

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İYON HAREKETLİLİĞİ SPEKTROMETRESİ İLE BİRLEŞTİRİLMİŞ LC-  
MSMS CİHAZI KULLANILARAK BAZI SEBZELERDE PESTİSİT  
KALINTILARININ BELİRLENMESİ**

**Gizem YILDIZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**2012**

**İYON HAREKETLİLİĞİ SPEKTROMETRESİ İLE BİRLEŞTİRİLMİŞ LC-  
MSMS CİHAZI KULLANILARAK BAZI SEBZELERDE PESTİŐİT  
KALINTILARININ BELİRLENMESİ**

**Gizem YILDIZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez 2012.02.0121.002 Proje numarasıyla, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel  
Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.**

**2012**

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İYON HAREKETLİLİĞİ SPEKTROMETRESİ İLE BİRLEŞTİRİLMİŞ LC-  
MSMS CİHAZI KULLANILARAK BAZI SEBZELERDE PESTİSİT  
KALINTILARININ BELİRLENMESİ**

**Gizem YILDIZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

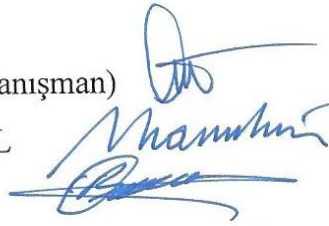
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 13./12./2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (100) not takdir edilerek  
Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Bülent ŞIK (Danışman)

Prof. Dr. Muharrem CERTEL

Doç. Dr. Birsen Ş. OKSAL



## ÖZET

# İYON HAREKETLİLİĞİ SPEKTROMETRESİ İLE BİRLEŞTİRİLMİŞ LC-MSMS CİHAZI KULLANILARAK BAZI SEBZELERDE PESTİSİT KALINTILARININ BELİRLENMESİ

**Gizem YILDIZ**

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Bülent ŞİK

Kasım 2012, 107 Sayfa

Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi (LC-MSMS) ve Yüksek Alan Asimetrik Dalga İyon Hareketliliği Spektrometresi (FAIMS) ile birleştirilmiş LC-MSMS cihazları kullanılarak, 18 pestisit için çoklu kalıntı analiz metodu geliştirilmiştir.

Çalışma konusu pestisitler, Antalya’da en çok kullanılan ve sıvı kromatografik analizler için uygun olanlardan seçilmiştir. Çalışmalarda domates ve hıyar örnekleri kullanılmış ve örnek ekstraksiyonu, QuEChERS yöntemine göre yapılmıştır. Örnek ekstraktlarının analizleri önce LC-MSMS’de gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan aktif maddelere ait ana iyonlar ve ürün iyonlar belirlenmiştir. Analizler, seçili reaksiyon izleme (SRM) ve pozitif iyonizasyon modunda gerçekleştirilmiştir. LC-FAIMS-MSMS analizleri için öncelikle FAIMS parametrelerinin aktif maddelere göre optimizasyonu yapılmış ve LC-MSMS’de geliştirilen metot kullanılmıştır.

LC-MSMS’de 18 pestisitte çalışma yapılmıştır. LC-FAIMS-MSMS ile yapılan analizlerde ise cihaz parametrelerinin her bir analit için tek tek belirlenmesinin gerekli olduğu saptanmıştır. Bu nedenle geliştirilen analiz yöntemi ile 13 pestisit analiz edilebilmiştir. Yapılan metot validasyonu çalışmasında, hem LC-MSMS ve hem de LC-FAIMS-MSMS cihazları için geliştirilen analiz yöntemlerinin geçerliliği sağlanmış ve elde edilen sonuçlar metot validasyon parametreleri için kabul edilebilir aralıklarda bulunmuştur.

Yapılan karşılaştırma çalışmalarında, FAIMS cihazının kullanılmasıyla matriks etkisinin büyük ölçüde ortadan kalktığı ve bu nedenle elde edilen sinyal/gürültü (S/N) oranının LC-MSMS'e kıyasla oldukça fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu sonucun özellikle karmaşık yapıli matrikslerde tek veya birkaç tane pestisit kalıntısı analiz edilecekse çok büyük avantaj sağlayacağı belirlenmiştir.

**ANAHTAR KELİMELEER:** Gıda güvenliği, pestisit, LC-MSMS, FAIMS, çoklu kalıntı analizi

**JÜRİ** : Yrd. Doç. Dr. Bülent ŞIK (Danışman)  
Prof. Dr. Muharrem CERTEL  
Doç. Dr. Birsen Ş. OKSAL

## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF PESTİCİDE RESIDUES ON SOME VEGATABLE BY USING ION MOBILITY SPECTROMETRY COUPLED WITH LC-MSMS**

**Gizem YILDIZ**

M. Sc. Thesis in Food Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Bülent ŞIK

November 2012, 107 pages

Multi-residue analysis method was developed for 18 pesticides by using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MSMS) and High- Field Asymmetric Waveform Ion Mobility Spectrometry (FAIMS) coupled with LC-MSMS devices.

In this study 18 pesticides which were the most used for the agricultural production in Antalya and suitable for liquid chromatographic analysis were chosen. Tomato and cucumber were used as samples for the study and sample extraction was made according to QuEChERS method. Analyses of sample extract were carried out with LC-MSMS initially. Parent ions and product ions of the active substances were determined. Selected reaction monitoring (SRM) and positive ionization mode was used. For the LC-FAIMS-MSMS analysis, FAIMS parameters optimization performed initially according to the active substances and developed LC-MSMS method was used.

18 pesticides were studied in LC-MSMS. It was found that it is necessary to determine the device parameters individually for each analyte in LC-FAIMS-MSMS analyses. However, it is not suitable for multi-residue analyses were confirmed. The analysis method developed for both LC-MSMS and LC-FAIMS-MSMS was validated and for the result of method validation parameters were found the acceptable ranges.

The comparison studies indicate that the matrix effect largely disappeared with using FAIMS device and the signal to noise (S/N) ratio has been found to be considerably

higher than LC-MSMS. It is reported that it can be advantageous in single or several pesticide residue analyses in complex matrix.

**KEYWORDS:** Food safety, pesticide, LC-MSMS, FAIMS, multi residue analysis

**COMMITTEE** : Asst. Prof. Dr. Bülent ŞIK (Supervisor)  
Prof. Dr. Muharrem CERTEL  
Assoc. Prof. Dr. Birsen Ş. OKSAL

## ÖNSÖZ

Tarımsal üretim dünya çapında ekonomi ve sağlık açısından önemli bir yere sahiptir. Ancak tarımsal üretimde daha fazla pestisit kullanılmasına yol açan faaliyetlerin yaygınlık kazanmasıyla özellikle çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler ortaya çıkmaya başlamıştır. Zararlılarla mücadele amacıyla kullanılan pestisitlerin, çevredeki birçok canlı türünü olumsuz yönde etkilemesi, doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca bu kimyasalların çevrede ve gıda maddelerinde kalıntı bırakması nihai tüketici olan insan sağlığı için de büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle çeşitli uluslararası kuruluşlar tarafından tarımsal üretimde kullanılan pestisitler sık sık gözden geçirilmekte ve sonuç olarak da bazılarının kullanılmasına yasak veya kısıtlamalar getirilmektedir.

İnsanlar pestisitlere çeşitli yollarla maruz kalmaktadırlar. Ancak en önemli maruziyet beslenme yoluyla olmaktadır. İnsanların gıda tüketimlerinin büyük bir kısmını oluşturması ve çiğ veya yarı işlenmiş olarak tüketilmeleri sebebiyle meyve ve sebzeler, diğer gıda gruplarına kıyasla tüketicilerin pestisitlere daha fazla maruz kaldığı gıda ürünlerinin başında gelmektedir.

Gıdalardaki pestisit kalıntılarının izlenebilirliğinin sağlanması amacıyla bu maddelerin fizikokimyasal özellikleri dikkate alarak belirleme yapmaya olanak sağlayan çeşitli analiz yöntemleri bulunmaktadır. Dünya çapında tarımsal üretimde yüzlerce çeşit pestisit kullanılmaktadır. Dolayısıyla bir gıda ürünüde pestisit kalıntı analizi yapılırken yüzlerce pestisit etken maddesinin varlığı araştırılmaktadır. Bu nedenle kullanılan analiz yöntemi aynı anda yüksek bir doğruluk ve kesinlik değeri ile yüzlerce etken maddeyi tespit edecek yetenekte olmalıdır. Bu amaçla LC-MSMS ve GC-MSMS gibi kütle spektrometreleri kullanılmaktadır. Çalışmamızda domates ve hıyar matrikslerinde, Antalya'da tarımsal üretimde sıklıkla kullanılan bazı pestisitlerin LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS ile belirlenmesi amaçlanmış ve her iki yöntemden elde edilen sonuçlar arasındaki farklar değerlendirilmiştir. FAIMS cihazının pestisitlerin, çoklu kalıntı analizlerine sağladığı avantaj ve dezavantajların belirlenmesiyle bu konudaki literatüre bir katkı sağlanmaya çalışılmıştır.



Bana bu konuda çalışma fırsatı yaratan, tez konumun belirlenmesinden yazımına kadar bana her konuda destek olan, bana olan güveniyle her zaman arkamda duran, sabır ve hoşgörüyü beni eğiten, ufkumu genişletip her konuda bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, hakkını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim danışman hocam Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyesi ve Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi Teknik Müdür Yardımcısı Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent ŞIK'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgi ve becerileriyle eğitimime çok büyük katkıları olan, tez çalışmalarım sırasında da beni yalnız bırakmayan, birlikte çalışmaktan her zaman büyük mutluluk ve gurur duyduğum değerli ekip arkadaşım Sayın Taner ERKAYMAZ'a,

Tez çalışmalarımın her aşamasında değerli görüş ve önerileriyle bana yol gösteren, manevi ve teknik desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her karanlık anıma bir ışık olan, Sayın Okan ONGAN'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında beni yalnız bırakmayan ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan çalışma arkadaşlarım Sayın H. Aydan BÜYÜKBENLİ ve Sayın Timur TONGUR'a,

Son olarak hayatım boyunca maddi ve manevi her konuda beni destekleyen anne ve babama, tez çalışmam süresince gösterdikleri sabır ve anlayış için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez projesini mali yönden destekleyen Akdeniz Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve laboratuvarlarını kullanma imkanı veren Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi Müdürü Sayın Prof. Dr. Muharrem CERTEL'e teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI .....	4
2.1. Antalya’da Tarımsal Üretim.....	5
2.2. Organoklorlu Pestisitler.....	7
2.3. Organofosforlu Pestisitler.....	8
2.4. Karbamatlı Pestisitler .....	10
2.5. Ekstraksiyon Yöntemleri.....	11
2.6. Sıvı Kromatografisiyle Birleştirilmiş Tandem Kütle Spektroskopisi (LC- MSMS).....	14
2.7. Yüksek Alan Asimetrik Dalga İyon Hareketliliği Spektrometresi (FAIMS).....	19
2.8. Kütle Spektrometresi Cihazı Kullanılarak Yapılan Pestisit Analiz Çalışmaları .....	23
3. MATERYAL ve METOT .....	32
3.1. Materyal.....	32
3.2. Metot .....	33
3.2.1. Sebze örneklerinin analize hazırlanması.....	33
3.2.2. Standartların hazırlanması .....	34
3.2.3. Hareketli fazların hazırlanması .....	34
3.2.4. LC- FAIMS- MSMS analizleri .....	34
3.2.5. Metot validasyonu.....	35

3.2.5.1. Tespit limiti (Limit of detection-LOD)- Ölçüm limiti (Limit of quantification-LOQ).....	35
3.2.5.2. Doğrusallık .....	36
3.2.5.3. Doğruluk ve kesinlik .....	36
3.2.6. İstatistiksel değerlendirme .....	37
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	38
4.1. LC-MSMS Analizleri .....	38
4.1.1. Pestisitlerin ana iyonları, ürün iyonları ve çarpışma enerjilerinin belirlenmesi .....	38
4.1.2. Metodun oluşturulması ve analitlerin alıkonma zamanlarının belirlenmesi .....	44
4.1.3. Metot validasyonu.....	52
4.1.3.1. Doğrusallık .....	52
4.1.3.2. Tespit limiti (LOD) ve ölçüm limitinin (LOQ) hesaplanması .....	57
4.1.3.3. Doğruluk ve kesinlik .....	59
4.2. LC-FAIMS-MSMS Analizleri .....	62
4.2.1. FAIMS cihazında temel parametrelerin optimize edilmesi .....	62
4.2.1.1. Dağılma voltajı (DV) .....	62
4.2.1.2. Dengeleyici voltaj (CV) .....	62
4.2.1.3. Elektrot sıcaklıkları .....	63
4.2.1.4. Taşıyıcı gaz bileşimi.....	64
4.2.1.5. Taşıyıcı gaz akış hızı .....	65
4.2.1.6. İyonizasyon modülünün (H-ESI) optimizasyonu.....	67
4.2.1.7. Kütle spektrometre koşullarının optimizasyonu .....	69
4.2.2. Dengeleyici voltaj (CV) değerlerinin belirlenmesi ve metodun oluşturulması .....	71
4.2.3. Metot validasyonu.....	74

4.2.3.1. Doğrusallık .....	74
4.2.3.2. Tespit limiti (LOD) ve ölçüm limitinin (LOQ) hesaplanması .....	84
4.2.3.3. Doğruluk ve kesinlik .....	87
5. SONUÇ .....	92
6. KAYNAKLAR .....	96
ÖZGEÇMİŞ	

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

µg	: mikrogram
µL	: mikrolitre
dk	: dakika
g	: gram
kg	: kilogram
L	: litre
mg	: miligram
mL	: mililitre
mm	: milimetre
mM	: milimolar
°C	: derece selsiyus
V	: volt

### Kısaltmalar

AB	: Avrupa Birliği
AChE	: Asetilkolin esteraz
AOAC	: Analitik Kimyacılar Birliği
APCI	: Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyonu
ASE	: Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu
C18	: Karbon 18
CE	: Çarpışma enerjisi
CEN	: Avrupa Standardizasyon Komitesi
CV	: Dengeleyici voltaj
DDT	: Diklorodifeniltrikloroetan
DV	: Dağılma voltajı
ESI	: Elektrosprey iyonizasyonu
FAIMS	: Yüksek alan asimetrik dalga iyon hareketliliği spektrometresi
GC	: Gaz kromatografisi

GCB	: Aktif karbon
GSMH	: Gayri Safi Milli Hasıla
HCH	: Hekzaklorosikloheksan
H-ESI	: Isıtmalı elektrosprey iyonizasyonu
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IMS	: İyon hareketliliği spektrometresi
LC	: Sıvı kromatografisi
LC-MS	: Sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi
LC-MSMS	: Sıvı kromatografisi-kütle-kütle spektrometresi
LOD	: Tespit limiti
LOQ	: Ölçüm limiti
MAE	: Mikrodalga destekli ekstraksiyon
MgSO <sub>4</sub>	: Magnezyum sülfat
MRL	: Maksimum kalıntı limiti
MSPD	: Matriks katı faz ayrımı
NaCl	: Sodyum klorür
PLE	: Basınçlı sıvı ekstraksiyonu
PSA	: Primer sekonder amin
QqTOF	: Uçuş zamanlı kuadrupol
r <sup>2</sup>	: Korelasyon katsayısı
RMS	: Ortalama karekök
RSD	: Bağıl standart sapma
RT	: Alıkonma zamanı
S/N	: Sinyal/ gürültü
SANCO	: Avrupa Birliği Sağlık ve Tüketici Genel Müdürlüğü
SD	: Standart sapma
SFE	: Süperkritik sıvı ekstraksiyonu
SPME	: Katı faz mikroekstraksiyonu
SRM	: Seçili reaksiyon izleme
TOF-MS	: Uçuş zamanlı kütle spektrometresi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UHPLC	: Ultra yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. QuEChERS yöntemi ile örnek hazırlama basamakları .....	33
Şekil 4.1. Methomyl için belirlenen ana iyon .....	40
Şekil 4.2. Methomyl için belirlenen ürün iyonlar .....	41
Şekil 4.3. Başlangıçta kullanılan gradyen program .....	45
Şekil 4.4. Analizlerin yapıldığı hareketli faz gradyen programı .....	45
Şekil 4.5. (a) İlk gradyen programından elde edilen kromatogram, (b) Analizlerde kullanılan gradyen programından elde edilen kromatogram. ....	46
Şekil 4.6. (a) Kolon sıcaklığı: 30°C, (b) Kolon sıcaklığı: 40°C ve (c) Kolon sıcaklığı: 50°C .....	48
Şekil 4.7. Dimethomorph pestisitine ait pikler .....	50
Şekil 4.8. Domates matriksinde diethofencarb pestisiti için elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	54
Şekil 4.9. Hıyar matriksinde Tebuconazole pestisiti için elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	55
Şekil 4.10. İç ve dış elektrot sıcaklık farklarının minoxidil maddesinin iyon şiddetine ve CV değerine olan etkisi (Anonymous 2007a).....	64
Şekil 4.11. %He kullanımının atrazin maddesinin iyon şiddetine ve çözünürlüğe olan etkisi (Anonymous 2007a) .....	65
Şekil 4.12. Taşıyıcı gaz akış oranının tereftalik asidin CV değerine ve iyon şiddetine olan etkisi (Anonymous 2007a).....	67
Şekil 4.13. H-ESI probu (Anonymous 2007b).....	68
Şekil 4.14. Carbendazim için belirlenen CV grafiği .....	71
Şekil 4.15. Domates matriksinde cyprodinil pestisiti için elde edilen kalibrasyon grafiği .....	75
Şekil 4.16. Hıyar matriksinde pyrimethanil pestisiti için elde edilen kalibrasyon grafiği .....	76
Şekil 4.17. LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS’de 10 µg/L konsantrasyondaki domates matriksine ait kromatogramların karşılaştırılması .....	80
Şekil 4.18. RMS algoritmasına göre S/N oranının hesaplanması .....	83

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Antalya ilinde zirai ilaç kullanımı (Anonim 2009).....	6
Çizelge 2.2. Pestisit aktif maddeleri ve özellikleri (Anonymous 2012b) .....	28
Çizelge 3.1. Pestisit standartlarının saflıkları ve saklama koşulları.....	32
Çizelge 4.1. Pestisitler için belirlenen ana iyonlar, ürün iyonlar ve çarpışma enerjileri .....	42
Çizelge 4.2. Pestisitlerin literatürde yer alan geçiş iyonları.....	43
Çizelge 4.3. Çalışma konusu analitler için belirlenen alıkonma zamanları (RT) .....	51
Çizelge 4.4. Matriks uyumlu kalibrasyonlardan elde edilen doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları ( $r^2$ ) .....	56
Çizelge 4.5. Hesaplanan LOD- LOQ değerleri ve MRL değerleri .....	58
Çizelge 4.6. Domates örneğinde yapılan zenginleştirmeler, % ortalama geri kazanım, standart sapma ve % RSD değerleri .....	60
Çizelge 4.7. Hıyar örneğinde yapılan zenginleştirmeler, % ortalama geri kazanım, standart sapma ve % RSD değerleri.....	61
Çizelge 4.8. LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS için belirlenen cihaz parametreleri .....	70
Çizelge 4.9. Araştırma konusu aktif maddeler için belirlenen CV, tüp lens voltaj değerleri ve alıkonma zamanları .....	72
Çizelge 4.10. Carbendazim için belirlenen FAIMS parametreleri ile famoxadone için belirlenen parametreler.....	73
Çizelge 4.11. LC-FAIMS-MSMS kalibrasyon eğrileri.....	77
Çizelge 4.12. Analitlere ait sinyal/gürültü oranlarının LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS'de karşılaştırması.....	82
Çizelge 4.13. Domates matrikslerinin LOD-LOQ açısından karşılaştırması.....	85
Çizelge 4.14. Hıyar matrikslerinin LOD-LOQ açısından karşılaştırması.....	86
Çizelge 4.15. Domates matriksinde 0.01 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen % ortalama geri kazanım, SD ve % RSD değerleri.....	88
Çizelge 4.16. Domates matriksinde 0.1 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen % ortalama geri kazanım, SD ve % RSD değerleri.....	89
Çizelge 4.17. Hıyar matriksinde 0.01 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen % ortalama geri kazanım, SD ve % RSD değerleri.....	90



Çizelge 4.18. Hıyar matrisinde 0.1 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen % ortalama geri kazanım, SD ve % RSD değerleri.....	91
---	----

## 1. GİRİŞ

Gıdalarda bulunan toksik kimyasallar, günümüzde toplum sağlığını tehdit eden en önemli etmenlerden biri haline gelmiştir. Çevresel kaynaklardan bulaşan çeşitli kimyasallar ile tarımsal üretimde kullanımı gün geçtikçe artan zirai ilaçlar, gıdalarda bulunan toksik kimyasalların başında yer almaktadır. İnsan ve çevre sağlığı açısından bu tür maddeleri içermeyen gıdaların tüketicilere sunulması üzerinde önemle durulması gereken bir konudur (Boobis vd 2008, Şık vd 2011).

1950 yılında 2.5 milyar olan Dünya nüfusu, 2000 yılında 6.1 milyara ulaşmıştır. 2050 yılına gelindiğinde ise bu rakamın 9.1 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Carvalho 2006). Dünya nüfusundaki bu artış, gıda maddelerine olan gereksinimi de arttırmaktadır. Ancak doğal kaynakların sınırlı olması ve çeşitli yollarla giderek kirlenmesi, sağlıklı ve güvenilir özellikler taşıyan gıdaların üretilmesini zorlaştırmaktadır. İnsanların, yeterli ve dengeli bir biçimde beslenebilmesi ve sağlıklı bir yaşam ancak gıda güvencesi ve güvenliğinin sağlanması ile sürdürülebilir (Schmidt ve Rodrick 2003).

Gıda güvenliği, gıdaların işlenmesi, hazırlanması, depolanması ve tüketiciye sunulması aşamalarında tüketicilerde herhangi bir sağlık sorunu oluşturmadan, sağlıklı gıda üretimini sağlamak amacıyla geliştirilen, her türlü yöntemi tanımlayan bir kavramdır. Bu amaçla, gıdaların üretiminden tüketiciye ulaşıncaya kadar geçen süreçte gıdanın geçirildiği her bir aşama ayrı ayrı ele alınmakta ve gıdada oluşabilecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik riskler değerlendirilmektedir (Giray ve Soysal 2007). Fiziksel risk kapsamında; taş, toprak vb. yabancı maddeler, kimyasal olarak; zirai ve veteriner ilaç kalıntıları, gıda katkı maddeleri ile dioksin ve ağır metaller gibi çevreden bulaşan toksik kimyasallar, biyolojik olarak da mikotoksinler vb. gelmektedir. Bu risk unsurlarının gıda maddelerinde bulunup bulunmadığını araştırmak önemlidir. Risk analizi, gıda güvenliği çalışmalarının önemli bir bileşenini oluşturmaktadır. Bu kapsamda, gıdalarda bulunan kimyasal risklerin tespit edilmesi ve bu gıdaları tüketen canlıların, bulaşan veya kalıntılara ne düzeyde maruz kaldıklarının değerlendirilmesi için, güvenilir ve amaca uygun analitik yöntemlere ihtiyaç vardır (Nielen ve Marvin 2008).

Tarımsal tekniklerin tarihine bakıldığında birim alandan daha fazla ürün elde etme ve ürünleri hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden korumak, ürün verimi ve kalitesini arttırmak amacıyla tarımsal mücadele yapıldığı görülmektedir. Bu mücadelede en çok kullanılan yöntemlerden biri ise pestisitlerle yapılan kimyasal mücadeledir (Şenöz 2007). Pestisitler, ürünü zararlı organizmalara karşı korumak, zararlıların gelişimlerini engellemek ya da kontrol altına almak için kullanılan doğal veya sentetik kökenli kimyasal maddelerdir.

Dünyada 3 milyon ton pestisit üretimi yapılmakta ve bunun %47'sini herbisitler, %29'unu insektisitler, %19'unu fungusitler ve %5'lik kısmını ise diğer pestisitler oluşturmaktadır (Dağ vd 2000). Türkiye'deki pestisit kullanım oranlarına bakıldığında ise %46'lık oranla insektisitler ilk sırada yer alırken bunu %25 ile herbisitler ve %23 ile fungusitler takip etmektedir (Dağ vd 2000). Ege ve Akdeniz Bölgelerinde tarımsal üretimin yoğun olarak yapılması, bu bölgelerdeki pestisit kullanımını da arttırmaktadır. Türkiye'deki pestisit kullanım oranı gelişmiş ülkelerle kıyaslandığında, bu bölgelerdeki pestisit kullanım düzeyinin gelişmiş ülkeler düzeyine ulaştığı bildirilmektedir (Delen vd 2005).

Bitkisel üretim ve özellikle örtü altı tarım alanı açısından çok büyük bir potansiyele sahip olan Antalya, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nin yayınladığı Gayri Safi Milli Hasıla (GSMH) rakamlarına göre tarımsal üretimde Türkiye birincisi durumundadır. Taze sebze ve meyve üretiminde önemli bir yere sahip olan Antalya'da 2010 yılı verilerine göre 64 ülkeye yaş meyve-sebze ihracatı gerçekleşmiştir. Gerçekleştirilen sebze ihracatında %61'lik bir payla domates ilk sırada yer alırken bunu biber ve hıyar-kornişon ürünleri izlemiştir (Anonim 2010).

Türkiye'de toplam pestisit kullanımının %7.4'ü Antalya'da gerçekleşmektedir. Kullanılan pestisit çeşidi açısından %30 ile nematositler en önemli grubu oluştururken bunu %26.6 ile fungusitler ve %19.8'lik bir payla da insektisitlerin takip ettiği görülmektedir (Özkan vd 2002).

Dünya çapında pestisit olarak kullanılan yaklaşık 800 adet aktif madde bulunmaktadır. Bu aktif maddelerin, insanlardaki ve çevredeki etkileri oldukça farklıdır (Padovani vd 2004). Pestisitlerin neden olduğu kirlilik sadece insan sağlığını değil aynı zamanda toprak, yüzey ve yeraltı suları, ürün verimliliği, mikro ve makroflora gibi birden çok çevresel faktörü etkilemektedir (Atreya 2008). Bunlara ek olarak, daha toksik ve çevrede kalıcı kimyasalların yaygın olarak kullanımı, yerel ve küresel çevresel etkiler ile insanlar için ciddi akut sağlık sorunları yaratmaktadır (Kaushik vd 2009).

Gıda güvenliği, çevre sağlığı ve işçi sağlığı gibi alanlarda izleme, denetim ve kontrol gibi çeşitli amaçlar için pestisit analizleri yapılmaktadır. Gıda güvenliği açısından konuya bakıldığında, yoğun kullanımları nedeniyle meyve ve sebzelerde pestisit kalıntısı analizleri yapılmasının çok güncel ve üzerinde çok çalışılan bir konu haline geldiği görülmektedir (Niessen 2010). Pestisit kalıntılarının ayrıntılı şekilde izlenmesi, insanların gıdalar yoluyla pestisitlere ne düzeyde maruz kaldıklarının değerlendirilmesinde çok önemlidir (Sannino vd 2004). Bu nedenlerden dolayı, kalıntı analizleri için kullanılan analitik metotlar çok düşük düzeylerdeki kalıntıları belirleme yeteneğine sahip olmalı; yani hem pestisit tanınması hem de kalıntı miktarının tespit edilerek doğrulanmasında kesin ve güvenilir kanıtlar sağlamalıdır (Di Muccio vd 2006).

Bu tez çalışmasının amacı; bazı sebze örneklerinde iz düzeydeki pestisitleri İyon Hareketliliği Spektrometresi (FAIMS) cihazı ile birleştirilmiş LC-MSMS cihazıyla tespit etmek için gereken analitik çalışma parametrelerinin belirlenmesini sağlamak ve FAIMS cihazının analiz sonuçları üzerindeki etkilerini ortaya koymaktır.

## 2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

Tarım sektörü özellikle de Türkiye’de, gerek ülke kalkınmasına katkı sağlaması gerekse de bireylerin beslenmesi açısından stratejik bir öneme sahiptir (Yalçınkaya vd 2006). Tarım alanlarının sınırlı olmasına karşılık dünya nüfusunun hızla artması, daha fazla pestisit kullanımına yol açan faaliyetlerin gelişmesine neden olmuştur. Pestisitler başka bir deyişle zirai ilaçların kullanımı da çevre ve gıdalarda bu maddelerin kalıntı bırakmalarına yol açmaktadır. Bu maddeler uygulanış şekillerine göre az veya çok oranda çevreye yayılmakta ve ekosisteme zarar vermektedir. Pestisitlerin; başta kuşlar, solucanlar, arılar, eklembacaklılar olmak üzere ekosistemdeki birçok canlı türü üzerinde olumsuz etkiler gösterdiği bilinmektedir (De Schampheleire vd 2007, Eraktan ve Olhan 1996). Bu etkiler de doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır.

Pestisitler, zararlılarla mücadelede bitki koruma maddesi olarak tarımsal üretimde önemli bir araç haline gelmiştir. Ancak bu kimyasalların gelişigüzel kullanılmaları, ekosistemdeki birçok canlı türü için tehlike yaratmakta ve nihai tüketici olan insanlar için de ciddi sağlık sorunları oluşturmaktadır. Bu tarımsal kimyasallar, gıda maddelerinde kalıntı bırakmakta ve bu maddelerin konsantrasyonları, gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limitlerini (MRL) aştığında ise tüketiciler açısından zararlı etkiler oluşmaktadır. Bu kimyasalların, insan ve çevre sağlığını olumsuz etkilediğine ilişkin çalışmalar giderek daha fazla gündeme gelmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı birçok pestisiti kanserojen olarak sınıflandırmaktadır. Bazı pestisitler, oldukça zehirli özellik göstermesine rağmen biyo-bozunur bir yapıya sahip değillerdir. Bu maddelerin bozulmaya karşı dirençli olması hem dünyanın birçok yerine dağılmasına hem de çevrede uzun süre kalıcı olmalarına yol açmaktadır (George ve Shukla 2011).

Tarımda ve kimya sanayiinde düzenli olarak kullanılan çok sayıdaki kimyasal bileşimin gıdalarda kalıntı bırakması gıda güvenliğini yakından ilgilendiren bir konudur (Jin vd 2004, Koesukwiwat vd 2011). Genel olarak gıdalar, pestisitlere maruz kalma yollarının başında yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada, beslenme yoluyla pestisit kalıntılarının maruziyetin, hava ve içme suyuyla maruziyete göre beş kat daha yüksek

olduğu bildirilmiştir (Knezevic vd 2012). Buna göre, genel olarak insanların gıda tüketiminin yaklaşık olarak %30'unu meyve ve sebzelerin oluşturduğu vurgulanmaktadır. Meyve ve sebzeler, çiğ olarak veya yarı-işlenmiş olarak tüketilmeleri ve en sık tüketilen gıda grubu olmaları nedeniyle diğer bitkisel kökenli gıda gruplarıyla karşılaştırıldığında, tüketicilerin maruz kaldığı pestisit kalıntılarının en fazla bu gıda ürünlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

## **2.1. Antalya'da Tarımsal retim**

Tarım sektörü, ülkelerin gelişmişlik düzeyine bakılmaksızın ekonomik açıdan önemli bir yere sahiptir. Bu sektör, canlılar için gıda maddesi, sanayii için ham madde ve bireyler için istihdam sağlaması bakımından da gerek ülkemizde gerekse de dünya çapında üzerinde durulan bir konudur. Türkiye'de tarımsal üretim yoğun olarak Ege ve Akdeniz Bölgelerinde yapıldığı bildirilmektedir (Delen vd 2005). Özellikle kıyı Akdeniz havzası, bünyesinde liman ve havaalanı gibi yurtdışı bağlantı noktalarını barındırdığı için tarımsal ürünlerin pazarlanması açısından oldukça elverişli bir havzadır (Anonim 2011a).

Antalya, nüfus büyüklüğü bakımından Türkiye'de 6. sırada yer alırken tarımsal üretimde ise 1. sıradadır (Anonim 2012). İl nüfusunun %31'i kırsal kesimde yaşamakta ve tarımla uğraşmaktadır. 2009 yılı verilerine göre Antalya'nın %20'sini tarım alanları oluşturmakta ve bu alanların da %25'inde açık tarla ve rtaltı olmak üzere meyve-sebze yetiştirilmektedir. İlde, kaliteli, verimli ve çeşitlilik açısından zengin bir tarımsal üretim yapılmaktadır. Antalya Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü ve TK tarafından hazırlanan 2009 yılı verilerine göre Türkiye'deki tarımsal üretim %14'ünün Antalya'da yapılmakta olduğu ve domates üretiminin %19'unun, hıyar üretiminin %28'inin ve biber üretiminin de %13'ünün Antalya'da üretildiği bildirilmektedir (Anonim 2011a).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tarımsal üretimde zararlılarla mücadele amacıyla zirai ilaçlar kullanılmaktadır. Bu amaçla Türkiye'de 1980 yılında pestisit kullanımı başlamış ve tüketim miktarı her yıl az veya çok artış göstermiştir. Seracılığın

yoğun olarak yapıldığı Ege ve Akdeniz Bölgelerinde, ülke toplamının yaklaşık üçte ikisi kadar pestisit tüketiminin olduğu bildirilmektedir (Anonim 2011a). Antalya’da 2004-2009 yılları arasında kullanılan zirai ilaç miktarları Çizelge 2.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Antalya ilinde zirai ilaç kullanımı (Anonim 2009)

<b>Zirai İlaçlar</b>	<b>2004 (kg)</b>	<b>2005 (kg)</b>	<b>2006 (kg)</b>	<b>2007(kg)</b>	<b>2008 (kg)</b>	<b>2009 (kg)</b>
<b>İnsektisitler</b>	666563	751865	966200	1243425	1155195	1367646
<b>Fungusitler</b>	734139	860979	1160129	973909	1248030	1173595
<b>Akarisitler</b>	91882	89057	186294	229683	218608	383908
<b>Nemotisitler ve Fumigantlar</b>	981040	1480638	1505790	1589758	2542139	2132492
<b>Rodontisitler ve Mollusitler</b>	7600	10386	6577	6359	1897	7482
<b>Herbisitler</b>	123366	151380	295698	322407	287342	455860
<b>Kışlık ve Yazlık Yağlar</b>	481673	326860	335000	331000	332045	146560
<b>Diğer Maddeler</b>	3200	5716	174157	66475	85820	58310
<b>Toplam</b>	3089463	3676881	4629845	4763016	5871076	5725853

Çizelge incelendiğinde, Antalya’da her sene kullanılan toplam pestisit miktarının yıldan yıla az veya çok oranda arttığı görülmektedir. Bu da, çevrede ve dolayısıyla gıda maddelerinde bulunan kalıntı miktarının her sene daha fazla olabileceğini göstermektedir. İlde kullanılan pestisit çeşidine bakıldığında en fazla nematosit ve fumigantların kullanıldığı ve bunu sırasıyla fungusit ve insektisitlerin takip ettiği görülmektedir.

Pestisitler etki şekillerine göre insektisitler (böceklere karşı), herbisitler (yabancı otlara karşı), fungusitler (mantarlara karşı), akarazitler (uyuz böcekleri ve parazitlere karşı) vb. şekilde sınıflandırılabilmesi gibi kimyasal özelliklerine göre de sınıflandırılmaktadırlar. Kimyasal özelliklerine göre pestisitler organik ve inorganik bileşikler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Organik bileşikler kullanılan pestisitlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Günümüzde kullanılan ticari pestisitler

kimyasal yapılarına ve fonksiyonel gruplarına göre organoklorlu, organofosforlu ve karbamatlı pestisitler gibi çeşitli şekillerde tanımlanmaktadır (Sannino 2008).

