



T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
ULUSAL GIDA REFERANS LABORATUVARI

EĞİTİM NOTU
ÇÖZELTİ/MİX HAZIRLAMA
ZENGİNLEŞTİRME (SPIKE) YAPMA

Hazırlayan:

Dr.Özge ÇETİNKAYA AÇAR

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
ULUSAL GIDA REFERANS LABORATUVARI
KALINTI/PESTİSİT BİRİMİ

Temmuz 2015

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	1
KONSANTRASYON (DERİŞİM) BİRİMLERİ.....	2
PESTİSİT STOK VE ÇALIŞMA ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANMASI	4
PESTİSİT MİXLERİNİN HAZIRLANMASI	5
ZENGİNLEŞTİRME (SPIKE) YAPMA VE GERİ KAZANIM ÇALIŞMALARI	6
KAYNAKLAR	6

KONSANTRASYON (DERİŞİM) BİRİMLERİ

Yüzde derişim

Bir çözeltilinin konsantrasyonu yüzde olarak birkaç şekilde ifade edilir. Karışıklıkları önlemek için kullanılan çözeltilinin yüzde konsantrasyonu mutlaka açık olarak belirtilmelidir. Eğer bu bilgi olarak belirtilmemiş ise çözeltilinin türünden çıkartılmaya çalışılır. Bu ifadelerin belirtilmesinin ne denli önemli olduğunu en iyi anlatacak örnek; ağırlıkça (w/w) % 50'lik NaOH çözeltilisi, 1 litresinde 763 g NaOH içeriyor demektir. Bu da hacimde ağırlıkça yüzde (w/v) olarak % 76.3 demektir.

Ağırlıkça Yüzde (w/w)

Ağırlıkça yüz birim çözeltilerde bulunan çözünenin ağırlıkça kesridir. Genellikle ticari sulu reaktifler için kullanılır. Örneğin hidroklorik asit % 37'lik (w/w) çözeltili halinde satılır.

$$\% (w/w) = \frac{\text{çözünen maddenin ağırlığı (g)}}{[\text{çözünen maddenin ağırlığı (g)} + \text{çözücünün ağırlığı (g)}]} \times 100$$

Örnek:

500 mL % 50'lik (w/w) NaOH çözeltilisi nasıl hazırlanır?

$$\% 50 = [X / (X + (500 - X))] \times 100 \quad X = 250 \text{ g çözünen}$$

O halde bu çözeltilinin hazırlanmasında 250 g NaOH alınır ve üzerine 250 mL saf su eklenir.

Hacimce Yüzde (v/v)

Hacimce 100 birim çözeltilerde bulunan çözünenin hacimce kesridir. Saf bir sıvının başka bir sıvı ile seyreltilmesi ile hazırlanan çözeltiler için kullanılır.

$$\% (v/v) = \frac{\text{çözünen sıvının hacmi (mL)}}{\text{çözeltilinin hacmi (mL)}} \times 100$$

Örnek:

150 mL % 28'lik (v/v) sulu etil alkol çözeltilisi nasıl hazırlanır?

$$\% 28 = (X / 150 \text{ mL}) \times 100 \quad X = 42 \text{ mL}$$

42 mL etil alkol alınır ve son hacim saf su ile 150 mL'ye tamamlanır.

Hacimde Ağırlıkça Yüzde (w/v)

Hacimce 100 birim çözeltilerde bulunan çözünenin ağırlıkça kesridir. Katı maddelerin seyreltik sulu çözeltilerinin hazırlanması için kullanılır.

$$\% (w/v) = \frac{\text{çözünen maddenin ağırlığı (g)}}{\text{çözeltilinin hacmi (mL)}} \times 100$$

Örnek:

250 mL % 20'lik (w/v) NaCl çözeltisi hazırlamak için kaç gram NaCl gerekir?

$$\% (w/v) = (w1 / v) \times 100 \quad \% 20 = (w1 / 250) \times 100 \quad w1 = 50 \text{ g}$$

Bu durumda 50 g NaCl tartılır, suda çözülerek son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlanır.

Molarite

Molarite, bir litre çözeltilerde çözünen maddenin mol sayısını gösterir. M harfi ile gösterilir.

$$M = \frac{n \text{ (mol)}}{V \text{ (L)}}$$

Örnek:

500 mL 0.1 M NaOH çözeltisi hazırlamak için kaç gram NaOH tartılmalıdır?

