

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI HURMA ÇEŞİTLERİNİN ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE PESTİSİT
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

GÜLDENİZ YILMAZ

KOCAELİ 2020

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI HURMA ÇEŞİTLERİNİN ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE PESTİSİT
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI

GÜLDENİZ YILMAZ

Doç. Dr. Neslihan ŞAKİ

Danışman, Kocaeli Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Ümit AY

Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Gülnur ARABACI

Jüri Üyesi, Sakarya Üniversitesi

.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 25.08.2020

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi, öneri ve desteğini benden esirgemeyen sevgili danışman hocam Doç. Dr. Neslihan ŞAKİ'ye ve laboratuvar çalışmalarında tecrübelerini paylaşan Yüksek Kimyager Mustafa Akın'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü kurum müdürüme ve çalışma arkadaşlarıma bana sağladıkları laboratuvar imkânlarından dolayı şükranlarımı sunarım. Yüksek lisans öğrenimim boyunca benden fedakarlıklarını esirgemeyen aileme ve eşime teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde ekonomik destek sağlayan Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) komisyonuna da ayrıca teşekkürlerimi sunarım (Proje No: 2019-046).

Ağustos -2020

Güldeniz YILMAZ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLolar DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER.....	3
1.1. Hurma Bitkisinin Genel Özellikleri	3
1.1.1. Hurmanın tarihsel gelişimi.....	4
1.1.2. Hurma çeşitleri.....	5
1.1.3. Hurmanın dünyadaki üretimi	7
1.1.4. Hurmanın Türkiye ve dünyadaki durumu.....	7
1.2. Serbest Radikaller	8
1.2.1. Biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller.....	9
1.2.1.1. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	9
1.2.1.2. Süperoksit	10
1.2.1.3. Singlet oksijen.....	10
1.2.1.4. Hidroksil radikali	11
1.3. Antioksidanlar	11
1.3.1. Genel özellikleri.....	12
1.3.2. Sınıflandırılması.....	12
1.3.2.1. Doğal antioksidanlar	13
1.3.2.2. Sentetik antioksidanlar	14
1.3.3. Antioksidan kapasite tayin yöntemleri	15
1.3.3.1. DPPH radikali giderme aktivite tayini	15
1.3.3.2. Toplam fenolik içerik tayini	16
1.3.3.3. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayini (TEAC).....	16
1.3.3.4. Demir iyonları indirgeme tayini (FRAP).....	17
1.3.4. Hurma bitkisinin antioksidan kapasitesi	17
1.4. Pestisitler	18
1.4.1. Pestisitlerle ilgili genel bilgi	18
1.4.2. Pestisitlerin sınıflandırılması	18
1.4.2.1. Etki mekanizmalarına göre pestisitler.....	18
1.4.2.2. Kimyasal yapılarına göre pestisitler	19
1.4.2.3. Kullanım alanlarına göre pestisitler	20
1.4.3. Pestisit tayininde kullanılan yöntemler	21
1.4.3.1. AOAC2007.01 Quechers yöntemi	21
1.4.3.2. EN 15662 Quechers yöntemi	22
1.4.4. Tez çalışmasında Orbitrap LC MS/MS ile kalıntı tayini araştırılan pestisitlerin listesi	22
1.4.5. Tez çalışmasında geri kazanım tayini yapılan pestisitler.....	24
1.5. Literatür Özeti	26

2. MATERYAL VE METOT.....	30
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	30
2.1.1. Kullanılan kimyasallar	30
2.1.2. Kullanılan cihazlar	30
2.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanmaları.....	31
2.1.3.1. DPPH radikali giderim aktivite tayini için kullanılan çözelti.....	31
2.1.3.2. Toplam Fenolik madde miktarı tayini için kullanılan çözeltiler.....	31
2.1.3.3. Pestisit analizi için kullanılan çözeltiler ve mobil fazlar	31
2.2. Deneysel Yöntemler	32
2.2.1. Hurmaların temini ve ekstraktlarının hazırlanması	32
2.2.2. Antioksidan aktivite belirleme yöntemleri.....	32
2.2.2.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) serbest radikali giderim aktivitesi tayini	32
2.2.2.2. Toplam fenolik madde miktarı tayini	33
2.2.3. Hurma numunelerinde pestisit kalıntı analizi	33
2.2.3.1. AOAC 2007.01 Quechers metodu ile pestisit kalıntı analizi.....	33
2.2.4. Kalibrasyon eğrisi oluşturma	34
2.2.5. Hurmalarda AOAC 2007.01 Quechers ve EN 15662 Quechers metodları ile geri kazanım çalışması.....	34
2.2.5.1. AOAC 2007.01 Quechers yöntemiyle geri kazanım	34
2.2.5.2. EN 15662 Quechers yöntemiyle geri kazanım	35
2.2.6. Pestisit kalıntı analizi cihaz koşulları.....	35
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	37
3.1. Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları.....	37
3.1.1. DPPH radikal giderme tayini.....	37
3.1.2. Toplam fenolik içerik tayini (Folin Ciocalteu yöntemi).....	40
3.2. Antioksidan Çalışmaları İle İlgili Tartışma.....	42
3.3. Pestisit Kalıntı Analizi Bulguları	44
3.3.1. Pestisit kalıntıları taraması.....	44
3.3.2. Pestisit geri kazanımı	48
3.4. Tayin Sınırı ve Geri Kazanım Çalışmaları İle İlgili Tartışmalar	50
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	55
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER	64
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Hurma ağacı (<i>Phoenix dactylifera</i> L.)	3
Şekil 1.2.	Bağdat hurması (zahidi)	5
Şekil 1.3.	Tunus (berni) hurma	5
Şekil 1.4.	Kudüs (medjoul) hurması	6
Şekil 1.5.	İran (mazafati) hurması	6
Şekil 1.6.	Medine (Hudri) hurması	6
Şekil 1.7.	a) <i>P. canariensis</i> Hort. ex Chabaud. b) <i>P. theoprasti</i> Greuter	8
Şekil 1.8.	Hücrelerin reaktif ürünleri detoksifiye etme tepkimesi	10
Şekil 1.9.	a) Delta, b) Sigma oksijen.	11
Şekil 1.10.	Antioksidanların sınıflandırılması	13
Şekil 1.11.	C vitamini.	14
Şekil 3.1.	Asetonitril ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi	38
Şekil 3.2.	Aseton ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi	38
Şekil 3.3.	Toplam fenol içeriği analizi için gallik asit standart grafiği	40
Şekil 3.4.	Bir antioksidanın DPPH radikalini gidermesi.	43
Şekil 3.5.	Pestisit kalıntılarına ait kromatogramlar.	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Çalışmamızda kullanılan pestisitler.	23
Tablo 3.1. Hurma ekstraktlarının % DPPH radikali süpürme aktivitesi verileri	39
Tablo 3.2. Hurma ekstraktlarının toplam fenol içerikleri (mg GAE/100 g hurma).....	41
Tablo 3.3. Hurma numunelerinde belirlenen pestisit kalıntı konsantrasyonları ve Türk Gıda Kodeksi (TGK)'ne göre değerlendirilmesi.	45
Tablo 3.4. AOAC 2007.01 Quechers metodu ile seçilen pestisitlerin geri kazanım değerleri.	49
Tablo 3.5. EN 15662 Quechers metodu ile seçili pestisitlerin geri kazanım değerleri.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ABTS	: 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit
B	: Beta
BHA	: Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
C18-E	: Ters Faz C18 Bağlı Silika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil
ECD	: Elektron Capture Detectors (Elektron Yakalama Dedektörleri)
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
FAO	: United Nations Food and Agricultural Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
FC	: Folin-Ciocalteu
FPD	: Flat Panel Detectors (Düz Panel Dedektörleri)
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant (Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç)
GC/MS	: Gas Chromatography/Mass Spectrometer (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi)
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
IRAC	: Insecticide Resistance Action Committee (İnsektisit Direnci Eylem Komitesi)
kg	: Kilogram
LC-MS/MS	: Liquid Chromatography-Mass Spectrometer/Mass Spectrometer (Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi/Kütle Spektrometresi)
MeCN	: Asetonitril
MeOH	: Metanol
mg	: Miligram
mM	: Mikromolar
MS	: Mass Spectrometer (Kütle Spektrometresi)
NADP	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NDGA	: Nordihidro Guaretik Asit
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity (Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi)
PG	: Propil Gallat
PSA	: Primer Sekonder Amin
RNS	: Reactive Nitrogen Species (Reaktif Nitrojen Türleri)
ROS	: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
TBHQ	: Tert-Butyl hydroquinone (Ter-Bütil-Hidrokinon)
TEAC	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Determination (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini)

TPTZ : 2,3,5-tri-fenil-1,3,4-triaza-2-azoniasiklopenta-1,4-dien klorür
µl : Mikrolitre
µM : Mikrometre



BAZI HURMA ÇEŞİTLERİNİN ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE PESTİSİT KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Çalışmamızın amacı, Türkiye'ye ithal edilen beş farklı ülkede (Kudüs, Bağdat, İran, Tunus ve Medine) yetiştirilen hurma meyvesinin (*Phoenix dactylifera L.*) antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve Orbitrap LC/MS/MS cihazı kullanılarak Quechers metodunun iki farklı versiyonunun (AOAC 2007.01 Quechers yöntemi ve EN 15662 Quechers yöntemi) bu hurmaların yetiştirilmesinde kullanılan pestisitlerin geri kazanımları üzerine etkisinin araştırılmasıdır. Çalışmada temsili olarak seçilen 10 pestisit kullanılmıştır. Antioksidan aktivite araştırmalarında hurmaların DPPH serbest radikal giderimi ve toplam fenol içeriğinin belirlenmesi yöntemleri ile antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. 100µg/ml konsantrasyonda beş hurmanın aseton ve asetonitril ekstraktları karşılaştırıldığında en düşük DPPH radikali giderme aktivitesini tunus asetonitril ekstresi gösterirken, en yüksek aktivite ise medine aseton ekstraktındadır. Toplam fenol içeriği en yüksek bağdat hurması aseton ekstraktında iken en düşük fenolik içerik iran hurması asetonitril ekstraktında elde edilmiştir. Hurmaların pestisit taraması AOAC 2007.01 Quechers metodu ile yapılmıştır. Bağdat(zahidi) hurmasında malathion oxon, Kudüs (medjoul) hurmasında cyprodinil ve fenpropimorph, Medine (hudri) hurmasında cyprodinil, fenpropimorph, malathion oxon, dioxacarb ve terbufos, tunus (berni) hurmasında cyprodinil ve fenpropimorph pestisit bakiyeleri tespit edilmiştir. Çalışmada; pestisitlerin geri kazanım parametrelerinin olması gereken SANTE limitleri içinde olduğu ve asetat tamponlu yöntemin (AOAC 2007.01 Quechers) bu pestisitlerin taranması için daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Yapılan antioksidan çalışmalar sonucunda hurmaların yetiştirildikleri iklim bölgelerinde bulunan toprak yapısı ve hurmaların genetik özelliklerindeki farklılıkların antioksidan aktivitelerinde değişiklik göstermeleriyle ilişkili olabileceği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Aktivite, Geri Kazanım, Hurma, Pestisit.

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SOME TYPES OF DATE AND INVESTIGATION OF PESTICIDE RESIDUES

ABSTRACT

The aim of our study is to determine the antioxidant activity of palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) grown in five different country (Jerusalem, Baghdad, Iran, Tunisia and Medina) imported into the Turkey and investigate the effect of two different versions of the Quechers method (AOAC 2007.01 Quechers method and EN 15662 Quechers method) on the recovery of pesticides used by Orbitrap LC/MS/MS. 10 pesticides selected as representative were used in the study. In antioxidant activity studies, antioxidant capacities of dates were determined by DPPH free radical removal and total phenolic content. When the acetone and acetonitrile extracts of five dates at a concentration of 100 µg / ml are compared, the lowest DPPH activity was shown by the tunisian acetonitrile extract, while the highest activity is in the medina acetone extract. The highest total phenolic content was obtained in the baghdad palm acetone extract, while the lowest phenolic content was in the Iran palm acetonitrile extract. Pesticide screening of dates was done with AOAC 2007.01 Quechers method. In Baghdad (zahidi) date; malathion oxon, in Jerusalem (medjoul) date; cyprodinil and fenpropimorph, in Medina (hudri) date; cyprodinil, fenpropimorph, malathion oxon, dioxacarb and terbufos, In tunus (berni) date; cyprodinyl and fenpropyphine were detected. In the study; it has been determined that the recovery parameters of pesticides are within the limits of SANTE and the acetate buffered method (AOAC 2007.01 Quechers) gives beter results for screening these pesticides.

As a result of the antioxidant sudies, it can be thought that the soil structure in the climate regions where dates are grown and the differences in the genetic properties of dates may be related to the changes in their antioxidant activities.

Keywords: Antioxidant Activity, Recovery, Date, Pesticide.

GİRİŞ

Hurma, insanlık tarihinin bilinmekte olan en köklü kültür bitkilerinden biridir. Hemen hemen 6000 yıldır besin olarak tüketilmekte olan hurma, Arecaceae (palmaceae) ailesinde bulunan palmye ağaclarında yetiştir. Farklı tat, renk ve görünümdeki hurma tipleri *Phoenix dactylifera* L. türündendirler (Dowson, 1982).

Hurma çeşitleri Kanarya Adalarından başlayıp Ortadoğu Ülkelerini de içersine alan geniş bir coğrafyaya yayılmış durumdadır. Yetiştirmeleri için en önemli faktör sıcak bir iklim olmasıdır. Ülkemizin iklim koşulları meyvenin olgunlaşabilmesi için yeterli olmasa da Güney Ege ve Batı Akdeniz'in bir bölümünde yetiştirilebilmektedir (Uhl ve Dransfield, 1987).

Antioksidan maddelerin kalp damar hastalıklarından korumaya ek olarak kanser, parkinson ve ahlzeimer gibi hastalıklar, inflamasyon vb. nörodejenneratif bozukluklar ve yaşlanmanın engellenmesinde önemli görevleri bulunmaktadır. Antioksidanların insan vücudundaki fiziksel görevi, metabolizmanın olağan faaliyetleri esnasında oluşan reaktif oksijen ve azot vb. ürünlerin yan tesirlerini azaltmak olarak tanımlanmaktadır. Doğal antioksidan maddeler öncelikli biçimde bitkilerden kaynaklanan fenolik madde, C vitamini, karotenoid ve selenyum gibi maddelerdir. Bitkilerden kaynaklanan fenolik bileşiklere örnek olarak; flavonoid bileşikler, sinamik asit türevleri, kumarin ve tokoferol verilebilir (Gilman ve Watson, 2006). Fenol bileşikleri, farklı halka süstitüsyonları bulunan mono ya da polihidroksi bileşiklerdir ve besinlerde kullanılan en güncel antioksidanlardandır.

Pestisitler, "pest" adı verilen canlıları kontrol edebilmek amacıyla kullanılan, özel olmayan kimyasallardır. İnsanlarda yağ dokusunda birikim yapmaktadırlar. Pestisitler suları ve toprağı kirletip çevrenin kirlenmesine yol açarlar. Çağımızda bazı zararlı pestisit maddelerin kullanılması yasaklanmış olup bazı pestisitlerin ise kullanımları sınırlandırılmıştır. Ancak bu yeterli olmayıp, acil olarak gereken faaliyet planı belirlenip uygulamalara geçirilmesi gerekmektedir. Pestisit maddelerin üretiminden kullanılmasına ve ambalajlarının bertaraf edilmesine kadar, çevre ve

sağlığın korunması amacıyla gereken protokollerin etkili biçimde uygulanması gerekmektedir. Ulusal ve uluslararası tüketimde pestisitlerden arındırılmış gıdaların tüketilmesinin önemi, yaşanan çevrenin pestisitler ile kontamine olmasının önlenmesinin önemi bakımından, pestisitlerin uygulama sonrası gidişatı detaylı olarak kontrol edilmesi gerekmektedir. Ülkelerin bu mevzuya önem vermesinin belirteci nitelikli pestisit kalıntısı çalışmalarının sayısıdır. Gelişmiş ülkelerde bu kalıntı tayinleri 1950'lerde, ülkemizdeyse 1959'da başlamıştır (Tiryaki, 2016).

Bu çalışmada; İran, Medine, Tunus, Kudüs ve Bağdat hurmaları olmak üzere farklı ülkelere ithal edilmiş 5 çeşit hurma seçilmiştir. Hurmaların antioksidan aktivite özelliklerinin tayini için 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) giderme aktivitesi ve toplam fenol içeriği incelenmiş ve LC/MS/MS cihazı ile hurma bitkisinde kullanılan 10 pestisit kalıntısı araştırılarak AOAC.2007.01 ve 15662 Quechers metotlarının geri kazanım üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Hurma Bitkisinin Genel Özellikleri

Hurma ağacı (*Phoenix dactylifera* L.), 200 cins içeren Arecaceae familyasına ait bir monokotiledon bir bitkidir (Dowson 1982; Uhl ve Dransfield 1987) (Şekil 2.1.). *Phoenix* cinsi hurma ailesine ait 1500 türden 12'sini içermektedir. *Phoenix* ağacı dioiktir ve pinnat yaprakları ve keskin uçları olan çift yaprakçıklarıyla karakterizedir (Uhl ve Dransfield 1987). Hurma ağacının yanı sıra, en değerli üç *Phoenix* ağacı Kanarya Adası Palmiyesi (*P. canariensis* Chabeaud), dekoratif palmye (Gilman ve Watson 2006) ve Hindistan yarımadasında yaygın olan şeker palmyesidir (*P. sylvestris* Roxb) (Zaid ve de Wet 2002). Hurma, diğer iki türden filizleri ve parlak yapraklar yerine donuk mat yeşil yaprakları ile ayırt edilebilmektedir.



Şekil 1.1. Hurma ağacı (*Phoenix dactylifera* L.)

1.1.1. Hurmanın tarihsel gelişimi

Hurma (*Phoenix dactylifera* L.) uzun yıllardır Arap Yarımadası, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'nun kurak bölgelerindeki en önemli meyve ürünlerinden biridir. Son üç yüzyıl boyunca, Avustralya, Hindistan, Pakistan, Meksika, Güney Afrika, Güney Amerika ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yeni üretim alanlarına yenileri eklenmiştir. Hurma, yetiştirildiği birçok ülkede yerel nüfus için temel gıda ve ana gelir kaynağıdır. Bu ülkelerin ekonomisinde, önemli roller oynamaktadır.

Hurma, bilinen en eski meyve mahsullerinden biridir ve en az 5000 yıldır Kuzey Afrika ve Orta Doğu'da yetiştirilmektedir (Zohary ve Hopf, 2000). Irak'tan (Mezopotamya) elde edilen ilk kayıtlar, hurma kültürünün muhtemelen M.Ö. 3000 gibi erken bir tarihte kurulduğunu göstermektedir. Hurma kültürünün uzun geçmişi ve hurma çeşitlerinin geniş dağılımı ve değişimi nedeniyle, kesin olarak kaynağı bilinmemektedir, ancak büyük olasılıkla eski Mezopotamya bölgesinden (Güney Irak) veya Batı Hindistan'dan dünyaya yayılmıştır (Wrigley, 1995). Hurma ekimi, ilk yetiştirildiği bölgeden, Arap Yarımadası, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'ya yayılmıştır. Hurma kültürü M.Ö. 2000. yılın ortalarında Mısır'a yayılmıştır. Hurma ekiminin yayılması daha sonra İslam'ın genişlemesine eşlik edip Güney İspanya ve Pakistan'a ulaşmıştır. İspanyollar, Arap Yarımadası, Kuzey Afrika ve Orta Doğu/Güney Asya dışında hurmayı tanıtan ve onları Amerika'ya taşıyan ilk kişilerdi (Nixon, 1951).

Hurma tarımı Ortadoğu tarihi üzerinde çok önemli bir etkiye sahiptir. Hurma olmadan, çöl bölgelerinde hiçbir büyük insan nüfusu desteklenemezdi. Karavan yolları, özellikle hurmaların nakliyesi için şehirler mevcuttu. Başlangıçta, hurma ekimi verimlilik ve doğurganlığın kutsal bir sembolü haline gelmişti. Hurma, Orta Doğu halkı için büyük manevi ve kültürel öneme sahipti. Hurma kültürü ve satışlarıyla ilgili yasaları içeren ünlü Hammurabi Yasası da dahil olmak üzere eski Asur ve Babil tabletlerinde tasvir edilmiştir. Hurma bitkisine ilişkin referanslar eski Mısır, Suriye, Libya ve Filistin yazılarında da bulunmaktadır (Nixon, 1951; Popenoe, 1973).

1.1.2. Hurma çeşitleri

Güney Afrika Cumhuriyeti, Namibya, Zimbab ve Sahel bölgesinde ağırlıklı olarak Medjhool çeşidinde yeni tarlalar gözlenirken, Arap ülkelerinde Medjhool ve Barhi temel olarak yeni tarlalarda kullanılmaktadır. Mısır, İran, Pakistan ve Suudi Arabistan'da hurma üretiminin çoğunluğu geçim amacıyla yerel pazarlara yöneliktir. Aksine, Irak, Cezayir, Fas ve Tunus gibi ülkeler ağırlıklı olarak Avrupa'ya ihracata odaklanmaktadır. Hurmanın, Zahidi, Berni, Medjoul, Mazafati ve Hudri vb. pek çok çeşidi bulunmaktadır.

Zahidi hurma; çöl ikliminin egemen olduğu bölgelerde yetişmektedir. Sıcak hava ve güneşten hoşlanan bu hurma çeşidinin lezzetli ve sağlık açısından faydalı olduğu bilinmektedir. Zahidi Hurma, A ve K vitaminleri açısından zengindir. İçerisinde özellikle kalsiyum ve potasyum, çinko, fosfor, manganez, kükürt gibi maddeler bulunmaktadır. Ek olarak, demir, bakır ve magnezyum açısından da zengindir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Bağdat hurması (zahidi)

Lif yönünden zengin olan Berni hurması, çocuklar, gebelik ve laktasyon evresindeki kadınlara önerilmektedir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Tunus (berni) hurma

Medjoul hurması; açık kahverengi, büyük boyutlu, etli, yumuşak ve epeyce tatlı bir çeşittir (Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. Kudüs (medjoul) hurması

İran'da yetişmekte olan Mazafati hurması oldukça yumuşak ve lezzetlidir. Siyah renge yaklaşık bir renkte ve ince kabukludur (Şekil 1.5.).



Şekil 1.5. İran (mazafati) hurması

Hudri hurmasının, kan üretimini desteklediği bilinmekte ve özellikle kadın ve çocukların beslenmesinde önerilmektedir (Şekil 1.6.).



Şekil 1.6. Medine (hudri) hurması

1.1.3. Hurmanın dünyadaki üretimi

Hurmalar çok sıcak ve kuru iklimlerde yetişmektedir ve tuzlu, alkali topraklara nispeten toleranslıdır. Hurma ağacı, tozlaşmadan hasada kadar geçen süre boyunca, sulamaya yakın yerlerde bol miktarda yeraltı suyu bulunan, az yağışlı ve çok düşük nem oranına sahip, uzun, yoğun sıcak bir yaz gerektirmektedir. Hurma ağacı ortalama olarak 12.7-27.5°C arasında yetişebilmekte, ancak 50°C'ye kadar dayanabilmektedir. Tozlaşmadan meyvenin olgunlaşmasına kadar geçen süre boyunca hurmaların gelişmesi için gerekli olan ideal sıcaklık, ortalama 21-27°C arasındadır. Hurmalar, batıda Fas'tan doğuda Hindistan'a kadar 15° ve 35° kuzey arasındaki kurak bölgelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Zaid ve de Wet, 2002).

Dünya çapında hurma üretimi 1962'de 1.809.091 ton iken, 2005'te 6.924.975 tona yükselmiştir (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü, 2006). 2017 yılında, küresel üretim hacmi 7.53 milyon tondan, 2010 yılında yaklaşık 8.17 milyon tona ulaşmıştır. 2005 yılında en çok hurma üreten ilk 10 bölge Mısır, Suudi Arabistan, İran, Birleşik Arap Emirlikleri (BAE), Pakistan, Cezayir, Sudan, Umman, Libya Arap Cemahiriyesi ve Tunus'tur. 2004 yılında en çok ihracat yapan ilk 5 ülke İran, Pakistan, BAE, Suudi Arabistan ve Tunus'tur. 2004 yılında hurma ithal eden ilk beş ülke Hindistan, Pakistan, Yemen, Fas ve BAE'dir. Amerika Birleşik Devletleri (California ve Arizona) 2005 yılında 16.500 ton hurma üreterek 4202 ton ihraç etmiştir (dünya çapında 10. sırada). Kaliforniya'da üretilen birçok meyvede olduğu gibi, hurmanın da kalitesi yüksektir ve bu da ihracat için bir fiyat avantajı sağlamaktadır.

En büyük hurma üretimi 1982'de 439.539 tondan 2005'te 1.170.000 tona (dünya çapındaki üretimin % 16,9'u) yükselen Mısır'dadır. Birleşik Arap Emirlikleri'nde, ülke 1971'de kurulduğunda yaklaşık 1.5 milyon hurma ağacı 8.400 ton hurma üretmiştir. (Hurma Doku Kültürü Laboratuvarı, 2006).

1.1.4. Hurmanın Türkiye ve dünyadaki durumu

Hurma ağacı, ortalama beş yaşındayken meyve vermeye başlayıp 60 yaşına dek yaklaşık 400 ila 600 kg/ağaç/yıl verim alınmaktadır (Shinwari, 1993; Al-Shahib and Marshall, 2003). Kış mevsiminde yapraklarını dökmeyen ve 30 metreye kadar

uzayabilen hurma ağacı, meyve üretimi amacıyla Kuzey Afrika'daki ülkelerde büyük miktarlarda kültüre edilmektedir. Ülkemizdeyse Batı ve Güney Anadolu'da süs bitkisi amacıyla yetiştirilmekte, düşük sıcaklıklar sebebiyle meyvesi yetiştirilememektedir. Yalancı hurma ağacı olarak bilinen *P. canariensis* Hort. ex Chabaud, aynı alanlarda süs amacıyla ekilmekte, *P. theoprasti* Greuter Datça ve Ege'deki adalarda yabani olarak gelişmektedir (Baytop, 1997) (Şekil 1.7.). Son yıllarda bir palmiye türü olan *Washingtonia robusta* H. Wendl.'in de ülkemizde ithal edildiği bildirilmektedir.



Şekil 1.7. a) *P. Canariensis* Hort. ex chabaud. b) *P. Theoprasti* creuter

FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü, 2010) verileri incelendiğinde Mısır'dan sonra en yüksek hurma yetiştiren ülkeler Suudi Arabistan, İran, Pakistan, Birleşik Arap Emirlikleri ve Cezayir'dir. Ülkemizdeyse Ege ve Akdeniz Bölgelerinde kültürü yapılan hurma ağacı dünya hurma yetiştiriciliği listesinde 16. sırada bulunmaktadır (Khairi ve diğ., 2010).

1.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller hücrenin normal metabolizma ürünleridir. Serbest bir radikal, en dış elektron kabuğunda veya dış yörüngede bir ya da daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren bir atom veya molekül olarak tanımlanabilmektedir ve bu radikal bağımsız olarak bulunabilmektedir. Serbest bir radikalın tek sayıdaki elektronu, kararsız, kısa ömürlü ve yüksek derecede reaktif olmasını sağlamaktadır. Yüksek reaktiviteleri nedeniyle, diğer bileşiklerden elektronları stabilize etmek için soyutlayabilmektedirler. Böylece, saldırıya uğrayan molekül elektronunu

kaybetmekte ve sonuçta canlı hücreye zarar veren bir zincir reaksiyonu başlatarak serbest radikal haline gelmektedir (Mukherji ve Singh, 1986).

Hem Reaktif Oksijen Türleri (ROS) hem de Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) kolektif olarak serbest radikalleri ve diğer radikal olmayan reaktif çeşitlerini oluşturmaktadır (Pham-Huy ve diğ., 2008). ROS/RNS, yaşayan sistemlere hem faydalı hem de toksik bileşikler olarak iki yönlü bir rol oynamaktadır. Orta veya düşük seviyelerdeki ROS/RNS oranı faydalı etkiler göstermektedir ve hücrenin bağışıklık görevlerinde, bir dizi hücre sel sinyal yolu, mitojenik yanıt ve redoks regülasyonu gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda rol oynamaktadır (Valko ve diğ., 2007; Norberg ve Arner, 2001). Ancak daha yüksek konsantrasyonda bulunduğunda, biyomoleküllerde potansiyel hasara neden olarak oksidatif ve nitrosatif stres üretmektedirler. Oksidatif stres ve nitrosatif stres, bir tarafta aşırı ROS/RNS üretimi, diğer tarafta enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan eksikliği bulunduğunda gelişmektedir. Yüksek oranda ROS, lipitler, proteinler ve DNA da dahil olmak üzere çeşitli biyomoleküllerin bütünlüğüne zarar verebilmektedir. Diyabetes mellitus, nörodejeneratif hastalıklar, romatoid artrit, katarakt, kardiyovasküler hastalıklar, solunum problemleri ve yaşlanma süreci gibi çeşitli durumlar oksidatif stresin artmasına neden olabilmektedir (Yla-Herttuala, 1999; Stadtman ve Levine, 2000; Marnett, 2000).

1.2.1. Biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller

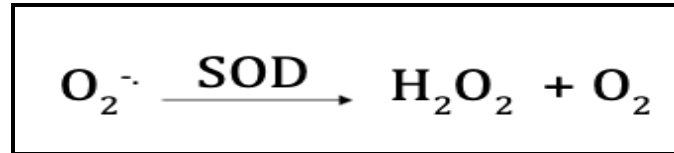
1.2.1.1. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalize edilen bir dismutasyon reaksiyonunda in vivo meydana gelmektedir (Şekil 2.8.). Serbest bir radikal değildir, ancak düşük konsantrasyonda ($10 \mu M$) bile hücreye zarar verebilmektedir, daha yüksek seviyelerde, gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz gibi hücre sel enerji üreten enzimlerle inaktive edilebilmektedir. Biyolojik malzemelere kolayca nüfuz edebilmektedir. H_2O_2 'nin DNA üzerinde doğrudan bir etkisi yoktur ancak geçiş metali iyonlarının varlığında hidroksil radikali ($OH^\cdot$) üreterek DNA'ya zarar verebilmektedir (Halliwell, 2000). H_2O_2 'yi ortadan kaldıracı başlıca antioksidan enzimler arasında katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler bulunmaktadır (Mates ve diğ. 1999; Chae ve diğ. 1999).

1.2.1.2. Süperoksit

Süperoksit anyon radikalleri, enzimatik işlem, oto-oksidasyon reaksiyonu ve bir elektronun moleküler oksijene aktarıldığı enzimatik olmayan bir elektron transfer reaksiyonları ile meydana gelen en önemli ve yaygın olarak görülen ROS'dur (Michelson ve diğ., 1977). Çoğunlukla mitokondri içinde meydana gelmektedir ve biyomoleküllerle reaktivitesi düşüktür. Süperoksit üretebilen enzimler arasında ksantin oksidaz, lipooksijenaz, siklooksijenaz ve NADPH bağımlı oksidaz bulunmaktadır (Kuppusamy ve Zweier, 1989; Kontos ve diğ., 1985; McIntyre ve diğ., 1999).

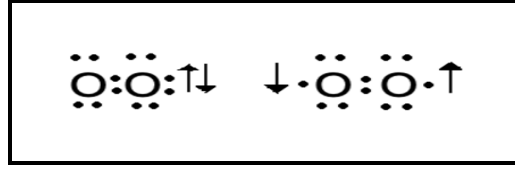
Düşük pH'ta O_2^- veya 2 hidroperoksil radikali (HO_2) olmak üzere iki şekilde bulunabilmektedir (Bielski ve Cabelli, 1996). Hidroperoksil radikali en önemli formdur ve çift fosfolipid tabakasına yüklü oksijen formundan kolayca girebilmektedir. Fizyolojik pH altında en çok oluşan form süperoksittir. İndirgeyici ajan olarak işlev görebilmekte ve Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgendiği sitokrom-c ve Fe^{+} -EDTA gibi demir komplekslerini azaltmaktadır. Aynı zamanda oksitleyici ajan olarak görev yapabilmekte ve askorbik asit ve tokoferolü oksitleyebilmektedir (Phaniendra ve diğ., 2015).



Şekil 1.8. Hücrelerin reaktif ürünleri detoksifiye etme tepkimesi (Mbah ve diğ., 2019)

1.2.1.3. Singlet oksijen

Biradikal oksijen elektronlarından birinin enerji alarak kendi yönünün tersi yönde olan ve farklı bir orbitale yer değiştirmesiyle meydana gelen singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu bulunmadığından radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Singlet oksijenin iki şekli bulunmaktadır; delta ve sigma (Şekil 2.9).



Şekil 1.9. a) Delta, b) Sigma oksijen

Oksidasyon tepkimeleri, organizmalarda geçiş metalleri (demir ve bakır vb.) bulunan enzimler aracılığıyla moleküler oksijene tek elektron transferiyle başlamaktadır. Moleküler oksijen, biradikal yapısı nedeniyle yüksek seviyede ROS meydana getirme eğilimindedir (Dawn ve diğ., 1996).

1.2.1.4. Hidroksil radikali (OH[•])

Hidroksil radikali (OH[•]), Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucunda H₂O₂'den meydana gelmektedir. Ek olarak, suyun yüksek iyonize edici radyasyona maruziyeti sonrasında oluşmaktadır. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikal olup, yarılanma ömrü oldukça kısadır. Hidroksil radikali, ROS tiplerinin en güçlü olanıdır. Meydana geldiği yerlerde tiyol ve yağ asitleri gibi farklı moleküllerden bir proton kopup tiyil radikalleri, karbon merkezli organik radikaller, organik peroksitler vb. yeni radikallerin oluşumuna ve sonuç olarak büyük yıkıma sebep olmaktadır (Halliwell, 1987; Halliwell, 1999; Betteridge, 2000)

1.3. Antioksidanlar

Antioksidanların, ROS'a karşı vücut savunma sisteminde çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Boxin ve diğ., 2002; Vivek ve Surendra, 2006). Başka bir tanımda ise antioksidanlar, oksitlenebilir bir substratınki ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda, bu substrat oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya inhibe eden herhangi bir madde olarak tanımlanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1995, Halliwell, 2007).

Antioksidanlar, nispeten küçük konsantrasyonlarda bile oksidasyon sürecini inhibe etmektedirler ve bu nedenle vücutta çeşitli fizyolojik rollere sahiptirler. Bitki materyallerinin antioksidan bileşenleri radikal temizleyiciler olarak işlev görmekte ve radikallerin daha az reaktif türlere dönüştürülmesine yardımcı olmaktadır. Çeşitli

serbest radikal temizleyici olan antioksidanlar, meyve, sebze ve çay, vb. diyet kaynaklarında bulunmaktadır (Nem ve diğ., 2009, Mark Perciva, 1998).

1.3.1. Genel özellikleri

Antioksidanlar, serbest radikal hasarına karşı ilk savunma hattımızdır, sağlık ve refahımızın korunması için kritik öneme sahiptir. Anti-oksidatif sebze ve meyvelerin düzenli olarak tüketilmesinin kronik hastalık riskini azalttığı kabul edilmektedir (Dembinska-Kiec ve diğ. 2008). Çalışmalar, antioksidan açısından zengin bir diyetin uzun vadede sağlık üzerinde çok olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Narenciye meyvelerinin (portakal, limon vb.) C vitamini gibi yüksek miktarda doğal antioksidan içerdiği bilinen bir gerçektir. Yaban mersini, çilek, üzüm, erik, kuru erik, kuru fasulye, ıspanak, lahana, brokoli çiçekleri, yonca filizi ve daha fazlasının yüksek miktarda antioksidan içerdiği kanıtlanmıştır ve birçok diyet menüsüne dahil edilmiştir (Cao ve diğ., 1998, Grossman ve diğ., 1994). Ayrıca, meyvelerin antioksidan gücünü arttırmak için genetik, kimyasal veya biyolojik modifikasyonu araştıran çalışmalar da literatürde yer almaktadır (Gomes ve diğ., 2013).

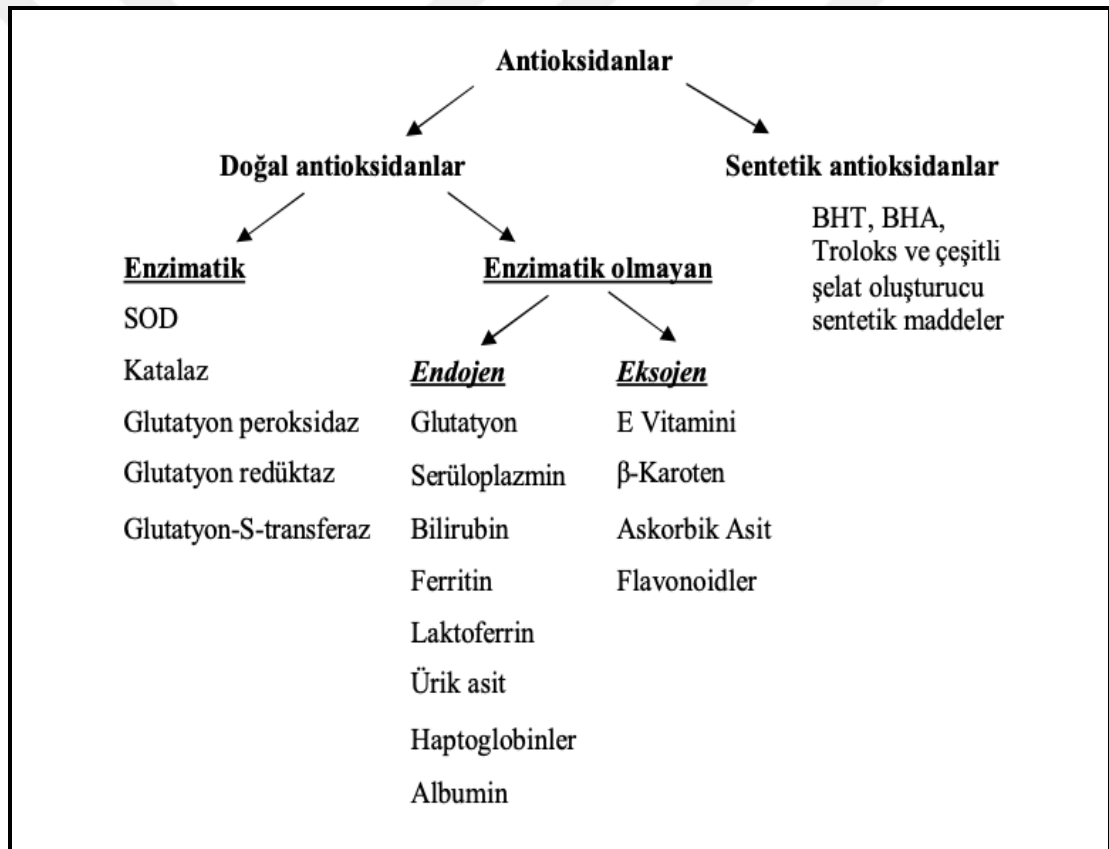
Değişik halka sübstitüsyonlarına sahip monohidroksi veya polihidroksi fenol bileşikleri, gıdalarda kullanılan en güncel antioksidanlardır. Düşük aktivasyon enerjisine sahip olduklarından, bileşikler kolayca hidrojen bağlayabilmekte ve ortaya çıkan antioksidanlar, delokalize radikal elektronların stabilizasyonu nedeniyle başka bir serbest radikalle reaksiyona girememektedirler. Antioksidanların hidrojen vermesi sonucunda, serbest radikaller zincir reaksiyonunun başlamasını ve yayılmasını geciktirmekte veya en aza indirmektedir. Elde edilen antioksidan serbest radikal, stabilitesi nedeniyle hızlı oksidasyona maruz kalmamakta ve kararlı bir kompleks bileşik oluşturmak için lipit serbest radikalleri ile reaksiyona girerek bunların hasar görmesini önlemektedir (Mbah ve diğ., 2019).

1.3.2. Sınıflandırılması

Antioksidanlar; Şekil 1.10'da görüleceği gibi doğal ve sentetik olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Doğal antioksidanlar da kendi aralarında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki alt gruba ayrılabilir. Bu antioksidanların bazıları, enzimler, düşük moleküler ağırlıklı moleküller ve enzim

kofaktörleri de dahil olmak üzere endojen olarak üretilmektedir. Enzimatik olmayan birçok antioksidan, diyet kaynaklarından elde edilmektedir. Diyet antioksidanları, polifenollerin en büyük sınıf olduğu çeşitli sınıflara ayrılabilir. Polifenoller fenolik asitler ve flavonoidlerden oluşmaktadır. Diyet antioksidanlarının diğer sınıfları arasında vitaminler, karotenoidler, organosülfür bileşikler ve mineraller bulunmaktadır (Liu, 2004).

Antioksidanlar; antioksidan enzimler, besin kaynaklı antioksidanlar (askorbik asit, tokoferoller ve tokotrienoller, karotenoidler, glutatyon ve lipoik asit vb), ve metal bağlayıcı proteinleri (ferritin, laktoferrin, albümin ve seruloplazmin vb) içermektedir.

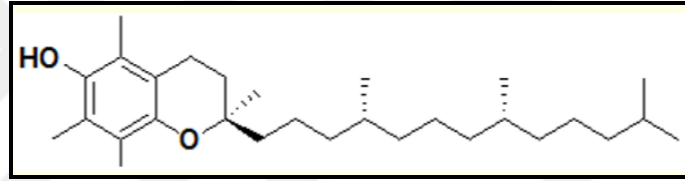


Şekil 1.10. Antioksidanların sınıflandırılması

1.3.2.1. Doğal antioksidanlar

Askorbatlar, tokoferoller ve karotenoidler gibi diyet antioksidanları iyi bilinmektedir ve sağlık üzerindeki etkileriyle ilgili pek çok yayın bulunmaktadır (Boskou ve diğ., 2005). C vitamini, E vitamini ve β (beta) karoten ve diğer karotenoidler, oksikarotenoidler, örneğin likopen ve lutein, en çok çalışılan diyet antioksidanları

arasındadır. Hücre dışı sıvılarda C vitamini suda çözünabilir en önemli antioksidan olarak kabul edilmektedir ve lipit peroksidasyonu başlamadan önce ROS’u sulu fazda nötralize edebilmektedir. C vitamininin kimyasal yapısı Şekil 1.11’de gösterilmiştir. Lipitte çözünabilen bir antioksidan olan E vitamini, hücre zarı içinde, membran yağ asitlerini lipit peroksidasyonundan koruyan en etkili zincir kırıcı antioksidandır. C vitamininin E vitaminini rejenere edebildiği belirtilmiştir. β karoten ve diğer karotenoidlerin de lipit açısından zengin dokulara antioksidan koruma sağladığı düşünülmektedir. Araştırmalar β karotenin E vitamini ile sinerjik olarak çalışabileceğini göstermektedir. Bitkilerde, flavonoidler çok çeşitli çevresel streslere karşı koruyucu görevi görürken, insanlarda flavonoidler “biyolojik tepki modifiye edicileri” olarak işlev görmektedirler. Flavonoidlerin antienflamatuar, antialerjenik, antiviral, anti-aging ve anti-kanserojen aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Cody ve diğ., 1986; Havsteen, 1983).



Şekil 1.11. C vitamini (Mbah ve diğ., 2019)

1.3.2.2. Sentetik antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, doğada oluşmadıkları ve lipit oksidasyonunu önlemeye yardımcı olmak için koruyucu olarak gıdaya eklendiklerinden kimyasal olarak sentezlenmektedirler (Shahidi ve diğ., 1992). Bu antioksidanlar, serbest radikalleri yakalama ve zincir reaksiyonlarını durdurma işlevini yerine getiren fenolik bileşikler olarak yapay olarak üretilen, pürüzlülüğü ve esmerleşmeyi önlemek için işlenmiş veya paketlenmiş gıdalara eklenen kimyasallardır. En çok kullanılan sentetik antioksidanlar arasında bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), tersiyer-butil-droquinone (TBHQ), nordihidro guaretik asit (NDGA), propil gallat (PG), oktil gallat, dodesil gallat ve metal kenetleme maddeleri (etilen diamin tetra asetik asit, polifosfatazlar) sayılabilir. Bu sentetik antioksidanların kullanımı, doğal antioksidanlardan daha kolay, daha güvenilir ve genellikle daha uygun maliyetlidir. Ayrıca toksik olmamaları, düşük konsantrasyonlarda (%0.01-0.02) yüksek oranda aktif olmaları, yağ veya yağ fazının yüzeyine konsantre

olmaları, nispeten stabil olmaları ve hücrelere nüfuz edebilmeleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkisel yağlarda, pişmiş ve şekerleme ürünlerinde, kozmetikte ve margarinde kullanılmaktadır (Li, 2011).

1.3.3. Antioksidan kapasite tayin yöntemleri

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için birçok yöntem bildirilmiştir (Huang ve diğ., 2005). Bu yöntemler; spektrometrik, elektrokimyasal analizler ve kromatografik olmak üzere üç ayrı kategoriye ayrılmaktadır (Pisogchi ve Negutes-cu, 2011).

ABTS (2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), FRAP (ferrik indirgeyici antioksidan güç) ve ORAC (Oksijen radikali absorbans kapasitesi) deneyleri, metanolik özütlerde ölçülen antioksidan aktivite için karşılaştırılabilir sonuçlar vermektedir. FRAP tekniği yüksek tekrarlanabilirlik göstermekte, kolay ve hızlı uygulanabilmekte hem askorbik asit hem de toplam fenolikler ile en yüksek korelasyonları göstermesi nedeniyle meyve ekstraktlarındaki antioksidanları belirlemek için uygun bir teknik olarak kullanılmaktadır (Thaipong ve diğ., 2006).

Çevrimiçi HPLC-DPPH (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-2,2-di fenil-1-pikrilhidrazil) önerilen tarama yöntemleri, yüksek hassasiyet ve kullanım kolaylığı nedeniyle antioksidanın saptanması için yararlı bir yöntem olarak bildirilmektedir. Yöntem, numune operasyonu ile kompleks karışımlarda münferit antioksidanların hassas tayini için avantajlıdır (Moharram ve Youssef, 2014).

1.3.3.1. DPPH radikali giderme aktivite tayini

Sanchez ve diğ. (2002) tarafından geliştirilen bu metot, meyve ve sebze ekstraktları için uygulanmakta olan spektrofotometrik bir metottur ve antioksidan maddelerin kararlı bir organik azot radikali olan DPPH radikalini ortadan kaldıracı tesirini saptamaya dayanmaktadır. Bu radikal, donör hidrojenle etkileşime girdiğinde hidrazine indirgenmekte ve kırmızı DPPH radikali, 515 nm'de maksimum absorpsiyona neden olmaktadır. DPPH solüsyonuna antioksidan ilavesiyle absorbans oranında bir azalma meydana gelmekte ve radikalın rengi kırmızıdan sarıya dönmektedir. DPPH antioksidan deneyleri için, farklı laboratuvarların sonuçlarında

değişiklikle sonuçlanan bir dizi protokol izlenmiştir. Sharma ve Bhat (2009), sonuçlarında tutarsızlık gösteren farklı çalışanların izlediği protokollerin bir perspektifini sunmuş ve DPPH'nin ışık, pH ve bileşiğin çözünürlüğüne duyarlılığının yanı sıra spektrofotometrinin hassasiyet aralığında standart bir prosedür önermiştir.

1.3.3.2. Toplam fenolik içerik tayini

Bu yöntem, 1965'te Singleton ve Rossi'nin önerdiği ve sonrasında değişik araştırmacılar tarafından geliştirilen bir yöntemdir. Folin Ciocalteu reaktifi fosfomolibdat ve fosfotungstattan oluşmakta ve fenolik-polifenolik antioksidan maddenin, reaktif bileşiğin oksidasyon reaksiyonunu inhibe etmek için gereken kolorimetrik saptanmasında kullanılmaktadır. Bu metot, tahlil edilen miktarı ölçmektedir (Vinson ve diğ., 2005), ancak bu ayıracın yalnızca toplam fenolik bileşiklerin miktarını değil de örnek içerisinde bulunan bütün indirgeyicilerle de tepkime verdiği bildirilmektedir. Bu sebeple ayıracın sadece örnek içinde bulunan fenolik bileşik seviyesini değil tüm karışımın toplam indirgeme yeteneğini de saptadığı hakkında tartışmalar bulunmaktadır (Ikawa ve diğ., 2003). Yine de Folin-Ciocalteu reaktifiyle toplam fenolik bileşik miktarının saptanması, neredeyse bütün antioksidan araştırmalarında örnek içerisindeki fenolik bileşiklerin saptanmasında kullanılmakta olan standart bir metottur.

1.3.3.3. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayini (TEAC)

Troloks, E Vitamininin suda çözünebilen bir analogudur ve antioksidan kapasite tayininde referans olarak kullanılmaktadır. Bu metot, genel olarak bitkilerin antioksidan niteliklerini saptamak amacıyla uygulanmaktadır (Ali ve diğ., 2008) ve 2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS) kromojen radikal katyonunun absorbansının, antioksidan maddeler tarafından inhibisyonu temeline dayanmaktadır. Antioksidan maddeler varlığında ABTS⁺ radikal katyonunun absorbans değerindeki azalmadan faydalanılarak total antioksidan kapasitesi troloks türünden bulunmaktadır. Bundan dolayı bu metoda, "troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi" (ABTS/TEAC) adı da verilmektedir (Arnao ve diğ., 1998).

Operasyonel basitliği nedeniyle, TEAC testi birçok araştırma laboratuvarında kullanılmaktadır. Saf antioksidan bileşikler için TEAC değerleri, TEAC değerleri ile

bir antioksidanın verebileceği elektron sayısı arasında açık bir korelasyon göstermemektedir. Askorbik asit (1.05), R-tokoferol (0.97), glutatyon (1.28) ve ürik asit (1.01) TEAC değerleri hemen hemen aynıdır, ancak glutatyon normalde bir elektron (okside glutatyon oluşturmak için) verirken diğerleri iki elektronlu indirgeyicidirler. Öte yandan, ferulik asit (1.90) ve p-kumarik asit (2.00) karşılaştırılabilir TEAC değerlerine sahiptir. Bununla birlikte, yapısı ferulik aside benzese de kafeik asit 1.00 TEAC değerine sahiptir. Quercetin (3.00) ve kaempferol (1.00) arasındaki TEAC değer farkı da benzer kimyasal yapılara sahip oldukları için oldukça şaşırtıcıdır (National Academy of Science, 2000).

1.3.3.4. Demir iyonları indirgeme tayini (FRAP)

Bu yöntem antioksidanın ferrik demiri azaltma yeteneğini ölçmektedir. Ferrik demir kompleksi ve TPTZ (2, 3, 5- tri-fenil- 1, 3, 4- triaza- 2- azoniasiklopenta -1,4-dien klorür)'nin düşük pH'ta demir formuna indirgenmesine dayanmaktadır. Bu azalma, bir diyot dizisi spektrofotometresi kullanılarak 593 nm'de emilimdeki değişiklik ölçülerek izlenmektedir (Antolovich ve diğ., 2002). Araştırmalar yöntemin basit ve hızlı olduğunu bildirmektedir ve bu yöntemin hem manuel hem de otomatik prosedürleri tanımlanmıştır (Benzie ve Strain, 1999; Gardner ve diğ., 2000).