## **2.2. Organoklorlu Pestisitler**

Organoklorlu pestisitler, genellikle bir veya birden fazla klor atomu içeren hidrokarbon grubunu ifade etmektedir. Bu grup pestisitler genel olarak sentetik kökenli, toksik özellik gösteren ve çevrede kalıcılıkları yüksek maddelerdir (Ogunfowokan vd 2012). En çok bilinen organoklorlu pestisitlerden bazıları; diklorodifeniltrikloroetan (DDT) ve türevleri, heksaklorosikloheksan (HCH), lindane, endosülfan ve aldrin'dir. Ancak bu maddeler, yağda çok, suda az çözümleri, foto-oksidasyona karşı kararlılıkları ve düşük buhar basıncına sahip olmaları gibi kimyasal özelliklerinden dolayı çevreye zarar vermekte, insan ve hayvan dokularında birikime yol açmaktadır (Sannino 2008, Kim ve Smith 2001). Bu nedenle DDT başta olmak üzere bazı organoklorlu pestisitlerin kullanımı yasaklanmıştır.

Organoklorlu pestisitlerin, doğada fiziksel ve kimyasal olarak yüksek kalıcılık değerine sahip olmaları ve haşerelerin kontrolü için yıllarca kullanılmaları, bu maddelerin her yerde görülen çevre kirleticileri olmasına neden olmuştur. Bu toksik maddeler genellikle çiftlik hayvanları ve tarımsal uygulamalarda parazit ve haşerelerin kontrolünde ve sıtma hastalığına karşı geniş çapta kullanılmaktadır. Organoklorlu pestisitler grubuna dâhil olan DDT ve HCH moleküllerinde bulunan klor atomları, bu bileşiklerin çevredeki kalıcılıklarını ve canlılar üzerindeki toksisitelerini etkileyen en önemli faktördür (Mishra ve Sharma 2011). Pestisitlerin çevredeki kalıcılıkları, yarı ömür tanımı ile belirlenmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu DDT'nin yarı ömrünün 2 ila 25 yıl olduğu tespit edilmiştir (Bajpai vd 2007). Organoklorlu pestisitlerin çevreye bulaşmalarının temel sebepleri; fazla üretilmeleri, kontrolsüz olarak kullanılmaları ve çevrede kalıcılıklarının yüksek olmasıdır (Mishra ve Sharma 2011).

Organoklorlu pestisitlerden dieldrin, lindane, toxaphene, endosulfan ve metabolitleri vücutta östrojen hormonunun aktivitesini etkilemektedir. Lipofilik yapıda olmaları,



özellikle cilt altı yağ dokusu ve anne sütü gibi yağ miktarı farklılık gösteren biyolojik dokularda birikmelerine neden olmaktadır. İnsan sütünün %3,5 yağ içerdiği bilinmektedir. Bu oran da emzirme döneminde bebeklerin bu toksinlere maruz kalması için fazlasıyla yeterli olmaktadır (Campoy vd 2001, Dağlıoğlu 2009). Bu özelliklerinden dolayı birçok ülkede bu pestisitlerin kullanılması yasaklanmıştır. Organoklorlu pestisitlerin kullanımının yasaklanmasına rağmen kalıntıları çevrede olduğu kadar gıda maddelerinde de görülmektedir (Zohair 2001). İnsanlar, besin zincirinin bir parçası olan hayvanları, balık ve sebzeleri tüketmesi sonucu bu maddelere maruz kalmaktadır. İnsanların bu kimyasallara maruziyetlerinin %90'ından fazlası gıda ve sıvıların tüketimiyle olmaktadır (Campoy vd 2001).

Organoklorlu pestisitler insanlarda hormonal sistemin bozulmasına neden olabilmektedir. Bu gruptaki pestisitlerin vücutta birikmesinin göğüs, akciğer, rahim ve prostat gibi kanser çeşitlerinin oluşma riskini arttırdığı düşünülmektedir. Bununla birlikte bu maddelerin insanlar üzerinde mutajenik ve genotoksik etkiler oluşturduğu da bilinmektedir. Genel olarak bakıldığında, organoklorlu pestisitler, gıda zincirinin yukarısında yer alan organizmaların üremelerini olumsuz yönde etkilemektedir (Leong vd 2007, Mishra ve Sharma 2011).

### **2.3. Organofosforlu Pestisitler**

Pestisitlerin bir sınıfı olan organofosforlu pestisitler, fosforik asidin organik esterleridir. Organofosforlu pestisitler organoklorlu bileşiklere alternatif olarak, bütün dünyada birçok sebze, meyve ve tahıllarda insektisit kontrolü için geniş çapta kullanılmaktadır (Bai vd 2010). Yaygın olarak kullanılan organofosforlu pestisitler parathion, azinphosmethyl, mevinphos, methamidophos, diazinon, chlorpyrifos ve dichlorvos'dur. Bu bileşiklerden ilk olarak bir böcek öldürücü olan parathion piyasaya sürülmüştür (Demirdöğen 2010, Güler ve Çobanoğlu 1997).

Pestisitlerin insanlar üzerinde özellikle mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip olduğu; karbamatlar, organofosforlu pestisitler ve klorlanmış hidrokarbonları içeren birçok kimyasal bileşiğin ise genotoksik özellikler gösterdiği yapılan

çalışmalarda bildirilmektedir (Soyöz ve Özçelik 2003). Gelişmekte olan ülkelerde her yıl tahmini 200.000 insanın intihar etmek amacıyla pestisitleri kullandığı ve hayatını kaybettiğı bildirilmektedir (Darko ve Akoto 2008). Ülkemizde ise Ulusal Zehir Merkezi'nin 2008 yılı verilerine göre en fazla zehirlenmeye yol açan grup insektisitler olarak belirlenmiş ve bu insektisitlerin neden olduğı zehirlenmelerin de %20,98'ini organofosforlu insektisitlerin oluşturduğı belirtilmiştir (Özcan ve İkinciogulları 2009). Bu bileşiklerden parathion mesleki zehirlenmelere ve ölümlere neden olan pestisitler arasında başta yer almaktadır. Bunu ileri derecede toksik olan mevinphos, methamidophos ve azinphos-methyl takip etmektedir (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Organofosforlu pestisitler canlılarda bulunan asetilkolin esteraz (AChE) enzimini inhibe etmektedir (Khalili-Zanjani vd 2008). AChE, böceklerden sürüngenlere, kuşlara ve memelilere kadar birçok türde bulunan sinirsel fonksiyonları düzenleyici önemli bir enzimdir. Organofosforlu bileşikler bu enzimi inhibe ederek merkezi sinir sisteminin normal şekilde çalışmasını engellemekte ve konvülsiyon (ani atak), felç ve ölüme neden olmaktadır. Bu pestisitlere maruziyet sonucu kalıcı sinir sistemi bozuklukları da meydana gelebilmektedir. Kalıcı zarar en sık anne karnında ve çocukluk çağında maruziyet yaşayanlarda görülmektedir. Organofosforlu pestisitlerin toksisitesi konsantrasyona, maruz kalma süresine ve organizmanın vücut ağırlığına bağılı olarak değışiklik göstermektedir (Tahara vd 2005, Mathew vd 2007, İstanbulluoğlu vd 2009). Böcekler için son derece toksik olan bu bileşikler, memelilerde de oldukça yüksek akut zehirlenmeye neden olmaktadır (Davies vd 2004). Akut organofosforlu pestisitlerle zehirlenme belirtileri temas şekline bağılı olarak maruziyet sırasında veya sonrasında dakikalar veya saatler içinde ortaya çıkmaktadır. Toksik belirtilerin ortaya çıkması en hızlı solunum yoluyla maruziyette görülürken, bunu ağız yoluyla alınması ve son olarak deriyle temas sonucu oluşan maruziyetler takip etmektedir (Khalili-Zanjani vd 2008). Yukarıda belirtilen maruz kalma yollarına ek olarak insanlar genellikle daha çok doğrudan doğruya organofosforlu pestisitlerle işlem görmüş veya kontamine olmuş alanlarda yetiştirilmiş gıdaların ve bu alanlara yakın yerlerdeki yüzey veya yeraltı sularının tüketilmesiyle bu bileşiklere maruz kalmaktadır (Bai vd 2006, Acero vd 2008).

Pestisitler, uygulanma şekillerine, formülasyonlarına, uygulanma zamanlarına ve fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak çeşitli çevre sorunlarına neden olmaktadır. Rüzgar, yağmur gibi çeşitli etkilerle başka yerlere sürüklenen pestisitler, yüzey ve yeraltı sularına, toprağa ve hedef dışı organizmalara doğrudan ya da dolaylı yollardan bulaşarak çevre kirliliğine neden olmaktadır (Erdoğan 2010, Yıldız vd 2005).

Organofosforlu bileşikler son derece zehirli olmalarına rağmen genellikle çevrede kalıcı özellik göstermezler. Güneş ışığı, hava ve toprakla temas ettiklerinde hidrolize olmaktadır (Demirdöğen 2010).

Pestisitlerin su sistemindeki kararlılıkları, kimyasal yapılarına bağlı olarak değişmektedir. Kararlı pestisitler, kalıntı olarak yıllarca ekosistem içinde yer almaktadır. Pestisitlerin su ekosistemindeki kararlılıkları; organoklorlu, organofosforlu ve karbamatlı insektisitler sırasına göre gittikçe azalmaktadır. Organofosforlu pestisitler toprağa bulaştıklarında ise toprak mikroorganizmaları tarafından hızla metabolize edilmektedirler. Kuru toprakta bu bileşiklerin bozunmaları yavaş olurken asit karakterli toprakta hidrolizleri daha hızlı olmaktadır (Erdoğan 2010).

#### **2.4. Karbamatlı Pestisitler**

Karbamik asit esterleri olan karbamatlı pestisitler, sentetik organik pestisitlerin ana sınıfını oluşturmaktadır. Karbamatlar, insektisit, fungusit, akarasit, herbisit ve nematosit olarak tarımsal alanlarda kullanılan oldukça etkili ticari pestisitlerdir. Bununla birlikte çevredeki kalıcılıkları düşük olmasından dolayı organoklorlu ve organofosforlu pestisitlerin yerine kullanımları giderek artmaktadır. Çevredeki kalıcılıkları düşük olmasına rağmen canlılar üzerinde ciddi akut zehirlenmelere neden olmaktadır. Bu grup pestisitler de organofosforlu pestisitlerde olduğu gibi canlılarda AChE enzimini önleyici veya durdurucu etki göstermektedir. Bu nedenle karbamatlı pestisitlerin mutajenik ve kanserojenik özellik gösterdiği düşünülmektedir. Karbamatların çoğu yüksek erime noktasına ve düşük buhar basıncına sahiptir. Suda çözünürlüklerinin yüksek olmasından dolayı genellikle sulu ortamlarda bulunurlar. Bu nedenle bu grup pestisitlerin kullanımlarının artması su sistemleri için risk oluşturmaktadır. Yapılan

çalışmalarda, karbamatlar ve bozunma ürünlerinin, çevre ve gıda maddeleri için potansiyel kirletici olduğu bildirilmekte ve bu toksik maddelerin insan sağlığı için potansiyel bir tehlike haline geldiği vurgulanmaktadır (Zhang ve Lee 2006, Gou vd 2000, Jin vd 2004, Guo ve Lee 2012).

## **2.5. Ekstraksiyon Yöntemleri**

Günümüzde pestisitlerin yaygın olarak kullanılması, çevrede ve gıda maddelerinde bu bileşiklerin kalıntı bırakmalarına neden olmaktadır. Bu kalıntıların canlılar üzerinde olumsuz etkiler gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmektedir. Bu bileşiklerin sağlık üzerindeki olumsuz etkilerinin anlaşılmasıyla da özellikle gıda maddelerinde pestisit kalıntı analizlerinin yapılmasına ilişkin konu giderek önem kazanmaktadır.

Gıda güvenliği, insan ve çevre sağlığını korumak için bir öncelik haline gelmiştir. Bununla birlikte ithal edilen tarımsal ürünlerdeki kalıntıların izlenmesi sorunsuz bir uluslararası ticaretin gerçekleştirilebilmesi açısından da oldukça önemlidir. Bu amaçla gıdalarda eser miktardaki kalıntıların belirlenmesinde çeşitli kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. Teknolojinin ilerlemesine bağlı olarak daha hassas ölçüm yapabilen cihazların sayısı da gün geçtikçe artmaktadır. Ancak kullanılan enstrümental cihazlar kadar uygulanan ekstraksiyon yöntemleri de kalıntıların doğru bir şekilde tespit edilmesi ve miktarlarının belirlenebilmesi açısından üzerinde önemle durulması gereken bir konudur.

Pestisit kalıntılarını içeren gıdaların analizleri için çeşitli örnek hazırlama yöntemleri bulunmaktadır. Ancak her yöntem için belirlenen ilk hedef heterojen yapıdaki gıda örneğini parçalayıcı veya karıştırıcı aletlerle homojen hale getirmektedir. İkinci hedef de uygun bir çözücü kullanılarak pestisit kalıntılarını matriksten ayırmaktır (Ahmed 2001).

Analitik çalışmalarda, ekstraksiyon işleminin en iyi şekilde gerçekleştirilebilmesi için farklı pestisit gruplarının sudaki çözünürlükleri ve analitlerin polariteleri oldukça önemlidir. Gıda matriksinin özellikle yağ içeriğine göre örnekler ayrılmakta, temizleme

(clean-up) işlemleri ve analiz yöntemi belirlenmektedir. % 2'den fazla yağ içeriğine sahip gıdalar yağlı ürünler olarak kabul edilmektedir. Yağsız ürünlerde ise gıdanın içerdiği su miktarı önem kazanmaktadır. Su içeriğine göre gıdalar; yüksek ve orta düzeyde su içeren (%5- 30 şeker içeren ürünler) ve kuru ürünler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Ahmed 2001).

Meyve ve sebzelerde pestisit kalıntı analizleri; çözgen ekstraksiyonu, örnek temizleme basamağı ve enstrümental analiz olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Çözgen ekstraksiyonu rutin analizlerde çok faydalı olmasına rağmen çok miktarda çözgen kullanımı gibi dezavantajları bulunmaktadır. Fazla çözgen kullanımı, yüksek miktarda organik atık oluşmasına neden olmakta ve aynı zamanda analizlerin süresini de uzatmaktadır (De Pinho vd 2010).

Pestisit analizlerine olan en etkili yaklaşım, çoklu-kalıntı analiz yöntemlerini kullanmaktır. Bu amaçla farklı çözgen ve tuzların kullanıldığı çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler de çeşitli ekstraksiyon basamaklarını kapsamaktadır. Laboratuvarlar için daha kullanışlı ve daha az çözgen harcamaya yönelik; süperkritik sıvı ekstraksiyonu (SFE), matris katı faz ayrımı (MSPD), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) ve ticari olarak hızlandırılmış çözgen ekstraksiyonu (ASE) olarak da bilinen basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE) gibi ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Kullanılan bu tekniklerin avantajları olduğu gibi dezavantajlı olduğu yönler de bulunmaktadır. Örneğin bu tekniklerden hiçbiri kritik noktalarda arıza vermesi veya pratikte kullanımlarının kısıtlı olması gibi zorlukların üstesinden gelememektedir. Enstrümental temelli, ard arda ekstraksiyon yapabilen PLE ve SFE teknikleri, fazla zaman gerektiren elle yapılması gereken basamakları içermekte ve her kullanımdan sonra cihazın temizlenmesi gerekmektedir. Ayrıca cihaz ve bakım maliyetleri de yüksektir. SFE, MSPD ve SPME teknikleri, tek bir metot ile yeterince çok sayıda pestisit için araştırma yapmayı, MAE ve PLE teknikleri ise yeterli düzeyde hassasiyeti sağlayamamaktadır. Bunlarla birlikte yukarıdaki tekniklerin hepsinde çok az miktardaki örneklerle çalışmalar gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca bütün bu tekniklerin, belirli uygulamalar için

kullanışlı olmakla birlikte ideal bir çoklu-kalıntı analizi için yeterli derecede basit ve etkili olmadıkları belirtilmektedir (Anastassiades vd 2003).

Anastassiades vd (2003) tarafından, çeşitli çalışmalar sonucunda meyve ve sebzelerin çoklu-kalıntı ve çoklu-sınıf analizleri için “hızlı (quick), kolay (easy), ucuz (cheap), etkili (effective), sağlam (rugged) ve güvenli (safe)” kelimelerinin baş harflerinden oluşan QuEChERS yöntemi geliştirilmiştir. Bu teknikte, önce asetonitril ile tek fazlı bir ekstraksiyon gerçekleştirilmekte ve bunu susuz magnezyum sülfat ( $MgSO_4$ ) ve sodyum klorür ( $NaCl$ ) ilavesi ile sıvı-sıvı ayırma takip etmektedir. Bu işlemlerden sonra dispersif katı faz ekstraksiyonu (dispersive-SPE) kullanılarak örnek temizlenmektedir (Wilkowska ve Biziuk 2011, Anastassiades vd 2003). Dispersif katı faz ekstraksiyonu için susuz  $MgSO_4$  ve primer sekonder amin (PSA) toz karışımları ile karbon 18 (C18) ve aktif karbon kullanılmaktadır.  $MgSO_4$  ortamdaki fazla suyu; PSA çeşitli polar organik asitleri, polar pigmentleri, bazı şekerleri ve yağ asitlerini; C18 lipit ve sterollerini ve aktif karbon ise pigment ve sterollerin ekstrakta geçmelerini önlemek amacıyla kullanılmaktadır (Anonymous 2012a).

Gıda matriksindeki pestisitlerin belirlenmesinde çoğunlukla aseton, etil asetat ve asetonitril gibi çözücüler kullanılmaktadır. Bu kimyasalların hepsi de analitlerin geri kazanımlarında büyük bir başarı sağlamaktadır. Yapılan denemelerde meyve ve sebzelerde ekstraksiyon aşamasında asetonitril kullanmanın, aseton ve etil asetatla karşılaştırıldığında girişim sorunlarını azalttığı ve bu nedenle, QuEChERS yönteminde ekstraksiyon çözücü olarak kullanılmasının daha uygun olduğu belirlenmiştir (Wilkowska ve Biziuk 2011).

Anastassiades vd tarafından 2003 yılında ekstraksiyon verimini arttırmak için sodyum klorürün kullanıldığı çoklu-kalıntı analizleri için geliştirmiş olan QuEChERS yöntemi orijinal metot olarak adlandırılmaktadır. Ancak bazı spesifik türdeki pestisitler veya gıda maddeleri için geri kazanım çalışmalarında daha iyi sonuçlar alabilmek adına orijinal yöntemde bazı değişikliklerin yapılması gerekmiştir. Bu nedenle laboratuvarlarda sodyum klorür yerine sodyum asetatın kullanıldığı Resmi Analitik Kimyacılar Birliği (Association of Official Analytical Chemist- AOAC) 2007.01 resmi

yöntemi ve AOAC metoduna benzeyen ancak sodyum asetat yerine sodyum klorür, sodyum sitrat dehidrat ve disodyum sitrat seskuihidrat'ın kullanıldığı Avrupa Standardizasyon Komitesi (CEN) Standart Metot EN 15662 yöntemi geliştirilmiştir (Anonymous 2012a, Lehotay vd 2010).

Gaz kromatografisi- kütle spektrometresi (GC-MS) ve sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi (LC-MSMS) teknikleri kullanılarak meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntılarını belirlemeye yönelik olarak yapılan bir çalışmada orijinal QuEChERS, AOAC 2007.01 ve Avrupa Standardizasyon Komitesi (CEN) Standart Metot EN 15662 örnek hazırlama yöntemleri karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 32 pestisit kalıntısının geri kazanım çalışmalarında her iki kromatografik yöntem için de 0.05, 0.25 ve 1 µg/mL konsantrasyonları ve elma, yaban mersini sosu, bezelye ve ıhlamur örnekleri kullanılmıştır. Üç yöntem için geri kazanım çalışmalarından genel olarak çok iyi sonuçlar elde edilmekle birlikte, orijinal QuEChERS yönteminde pH'ya bağlı olarak bazı pestisitler için düşük geri kazanımlar elde edilmiştir. AOAC yöntemi diğer iki yöntemle kıyaslandığında ıhlamurda thiabendazole için ve bütün matrikslerde pymetrozine için daha yüksek ve daha tutarlı geri kazanım sonuçları sağlanmıştır. Bezelye örneğinde chlorothalonil, folpet veya tolylfluanid için üç yöntemde de tutarlı sonuçlar elde edilmemekle birlikte bu üç aktif madde için asetat tamponlu metotta daha iyi bir sonuç elde edilmiştir. Yapılan çalışmaların sonucunda, asetonitril kullanılan AOAC yönteminin diğer iki metoda göre daha avantajlı olduğu bildirilmiştir (Lehotay vd 2010).

## **2.6. Sıvı Kromatografisiyle Birleştirilmiş Tandem Kütle Spektroskopisi (LC-MSMS)**

Günümüzde gıda zincirine giren pestisit kalıntılarının kronik toksik etkiler göstermesi nedeniyle gıdalardaki, özellikle meyve ve sebzelerdeki, pestisit kalıntılarının belirlenmesi; insan sağlığı açısından olası riskleri önlemek için bir öncelik haline gelmiştir (Soler vd 2004). Pestisit analizlerinde kromatografik yöntem seçimi analiz edilecek aktif maddenin kimyasal özelliklerine (polarite, uçuculuk vb) göre farklılık göstermektedir.

Birçok pestisit termal olarak kararlı ve uçucudur. Bu nedenle bu maddelerin tespitinde en sık kullanılan yöntemler; gaz kromatografik (GC) ve kütle spektrometrik yöntemlerin birleşiminden oluşmaktadır. Bununla birlikte, uçuculukları düşük, yüksek polariteli ve termal olarak kararlı olmamalarından dolayı GC ile tespit edilemeyen bileşiklerin sayısı son birkaç yıl içerisinde önemli ölçüde artmıştır. Günümüzde kütle spektrometresiyle birleştirilmiş sıvı kromatografisi (LC-MS), meyve ve sebzelerdeki polar, iyonik veya uçuculuğu düşük pestisitlerin kalıntı analizlerinde en güçlü tekniklerden biri haline gelmiştir. Atmosferik basınç iyonizasyonu ile çalışan modern LC-MS cihazları, eser düzeydeki hedef analitlerin belirlenmesinde çok iyi hassasiyet ve seçicilik sağlamaktadır. Ayrıca sıvı kromatografisinin tandem kütle spektrometresiyle (LC-MSMS) kombinasyonu, analit ve matriks sinyallerini LC-MS'den daha güçlü bir şekilde ayırma yeteneğine sahip olduğu için analizlerin seçicilik ve hassasiyetini artırmıştır (Sannino vd 2004, Lambropoulou ve Albanis 2007).

Analitik kimyadaki “hassasiyet” teriminin yanlış anlamda kullanımı karışıklık ve tartışmaya neden olmaktadır. Hassasiyet, analit konsantrasyonundaki değişime karşılık sinyaldeki değişim veya temelde analizdeki kalibrasyon grafiğinin eğimi olarak tanımlanmaktadır. Daha iyi bir terim bulunamadığı için analitik kimyacılar, hassasiyeti “düşük tespit limitlerine (LOD) inilebilmesi” olarak çoğu kez yanlış anlamda kullanmaktadırlar. Bu deyimde, daha fazla veya daha iyi hassasiyet düşük LOD değeri ile ilişkilendirilmektedir. Ancak tandem kütle spektrometresi gibi uygulamalarda LOD değerinde bir kazanç ya da gelişme sağlanması, hassasiyeti arttırmak yerine seçiciliği artırmak suretiyle matriks etkisi ve diğer kimyasal gürültülerin azaltılması sonucunda sağlanmaktadır (Fialkov vd 2007).

Sıvı kromatografisi kütle spektrometresinde elektrosprey iyonizasyon (ESI), ısıtmalı-elektrosprey iyonizasyon (H-ESI) ve atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (APCI) olmak üzere en çok kullanılan üç iyonizasyon modülü veya arayüzü bulunmaktadır. ESI veya H-ESI, aminler, peptitler ve proteinler gibi polar bileşiklerin, APCI ise steroidler gibi polar olmayan bileşiklerin analizini yapmaya uygundur. ESI ve H-ESI modülleri genellikle analit ve çözücü yapısına bağlı olarak ayrı ayrı iyonlardan oluşan kütle spektrumları üretmektedir. ESI ve H-ESI modülleri çözeltideki iyonları gaz fazına



taşımakta ve yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler gibi daha önce kütle analizleri için uygun olmayan herhangi bir örneğin analiz edilmesini sağlamaktadır. Bunlara ek olarak, ESI ve H-ESI çözeltilerde daha önce iyon haline getirilen herhangi bir polar bileşiği analiz etmek için de kullanılmaktadır. ESI ve H-ESI özellikle biyolojik polimerleri (protein, peptit, glikoprotein ve nükleotitler vb.), ilaçlar ve metabolitleri ve endüstriyel polimerleri içeren polar bileşiklerin kütle analizleri için kullanılmaktadır (Anonymous 2009). APCI veya ESI arayüzüne sahip LC-MSMS cihazları başta pestisit analizleri olmak üzere gıda, çevre ve biyokimya alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisit analizleri için LC-MSMS’de gerçekleştirilen çok bileşenli kalıntı analiz çalışmalarında ESI arayüzü APCI’ya göre yaklaşık olarak 20 kez daha hassas sonuç verdiği ve gıdalarda bulunan çok sayıdaki pestisit için yüksek bir seçicilik ve hassasiyet sağladığı belirtilmektedir (Granby vd 2004).

Bir diğer önemli konu, kütle spektrometresi cihazı ile kullanılan sıvı kromatografisi cihazının niteliğidir. Ultra-yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (UHPLC) cihazının tandem kütle spektrometresiyle kombinasyonu, su örnekleri başta olmak üzere ilaç ve pestisitlerin çoklu kalıntı analizleri için mükemmel bir enstrümantal cihaz olarak gösterilmektedir. UHPLC, geleneksel yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kolonunda bulunan durağan faz partiküllerinden daha küçük (<2µm) partikül boyutunun kullanımına dayalı yenilikçi ve güçlü bir ayırma tekniği olarak geliştirilmiştir. Partikül boyutunun küçülmesi, analiz süresinin kısalmasına, çözünürlük ve hassasiyetin artmasına yol açmaktadır. Ancak UHPLC’nin bu avantajlarından faydalanmak için onunla kombine edilecek en uygun kütle spektrometresi cihazının üçlü kuadrupol (triple quadrupole) yapıya sahip kütle spektrometreleri olduğu da belirtilmiştir (Marin vd 2009).

Üçlü kuadrupol dizayna sahip kütle spektrometreleri seçiciliği çok yüksek cihazlardır. Bu tip kütle analizörlerinde iyon geçişleri kolayca izlenebildiği için doğruluk değeri yüksektir. İkinden fazla seçili reaksiyon izleme (SRM) geçişi hassasiyeti kaybetmeden elde edilebilmektedir. Bu nedenle UHPLC-MSMS, kolayca 3 veya 4 tanımlama veya teşhis noktasına ulaşılmasına izin vererek hem iyi bir hassasiyet hem de örneklerde

tespit edilen kalıntı bileşiklerinin doğrulanmasında yüksek bir güvenilirlik sağlamaktadır (Marin vd 2009).

Gıda örneğindeki pestisit kalıntılarının belirlenmesi için çeşitli analitik teknikler mevcuttur. Kütle spektrometresi ile yapılan pestisit analizi çalışmalarında, Avrupa Birliği Pestisit Kalıntıları Referans Laboratuvarı tarafından kalıntıların belirlenmesi için kalite kriteri olarak tanımlama veya teşhis noktaları kavramı geliştirilmiştir. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na bağlı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 22.12.2009 tarih ve 3221 sayılı tebliği ile bu çalışma grubunun *Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntı Analizine Yönelik Metot Validasyonu ve Kalite Kontrol Prosedürlerini* içeren Avrupa Birliği Sağlık ve Tüketici Genel Müdürlüğü (DC SANCO) /2007/3131 isimli belgesini el kitabı olarak yayımlanmıştır (Anonim 2011b). Bu rehber, Avrupa Birliği (AB)'nde pestisit kalıntılarının izlenmesine yöneliktir. Belgede, maksimum kalıntı limitlerine (MRL) uygunluğu kontrol etmede kullanılan verilerin geçerliliğini destekleyecek metot validasyonu ve analitik kalite kontrol şartları tanımlanmaktadır. Rehber maksimum kalıntı limitleri (MRL) oluşturulmuş bileşiklerin tanımlanmasında, kabul edilebilir bir sonuca ulaşmak için en az üç tanımlama noktasına ihtiyaç olduğunu belirtmektedir. Analitik yöntem olarak LC-MSMS cihazı kullanıldığında, bir ana iyon ve iki adet parçalanma iyonu veya ürün iyon olmak üzere üç adet tanımlama noktası elde edilerek bu kriter karşılanmaktadır (Zamora vd 2004). Bu yaklaşımların geliştirilmesinde ana amaç karmaşık yapıli matrikslerde bile hedef analitlerin seçici ve hassas bir şekilde belirlenmesidir.

Kütle spektrometresinde yenilik ve gelişme sağlamaya yönelik son eğilimler, tek bir cihaz üzerinde doğruluk ve kesinliği artırmak ve çeşitli amaçlara yönelik kullanımı sağlamak için farklı analizörlerin birleştirilmesine olanak sağlayan tasarımların gerçekleştirilmesine doğrudur. Tandem kütle spektrometresinin özelliklerini arttırmak için, iyon tuzaklayıcı kuadropol, üçlü kuadropol ve uçuş zamanlı kuadropol gibi her biri farklı özelliklere sahip kütle analizörlerinin birleştirildiği tasarımlar mevcuttur. Bu tasarımlar içinde üçlü kuadropolün başlıca avantajları; çok iyi kantitatif ölçüm yapma yeteneğinde olması, seçili reaksiyon izleme (SRM) modunda büyük bir hassasiyete sahip olması ve aynı anda birden fazla iyon geçişini seçme imkanındır (Soler vd 2007).

Oluşturduğu ilk iyonu seçici parçalanmaya uğratarak ikincil parçalanma ürünleri üzerinden belirleme yapma olanağı sağlayan LC-MSMS, seçicilik ve duyarlılığı arttırarak bu tekniği düşük kalıntı düzeyleri analizi için uygun hale getirmektedir (Zamora vd 2004). LC-MSMS’de ikincil parçalanma ürünlerinin izlenmesi, tek aşamalı MS çalışma biçimine kıyasla daha iyi bir belirleme sağlamaktadır (Frenich vd 2004). On yıl öncesine kadar pestisit analizlerinde kullanılan çoklu kalıntı analiz yöntemleri 50-70 hedef bileşik ile sınırlıyken günümüzdeki yöntemlerle tek seferde 150’nin üzerinde hedef bileşik için tanımlama ve belirleme yapılabilmektedir. Pestisitlerin tanımlanmasında biri doğrulamayı sağlamak diğeri de miktarlarını belirlemek üzere iki SRM geçişi kullanılmaktadır. İki SRM geçişi için seçilen parçalanma iyonları veya ürün iyonları öncelikle yüksek sinyal üretme özelliğine sahip olmalıdır. Ancak mümkün olan en iyi seçicilik ve tanımlamayı elde etmek için MSMS analizlerinde pestisitlerin karakteristik parçalanma davranışları hakkında daha önceden bilgi sahibi olmak gerekliliği vurgulanmaktadır (Niessen 2010). MSMS sistemlerinde hedef bileşiklere ait iyonların belirlenmesi öncesinde girişim unsurlarını ortadan kaldıran üç adet kuadrupol ünitesi bulunmaktadır. Kuadrupol kütle spektrometresinde kullanılan bir dedektör çeşitidir. İlk kuadrupol, kütle filtresi görevi yaparak sadece küçük bir kütle aralığındaki iyonları geçirmektedir. İkinci kuadrupol, seçilen iyonların ayrıldığı ve bu iyonları üçüncü kuadrupole ileten çarpışma bölümü veya odacığdır. Ayrıca ikinci kuadrupol ünitesinde birinci kuadrupol ünitesinde seçilen iyonlar parçalanarak iyon parçacıkları da oluşturulabilmektedir. Üçüncü kuadrupol ise ikinci kuadrupolde oluşan iyon parçacıklarını filtrelemekte ve böylece ürün iyon spektrumu elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu sistemlerde ilk kuadrupol ünitesi kütle filtresi olarak kullanıldığı için örnek hazırlama aşamalarında temizleme (clean-up) işlemi yapılmasına her zaman gerek yoktur. Ancak karmaşık yapıları örneklerden elde edilen ekstraktlar, örnek hazırlama aşamasında temizleme uygulanmadan MSMS’e verildiğinde iyon oluşumu sürecine olumsuz etkide bulunabilmektedir. Bu nedenle MSMS analizlerinde örnek hazırlama aşamasında uygun bir örnek temizleme yönteminin kullanılması örnek ekstraktından gelen ve sonuçları olumsuz etkileyen unsurların ortadan kaldırılmasında gerekli olmaktadır (Goto vd 2006).

Karmaşık yapılı örneklerin analizinde en önemli sorun, analit ya da analitlerin iyonizasyonunu önleyerek ya da engelleyerek kesin ve doğru belirleme yapmayı güçleştiren girişim unsurlarının varlığıdır. Matriks etkisi adı verilen bu olay analit-örnek kombinasyonuna bağlıdır. Matriks etkisini en aza indirmede; daha etkili ekstraksiyon ve temizleme basamakları içerecek şekilde örnek hazırlama aşamalarını gözden geçirmek, değiştirmek veya düzeltmek ve matriks uyumlu kalibrasyon yapmak gibi farklı yaklaşımlar mevcuttur (Zamora vd 2004). Ancak bu ilave tekniklerin kullanılması ile analiz zamanının uzayacağı ve maliyetlerin artacağı da açıktır.

## **2.7. Yüksek Alan Asimetrik Dalga İyon Hareketliliği Spektrometresi (FAIMS)**

Günümüzde laboratuvarlarda kütle spektrometresi ile birleştirilebilen iyon hareketliliği spektrometresi (IMS) denilen yeni bir teknoloji kullanılmaktadır. İyon hareketliliği spektrometresi, iyonları kütle, büyüklük, şekil ve yüklerine göre eşsiz bir şekilde ayırma yeteneğine sahiptir (Jafari vd 2011, Armenta vd 2011). IMS, sıvı kromatografisi kütle spektrometresi çalışmalarında analizlerin süresini kısaltmakta, kesinlik ve doğruluk açısından önemli avantajlar sağlamaktadır (Debono 2002). LC-MSMS ile birleştirilmiş İyon Hareketliliği Spektrometresi, gürültüyü azaltmak, analitlere ait sinyali arttırmak, metabolit ve matriks bileşenlerinin oluşturduğu girişimleri gidermek ve izomerik analitleri ayırmak için avantajlar sağlamaktadır (Xia vd 2008).

IMS, milisaniyeler içerisinde kütle/yük oranı yerine boyut/yük oranı aracılığıyla gaz fazındaki iyonların hızlı bir şekilde ayrılmasını sağlayan bir gaz-faz elektroforetik tekniktir. Azot veya helyum gibi bir gaz veya bu gazların bir karışımı vasıtasıyla taşınan gaz fazındaki iyonlar, IMS cihazı içinde hızlandırılmakta ve hareket hızlarında meydana gelen farklılığa dayanarak da iyonların ayrılması gerçekleştirilmektedir (Howdle vd 2009, Miller vd 2000, Ewing vd 2001). İyon kaynağı ve kütle spektrometresi arasına yerleştirilen FAIMS ile analizde istenmeyen veya analiz sonuçları üzerinde olumsuz etkisi olan çeşitli unsurların seçici ve ayırdedici bir şekilde kütle dedektörüne girmeleri engellenerek ortamdaki uzaklaştırılmaları sağlanmaktadır (Xia vd 2008). IMS prensip olarak uçuş zamanlı kütle spektrometresine (TOF-MS) benzemektedir; ancak iki cihaz

arasındaki temel farklılık IMS'in bulunulan ortam basıncında (oda koşullarında) çalışmasından kaynaklanmaktadır (Jafari vd 2011).

Güvenlik, askeri, gıda ve yem, petrokimya, çevre analizleri, teşhis, proses kontrol ve hava kirliliği kontrolü dahil olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılan IMS tekniği, uçucu ve yarı uçucu organik bileşiklerin basit ve hızlı bir şekilde belirlenmesine olanak sağlamaktadır. IMS'in düşük tespit limitlerine inmeyi sağlaması ve atmosferik basınçta iyonizasyonu gerçekleştirme yeteneğine sahip olması gibi en önemli iki avantajı bulunmaktadır. Yüksek hassasiyet ve eser düzeydeki konsantrasyonları ölçmesinden dolayı IMS tekniği minör ve majör bileşenlerin kalite kontrolleri için de kullanılmaktadır (Borsdorf vd 2009, Armenta vd 2011). IMS, tek bir ünite olarak kullanılabilmesi gibi kompleks karışımların analizi için GC veya HPLC gibi ayırma teknikleriyle birleştirilerek veya kütle spektrometresi için ayırma tekniği olarak da kullanılabilir (Borsdorf vd 2009).

Standart bir IMS cihazı, iyon kaynağı, iyonların giriş yeri, sürüklenme bölgesi ve dedektör olmak üzere dört bölümden oluşmaktadır. İyon giriş yerinin amacı, iyon kaynağında oluşturulan iyonların sürüklenme bölgesine geçişlerini sağlamaktır. Sürüklenme bölgesinde, iyon giriş yeri ve dedektör arasında toplanmış bir dizi iletken halka ve gerilim bölücünün kullanılmasıyla bir elektriksel alan oluşturulmuştur. İyonlar bu elektrik alanı etkisi altında detektöre doğru hareket etmektedir (Ewing vd 2001). Bu tekniğin kullanılmasında kritik ve birinci adım nötral örnek molekülünden iyonların oluşturulmasıdır. Bu amaçla <sup>63</sup>Ni kaynaklı radyoaktif kimyasal iyonizasyon, elektrosprey iyonizasyonu, lazer iyonizasyonu vb. iyonizasyon teknikleri kullanılmaktadır (Borsdorf ve Eiceman 2006). IMS'de en yaygın olarak <sup>63</sup>Ni kaynaklı radyoaktif iyonizasyon tekniği kullanılmaktadır. Bu iyonizasyon tekniğinin ekstra güç kaynağına ihtiyaç duymaması, basitlik ve kararlılık gibi avantajları bulunmaktadır. Bununla birlikte radyoaktif <sup>63</sup>Ni kullanıldığında düzenli kaçak testinin ve özel güvenlik düzenlemelerinin yapılması gibi sakıncalar da bulunmaktadır. Bunlara ek olarak <sup>63</sup>Ni kullanımının, iyon oluşturma oranının yeteri kadar yüksek olmaması, sinyallerin zayıf ve dinamik aralığın düşük olması gibi olumsuzluklara neden olduğu da bildirilmektedir (Tabrizchi ve Abedi 2002).

Son yıllarda kullanımı artan iyon hareketliliği spektrometrelerinden biri radyo-frekans iyon hareketliliği spektrometresi veya daha genel anlamda diferansiyel iyon hareketliliği spektrometresi olarak da bilinen yüksek alan asimetrik dalga iyon hareketliliği spektrometresi (FAIMS)'dir (Miller vd 2001, Canterburg vd 2010). Genel olarak IMS'de düşük elektrik alanları kullanılmaktadır. Bu teknikte iyonlar, doğrusal olarak azalan elektrik alanı vasıtasıyla sabit bir hızda hareket etmektedirler. FAIMS'de ise kullanılan yüksek alan doğrusal olmayan hızlarda iyonların hareketini sağlamaktadır (O'Donnel vd 2008). FAIMS cihazındaki elektrotlardan birine yüksek alan diğerine düşük elektrik alanının uygulanmasıyla iyonların hareketlilikleri alana bağlı hale gelmektedir (Miller vd 2000). Böyle bir asimetrik uygulama sonucu iyonlar elektrotlar arasında merkezden çevreye doğru hareket etmektedirler. Bir başka deyişle yüksek elektrik alanındaki iyon hareketliliği düşük alandan farklılık gösterdiği için iyonlar iki elektrottan birine doğru sürüklenmektedir. İyonların elektrotlardan birine çarpıp nötrlenmesini önlemek için bir dengeleyici voltajın (compensation voltage- CV) uygulanması gerekmektedir. CV değeri her iyon türü için spesifiklik göstermektedir (Anonymous 2007a). Böylece istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması veya istenen analitlerin seçilmesi mümkün hale gelmektedir.

Örneğin, o-Toluidin, pestisit ve boya sanayinde yaygın olarak kullanılan bir kimyasaldır. Toluidin'nin, o-Toluidin, m-Toluidin ve p-Toluidin olmak üzere üç adet izomeri vardır ve bu izomerler birbirine yakın fizikokimyasal özellikler gösterdiği için o-Toluidin'in belirlenmesinde zorluklar yaratmaktadır. o-Toluidin'in iyon hareketliliği spektrometresi kullanılarak tespit edilmesine yönelik yapılan bir çalışmada üç Toluidin izomeri için farklı farklı dengeleyici voltajlar tespit edilmiş ve böylece bu üç Toluidin izomerinin iyi bir şekilde ayrıldığı ve tespit edildiği ortaya konulmuştur (Chilai vd 2011).

FAIMS diğer IMS teknikleri ile benzer özellikler göstermesine rağmen aralarında bazı açılardan farklılıklar da bulunmaktadır. İki teknik arasındaki ana farklılık uygulanan elektrik alanın yöntemi ve büyüklüğünden kaynaklanmaktadır. Yaygın olarak kullanılan IMS'lerde, genellikle 200 V/cm'den düşük sabit bir elektrik alanı, ayırma yönüne paralel olarak uygulanmakta ve spektrometre içine sürüklenme gazı

vasıtasıyla iyonlar taşınmaktadır. FAIMS'de ise genellikle 10,000 V/cm'den büyük sabit olmayan ya da değişken bir elektrik alanı, ayırma yönüne dik olarak uygulanmakta ve sürüklenme gazı da iyonların ayırma yönüne dik olarak hareket etmelerini sağlamak için kullanılmaktadır (Rorrer III ve Yost 2011, Purves vd 2000). Diğer bir farklılık ise, ESI ile birlikte kullanılan FAIMS cihazının oda sıcaklığında çalışmasıdır. Yaygın olarak kullanılan diğer IMS cihazlarında ise analitleri desolve etmek için karmaşık bir ısıtılmalı giriş sisteminin olması gerekmektedir. Bu tip IMS cihazlarının uçuş tüpü, iyonların tamamen desolve olmasını sağlamak için çoğunlukla 150°C veya daha yüksek bir sıcaklıkta tutulmaktadır. FAIMS'te iyon kaynağı veya analizör bölgesinde yüksek sıcaklığa gerek duymadan desolvasyon sağlanmaktadır. Son olarak, FAIMS'in silindirik şeklindeki geometrisi iyonları odaklayarak iletmektedir. IMS cihazında ise sürüklenme tüpündeki iyon dağılımı, iyon bulutunun genişlemesine neden olmakta ve sonuçta iyonların kütle spektrometresine geçişleri olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu özelliğinden dolayı FAIMS, IMS'e kıyasla daha yüksek bir hassasiyete sahiptir (Purves vd 2000). Kütle spektrometresi baz alınarak bir benzerlik yapmak gerekirse FAIMS, kuadrupol yapılu kütle analizörüne benzerken IMS, uçuş zamanlı kütle analizörüne benzemektedir (Guevroment 2004).

Gıda kalitesi üzerinde olumsuz etkisi bulunabilen bulaşan maddeler, gıda üretimlerinin çeşitli aşamalarında, ambalajlamada, taşımada, bekletmede ve/veya çevresel kirliliğin bir sonucu olarak meydana gelebilmektedir. Bu bulaşanlar veya gıdada aranan analit dışında bulunan diğer maddeler, kromatografik analizler esnasında girişim göstererek elde edilen verinin kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Hajslova ve Zrostlikova 2003). Bu maddelerin giderilmesi için, örnek hazırlama sırasında çeşitli kimyasal ve sarf maddeleri kullanılarak örnek temizleme (clean-up) işleminin uygulanması gerekmektedir. Ancak bazı durumlarda, IMS-MS ve özellikle FAIMS gibi zemin gürültüsünü azaltan ve girişim unsurlarının giderilmesini sağlayan cihazların kullanılmasıyla bu pahalı ve analiz süresinin uzamasına sebep olan temizleme basamağının uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Böylece hassasiyet gelişmekte ve analitik yöntemin sinyal/gürültü oranı da artış göstermektedir. McCooeye vd (2008), çeşitli mantar türleri tarafından üretilen ve mısırdaki bulunan zealenone (ZON) ve metabolitleri zearolenol ( $\alpha$ -ZOL),  $\beta$ -zearolonol ( $\beta$ -ZOL) ve  $\beta$ -zearalanol ( $\beta$ -ZAL)

analitleri için yüksek alan asimetrik dalga iyon hareketliliği spektrometresinde yaptıkları bir çalışmada, FAIMS iyon filtresi olarak kullanıldığında sinyal/gürültü oranının yaklaşık 5 kat arttığını tespit etmişlerdir.

Kafein ve ana metaboliti olan teofilin; kahve, çay ve çikolata gibi gıda ürünlerinde bulunan doğal alkaloidlerdir. Bu iki bileşik benzer kimyasal özelliklere sahip olduğundan eş zamanlı analizlerinin gerçekleştirilebilmesi için HPLC, GC ve kapiler elektroforez gibi güçlü ayırma teknikleri geliştirilmiştir. İnsan plazmasına yeşil çaydan elde edilen kafein ve teofilin eklenerek bu iki maddenin eş zamanlı analizini sağlamak amacıyla yapılan bir çalışmada HPLC kullanılmaksızın örnek enjeksiyonu direkt ESI-IMS'e yapılmış ve ESI-IMS'in çeşitli matrislerde bu maddelerin analizi için çok hızlı, hassas ve kolay bir analitik yöntem olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin analizi HPLC'de 15-30 dakika sürerken ESI-IMS'de 1 dakikadan daha az bir sürede yapıldığı da bir üstünlük olarak bildirilmiştir (Jafari vd 2011).

## **2.8. Kütle Spektrometresi Cihazı Kullanılarak Yapılan Pestisit Analiz Çalışmaları**

Lacina vd (2010), elma, çilek, ıspanak ve domates matrislerinde QuEChERS ekstraksiyon yöntemi ve UHPLC-TOF-MS kullanarak 212 pestisit belirlenmesi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Bu amaçla öncelikle aktif maddelerin moleküler iyonları ve parçalanma iyonlarını araştırmışlar ve üç tanımlama noktası üzerinden analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar ekstraktaki analitlerin varlığını daha iyi tespit edebilmek için pozitif ve negatif iyonizasyon olmak üzere iki enjeksiyon yapmışlardır. Her iki iyonizasyon modu için UHPLC'de analiz süresini 24 dakika olarak belirlemişlerdir. 212 aktif maddenin %96'dan fazlasında LOQ değerinin 10 µg/L'nin altında olduğunu tespit etmişlerdir. LOQ<10 µg/L olanlar için 0.01 µg/mL konsantrasyonunda, LOQ>10 µg/L olan aktif maddeler içinde 0.1 µg/mL konsantrasyonda zenginleştirme yapmışlardır. Bütün matrislerde tüm pestisitler için bağıl standart sapma %20'den küçük bulunmuştur.

Garrido Frenich vd (2004), domates, biber, hıyar, patlıcan vb.'den oluşan 50 tane taze meyve ve sebze örneğinde LC-MSMS yöntemini kullanarak 31 çoklu-sınıf pestisit



kalıntısının belirlenmesi üzerine bir metot geliştirme çalışması yapmışlardır. Çalışmalarında ekstraksiyon çözgeni olarak etil asetat kullanmışlardır. Geliştirilen metot öncelikle hıyar matriksinde valide edilmiş ve daha sonra diğer matrikslere uygulanmıştır. Metodun validasyonu kapsamında her bir aktif madde için gerikazanım, kesinlik, doğrusalılık, LOD ve LOQ parametreleri çalışılmış ve sonuçlar ölçüm belirsizlikleri ile birlikte verilmiştir. Geri kazanım çalışmalarında kalibrasyon eğrisi için belirlenen ilk ve ikinci noktaların %30'u olan konsantrasyonları kullanmışlardır. Her iki konsantrasyonda tüm pestisitlerde elde edilen geri kazanım değerleri %74-105'dir. Çalışma sonucunda tüm pestisitler için LOD ve LOQ değerleri methomyl dışında genel olarak 1 µg/L'nin altında bulunmuştur.

Hernandez vd (2006), meyve ve sebzelerde 52 pestisit analizi, miktarlarının belirlenmesi ve doğrulanması amacıyla bir çoklu-kalıntı yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada analizler LC-MSMS kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Pestisitlerin örnekten ekstraksiyonu için MeOH:H<sub>2</sub>O (80:20, v/v) %0.1 HCOOH kullanmışlar ve daha sonra bir katı faz ekstraksiyon kartuşu ile örnek temizleme işlemi uygulamışlardır. Araştırmacılar analizlerde matriks olarak yüksek su içeriğinden dolayı domates, yüksek asit içeriğinden dolayı limon, yüksek şeker içeriğinden dolayı kuru üzüm ve yüksek yağ içeriğinden dolayı da avokado kullanmışlardır. Geliştirdikleri metodu bahsi geçen dört örnek matriksi için SANCO Avrupa Yönergesi'ni temel alarak valide etmişlerdir. Geri kazanım çalışmaları 0.01 ve 0.1 mg/mL konsantrasyonlarında gerçekleştirilmiş ve bazı pestisitler dışında gerikazanımlar %70-110 arasında bulunmuştur.

Ferrer vd (2005a), LC-TOF-MS kullanarak 15 pestisit tespiti için çoklu-kalıntı yöntemi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Biber, brokoli, domates, portakal, limon, elma ve karpuz gibi çeşitli örneklerde geliştirdikleri metodun performansını değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar örnek hazırlamada çözücü olarak etil asetat kullanmışlardır. LOD çalışmalarını portakal, biber ve brokoli olmak üzere üç örnekte gerçekleştirmişlerdir. Biber matriksinde LOD değerleri 0.3-30 µg/L aralığında bulunmuştur.

Bir başka çalışmada 160 çoklu-sınıf pestisit kalıntısının belirlenmesine yönelik LC-ESI-MS/MS'de hızlı ve hassas analiz metodu geliştirilmiştir. Analizler pozitif iyonizasyon modunda ve 33 dakikalık analiz süresinde gerçekleştirilmiştir. Örnek hazırlanmasında asetonitril temelli QuEChERS yöntemi kullanılmıştır. Metot validasyon çalışmaları, yüksek su içeriğinden dolayı domates, yüksek şeker içeriğinden dolayı armut ve yüksek asit içeriğinden dolayı portakal matrislerinde DG SANCO/2007/3131 talimatı takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu üç örnekte matris etkisinin geri kazanım ve iyonizasyon üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Doğrusallık çalışması matris- uyumlu olacak şekilde 5-500 µg/L konsantrasyon aralığında yedi noktalı ve geri kazanımlar da kör matris içine 0.01 ve 0.1 µg/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde pestisit karışımının eklenmesi yöntemiyle çalışılmıştır. Çalışılan matrislere göre değişimle birlikte geri kazanımlar genel olarak %70-120 aralığında bulunmuştur. Pestisitlerin %90'ından fazlası için LOD değerleri 5µg/L veya daha az olarak tespit edilmiştir. Geliştirilen metot daha sonra 14 farklı meyve ve sebze olmak üzere 59 gerçek örneğe uygulanmıştır. Uygulama sonucu 50 örnek üzerinde 33 bileşik tespit edilmiştir (Kmellar vd 2008).

Japonya'daki meyve ve sebzelerde 27 pestisit belirlenmesi için geliştirilen metotta, süper kritik sıvı ekstraksiyonu (SFE) kullanılarak HPLC'de çoklu kalıntı analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizlerde hıyar, elma, turp, patates ve muz örnekleri kullanılmıştır. Örneklere 0.5 µg/mL konsantrasyonda zenginleştirme işlemi yapılmış ve uygulanan matrislere göre değişimle birlikte genel olarak thiabendazole, imazalil ve clofentezine dışındaki pestisitler için %61.3-103.6 arasında geri kazanımlar elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan 27 pestisit için LOD değerleri 0.005- 0.01 µg/mL aralığında bulunmuştur (Kaihara vd 2000).

Yapılan başka bir çalışmada HPLC-MS kullanılarak meyve ve sebzelerdeki 19 tane ısı ile bozulan ve uçucu olmayan pestisit kalıntısının tespiti için çoklu-kalıntı yöntemi geliştirilmiştir. Analizlerde seçili iyon izleme (SIM) modu kullanılmıştır. Pestisitler; elma, fasulye, marul, biber, patates ve domates örneklerinden Luke çoklu kalıntı ekstraksiyon yöntemi modifiye edilerek ekstrakte edilmiştir. Çalışma kapsamındaki pestisitler için LOD değeri 0.025- 1 µg/mL arasında bulunmuştur. Tüm matrislerde 0.5

$\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonunda geri kazanım çalışması yapılmış ve carboxin hariç diğer pestisitler için %69-110 geri kazanım elde edilmiştir. Çalışma sonucu %RSD değeri 1.4- 23.6 arasında bulunmuştur (Liu vd 1991).

Fenoll vd (2007), biber ve domateste çeşitli pestisit sınıflarına ait 39 pestisit eş zamanlı belirlenmesine yönelik yaptıkları çalışmada azot-fosfor dedektörlü (NPD) gaz kromatografi- kütle spektrometri sistemini kullanmışlardır. Örnek ekstraksiyonu aseton kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doğrusallık için 0.05-2  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyon aralığında çalışılmış ve bütün aktif maddeler için korelasyon katsayısı  $>0.999$  olarak bulunmuştur. Geri kazanım çalışmaları için yeşil biber, kırmızı biber ve domates örneklerine 0.05, 0.1 ve 0.2  $\mu\text{g/mL}$  olmak üzere üç konsantrasyonda zenginleştirme işlemi uygulanmıştır. Tüm pestisitler için geri kazanımlar %70.1- 128.5 aralığında elde edilirken, %RSD değerinin de 7'nin altında olduğu bulunmuştur.

Martinez Vidal vd (2002) GC-MSMS'de 31 çoklu-sınıf pestisit kalıntısının belirlenmesi üzerine metod geliştirilmesine yönelik bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada taze fasulye, hıyar, biber, domates, patlıcan, karpuz, kavun ve kabak olmak üzere 8000 adet taze meyve ve sebze matrisleri kullanılmıştır. Pestisitlerin ekstraksiyonu diklormetan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Geri kazanım çalışmaları hıyar matrisinde aktif maddelere göre değişmekle birlikte 0.007-0.3  $\mu\text{g/L}$  konsantrasyon aralığında 10 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve her bir pestisit için %71-119 aralığında bulunmuştur. Her bir bileşik için bağıl standart sapma %19'un altında tespit edilmiştir. LOD ve LOQ değerleri de  $<0.001$   $\mu\text{g/L}$  olarak hesaplanmıştır.

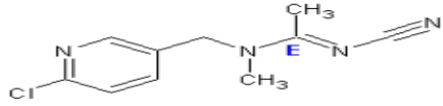
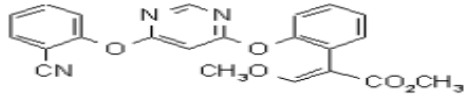
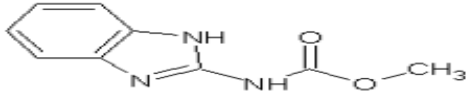
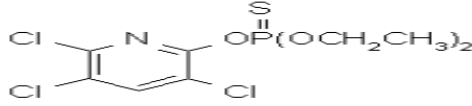
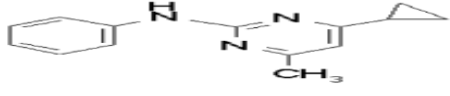
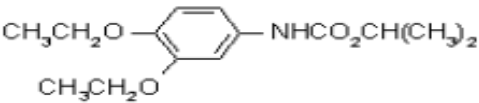
Bir başka çalışmada GC-MSMS kullanılarak meyve ve sebzelerde yaygın olarak kullanılan 121 pestisit için hızlı, hassas, doğru ve güvenilir bir çoklu-kalıntı metodu geliştirilmiştir. Geliştirilen metod İspanya'nın Almeria şehrindeki seralardan toplanan 1463 meyve ve sebze örneğine uygulanmıştır. Örnek ekstraksiyonu QuEChERS yöntemine göre sadece kullanılan asetonitril oranı değiştirilerek yapılmıştır. Geri kazanım ve kesinlik çalışmaları domates, biber, marul, hıyar, patlıcan, kabak, kavun, karpuz ve elma olmak üzere 9 matrisde gerçekleştirilmiştir. Ortalama geri kazanımlar

%80-116 arasında ve her bir bileşik için RSD değeri <%20 olarak elde edilmiştir (Camino-Sanchez vd 2011).

Kruve vd (2011), domates matriksinde karbamat grubu 7 pestisitini tespiti için, kapiler sıvı kromatografisi (capLC)- atmosferik basınç fotoiyonizasyon (mikrofabrika ısıtmalı nebulizer çip kullanılan)- tandem kütle spektrometresi (MSMS) tekniğini ve QuEChERS ekstraksiyon yöntemini kullanarak analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Oxamyl, methomyl, aldicarb, carbofuran, pirimicarb, thiocarb ve ditalimfos aktif maddeleri için cihaz performansını belirlemişlerdir. Kullanılan yöntemle aktif maddeler için 0.005- 0.025 µg/mL LOD değerleri tespit edilmiştir. 0.05 ve 0.5 µg/mL olmak üzere iki konsantrasyonda zenginleştirme işlemi yapılmış ve %RSD değerleri %2.5-13.9 aralığında bulunmuştur. 0.005-5 µg/mL arasındaki konsantrasyonlarda tüm pestisitlerin kalibrasyon grafikleri çizilmiş ve korelasyon katsayıları 0.984- 0.999 aralığında elde edilmiştir.

Bu tez çalışması, ilimizde en fazla üretimi yapılan domates ve hıyar ürünlerinde sıklıkla kullanılan pestisitler baz alınarak planlanmıştır. Çalışmada, acetamiprid, azoxystrobin, carbendazim, chlorpyrifos, cyprodinil, diethofencarb, dimethomorph, famoxadone, imazalil, imidacloprid, metalaxyl, methomyl, oxamyl, pirimicarb, pyrimethanil, tebuconazole, tolylfluanid, triadimenol olmak üzere 18 pestisit aktif maddesi seçilmiştir. Çizelge 2.2'de çalışma konusu pestisit aktif maddeleri ve özellikleri verilmektedir.

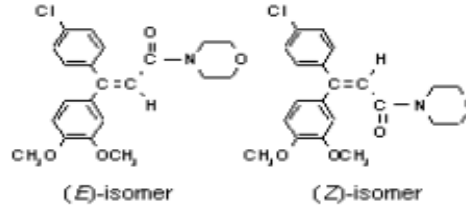
Çizelge 2.2. Pestisit aktif maddeleri ve özellikleri (Anonymous 2012b)

Pestisit Adı	Molekül Formülü/ Molekül Ağırlığı (g/mol)	Molekül Yapısı	Kimyasal grubu	Kullanım amacı
Acetamiprid	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub> (222.7)		Neonicotinoid	İnsektisit
Azoxystrobin	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> (403.4)		Strobilurin	Fungusit
Carbendazim	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (191.2)		Benzimidazole	Fungusit
Chlorpyrifos	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS (350.6)		Organophosphorous	İnsektisit
Cyprodinil	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> (225.3)		Anilinopyrimidine	Fungusit
Diethofencarb	C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub> (267.3)		Carbamate	Fungusit

(Devamı arkada)

Dimethomorph

$C_{21}H_{22}ClNO_4$   
(387.9)

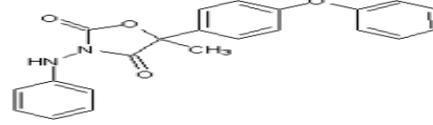


Cinnamic acid

Fungusit

Famoxadone

$C_{22}H_{18}N_2O_4$   
(374.4)

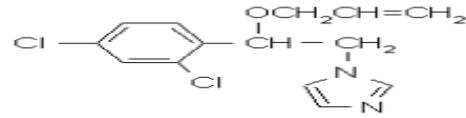


Strobilurin

Fungusit

Imazalil

$C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$   
(297.2)

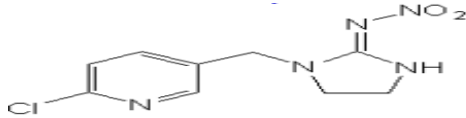


Imidazole

Fungusit

Imidacloprid

$C_9H_{10}ClN_5O_2$   
(255.7)

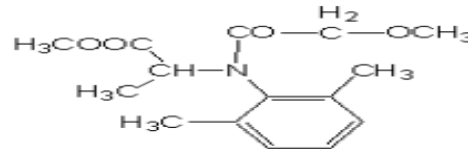


Neonicotinoid

İnsektisit

Metalaxyl

$C_{15}H_{21}NO_4$   
(279.3)

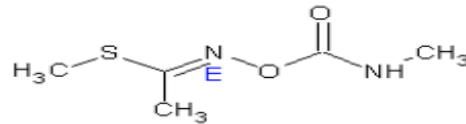


Acylalanine

Fungusit

Methomyl

$C_5H_{10}N_2O_2S$   
(162.2)



Oxime carbamate

Akarisit  
İnsektisit

(Devamı arkada)

Oxamyl	$C_7H_{13}N_3O_3S$ (219.3)		Oxime carbamate	Akarisit İsektisit Nematosit
Pirimicarb	$C_{11}H_{18}N_4O_2$ (238.3)		Carbamate	İsektisit
Pyrimethanil	$C_{12}H_{13}N_3$ (199.3)		Anilinopyrimidine	Fungusit
Tebuconazole	$C_{16}H_{22}ClN_3O$ (307.8)		Triazole	Fungusit
Tolyfluanid	$C_{10}H_{13}ClF_2N_2O_2S_2$ (347.3)		Sulphamide	Fungusit
Triadimenol	$C_{14}H_{18}ClN_3O_2$ (295.8)		Triazole	Fungusit

Literatürde farklı kütle dedektörü içeren sistemler kullanılarak yapılmış pek çok çalışma olduğu bilinmektedir. Yapılan literatür incelemelerinde ise FAIMS cihazı ile LC-MSMS cihazı birlikte kullanılarak yapılan bir pestisit analizi çalışmasına rastlanmamıştır. Daha önce de belirttiğimiz gibi FAIMS cihazı kullanılarak yapılmış çeşitli çalışmalar vardır. Ancak bu çalışmalarda araştırılan analit sayısı bir veya birkaç taneyi geçmemektedir. Pestisit analizlerinde ise aynı anda birden çok sayıda pestisit varlığı araştırılmaktadır. Bazen bu sayı birkaç yüz pestisiti bulabilmektedir. Sağladığı avantajlara rağmen böyle bir durum için FAIMS kullanılmasının mümkün olup olmadığı hakkında bir veri yoktur. Pestisit analizlerinde FAIMS cihazını kullanmanın sınırlarını, olası sorunlarını ve yeterliliğini ortaya koyacak bir çalışmanın bu konudaki araştırmalara ve literatüre bir katkı sağlayacağı düşünülerek bu çalışmanın yapılması amaçlanmıştır.



### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

Araştırmada kullanılacak olan domates ve hıyar örnekleri Antalya ve çevresinden temin edilmiştir. Bu iki ürün Antalya’da en fazla ihraç edilen tarım ürünleri arasında yer aldığı için seçilmiştir. Bu ürünlerde, yetiştirme sürecinde en fazla kullanılan pestisitlerden 18 tanesi seçilmiş ve bu pestisitler üzerinden analizler yapılmıştır. Bütün örnekler analiz edilinceye kadar buzdolabında 5°C’de saklanmıştır. Analiz sonucunda, içerisinde pestisit bulunmayan örnekler homojenize edilmiş ve 100 gramlık partilere ayrılmıştır. Partiler -18 °C’de saklanmıştır.

Çalışma kapsamında kullanılacak olan pestisit standartları Dr. Ehrenstorfer firmasından temin edilmiştir. Çizelge 3.1’de kullanılacak pestisit standartlarının saflık değerleri ve saklama koşulları verilmiştir. Denemelerde HPLC saflığında kimyasallar kullanılmıştır.

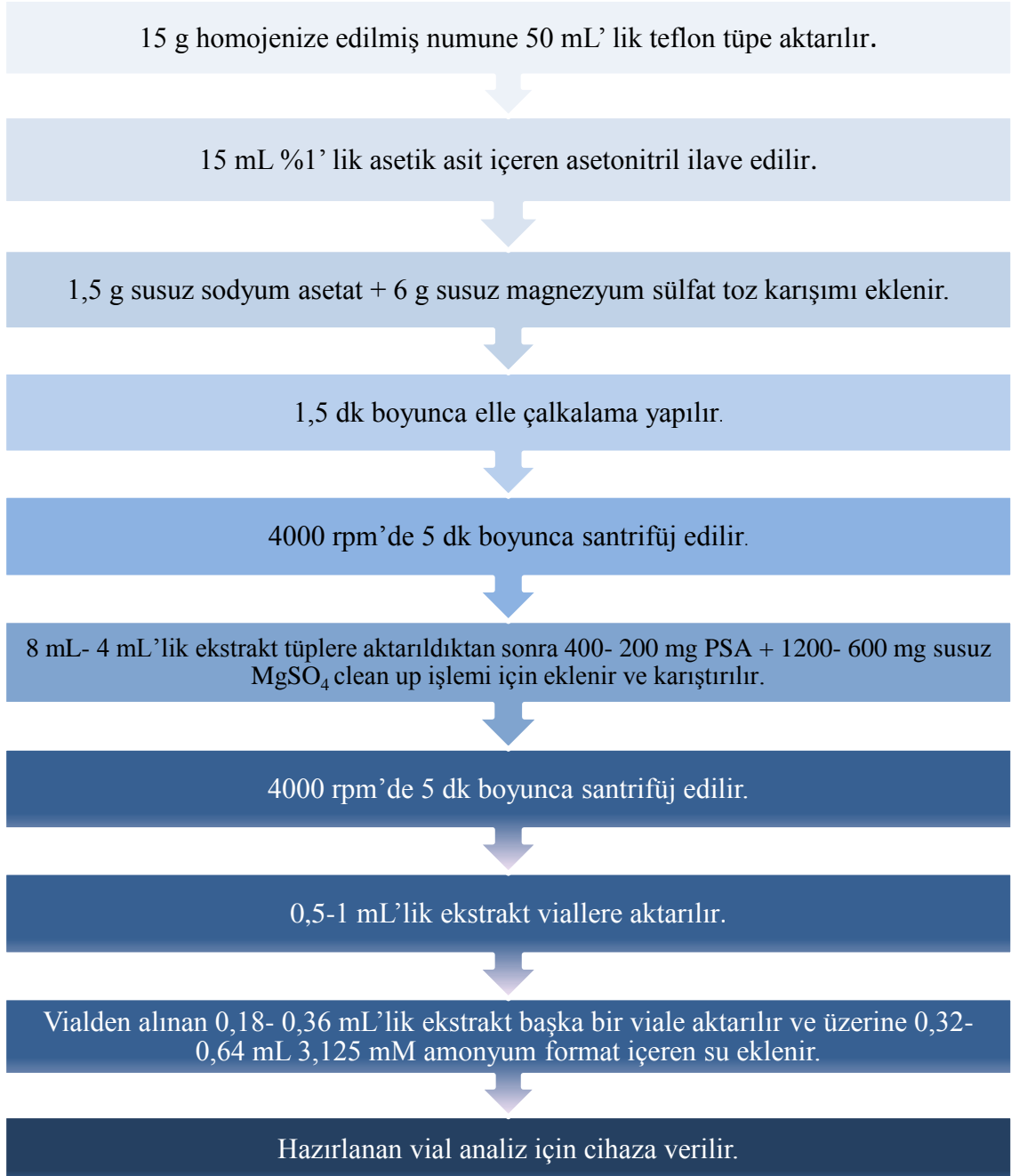
Çizelge 3.1. Pestisit standartlarının saflıkları ve saklama koşulları

<b>Pestisitler</b>	<b>Saflık(%)</b>	<b>Depolama (°C)</b>
Cyprodinil	99,5	(+) 20
Diethofencarb	97,5	(+) 4
Carbendazim	99,5	(+) 20
Imazalil	97	(+) 20
Pyrimethanil	98,3	(+) 20
Tolyfluanid	98	(-) 18
Famoxadone	99	(+) 20
Dimethomorph	99	(+) 20
Oxamyl	97,5	(+) 20
Tebuconazole	98,8	(+) 20
Azoxystrobin	99,5	(+) 20
Pirimicarb	99,3	(+) 20
Imidacloprid	99	(+) 20
Methomyl	99,5	(+) 20
Acetamiprid	99	(+) 20
Metalaxyl	98,7	(+) 20
Triadimenol	98	(+) 20
Chlorpyrifos	98,5	(-) 18

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Sebze örneklerinin analize hazırlanması

Sebze örnekleri QuEChERS yöntemiyle hazırlanmıştır (Anastassiades vd 2003). Şekil 3.1’de QuEChERS yöntemine göre örnek hazırlama basamakları görülmektedir.



Şekil 3.1. QuEChERS yöntemi ile örnek hazırlama basamakları

### **3.2.2. Standartların hazırlanması**

Standartlar 0,00001 g hassasiyetle tartılmıştır. Tartımlar oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Her bir pestisit standardı 1000 ppm olacak şekilde 10 mL'lik balon joje içerisine hazırlanmıştır. Çözgen olarak pestisitlerin polarlıkları göz önüne alınarak metanol veya aseton kullanılmıştır. Çalışma konusu pestisitlerin tamamını içeren 5 µg/mL'lik bir karışım hazırlanmıştır. Hazırlanan ana stoklar amber renkli Pyrex tüplere aktarılıp ağzuları sıkıca kapatıldıktan sonra -18 °C'de saklanmıştır. Analizler karışım üzerinden gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.3. Hareketli fazların hazırlanması**

Hareketli faz A: 4 mmol amonyum formatın sudaki çözeltisi hazırlanmış ve 1 mL formik asit ilave edilmiştir.

Hareketli faz B: 4 mmol amonyum format içeren metanol çözeltisi hazırlanmıştır ve 1 mL formik asit ilave edilmiştir.

### **3.2.4. LC- FAIMS- MSMS analizleri**

Thermo Scientific Accela UHPLC, Thermo Scientific- FAIMS, Thermo Scientific-TSQ Quantum Access Max (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, USA) sisteminde analizler gerçekleştirilmiştir. Kromatografik değerlendirmeler Xcalibur yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Kromatografik ayırım için RP C18 (1.9µm), 50x2.1 mm, (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, USA) kolon kullanılmıştır.

İki ayrı mobil faz çözeltisi hazırlanarak gradyen programda analizler gerçekleştirilmiştir. Gerekli kromatografik ayırımın sağlanabilmesi için mobil faz çözelti oranları ve akış gradyen programı analiz esnasında denemeler ile belirlenmiştir.

Çalışma konusu pestisitlerin kütle spektrometresi cihazındaki teşhis noktalarının belirlenmesi için, kütle dedektörüne her bir maddenin ayrı ayrı infüzyonları

gerçekleştirilmiş ve ürün iyonlarının en iyi gözlemlendiği çarpışma enerjileri (CE) belirlenmiştir. Hazırlanan 500 µg/L pestisit karışımı sıvı kromatografisi cihazına verilerek her bir pestisidin alıkonma zamanları (RT) tespit edilmiştir. Analizler FAIMS cihazı ile birlikte ve FAIMS cihazı olmaksızın gerçekleştirilerek elde edilen sonuçlar metot validasyon parametreleri kriter alınarak birbiri ile kıyaslanmıştır. Böylece FAIMS cihazı kullanarak analiz yapmanın tespit ve ölçüm limiti, doğruluk ve kesinlik ve doğrusallık gibi en önemli metot validasyon kriterleri üzerine olan etkileri belirlenmiştir.