MA (Molekül ağırlığı NaOH)= 23 + 16 + 1 = 40 g/mol

$$M = n / V \quad 0.1 \text{ mol/L} = n / 0.5 \text{ (L)} \quad n = 0.05 \text{ mol}$$

$$n = m / MA \quad 0.05 \text{ mol} = m / 40 \text{ (g/mol)} \quad m = 2 \text{ g}$$

2 g NaOH tartılarak son hacim dikkatlice 500 mL'ye tamamlanır.

Normalite

Çözeltilinin 1 mL'sinde bulunan çözünen maddenin milieşdeğer gram sayısıdır. Aynı ifade litresindeki eşdeğer gram sayısı olarak da belirtilebilir.

$$N = \frac{\left(\frac{m}{\text{eşdeğer gram sayısı}} \right)}{V}$$

$$\text{Eşdeğer gram sayısı} = \frac{\text{Molekül ağırlığı}}{\text{Tesir değeri}}$$

Tesir Değeri (TD): Asitlerin ortama verdiği H⁺ iyonu sayısı, bazların ortama verdiği OH⁻ iyonu sayısı, tuzların ise ortama verdiği veya aldığı elektron sayısına tesir değeri denir.

Örneğin H₂SO₄ için bu değer 2'dir. Çünkü sülfürik asit 2 tane H⁺ iyonunu sulu çözeltisine verebilir. NaOH, HNO₃, HCl için bu değer 1'dir. Aşağıda bazı bileşiklerin tesir değeri verilmiştir. Fakat tesir değeri hesaplanırken, tesir değeri bulunacak maddenin

reaksiyona girdiği madde ile verdiği tepkimeye göre tesir değerliğinin değişebileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle son dönemlerde normalite kavramı yerine maddenin reaksiyonu yazılarak stokiyometrik oran uzerinden hesaplama yapılmaktadır.

Molarite ve normalite arasında $N = M \times TD$ bağlantısı vardır.

Molalite

1000 g çözücüde çözünen maddenin mol sayısını gösterir. m ile gösterilir.

$$m = \frac{n}{w} \times 1000$$

ppt (binde bir), ppm (milyonda bir) ve ppb (milyarda bir) Hesaplamaları

Eser miktardaki zeltelerin derişimini belirtmek amacıyla kullanılır.

$$ppt = \frac{g \text{ çözünen}}{kg \text{ veya litre çözelti}}$$

$$ppm = \frac{mg \text{ çözünen}}{kg \text{ veya litre çözelti}}$$

$$ppb = \frac{\mu g \text{ çözünen}}{kg \text{ veya litre zelti}}$$

Not: Bazen ppt ifadesi part per thousand (binde bir) olarak kullanıldığı gibi bazende part per trillion (trilyonda bir) olarak da ifade edilebilir. Bu nedenle hangi ifade için kullanıldığına dikkat edilmelidir (1).

rnek:

Bir domates örneęinin analizi sonucunda acetamiprid deriřimi 200 ppb olarak bulunmuřtur.

Buna göre bu domatesten 250 g tüketen bir kişi kaç μg acetamiprid almıştır?

200 ppb acetamiprid konsantrasyonu, domatesin 1 kg'ında 200 μg acetamiprid olduğu anlamına gelmektedir. Bu durumda 250 g domates tüketen tüketici 50 μg acetamiprid almıştır.

PESTİSİT STOK VE ALIřMA ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANMASI

Pestisit standartları genel olarak katı ya da sıvı formda temin edilmektedir. Saf standartların stok zelteleri ve bu stok çözeltilerden çalışma zelteleri hazırlanırken řu hususlara dikkat edilir:

- Uygun bir çözücü seçilmelidir (aktif maddenin seçilen çözücünde çözünmesi, çözücünün kimyasal reaksiyona sebep olmaması gerekir). Pestisit standart çözeltilerinin hazırlanmasında genel olarak aseton, tolüen, asetonitril, metanol ya da etil asetat gibi çözücüler kullanılmaktadır.
- Seçilen çözücü, daha sonra uygulanacak olan analiz metoduna uygun olmalıdır (Örneğin, gaz kromatografi analizleri için su uygun olmayan bir çözücüdür)
- Stok çözelti hazırlanmadan önce saf standardın ve çözücülerin oda sıcaklığına gelmesi beklenmeli; cam malzemeler kalibre edildikleri sıcaklıkta olmalıdır. Cam malzemelerin kalibre edildikleri sıcaklıkta olmadığı durumda ölçümler hacime değil kütleyle dayandırılmalıdır.
- Pestisit saf standartlarının hiçbiri %100 saflıkta değildir ve saflık oranları etiket bilgilerinde ya da sertifikalarında yer alır. Stok çözelti hazırlanırken standart safsızlığı mutlaka dikkate alınmalıdır.
- Stok çözeltiler hazırlanırken, katı saf standartlar en az 10 mg olacak şekilde 5 ondalık haneli bir teraziyle tartılmalıdır.
- Stok standartlar herhangi bir solvent kaybı ya da su girişini önleyecek şekilde, koyu renkli şişe/kaplarda düşük sıcaklıkta saklanmalıdır.
- Stok standartlar hazırlandıktan sonra silinmeyecek şekilde etiketlenmeli, son kullanma tarihi verilmelidir.
- Düşük sıcaklıkta muhafaza edilen stok çözeltiler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmeli, daha sonra kullanımdan önce mutlaka karıştırılmalıdır. Düşük sıcaklıkta çözünürlüğü düşük olan pestisitler için çökelti oluşumu söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle kullanım öncesinde analitin çözünür durumda kaldığından emin olunmalıdır (2).

