

Pestisid Kalıntılarının Analizleri - II

Dr. Yaşar HIŞIL

Ege Üniversitesi Gıda Fakültesi — İZMİR

SON - TAYİN YÖNTEMLERİ (End - Methods of Determination)

Kalıntı analizlerinde kullanılan son tayin yöntemleri esas olarak biyolojik, spektrofotometrik ve kromatografik diye üç grup altında toplanır. Elektrokimyasal (başlıcası polarografik), radyokimyasal gibi diğer metodlar da vardır, fakat kullanılmaları sınırlıdır.

Biyolojik Yöntemler

Pestisid kalıntılarının tayini için biyolojik metodlar, biyoassay ve enzimatik teknikleri ihtiva ederler. Basitlik ve duyarlılık avantajlarına sahiptirler. Başlıca mahzurları spesifik olmamalarıdır. Bioassay, pestisidi teşhis için, kullanılmış bir test materyalinin fizyolojik cevabının ölçülmesine dayanır. Her ne kadar test edilen pestisid grudu içerisinde nispeten seçici (selective) değilse de, özel bir grup veya adı bilinen pestisidin total kalıntısının tayini için kullanılmaktadır. Böcek bioassay tekniği SUN (70) tarafından detaylı bir şekilde incelenmiştir. Organik fosforlu ve bazı, karbamat pestisidler tarafından carboxylesterase ve cholinesterase enzimlerinin engellenmesine (inhibition) dayanan biyokimyasal sistem, ince tabaka kromatografisiyle birleştirildiğinde özellikle faydalı bulunmuştur. Bazı araştırmacılar (54, 77, 35), bir fluorogenik ajan olarak indoxylacetate'ı kullanarak birleştirilmiş ince tabaka kromatografisi ve enzim engelleme tekniğinin duyarlılığını araştırmışlardır. Bu işlemin tipik tayin sınırı carbaryl'de 0,5 ng, carbosulfan'da 5 ng, propoxur'de 10 ng, parathion'da 0,1 ng, ve malathion'da 2,5 ng dir.

Spektrofotometrik Yöntemler :

Pestisid kalıntılarının spektrofotometrik tayinleri nadiren ince tabaka ve gaz kromatografik tekniklerin duyarlılık seviyesinde başarıya ulaşır. Ana bileşik, metabolitleri ve hidroliz ürünlerini ayırtmaya muktedir değildir, fakat kromatografiyle birlikte bir doğrulama tekniği olarak kullanılabilir. Spektrofotometrik tayinin, (a). Ultraviyole ve görünür (200 - 700

nm), (b). İnfrared (2 - 15 μ m) ve (c). Fluoresans ve Fosforesans olarak üç tipi bulunmaktadır.

Ultraviyole ve Görünür :

Ultraviyole yöntemler, pestisid kalıntısının ölçüldüğü spektrum bölgesinde ışık absorbe edecek diğer herhangi bir materyalin bulunmamasını sağlamak için dikkatli bir temizleme (clean - up) gerektirir. Bitki materyalinden pestisid kalıntısının ekstraksiyonu için kullanılan çözücünün ölçümün yapıldığı ultraviyole bölgede absorpsiyon yapmaması için çözücünün dikkatli seçilmesi gerekir.

Pestisidlerin bir çoğu renkli olmadıklarından, görünür bölgede spektrofotometrik tayinden önce kromoför bir yapı meydana getirilmeli, pestisid molekülü içerisine boyar madde dahil edilmelidir.

Ultraviyole ve görünür spektrofotometre, gaz kromatografisiyle ayırımı güç olan 2,4 - D, 2, 4, 5 - T asidler, diquat ve paraquat gibi iyonik bipyridinium herbisid bileşiklerin tayininde ekseriya kullanılır.

Bazı klorlu pestisidler kolorimetrik metodlarla tayin edilmişlerdir, fakat üstün tayin sınırlarına sahip gaz - likid kromatografisinin ortaya çıkmasıyla kolorimetrik metodlar önemlerini hızla kaybetmişlerdir. Spektrofotometrik teknik su kalitesini izlemek için veya kromatografik ayırımdan sonra doğrulama testi için kullanılabilir. Sularda organik pestisidlerin, özellikle herbisidlerin teşhis ve miktar tayininde, temizleme (clean - up) yapıldıktan sonra spektrofotometrenin duyarlılığı ve seçiciliği yeterli olmaktadır.

Infrared yöntemler :

Bu spektrofotometrik teknik, pestisid kalıntılarının analizinde kalitatif teşhis ve bir dereceye kadar kantitatif tayinde kullanılmıştır. Genellikle uygun spektrum elde etmek için nisbeten fazla miktarda saf materyal gereklidir. İstenmeyen ekstraktiflerin sebep olduğu

background absorpsiyonun düşük olması şartıyla, pestisidlerin mikrogram seviyesinde iyi spektrumu elde edilir. Temiz bir ekstrakt elde etme zorluğu en büyük dezavantajdır. Kantitatif infrared analiz için susuz çözelti gereklidir. Maalesef yaygın olarak kullanılan katı kurutma eczalarının bazısı pestisidleri absorbe eder veya onlarla reaksiyona girer, bu yüzden suyu tamamen ortadan kaldıramaz.

Pestisidler, fraksiyon toplayıcı gaz - likid kromatografisiyle veya preparatif ince tabaka kromatografisiyle ayrılabilir ve bir yerde toplanır, sonra mikroifrared teknikle infrared spektrum elde edilir.

Fluoresans ve Fosforesans yöntemler :

Fluorometrik yöntemler, eğer uygulanabilirse, absorpsiyon yöntemlerine tercih edilir. Çünkü, seçicilikleri ve tayin duyarlılıkları genellikle büyüktür. Başlıca olumsuz yönleri, sınırlı uygulanabilirlik ve mevcut floresans biyolojik materyalleri ortadan kaldıracak uygun temizleme işlemleri bulmadaki zorluktur. Floresans ile konsantrasyon arasındaki ilişki sadece belirli bir konsantrasyonun üzerinde doğrusaldır.

Bazı pestisidlerin fosforesans incelenmesi ve tekniğin uygulanabilirliği; uyarma ve emisyon spektrumu, 10^{-2} M etanolik çözeltide 32 pestisidin analitik kurevleri, tayin limitleri ve bozulma süreleri MOYE ve WINEFORDNER (58) tarafından ortaya konmuştur. Methylendioxyphenyl sinergist için floresans ve fosforesans spektrum BOWMAN ve BEROZA (19) tarafından elde edilmiş; ticari spreylerde, depolanmış hububat ve öğütülmüş ürünlerde piperonyl butoxide kalıntısının tayini için floresans yöntemleri geliştirilmiştir. Floresans analiz, gaz kromatografisiyle kolayca tayin edilemeyen karbamat kalıntılarının tayini için hızlı ve duyarlı bir yöntemdir ve süt örneklerinde karbamatların analizi için kullanılmıştır. Ölçüm, metanol - tetramethylammonium hydroxide çözeltisinde yapılmıştır (20). Carbaryl ve I - naphthol, polen tozlarında ve baıda, 0,25 M sodyum hidroksitte floresansın ölçülmesiyle tayin edilmiştir (4). Floresans daha çok deney şartlarına bağlıdır; en önemlileri çözücünün etkisi

ve pH dir. Bu faktörler MACDOUGALL (48, 49) tarafından bir makalede incelenmiştir.

Kromatografik Yöntemler :

Bu en basit teşhis ve tayin yöntemidir. Klorlu ve fosforlu insektisidler ve chlorophenoxyacid tipindeki herbisidler için yeterli derecede duyarlı ve seçici sonuçlar verir. Gaz ve ince tabaka kromatografilerinin tanınmasından önce, kağıt kromatografisi çeşitli pestisid kalıntılarının ayırımı ve teşhisinde genellikle uygulanan tek işlemdir. İnce tabaka kromatografisi, büyük ayırma gücü ve kısa developman süresi gibi üstünlükleriyle pestisid analizlerinde uygulamada kağıt kromatografisinin yerini almıştır.

Genel olarak, pestisid kalıntısı analizleri için kağıt kromatografisi kullanıldığında, kağıt-takımyasal bir değişiklik yapılmaz. Organik fosforlu pestisidlerin geri - faz (reversed - phase) ayırımı için asetillenmiş kağıtlar kullanılmıştır (52). Aynı amaç için fibré - glass kağıtlar da geçerlidir (53). Herbisidler ve onların trichloroacetate türevleri de kağıt kromatografisiyle tayin edilebilir (57). PESTICIDE ANALYTICAL MANUAL, I'de (74), pestisid kalıntılarının kağıt kromatografisiyle analizleri için oldukça geniş bilgiler ve yöntemler verilmiştir.

İnce Tabaka Kromatografisi :

Bu teknik son yıllarda önem kazanarak hızlı bir gelişme göstermiştir. Şimdi, genellikle pestisidlerin pek çoğunun çok küçük miktarlarının tayin ve aranması için kesin ve etkili bir teknik olarak kabul edilmektedir. Bununla beraber, gaz kromatografisinin kesinliği kadar olmamakla birlikte, ince tabaka kromatografisi kağıt kromatografisinden daha kesin ve duyarlıdır. İnce tabaka kromatografisi pestisid analizlerinde tam kantitatif değerlendirme için ve örnek ekstraktlarının bir temizleme işlemi olarak teşhis çalışmalarında kullanılabilir.

Cam plaka üzerindeki adsorbantlar düz, sıkı ve kesintisiz olmalıdır. Pek çok pestisid kalıntısı çalışmasında 0,25 mm alümina veya silikajel tabaka iyi sonuç verir. Bazı hallerde kiselguhr ve mağnezyum oksit gibi diğer adsorbantlar da kullanılır. En son gelişmeler poliamid tabakaların ve micro crystalline cellulose «Avicel» in kullanılmasıdır.

Kaplanmış plaka havada kurutmadan sonra, 120°C de 2 saat etüvde ısıtılarak tamamen kurutulur, aktive edilir, kullanmadan önce eksikatörde soğutulur. Palkaya damlatılan çözeltideki çözücüler uçucu olmalı ve damlatmada kullanılan mikropipetlerin plaka yüzeyinde bozulma yapmamasına dikkat etmelidir. Pestisidlerin standart çözeltileri örnekle birlikte, tercihan örnek beneğinin her iki tarafına damlatılarak aynı plaka üzerinde develope edilmelidir. Organik klorlu bileşiklerin ince tabaka kromatografileri için mobil fazların pek çoğu kullanılabilir, fakat tankın içerisinde doyurulmuş olması ve sabit bir atmosfer sağlamak önemlidir. Çıkan (ascending) teknikte, plaka düşey olarak ve başlama hattı yaklaşık çözücü yüzeyinin 1 cm yukarısında olacak şekilde develope edilir. Developmandan sonra plaka havada kurutulur ve sonra pestisidler çeşitli yollarla gözlenir. Bunlardan birinde, plaka etanolik gümüş nitrat çözeltisiyle spreylenebilir ve ultraviyole ışıkla ışınlanır. Pestisid benekleri beyaz zemin üzerinde koyu renkli olarak gözlenir. Bu işlem fazla duyarlı değildir, tayin sınırı yaklaşık 0,5 ug dir, dikkat edilmezse, plakanın geniş alanlarında renk bozulması meydana çıkar. Adsorbant içerisine eğer gümüş nitrat katılırsa daha iyi sonuç alınır ve organik klorlu pestisidler 5 - 200 ng miktarlarda tayin edilebilir (1, 33). Kullanılan diğer belirtme ajanları ise, aromatik aminler, brom buharları ve fluorescein, Rhodamine B ve dichlorofluorescein gibi fluoresan indikatörlerdir.

Birkaç defa develope edilerek tek yönlü kromatografi 13 cins organik klorlu pestisid kalıntısının ayrılması için kullanılmıştır (71). Beş çözücü sistemiyle florasil üzerinde 90 pestisidin ince tabaka kromatografisiyle incelenmesi yapılmıştır (40). İnce tabaka kromatografisi ile yağlarda ve sebzelerde mevcut organik klorlu pestisidlerin aranması için hızlı bir tarama testi yayınlanmış ve sörveylerde kullanılmıştır (1).

Gaz Kromatografisi tekniğiyle analizleri zor olan karbamat pestisidler ince tabaka kromatografisiyle teşhis ve tayin edilebilir. MENDOZA ve SHIELDS (55), karbamat ve organik fosforlu pestisidleri tayin etmek için ise tabaka kromatografisi - enzim engelleme tekni-

ğini geliştirmişlerdir. Bu teknik 0,1 ng dan daha düşük miktardaki carbaryl'i tayin için yeterli olmaktadır. NAGASAWA ve ark. (60), poliamid tabakalar kullanarak karbamatları ayırmışlar ve tayin etmişlerdir. Poliamid ve silikajel tabakalardaki tayin sınırlarını karşılaştırmışlar ve poliamid tabakaların üstünlüğünü ortaya koymuşlardır. GETZ ve WHEELER (37), 42 adet organik fosforlu bileşiğin ayırımı için 5 adet üçlü çözücü sistemi ve 3 adet kromojenik püskürtme eczası kullanmışlardır.

Fluoresan silikajel, organik fosforlu pestisidlerin ayırımı ve aranması için kullanılabilir. VILLENEUVE ve ark. (75), bu jellerin kullanılabilmesinin bir değerlendirilmesini yapmışlardır. Organik fosforlu pestisidler esterazları engelledikleri (inhibition) içindir ki, kolinesteraz arama metodlarıyla ince tabaka kromatografisinin kombinasyonu, ayırım ve aramada çok hızlı ve duyarlı işlemleri mümkün kılar. MENDOZA ve ark. (56), ACKERMANN (2, 3), WINTERLIN ve ark. (80) ve ERNST ve SCHURING (32) çalışmalarlarıyla bu tekniğin örneklerini vermişlerdir.

İnce tabaka kromatografisi, uygun bir ester veya türevine çevrilmedikçe gaz kromatografisiyle analiz edilemeyen herbisidlerin ve polar herbisidlerin çoğuna tatbik edilebilir. İnce tabaka kromatografisi phenylurea herbisidlerin (36) aranması ve tayini için de kullanılmıştır.

HOMANS ve FUCHS (44), fungusidlerin aranması için ince tabaka kromatografisinde direkt bio - autograph tekniğini kullanmışlardır. Bir başka araştırmada ise organo - civa fungusidlerin pek çoğunun dithizonate'ları ince tabaka kromatografisinde incelenmiştir (72).

Gaz - Sıvı Kromatografisi :

Pestisid kalıntılarının analizleri için en ayrıntılı ve en duyarlı son - tayin yöntemi (end - method of determination), şüphesiz gaz - sıvı kromatografisidir. Bu tekniği geliştirmek için yapılan bir çok araştırmadan sonra cihazın bazı özellikleri standartlaştırılmıştır. Kolonlar genellikle 1 - 2 m uzunluğunda camdan yapılır. Metal kolonlardan kaçınmak gerekir. Zira bunlar, kolonda bileşiklerin bozunmasına sebep olabilir.

Pestisidlerin gaz - sıvı kromatografisiyle analizleri için en fazla kullanılan sabit (stationary) fazlar, organosilikonlar SE - 30, QF - 1 veya DC - 200; QF - 1 ve DC - 200 karışımları, Apiezon, butane - 1, 4 - diol succinate, Versacim 900, Carbowax 20 M, ve GE - XE 60 dır. OV - 17 sabit fazı da pestisid analizinde kullanılmaktadır. TAYLOR (73), klorlu pestisidler için en uygun sabit faz olarak QF - 1 ve neopentylglycol succinate karışımının olduğunu bildirmiştir. 60 adet organik fosforlu pestisidin ve metabolitlerinin farklı üç sabit fazda alıkonma süreleri (retention time) ve cevapları WATTS ve STORHERR tarafından kaydedilmiştir (78).

Israrla üzerinde durulması gereken husus şudur ki, kesin bir sonuca varmadan önce, kararın yanlış sonuçlar vermemesi için, bütün örneklerin en az iki farklı kolonda analiz edilmesi gerekmektedir. Bazen, bu ikisinden de farklı bileşimde üçüncü bir kolona enjeksiyon yapılmalıdır. Kullanılan iki (veya üç) tip kolon, çeşitli pestisid kalıntıları için farklı göresel alıkonma süreleri (relative retention times) verecek şekilde farklı polariteye sahip sabit fazları ihtiva etmelidir.

β radyasyon kaynağı olarak ya bakır levha üzerine titanyum kaplanarak, ya da nikel⁻⁶³ levha ile elektron tutucu dedektör organik klorlu bileşikler için standart hale gelmiştir. Ni⁻⁶³ levha taşıyan elektron tutucu dedektör (electron capture dedector) daha pahalıdır, fakat 250°C nin üzerinde kullanılabilir, titanyum kaplı dedektör ise bu derecelerde zarar görür. Ni⁻⁶³ dedektör 400°C ye kadar kullanılabilir. Bu dedektörün yüksek sıcaklıkta kullanılması, kirli örneklerden ve kolon sabit fazının taşınmasından dolayı radyasyon kaynağının kirlenmesini azaltır. Elektron tutucu dedektör, organik klorlu pestisidlerin analizinde microcoulometric dedektörün yerini almıştır. Elektron tutucu dedektör bütün tutulan elektron türlerine cevap verir, halbuki micro - coulometric dedektör halojenli bileşikler için özel olarak imal edilmiştir.

Elektron tutucu dedektör (ECD) Cl ve NO₂ gibi bazı elektroforik grup ihtiva eden parathion ve fenclorophos gibi bazı organik fosforlu bileşikler için de kullanılmıştır. Fakat

duyarlık genellikle düşüktür. 5 veya 10 mg miktara bir cevap vermektedir.

Organik fosforlu bileşikler için yüksek duyarlılıkta dedektör ihtiyacı sodyum termionik dedektör (STD) ün GIUFFRIDA (38) tarafından tanıtılmasıyla karşılanmıştır. STD fosforlu ve azotlu bileşiklere özel bir duyarlık gösterdiği için bu önemli bir gelişme olmuştur. Bu dedektör klorlu bileşiklere duyarsızdır. STD, katodu sodyum veya diğer alkali metal tuzlarının biriyle kaplanmış bilinen alev iyonizasyon dedektöründe ibarettir. HARTMANN (41), yüksek basınç altında sezyum bromid ve celite karışımından hazırladığı uç, dedektör içerisinde, alev jeti üzerine oturarak, kararlı, çalışma süresi uzun bir dedektör elde etmiştir. Termionik dedektörler pek çok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. YİĞİT (81), sezyum bromid termionik dedektörü bazı organik fosforlu pestisid kalıntılarının analizinde, HIŞİL (42) da KCl termionik dedektörü elmalarda fenthion kalıntısının analizinde kullanmışlardır. MAIER - BODE ve RIEDMANN (50), azot ihtiva eden pestisidlerin azot - alev iyonizasyon dedektörü (N - FID) ile analizleri için oldukça geniş bilgiler vermişlerdir. Yaptıkları çalışmada, rubidium bromid ihtiva eden uç alev çeti üzerinde yerleştirerek elde edilen N - FID in teşkilıyla ilgili bilgiler de bulunmaktadır.

Fosforlu bileşikler için özel dedektörlerdeki son gelişmelerden biri de alev fotometrik dedektördür. Zengin hidrojen alevli bir alev fotometresi ile havada kükürtlü ve fosforlu bileşiklerin tesbiti için BRAE - GERWERK ve DRAEGER 1962 de Almanya'da patent almışlardır. Bu prensibi kullanarak BRODY ve CHANEY (24), fosforlu bileşikler için subnanogram ve kükürtlü bileşikler için submikrogram miktara duyarlı, fakat diğer bütün organik bileşiklere nispeten duyarsız bir dedektör imal ettiler. Dedektör, hidrojen - hava alevinde fosforlu ve kükürtlü bileşiklerin alev emisyonlarının fotometrik tayini prensibine dayanmaktadır. Partiküler emisyonun spektral izolasyonu için bir girişim filtresine sahip bir foto - çoğaltıcı (photomultiplier) tüb tarafından alev gözlenmektedir. Fosforlu bileşikler için 526 nm, kükürtlü bileşikler için ise 394 nm filtreler kullanılmıştır. Dedektör, soğuk pres turuncgil yağ-

larında (69), portakal, elma, şeker pancarı ve patatestede (51) organik fosforlu pestisidlerin analizinde kullanılmıştır. Fosfor ve kükürt ihtiva eden pestisidlerin ve metabolitlerinin analizinde alev fotometrik tesbitle GLC nin çok yönlü, duyarlı, güvenilir ve yeterli bir araç olduğu gözlenmektedir. Dedektör, fosfor ve kükürt ihtiva eden türev formunda karbamat insektisidlerin analizi için de uygundur. Alev fotometrik dedektör ile birlikte farklı polaritede iki kolon kullanarak, STANLEY ve MORRISON (67), bilinen bir örnekle bilinmeyen örneğin piklerinin alkonma sürelerini karşılaştırarak organik fosforlu pestisidleri teşhis etmişlerdir. BOWMAN ve BEROZA (22) üç ayrı konsantrasyonda 21 pestisid kullanarak, fosforun cevabının konsantrasyonla doğrusal, kükürtün cevabının ise doğrusal olmadığını bulmuşlardır. Cevap oranını, fosforun cevabını, kükürtün cevabının kare köküne bölerek tesbit etmişlerdir. Bu oran bir moleküldeki fosforun kükürte atomik oranını gösterir.

Halojenli bileşiklerin tayini için BOWMAN ve BEROZA (23), bakır mevcudiyetinde yakılmış klor, brom ve iyot ihtiva eden bileşiklerden elde edilen yeşil alev duyarlılık gösteren fotometrik dedektör (PD) lü GLC yi kullanmışlardır. Dedektörün klorlu hidrokarbonlara duyarlılığı genellikle 100 ng dır. Fakat ürünlerde klorlu pestisidlerin tayini için çok iyi bir temizleme (clean-up) gerekmektedir, çünkü dedektörde kullanılan bakır kafes kolaylıkla deaktive olabilmektedir. Normal alev fotometrik dedektörden (FPD) farklı olarak yüksek derecede seçici değildir. Son gelişme dual-alev fotometrik dedektör adı verilen iki farklı FPD ün kombinasyonu olmuştur. Kolondan çıkan bileşikler çok düşük alevde yanmış ve kükürt ve fosfor için gözlenmiştir. İndium boncuklarını tutan paslanmaz çelikten bir kafes alevin en alt ve en üstü arasına yerleştirilmiştir. Klor ihtiva eden bileşikler indiumla reaksiyona girerek hasil olan emisyon 360 nm de gözlenmiştir. Böylelikle, Bir GLC kolondan elute edilmiş ve fosfor, kükürt ve klor ihtiva eden bileşiklerin aynı zamanda ve seçilmiş olarak tayini yapılabilmektedir.

Diğer özel bir dedektör de Coulson elektrolitik kondüktivite dedektördür. Kolon akıntısı

reaktan bir gazla (oksijen veya hidrojen) karışmanın yapıldığı bir alüminyum blok içerisinden geçer. Karışım yanma (combustion) katalisti ihtiva eden bir eritme tübü (pyrolysis) içerisine gönderilir. Eritme şartları arzu edilen elementi ihtiva eden suda erir bir tür ürüne göre seçilmiştir. Nitekim, halojen tayini için pyrolysis ünitesi oksidasyon şartlarını verecek olan bir platin kafes ihtiva eder, ürünler kükürtdioksit ve hidroklorik aside dönüşür. Kükürtdioksit kalsiyum oksit temizleyici (scrubber) tarafından tutulur ve hidroklorik asid böylece iletkenlik sıvısı içerisine gönderilir. Bu sıvının iletkenliğindeki değişme ölçülür ve organik klorlu pestisit miktarı hesaplanabilir. Azot tayini için, kolondan gelenler bir nikel katalisti ile indirgenmiş ve girişim yapan maddeler stronsiyum hidroksit temizleyici tarafından tutulmuştur.

1965 ten önce kaydedildiği halde henüz yaygınlaşmamış olan yüksek seçici dedektör, emisyon spektrometer dedektördür. BACHE ve LISK (8) bu dedektör tipine öncülük etmişler ve organik fosforlu pestisidlerin (8, 9, 10, 11), karbamat ve triazin pestisidlerin (12), ve organik cıvanın (13) tayinleri için onu başarıyla kullanmışlardır. Bu dedektör, bir gaz kromatografisinden helyum veya argon buharıyla taşınmış ve normal atmosfer veya düşük basınçta, yük çıkarıcı devamlı mikrodalgadan geçen spesifik bir elementin atomlarının emisyonuna cevap verir. Düşük basınç argon gazına oranla daha yüksek uyarılma enerjisi ve daha düşük background radyasyon avantajı ile, taşıyıcı gaz olarak helyumun kullanılmasına izin verir. Organik bileşiklerin bütün elementleri tayin edilebilir ve o birden çok elementin bir arada tayinine imkan verir. Bu dedektörün geleceğinin cazibesi onun duyarlılığından, doğrusalık genişliğinden ve bileşikleri teşkil eden atomların çeşitli özel emisyon çizgilerinin çok kanallı tayinlerinden ileri gelmektedir. Pek çok element için tayin sınırı 0,1 - 1,0 ng/sn, oksijen ve azot için ise 3 ng/sn civarındadır. MOYE (59), 10 ng/kg parathion ihtiva eden sap kerevizi ekstraktlarında, ECD ile mikrodalga emisyon dedektörünün cevaplarını karşılaştırmıştır. Mikrodalga dedektöründe parathion'un 10 ng'ı, ECD de ise 1 ng ı aynı cevabı vermiştir, fakat mikro dalga dedektörde yabancı pik-

ler tamamen ortadan kaldırılmıştır.

Yeni bir alevsiz iyonizasyon (kimyasal - iyonizasyon) dedektörü de geliştirilmiştir. Fosfor bileşikleri kolondan çıkarak sıcak sezyum bromid buharı ve inert gaz atmosferine girince iyonizasyon meydana gelmekte ve böylece tayin gerçekleştirilmektedir. Çeşitli organik fosforlu pestisidlerin bu dedektörle elde edilen sonuçları alkali metal - alev iyonizasyon dedektörünün sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Alevsiz iyonizasyon dedektörü fosforlu bileşiklere daha az duyarlı olmakla birlikte, hidrokarbon çözenlere de çok az duyarlıdır. Bu, alevsiz iyonizasyon dedektörüne kendine has kesin bir üstünlük verir. Sonuç olarak kromatogramlar, çok az girişim piki görülmekle birlikte, oldukça temizdir (64).

Sıvı - Sıvı Kromatografisi :

Sıvı - sıvı kromatografisi, kompleks karışımların ayrılmasında ve analizlerinde, GLC nin yanında güçlü bir teknik olarak yerini almıştır. Ayırma seçilmiş çözücü sisteminde kafi derecede farklı özellikte partisyona sahip bileşiklere bağlıdır. Bu teknikte, buharlaşabilme söz konusu olmadığından, bir sınırlama olmaksızın pek çok sayıda bileşik analiz edilebilmektedir. Modern sıvı kromatografiler, kolon dolgu maddesinin tanecik büyüklüğü (5 µm den küçük), kolon iç çapının darlığı (1 mm den daha dar), ve giriş basıncının yüksekliği (5000 psi den yukarı) ile karakterize edilirler. Kolon içerisindeki kolon destek materyaline kimyasal olarak bağlı olan ve destek materyalinin gözenekli yüzeyini kontrol eden sabit (stationary) fazlarda ayırımı gerçekleştirildikten sonra madde dedektörde tayin edilir. Dedektörler, refraktometri, elektrolitik iletkenlik, adsorpsiyon sıcaklığı, spektrofotometri ve alev iyonizasyonu esasına dayanırlar.

Yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) benomyl ve carbendazim'in suda çözünürlüğünün ve eriyikte benomyl'in metabolitine dönüşümünün ölçümünde AUSTIN ve ark. (7) tarafından kullanılmıştır. BOMBAUGH ve ark. (18), Çorasil II kolonda çözücü olarak n-heksanla ayrılan organik klorlu pestisidleri, yüksek performanslı sıvı kromatograf kullanarak tayin etmişlerdir. Ayrılmış insektisidler bir difraksiyel refraktometre ile tayin edilmiş ve duyar-

lılık 1 ug dolayında olmuştur. Sıvı kromatografisi, karbamat insektisidler (carbaryl, butacarb, vb) de ve bunların hidroliz ürünlerinde, biyolojik materaylden ileri gelen girişimi en aza indirerek, hızlı ve direkt analiz yapma aracı olduğunu göstermiştir.

Polarografi :

Polarografi çeşitli pestisidlerin aranması ve tayini için denenmiştir. Klasik polarografi düşük bir seçiciliğe ve düşük bir duyarlılığa sahip olmakla birlikte ticari parathion ürünleri gibi nitro bileşiklerin analizi için kullanılabilir. Bir polarogram hasil etmek için bileşik nitro, halojen, karbonil grubu gibi okside olabilen veya indirgen bir grup ihtiva etmelidir. Böyle bir grup ihtiva etmeyen pestisidler genellikle uygun bir türev şekline dönüştürülerek tayin edilirler. Polarografik tayin üzerine yayınlanmış literatürlerden uygun çözücü ve elektrolitler seçilip, uygunlukları laboratuvarında denebilir.

Radyokimyasal Teknikler :

Nötron - aktivasyon analizlerinde, iz elementlerde radyoaktivite meydana getirilir, bu iz elementlerin konsantrasyonları (1 ug/kg kadar düşük) meydana gelen radyasyon ölçülerek tayin edilir, ve standartlarla karşılaştırılır. Tekniğin kullanımı pahalı ekipman gerektirdiği için sınırlıdır. Yöntemin pestisid analizlerindeki potansiyeli BOGNER (17) tarafından tartışılmıştır. SCHMITT ve ark. (27, 63), süt ürünlerinde ve meyvelerde brom ve klor ihtiva eden unsurların tayini için hızlı bir nötron - aktivasyon metodu geliştirmişlerdir.

Radyoaktif izotoplar daha ziyade metabolizma çalışmalarında (örneğin, ³²P kullanarak trichlorfon metabolizması) ve rutin kalıntı analizleri için analitik yöntemlerin geliştirilmesinde kullanılmıştır. Teknik pestisid molekülü içerisinde radyoaktif bir atomun girmesini gerektirmektedir. İhraç edilen radyoaktivite izlenerek pestisidin organizma içerisinde veya analitik yöntemde ilerlemesi yakından takip edilebilir. Yöntem oldukça duyarlıdır (pestisidler için 0,1 ug/kg), ve ölçüm, örneğin kimyasal ve fiziksel durumuna nisbeten bağlı değildir. Kullanılan yaygın izotoplar ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, ve ⁸²Br olup, en önemlisi ¹⁴C dir (79).

İzotop dilusyon analizi, kantitatif olmayan şekilde bir ürün ölçme vasıtasıdır. Kantitatif izolasyon işlemi bilinmediği zaman analizin yapılmasını mümkün kılar. Radyoaktif bileşiğin bilinen bir miktarı ölçülecek bileşiği ihtiva eden bilinmeyen bir karışıma ilave edilir. Kimyasal olarak seçilemeyecek şekilde karıştırılır. Küçük bir miktar izole edilir, kimyasal ve radyoaktif olarak tayin yapılır. Radyoaktif bileşiğin toplam bileşiğe oranından konsantrasyon bulunur. Yöntem dimethoate ve Cidial'in (15) tayini için BAZZI tarafından kullanılmıştır.

Türev Teşekkülü :

Pestisidlerin türevleri iki ana sebepten dolayı hazırlanır. Bunlar; 1. Tanımlamaya yardımcı olmak için yapı değişmesi; ki, böyle bir teknik doğrulama teknikleri bölümünde tartışılmıştır. 2. Kromatografiye izin vermesi için, bileşiklerin stabilitesini arttırmak amacıyla yapılır.

Kağıt ve ince tabaka kromatografisinde pestisidlerin buharlaşabilirliklerinin düzenli bir şekilde azalması; gaz sıvı kromatografisinde ise buharlaşabilirliklerinin artması veya sabit kalması; pestisid için özel bir dedektörün duyarlılığını arttırmak veya yalancı (gaussian) piklerden sakınmak için yeni bir ürün teşekkülü gerekebilir.

Türev teşekkülü ihtiyacı, herbisid olarak ve bazı hallerde insektisid olarak kullanılan karbamat serisi bileşiklerde açıkça görülür. Isısal bozunma ve dedektör cevabının azlığından dolayı sadece birkaç karbamat pestisid doğrudan gaz kromatografisiyle tayin edilebilir. Bu durum, pestisidlerin hidroliz ürünlerinden türev teşekkülü için bir ilgiye yol açmıştır.

COHEN ve WHEALS (28) silikajel ince tabakası üzerinde hidrolizden sonra meydana

gelen aminleri 2,4 - dinitrophenyl türevine dönüştürdükten sonra ekstre etmişler ve GLC ye vermişlerdir. FREI ve LAWRENCE (34) karbamatların fluoressans türevlerinin teşkili üzerinde çalışmışlardır. Optimum şartlar altında, dansyl chloride kullanarak ve ince tabaka kromatografisiyle ayırma yaparak, ng seviyede karbamatları enstrümental teknikle tayin etmişlerdir. 1972 de, dansyl chloride'den üstün olduğu düşünülen ve fenol, tiyol, alkol ve anilinler ile fluoressan türev teşkil etmeyen ve dansyl chloride'den farklı olarak hidroliz ürünleri fluoressan olmayan 4 - chloro - 7 - nitrobenzo - 2, 1, 3 - oxadiazole (NBD - Cl) ün (46) kullanılmasının detayları yayınlanmıştır. Bu ecza kullanılarak su ve toprak örneklerinden ug/kg seviyesinde karbamatlar tayin edilmiştir. SEIBER (66), N - perfluoroacyl karbamat türevlerinin teşkilini teklif etmiştir. Bunlar gaz kromatografisi şartlarında kararlıdır ve ECD ve alkali metal alev dedektörleri ile tayin edilebilir. 2,4 - dinitrophenyl eterleri teşkil yöntemi, gerçekten tortu özelliği gösteren ve dedektör duyarlılığı kötü olan fenollere uygulanabilir (29). Herbisid asitler de kötü kromatografi özelliklerine sahiptirler, fakat problem metil türevleri hazırlanarak halledilmiştir (65, 68).

Türev teşekkülü pestisid analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. HIŞIL (42) tarafından elmalarda carbaryl kalıntıları örnekten kloroform ile ekstre edilmiş, florasil kolonda temizleme uygulandıktan sonra, izole edilen carbaryl kalıntısı NaOH ile hidroliz edilmiş, böylece serbest hale geçirilen fenol grubu (piridin - trikloroasetilklorid) ile ısı etkisi altında 1 - naftiltrikloroasetat halinde carbaryl türevine dönüştürülerek, ECD taşıyan gaz kromatografisiyle tayin edilmiştir.

Yağ asitlerinin gaz kromatografisiyle analizlerinde de yağ asitleri metil esterlerine dönüştürülerek tayin edilebilmektedir.