### **3.2.5. Metot validasyonu**

FAIMS kullanarak analiz yapmanın analiz sonuçları üzerindeki etkilerini belirlemek için metot validasyonu çalışması yapılmıştır.

#### **3.2.5.1. Tespit limiti (Limit of detection-LOD)- Ölçüm limiti (Limit of quantification-LOQ)**

Enstrümental analizlerde örnekten kaynaklanan girişim unsurlarının belirlenmesinde büyük bir öneme sahip olan örnek körü, analiz edilen örnekle aynı özellikleri taşıyan ancak çalışma konusu analit veya analitleri içermeyen örneğe denilmektedir. Tespit limiti (LOD), zemin gürültüsünden farklı olarak tespit edilen fakat miktarı belirlenemeyen en küçük analit derişimidir. LOD değeri, genellikle analit için cihazdan elde edilen sinyal büyüklüğünün gürültü sinyaline oranının üç katının elde edilebilebileceği konsantrasyonun belirlenmesi ile bulunmaktadır. LOD'nin belirlenmesi için örnek körü üzerine pestisit standart karışımlarının cihazda görülebildiği ve tekrarlanabilirliğin sağlanabildiği en düşük konsantrasyonda analitler eklenerek aynı gün içinde 10 ayrı çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu analitler için elde edilen miktarsal değerlerin standart sapması hesaplanmış ve standart sapmanın 3 katı LOD olarak kabul edilmiştir.

Raporlama limiti olarak da bilinen ölçüm limiti (LOQ), kabul edilebilir doğrulukta ve tekrarlanabilirlikte ölçülebilen en düşük derişimdir. LOQ, LOD'nin tespiti için yapılan çalışmadan elde edilen standart sapmanın 10 katı alınarak belirlenmiştir.

LOD ve LOQ hesaplanmadan önce örnek köründen elde edilen sonuçlar için uygunluk testi yapılmış ve sapan değerler varsa değerlendirmeye dâhil edilmemiştir.

### 3.2.5.2. Doğrusallık

Doğrusallık, analit konsantrasyonu ile ölçüm cihazından elde edilen yanıt arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Her bir analit için matriks uyumlu kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Kalibrasyon grafiği için konsantrasyonlar, örnek körü içine artan konsantrasyonda standart maddenin eklenmesiyle elde edilmiştir. Her bir kalibrasyon grafiği altı farklı konsantrasyonda (0, 10, 20, 50, 100, 250 µg/L) hazırlanmış ve her bir konsantrasyon için üç tekrarlı olarak okuma yapılmıştır. Elde edilen yanıtların doğrusallığı korelasyon katsayısı ( $r^2$ ) hesaplanarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda her bir analit için metodun doğrusal dinamik çalışma aralığı belirlenerek minimum ve maksimum konsantrasyon seviyeleri tespit edilmiştir.

### 3.2.5.3. Doğruluk ve kesinlik

Doğruluk, bir ölçüm cihazının veya metodun ölçüm sonucunun gerçek değere yakınlığını ifade etmek için kullanılmaktadır. Doğruluk referans maddeler ile geri kazanım çalışmaları yapılarak tespit edilmiştir.

Kesinlik ise, homojen bir örneğin çoklu analizinden elde edilen sonuçların birbirine yakınlığını ifade etmektedir. Kesinlik, ölçüm sonuçlarının ortalama değer etrafındaki dağılımını göstermekte ve standart sapma (SD) veya bağıl standart sapma (RSD) olarak ifade edilmektedir. Bağıl standart sapma;

$$\%RSD = \frac{\text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama Geri kazanım}} \times 100$$

denkleme göre hesaplanmıştır. Kesinliğin belirlenmesi için referans maddeler ile geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Analitik yöntemler her zaman örnekte bulunan, çalışma konusu olan analiti tespit edemeyebilir. Örnek içinde ilgilenilen analit dışında çeşitli formlarda bileşikler bulunabilir. Girişim unsurları olarak bilinen bu maddeler, çoğunlukla aranan analitin belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Çalışılan örneklerde girişim unsurlarının aranan analite ne ölçüde etki ettiğini belirlemek ve deneysel işlemler sırasında herhangi bir nedenle analit konsantrasyonunda oluşacak kayıpları saptayabilmek için geri kazanım çalışmaları yapılmaktadır. Geri kazanım çalışmaları çeşitli şekillerde yapılabilmektedir. Ancak bu tez çalışmasında örnek körü içine miktarı bilinen oranlarda standart maddenin eklenmesiyle geri kazanım çalışması yapılmıştır.

Tekrarlanabilirlik bir metodun; aynı materyalle, aynı laboratuvarında, aynı cihazla, aynı kişi tarafından kısa zaman aralığında yaptığı ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Tekrarlanabilirlik, kesinliğin bir göstergesidir ve tekrarlanabilirliğin kesinliği geri kazanım çalışmasından elde edilen ölçüm sonuçlarının bağıl standart sapması hesaplanarak belirlenmiştir.

### **3.2.6. İstatistiksel değerlendirme**

İstatistiksel değerlendirmelerde ortalamalar için t-testi ve standart sapmalar için Fisher testi (F-testi) uygulanmaktadır. Bu amaçla iki yöntemden elde edilen sayısal veriler arasında anlamlı bir farkın olup olmadığının anlaşılması için Null hipotezi oluşturulmalıdır.  $H_0: \mu_1 = \mu_2$  ve alternatif hipotez olan  $H_A: \mu_1 > \mu_2$  hipotezleri kurulmalıdır. Hipotezlere göre elde edilen sayısal değer %95 güven aralığında istatistiksel tablo değerinden küçük ise  $H_0$  hipotezi reddedilmekte veya büyük ise kabul edilmektedir. Hipotezin kabul edildiği durumlar için ortalamalar veya standart sapmalar arasında “anlamlı bir fark yoktur” veya red edildiği durumlar için “anlamlı bir fark vardır” yorumu yapılmaktadır (Miller ve Miller 2008).

LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS sistemlerinden elde edilen sonuçlara istatistiksel önem testleri uygulanmıştır. Bu amaçla Excel programı kullanılmıştır. İki yöntemden geri kazanım çalışmaları sonucu elde edilen ortalamalar için t- testi ve standart sapmalar için de F-testi uygulanmıştır.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. LC-MSMS Analizleri

#### 4.1.1. Pestisitlerin ana iyonları, ürün iyonları ve çarpışma enerjilerinin belirlenmesi

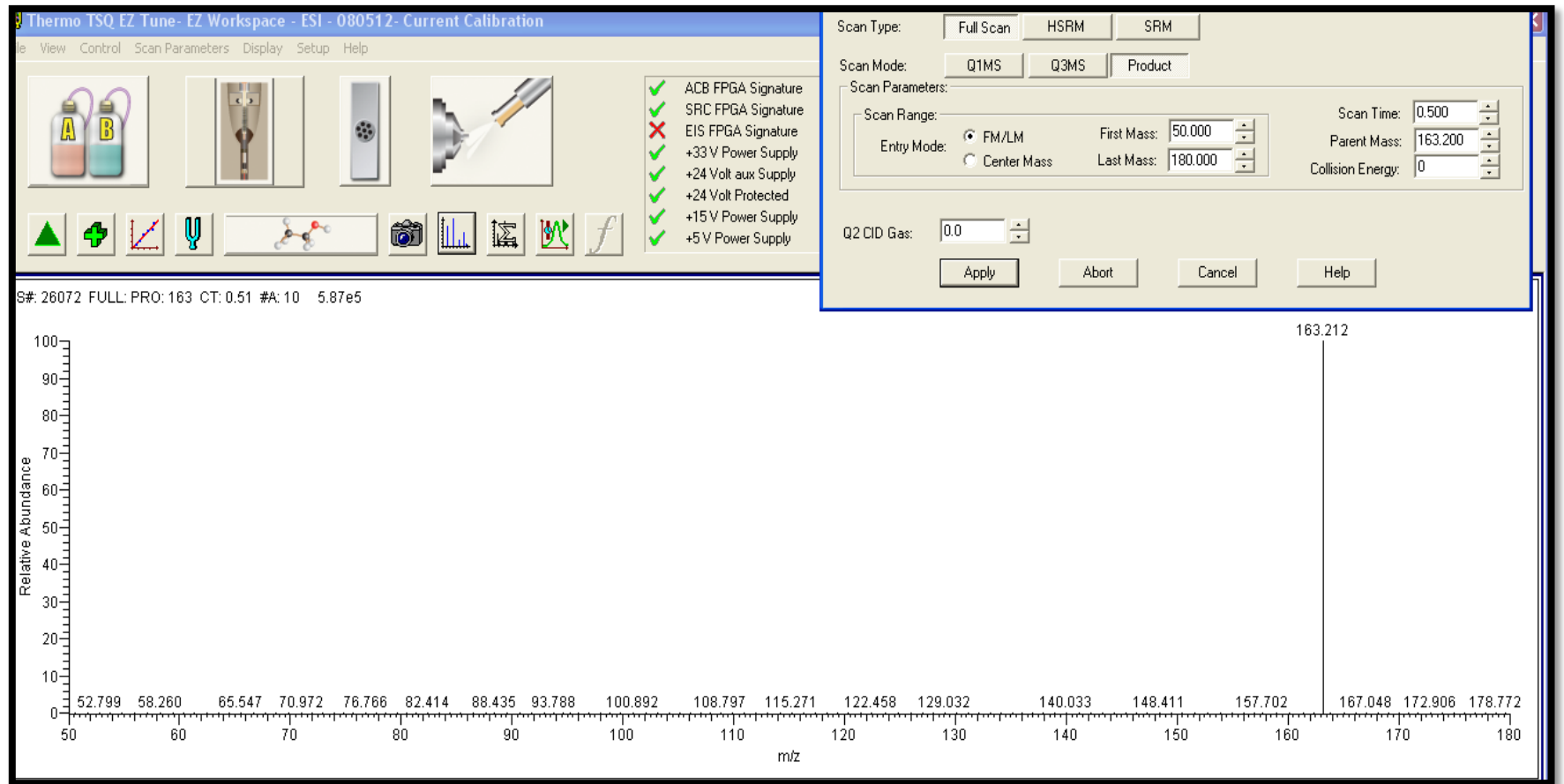
Çalışma konusu pestisitlerin tespit edilmesini sağlayacak, ürün iyonların oluştuğu çarpışma enerjilerinin belirlenmesi amacıyla kütle spektrometresine her bir pestisit için ayrı ayrı infüzyonları gerçekleştirilmiştir. Sıvı kromatografisi kütle spektrometresi ile yapılan çalışmalarda kütle analizörüne giren moleküler iyon, ilk kütle dedektöründe seçildikten sonra çarpışma hücresi ya da odacığı olarak adlandırılabilir bölüme gönderilir. Moleküler iyonlar, bu bölümde bulunan argon gazı molekülleri ile çarpışarak parçalanır ve yavru (veya ürün) iyonlar oluşturulur. Her bir analit için karakteristik veya bolca bulunan ürün iyonlar seçilip kütle dedektörü boyunca izlenerek tespit gerçekleştirilir. Burada kritik olan şey, her bir analitin farklı çarpışma enerjilerine sahip olması ve ortaya çıkan ürün iyonların en az ikisinin seçilerek izlenebilirliğin ve yüksek kalitede bir doğruluk ve kesinlik değerinin sağlanabiliyor olmasıdır.

Çarpışma enerjilerinin belirlenmesi amacıyla, her pestisit, konsantrasyonu 1 µg/mL olacak şekilde hazırlanmış ve viallere konulmuştur. Bu aşamada enstrümental analiz cihazının sıvı kromatografik kısmı kullanılmadığı için maddelerin hareketli fazla birlikte iyonizasyonu gerçekleşmemekte; hazırlanan standartlar direkt olarak kütle spektrometresine verilmektedir. Moleküler iyonların oluşturulması ve analitlerin gaz fazına geçirilerek kütle dedektörüne girişlerinin sağlanması için elektrosprey iyonizasyon tekniği (ESI) kullanılmıştır. ESI polar özellikli analitlerin iyonizasyonu için uygun bir tekniktir. ESI ile yapılan çalışmalarda genellikle pozitif yüklü iyonlar oluşsa da, negatif yüklü iyonlar da oluşabilmektedir. Yüksek pH değerinde asidik moleküllerin negatif iyonları, düşük pH değerinde ise bazik moleküllerin pozitif yüklü iyonları oluşturduğu bilinmektedir (Anonymous 2009). Pestisitler ESI'de iyonize edildiklerinde genellikle pozitif iyon oluşturma eğilimindedir. Çalışma konusu pestisitlerin daha iyi iyonize olmalarını sağlamak için ortam pH'sı %1'lik formik asit ilavesi ile düşürülmüştür. Bu işlemler 300 µL/dk enjeksiyon akış hızında

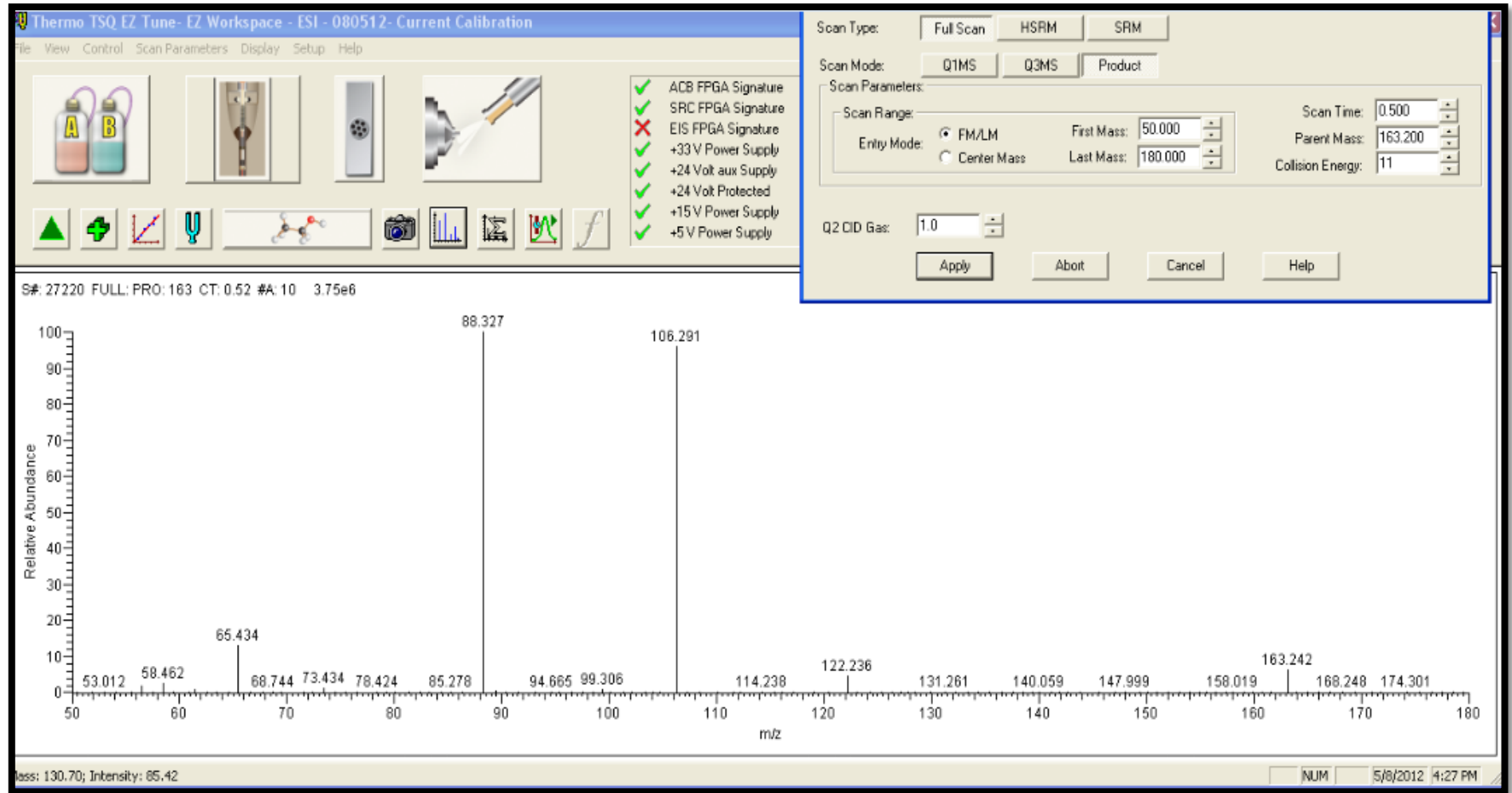
gerçekleştirilmiştir. Her bir pestisit için bir ana iyon veya moleküler iyon ve iki ürün iyon belirlenmiştir. Çalışmalar tam tarama (full scan) ve pozitif iyon tespit modunda gerçekleştirilmiştir. Tarama aralığı ana iyon ve ürün iyonları kapsayacak şekilde seçilmiştir. Her bir pestisit için ana iyonlar belirlendikten sonra argon gazı açılarak moleküllerin birbirleriyle çarpışmalarını sağlamak için uygun çarpışma enerjileri araştırılmıştır. Ürün iyonların en iyi gözlemlenebildiği noktadaki çarpışma enerjileri temel alınmıştır.

Şekil 4.1'de methomyl için belirlenen ana iyon ve Şekil 4.2'de methomyl'e ait ürün iyonlar örnek olarak gösterilmektedir. Şekilde de görüleceği gibi, methomyl için ana iyon kütleli 163.212 m/z olarak belirlenmiştir. İnfüzyon yapılarak değişik çarpışma enerjilerinde oluşan ürün iyonlar gözlemlendiğinde en uygun iyonların 88.327 m/z ve 106.291 m/z kütleli iyonlar olduğu belirlenmiştir. Belirleme yapılırken çarpışma enerjisinin sıfır olduğu durumdan başlanmakta ve yavaş yavaş çarpışma enerjisi artırılarak ana iyondan ürün iyonlarının oluşumu gözlenmektedir. Methomyl için çarpışma enerjisi 11 eV olarak belirlenmiştir. Burada dikkat edilen husus, moleküler iyonla ait sinyal pikini tamamen yok etmeden yavru iyonlara ait sinyal piklerini elde etmektir. Böylece 163.212 m/z kütleli methomyl'den 88.327 m/z ve 106.291 m/z kütleli yavru iyonlara geçiş olduğunu söylemek mümkündür. Daha sonra metod çalışması yapılırken, methomyl için elde edilen çarpışma enerjisi değeri ve bu değerle elde edilen yavru iyonlara ait kütleleri metoda yazmak olanaklı olmaktadır. Analiz esnasında ise, kütle spektrometresi cihazı, methomyl için belirlenen çarpışma enerjisi değerinde daha önce infüzyon yaparak belirlediğimiz iki adet ürün iyonla ait kütleleri tespit etmeye çalışmaktadır.





Şekil 4.1. Methomyl için belirlenen ana iyon



Şekil 4.2. Methomyl için belirlenen ürün iyonlar

Çizelge 4.1’de çalışma konusu tüm pestisitler için belirlenen ana iyonlar, ürün iyonlar ve uygun çarpışma enerjileri verilmiştir. Bu çalışmaya konu olan pestisitlerin ana iyon ve ürün iyonlarına ait veriler, literatürde bu konuda yapılan çalışmalarla kıyaslama yapılabilmesi amacıyla Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Pestisitler için belirlenen ana iyonlar, ürün iyonlar ve çarpışma enerjileri

<b>Aktif Maddeler</b>	<b>Ana İyon (m/z)</b>	<b>Ürün İyonlar (m/z)</b>	<b>Çarpışma Enerjisi (eV)</b>
Oxamyl	237.1	72.4 / 90.3	10 / 10
Methomyl	163.1	88.3 / 106.3	11 / 11
Carbendazim	192.0	132.3 / 160.3	39 / 21
Imidacloprid	256.0	175.3 / 209.2	19 / 19
Acetamiprid	223.1	73.4 / 126.4	51 / 22
Pirimicarb	239.2	72.5 / 182.3	21 / 21
Pyrimethanil	200.2	82.4 / 107.3	33 / 33
Imazalil	297.2	159.2 / 255.2	28 / 28
Metalaxyl	280.2	160.2 / 220.2	25 / 25
Diethofencarb	268.2	180.2 / 226.3	20 / 11
Cyprodinil	226.2	77.4 / 93.4	64 / 42
Azoxystrobin	404.0	329.2 / 372.2	31 / 14
Dimethomorph	388.1	165.2 / 301.1	30 / 23
Triadimenol	296.0	70.5 / 227.0	17 / 10
Tolyfluanid	347.2	137.2 / 238.0	29 / 12
Tebuconazole	308.2	70.5 / 125.0	25 / 25
Famoxadone	392.2	238.2 / 331.2	20 / 10
Chlorpyrifos	352.0	97.3 / 200.1	34 / 20

Çizelge 4.2. Pestisitlerin literatürde yer alan geçiş iyonları

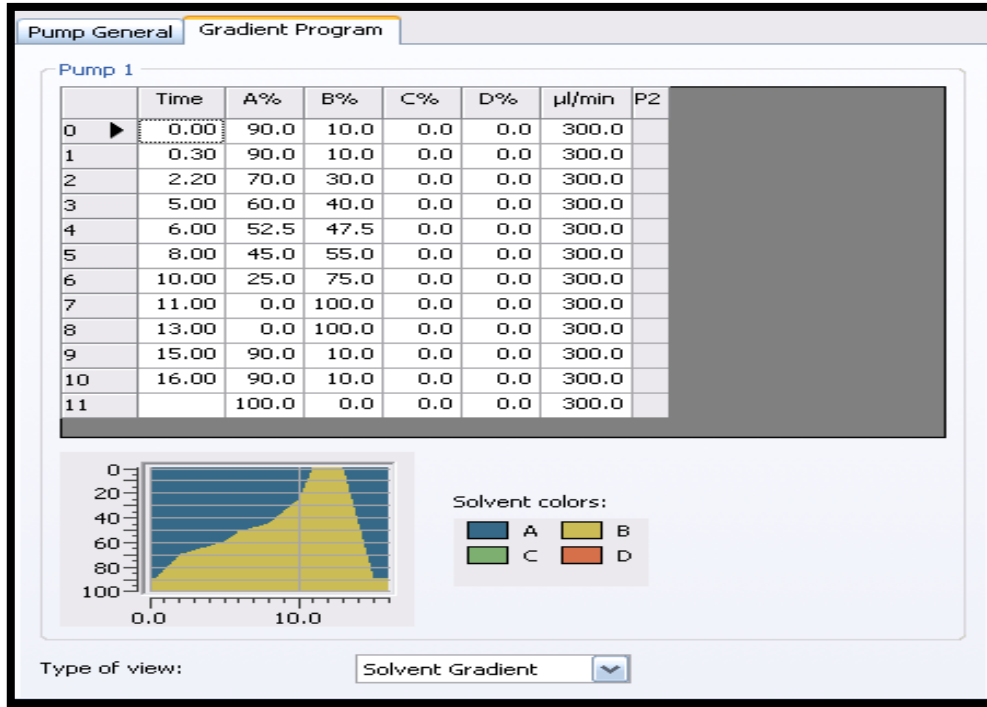
<b>Pestisitler</b>	<b>Ana İyon (m/z)</b>	<b>Ürün iyonlar (m/z)</b>	<b>Kaynaklar</b>
Oxamyl	237	72- 90	Garrido Frenich vd 2004, Ortelli vd 2004
Methomyl	163	106- 88	Garrido Frenich vd 2004, Ortelli vd 2004
Carbendazim	192	160-132	Zamora vd 2004, Garrido Frenich vd 2004, Ortelli vd 2004
Imidacloprid	256	209-175	Sannino vd 2004, Garrido Frenich vd 2004
Acetamiprid	223	126-56	Garrido Frenich vd 2004, Ortelli vd 2004, Kmellar vd 2008
Pirimicarb	239	182-72	Ortelli vd 2004
Pyrimethanil	200	107-82	Ortelli vd 2004
Imazalil	297	159-41	Granby vd 2004, Zamora vd 2004
Metalaxyl	280	220-192	Ortelli vd 2004
Diethofencarb	268	226-180	Ortelli vd 2004
Azoxystrobin	404	372-344	Sannino vd 2004, Ortelli vd 2004
Cyprodinil	226	108-93	Garrido Frenich vd 2004, Ortelli vd 2004, Leandro vd 2007
Dimethomorph	388	301-165	Sannino vd 2004, Garrido Frenich vd 2004, Ortelli vd 2004
Triadimenol	292.2	70.2-227	Kmellar vd 2008
Tolyfluanid	347	238-137	Leandro vd 2007
Tebuconazole	308	125-70	Ortelli vd 2004
Famoxadone	392.12	331.12-238.13	Bakırcı ve Hışıl 2012
Chlorpyrifos	350.2	197.8	Venkateswarlu vd 2007

Çalışma sonucu tespit edilen iyon geçişleriyle literatür taramalarından elde edilen verilerin birbiri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

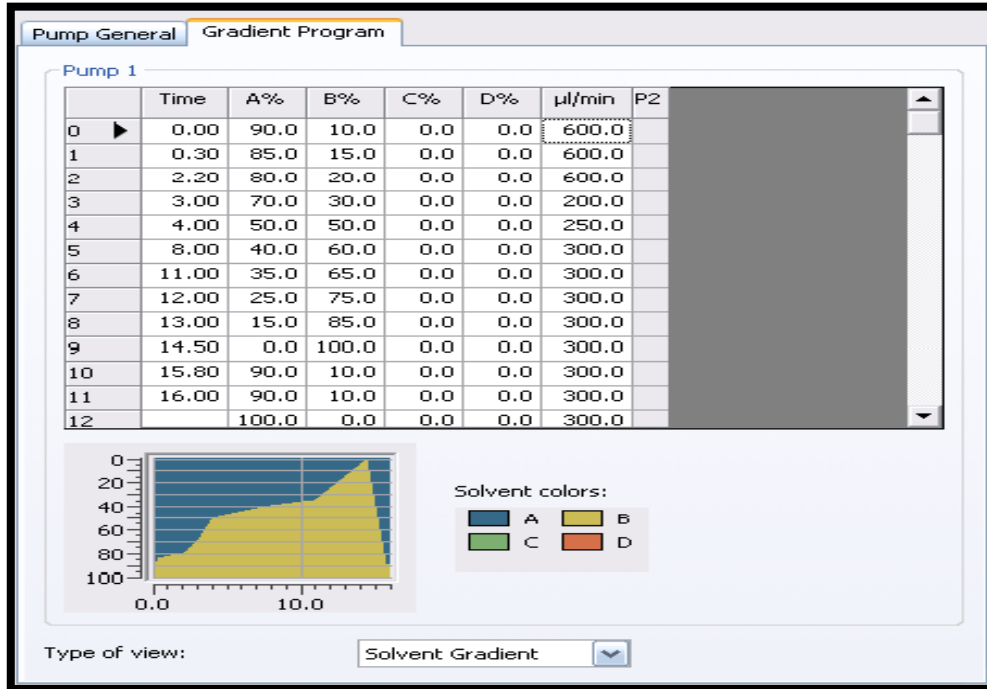
#### 4.1.2. Metodun oluşturulması ve analitlerin alıkonma zamanlarının belirlenmesi

Çalışmalar ters faz kolon içeren Ultra Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (UHPLC) cihazında gerçekleştirilmiştir. Ters faz kromatografinin temel prensibi; durağan faz apolar iken kullanılan hareketli fazların polar olmasıdır. Analitlerin polarlık dereceleri kromatografik ayırımın temelini oluşturmaktadır. Ters faz kolonlarda polar maddeler çok fazla tutunmadan kolondan çıkarken, daha az polar maddeler kolon dolgu maddesiyle daha fazla etkileşime girmekte ve böylece kolonu geç terk etmektedir (McMaster 2005, Meyer 2004). Kolon boyutları, durağan faz tipi, hareketli faz bileşimi ve akış hızı, örnek enjeksiyon miktarı ve sıcaklık kromatografik koşulları oluşturmaktadır. Tüm bu parametreler analitlerin pik şekillerini ve alıkonma zamanlarını etkilemektedir. Çalışma koşulları bu parametreler göz önünde bulundurularak oluşturulmuştur.

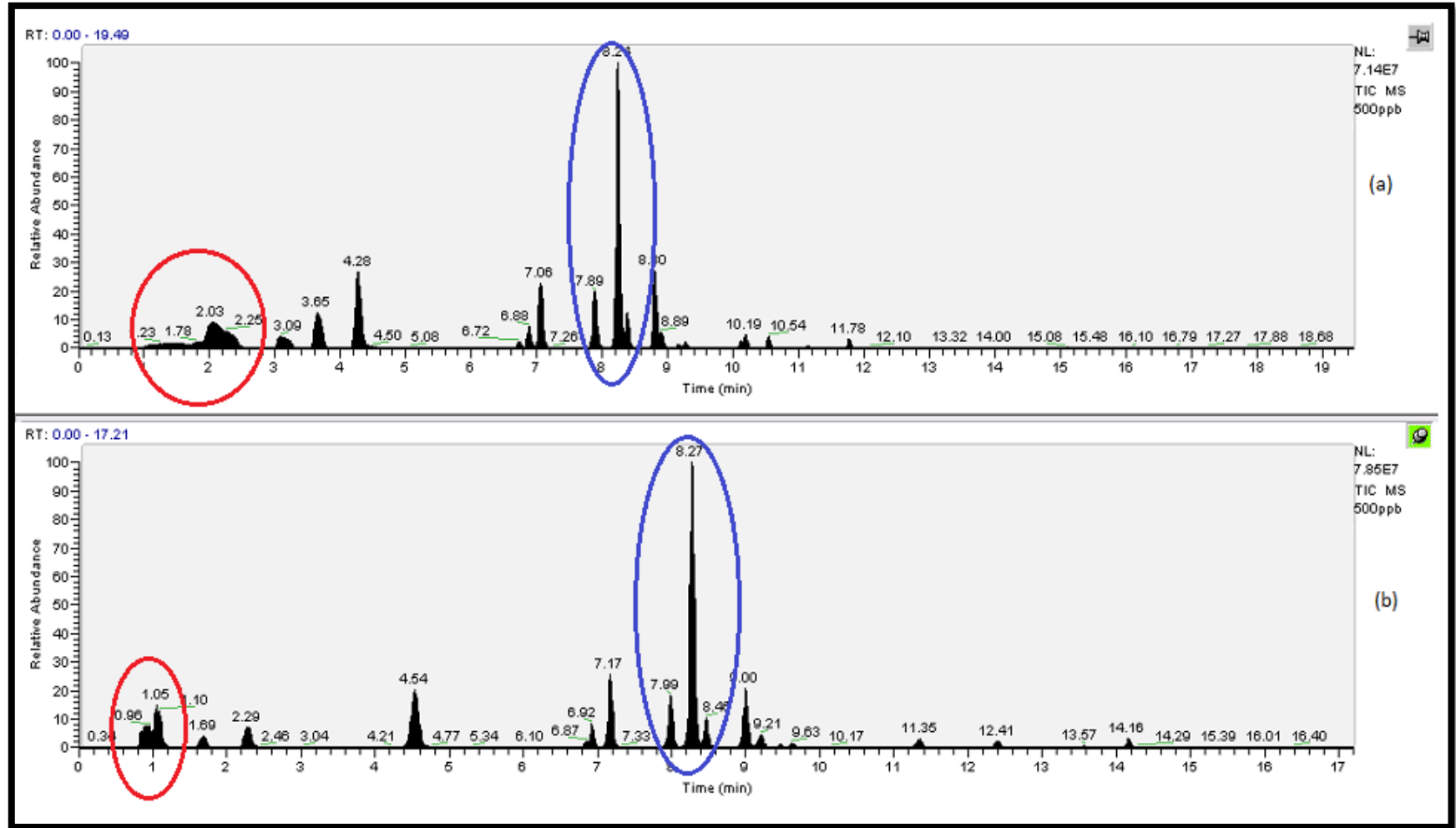
Çalışma sırasında 500 µg/L'lik pestisit karışımı kullanılmıştır. Analizler SRM modunda gerçekleştirilmiştir. SRM geçişleri için daha önce tespit edilen ana iyonlar, ürün iyonlar ve çarpışma enerjileri kullanılmıştır. Her bir analit için alıkonma zamanları SRM geçişleri göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. Çalışma sonrası analiz süresi 16 dk olarak belirlenmiştir. Çalışmalar öncelikle Şekil 4.3'de gösterilen hareketli faz gradyen programıyla gerçekleştirilmiştir. Ancak bazı piklerin birbirlerine yakın gelmesi ve bazı analitlere ait piklerde ise yayılma gözlenmesinden dolayı hareketli faz gradyen programı tekrar düzenlenmiştir. Farklı hareketli faz bileşimleri ve akış hızlarıyla elde edilen kromatogramlar değerlendirilerek çalışmaya en uygun kromatografik koşulların belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece kromatografik çözünürlüğü sağlamak ve pik şekillerini düzeltmek mümkün olmuştur. Şekil 4.4'te çalışmayı yapmak için en uygun olduğuna karar verilen hareketli faz gradyen programı gösterilmektedir. Şekil 4.5'te ilk gradyen programından ve son gradyen programından elde edilen kromatogramlar gösterilmektedir.



Şekil 4.3. Başlangıçta kullanılan gradyen program



Şekil 4.4. Analizlerin yapıldığı hareketli faz gradyen programı



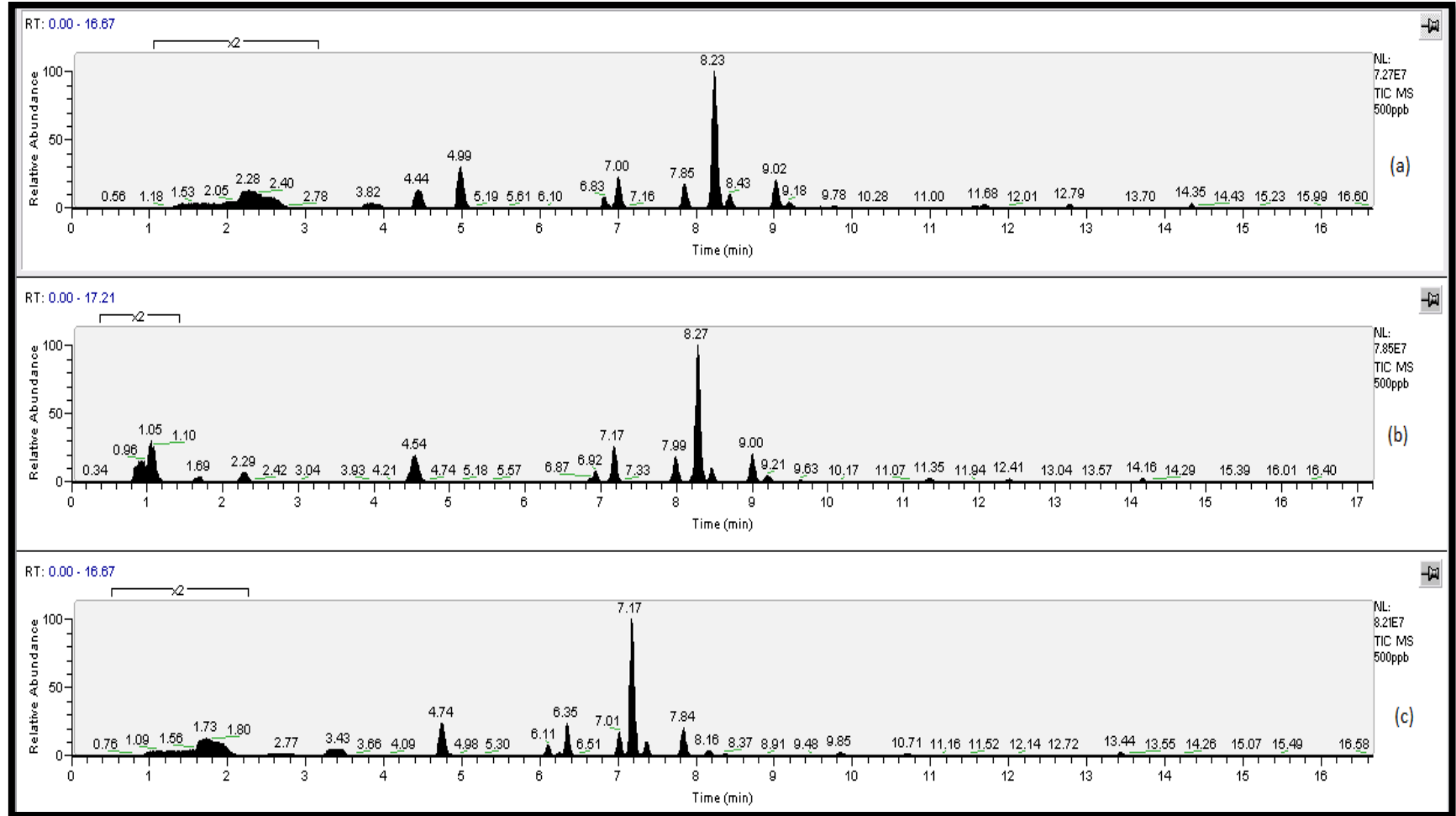
Şekil 4.5. (a) İlk gradyen programından elde edilen kromatogram, (b) Analizlerde kullanılan gradyen programından elde edilen kromatogram.

Şekil 4.5 (a)'da oxamyl, methomyl ve carbendazim pestisitlerine ait pikler 1-2.5 dakikaları arasında gelirken (b)'de 0.9-1.1 dakika arasında gelmektedir. Oxamyl için ilk gradyen programından elde edilen pik genişliği 1-2.1 dakika arasındayken gradyen programındaki düzenlemeden sonra 0.9-1 dakika arasına düşürülmüştür. Methomyl ve carbendazim aktif maddelerine ait pikler için de aynı durum gözlenmiştir. 8.24'üncü dakikada gelen azoxytrobin ve 8.39'uncu dakikada da gelen dimethomorph\_1 pestisitlerine ait piklerin de pik genişliklerinin fazla olması nedeniyle kromatografik ayırım iyi olmazken geliştirilen gradyen programıyla bu pestisitlere ait piklerin sırasıyla 8.27 ve 8.46 dakikalarında gelmesi sağlanmış ve pik genişlikleri azaltılmıştır. Bu çalışma ile analitlere ait piklerin çözünürlükleri geliştirilmiş ve daha iyi pik şekilleri elde edilmiştir.

Kolon sıcaklığındaki değişimlerin, kromatografik ayırma olan etkisini görmek için analizlerin yapılmasına karar verilen hareketli faz gradyen programıyla farklı kolon sıcaklıklarında denemeler gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık pik şekilleri ve çözünürlük üzerinde etkisi olan faktörlerden biridir. Bu nedenle analiz için en uygun sıcaklık noktasını belirlemek amacıyla, denemelerde 30°C, 40°C ve 50°C'de kolon sıcaklıkları kullanılmıştır. Şekil 4.6'da farklı kolon sıcaklıklarından elde edilen kromatogramlar gösterilmektedir. Kolon sıcaklığındaki değişimlerin, en başta gelen oxamyl, methomyl ve carbendazim aktif maddelerine ait pikleri daha çok etkilediği göze çarpmaktadır. Bu üç aktif madde temel alındığında, pik genişlikleri en fazla 30°C'de görülmektedir. 50°C'den elde edilen pik şekilleri, 30°C'den daha iyi olduğu ancak bu sefer de diğer aktif maddelere ait piklerin bazılarında yayılma olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak 40°C'lik kolon sıcaklığı ile kromatografik ayırımın en iyi şekilde gerçekleştiği saptanmış ve analizlerde bu sıcaklığın kullanılmasına karar verilmiştir.

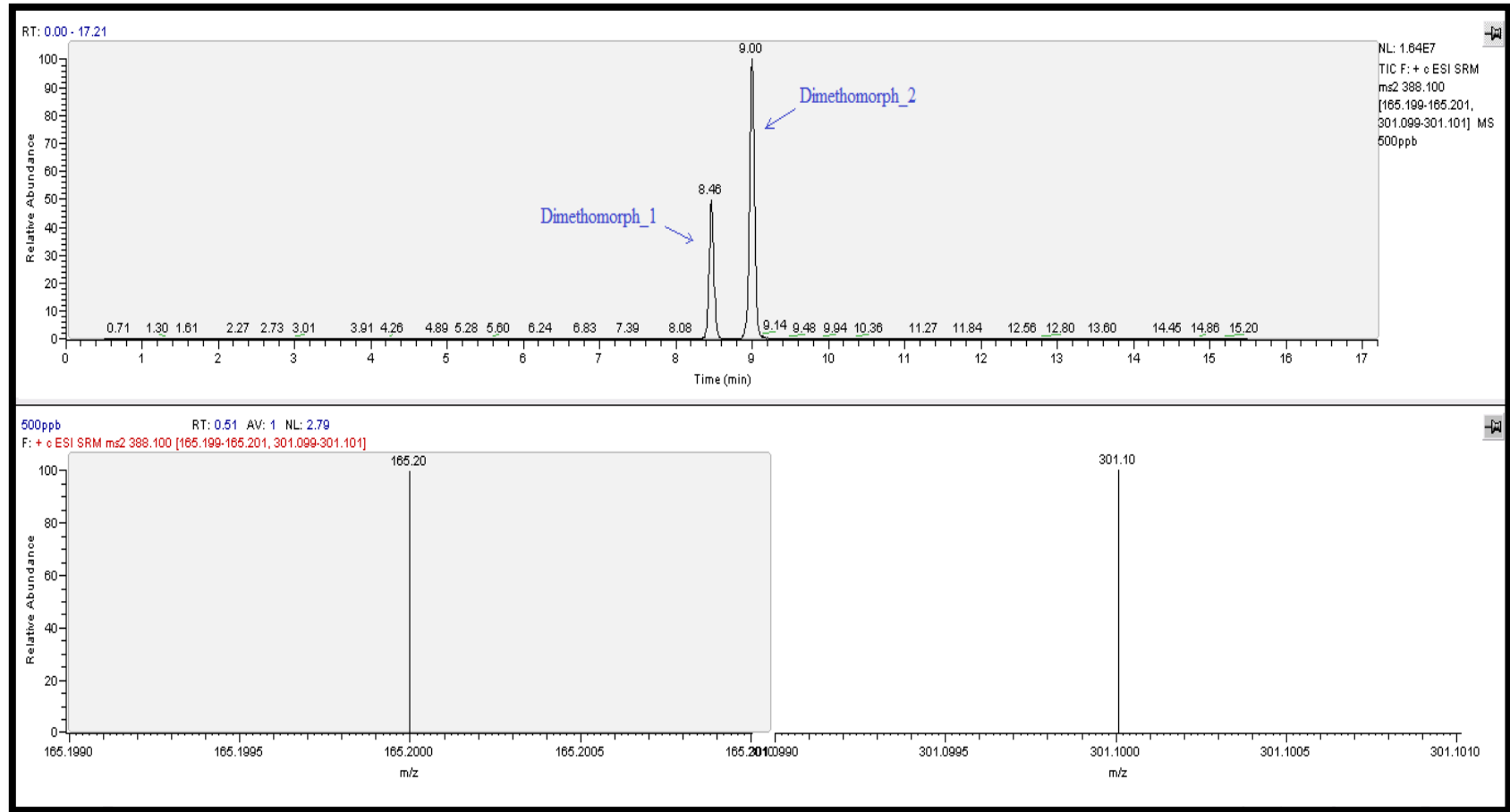
Analizler esnasında 5 µL ve 10 µL enjeksiyon hacimleri kullanılmıştır. Ancak 5 µL enjeksiyon hacminde kromatografik ayırımın daha iyi olduğu belirlenmiş ve çalışmaların 5 µL enjeksiyon hacmi kullanılarak sürdürülmesine karar verilmiştir.





Şekil 4.6. (a) Kolon sıcaklığı: 30°C, (b) Kolon sıcaklığı: 40°C ve (c) Kolon sıcaklığı: 50°C

Çalışmalar esnasında dimethomorph pestisitinin Şekil 4.7’de görüldüğü gibi iki pik oluşturduğu tespit edilmiştir. Literatürde, dimethomorph’un iki izomere sahip olması nedeni ile iki ayrı pik oluşturduğu vurgulanmaktadır (Sannino vd 2004). Bu nedenle bu pikler dimethomorph\_1 ve dimethomorph\_2 olmak üzere ayrı ayrı değerlendirilmiştir.



Şekil 4.7. Dimethomorph pestisitine ait pikler

Pestisitlerin tanımlanması ve hesaplanması işleminin hem alıkonma zamanları hem de aktif maddelere özgü seçilen iyonlar dikkate alınarak yapılması gerekmektedir. Bu nedenle analitlere ait alıkonma zamanlarının doğru bir şekilde tespit edilmesi analiz sonuçlarını etkilemesi açısından önemlidir. Analiz metodu oluşturulduktan sonra aktif maddeler için elde edilen alıkonma zamanları (Retention Time-RT) Çizelge 4.3’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.3. Çalışma konusu analitler için belirlenen alıkonma zamanları (RT)

<b>Aktif Maddeler</b>	<b>RT (dk)</b>
Oxamyl	0.96
Methomyl	1.00
Carbendazim	1.05
Imidacloprid	1.69
Acetamiprid	2.29
Pirimicarb	4.54
Pyrimethanil	6.87
Imazalil	6.92
Metalaxyl	7.17
Diethofencarb	7.99
Azoxystrobin	8.27
Cyprodinil	9.21
Dimethomorph_1	8.46
Dimethomorph_2	9.00
Triadimenol	9.63
Tolyfluanid	11.31
Tebuconazole	11.35
Famoxadone	12.41
Chlorpyrifos	14.16

### **4.1.3. Metot validasyonu**

Geliştirilen metodun geçerliliğinin sağlanması için performans kriterlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar laboratuvar içi metot validasyonuna göre yapılmıştır. Bunun için; tespit limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), doğrusallık (lineer aralık), doğruluk ve kesinlik parametreleri belirlenmiştir.

#### **4.1.3.1. Doğrusallık**

Kalibrasyon grafikleri, analit konsantrasyonları ile absorbans arasındaki ilişkiyi kurmak için kullanılmaktadır. Bu ilişki, küçük konsantrasyon noktasından başlayarak giderek artan konsantrasyonlara doğru, araştırılan analitleri içeren bir dizi örneğin analiz edilmesiyle oluşturulmaktadır. Elde edilen kalibrasyon grafiklerinin doğrusal olması beklenmektedir. Doğrusal olmayan kalibrasyon grafiklerinin de kullanıldığı bazı analizler bulunmakla birlikte, verilerin işlenmesinde kolaylık sağlamasından dolayı genellikle doğrusal olan kalibrasyon grafiklerinin kullanımı tercih edilmektedir (Penner 2010).

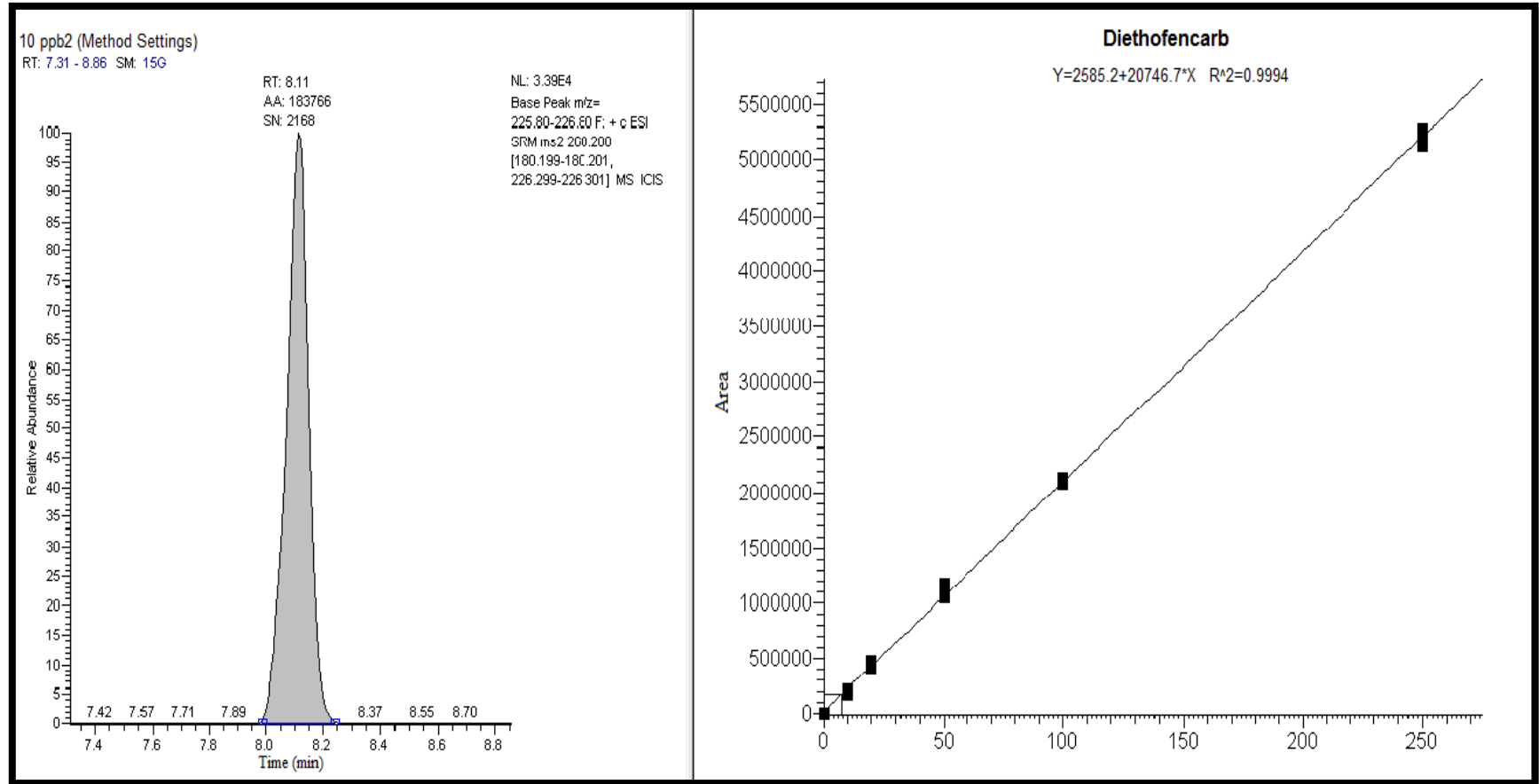
Çözücü içinde hazırlanmış standartlarla kalibrasyon grafikleri oluşturulabilmektedir. Bu şekilde oluşturulmuş kalibrasyon grafiklerinden sonra matriksle çalışıldığında analitlere ait doğru miktar tayinleri yapılamamaktadır. Matriks içinde bulunan bileşenlerin analitlerin oluşturdukları sinyalleri arttırdığı veya azalttığı bilinmektedir (Hird 2008). Matriks etkisi adı verilen bu olayı önlemek için matriks uyumlu kalibrasyon grafiklerinin oluşturulması önerilmektedir (Zamora vd 2004). Bu nedenle, matriksten gelen girişim unsurlarının neden olduğu etkileri ortadan kaldırmak amacıyla çalışma konusu gıda örnekleri (domates, hıyar) için matriks uyumlu kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Matriks uyumlu kalibrasyon yapabilmek için pestisit içermeyen organik domates ve hıyar örnekleri kullanılmıştır.

Matriks uyumlu kalibrasyon grafikleri yapmak için hazırlanan konsantrasyonlar, örnek ekstrakt kompozisyonunu yansıtmalıdır. Yani yapılacak işlem örnek hazırlama aşamalarında yapılan işlem basamaklarına benzer olmalıdır. Bunun sağlanması için konsantrasyonlar hazırlanırken, örnekte kullanılan çözücü veya tampon çözelti

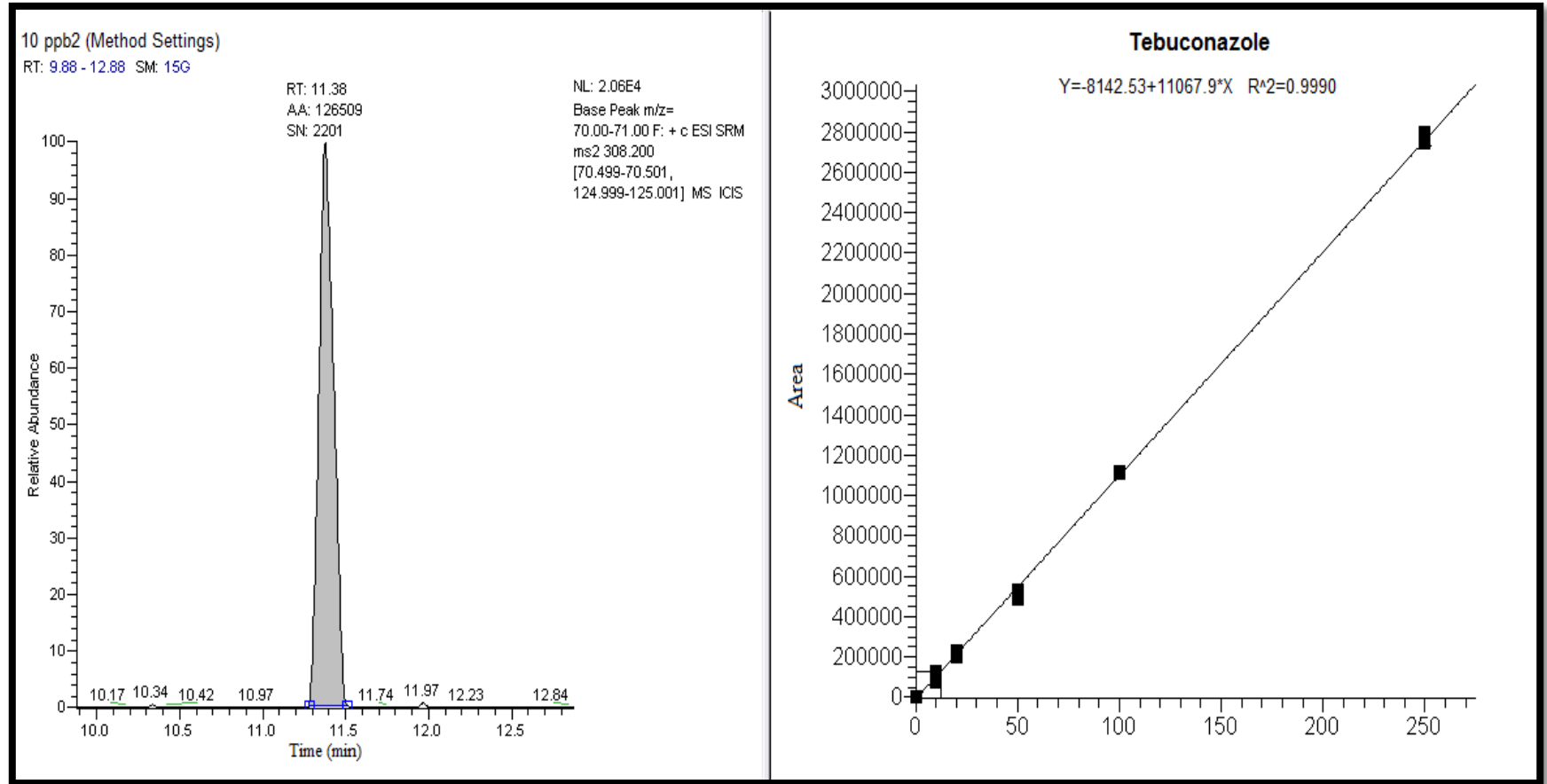
kullanılmalı ve her bir konsantrasyon, örneğin içerdiği miktar kadar matriks içermelidir (Hird 2008). Bu amaçla 900 µL örnek körü içerisine artan konsantrasyonlarda standart maddeler ve aynı zamanda her bir vialde hareketli faz A'dan 600 µL eklenmiştir. Toplam hacim 1600 µL olacak şekilde her bir vial metanolla tamamlanmıştır.

Kalibrasyon grafikleri 0, 10, 20, 50, 100 ve 250 µg/L olmak üzere altı noktalı olacak şekilde oluşturulmuştur. Her bir konsantrasyon noktası için cihazda üç tekrarlı çalışma yapılmıştır. Sonuçların doğrusallığı korelasyon katsayısı ( $r^2$ ) hesaplanarak belirlenmiştir. Avrupa Birliği (AB) kılavuzlarında, kalibrasyon grafiklerinin matriks etkisinin varlığını gözleyebilmek amacıyla, orijinden geçirmeye zorlanmaması gerektiği bildirilmektedir (Anonymous 2011). Çalışmalarda bu bilgi dikkate alınmıştır. Şekil 4.8'de domateste diethofencarb, Şekil 4.9'da ise hıyarda tebuconazole pestisitleri için oluşturulan kalibrasyon grafikleri, bu doğruların eğimlerini ifade eden  $r^2$  değerleri ve grafiklerin oluşturulması için kullanılan temel pikler örnek olarak sunulmuştur.

Çizelge 4.4'te her bir pestisit etken maddesi için domates ve hıyar matriksleri ile elde edilen kalibrasyon grafiklerinin doğru denklemi ve korelasyon katsayıları ( $r^2$ ) verilmiştir. Çalışmalarda  $r^2$  değerlendirilirken, genel olarak 0.99 değeri temel alınmakta ve bu değer üzerindeki  $r^2$  değerleri doğrusallık açısından uygun kabul edilmektedir (Soler vd 2007, Zamora vd 2004, Soler vd 2004, Hernandez vd 2006, Yiğit 2009). Çizelge incelendiğinde her bir aktif madde için, her iki örnek matriksinden elde edilen  $r^2$  değerlerinde farklılık gözlenecektir. Bunun da matriks bileşiminde bulunan su, asit, renk maddeleri ve vitamin gibi bileşenlerin farklılık göstermesinden ileri geldiği düşünülmektedir. Matriks etkisi olarak da bilinen bu duruma işaret eden birçok çalışma bulunmaktadır (Ferrer vd 2005b, Jansson vd 2004, Granby vd 2004, Sannino vd 2004). Ancak sonuçta, her iki matrikste çalışma konusu aktif maddelerin  $r^2$  değerleri kriter olarak kabul edilen 0,99 değerinden büyük çıkmaktadır. Bu da geliştirilen metotla belirli bir konsantrasyon aralığında doğrusal bir çalışma yapabileceğimizi kanıtlamaktadır.



Şekil 4.8. Domates matriksinde diethofencarb pestisiti için elde edilen kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.9. Hıyar matriksinde Tebuconazole pestisiti için elde edilen kalibrasyon eğrisi



Çizelge 4.4. Matriks uyumlu kalibrasyonlardan elde edilen doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları ( $r^2$ )

Aktif Madde	Domates matriksi		Hıyar matriksi	
	Doğru denklemi	$r^2$	Doğru denklemi	$r^2$
Oxamyl	$y=18259.7x+20564.2$	0.9990	$y=17872.9x+63966.7$	0.9973
Methomyl	$y=10840.3x+36805.4$	0.9976	$y=10752.4x+37713.6$	0.9985
Carbendazim	$y=24758x+60992.3$	0.9993	$y=20688.3x+103631$	0.9978
Imidacloprid	$y=7423.35x+4863.34$	0.9980	$y=7411.86x+15495.4$	0.9977
Acetamiprid	$y=17781.7x+35590.7$	0.9991	$y=14187.1x+62662.3$	0.9978
Pirimicarb	$y=53263.9x+43107$	0.9989	$y=49644.3x-1253.64$	0.9990
Pyrimethanil	$y=6152.9x+8723.62$	0.9986	$y=5496.45x+13973.7$	0.9979
Imazalil	$y=10854.3x+25202.2$	0.9976	$y=10719.9x+17677.4$	0.9983
Metalaxyl	$y=44986.9x+7810.3$	0.9990	$y=47120.5x+102475$	0.9983
Diethofencarb	$y=20746.7x+25852$	0.9994	$y=22289x+10654.5$	0.9994
Azoxystrobin	$y=94857.4x+766503$	0.9991	$y=92165.3x+282591$	0.9989
Cyprodinil	$y=12504.4x+16857.1$	0.9964	$y=11639.3x+23677.1$	0.9983
Dimethomorph_1	$y=11286.8x-107149$	0.9916	$y=13885.9x-110216$	0.9924
Dimethomorph_2	$y=23054.2x+208143$	0.9958	$y=26815.6x+206384$	0.9960
Triadimenol	$y=5004.75x-15053$	0.9910	$y=6311.56x+26850.3$	0.9966
Tolyfluanid	$y=1297.42x+7872.81$	0.9939	$y=1075.78x+10826$	0.9940
Tebuconazole	$y=9268.88x-863.098$	0.9986	$y=11067.9x-8142.53$	0.9990
Famoxadone	$y=2823.67x+942.494$	0.9967	$y=3429.08x-4413.62$	0.9973
Chlorpyrifos	$y=3018.79x+20414.6$	0.9967	$y=2540.14x+31593.1$	0.9965

#### 4.1.3.2. Tespit limiti (LOD) ve ölçüm limitinin (LOQ) hesaplanması

Metodun geçerliliğın sağlanabilmesi için en önemli koşul LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasıdır. LOD değerinin belirlenmesi için 15 g numune tartılmış ve nihai konsantrasyon 0.01 µg/mL olacak şekilde 5 µg/mL'lık pestisit karışımından ilave yapılmıştır. Bu işlemlerden sonra QuEChERS metoduyla örnek ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma 10 tekrarlı olarak yapılmış ve elde edilen sonuçların standart sapmaları hesaplanmıştır. Standart sapmanın 3 katı LOD ve 10 katı da LOQ olarak kabul edilmiştir. Hesaplanan LOQ değerleri "Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği" nde yer alan MRL değerleri göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. AB kılavuzlarına göre analitler için bulunan LOQ değerlerinin, o analite ait MRL değerinin altında veya MRL değerinin yarısı olması gerektiği belirtilmektedir (Anonymous 2010).

Çizelge 4.5'te domates ve hıyar matriksleri için hesaplanan LOD- LOQ değerleri ve Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen MRL limitleri verilmiştir (Anonim 2011c). Çizelge incelendiğinde her iki matrikste aktif maddeler için tespit edilen LOD ve LOQ değerlerinin Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen MRL'in altında olduğu tespit edilmiştir. Bu durum kullandığımız analiz yönteminin çalışma konusu pestisitler için yeterli olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Hesaplanan LOD- LOQ değerleri ve MRL değerleri

Aktif Madde	Domates		Hıyar		MRL (mg/kg)
	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)	
Oxamyl	0.0027	0.0090	0.0020	0.0066	0.01-0.02
Methomyl	0.0041	0.0136	0.0044	0.0146	0.02-10
Carbendazim	0.0017	0.0055	0.0026	0.0088	0.01-2
Imidacloprid	0.0034	0.0114	0.0047	0.0156	0.1-2
Acetamiprid	0.0017	0.0058	0.0023	0.0076	0.01-1
Pirimicarb	0.0013	0.0044	0.0017	0.0058	0.1-4
Pyrimethanil	0.0053	0.0176	0.0041	0.0135	0.05-5
Imazalil	0.0029	0.0095	0.0036	0.0120	0.05-5
Metalaxyl	0.0021	0.0069	0.0017	0.0058	0.05-2
Diethofencarb	0.0039	0.0131	0.0035	0.0115	0.5-1
Azoxystrobin	0.0034	0.0112	0.0012	0.0039	0.2-5
Cyprodinil	0.0036	0.0121	0.0047	0.0157	0.5-5
Dimethomorph_1	0.0053	0.0178	0.0026	0.0085	0.15-3
Dimethomorph_2	0.0027	0.0089	0.0041	0.0138	0.15-3
Triadimenol	0.0042	0.0140	0.0059	0.0196	0.1-2
Tolyfluanid	0.0055	0.0185	0.0032	0.0107	0.05-0.1
Tebuconazole	0.0019	0.0063	0.0028	0.0094	0.05-5
Famoxadone	0.0054	0.0178	0.0046	0.0153	0.02-2
Chlorpyrifos	0.0030	0.0101	0.0040	0.0134	0.05-1

#### 4.1.3.3. Doğruluk ve kesinlik

Doğruluk, bir ölçüm metodundan elde edilen sonuçların gerçek değere yakınlığını ifade etmektedir. Doğruluğun kesinlik (precision) ve gerçeklik (trueness) olmak üzere iki bileşeni bulunmaktadır. Gerçeklik bilinen bir gerçek değere yakınlığın ölçüsüyken, kesinlik, homojen bir örneğin çoklu analizinden elde edilen tek tek ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının bir ölçüsüdür. Doğruluk değerini göstermek için %ortalama geri kazanım oranları gerçeklik, %RSD değerleri ise kesinlik bileşeninin ölçütü olarak değerlendirilmiştir (Karaman ve Akalın 2008, Söğüt Ertaş ve Kayalı 2005, Gonzales vd 2010, Betz vd 2011, Mermet ve Granier 2012, Peters vd 2007, Feinberg 2007).

Doğruluk ve kesinlik değerleri geri kazanım çalışmaları yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, standart maddelerin örnek körüne eklenmesiyle geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Örneklere 0.01 ve 0.1 µg/mL olmak üzere iki farklı konsantrasyonda standart ekleme işlemi yapılarak geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Bunun için 15 g örnek tartıldıktan sonra her bir örneğe 5 µg/mL'lik karışımdan 0.01 µg/mL için 30 µL ve 0.1 µg/mL için 300 µL ilave edilmiş ve ekstraksiyona devam edilmiştir. Bu işlem 10 tekrarlı olarak yapılmıştır. Her iki matriksteki geri kazanım çalışmaları her bir aktif madde için %ortalama geri kazanım, standart sapma ve %bağlı standart sapma (%RSD) olarak ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7'de domateste ve Çizelge 4.8'de hıyarda 0.01 µg/mL ve 0.1 µg/mL'lik zenginleştirmelerden elde edilen ortalama geri kazanım, standart sapma ve %bağlı standart sapma değerleri verilmektedir. SANCO/12495/2011 direktifine göre gıdalardaki pestisit kalıntılarının analizi için uygulanan çoklu kalıntı metotlarının validasyonu için elde edilen %RSD değerlerinin %20'den küçük ve elde edilen %geri kazanımların ise 70-120 aralığında olması gerektiği vurgulanmaktadır (Anonymous 2011). Çalışma sonuçları domates ve hıyar matrikslerinde her bir aktif madde için belirlenen %ortalama geri kazanım ve %RSD değerleri SANCO/12495/2011 direktifinde belirtilen değerlere göre uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Domates örneğinde yapılan zenginleştirmeler, %ortalama geri kazanım, standart sapma ve %RSD değerleri

Aktif Madde	1. Zenginleştirme			2. Zenginleştirme		
	% Ort. Geri kazanım	SD	% RSD	% Ort. Geri kazanım	SD	% RSD
Oxamyl	82.25	0.90	10.92	83.86	2.80	3.34
Methomyl	103.07	1.36	13.22	93.94	2.68	2.85
Carbendazim	84.22	0.55	6.57	83.19	3.11	3.74
Imidacloprid	99.26	1.14	11.50	95.32	4.41	4.63
Acetamiprid	77.80	0.58	7.41	81.25	3.57	4.39
Pirimicarb	85.21	0.44	5.16	84.94	3.66	4.31
Pyrimethanil	92.87	1.76	18.98	84.18	5.74	6.82
Imazalil	87.23	0.95	10.92	88.73	4.20	4.74
Metalaxyl	98.21	0.69	7.04	99.97	4.07	4.07
Diethofencarb	99.74	1.31	13.17	98.95	5.54	5.60
Azoxystrobin	94.07	1.12	11.90	86.59	4.24	4.90
Cyprodinil	84.61	1.21	14.26	85.31	3.55	4.16
Dimethomorph_1	96.36	1.78	18.50	101.14	4.28	4.23
Dimethomorph_2	98.33	0.89	9.08	107.51	7.16	6.66
Triadimenol	92.26	1.40	15.17	102.97	6.79	6.60
Tolyfluanid	113.66	1.85	16.27	90.51	11.40	12.60
Tebuconazole	95.68	0.63	6.60	104.96	4.39	4.18
Famoxadone	93.99	1.78	18.99	104.97	8.18	7.80
Chlorpyrifos	113.99	1.01	8.82	92.95	6.76	7.27

Çizelge 4.7. Hıyar örneğinde yapılan zenginleştirmeler, %ortalama geri kazanım, standart sapma ve %RSD değerleri

Aktif Madde	1. Zenginleştirme			2. Zenginleştirme		
	% Ort. Geri kazanım	SD	% RSD	% Ort. Geri kazanım	SD	% RSD
Oxamyl	89.92	0.66	7.32	94.68	3.70	3.91
Methomyl	101.70	1.46	14.35	98.35	4.66	4.74
Carbendazim	103.75	0.88	8.48	99.57	2.89	2.90
Imidacloprid	96.70	1.56	16.18	92.13	6.27	6.81
Acetamiprid	99.12	0.76	7.62	97.16	3.52	3.63
Pirimicarb	92.49	0.58	6.24	80.76	1.61	1.99
Pyrimethanil	90.30	1.35	14.95	84.62	3.31	3.91
Imazalil	107.73	1.75	16.29	89.34	9.74	10.90
Metalaxyl	98.94	0.58	5.86	94.20	3.21	3.41
Diethofencarb	92.02	1.15	12.54	89.92	2.54	2.82
Azoxystrobin	90.06	0.39	4.35	91.34	3.64	3.99
Cyprodinil	90.35	1.57	17.34	86.85	3.74	4.30
Dimethomorph_1	81.72	0.85	10.34	90.71	3.91	4.31
Dimethomorph_2	86.87	1.38	15.87	89.04	3.39	3.80
Triadimenol	110.28	1.96	17.80	85.50	3.08	3.60
Tolyfluanid	99.37	1.07	10.78	80.18	8.54	10.65
Tebuconazole	81.64	0.94	11.56	86.10	4.13	4.79
Famoxadone	80.98	1.53	18.93	86.63	5.88	6.79
Chlorpyrifos	118.62	1.34	11.32	95.56	6.13	6.42

Çalışma sonucu ortalama geri kazanımlar domates matriksi için %77.80-113.99 ve bağıl standart sapmalar %3.74-18.99 aralığında bulunurken hıyar matriksinde bu değerler sırasıyla %80.18-118.62 ve %1.99-18.93 aralığında tespit edilmiştir.

## **4.2. LC-FAIMS-MSMS Analizleri**

### **4.2.1. FAIMS cihazında temel parametrelerin optimize edilmesi**

FAIMS'te iyonların ayrılmasında; dağılma voltajı (dispersion voltage- DV), dengeleyici voltaj (compensation voltage- CV), elektrotların sıcaklıkları, taşıyıcı gaz bileşimi, taşıyıcı gaz akış hızı ve iyonizasyon probunun konumu etkili olmaktadır. Bu nedenle bu parametrelerin istenilen analize uygun şekillerde ayarlanması gerekmektedir. Bu ayarlama işlemlerinin nasıl yapıldığına geçmeden önce, FAIMS cihazında bulunan ayar parametreleri ve bu parametrelerin nasıl ayarlandığı ve sonuca olan olası etkileri hakkında kısa bir bilgi vermek daha uygun olacaktır. Bu temel parametreler cihaz el kitabından özetlenerek sunulmuştur (Anonymous 2007a).

#### **4.2.1.1. Dağılma voltajı (DV)**

Dağılma voltajı asimetrik dalganın pik potansiyelini oluşturmaktadır. DV değeri arttıkça, iyonun sinyal şiddeti artmakta ve ayrıca CV değeri de artma eğilimi göstermektedir. DV değeri genellikle en yüksek değer olan  $\pm 5000$  V ayarlanmaktadır. Bu değer negatif iyonlar için pozitif, pozitif iyonlar içinse negatif polaritede kullanılmalıdır (Anonymous 2007a). Bazı maddelerin analizlerinde bu parametrenin, pozitif iyonlar için  $-4500$ V veya  $-4000$ V, negatif iyonlar için de  $+4500$ V veya  $+4000$ V kullanılması durumunda daha iyi ayırım sağladığı belirtilmektedir. DV değeri düştükçe hassasiyet ve CV değeri düşmekte, CV pik genişliği daralmakta ve bu şekilde daha iyi seçicilik sağlanabilmektedir (Anonymous 2007b).

#### **4.2.1.2. Dengeleyici voltaj (CV)**

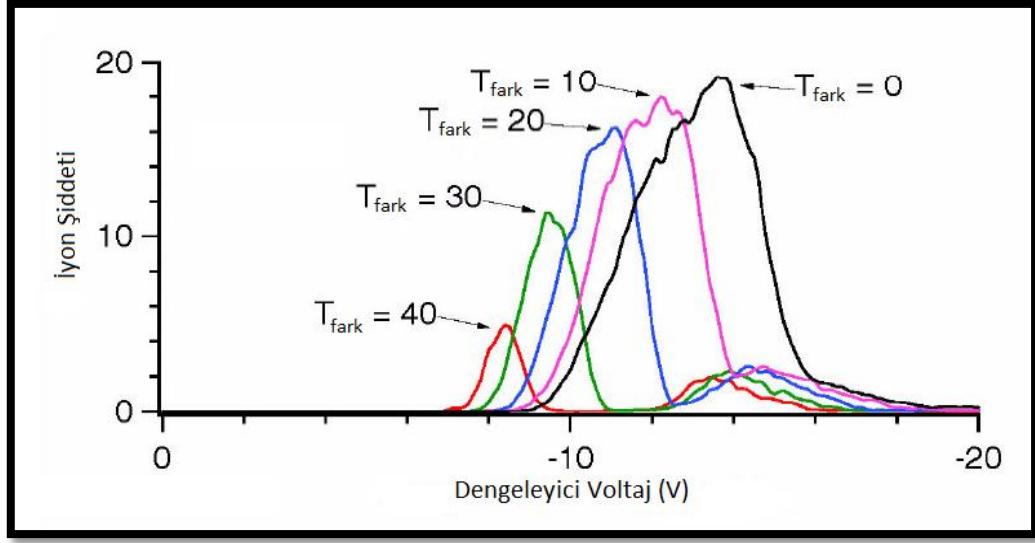
Dengeleyici voltaj seçilen iyonların elektrotlar aracılığıyla iletimini sağlamak için iç elektrota uygulanmakta ve doğrusal akım potansiyelini dengelemektedir. CV değeri genellikle pozitif iyonlar için negatif, negatif iyonlar içinse pozitiftir. Bu değer her analit için farklılık göstermekte ve cihaza sıra ile etken maddeler enjekte edilerek belirli bir zaman sürecinde en uygun dengeleyici voltajın hangisi olduğunu belirten bir sayısal değer tespit edilerek yapılmaktadır (Anonymous 2007a).

#### 4.2.1.3. Elektrot sıcaklıkları

Elektrotların sıcaklıkları, elektrotların içindeki gaz yoğunluğunu değiştirerek iyonların seçimini etkileyebilmektedir. Sıcaklık kontrolü, kararlı koşullara hızlı bir şekilde ulaşılmasını ve bu koşulların sürekli olarak korunmasını sağlayabilmektedir. Sistemin dengelenmesi sırasında CV değerinin değişmesini önlemek için elektrotların sıcaklıklarının kontrol edilmesi gerekmektedir. İç ve dış elektrot sıcaklıkları birbirinden bağımsız olarak ayarlanmaktadır. Sıcaklık, elektrotlar arasından geçen gaz akışıyla kontrol edilmektedir. İç ve dış elektrotların sıcaklıkları arasındaki farklılık seçiciliği arttırmak için de kullanılmaktadır. Genellikle iç elektrot sıcaklığı 70°C ve dış elektrot sıcaklığı 90°C'ye ayarlanmaktadır (Anonymous 2007a). Bazı bileşikler için iki elektrot sıcaklığının aynı oranlarda azaltılması (sırasıyla 50°C ve 70°C), seçicilik ve hassasiyeti arttırmaktadır. Daha iyi bir seçicilik ise genellikle elektrotlar arasındaki sıcaklık farkı artırılarak (sırasıyla 60°C ve 90°C) elde edilmektedir. Ancak daha yüksek sıcaklık farklılıklarında hassasiyet azalabilmektedir. Kimyasal analogların birbirinden ayrılmadığı durumlarda ise elektrot sıcaklıklarını tam tersine çevirmek (sırasıyla 90°C ve 70°C) yararlı olabilmektedir. Elektrot sıcaklıkları hızlı bir şekilde dengeye gelmesine rağmen elektrotlardaki uçucu kalıntıların uzaklaştığından emin olmak için ilk örnek enjeksiyonu verilmeden önce 30 dakika boyunca bekleme yapılması optimum sonuçların alınması açısından önemlidir (Anonymous 2007b).

Konuyu daha anlaşılır kılmak için, Şekil 4.11'de dış elektrot sıcaklığının iç elektrot sıcaklığından yüksek olduğu durumda elektrotlar arasındaki sıcaklık farklılıklarının minoxidil etken maddesinin iyon şiddetine ve CV'ye olan etkisi gösterilmiştir (Anonymous 2007a). Şekilde görüldüğü gibi minoxidil maddesi için iç ve dış elektrot sıcaklıkları eşit olduğunda, elde edilen iyon şiddeti artmakta ancak sıcaklıklar arasındaki fark arttıkça bu maddeye ait iyon şiddeti azalmaktadır. Bununla birlikte minoxidil için elde edilen CV değeri de elektrotlar arasındaki sıcaklık farkına bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

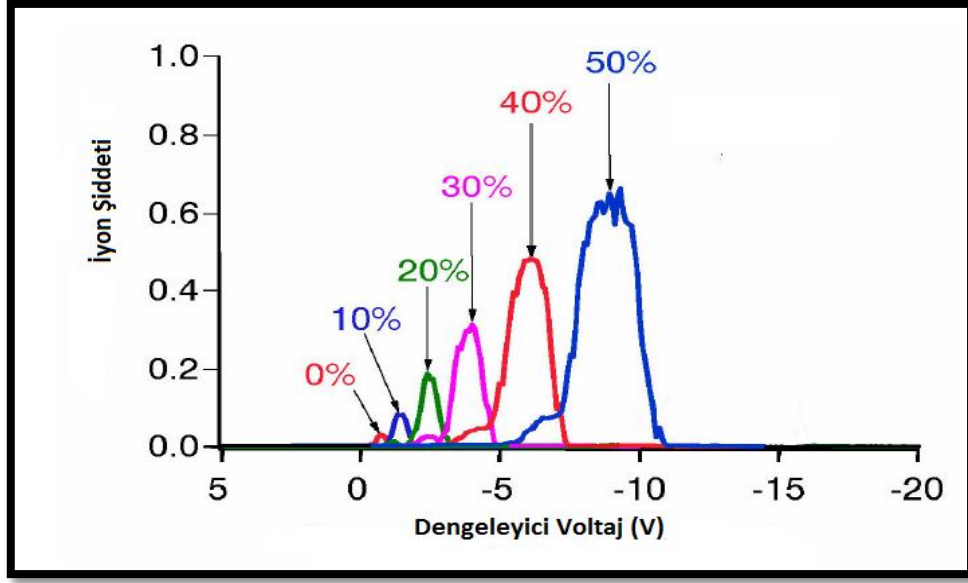




Şekil 4.10. İç ve dış elektrot sıcaklık farklarının minoxidil maddesinin iyon şiddetine ve CV değerine olan etkisi (Anonymous 2007a)

#### 4.2.1.4. Taşıyıcı gaz bileşimi

Taşıyıcı gaz, elektrot düzeneği aracılığıyla iyonların taşınmasını sağlamaktadır. Taşıyıcı gaz ve iyonlar arasında gerçekleşen etkileşimler analizlerin seçicilik ve hassasiyetini etkilemektedir. Düşük molekül ağırlığına sahip bazı bileşiklerin analizleri için %100 azot gazı ve pozitif iyonlar için pozitif DV veya negatif iyonlar için negatif DV değerinin kullanımının analizlerin hassasiyetini arttırabileceği bildirilmektedir (Anonymous 2007a). Bazı durumlarda taşıyıcı gaz bileşiminde He gazının %50'nin altında kullanılması ayırımı arttırmaktadır. %He kullanımı düştükçe CV pik genişliğinde daralma olurken hassasiyet ve CV değerlerinde azalma olmaktadır (Anonymous 2007b). Şekil 4.12'de atrazine için He gazının yüzde olarak kullanımının iyonun sinyal şiddetine ve çözünürlüğe olan etkisi gösterilmektedir (Anonymous 2007a). Taşıyıcı gaz bileşiminde kullanılan He yüzdesi arttıkça atrazin için elde edilen iyon şiddeti artmakta ve buna bağlı olarak da CV değeri değişmektedir. Şekilde de görüleceği gibi 50:50  $N_2$ :He gaz bileşimi birçok analiz için çok uygun bir değer olmaktadır.



Şekil 4.11. %He kullanımının atrazin maddesinin iyon şiddetine ve çözünürlüğe olan etkisi (Anonymous 2007a)

#### 4.2.1.5. Taşıyıcı gaz akış hızı

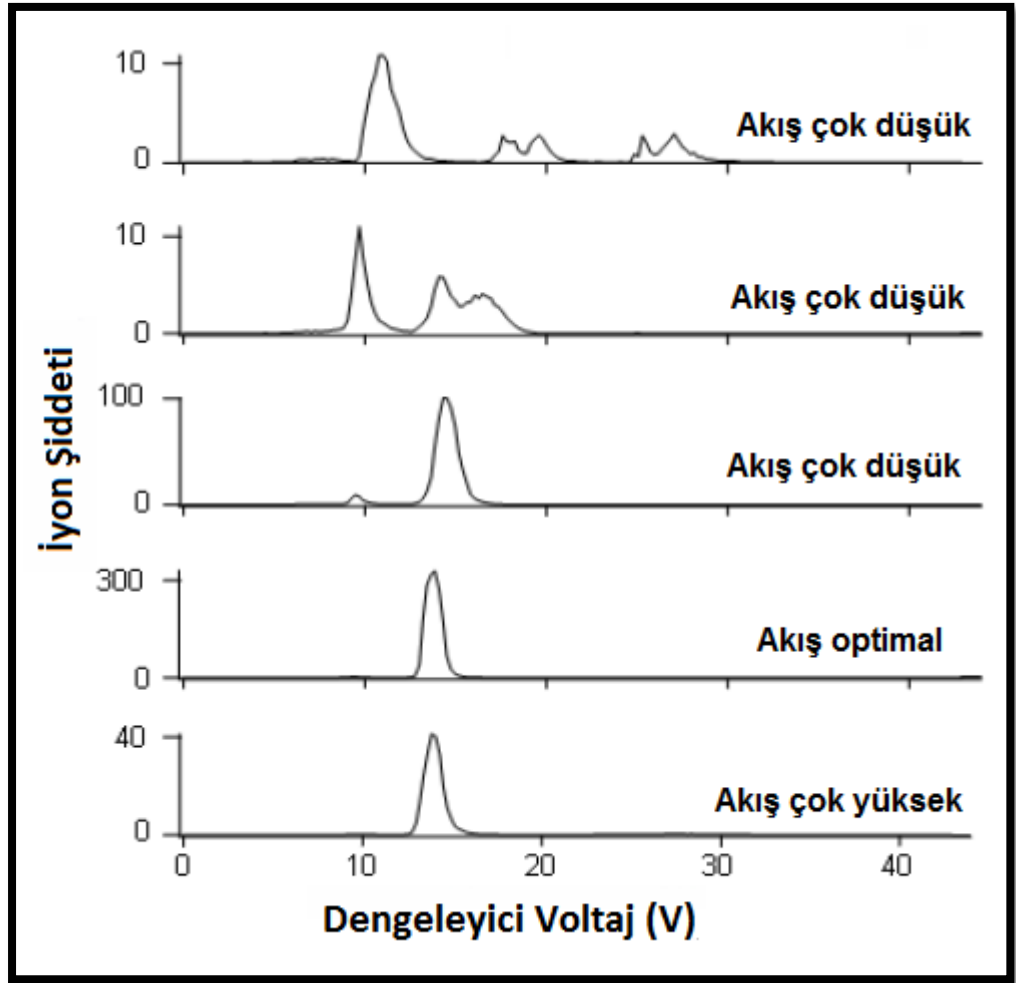
Taşıyıcı gaz akış hızı da üzerinde durulması gereken diğer bir parametreyi oluşturmaktadır. Optimal bir taşıyıcı gaz akış hızının 2.5 ile 4 L/dk arasında olduğu bildirilmektedir. LC-MSMS sistemlerinde iyonizasyon kaynağında oluşturulan iyonların hareketli fazdan ayrılması gerekmektedir. Bu şekilde hareketli fazın neden olduğu gürültü de azaltılmaktadır. FAIMS sisteminde bu ayrımın daha iyi olması için uygun bir taşıyıcı gaz akış hızı seçilmelidir. Eğer bu değer önerilen akış hızından çok düşük olursa taşınan iyonların hareketli fazdan (sıvı) ayrımı iyi olmamaktadır. Bu gibi durumlarda aşağıda belirtilen olaylar gözlemlenebilmektedir;

- Belirli bir  $m/z$  değeri için CV spektrumunda çeşitli çözücülerden kaynaklanabilen bazı pikler oluşmaktadır.
- CV değeri, belirli bir iyon için önceden belirlenen değerden farklılık göstermektedir.
- Elde edilen iyonların sinyal şiddetleri düşmektedir.

- Hareketli fazdan iyi bir şekilde ayrılmış iyonların CV değerleri ile tam olarak ayrılamamış iyonlar için tespit edilen CV değerleri arasında farklılıklar olmaktadır.

FAIMS'te taşıyıcı gaz akış hızı değerinin, önerilen değer çok üzerinde kullanılması, iyonların sisteme giriş yaptığı plakanın önünde türbülansa neden olabilmektedir. Bu da analitler için belirlenen CV değerlerini değişmeden kalmasına rağmen iyonların sinyal şiddetlerinin olması gereken değerden düşük olmasına yol açmaktadır.

Şekil 4.13'te örnek olarak, FAIMS'te taşıyıcı gaz akış hızının tereftalik asidin CV değerine ve iyon şiddetine olan etkisi gösterilmektedir (Anonymous 2007a). Taşıyıcı gaz akış hızı olması gereken değerden çok düşük kullanılırsa şekilde görüldüğü gibi tereftalik aside ait CV piki dışında başka pikler gözlenebilmekte, CV değeri veya elde edilen iyon şiddeti değişmektedir. Çok yüksek akışlarda çalışıldığında ise tereftalik asit için elde edilen iyon şiddeti düşmektedir. Bu parametrenin optimal değerlerde tutulması analiz sonuçlarının doğruluğu açısından önem taşımaktadır.

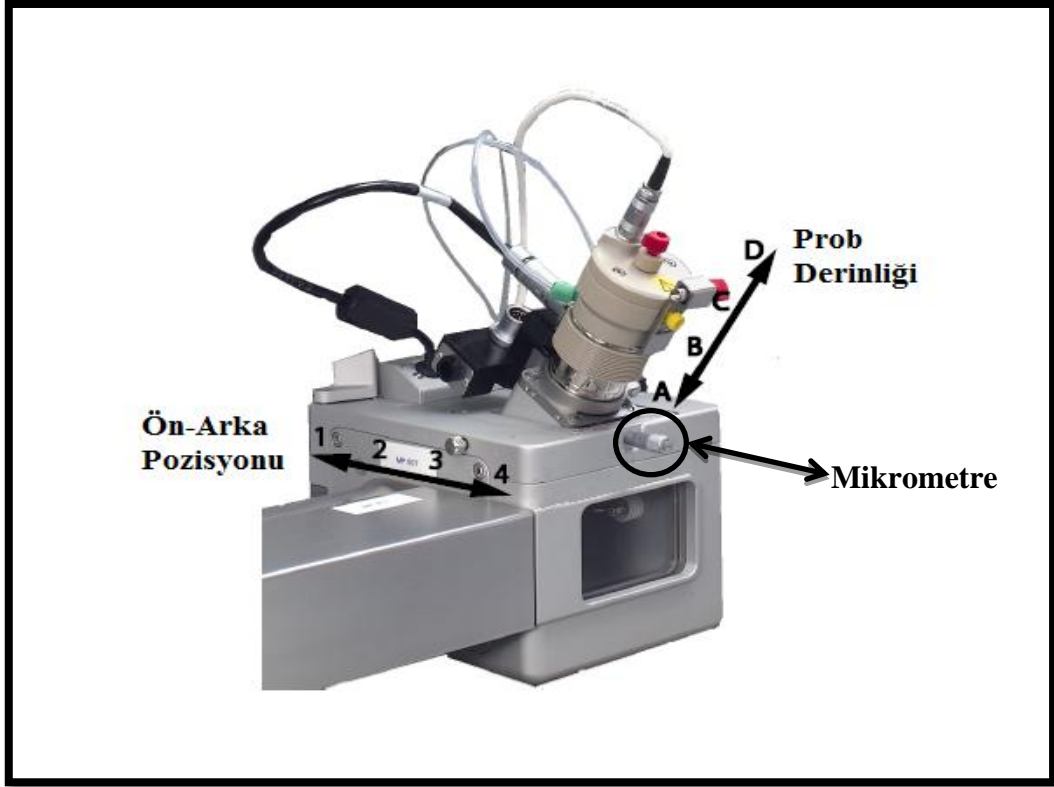


Şekil 4.12. Taşıyıcı gaz akış oranının tereftalik asidin CV değerine ve iyon şiddetine olan etkisi (Anonymous 2007a)

#### 4.2.1.6. İyonizasyon modülünün (H-ESI) optimizasyonu

FAIMS analizlerinde en iyi sonuçlar, mümkün olduğunca hareketli fazdan iyi arındırılmış iyonlarla sağlanmaktadır. Bu nedenle iyonizasyon modülü olarak H-ESI kullanılmıştır. İyonizasyon modülünün iyonların giriş yerine olan yakınlığı-uzaklığı üzerinde durulması gereken bir konudur. Probun ucuyla iyonların sisteme giriş yaptığı yer arasındaki mesafenin çok yakın olmaması gerektiği bildirilmektedir. Genellikle iyonların sisteme giriş yaptığı yer ile probun uzaklığı 1.5 mm'den fazla olmasının iyi sonuçlar verdiği yaptığımız denemelerde de gözlenmiştir. Ancak bu durum bileşiğe, hareketli faza ve sıvı akış hızına bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. Bu nedenle

optimizasyon çalışmalarına iyonizasyon prop derinliği C veya D pozisyonunda olacak şekilde başlanmalı ve mümkün olduğu kadar aradaki mesafe geriye doğru açılmalıdır. Probu ön arkaya hareketi, iyonizasyon modülünün önünde yer alan mikrometre aracılığıyla yapılmaktadır. Şekil 4.14'te H-ESI probunun konumları gösterilmektedir.



Şekil 4.13. H-ESI probu (Anonymous 2007b)

FAIMS'in kullanıldığı durumlarda, H-ESI veya APCI buharlaştırma sıcaklığı (vaporizer temperature), FAIMS olmaksızın yani sadece LC-MSMS ile yapılan çalışmalarda kullanılan değere göre yükselmektedir. 200  $\mu\text{L}/\text{dk}$  sıvı akış hızı için H-ESI modülünün sıcaklık optimizasyon çalışmalarına 300°C ile başlanması ve maksimum kararlı sinyalin elde edildiği sıcaklık değerine kadar 50°C'lik artışlarla 500°C'ye kadar çıkılması önerilmektedir (Anonymous 2007b).

İyonizasyonda bazı gazlar kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan cihazın yazılımında nasıl yer alıyorsa öyle kullanmayı bu gazların ismini Türkçe'ye çevirmemeyi daha uygun bulduk. Bu gazlardan sheath gazı, kararlı bir iyon demeti elde

etmeyi sağlarken auxiliary gaz, çözünen ortamdan uzaklaştırmaktadır. Bu gazların optimizasyonu iyi bir sinyal şiddetinin elde edilebilmesi açısından çok önem taşımaktadır. FAIMS ile yapılan analizlerde FAIMS cihazı kullanılmadan yapılan analizlere göre iyonizasyonda daha fazla sheath ve auxiliary gaz kullanımına ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir. Örneğin FAIMS'in kullanılmadığı çalışmalarda sheath ve auxiliary gaz akış hızları sırasıyla 20 ve 10 birim olarak kullanılıyorsa kararlı bir püskürtme gözleninceye kadar 10 birimlik artışlarla akış hızları artırılmalıdır. Sheath ve auxiliary gaz akışlarının daha yüksek olması genel olarak daha küçük damlacıkların oluşumuna ve daha iyi püskürtmenin elde edilmesine neden olmaktadır. Bu şekilde iyonların taşıyıcı fazdan ayrılması sağlanmaktadır (Anonymous 2007b). Yaptığımız denemelerde sheath gaz değeri 30 ve auxiliary gaz değerinin 20 olması durumunda en uygun sonucun alındığı belirlenmiştir.

#### **4.2.1.7. Kütle spektrometre koşullarının optimizasyonu**

Kütle spektrometresinin koşulları da analizlerin performanslarını etkilemektedir. FAIMS cihazına ait parametrelerin optimizasyonu yapıldıktan sonra kütle spektrometresindeki bazı parametrelerin de tekrar gözden geçirilmesi gerekmektedir.

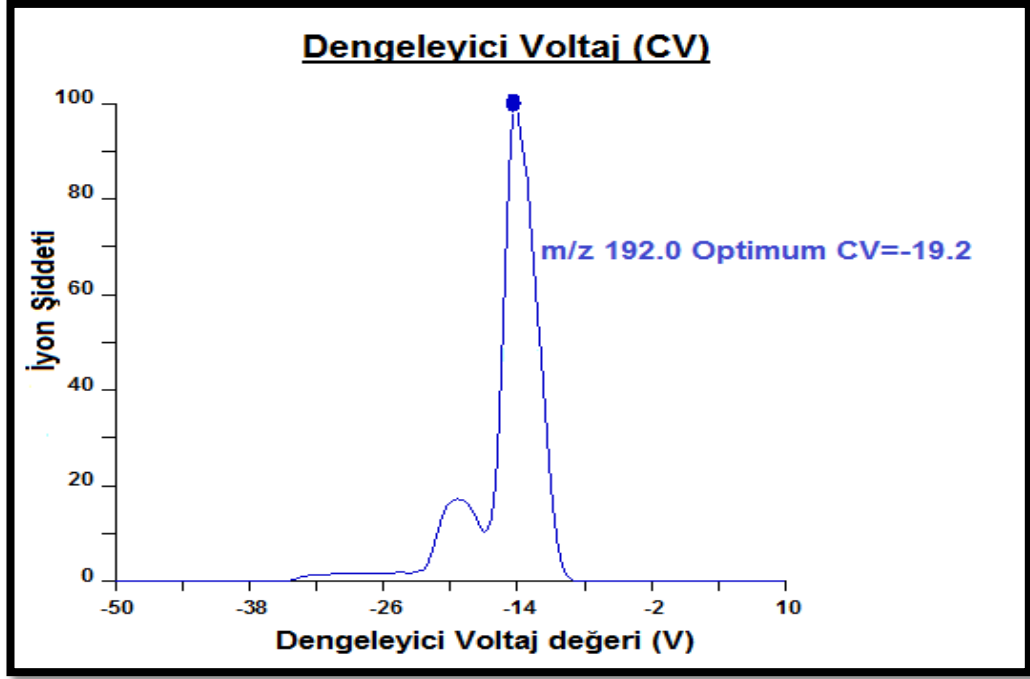
Tüp lens voltajı, FAIMS parametrelerinin optimizasyonu yapıldıktan sonra ayarlanmalıdır. Bu şekilde FAIMS elektrotlarından çıkan iyonların, FAIMS olmadan yapılan analizlerdeki iyonlara kıyasla hareketli fazdan daha iyi ayrılması sağlanabilmektedir (Anonymous 2007b).

H-ESI parametrelerinin optimize edilmesiyle maksimum sinyal elde edildikten sonra kapiler sıcaklık (iyon geçiş tüpü sıcaklığı) düşürülerek elde edilen iyon şiddetleri değerlendirilmelidir. Bu işlem H-ESI ile küçük küçük damlacıklar şeklinde elde edilen iyonların, FAIMS elektrotlarını geçtikten sonra daha kuru olması (desolvation) veya hareketli fazdan daha iyi ayrılması için yapılmaktadır. Bu şekilde daha kuru iyonlar elde edildiği için FAIMS olmadan yapılan çalışmalarda kullanılan kapiler sıcaklığı düşürmek iyon şiddetini artırabilmektedir (Anonymous 2007b).

Yukarıdaki bilgiler doğrultusunda LC-FAIMS-MSMS sisteminin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Dengeleyici voltaj dışındaki diğer FAIMS parametreleri bir kez belirlenen parametreler olduğu için bu çalışma örnek bir pestisit seçilerek yapılmıştır. Çalışma, 500 µg/L konsantrasyonda carbendazim pestisitinin infüzyonu ile yapılmıştır. Hareketli faz varlığında CV değerlerinin değişeceği öngörüldüğü için carbendazim infüzyonu 300 µL hareketli faz akışı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sürekli olarak cihaza carbendazim enjekte edilmesi ve yukarıda özet olarak sunduğumuz FAIMS parametrelerinin analist tarafından ekranda sinyal şiddeti gözlenerek sıra ile değiştirilmesi esasına göre yapılmak zorundadır. Her bir parametrenin değiştirilmesinin iyon şiddetine olan etkisi eş zamanlı olarak ekrandan takip edilmiş ve en yüksek iyon şiddetinin elde edildiği parametreler temel alınmıştır. Çizelge 4.8’de LC-MSMS analizlerinde kullanılan parametrelerle carbendazim için belirlenen FAIMS parametrelerinin karşılaştırmalı listesi verilmiştir. Carbendazim için en uygun dengeleyici voltajın belirlenmesi için yapılan test çalışmasından elde edilen grafik Şekil 4.15’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.8. LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS için belirlenen cihaz parametreleri

Parametre	LC-MSMS	LC-FAIMS-MSMS
İyonizasyon modülü	ESI	H-ESI
İyonizasyon prob derinliği	D	C
Prob mikrometre konumu (mm)	1.0	1.5
Sheath gaz basıncı	50	30
Auxiliary gaz basıncı	10	20
Buharlaştırma sıcaklığı (°C)	50	400
Toplam gaz akışı (L/dk)	--	3.5
İç elektrot sıcaklığı (°C)	--	100
Dış elektrot sıcaklığı (°C)	--	100
Dağılma voltajı (V)	--	-5000
% He kullanımı	--	50
% N <sub>2</sub> kullanımı	100	50



Şekil 4.14. Carbendazim için belirlenen CV grafiği

#### 4.2.2. Dengeleyici voltaj (CV) değerlerinin belirlenmesi ve metodun oluşturulması

Carbendazim için belirlenen cihaz parametreleri sabit tutularak diğer pestisitlerin CV değerleri belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmada 500 µg/L konsantrasyonunda çalışma konusu pestisitleri içeren karışım kullanılmıştır. Pestisitlere ait CV değerlerinin belirlenmesi 300 µL'lik hareketli faz akışı ile yapılmıştır. LC-MSMS ile analitler pozitif iyon modunda araştırıldığı ve pozitif iyonların negatif CV değerleri aldığı bilindiği için -50V ile 10V aralığında tarama yapılarak analitlere ait CV değerleri belirlenmiştir. Çizelge 4.9'da çalışma konusu aktif maddeler için belirlenen CV ve tüp lens voltaj değerleri ve bu değerler doğrultusunda belirlenen alıkonma zamanları verilmektedir.



Çizelge 4.9. Araştırma konusu aktif maddeler için belirlenen CV, tüp lens voltaj değerleri ve alıkonma zamanları

<b>Aktif Madde</b>	<b>CV (V)</b>	<b>Tüp lens voltajları (V)</b>	<b>RT (dk)</b>
Oxamyl	-29.3	101	--
Methomyl	-21.8	106	--
Carbendazim	-19.2	74	1.10
Imidacloprid	-23.3	77	1.92
Acetamiprid	-14.0	77	--
Pirimicarb	-23.3	61	4.73
Pyrimethanil	-25.4	92	6.81
Imazalil	-19.1	80	6.82
Metalaxyl	-23.9	62	7.06
Diethofencarb	-23.9	57	7.86
Azoxystrobin	-19.4	71	8.14
Dimethomorph_1	-17.0	87	8.35
Dimethomorph_2	-17.0	87	8.92
Cyprodinil	-23.3	85	9.17
Triadimenol	-23.0	58	--
Tolyfluanid	-27.2	58	--
Tebuconazole	-32.0	88	11.35
Famoxadone	-17.9	59	--
Chlorpyrifos	-24.5	62	14.09

LC-FAIMS-MSMS çalışmasında da, LC-MSMS çalışmasında kullandığımız aynı gradyen analiz metodu kullanılmıştır. Metodun oluşturulmasında aktif maddelere özgü olarak belirlenen tüp lens voltaj değerleri de yer almaktadır. Ayrıca LC-MSMS çalışmasından elde edilen analitlere ait alıkonma zamanları göz önünde bulundurularak her bir analit için belirlenen dengeleyici voltaj değerlerinin hangi zaman aralıklarında uygulanacağı da metoda yazılmıştır. Daha sonra sıvı kromatografisi cihazına enjeksiyonlar yapıp daha önce oluşturulan gradyen metot kullanılarak LC-FAIMS-MSMS koşullarında denemeler yapılmıştır. Burada amacımız, her bir analit için daha önce belirlenen dengeleyici voltaj değerine otomatik olarak kendini ayarlayan FAIMS cihazının seçilen iyonları kütle analizörü içine gönderip gönderemediğini anlamaktır. Çizelge 4.9'da da görülebileceği gibi, LC-FAIMS-MSMS'de yapılan çalışmada oxamyl, methomyl, acetamiprid, triadimenol, tolyfluanid ve famoxadone'a ait pikler gözlemlenememiştir. Bu durumun nedeninin, carbendazim için belirlenen cihaz parametrelerinin yukarıda adı geçen pestisitler için uygun olmaması olduğu

düşünülmüştür. Bu tezi doğrulamak için famoxadone pestisiti kullanılarak bütün bir optimizasyon çalışması tekrarlanmış yani carbendazim için yaptığımız ayarlama çalışmaları yeniden famoxadone için yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar düşüncemizi doğrulamıştır. Famoxadone için FAIMS parametre koşulları değişmektedir. Çizelge 4.10'da carbendazim için belirlenen parametrelerle famoxadone için belirlenen parametrelerin karşılaştırmalı listesi verilmektedir.

Çizelge 4.10. Carbendazim için belirlenen FAIMS parametreleri ile famoxadone için belirlenen parametreler

<b>Parametre</b>	<b>Carbendazim</b>	<b>Famoxadone</b>
İyonizasyon modülü	H-ESI	H-ESI
İyonizasyon prob derinliği	<b>C</b>	<b>D</b>
Prob mikrometre konumu (mm)	1.5	1.5
Sheath gaz basıncı	30	30
Auxiliary gaz basıncı	20	20
Buharlaştırma sıcaklığı (°C)	400	400
Toplam gaz akışı (L/dk)	3.5	3.5
İç elektrot sıcaklığı (°C)	<b>100</b>	<b>120</b>
Dış elektrot sıcaklığı (°C)	<b>100</b>	<b>120</b>
Dağılma voltajı (V)	-5000	-5000
% He kullanımı	50	50
% N <sub>2</sub> kullanımı	50	50
Famoxadone'a ait CV değerleri (V)	<b>-17.9</b>	<b>-18.3</b>
Famoxadone'a ait tüp lens değerleri (V)	<b>59</b>	<b>48</b>

Parametrelerin famoxadone'a göre değiştirilmesi sonucu kromotogramda bu pestisite ait sinyal elde edilmiştir. Famoxadone için bulunan CV değeri, tüp lens voltajı, iç ve dış elektrot sıcaklık değerleri ile iyonizasyon prob derinliği farklılık göstermektedir. Famoxadone için elde edilen yeni değerlere göre FAIMS koşulları ayarlandığında, elde edilen iyon şiddetinin de yaklaşık dört kat arttığı tespit edilmiştir. Bu da cihaz parametrelerinin tek tek analit bazında analiz sonuçları üzerinde çok etkili olduğunun bir göstergesidir. FAIMS cihazında, belirli bir zaman aralığında uygulaması gereken

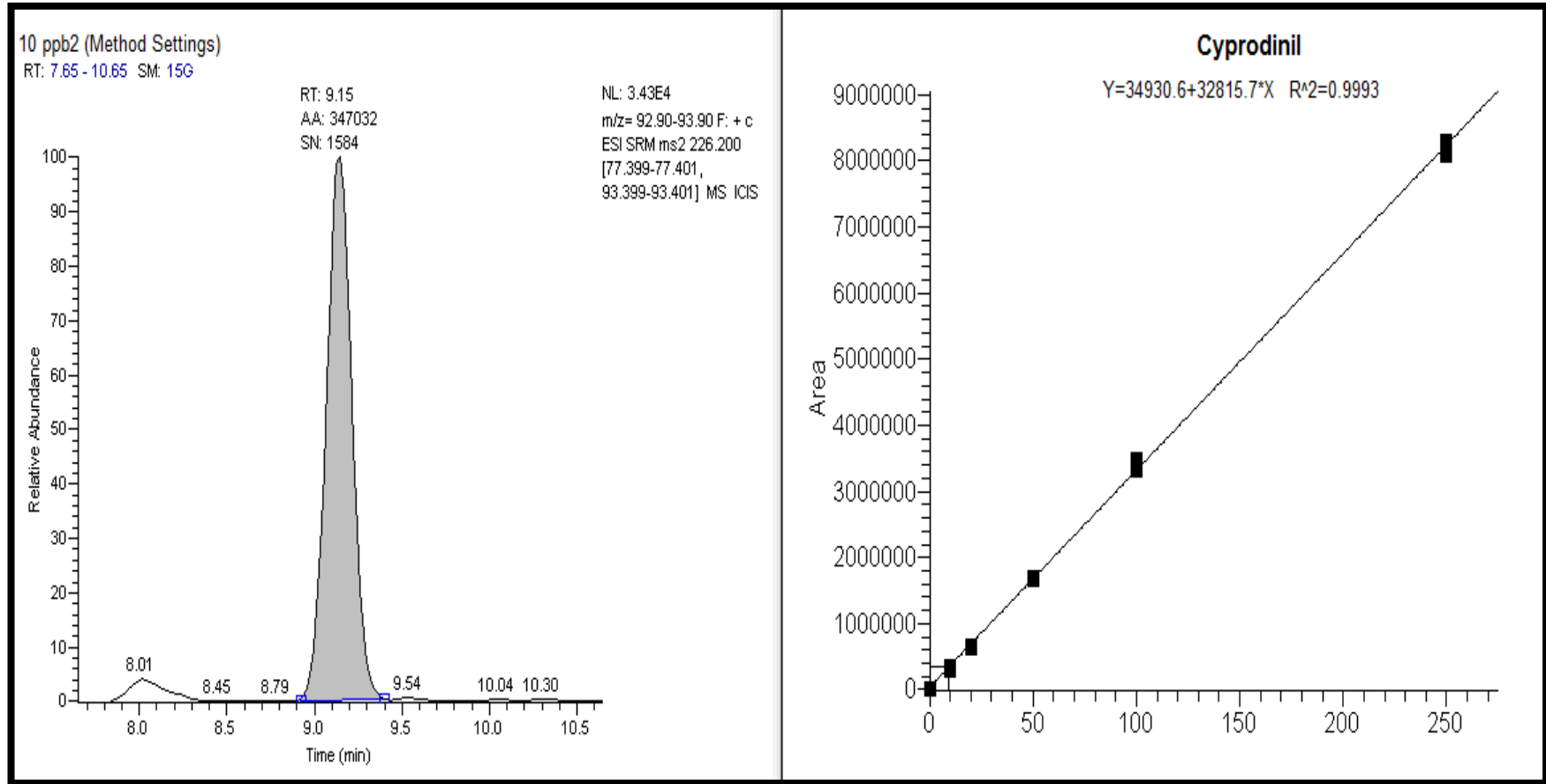
dengeleyici voltaj ve t p lens voltaj değerleri değiştirebilmesine rağmen aynı enjeksiyon süresince i ve dış elektrot sıcaklıkları, iyonizasyon prob derinliği gibi analit sinyal şiddeti üzerinde önemli etkisi olan parametreleri analiz esnasında değiştirmek mümkün değildir. Literatürde FAIMS ile yapılmış çoklu kalıntı analizi bulunmamaktadır. Cihazda analiz esnasında sabit kalan parametrelerin analite özgü olarak değiştirilmesi gereksinimi bu cihazın, pestisitler gibi tek bir enjeksiyonla yüzlerce aktif maddenin araştırıldığı çoklu kalıntı analizleri için pek uygun olmadığını göstermektedir. Ancak yine de bir karşılaştırma olanağı sunması ve FAIMS'in avantajlarını açığa çıkarması amacıyla, çalışmanın carbendazim için belirlenen FAIMS koşulları dikkate alınarak sürdürülmesine karar verilmiştir. FAIMS kullanılarak belirlenen 13 pestisit için, daha önce LC-MSMS çalışmasında kullanılan metot ile LC-FAIMS-MSMS cihazında validasyon çalışması aynı şekilde tekrarlanmış ve daha sonra LC-MSMS ve FAIMS kullanılarak elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır.