PESTİSİT MİXLERİNİN HAZIRLANMASI

Pestisit analizleri genelde çoklu kalıntı metotları gerektirdiğinden, pestisit standartlarının mix haline getirilerek mix ara stok standart çözeltileri hazırlanması gerekir. Mix standart çözeltileri, pestisit stok standart çözeltilerinden hazırlanır. Mix oluşturmak üzere pestisitlerin ne şekilde gruplandırılacağı konusunda dikkat edilecek hususların başında pestisitlerin kimyasal yapıları gelir. Kimyasal yapıları (organik klorlular, organik fosforlular, karbamatlılar vb.) dikkate alınarak benzer yapıdaki pestisitlerin bir araya getirilmesine özen gösterilir. Bunun dışında, pestisitlerin analiz edilecekleri metot ya da enstrümental cihaz, pestisitlerin stabiliteleri, pestisit stok standart çözeltilerinin hazırlandığı çözücüler, farklı pestisitlerin birbirlerine üzerine olan etkileri gibi faktörler mix hazırlanırken dikkate alınması gereken diğer hususlardır.

ZENGİNLEŞTİRME (SPIKE) YAPMA VE GERİ KAZANIM ÇALIŞMALARI

Genel olarak kimyasal analizlerde, metot performansının değerlendirilmesi ve izlenmesine yönelik validasyon ve analitik kalite kontrol çalışmaları, geri kazanım çalışmaları üzerinden gerçekleştirilir.

Geri kazanım çalışmasında, bilinen miktarda (konsantrasyonda) analit örneğe ilave edilerek (spike) örnek analiz edilir ve tespit edilen analit miktarı (konsantrasyonu) ile ilave edilen miktar oranlanır.

Yüzde geri kazanım formülü aşağıdaki şekilde verilebilir:

$$\%R = \frac{(C_2 - C_1)}{C_3} \cdot 100$$

Burada,

C1: Ölçülen örnek konsantrasyonu (blank)

C2: Ölçülen "spike yapılmış örnek" konsantrasyonu (blank+spike)

C3: Spike yapılan konsantrasyondur

Blank örnek üzerine spike yapılırken, eklemek istenen konsantrasyona göre stok çözeltilerden uygun hacimde ilave edilir. Spike yaparken, seyrelmelerin önüne geçmek adına, eklenen standart hacminin mümkün olduğunca küçük olmasına dikkat edilir. Bunu sağlamak için, yüksek konsantrasyonda stok çözeltiler kullanılır.

Örneğin, 10 g örnek tartılarak yapılan bir analizde A analiti ile ilgili 10 ppb konsantrasyonda geri kazanım çalışması yapılmak isteniyor. Bunun için, 1 ppm'lik stok A çözeltisinden ne kadar eklenmesi gerektiğini hesaplayalım:

Örnek üzerine 10 ppb A analiti spike yapılmak isteniyor. 10 ppb = 10 µg/kg=10 ng/g anlamına gelir, yani örneğin 1 g'ında 10 ng A olması isteniyor. Analizde 10 g örnek tartıldığına göre, örnek üzerine 100 ng A analiti koymamız gerekir.

Stok A çözeltimiz 1 ppm konsantrasyonda olduğuna göre, stok çözeltinin 1 ml'sinde 1 µg A analiti vardır (1 ppm= 1 mg/l=1 µg/ml). Örnek üzerine koymamız gereken miktar 100 ng idi. Çözeltinin 1 ml'sinde 1 µg=1000 ng A analiti olduğuna göre, örnek üzerine 0,1 ml=100 µl stok A çözeltisinden koymamız gerekir.

KAYNAKLAR

- (1) www.kimyaevi.org
- (2) SANCO/12571/2013 Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed