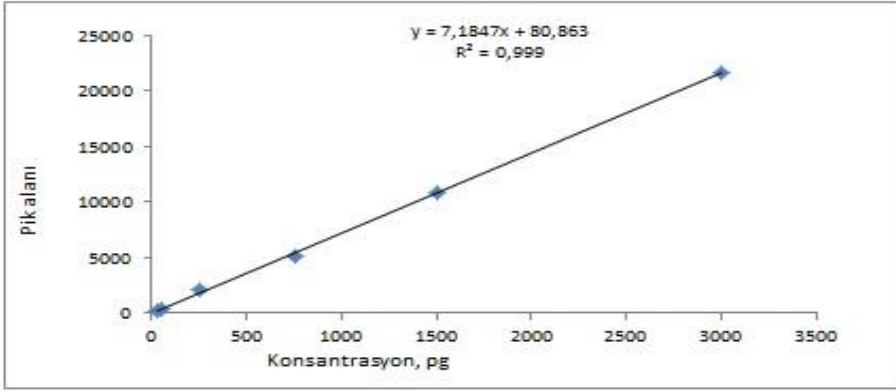
Y_{rel,i}: enjeksiyon analitik standardı

\bar{Y}_{rel} :analitik standart

n-2: Serbestlik derecesi



Şekil 4.1. Çözücü kalibrasyonda (SC) imidaclopridin eğrisi



Şekil 4.2. Toprak matrisli kalibrasyonda (MCToprak) imidaclopridin eğrisi

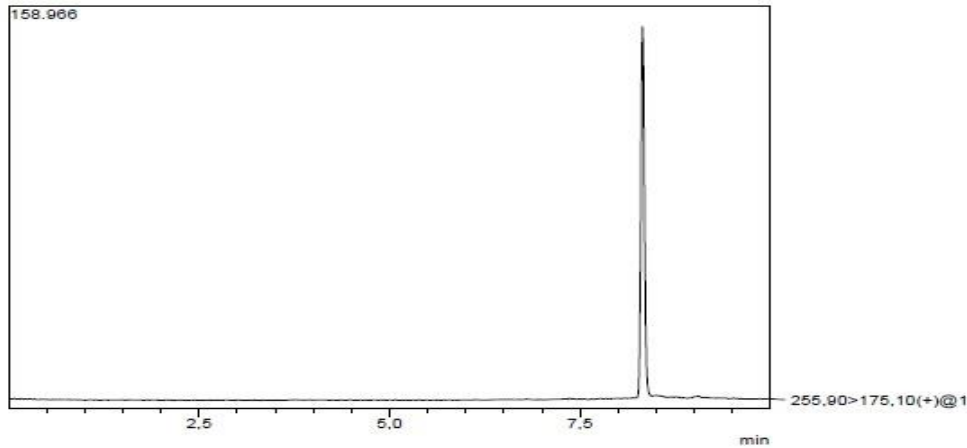
4.1.3. Matris Etkisi (ME)

Matris etkisi (matrix effect, ME) hesaplanırken Denklem 4.2'den faydalanılmıştır. ME değeri %12,39 bulunmuştur. LC-MS sisteminin solvent ve matrisli standartlardaki imidaclopridin (50 pg/μl) MeCN içindeki standartın farklı tepkileri Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de gösterilmektedir. Matris etkisinin istatistiksel olarak öneminin değerlendirilmesinde, elde edilen değer Student *t-testi* %95 güven seviyesinde ve n-1 serbestlik derecesinde (6-1) 2,57'den fazla olması durumunda matrisin etkisi önemli, az olması durumunda ise önemsiz kabul edilir. Çizelge 4.3 incelendiğinde SC-MC_{Toprak} için $t_{\text{hesaplanan}}=1,57 < t_{\text{tablo}}=2,57$ 'dir. SC ve MC_{Toprak} arasındaki fark tablo değeri (EK-1) %95 güven seviyesinde ve n-1 serbestlik derecesinde (6-1) tablo değeri olan 2,57'den az olduğu için matris etkisi önemsiz bulunmuştur. Bazı çalışmalarda matris etkisi önemsiz bulunsa da hesaplamaların MC kalibrasyonlu şekilde hesaplanması önerilmektedir (Durmaz, 2016; Tiryaki, 2016). Bu nedenle geri alım çalışmaları dahil olmak üzere tüm hesaplamalar matrisli kalibrasyon sonuçları ile yapılmıştır.

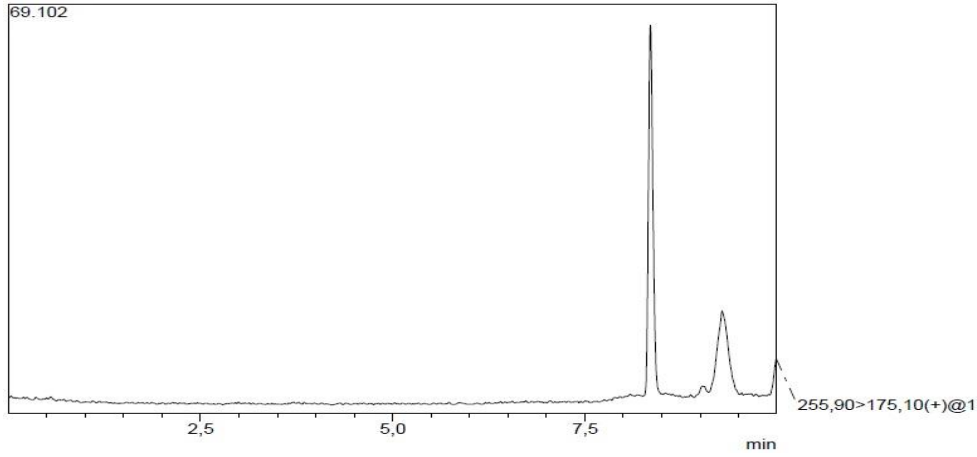
$$ME, \% = \frac{(MC \text{ alan pik değeri} - SC \text{ alan pik değeri}) * 100}{SC \text{ alan pik değeri}} \quad (4.2)$$

Çizelge 4.3. İmidaclopridin oluşturduğu matris etkisinin önemi (Student *t* testi)

Analit	SC-MC _{Toprak} Karşılaştırması					
	Kalibrasyon Seviyeleri					
	1	2	3	4	5	6
İmidacloprid						
X, enjekte edilen miktar (pg/µl)	25	50	250	750	1500	3000
Y _{solv} , çözücü kalibrasyonu	233,284	509,619	2551,676	6861,595	11894,195	26585,976
Y _{matr} , matris kalibrasyonu (1 g/ml, seq, örnek eşdeęeri)	221,345	451,538	2199,467	5198,576	10925,463	21523,781
Fark; Y _{matr} -Y _{solv} =d _i	-11,939	-58,081	-352,209	-1663,019	-968,732	-5062,195
Farkların ortalaması (d):	1352,695833					
Farkların standart sapması (SD)	1922,432996					
$t = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{S_D}$	1,573381149	Tablo değeri ise % 95 güven seviyesinde ve n-1 serbestlik derecesinde (6-1) <i>t</i> _{tablo 0.05} değeri 2,571 dir.				
	<i>t</i> _{tablo} > <i>t</i> _{hesap} olduğundan	SC ile MC arasındaki fark önemsizdir				



Şekil 4.3. İmidaclopridin (50 pg/µl) asetonitril çözücüsünde kromatogramı



Şekil 4.4. İmidaclopridin (50 pg/µl) MC_{Toprak}'da kromatogramı

4.1.4. Geri Alım (Recovery), Kesinlik (Precision)

Geri alım çalışması imidacloprid ile muamele edilmiş topraktan bir fortifikasyon seviyesinde 7 analitik porsiyonda ve LC-MS/MS'e 1 enjeksiyonla toplam 7 adet veri ile gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Gerçekleştirilen fortifikasyon ve tekerrürler

Fortifikasyon seviyesi	Her seviyeden 7 tekerrür		LC-MS/MS'e enjeksiyon		Toprak örneği
↓		↓		↓	↓
1	X	7	X 1	X	1 → n=7
(F1)	(F _{1/1} , F _{1/2} , F _{1/3} , F _{1/4} , F _{1/5} , F _{1/6} , F _{1/7})		(F1/1)		

Örnek matrisli kalibrasyonlu olarak çalışma yürütülmüştür. MC_{Toprak} imidacloprid analitik fonksiyonları hesaplanması Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Örnek matrisi için QuEChERS yöntemi ile bulunan imidacloprid geri kazanımları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. QuEChERS metodu uygulanan geri alım çalışmasında imidaclopridin geri alım, % RSD değerleri (500 ng/g Fortifikasyon seviyesi verileri)

Fortifikasyon kodu	Geri alınan miktar, ng/g		Geri alım, (R, %)	
	SC	MC _{Toprak}	SC	MC _{Toprak}
F _{1/1}	428	459	85,6	91,79
F _{1/2}	375	393	75,0	78,68
F _{1/3}	399	423	79,8	84,59
F _{1/4}	415	444	83,0	88,71
F _{1/5}	405	430	81,0	86,09
F _{1/6}	401	425	80,2	85,06
F _{1/7}	432	466	86,4	93,24
Ortalama (n=7)	408	434	81,4	86,88
Standart Sapma (SD)	-	-	3,87	4,90
Oransal SD (% RSD)	-	-	4,75	5,64
Tüm Metot Geri Alımı, %(n=14)	84,23;RSD = 6,01			

Geri alım değeri; geri alınan pestisit seviyesinin, uygulanan fortifikasyon seviyesine bölünmesi ile elde edilir. Toprak örneği için geri alım oranı SC'de %75,00-86,40 arasında, MC_{Toprak}'ta ise %78,68-93,24 arasında gerçekleşmiş, ortalaması ise SC'de %81,40, MC_{Toprak}'ta %86,88 olarak bulunmuştur. Üzerinde çalışılan tüm metodun geri alımı ise %84.23, tekrar edilebilirlik değeri (RSD) ise % 6,01 olarak bulunmuştur (n=14).

Kesinlik değerlendirmesinde (tekrarlanan ölçümlerin yakınlık derecesini ifade eder) geri alımın başarısı RSD değeri ile nitelendirilir. Toprak örneği için RSD değerleri SC'de %4,75, MC_{Toprak}'ta ise %5,64 olarak bulunmuştur. Bulunan sonuçlar istenen geri kazanım aralığına (%70-120) ve tekrarlanabilirlik (repeatability) kabul oranı için belirtilen değerlere (RSD ≤% 20) uygun bulunmuştur (SANCO, 2013). Ayrıca benzeri şekilde White ve ark. (2003), Romeh (2010), Albright ve Coats (2012), Temur ve ark. (2012), çalışmalarında geri alımları olması gereken limitler içinde bulmuşlardır. Bu verilerin hepsi SANCO (2013)'da belirtilen geri alım limitlerine uygundur. Yine White ve ark. (2005a), %75; Lesueur ve ark. (2008), %70-110 arasında; Albright ve Coats (2014), %73,23; Alagic ve ark. (2016), %95,50–104,70 arasında; Liu ve ark. (2014), %75,01–118,89 değerleri arasında geri alım elde etmişlerdir. Yine bu veriler SANCO (2013)'da belirtilen geri alım limitleri içerisinde yer almaktadır.

4.2. Çalışma Sonucu Elde Edilen Bulgular

Pestisit uygulanmış topraktan farklı günlerde elde edilen imidacloprid konsantrasyonları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Toprakta farklı günlerde imidacloprid konsantrasyonları, ng/g

Örnekleme Günü	Tekerrür	Doz 1 (0,105 ml/10 sakı)		Doz 2 (0,210 ml/10 sakı)		Doz 3 (0,315 ml/10 sakı)	
		Bitkili	Kontrol	Bitkili	Kontrol	Bitkili	Kontrol
1. Gün	1	147	197	1352	1426	1697	2589
	2	152	494	1604	1334	1745	2516
	3	191	553	1541	1805	2415	2912
	4	339	451	1453	2258	1956	402
	5	386	636	1268	1993	2510	367
Ortalama		243	466	1444	1763	2065	1757
SD		111,72	165,71	136,52	386,40	377,66	1261,97
RSD		46,03	9,45	9,45	21,91	18,29	71,82
3. Gün	1	202	245	1244	1287	1934	1031
	2	329	**	1528	1176	729	1023
	3	241	392	1034	1427	1171	1349
	4	*	322	1287	989	1113	1379
	5	158	210	1148	1885	2157	1264
Ortalama		403	464	1248	1353	1421	1209
SD		384,82	390,25	184,16	338,11	600,22	171,57
RSD		95,58	84,08	14,75	24,99	42,24	14,18
7. Gün	1	226	249	1508	1142	1818	845
	2	416	517	1587	1058	810	642
	3	357	219	1173	1076	1615	836
	4	192	239	1283	806	917	856
	5	536	459	1294	927	1137	741
Ortalama		345	336	1369	1002	1259	784
SD		140,77	140,18	12,56	134,64	439,45	91,85
RSD		40,74	41,66	171,99	13,43	34,89	11,71
14. Gün	1	204	95	444	272	482	703
	2	121	159	457	267	526	451
	3	129	144	382	349	463	517
	4	161	160	428	417	493	532
	5	185	180	474	383	699	425
Ortalama		160	148	437	337	533	525
SD		35,28	31,99	35,03	66,53	95,67	108,49
RSD		22,07	21,68	8,02	19,71	17,96	20,64

* Dixon testi sonucunda r_{10} değerleri 0,642’ den büyük bulunan sonuçlar

Analizler sonucunda elde edilen bazı verilerin ortalamayı aşırı derece saptırması nedeniyle bu değerlere Dixon testi yapılmıştır (Dixon, 1950). Eğer hesaplanan değer Dixon tablo değerinden (0,642) büyük ($r_{10\text{Hesaplanan}} > r_{10\ 0,05}$) ise hipotez kabul edilir ve

şüphelenilen değer hesaplamalara dahil edilmez. Ancak $r_{10}^{\text{Hesaplanan}} < r_{10, 0,05}$ ise hipotez reddedilir ve değer in istatistiksel olarak sapan değer olmadığı kabul edilmektedir. Elde edilen verilere Dixon testi uygulanmış ve $r_{10, 0,05}$ değerinden (EK-2) büyük bulunan değerler çalışma sonuçlarına dahil edilmemiştir. Dixon testine ait denklem, Denklem 4.3'te gösterilmiştir.

$$r_{10} = \frac{\text{Şüphelenilen değer} - \text{En yakın değer}}{\text{En büyük değer} - \text{En düşük değer}} \quad (4.3)$$

Bitki örnekleri için ortalama değerler; kökte 217,00-491,25 ng/g arasında, gövdede 128,00-246,25 ng/g arasında yaprakta ise 191,00-475,00 ng/g arasında bulunmuştur. Bitki örneklerinden elde edilen veriler ise Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Toprak örneklerine uygulanan Dixon testi toprak örneklerine de uygulanmış ve istatistiksel olarak sapan veriler hesaplamalara dahil edilmemiştir.

Çizelge 4.7. Bitki örneklerindeki imidacloprid konsantrasyonları (MC_{Toprak})*

Örnekleme Günü	Tekerrür	Doz 1 (0,105 ml/10 saksı)	Doz 2 (0,210 ml/10 saksı)	Doz 3 (0,315 ml/10 saksı)
Kök	1	225	405	500
	2	215	455	505
	3	225	465	445
	4	205	410	**
	5	215	460	515
Ortalama		217	439	491,25
SD		8,36	29,02	31,45
RSD		3,85	6,611	6,40
Gövde	1	120	235	260
	2	125	240	235
	3	130	205	240
	4	135	210	**
	5	130	**	250
Ortalama		128	222,5	246,25
SD		5,70	17,55	11,08
RSD		4,45	7,89	4,50
Yaprak	1	185	395	455
	2	190	430	440
	3	175	460	470
	4	200	425	485
	5	205	**	525
Ortalama		191	427,5	475
SD		11,93	26,61	32,59
RSD		6,24	6,22	6,86

* Rakamlar ekstraksiyona alınan örnek miktarlarından analiz şemasına göre gerekli rakamsal hesaplamalar yapıldıktan sonra bulunan sonuçlar.

** Dixon testi sonucunda r_{10} değerleri 0,642' den büyük bulunan sonuçlar

Çalışma sonucunda Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi köklerdeki imidacloprid konsantrasyonu doz 1 için 205-225 ng/g, doz 2 için 405-465 ng/g ve doz 3 için 445-515 ng/g değerleri arasında bulunmuştur. Gövdede bulunan imidacloprid konsantrasyonları ise doz 1 için 120-135 ng/g, doz 2 için 205-240 ng/g ve doz 3 için 235-260 ng/g değerleri arasında bulunmuştur. Yaprakta bulunan imidacloprid konsantrasyonları ise doz 1 için 175-205 ng/g, doz 2 için 395-460 ng/g ve doz 3 için 440-525 ng/g değerleri arasında bulunmuştur. White ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada *p,p'*-DDE konsantrasyonlarını köklerde 250-9240 ng/g arasında bulmuşlardır. Toprak örneklerinde Çizelge 4.6’da görüldüğü üzere doz 1 için 1., 3., 7. ve 14. gün ortalaması sırasıyla 243, 403, 345 ve 160 ng/g bulunmuştur. Doz 2’de bu değerler sırasıyla 1444, 1248, 1369 ve 437 ng/g olarak bulunurken, doz 3 için ise bu değerler 2065, 1421, 1259 ve 533 ng/g bulunmuştur. White ve ark. (2005a), yaptıkları çalışmada toprak örneklerinde 110-670 ng/g olarak bulmuşlardır.

Pestisit in bitki bünyesine ne oranda alındığını gösteren biyokonsantrasyon faktörleri ($BCF = \text{Bitki kısmı konsantrasyonu} / \text{Toprak konsantrasyonu}$) ve translokasyon faktörü ($TF = \text{Gövde BCF} / \text{Kök BCF}$) değerleri de hesaplanmıştır. Hesaplanan BCF değerleri birbirine yakın olmakla beraber en yüksek değer kök kısımlarına aittir (Çizelge 4.8). Yaptığımız çalışma sonucunda 1,35 ile en yüksek BCF değeri köklerde 0,46 ile en düşük BCF değeri gövdede bulunmuştur. Gövde BCF ve kök BCF değerlerinden yararlanılarak TF değeri hesaplanmıştır (Şekil 4.5).

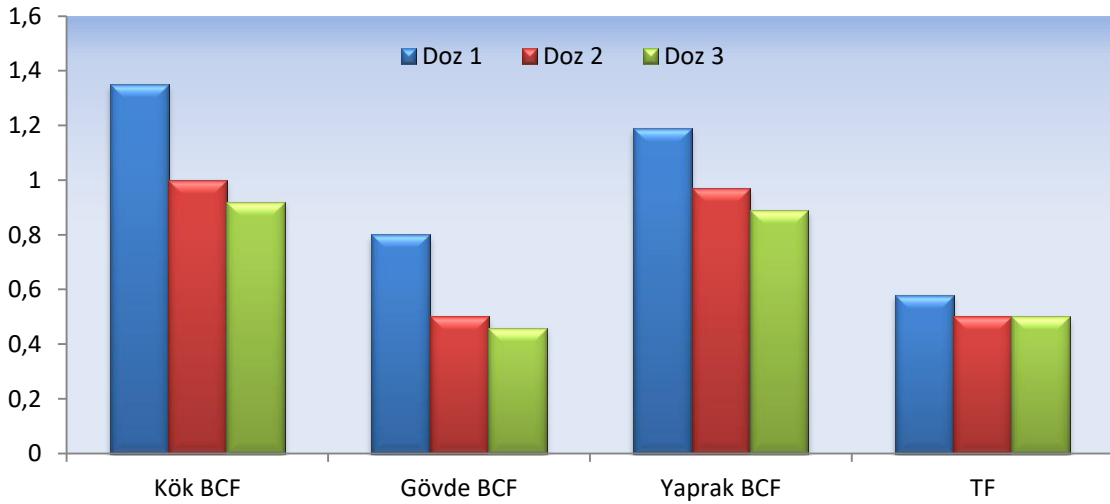
Çizelge 4.8. Biyokonsantrasyon faktörü değerleri

Biyokonsantrasyon Faktörü (BCF)							
		Tekerrür					Ortalama
		1	2	3	4	5	
Kök	Doz 1	1,10	1,77	1,74	1,27	1,16	1,35
	Doz 2	0,91	0,99	1,21	0,95	0,97	1,00
	Doz 3	1,03	0,96	0,96	-*	0,73	0,92
Ortalama							1,09
Gövde	Doz 1	0,58	1,03	1,00	0,83	0,70	0,80
	Doz 2	0,52	0,52	0,53	0,49	-	0,50
	Doz 3	0,53	0,44	0,51	-	0,35	0,46
Ortalama							0,59
Yaprak	Doz 1	0,90	1,57	1,35	1,24	1,10	1,19
	Doz 2	0,88	0,94	1,20	0,99	-	0,97
	Doz 3	0,94	0,83	1,01	0,98	0,75	0,89
Ortalama							1,02

*- Dixon testi sonucu atılan değerlere denk parseller

White ve ark. (2003), yılında yaptıkları çalışmada p,p'-DDE için en yüksek BCF değerini köklerde bulduklarını bu değeri sırasıyla gövde, yaprak ve meyve izlemektedir. Kök BCF değerini ssp *pepo* çeşidi için 7,22, ssp *texana* çeşidi için ise 2,37 bulmuşlardır. Yine White ve ark. (2005b), yaptıkları başka bir çalışmada kök BCF değerlerini 0,41 ile 6,00 arasında bulduklarını bildirmişlerdir. Alagic ve ark. (2016), ise BCF değerlerini 0,04 ile 1,16 arasında bulmuşlardır.

Yaptığımız çalışmada TF değerleri de her doz için ayrı hesaplanmış ve 0,50 ile 0,58 arasında değişmiştir. White ve ark. (2003), TF değerini ssp *pepo* için 0,74 ve ssp *texana* için 0,19 bulmuşlardır. Başka bir çalışmada White ve ark. (2005b),TF değerini 0,04 ile 0,37 arasında bulmuşlardır. Yine TF değerleri Şekil 4.5'te görülmektedir.



Şekil 4.5. TF ve BCF ortalama değerleri

Elde edilen veriler daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarına benzer bulunmuştur. White ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada p,p'-DDE metabolitini *Cucurbita pepo* türleriyle arıtımı üzerine çalışmışlardır. Çalışma sonunda *Cucurbita* türlerinin rizofiltrasyon ve fitoekstraksiyon yoluyla kirleticiyi uzaklaştırdığı sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca White ve ark. (2005a), yaptıkları çalışma sonucu besin maddelerinin fitoekstraksiyona etki edebileceğini ve organik fosforlu pestisitlerin fitoekstraksiyonu azaltabileceğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Romeh (2010), imidaclopridin fitoremediasyonunda *Plantago major* bitkisini kullanmış ve bitkinin pestisiti topraktan fitodegradasyonla arıttığı sonucunu elde etmiştir. Ayrıca araştırmacı *Plantago major* köklerindeki bakterilerin pestisit konsantrasyonunu %93,34 azalttığını belirtmiştir. Alagic ve ark. (2016),yabani böğürtlen köklerinden ve topraktan örnek alarak yaptıkları çalışma

sonucu yabancı böğürtlenin fitoremediasyon potansiyeli yüksek bir bitki olduğunu ve bitkinin arıtımda fitoekstraksiyon, fitostabilizasyon ve rizodegradasyon mekanizmalarını kullandığını tespit etmişlerdir. Doza bakılmaksızın, bitki örneklerinin 14.gündeki ortalama konsantrasyon değerinin, toprak örneklerinin 1. gündeki ortalama toprak konsantrasyonlarına oranlanmasıyla fitoremediasyon oranı hesaplanmıştır. Bu değer de %25,2 olarak bulunmuştur. Benzeri bulguları White ve ark. (2003), p,p'-DDE pestisiti ve *Cucurbita pepo ssp pepo* için %30,1 olarak bulmuşlardır.



BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmadan elde edilen bulguları göz önüne aldığımızda çalışmadan şu sonuçlara ulaşılabilir. Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere 14. günde bitkili parsellerin 0-5 cm tabakasında imidacloprid oranı daha fazladır. Bunun nedeni saksılara 2 günde bir çapalama ve sulama işlemi gerçekleştirilmiş olması, bitkili parsellerde su alımı fazla olacağından pestisit üst tabakada tutunmasının artacağı veya toprak yapısından kaynaklı sebeplerden kontrol saksılarında imidacloprid pestisitinin yıkanmış olabileceği düşünülebilir. Ayrıca imidaclopridin rizofiltrasyon yoluyla kabak kökleri tarafından tutularak topraktan yıkanmasının önlenmesi ya da fitoekstraksiyon yöntemiyle imidaclopridin kökler yardımıyla alınıp yapraklara taşınmış olabilir. Bitki bünyesinde imidacloprid en çok kökte daha sonra yaprak ve gövdede tespit edilmiştir. Toprak ve bitki örneği analizlerinin geneline bütün şekilde baktığımızda bitkili parsellerde imidaclopridin tutulduğu ve bünyeye alınan miktarın çoğunluğunun köklerde olduğu görülmektedir. Sonuç olarak kullanılan *Cucurbita pepo* bitkisi imidacloprid pestisitinin fitoekstraksiyon ve fitostabilizasyon mekanizmaları ile yıkanmasını önlemiş ve hasat edilebilecek kısımlarında depolayarak arıtım sağlamıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler, fitoremediasyon ile ilgili çalışmalar yapılırken pestisit yanında metabolitlerinin de araştırılması gerektiğini göstermektedir. Bu işlem sonucunda çalışmanın geri alım oranını artırabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında kullanılan bitki kısımlarından hasat anında örnekleme yapılması yaklaşımı ile pestisit fitoremediasyonu konusunda daha doğru sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- Alagic S.Č., Jovanovic V.P.S., Mitić V.D., Cvetković J.S., Petrović G.M., Stojanović G.S., 2016. Bioaccumulation of HMW PAHs in the Roots of Wild Blackberry from the Bor Region (Serbia): Phytoremediation and Biomonitoring Aspects. *Science of the Total Environment*, 562: 561–570.
- Albright V. C., Coats J. R., 2014. Disposition of Atrazine Metabolites Following Uptake and Degradation of Atrazine in Switchgrass. *International Journal of Phytoremediation*, 16 (1): 62-72.
- Allison L.E., Moodie, C.D., 1965. Carbonate. In:C.A. Black et al.(ed.) *Methods of Soil Analysis, Part 2. Agronomy*, 9: 1379-1400.
- Alyüz B., Çetin Ş., Ayberk S., 2008. Organik Kirleticilerin Arıtımında Fitoremediasyon Yönteminin Uygulanabilirliği, Kocaeli Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Çevre Sorunları Sempozyumu, Kocaeli. 14-18 Mayıs 2008.
- Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J., 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase Extraction for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International*, 86:412–431.
- Anastassiades M., Scherbaum E., Tsdelen B., Stajnbaher D., 2007. Wiley-VCH, Weinheim. İn: Ohkawa H., Miyagawa H., Lee P.W. (Eds.). *Crop Protection, Public Health, Environmental Safety*. Germany. 439 s.
- Anonim, 2018. Effects of Pesticides on the Environment & Human Health. Retrieved January 3, 2018, from <http://www.brighthub.com/environment/science-environmental/- articles/121797.aspx>.
- Arlı S., 2006. Arıtma Çamurlarındaki Ağır Metallerin Bitkilerle Giderimi. Yüksek Lisans Tezi. Sakarya Üniversitesi, Türkiye.

- Aysal P., Ambrus A.R, Lehotay S. J., Yolci P., Kwong M. C., 2004. The Use of Ethyl Acetate in the QuEChERS Method. 5th European Pesticide Residues Workshop Pesticides in Food and Drink: Book of Abstracts: EPRW 2004. Stockholm, Sweden.75.
- Bouyoucos G.J., 1951. A Recalibration of Hydrometer Method for Making Mechanical Analysis of Agronomy Journal, 43:434-438.
- Çetinkaya-Açar Ö., 2015. Pestisit Analizleri Eğitim Notu. T.C: Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Kalıntı/Pestisit Birimi.
- Demir G., Çoban A., Türkdoğan F.İ., 2010. Çevre Biyoteknolojisi Temelinde Genetik Yapısı Değiştirilmiş (Transgenik) Bitkilerle Arıtım. KSÜ Mühendislik Bilimleri Dergisi, 13(1):45-52.
- Dixon W.J., 1950. Analysis of Extreme Values. Ann. Math. Stat. 21(4): 488-506.
- Dosnon-Olette R., Couderchet M., Eullaffroy P., 2009. Phytoremediation of Fungicides by Aquatic Macrophytes: Toxicity and Removal Rate. Ecotoxicology and Environmental Safety,72: 2096-2101.
- Durmaz A., 2016. Elmalarda QuEChERS Yöntemi İle Chlorpyrifos Analizi İçin Metot Validasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- EPA, 2000. Introduction to Phytoremediation. EPA/600/R-99/107. Office of Research and Development, Washington DC.
- Favas P.J.C., Pratas J., Varun M., D'Souza R., Paul M.S., 2014. Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora. Environmental Risk Assessment of Soil Contamination, 17: 486-516.
- Fidan S., 2014. Türkiye'de Çerezlik Kabak Yetiştiriciliği. Çerezlik Kabak Çalıştayı, 57-68.

- FOOTPRINT, 2018. PPDB: Pesticide Properties Database. Retrieved Jan 2, 2018, from <http://sitem.herts.ac.uk/~aeru/ppdb/en/atoz.htm>.
- Gratao P.L., Prasad M.N.V., Cardoso P.F., Lea P.J., Azevedo R.A., 2005. Phytoremediation, Green Technology For The Cleanup of Toxic Metals in the Enviroment. Bras. J. Plant Physiol., 17(1): 39-48.
- Grewelling T., and Peech, M., 1960. Chemical Soil Test. Cornel Univ. Agr. Exp. Sta. Bull. 960. Hand Book. 60. U.S. Dept. of Agriculture.
- Günay A., 1983. Sebzeçilik, Özel Sebze Yetiştiriciliği. Çağ Matbaası, Cilt IV, Ankara.
- Hamutoğlu R., Dinçsoy A.B., Cansaran-Duman D., Aras S., 2012. Biyosorpsiyon, Adsorpsiyon ve Fitoremediasyon Yöntemleri ve Uygulamaları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 69(4):235-253.
- Hartman W.J., 1975. An Evaluation of Land Treatment of Munipical Wastewater and Physical Siting of Facility Installations. US Department of Army, Washington DC.
- Henry J., 2000. An Overview of the Phytoremediation of Lead and Mercury. U.S. Epa, Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office. Report May-Aug, 51 p.
- Huber W., 2004. On the Use of Correlation Coefficient for Testing the Linearity of Calibration Function. Accreditation and Quality Assurance, 9:726.
- İbrahim S.I., Abdel Lateef M.F., Khalifa H.M.S., Abdel Monem A.E., (2013). Phytoremediation of Atrazine-Contaminated Soil Using *Zea mays* (maize). Anals of Agricultural Science, 58(1): 69-75.
- Jackson M. L., 1958. Soil Chemical Analysis. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, USA.

- Lehotay S. J., Maštovská K., Lightfield A. R., 2005. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. *Journal of AOAC International*, 88(2): 615-629.
- Lesueur C., Gartner M., Mentler A., Fuerhacker M., 2008. Comparison of Four Extraction Methods for the Analysis of 24 Pesticides in Soil Samples with Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-ion Trap-Mass Spectrometry. *Talanta*, 75: 284-293.
- Liu H., Kong W., Qi Y., Gong B., Miao Q., Wei J., Yang M., 2014. Streamlined Pretreatment and GC-FPD Analysis of Multi-Pesticide Residues in Perennial *Morinda* roots: A Tropical or Subtropical Plant. *Chemosphere*, 95:33-40.
- Liu J., Tong L., Li D., Meng W., Sun W., Zhao Y., Yu Z., 2016. Comparison of Two Extraction Methods for the Determination of 135 Pesticides in *Corydalis Rhizoma*, *Chuanxiong Rhizoma* and *Angelicae Sinensis Radix* by Liquid Chromatography-Triple Quadrupole-Mass Spectrometry. Application to the Roots and Rhizomes of Chinese Herbal Medicines. *Journal of Chromatography B*, 1017-1018: 233-240.
- Longley K., 2007. The Feasibility of Poplars for Phytoremediation of the Contaminated Groundwater: A Cost-Effective and Natural Alternative Means of Groundwater Treatment (Doktora Tezi). The Evergreen State College, USA.
- Memon A.R., Aktoprakgil D., Özdemir A., Vertii A. 2001. Heavy Metal Accumulation and Detoxification Mechanisms in Plants. *Research Article*, 25:111-121.
- Miller J.N., Ambrus A., 2005. Significance Test 1, Statistics in Calibration Analysis, I and II. Manual on Basic Statistics. In Lectures Database, FAO/IAEA Workshop on Introduction to QC/QA Measures in Pesticide Residue Analytical Laboratories, Seibersdorf, Vienna, Austria.
- Orman Ş., Kalkan H., Kaplan M., 2011. Kirlenmiş Arazilerin Islah Edilmesinde Fitoremediasyon Tekniği. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(4): 102-107.

- Pal A., (2017). Phytoremediation. Retrieved December 30, 2017, from <https://www.slideshare.-net/AayushiPal1/aayushi-72854453>.
- Pay P., Anastassiades M., Mack D., Sigalova 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. *Anal.Bioanal. Chem.*, 389: 1697–1714.
- Pilon-Smits E.A.H., 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology.*, 56: 15-39.
- Pulford I.D., Watson C., 2002. Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Land by Trees a Review. *Environmental International*, 1032; 12.
- Rashid A., Nawaz S., Barker H., Ahmad I., Ashraf, M., 2010. Development of a Simple Extraction and Clean-Up Procedure for Determination of Organochlorine Pesticides in Soil Using Gas Chromatography tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217:2933–2939.
- Richards L.A., 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. United States Department of Agriculture Handbook, 60-94.
- Romeh A. A., 2010. Phytoremediation of Water and Soil Contaminated with Imidacloprid Pesticide by *Plantago major* L.. *International Journal of Phytoremediation*, 12 (2); 188-199.
- Romeh A.A., Hendawi M.Y., 2017. Biochemical Interactions Between *Glycine max* L. Silicon Dioxide (SiO₂) and Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPR) for Improving Phytoremediation of Soil Contaminated with Fenamiphos and Its Degradation Products. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 142: 32-43.
- SANCO, 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. 2013, Document No.

SANCO/12571/2013. http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf Eriřim:13.05.2014).

Schenck F. J., Hobbs J. E., 2004. Evaluation of the Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, And Safe (QuEChERS) Approach To Pesticide Residue Analysis. Bull Environ Contam Toxicol., 73: 24-30.

Temur C., Tiryaki O., Uzun O., Bařaran M. 2012. Adaptation and Validation of QuEChERS Method for the Analysis of Trifluralin in Wind-eroded Soil. J. of Environmental Science and Health Part B, 47: 842-850.

Tiryaki O., 2016. Validation of QuEChERS Method for the Determination of Some Pesticide Residues in Two Apple Varieties. J. Environmental Science and Health B, 51(10): 722-729.

Tiryaki O., 2017. Pestisit Kalıntı Analizlerinde Kalite Kontrol (QC) ve Kalite Güvencesi (QA) (Geliřtirilmiř ve Güncelleřtirilmiř 2. Basım), Mart 2017, Ankara.

Tiryaki O., Potur T., 2017. Pestisitlerin Arındırılmasında nemli Bir Araç: Fitoremediasyon. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 33(1): 59-68.

Tiryaki O., Temur C., 2010. The Fate of Pesticide in the Environment. Journal of Biological and Environmental Sciences,4(10): 29-38.

TK, 2016. Sebze retim İstatistikleri. www.tuik.gov.tr

Vanlı ., 2007. Pb, Cd, B Elementlerinin Topraklardan şelat Destekli Fitoremediasyon Yöntemiyle Giderilmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Türkiye.

Vanlı ., Yazgan M., 2008. Ağır Metallerle Kirlenmiş Toprakların Temizlenmesinde Fitoremediasyon Tekniği. Retrieved February 23, 2015, from <http://www.tarimsal.com/fitoremediasyon/fitoremediasyon.htm>.

- Wang C., Zhou Q., Zhang L., Zhang Y., Xiao E., Zhenbin W., 2013. Variation Characteristics of Chlorpyrifos in Nonsterile Wetland Plant Hydroponic System. *International Journal of Phytoremediation*, 15 (6): 550-560.
- White J. C., Wang X. P., Gent M. P. N., Iannucci-Berger W., Eitzer B. D., Schultes N. P., Arienzo M., Mattina M. I., 2003. Subspecies-Level Variation in the Phytoextraction of Weathered p,p '-DDE by *Cucurbita pepo*. *Environmental Science & Technology*, 37 (19): 4368-4373.
- White J.C., Parrish Z.D., İşleyen M., Gent M.P.N., Iannucci-Berger W., Eitzer B.D., Mattina M.J.İ., 2005a. Influence of Nutrient Amendments on the Phytoextraction of Weathered 2,2-Bis(P-Chlorophenyl)-1,1-Dichloroethylene by Cucurbits. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24 (4): 987-994.
- White J.C., Parrish Z.D., İşleyen M., Gent M.P.N., Iannucci-Berger W., Eitzer B.D., Mattina M.J.İ., 2005b. Uptake of Weathered p,p '-DDE by Plant Species Effective at Accumilating Soil Elements. *Microchemical Journal*, 81:148-155.
- Yanmaz R., 2014. Türkiye'nin Çekirdek Kabağı Potansiyeli. Çerezlik Kabak Çalıştayı, 1-12.
- Yıldız S., 2008. Nişasta Sanayi Atık Sularının Bitkisel İyileştirme(Fitoremediasyon) Kapasitesine Mikorizal Simbiyozun Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Türkiye.
- Yılmaz E., Alagöz Z., 2008. Topraklarda Kolloid Pestisit İlişkisi. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2): 69-78.



EKLERİ

EK 1. Student t testi tablo değerleri

Critical Values for the Student *t*-Test

v	IT	60%	75%	80%	85%	90%	95%	97.5%	99%	99.5%	99.9%	99.95%
v	2T	20%	50%	60%	70%	80%	90%	95%	98%	99%	99.8%	99.9%
1	0.3249	1.0000	1.3764	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	318.3	636.62	
2	0.2887	0.8165	1.0607	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.33	31.596	
3	0.2767	0.7649	0.9785	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.21	12.941	
4	0.2707	0.7407	0.9410	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173	8.610	
5	0.2672	0.7267	0.9195	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.893	6.869	
6	0.2648	0.7176	0.9057	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208	5.959	
7	0.2632	0.7111	0.8960	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785	5.408	
8	0.2619	0.7064	0.8889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501	5.041	
9	0.2610	0.7027	0.8834	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297	4.781	
10	0.2602	0.6998	0.8791	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144	4.587	
11	0.2596	0.6974	0.8755	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025	4.437	
12	0.2590	0.6955	0.8726	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930	4.318	
13	0.2586	0.6938	0.8702	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852	4.221	
14	0.2582	0.6924	0.8681	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787	4.140	
15	0.2579	0.6912	0.8662	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733	4.073	
16	0.2576	0.6901	0.8647	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686	4.015	
17	0.2573	0.6892	0.8633	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646	3.965	
18	0.2571	0.6884	0.8620	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.610	3.922	
19	0.2569	0.6876	0.8610	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579	3.883	
20	0.2567	0.6870	0.8600	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552	3.850	
21	0.2566	0.6864	0.8591	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527	3.819	
22	0.2564	0.6858	0.8583	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505	3.792	
23	0.2563	0.6853	0.8575	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485	3.768	
24	0.2562	0.6848	0.8569	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467	3.745	
25	0.2561	0.6844	0.8562	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450	3.725	
26	0.2560	0.6840	0.8557	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435	3.707	
27	0.2559	0.6837	0.8551	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421	3.690	
28	0.2558	0.6834	0.8546	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408	3.674	
29	0.2557	0.6830	0.8542	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396	3.659	
30	0.2556	0.6828	0.8538	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385	3.646	
31	0.2556	0.6825	0.8534	1.054	1.309	1.695	2.039	2.453	2.744	3.375	3.634	
32	0.2555	0.6822	0.8530	1.054	1.309	1.694	2.037	2.449	2.738	3.365	3.622	
33	0.2554	0.6820	0.8527	1.053	1.308	1.692	2.034	2.445	2.733	3.356	3.611	
34	0.2553	0.6818	0.8523	1.052	1.307	1.691	2.032	2.441	2.728	3.348	3.601	
35	0.2553	0.6816	0.8520	1.052	1.307	1.690	2.030	2.437	2.723	3.340	3.591	
36	0.2552	0.6814	0.8517	1.052	1.306	1.688	2.028	2.434	2.719	3.333	3.582	
37	0.2551	0.6812	0.8515	1.051	1.305	1.687	2.026	2.431	2.715	3.326	3.574	
38	0.2551	0.6810	0.8512	1.051	1.304	1.686	2.024	2.429	2.712	3.319	3.566	
39	0.2550	0.6809	0.8509	1.051	1.304	1.685	2.022	2.426	2.708	3.313	3.558	
40	0.2550	0.6807	0.8507	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.307	3.551	
41	0.2550	0.6805	0.8505	1.050	1.303	1.683	2.019	2.421	2.701	3.301	3.544	
42	0.2549	0.6803	0.8503	1.050	1.302	1.683	2.017	2.419	2.698	3.296	3.537	
43	0.2549	0.6802	0.8501	1.049	1.302	1.682	2.016	2.417	2.695	3.291	3.531	
44	0.2549	0.6800	0.8499	1.049	1.301	1.681	2.015	2.415	2.692	3.286	3.525	
45	0.2548	0.6799	0.8497	1.049	1.301	1.680	2.014	2.413	2.689	3.281	3.519	
46	0.2548	0.6798	0.8496	1.048	1.300	1.679	2.013	2.411	2.686	3.277	3.514	
47	0.2548	0.6797	0.8494	1.048	1.300	1.678	2.012	2.409	2.684	3.273	3.509	
48	0.2547	0.6796	0.8492	1.048	1.299	1.677	2.011	2.407	2.682	3.269	3.504	
49	0.2547	0.6795	0.8490	1.048	1.299	1.676	2.010	2.405	2.680	3.265	3.500	
50	0.2547	0.6794	0.8489	1.047	1.299	1.676	2.009	2.403	2.678	3.261	3.496	

Where IT represent a one-tailed test and 2T represents a two-tailed test.

EK 2. Dixon testi tablo değerleri

Table A.10 Critical values for Dixon outliers test

Critical values for the Dixon test of outliers

Test statistic	n	Level of significance α						
		0.30	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.005
$r_{10} = \frac{x_2 - x_1}{x_n - x_1}$	3	0.684	0.781	0.886	0.941	0.976	0.988	0.994
	4	0.471	0.560	0.679	0.765	0.846	0.889	0.926
	5	0.373	0.451	0.557	0.642	0.729	0.780	0.821
	6	0.318	0.386	0.482	0.560	0.644	0.698	0.740
	7	0.281	0.344	0.434	0.507	0.586	0.637	0.680
$r_{11} = \frac{x_2 - x_1}{x_{n-1} - x_1}$	8	0.318	0.385	0.479	0.554	0.631	0.683	0.725
	9	0.288	0.352	0.441	0.512	0.587	0.635	0.677
	10	0.265	0.325	0.409	0.477	0.551	0.597	0.639
$r_{21} = \frac{x_3 - x_1}{x_{n-1} - x_1}$	11	0.391	0.442	0.517	0.576	0.638	0.679	0.713
	12	0.370	0.419	0.490	0.546	0.605	0.642	0.675
	13	0.351	0.399	0.467	0.521	0.578	0.615	0.649
$r_{22} = \frac{x_3 - x_1}{x_{n-2} - x_1}$	14	0.370	0.421	0.492	0.546	0.602	0.641	0.674
	15	0.353	0.402	0.472	0.525	0.579	0.616	0.647
	16	0.338	0.386	0.454	0.507	0.559	0.595	0.624
	17	0.325	0.373	0.438	0.490	0.542	0.577	0.605
	18	0.314	0.361	0.424	0.475	0.527	0.561	0.589
	19	0.304	0.350	0.412	0.462	0.514	0.547	0.575
	20	0.295	0.340	0.401	0.450	0.502	0.535	0.562
	21	0.287	0.331	0.391	0.440	0.491	0.524	0.551
	22	0.280	0.323	0.382	0.430	0.481	0.514	0.541
	23	0.274	0.316	0.374	0.421	0.472	0.505	0.532
	24	0.268	0.310	0.367	0.413	0.464	0.497	0.524
	25	0.262	0.304	0.360	0.406	0.457	0.489	0.516

Source: Dixon and Massey, 1957

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Tayfun POTUR

Doğum Yeri: Uşak

Doğum Tarihi: 06.03.1992

EĞİTİM DURUMU

Lise: Şehit Tuncay Durmuş Çok Programlı Lisesi

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Kullanabildiği Bilgisayar Programları: MS Office, Paint

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

İLETİŞİM

E-posta Adresi: tyfnptr64@gmail.com