#### **4.2.3. Metot validasyonu**

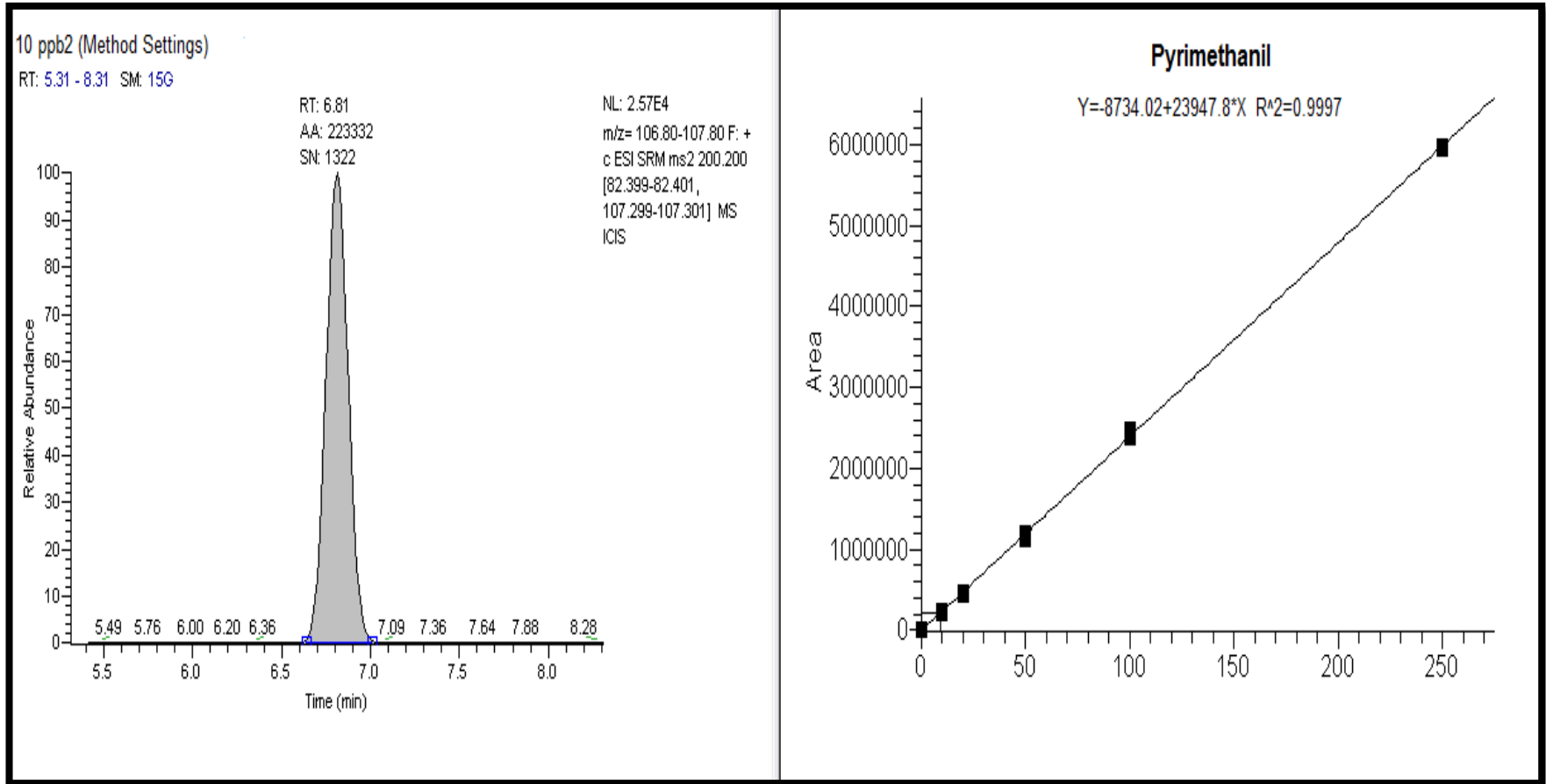
Metot validasyon alışmaları LC-MSMS analizleri kısmında açıklanan şekilde gerçekleştirilmiştir.

##### **4.2.3.1. Doğrusallık**

Doğrusallık alışmaları için artan konsantrasyonlarda matriks uyumlu kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda her iki matriks ve 13 aktif madde için elde edilen  $r^2$  değerlerinin, kabul edilebilir değer olan 0.99'dan büyük olduğu tespit edilmiştir. şekil 4.16'da domates matriksinde cyprodinil ve şekil 4.17'de hıyar matriksinde pyrimethanil pestisitlerine ait örnek kalibrasyon grafikleri gösterilmektedir. Çizelge 4.11'de ise domates ve hıyar matrikslerinde tüm aktif maddeler için elde edilen doğruların denklemleri ve korelasyon katsayıları ( $r^2$ ) sunulmuştur.



Şekil 4.15. Domates matriksinde cyprodinil pestisiti için elde edilen kalibrasyon grafiği



Şekil 4.16. Hıyar matriksinde pyrimethanil pestisiti için elde edilen kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.11. LC-FAIMS-MSMS kalibrasyon eğrileri

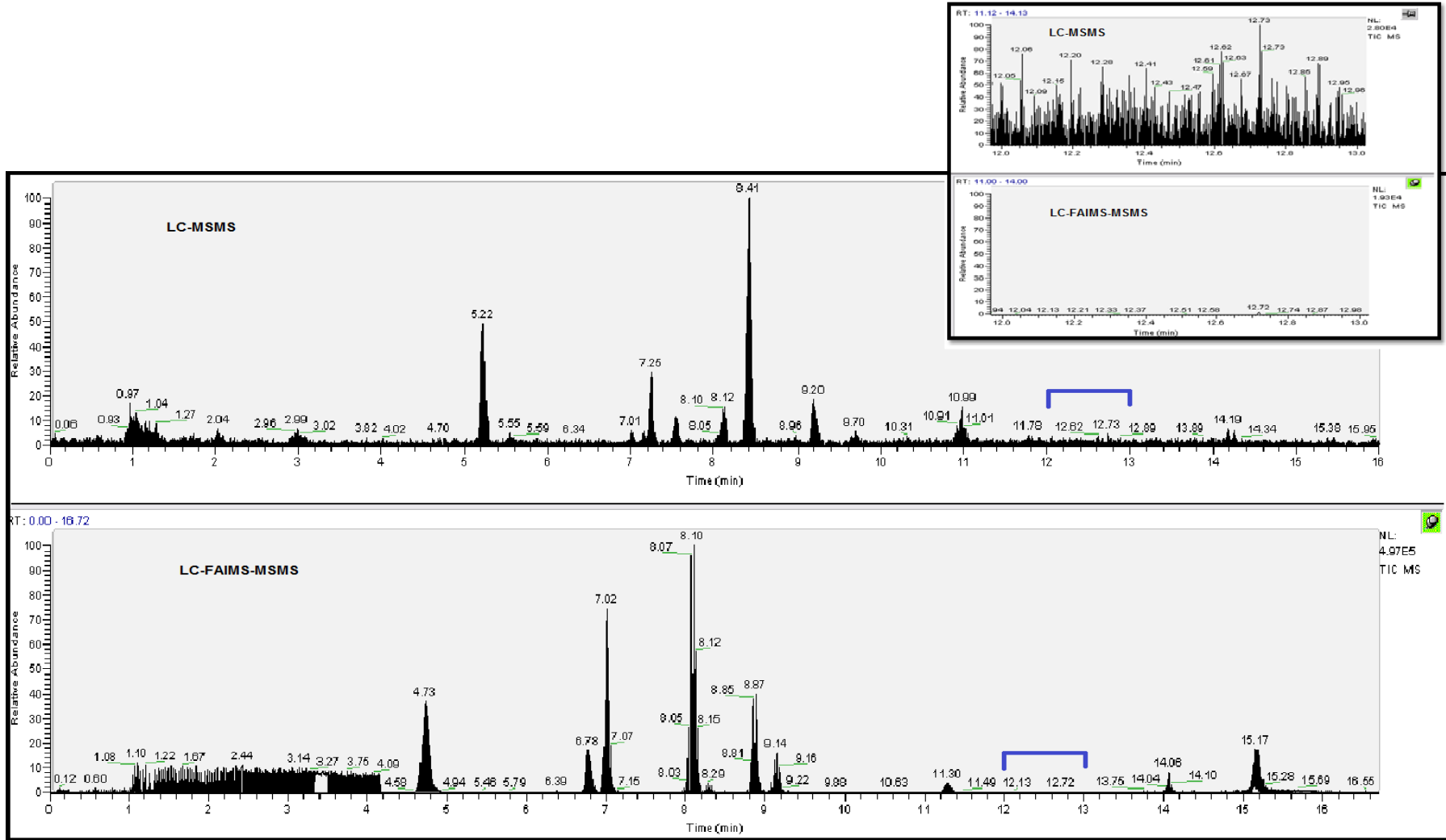
Aktif Madde	Domates matriksi		Hıyar matriksi	
	Doğru denklemi	r <sup>2</sup>	Doğru denklemi	r <sup>2</sup>
Carbendazim	y=53212.7x-156160	0.9967	y=6316.57x-3346.75	0.9979
Imidacloprid	y=507.619x-4451.66	0.9924	y=32.8605x-263.865	0.9970
Pirimicarb	y=57380.2x-53649.2	0.9988	y=43880.5x+75304.1	0.9965
Imazalil	y=16397.6x+33945.6	0.9990	y=22291.5x-23155	0.9983
Pyrimethanil	y=20918x+4052.14	0.9991	y=23947.8x-8734.02	0.9997
Metalaxyl	y=97386x+119156	0.9991	y=97777x+128587	0.9991
Diethofencarb	y=377.116x-1380.7	0.9977	y=162.408x-219.689	0.9925
Azoxystrobin	y=143229x+721173	0.9974	y=146144x-70065.2	0.9995
Dimethomorph_1	y=13608.8x-96852.1	0.9948	y=17382.4x-145852	0.9965
Dimethomorph_2	y=53922.9x+394442	0.9968	y=59713.3x+266612	0.9985
Cyprodinil	y=32815.7x+34930.6	0.9993	y=35696.1x-20642.4	0.9995
Tebuconazole	y=7815.01x+13423.9	0.9937	y=8392.57x+9918.72	0.9986
Chlorpyrifos	y=4814.01x+29849.3	0.9993	y=3928.96x+33221	0.9962

Domates ve hıyar matrislerinde, LC-MSMS’de elde edilen kromatogramlarla aynı konsantrasyondaki LC-FAIMS-MSMS’den elde edilen kromatogramlar karşılaştırılmıştır. Her iki matris ve tüm konsantrasyonlar için LC-FAIMS-MSMS’de daha temiz bir temel hat çizgisinin (baseline) elde edildiği tespit edilmiştir. Bu sonuç, FAIMS cihazının, örnek matrisinden veya taşıyıcı fazdan gelebilecek temel hat sinyalini yükselten girişim unsurlarının kütle analizörüne girişini engellediğini göstermektedir. Şekil 4.18’de 10 µg/L konsantrasyonu için domates matrisinden elde edilen kromatogramlar ve bu kromatogramların 12. ve 13. dakika arasında temel hat çizgisinin büyütülmüş şekli gösterilmektedir. Kromatogramlar incelendiğinde FAIMS analizlerinde 4.1’inci dakikadan sonra gözle de rahatlıkla görülebileceği üzere, FAIMS cihazının matris bileşenlerinin neden olduğu gürültüyü büyük ölçüde azalttığı ve bu nedenle analitlere ait sinyallerin daha iyi ve daha doğru bir şekilde tespit edilmesini sağladığı belirlenmiştir. 4.1’inci dakikaya kadar gürültünün gözlenmesinin hareketli faz akış hızındaki değişimden ileri geldiği düşünülmektedir. Optimizasyon çalışmaları 300 µL/dk sabit bir hareketli faz akışı ile gerçekleştirildiği için farklı akış hızlarında çalışıldığında iyonların hareketli fazdan ayırımının tam olarak sağlanamaması ve bu nedenle iyonların seçimini etkilemesi FAIMS analizlerinde gürültünün gözlenmesine neden olmaktadır. Daha öncede belirtildiği gibi optimizasyon koşulları FAIMS analizlerinde elde edilen sonuçlar üzerinde oldukça etkili olmaktadır.

Literatürde bu olumlu etkiyi vurgulayan çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır. Cui vd (2003), cisplatin ve bunun mono- ve dihidrat karışımları üzerine geleneksel ESI-MS ve ESI-FAIMS-ITMS (iyon tuzağı kütle spektrometresi) sistemlerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, ESI-FAIMS-ITMS’in ESI-MS’e göre gürültüyü önemli ölçüde azalttığını ve cisplatin için elde edilen sinyal/gürültü oranını ise 30 kat arttırdığını tespit etmişlerdir. Kelavkar vd (2007), LC-FAIMS-MSMS’de kanser hücrelerindeki linoleik asidin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada FAIMS kullanmanın kimyasal gürültüyü büyük ölçüde azalttığını ve S/N oranını 10 kat arttırarak linoleik asidin tespitini kolaylaştırdığını gözlemlemişlerdir. İsoprostanlar, insanlarda araşidonik asidin peroksidasyon tepkime ürünleri olarak oluşmaktadır. Nakagawa (2008), insan idrarında 8-isoprostanın LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS’de karşılaştırmalı olarak analizini yapmıştır. FAIMS’in kimyasal gürültüyü azaltıp, girişim yapan pikleri ortadan

kaldırarak S/N oranını 21 kat arttırdığını tespit etmiştir. Klassen ve Roemer (2008) yapmış oldukları benzer bir çalışmada, fare kanı serumunda peptitlerin belirlenmesinde LC-MS ve LC-FAIMS-MS kullanmışlardır. LC-MS’de kimyasal gürültünün ve girişim yapan piklerin varlığının peptitlerin belirlenmesinde yarattığı sorunun FAIMS kullanılarak ortadan kalktığını ve S/N oranının da 18 kat arttığını vurgulamaktadırlar.





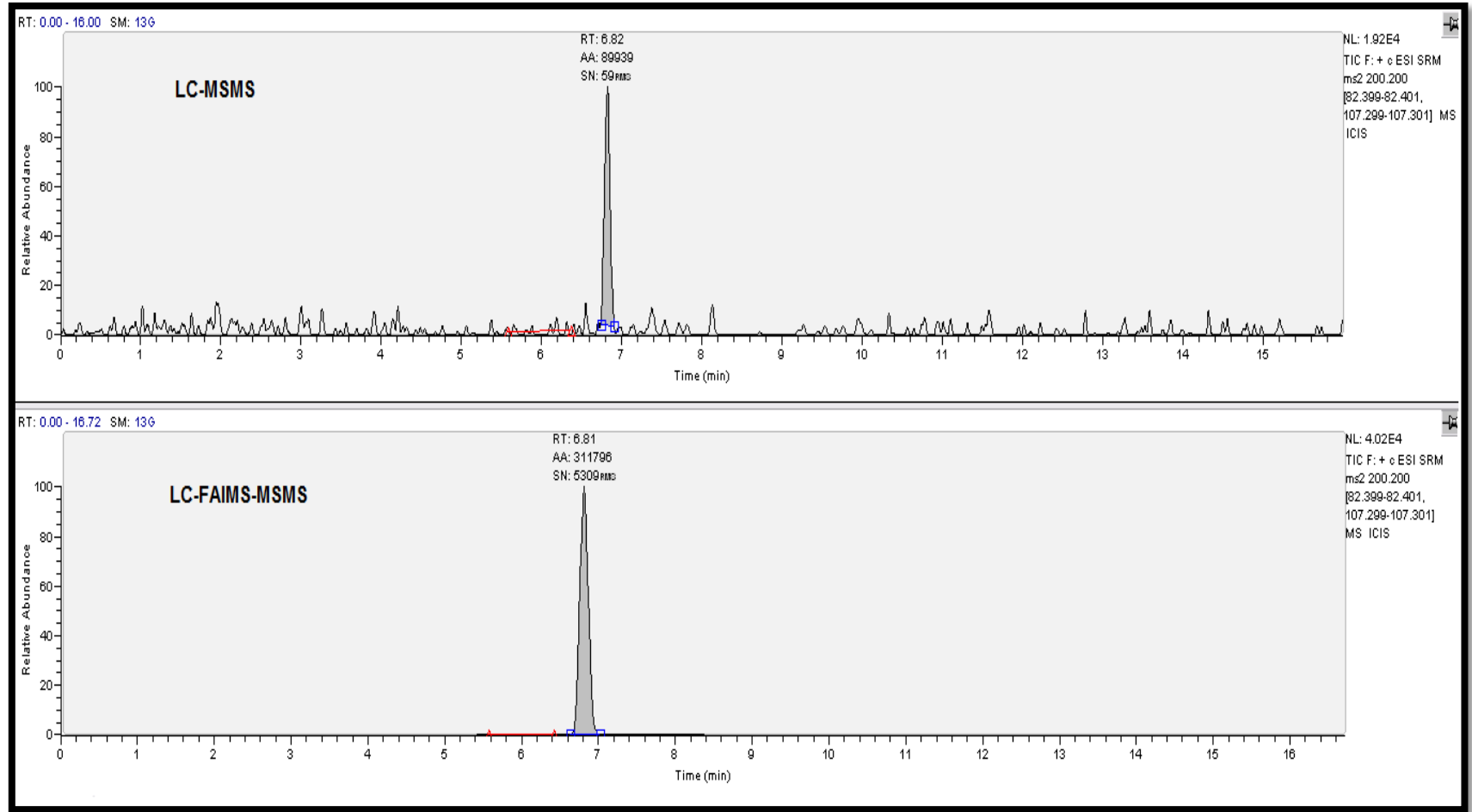
Şekil 4.17. LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS’de 10 µg/L konsantrasyondaki domates matrisine ait kromatogramların karşılaştırılması

Sinyal/gürültü (S/N) oranının artması analizlerde istenilen bir özelliktir. Bu oranın artmasıyla analitlere ait sinyaller daha iyi bir şekilde tespit edilebilmektedir. Ayrıca analitlere ait piklerin alanları hesaplanırken gürültünün sebep olacağı olası integrasyon hataları da bu şekilde kısmende olsa ortadan kaldırılmaktadır. Bununla birlikte LOD ve LOQ hesaplamalarının sinyal/gürültü oranına göre yapıldığı analizler için bu oranın artması daha düşük tespit limitlerine inilebilmesi açısından da ayrı bir öneme sahiptir. Çizelge 4.12’de analitlere ait LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS çalışmalarından elde edilen S/N oranları verilmektedir. Gürültü seviyesinin belirlenmesi için yapılan hesaplamalarda cihaz yazılımında bulunan ortalama karekök (RMS) algoritması kullanılmıştır. RMS cinsinden gürültünün belirlenmesi için temel hat çizgisi üzerinde belirli bir bölgenin seçilmiş olması gerekmektedir. Bölgeler hem LC-MSMS hem de LC-FAIMS-MSMS çalışmalarında aynı analit için aynı dakikaları kapsayacak şekilde seçilmiştir. Şekil 4.20’de hıyar matriksinde aktif maddelere ait S/N oranlarının belirlenmesinde kullanılan RMS algoritması için örnek kromatogramlar gösterilmektedir. Şekilde görülen pik pyrimethanil aktif maddesine aittir. LC-MSMS’de bu analite ait S/N oranı 59 olarak hesaplanırken LC-FAIMS-MSMS analizlerinde bu oran 5309 olmaktadır. Her iki yöntem için otomatik integrasyon yapılmıştır. Bu sonuç, FAIMS cihazı ile analiz yapmanın, matriks etkisini azaltarak analitlere ait sinyalin artışı sağladığını göstermektedir.

Çizelge 4.12 incelendiğinde FAIMS ile çalışmanın birçok aktif maddenin S/N oranını arttırdığı görülecektir. Diethofencarb, dimethomorph\_1 ve dimethomorph\_2 pestisitlerine ait S/N oranında ise düşüş tespit edilmiştir. Bunun da daha önce bahsedilen optimizasyon parametrelerinin aktif maddeye göre değişiklik göstermesinden ileri geldiği düşünülmektedir. Çalışılan parametreler bu maddelerin tespit edilmesini sağlamakla birlikte, kütle analizörüne bu etken maddelere ait iyonların girişi az olmakta ve bu da sinyal kaybına neden olmaktadır.

Çizelge 4.12. Analitlere ait sinyal/gürültü oranlarının LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS’de karşılaştırması

Aktif Madde	Domates		Hıyar	
	LC-MSMS (S/N)	LC-FAIMS-MSMS (S/N)	LC-MSMS (S/N)	LC-FAIMS-MSMS (S/N)
Oxamyl	20	--	20	--
Methomyl	25	--	38	--
Carbendazim	91	226	122	612
Imidacloprid	69	613	39	22
Acetamiprid	119	--	159	--
Pirimicarb	769	6780	432	12743
Pyrimethanil	54	32077	59	5309
Imazalil	138	15938	140	7524
Metalaxyl	470	7292	238	4519
Diethofencarb	8814	3130	262	135
Azoxystrobin	50	130	115	219
Cyprodinil	793	22294	10847	27320
Dimethomorph_1	101016	2932	158279	83844
Dimethomorph_2	796137	34578	806565	712236
Triadimenol	935	--	129899	--
Tolyfluanid	16	--	190	--
Tebuconazole	112	10752	107	9017
Famoxadone	88	--	871	--
Chlorpyrifos	176	1117	168	105



Şekil 4.18. RMS algoritmasına göre S/N oranının hesaplanması

#### 4.2.3.2. Tespit limiti (LOD) ve ölçüm limitinin (LOQ) hesaplanması

FAIMS'in analiz sonuçlarına olan etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için LC-MSMS'de yapılan çalışmanın aynısı LC-FAIMS-MSMS için de yapılmıştır. Çizelge 4.13'te domates matriksi için, Çizelge 4.14'te ise hıyar matriksi için elde edilen LOD ve LOQ değerlerinin LC-MSMS ile karşılaştırmalı listesi ve tüm aktif maddeler için Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen MRL limitleri verilmiştir (Anonim 2011c). Çizelgeler incelendiğinde bazı aktif maddeler için LOD ve LOQ seviyelerinin arttığı ancak bazı maddeler için de azaldığı görülmektedir. Bu durum daha önce belirttiğimiz gibi, cihaz parametrelerin bazı aktif maddeler için optimum olmamasından kaynaklanmaktadır. FAIMS ile yapılan çalışma da bazı aktif maddeler için LOD ve LOQ değerlerinde artış gözlemlense de, bu pestisitler için elde edilen değerlerin de Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen MRL değerlerinin altında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13. Domates matrikslerinin LOD-LOQ açısından karşılaştırması

Aktif Madde	LC-MSMS		LC-FAIMS-MSMS		MRL (mg/kg)
	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)	
Oxamyl	0.0027	0.0090	--	--	0.01-0.02
Methomyl	0.0041	0.0136	--	--	0.02-10
Carbendazim	0.0017	0.0055	0.0016	0.0053	0.01-2
Imidacloprid	0.0034	0.0114	0.0043	0.0145	0.1-2
Acetamiprid	0.0017	0.0058	--	--	0.01-1
Pirimicarb	0.0013	0.0044	0.0010	0.0032	0.1-4
Pyrimethanil	0.0053	0.0176	0.0016	0.0053	0.05-5
Imazalil	0.0029	0.0095	0.0012	0.0041	0.05-5
Metalaxyl	0.0021	0.0069	0.0015	0.0050	0.05-2
Diethofencarb	0.0039	0.0131	0.0056	0.0185	0.5-1
Azoxystrobin	0.0034	0.0112	0.0046	0.0153	0.2-5
Cyprodinil	0.0036	0.0121	0.0014	0.0048	0.5-5
Dimethomorph_1	0.0053	0.0178	0.0055	0.0183	0.15-3
Dimethomorph_2	0.0027	0.0089	0.0016	0.0054	0.15-3
Triadimenol	0.0042	0.0140	--	--	0.1-2
Tolyfluanid	0.0055	0.0185	--	--	0.05-0.1
Tebuconazole	0.0019	0.0063	0.0039	0.0128	0.05-5
Famoxadone	0.0054	0.0178	--	--	0.02-2
Chlorpyrifos	0.0030	0.0101	0.0030	0.0101	0.05-1

Çizelge 4.14. Hıyar matrislerinin LOD-LOQ açısından karşılaştırması

Aktif Madde	LC-MSMS		LC-FAIMS-MSMS		MRL (mg/kg)
	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)	
Oxamyl	0.0020	0.0066	--	--	0.01-0.02
Methomyl	0.0044	0.0146	--	--	0.02-10
Carbendazim	0.0026	0.0088	0.0017	0.0056	0.01-2
Imidacloprid	0.0047	0.0156	0.0034	0.0113	0.1-2
Acetamiprid	0.0023	0.0076	--	--	0.01-1
Pirimicarb	0.0017	0.0058	0.0038	0.0127	0.1-4
Pyrimethanil	0.0041	0.0135	0.0028	0.0093	0.05-5
Imazalil	0.0036	0.0120	0.0026	0.0088	0.05-5
Metalaxyl	0.0017	0.0058	0.0010	0.0035	0.05-2
Diethofencarb	0.0035	0.0115	0.0043	0.0142	0.5-1
Azoxystrobin	0.0012	0.0039	0.0021	0.0070	0.2-5
Cyprodinil	0.0047	0.0157	0.0024	0.0081	0.5-5
Dimethomorph_1	0.0026	0.0085	0.0033	0.0109	0.15-3
Dimethomorph_2	0.0041	0.0138	0.0022	0.0075	0.15-3
Triadimenol	0.0059	0.0196	--	--	0.1-2
Tolyfluanid	0.0032	0.0107	--	--	0.05-0.1
Tebuconazole	0.0028	0.0094	0.0028	0.0092	0.05-5
Famoxadone	0.0046	0.0153	--	--	0.02-2
Chlorpyrifos	0.0040	0.0134	0.0050	0.0166	0.05-1

#### 4.2.3.3. Doğruluk ve kesinlik

Doğruluk ve kesinliğin belirlenmesi için LC-MSMS çalışmasında olduğu gibi 0.01 ve 0.1 µg/mL olmak üzere iki konsantrasyonda zenginleştirme işlemi yapılmıştır. Çizelge 4.15'te domates matriksinde, Çizelge 4.17'de ise hıyar matriksinde 0.01 µg/mL konsantrasyonu için LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS'den elde edilen %ortalama geri kazanım, SD ve %RSD değerleri verilmektedir. Çizelge 4.16'da domates matriksinde ve Çizelge 4.18'de hıyar matriksinde 0.1 µg/mL konsantrasyonundaki %ortalama geri kazanım, SD ve %RSD değerleri için her iki yöntem kullanılarak bulunan sonuçlar verilmektedir.

LC-MSMS çalışması sonucu domates matriksi için ortalama geri kazanımlar %77.80-113.99 ve bağıl standart sapmalar da %3.74-18.99 olarak bulunmuştur. LC-FAIMS-MSMS çalışmasında ise aynı matrikste bu değerler sırasıyla %71.26-115.54 ve %2.72-19.61 olarak hesaplanmıştır. Aynı değerler hıyar matriksinde LC-MSMS çalışmasında sırasıyla %80.18-118.62 ve %1.99-18.93, LC-FAIMS-MSMS çalışmasında ise sırasıyla %74.77-119.72 ve %3.67-15.26 olarak bulunmuştur.



Çizelge 4.15. Domates matriksinde 0.01 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen %ortalama geri kazanım, SD ve %RSD değerleri

Aktif Madde	LC-MSMS			LC-FAIMS-MSMS		
	% Ort. Geri kazanım	SD	%RSD	% Ort. Geri kazanım	SD	%RSD
Oxamyl	82.25	0.90	10.92	--	--	--
Methomyl	103.07	1.36	13.22	--	--	--
Carbendazim	84.22	0.55	6.57	81.50	0.53	6.47
Imidacloprid	99.26	1.14	11.50	104.97	1.45	13.81
Acetamiprid	77.80	0.58	7.41	--	--	--
Pirimicarb	85.21	0.44	5.16	84.88	0.32	3.74
Pyrimethanil	92.87	1.76	18.98	85.18	0.53	6.27
Imazalil	87.23	0.95	10.92	71.26	0.41	5.75
Metalaxyl	98.21	0.69	7.04	84.50	0.50	5.87
Diethofencarb	99.74	1.31	13.17	94.56	1.85	19.61
Azoxystrobin	94.07	1.12	11.90	102.86	1.53	14.91
Cyprodinil	84.61	1.21	14.26	73.45	0.48	6.57
Dimethomorph_1	96.36	1.78	18.50	99.80	1.83	18.37
Dimethomorph_2	98.33	0.89	9.08	76.44	0.54	7.12
Triadimenol	92.26	1.40	15.17	--	--	--
Tolyfluanid	113.66	1.85	16.27	--	--	--
Tebuconazole	95.68	0.63	6.60	77.25	1.28	16.62
Famoxadone	93.99	1.78	18.99	--	--	--
Chlorpyrifos	113.99	1.01	8.82	114.24	1.01	8.81

Çizelge 4.16. Domates matriksinde 0.1 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen %ortalama geri kazanım, SD ve %RSD değerleri

Aktif Madde	LC-MSMS			LC-FAIMS-MSMS		
	% Ort. Geri kazanım	SD	%RSD	% Ort. Geri kazanım	SD	%RSD
Oxamyl	83.86	2.80	3.34	--	--	--
Methomyl	93.94	2.68	2.85	--	--	--
Carbendazim	83.19	3.11	3.74	77.25	3.11	4.03
Imidacloprid	95.32	4.41	4.63	91.62	9.19	10.03
Acetamiprid	81.25	3.57	4.39	--	--	--
Pirimicarb	84.94	3.66	4.31	74.06	2.02	2.72
Pyrimethanil	84.18	5.74	6.82	87.75	5.00	5.70
Imazalil	88.73	4.20	4.74	88.74	5.18	5.84
Metalaxyl	99.97	4.07	4.07	77.12	4.91	6.36
Diethofencarb	98.95	5.54	5.60	77.35	3.49	4.51
Azoxystrobin	86.59	4.24	4.90	83.55	5.46	6.54
Cyprodinil	85.31	3.55	4.16	76.31	3.64	4.76
Dimethomorph_1	101.14	4.28	4.23	97.76	4.73	4.84
Dimethomorph_2	107.51	7.16	6.66	86.42	4.94	5.72
Triadimenol	102.97	6.79	6.60	--	--	--
Tolyfluanid	90.51	11.40	12.60	--	--	--
Tebuconazole	104.96	4.39	4.18	80.41	5.17	6.44
Famoxadone	104.97	8.18	7.80	--	--	--
Chlorpyrifos	92.95	6.76	7.27	78.38	5.34	6.81

Çizelge 4.17. Hıyar matriksinde 0.01 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen %ortalama geri kazanım, SD ve %RSD değerleri

Aktif Madde	LC-MSMS			LC-FAIMS-MSMS		
	% Ort. Geri kazanım	SD	%RSD	% Ort. Geri kazanım	SD	%RSD
Oxamyl	89.92	0.66	7.32	--	--	--
Methomyl	101.70	1.46	14.35	--	--	--
Carbendazim	103.75	0.88	8.48	90.95	0.56	6.20
Imidacloprid	96.70	1.56	16.18	100.06	1.13	11.28
Acetamiprid	99.12	0.76	7.62	--	--	--
Pirimicarb	92.49	0.58	6.24	83.06	1.27	15.25
Pyrimethanil	90.30	1.35	14.95	89.22	0.93	10.40
Imazalil	107.73	1.75	16.29	92.02	0.88	9.57
Metalaxyl	98.94	0.58	5.86	74.77	0.35	4.66
Diethofencarb	92.02	1.15	12.54	115.70	1.42	12.30
Azoxystrobin	90.06	0.39	4.35	88.53	0.70	7.96
Cyprodinil	90.35	1.57	17.34	89.89	0.81	9.01
Dimethomorph_1	81.72	0.85	10.34	99.86	1.09	10.88
Dimethomorph_2	86.87	1.38	15.87	78.01	0.75	9.56
Triadimenol	110.28	1.96	17.80	--	--	--
Tolyfluanid	99.37	1.07	10.78	--	--	--
Tebuconazole	81.64	0.94	11.56	86.05	0.92	10.70
Famoxadone	80.98	1.53	18.93	--	--	--
Chlorpyrifos	118.62	1.34	11.32	108.91	1.66	15.26

Çizelge 4.18. Hıyar matriksinde 0.1 µg/mL konsantrasyonu için elde edilen %ortalama geri kazanım, SD ve %RSD değerleri

Aktif Madde	LC-MSMS			LC-FAIMS-MSMS		
	%Ort. Geri kazanım	SD	%RSD	%Ort. Geri kazanım	SD	%RSD
Oxamyl	94.68	3.70	3.91	--	--	--
Methomyl	98.35	4.66	4.74	--	--	--
Carbendazim	99.57	2.89	2.90	95.20	3.74	3.93
Imidacloprid	92.13	6.27	6.81	106.43	14.46	13.59
Acetamiprid	97.16	3.52	3.63	--	--	--
Pirimicarb	80.76	1.61	1.99	82.64	5.58	6.76
Pyrimethanil	84.62	3.31	3.91	91.94	5.19	5.64
Imazalil	89.34	9.74	10.90	97.11	4.58	4.72
Metalaxyl	94.20	3.21	3.41	92.21	4.62	5.01
Diethofencarb	89.92	2.54	2.82	88.85	6.80	7.65
Azoxystrobin	91.34	3.64	3.99	89.70	6.50	7.24
Cyprodinil	86.85	3.74	4.30	91.21	3.75	4.12
Dimethomorph_1	90.71	3.91	4.31	102.52	6.26	6.11
Dimethomorph_2	89.04	3.39	3.80	82.07	5.44	6.63
Triadimenol	85.50	3.08	3.60	--	--	--
Tolyfluanid	80.18	8.54	10.65	--	--	--
Tebuconazole	86.10	4.13	4.79	103.73	3.80	3.67
Famoxadone	86.63	5.88	6.79	--	--	--
Chlorpyrifos	95.56	6.13	6.42	106.72	4.50	4.21

LC-MSMS ve LC-FAIMS-MSMS çalışmalarından elde edilen verilere önem testleri uygulanmıştır. Bunun için geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçların ortalamaları t-testi ile standart sapmaları ise F-testi ile değerlendirilmiştir. Her iki matriks ve tüm analitler için iki analitik yöntemden elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, çoklu pestisit kalıntı analizi söz konusu olduğunda FAIMS kullanmanın doğruluk ve kesinlik açısından önemli bir üstünlük yaratmadığını göstermektedir.

## 5. SONUÇ

Tarımsal üretimde pestisit kullanımı ile birlikte hem ekonomi hem de sağlık açısından tehlike oluşturacak bir durum ortaya çıkmaktadır. Zararlılarla mücadele amacıyla kullanılan bu kimyasalların, bekleme zamanı bitmeden önce ürünün hasat edilmesi, gereğinden fazla kullanım veya uygulanış şekillerindeki yanlışlıklar gibi çeşitli sebeplerden dolayı gıda maddelerinde kalıntı bırakması insan ve çevre sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Pestisit kalıntılarının sağlık üzerindeki olumsuz etkilerinin anlaşılmasıyla dünya çapında Avrupa Promosyon Ürünleri Derneği (EPPA), Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) gibi uluslararası pek çok kuruluş tarafından bazı pestisitlerin kullanımları yasaklanmış veya kısıtlamalar getirilmiştir. Ülkemizde tarımsal ürünlerdeki pestisit kalıntılarının izlenebilirliği ise uluslararası gelişmeler takip edilerek Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından ve Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'ne göre yapılmaktadır.

Pestisit kalıntı analizlerinde kullanılan yöntemlerin pahalı, işlem basamaklarının uzun ve kimyasal atığın fazlalığı gibi sebepler araştırmacıları yeni yöntemler geliştirmeye zorlamaktadır. Bununla birlikte daha doğru bir belirleme yapmaya olanak sağlayacak sistemlerin sayısı da gün geçtikçe artmaktadır. Bu amaçla istenilen analize uygun enstrümental analiz tekniklerinin seçilmesi, zaman kaybını önlemek, kullanılan kimyasal miktarını azaltmak ve dolayısıyla analiz maliyetlerini düşürmek açısından önem kazanmaktadır.

Bu çalışmada, domates ve hıyar matriksleri için FAIMS kullanmanın etkinliğini belirlemeye olanak sağlayacak çoklu kalıntı analiz metotları geliştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemleri Anastassiades vd (2003) tarafından geliştirilen QuEChERS yöntemine göre yapılmıştır. LC-MSMS analizlerine, her bir aktif maddenin tek tek infüzyonları ile başlanmıştır. Bu aşamada her bir aktif madde için moleküler iyonlardan ürün iyonların elde edildiği çarpışma enerjileri belirlenmiş ve her bir aktif madde için bir ana iyon ve iki ürün iyon olmak üzere üç tanımlama noktası seçilmiştir. Ayrıca çalışma konusu aktif maddelerin hepsinin pozitif iyonizasyon modunda daha iyi sonuç

verdiği saptanmıştır. Çalışma, tüm aktif maddeleri içeren karışım üzerinden SRM geçişleri oluşturularak yapılmıştır. Aktif maddelerin daha iyi kromatografik ayrımını sağlamak ve bu maddelere ait pik genişlemelerini önlemek amacıyla hareketli faz bileşimi ve akış hızı, kolon sıcaklığı ve örnek enjeksiyon miktarı üzerinde çalışmalar yapılmış ve 18 pestisit için optimum analiz koşulları belirlenmiştir.

Analiz metodu oluşturulduktan sonra metodun geçerli kılınması için metod validasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla LOD, LOQ, doğrusalılık, doğruluk ve kesinlik çalışılmıştır. Her bir aktif madde için matriks uyumlu kalibrasyon eğrileri; 0, 10, 20, 50, 100 ve 250 µg/L olmak üzere 6 noktalı olacak şekilde ve her bir nokta için üç tekrarlı okuma yapılarak oluşturulmuştur. Her iki matrikste tüm pestisitler için korelasyon katsayısı kabul edilebilir değer olan 0.99'dan büyük bulunmuştur. LOD ve LOQ çalışmaları yapılmış ve elde edilen sonuçlar Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen MRL değerleriyle karşılaştırılmıştır. Analitler için bulunan LOQ değerlerinin, o analite ait MRL'in altında veya MRL değerinin yarısı olması gerektiği Avrupa Birliği (AB) kılavuzlarında belirtilmektedir. LC-MSMS ile yapılan çalışma sonucu her iki matriks ve tüm aktif maddeler için LOQ değeri MRL değerlerinin altında bulunmuştur.

Doğruluk ve kesinliğin tespiti için 0,01 ve 0,1 µg/mL olmak üzere iki farklı zenginleştirme seviyesinde 10 tekrarlı olarak geri kazanım çalışmaları yapılmış ve sonuçlar, yüzde ortalama geri kazanım, standart sapma ve yüzde bağıl standart sapma olarak verilmiştir. AB klavuzlarına göre geliştirilen çoklu kalıntı analiz metodunun geçerli olabilmesi için, elde edilen geri kazanım değerlerinin %70-120 aralığında ve RSD değerinin de %20'nin altında olması gerektiği belirtilmektedir. Literatürde belirtilen bu değerler dikkate alındığında, her iki örnek ve tüm aktif maddeler için elde edilen verilerin uygun olduğu görülmüştür. Geliştirilen çoklu kalıntı analiz yönteminin, LC-MSMS'de çalışma konusu 18 pestisit analize imkân sağladığı tespit edilmiştir.

LC-FAIMS-MSMS çalışmaları öncelikle FAIMS parametrelerinin optimizasyonu ile başlamıştır. Optimizasyon için carbendazim aktif maddesi seçilmiştir. Optimizasyon çalışmalarında; ESI probunun derinliği, prob mikrometre konumu, sheath ve auxiliary gaz basıncı, buharlaştırma sıcaklığı, toplam gaz akışı, iç ve dış elektrot sıcaklıkları,

dağılma voltajı, He ve N<sub>2</sub> gazlarının akış oranları gibi parametreler, carbendazim'in analizine olanak sağlayacak şekilde ayarlanmıştır. Literatürde, FAIMS'de seçilen iyonların elektrotlara çarpmadan kütle dedektörüne geçişinin sağlanması için yüksek alan voltaj değerini dengeleyecek bir voltajın uygulanması gerektiği ve bu dengeleyici voltajın da (CV) analite özgü olduğu vurgulanmaktadır. Bu bilgiler dikkate alınarak çalışmalar gerçekleştirilmiş ve her bir aktif madde için CV değeri ve tüp lens voltaj değerleri belirlenmiştir. LC-FAIMS-MSMS'de analitlere ait alıkonma zamanlarının belirlenmesi için çalışma yapılmış ancak 18 aktif maddeden 13'ünün tespit edilebildiği görülmüştür. Bu sorunun, carbendazim için belirlenen optimizasyon koşullarının her aktif madde için geçerli olmayacağından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu tezi doğrulamak için famoxadone aktif maddesi üzerinden tekrar optimizasyon çalışması yapılmıştır. Famoxadone için önceden belirlenen CV ve tüp lens voltaj değerlerinin bu çalışma ile değiştiği saptanmıştır. Bu gibi değişikliklerin, aktif maddelerin tespitlerini engellediği görülmüştür. FAIMS parametrelerinin analiz esnasında analitlere özgü olarak değiştirilememesi bu cihazın, pestisitler gibi tek bir enjeksiyonla yüzlerce aktif maddenin araştırıldığı çoklu kalıntı analizleri için pek uygun olmadığını göstermiştir.

LC-FAIMS-MSMS çalışmaları, yukarıda bahsi geçen nedenlerden dolayı 13 aktif madde üzerinden, carbendazim için belirlenen parametrelere göre gerçekleştirilmiştir. Doğrusallık çalışmaları için matriks uyumlu ve LC-MSMS'de belirtilen 6 farklı konsantrasyonda kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Her iki matriks ve tüm pestisitler için elde edilen korelasyon katsayıları 0.99'dan büyük bulunmuştur. LC-FAIMS-MSMS ve LC-MSMS'de aynı matriks ve aynı konsantrasyonda elde edilen kromatogramlar ve 13 aktif maddeye ait sinyal/gürültü (S/N) oranları cihazın yazılımında bulunan RMS algoritmasına göre karşılaştırılmıştır. S/N oranının yüksek olması analit piklerine ait sinyal büyüklüklerinin daha yüksek olduğunun bir göstergesidir. Bununla birlikte LOD ve LOQ değerlerinin S/N oranına göre hesaplandığı analizler için S/N oranının artması bu değerlerin daha düşük bulunmasını da sağlamaktadır. Karşılaştırma sonucu FAIMS cihazının analizlerde kullanılmasının matriks etkisini büyük ölçüde azalttığı, dolayısıyla analitlere ait S/N oranını da büyük ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir.

LC-FAIMS-MSMS'de metot validasyonu değerlerinin belirlenmesi için LC-MSMS'de yapılan çalışmanın aynısı yapılmıştır. Her iki matriks ve 13 aktif madde için LOD ve LOQ değeri MRL limitlerinin altında bulunmuştur. Doğruluk ve kesinlik çalışmalarından elde edilen verilerin, her iki matriks ve tüm pestisitler için literatürde belirtilen değerlere uygun olduğu tespit edilmiştir.

Her iki yöntemden elde edilen veriler için önem testleri yapılmış ve sonuçlar arasında önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Geliştirilen metotlar LC-MSMS'de 18, LC-FAIMS-MSMS'de ise 13 pestisit belirlenmesine olanak sağlamaktadır.

Sonuç olarak FAIMS cihazının çoklu pestisit kalıntısı analizlerinde LC-MSMS ile birlikte kullanılmasının matriks etkisini azalttığı ve analitlere ait S/N oranını arttırdığı tespit edilmiştir. LC-MSMS ile yapılan pestisit kalıntısı analizlerinde yüzlerce etken maddenin tespiti yapılabilmektedir. FAIMS cihazının bu tip çoklu pestisit analizleri için uygun olup olmadığının belirlenmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte bu cihazın karmaşık yapıları matrikslerde özellikle tek bir pestisit üzerinde çalışıldığında çok etkin olacağı kanısına varılmıştır.



## 6. KAYNAKLAR

- ACERO, J.L., BENITEZ, F.J., REAL, F. J. And GONZALES, M. 2008. Chlorination of organophosphorus pesticides in natural waters. *Journal of Hazardous Materials*, 153 (2008): 320–328.
- AHMED, F. E. 2001. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. *Trend in Analytical Chemistry*, 20 (11): 649-659.
- ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S.J., STAJNBAHER, D. and 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 (2): 412- 431.
- ANONİM 2009. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Antalya İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü’ne bağlı Bitkisel Üretim ve Bitki Sağlığı Şube Müdürlüğü yetkilileri ile yapılan görüşmede geriye dönük istatistiksel kayıtlar incelenerek elde edilmiş bir veridir.
- ANONİM 2010. T.C. Antalya Valiliği Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İl Müdürlüğü. [http://www.antalyatarim.gov.tr/yukleme/File/2010%20DEERLEND\\_RME%2018%2001%20\(3\).pdf](http://www.antalyatarim.gov.tr/yukleme/File/2010%20DEERLEND_RME%2018%2001%20(3).pdf)
- ANONİM 2011a. TC. Antalya Valiliği İl Tarım Müdürlüğü, Antalya Tarım Master Planı, 699 ss.
- ANONİM 2011b. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. <http://www.kkgm.gov.tr/genel/birimfaal.html>.
- ANONİM 2011c. Türk Gıda Kodeksi pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri yönetmeliği. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-1.htm>.
- ANONİM 2012. T.C. Antalya Valiliği İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Antalya İli Tarım Stratejik Planı 2012-2016, 150 ss.
- ANONYMOUS 2007a. FAIMS operator’s manual. Thermo Fisher Scientific Inc. 122 p. USA.
- ANONYMOUS 2007b. FAIMS on the TSQ quantum: Tuning for selective quantitation quick reference guide. Thermo Fisher Scientific Inc. USA.
- ANONYMOUS 2009. TSQ Series operator’s manual. Thermo Fisher Scientific Inc. 122 p. USA.
- ANONYMOUS 2010. European Commission “Guidance document on pesticide residue analytical methods”. SANCO/825/00 rev. 8.1, 16/11/2010, ss. 28.

- ANONYMOUS 2011. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed SANCO/12495/2011. [http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/docs/qualcontrol\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/docs/qualcontrol_en.pdf).
- ANONYMOUS 2012a. Thermo scientific material catalogue: Sample preparation. Thermo Scientific Inc. 1-80, USA.
- ANONYMOUS 2012b. Datapool of the eu reference laboratories for residues of pesticides. <http://www.crl-pesticides-datapool.eu/>.
- ARMENTA, S., ALCALA, M. and BLANCO, M. 2011. A review of recent, unconventional applications of ion mobility spectrometry (IMS). *Analytica Chimica Acta*, 703 (2011): 114–123.
- ATREYA, K. 2008. Health costs from short-term exposure to pesticides in Nepal. *Social Science & Medicine*, 67 (2008): 511–519.
- BAI, Y., CHEN, J., YANG, Y., GUO, L. and ZHANG, C. 2010. Degradation of organophosphorus pesticide induced by oxygen plasma: Effects of operating parameters and reaction mechanisms. *Chemosphere*, 81 (2010): 408–414.
- BAI, Y., ZHOU, L. and WANG, J. 2006. Organophosphorus pesticide residues in market foods in Shaanxi area, China. *Food Chemistry*, 98 (2006): 240–242.
- BAJPAI, A., SHUKLA, P., DIXIT, B.S. and BANERJI, R. 2007. Concentrations of organochlorine insecticides in edible oils from different regions of india. *Chemosphere*, 67 (2007): 1403–1407.
- BETZ, J.M., BROWN, P.N. and ROMAN, M.C. 2011. Accuracy, precision, and reliability of chemical measurements in natural products research. *Fitoterapia*, 82 (2011): 44–52.
- BOOBIS A.R., OSSENDORP, B.C., BANASIAK, U., HAMEY, P.Y., SEBESTYEN, I. ve MORETTO, A. 2008. Cumulative risk assessment of pesticide residues in food. *Toxicology Letters*, 180 (2): 137–150.
- BORSODORF, H. and EICEMAN, G.A. 2006. Ion mobility spectrometry: principles and applications. *Applied Spectroscopy Reviews*, 41 (2006): 323-375.
- BORSODORF, H., NEITSCH, K., EICEMAN, G.A. and STONE, J.A. 2009. A comparison of the ion chemistry for mono-substituted toluenes and anilines by three methods of atmospheric pressure ionization with ion mobility spectrometry. *Talanta*, 78 (2009): 1464–1475.
- CAMINO-SANCHEZ, F.J., ZAFRA-GOMEZ, A., RUIZ-GARCIA, J., BERMUDEZ-PEINADO, R., BALLESTEROS, O., NAVALON, A. and VILCHEZ, J.L. 2011. UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 accredited method for the determination of 121

- pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24 (2011): 427–440.
- CAMPOY, C., JIMENEZ, M., OLEA-SERRANO, M.F., MORENO FRIAS, M., CANABATE, F., OLEA, N., BAYES, R. And MOLINA-FONT, J.A. 2001. Analysis of organochlorine pesticides in human milk: preliminary results. *Early Human Development*, 65 (2001): 183-190.
- CANTERBURG, J.D., GLADDEN, J., BUCK, L., OLUND, R. and MACCOSS, M.J. 2010. A high voltage asymmetric waveform generator for FAIMS. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, 21 (2010): 1118-1121.
- CARVALHO, F.P. 2006. Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy*, 9 (2006): 685– 692.
- CHILAI, C., CONG, Z., DEYI, K., TAO, M. and XINHUA, L. 2011. A study on using a micro differential mobility spectrometry (DMS) for toluidine isomers separation and detection. *Energy Procedia*, 13 (2011): 4975- 4980.
- CUI, M., DING, L. and MESTER, Z. 2003. Separation of cisplatin and its hydrolysis products using electrospray ionization high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry coupled with ion trap mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2003 (75): 5847-5853.
- DAĞ S.S., AYKAÇ, V.T., GÜNDÜZ, A., KANTARCI, M. ve ŞİŞMAN, N. 2000. Türkiyede tarım ilaçları endüstrisi ve geleceği. [Http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/2092a75caa75e46\\_ek.pdf?tipi=14&sube](http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/2092a75caa75e46_ek.pdf?tipi=14&sube)
- DAĞLIOĞLU, N. 2009. İnsan cilt altı yağ dokusunda organoklorlu pestisitlerin kalıntı düzeylerinin tespiti. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, ss 83.
- DARKO, G. and AKOTO, O. 2008. Dietary intake of organophosphorus pesticide residues through vegetables from Kumasi, Ghana. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (2008): 3703–3706.
- DAVIES, L., O’CONNOR, M. and LOGAN, S. 2004. Chronic Intake. In: Hamilton D. Crossley S. (Editors), *Pesticide Residues in Food and Drinking Water: Human Exposure and Risks*, John Wiley & Sons, pp. 213-243, England.
- DE PINHO, G.P., NEVES, A.A., DE QUEIROZ, M.E.L.R. and SILVERIO, F.O. 2010. Pesticide determination in tomatoes by solid–liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography. *Food Chemistry*, 121 (2010): 251–256.
- DE SCHAMPHELEIRE, M., SPANOGHE, P., BRUSSELMAN, E. and SONCK, S. 2007. Risk assessment of pesticide spray drift damage in Belgium. *Crop Protection*, 26 (2007): 602–611.

- DEBONO, R. 2002. Ion Mobility Spectrometry: A Fast, Sensitive and Robust HPLC Alternative. *Applications in Chromatography*, 2002: 20-23.
- DELEN, N., DURMUŞOĞLU, E., GÜNCAN, A., GÜNGÖR, N., TURGUT, C. ve BURÇAK A. 2005. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, s629-648, Ankara.
- DEMİRDÖĞEN, B. 2010. Organofosfatlı-pestisit-zehirlenmeleri ve serum paraoksonaz 1 (pon1) enziminin organofosfat metabolizmasındaki rolü. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67 (2): 97-112.
- DI MUCCIO, A., FIDENTE, P., BARBINI, D.A., DOMMARCO, R., SECCIA, S. and MARRICA, P. 2006. Application of solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry to the determination of neonicotinoid pesticide residues in fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1108 (2006): 1–6.
- ERAKTAN, G. ve OLAN, E. 1996. Tarımda çevre politikaları çerçevesinde organik tarım uygulamaları. Tarım- Çevre İlişkileri Sempozyumu, Mersin Üniversitesi, 150- 160.
- ERDOĞAN, B.Y. 2010. Samsun’da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri. *Alınları Zirai Bilimler Dergisi*, 19 (2): 28-35.
- EWING, R.G., ATKINSON, D.A., EICEMAN, G.A. and EWING, G.J. 2001. A critical review of ion mobility spectrometry for the detection of explosives and explosive related compounds. *Talanta*, 54 (2001): 515–529.
- FEINBERG, M. 2007. Validation of analytical methods based on accuracy profiles. *Journal of Chromatography A*, 1158 (2007): 174–183.
- FENOLL, J., HELLIN, P., MARTINEZ, C.M., MIGUEL, M. and FLORES, P. 2007. Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen–phosphorus detection. *Food Chemistry* 105 (2007): 711–719.
- FERRER, I., GARCIA-REYES, J.F., MEZCUA, M., THURMAN, E.M. and FERNANDEZ-ALBA, A.R. 2005b. Multi-residue pesticide analysis in fruits and vegetables by liquid chromatography–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1082 (2005): 81–90.
- FIALKOV, A.B., STEINER, U., LEHOTAY, S.J. and AMIRAV, A. 2007. Sensitivity and noise in GC–MS: Achieving low limits of detection for difficult analytes. *International Journal of Mass Spectrometry*, 260 (2007): 31–48.
- FRENICH, A. G., VIDAL, M. J. L., LOPEZ, T. L., AGUADO, S. C. ve SALVADOR, I. M. 2004. Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and

- vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1048 (2004): 199–206.
- GARRIDO FRENİCH, A., MARTINEZ VIDAL, J.L., LOPEZ LOPEZ, T., CORTES AGUADO, S. and MARTINEZ SALVADOR, I. 2004. Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1048 (2004): 199–206.
- GEORGE, J. and SHUKLA, Y. 2011. Pesticides and cancer: Insights into toxicoproteomic-based findings. *Journal of Proteomics*, 74 (2011): 2713 – 2722.
- GİRAY, H. ve SOYSAL, A. 2007. Türkiye’de Gıda Güvenliği ve Mevzuatı. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6 (6): 485- 490.
- GONZALES, A.G., HERRADOR, M.A. and ASUERO, A.G. 2010. Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards. *Talanta*, 82 (2010): 1995–1998.
- GOTO, T., ITO, Y., YAMADA, S., MATSUMOTO, H., OKA, H. ve NAGASE, H. 2006. The high throughput analysis of *N*-methyl carbamate pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry using a short column. *Analytica Chimica Acta*, 555 (2006): 225–232.
- GOU, Y., EISERT, R. and PAWLISZYN, J. 2000. Automated in-tube solid-phase microextraction–high-performance liquid chromatography for carbamate pesticide analysis. *Journal of Chromatography A*, 873 (2000): 137–147.
- GRANBY, K., ANDERSEN, J.H. ve CHRISTENSEN, H.B. 2004. Analysis of pesticides in fruit, vegetables and cereals using methanolic extraction and detection by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 520 (2004): 165–176.
- GUEVROMENT, R. 2004. High-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry: A new tool for mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1058 (2004): 3–19.
- GUO, L. And LEE, H.K. 2012. Low-density solvent based ultrasound-assisted emulsification microextraction and on-column derivatization combined with gas chromatography–mass spectrometry for the determination of carbamate pesticides in environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, 1235 (2012): 1– 9.
- GÜLER, Ç. ve ÇOBANOĞLU, Z. 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, Ankara, 173 ss.

- Hajslova, J. and Zrostlikova, J. 2003. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *Journal of Chromatography A*, 1000 (2003): 181–197.
- Hernandez, F., Pozo, O.J., Sancho, J.V., Bijlsma, L., Barreda, M. and Pitarch, E. 2006. Multiresidue liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of 52 non gas chromatography-amenable pesticides and metabolites in different food commodities. *Journal of Chromatography A*, 1109 (2006): 242–252.
- Hird, S. 2008. Analysis of pesticides by chromatographic techniques coupled with mass spectrometry. J. L. Tadeo (Editor), *Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples*, CRC Press, pp. 59-95, USA.
- Howdle, M.D., Eckers, C., Laures, A.M.F. and Creaser, C.S. 2009. The use of shift reagents in ion mobility-mass spectrometry: studies on the complexation of an active pharmaceutical ingredient with polyethylene glycol excipients. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, 20 (2009): 1-9.
- İstanbuluoğlu, H., Oğur, R. ve Güleç, M. 2009. Pestisit maruziyeti ve nörolojik bozukluklar. *Genel Tıp Dergisi*, 19(4): 193-201.
- Jafari, M.T., Rezaei, B. and Javaheri, M. 2011. A new method based on electrospray ionisation ion mobility spectrometry (ESI-IMS) for simultaneous determination of caffeine and theophylline. *Food Chemistry*, 126 (2011): 1964–1970.
- Jansson, C., Pihlstrom, T., OsterdaHL, B.G. and Markides, K.E. 2004. A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1023 (2004): 93–104.
- Jin, S., Xu, Z., Chen, J., Liang, X., Wu, Y. And Qian, X. 2004. Determination of organophosphate and carbamate pesticides based on enzyme inhibition using a pH-sensitive fluorescence probe. *Analytica Chimica Acta*, 523 (2004): 117–123.
- Kaihara, A., Yoshii, K., Tsumura, Y., Nakamura, Y., Ishimitsu, S. and Tonogai, Y. 2000. Multiresidue Analysis of Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables by Supercritical Fluid Extraction and HPLC. *Journal of Health Science*, 46 (5): 336-342.
- Karaman, A.D. ve Akalin, A.S. 2008. Süt teknolojisinde metot validasyonu ve uygulamaları. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Kaushik, G., Satya, S. ve Naik, S.N. 2009. Food processing a tool to pesticide residue dissipation – A review. *Food Research International*, 42 (2009): 26–40.

- KELAVKAR, U., HUTZLEY, J. and MCNALLY, J. 2007. Chemical background removal in the determination of linoleic acid using LC-FAIMS-MS. *Thermo Application Note:400*, Thermo Fisher Scientific Inc. USA.
- KHALILI-ZANJANI, M. R., YAMINI, Y., YAZDANFAR, N. and SHARIATI, S. 2008. Extraction and determination of organophosphorus pesticides in water samples by a new liquid phase microextraction–gas chromatography–flame photometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 606 (2008): 202–208.
- KIM, J.H. and SMITH, A. 2001. Distribution of organochlorine pesticides in soils from South Korea. *Chemosphere*, 43 (2001): 137-140.
- KLASSEN, T. and ROEMER, A. 2008. LC-FAIMS-MS validated quantitation method for a peptide in rat serum. *Thermo Application Note:448*, Thermo Fisher Scientific Inc. USA.
- KMELLAR, B., FODOR, P., PAREJA, L., FERRER, C., MARTINEZ-UROZ, M.A., VALVERDE, A. and FERNANDEZ-ALBA, A.R. 2008. Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1215 (2008): 37–50.
- KNEZEVIC, Z., SERDAR, M. and AHEL, M. 2012. Risk assessment of the intake of pesticides in Croatian diet. *Food Control*, 23 (2012): 59-65.
- KOESUKWIWAT, U., LEHOTAY, S.J. and LEEPIPATPIBOON, N. 2011. Fast, low-pressure gas chromatography triple quadrupole tandem mass spectrometry for analysis of 150 pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1218 (2011): 7039– 7050.
- KRUVE, A., HAAPALA, M., SAARELA, V., FRANSSILA, S., KOSTIAINEN, R., KOTIAHO, T. and KETOLA, R.A. 2011. Feasibility of capillary liquid chromatography microchip-atmospheric pressure photoionization–mass spectrometry for pesticide analysis in tomato. *Analytica Chimica Acta*, 696 (2011): 77–83.
- LACINA, O., URBANOVA, J., POUSTKA, J. and HAJŠLOVA, J. 2010. Identification/quantification of multiple pesticide residues in food plants by ultra-high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010): 648–659.
- LAMBROPOULOU, D.A. and ALBANIS, T.A. 2007. Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70 (2007): 195–228.
- LEANDRO, C.C., HANCOCK, P., FUSSELL, R.J. and KEELY, B.J. 2007. Ultra-performance liquid chromatography for the determination of pesticide residues

in foods by tandem quadrupole mass spectrometry with polarity switching. *Journal of Chromatography A*, 1144 (2007): 161–169.

LEHOTAY, S.J., AE SON, K., KWON, H., KOESUKWIWAT, U., FU, W., MASTOVSKA, K., HOH, E. and LEEPIPATPIBOON, N. 2010. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010): 2548–2560.

LEONG, K.H., TAN, T.T.B. and MUSTAFA, A.M. 2007. Contamination levels of selected organochlorine and organophosphate pesticides in the Selangor River, Malaysia between 2002 and 2003. *Chemosphere*, 66 (2007): 1153–1159.

LIU, C.H., MATTERN, G.C., YU, X., ROSEN, R.T. and ROSEN, J.D. 1991. Multiresidue determination of nonvolatile and thermally labile pesticides in fruits and vegetables by thermospray liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 39 (1991): 718-723.

MARIN, J.M., GRACIA-LOR, E., SANCHO, J.V., LOPEZ, F.J. ve HERNANDEZ, F. 2009. Application of ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry to the determination of multi-class pesticides in environmental and wastewater samples. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009): 1410–1420.

MARTINEZ VIDAL, J.L., ARREBOLA, F.J. and MATEU-SANCHEZ, M. 2002. Application of gas chromatography–tandem mass spectrometry to the analysis of pesticides in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 959 (2002): 203–213.

MATHEW, S.B., PILLAI, A.K. and GUPTA, V.K. 2007. A rapid spectrophotometric assay of some organophosphorus pesticide residues in vegetable samples. *Spectrochimica Acta Part A*, 67 (2007): 1430–1432.

MCCOOEYE, M., KOLAKOWSKI, B., BOISON, J. and MESTER, Z. 2008. Evaluation of high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry mass spectrometry for the analysis of the mycotoxin zearalenone. *Analytica Chimica Acta*, 627 (2008): 112–116.

MCMASTER, M.C. 2005. LC/MS a practical user's guide. John Wiley & Sons. 178 pp. New Jersey.

MERMET, J.M. and GRANIER, G. 2012. Potential of accuracy profile for method validation in inductively coupled plasma spectrochemistry. *Spectrochimica Acta Part B*, 76 (2012): 214–220.

MEYER, V.R. 2004. Practical high-performance liquid chromatography, Fourth edition. John Wiley & Sons. 368 pp. USA.

MILLER, J. and MILLER, J. 2008. Analitik Kimyacılar için İstatistik ve Kemometri. İlke Yayınevi, Ankara, 312 ss.



- MILLER, R.A., EICEMAN, G.A., NAZAROV, E.G. and KING, T.A. 2000. A novel micromachined high-field asymmetric waveform-ion mobility spectrometer. *Sensors and Actuators B*, 67 (2000): 300–306.
- MILLER, R.A., NAZAROV, E.G., EICEMAN, G.A. and KING, T.A. 2001. A MEMS radio- frequency ion mobility spectrometer for chemical vapor detection. *Sensors and Actuators A*, 91 (2001): 301-312.
- MISHRA, K. and SHARMA, R.C. 2011. Assessment of organochlorine pesticides in human milk and risk exposure to infants from North-East India. *Science of the Total Environment*, 409 (2011) 4939–4949.
- NAKAGAWA, K. 2008. Enhanced LC-MS/MS Selectivity for the Analysis of Human Urinary 8-isoprostane, using FAIMS. *Thermo Application Note:431*, Thermo Fisher Scientific Inc. USA.
- NIELEN, M.W.F. ve MARVIN, H.J.P. 2008. Challenges in Chemical Food Contaminants and Residue Analysis. In: D. Barcelo (Editor), *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier, pp. 1-25.
- NIESSEN, W.M.A. 2010. Group-specific fragmentation of pesticides and related compounds in liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010): 4061–4070.
- O'DONNELL, R.M., SUN, X. and HARRINGTON, R.B. 2008. Pharmaceutical applications of ion mobility spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry*, 27 (1): 44- 53.
- OGUNFOWOKAN, A.O., OYEKUNLE, J.A.O., TORTO, N. And AKANNI, M.S. 2012. A study on persistent organochlorine pesticide residues in fish tissues and water from an agricultural fish pond. *Emir. J. Food Agric*, 24 (2): 165-184.
- ORTELLI, D., EDDER, P. and CORVI, C. 2004. Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 520 (2004): 33–45.
- ÖZCAN, N. ve İKİNCİOĞULLARI, D. 2009. Ulusal Zehir Danışma Merkezi 2008 yılı çalışma raporu özeti. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66 (3) Ek 3.
- ÖZKAN, B., KARAMAN, S., VURUŞ AKÇAÖZ, H. ve TAŞCIOĞLU, Y. 2002. Antalya ilinde serada sebze üretiminde pestisit kullanımının ekonomik açıdan değerlendirilmesi. *Bahçe*, 31 (2002): 9 – 16.
- PADAVONI, L., TREVISAN, M. ve CAPRI, E. 2004. A calculation procedure to assess potential environmental risk of pesticides at the farm level. *Ecological Indicators*, 4 (2004): 111–123.

- PENNER, M.H. 2010. Basic principles of spectroscopy. S.S. Nielsen (Editor), Food Analysis, Springer, pp. 375- 387, New York.
- PETERS, F.T., DRUMMER, O.H. and MUSSHOF, F. 2007. Validation of new methods. *Forensic Science International*, 165 (2007): 216-224.
- PURVES, R.W., BARNETT, D.A. and GUEVROMENT, R. 2000. Separation of protein conformers using electrospray-high field asymmetric waveform ion mobility spectrometry-mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 197 (2000): 163–177.
- RORRER III, L.C. and YOST, R.A. 2011. Solvent vapor effects on planar high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 300 (2011): 173–181.
- SANNINO, A. 2008. Pesticide residues. In: D. Barcelo Y. Pico (Editors), Comprehensive Analytical Chemistry; Food Contaminants and Residue Analysis, Elsevier, pp. 257- 305, Amsterdam.
- SANNINO, A., BOLZONI, L. ve BANDINI, M. 2004. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1036 (2004): 161–169.
- SCHMIDT, R.H. and RODRICK, G.E. 2003. Food safety handbook. John Wiley & Sons, 805p.
- SOLER, C., JAMES, K.J. ve PICO, Y. 2007. Capabilities of different liquid chromatography tandem mass spectrometry systems in determining pesticide residues in food- Application to estimate their daily intake. *Journal of Chromatography A*, 1157 (2007): 73–84.
- SOLER, C., MANES, J. and PICO, Y. 2004. Liquid chromatography–electrospray quadrupole ion-trap mass spectrometry of nine pesticides in fruits. *Journal of Chromatography A*, 1048 (2004): 41–49.
- SOYÖZ, M. ve ÖZÇELİK, N. 2003. Zırai mücadelede kullanılan pestisitlerin sitogenetik etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10 (1): 6-9.
- SÖĞÜT ERTAŞ, Ö. ve KAYALI, A. 2005. Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 34 (1): 41–57.
- ŞENÖZ, B. 2007. Buğday, makarna ve bisküvide organik fosforlu pestisit kalıntıları ve bazı metabolitleri üzerine depolama ve işleme tekniklerinin etkisi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 95 ss.

- ŞIK, B., CERTEL, M. ve YILDIZ, G. 2011. Pestisitler ve gıda güvenliği. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 34 (2011): 52-57.
- TABRIZCHI, M. and ABEDI, A. 2002. A novel electron source for negative ion mobility spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 218 (2002): 75–85.
- TAHARA, M., KUBOTA, R., NAKAZAWA, H., TOKUNAGA, H. and NISHIMURA, T. 2005. Use of cholinesterase activity as an indicator for the effects of combinations of organophosphorus pesticides in water from environmental sources. *Water Research*, 39 (2005): 5112–5118.
- TÜRKÖZ- BAKIRCI, G. and HIŞIL, Y. 2012. Fast and simple extraction of pesticide residues in selected fruits and vegetables using tetrafluoroethane and toluene followed by ultrahigh-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 135 (2012): 1901–1913.
- VENKATESWARLU, P., RAMA MOHAN, K., RAVI KUMAR, Ch. and SESHIAIAH, K. 2007. Monitoring of multi-class pesticide residues in fresh grape samples using liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 105 (2007): 1760–1766.
- WILKOWSKA, A. and BIZIUK, M. 2011. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry*, 125 (2011): 803–812.
- XIA, Y.Q., WU, S.T. and JEMAL, M. 2008. LC-FAIMS-MS/MS for quantification of a peptide in plasma and evaluation of FAIMS global selectivity from plasma components. *Analytical Chemistry*, 80 (2008): 7137-7143.
- YALÇINKAYA, N., YALÇINKAYA, M.H. ve ÇILBANT, C. 2006. Avrupa Birliği'ne yönelik düzenlemeler çerçevesinde türk tarım politikaları ve sektörün geleceği üzerine etkisi. *Yönetim ve Ekonomi*, 13/2 (2006): 97-118.
- YILDIZ, M., GÜRKAN, M. O., TURGUT, C., KAYA, Ü. ve ÜNAL, G. 2005. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları, TMMOB Ziraat Mühendisleri 6.Teknik Kongresi, Ankara.
- YİĞİT, N. 2009. Bazı meyve ve sebzelerde pestisit kalıntılarının analizinde yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile çoklu kalıntı analiz metodunun geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, 158 ss.
- ZAMORA, J.G., POZO, O.T., LOPEZ, F.J. ve HERNANDEZ, F. 2004. Determination of tridemorph and other fungicide residues in fruit samples by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1045 (2004): 137–143.

- ZHANG, J. and LEE, H.K. 2006. Application of liquid-phase microextraction and on-column derivatization combined with gas chromatography–mass spectrometry to the determination of carbamate pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1117 (2006): 31–37.
- ZOHAIR, A. 2001. Behaviour of some organophosphorus and organochlorine pesticides in potatoes during soaking in different solutions. *Food and Chemical Toxicology*, 39 (2001): 751–755.

## ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Antalya’da doğmuştur. İlk ve orta öğretimini Antalya’da tamamlamıştır. 2010 yılında Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden mezun olmuştur. Eylül 2010’da Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitime başlamıştır. Şubat 2012’den beri Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi’nde analist olarak görev yapmaktadır.