1.3.4. Hurma bitkisinin antioksidan kapasitesi

Hurma meyvesinin anti-enflamatuar özellik gösteren mekanizmaları karmaşık görünmektedir. Hurma, prostaglandin enzimleri, Alzheimer ve tip II diyabette belirtildiği gibi deneysel olarak indüklenen inflamasyona karşı etkinlik göstermektedir. Çalışmalar, hurmanın antioksidan potansiyelinin yüksek, güçlü bir radikal süpürücü olduğunu göstermiştir (Al-Farsi ve diğ., 2005; Abbès ve diğ., 2013). Hurmanın anti-enflamatuar etkisi, enflamatuar süreç sırasında üretilen serbest radikalleri temizleyen ve istenmeyen biyokimyasal reaksiyonları önleyen antioksidanlar olarak işlev gören polifenol bileşiklerine atfedilmektedir (Schauss, 2013). Hurma, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesini arttırmaktadır, bu da hurmanın enzimatik davranışı modüle ettiğini ve böylece iltihap önleyici olarak antioksidan savunma sisteminin bir sinyal zincirini tetiklediğini göstermektedir (Ceballos-Picot ve diğ., 1996). Hurmanın farklı ekstraktlarının fraksiyonlanması ve izolasyonu sonucunda içeriğinde fenolik bileşikler, flavonoidler

ve flavonoller tanımlamıştır. Polifenollerin bu alt sınıfları, antimikrobiyaller (Hamilton-Miller, 1995; Cowan, 1999) ve güçlü antioksidanlar olarak görülmektedir ve fenolik bileşikler ile mikroorganizmalar arasındaki yapısal etkileşimlere bağlanmaktadır (Daglia, 2012).

1.4. Pestisitler

1.4.1. Pestisitlerle ilgili genel bilgi

Pestisitler, insan ve hayvanların sağlık ve refahını tehdit eden veya bitkilere zarar veren organizmaları (zararlıları) öldürmek veya caydırmak için uygulanan maddelere verilen addır. Tıbbi anlamda antibiyotikler bu sınıflandırmanın dışında tutulmakta olup, diğerleri arasında insektisitler, herbisitler, fungusitler, akarisitler, nematisitler, mollusisitler ve rodentisitler bulunmaktadır. Bunlardan, insektisitler (böcekleri kontrol altında tutmak için) ve herbisitler (istenmeyen bitki örtüsünü kontrol altında tutmak için) sıklıkla kullanılmakta ve çevre üzerinde büyük etkileri olduğu bilinmektedir (London, Meyers, 1955).

Pestisitlerin böcekler üzerinde etkili olmaları gerekiyorken, insanları ve hayvanları da zehirleyebilmektedir. Bu nedenle pestisitleri atık akışından uzak tutmak oldukça önemlidir. Hasar görmüş ambalaj ve şişeler su kanallarına sızabilmekte ve toprağı kirletebilmektedir. Organik ve sentetik kaynaklı pestisitlerin kurallara uygun şekilde atılmaları gerekmektedir. Pestisit ve insektisitler teknik olarak geri dönüştürülemezken, onları çevre dostu bir şekilde atmak hayati önem taşımaktadır. Bu maddelerin evsel çöp kutularına atılmaması, mutfak lavabosuna veya tuvalete koyulmaması, gömülmemesi veya yakılmaması gerekmektedir. Yapılması gereken ilk şey, mevcut olan pestisiti tüketmeye çalışmaktır. Arttığı takdirde, geri dönüşümü için herhangi bir özel talimat olup olmadığını belirlemek için etiketinin okunması gerekmektedir (NSW EPA, 2019).

1.4.2. Pestisitlerin sınıflandırılması

1.4.2.1. Etki mekanizmalarına göre pestisitler

Kullanılmakta olan pestisitlerin birçoğu sinir ve kas sistemine etki etmektedir ve bunların etkileri çoğunlukla hızlı ortaya çıkmaktadır. İnsektisit Direnci Eylem

Komitesi'nin (IRAC) sınıflandırmasına göre 28 adet grup bulunmaktadır ve bu gruplardan 12'si kas ve sinir sistemlerine tesirli olan kategoride bulunmaktadır. Bu kategorideki insektisitlerin çoğu, asetilkolinesteraz enzimine etki eden sınıftadırlar (IRAC 2017).

Böcek gelişimi üzerinde etkili olan hormonlar, büyüme hormonlarını taklit ederek veya kütikül oluşmasını ve lipid biyo-sentezini direkt olarak bozarak etkili olmaktadır. Bu sınıftaki pestisitler genelde yavaştan ortaya kadar değişen miktarlarda etkilidir ve larva zamanı uygulamalarda metamorfozu durdurur ya da engeller (Coats, 2012).

Bazı pestisitlerin, elektron taşıma ya da oksidatif fosforilasyon sistemini inhibe etme yoluyla mitokondri solunuma etki ettiği bilinmektedir (IRAC 2017). Solunum sisteminde bireysel hedefe etki eden pestisitler genellikle süratli ve orta seviyede hızlı etki etmektedirler. Bunlara; diafenthuron, sulfuramid, bifenazete vb. örnek olarak sayılabilir (Birişik, 2018).

Sindirim sistemini etkileyen pestisitler, Lepidopter grubuna karşı özel olarak kullanılan mikrobik zehirlerdir. Bu maddeler, sprey biçiminde böceklerle uygulanabilmekte veya bu mikrobik zehirleri bulunduran transjenik bitkiler aracılığıyla da etki etmektedirler. Bu toksinler, mide membranındaki alıcılara bağlanıp gözenek yapılarını bozmakta ve sonuç olarak iyonik dengesizlikler ve septisemiyle neticelenen ölüm ortaya çıkmaktadır (Birişik, 2018).

Bazı pestisitler (rodentisitler) ise, antikoagülan özelliğiyle etki etmektedirler. Bunlar, koagülasyon için gereken K vitamini sentezini engellemektedirler. Ayrıca kapiler damar geçirgenliğini artırıp kanın damarlar vasıtasıyla organ ve vücuttaki boşluklara sızmasına sebep olarak kan kaybıyla böceklerin ölümüne neden olmaktadır. Kumarin ve inandion olmak üzere iki grubu bulunmaktadır (Birişik, 2018).

1.4.2.2. Kimyasal yapılarına göre pestisitler

Pestisitler kimyasal yapılarına göre beş sınıfa ayrılabilir.

Klorlanmış hidrokarbonlar, farklı hidrokarbonların %37 ila 67 oranında klorlanması ile elde edilmektedir. Bu gruptaki maddeler sıklıkla kullanılmaktadır ancak doğal

koşullarda yıkıma dirayetli olmaları nedeniyle çevreyi kirletmeleri yönünden oldukça zararlıdır. Klorlanmış fenoksi asitler, herbisit özellik göstermekte ve yabancı bitkilerle mücadele için kullanılmaktadır. Bu pestisitler etkilerini; bitkilerin gelişme hormonlarının yerini alarak onları aşırı gelişime ve enerjilerini tüketmeye yönelterek etki göstermektedirler.

Organofosfatlar, ev ve sebze tarlalarındaki tarım zararlılarına karşı kullanımdadır. Bu gruptaki pestisitlerin sıklıkla kullanımındaki en önemli faktör birkaç böceğin klorlu insektisitlere karşı direnç geliştirmesidir. Ayrıca, organofosfatlar çevre şartlarında klorlu pestisitlere göre daha kısa sürede yıkıma uğrayabilmesi, insanlarda birikmemesi, bu nedenle kronik zehirlenmelere sebep olmaması nedeniyle tercih sebebidir.

Karbamatlar, insektisit, fungusit ve mollusit amaçlı kullanılabilen ve hızlı bir biçimde yıkıma uğrayarak organizmalarda birikim yapmamaktadır. Toksik etkisi farklılık gösteren karbamatlar, canlılardaki etkisini organofosfatların etki mekanizması gibi asetilkolinesteraz enziminin deaktivasyonu yoluyla göstermektedir. Ayrıca, hücre bölünmesini durdurarak büyüme ve gelişmeyi engellemek suretiyle de etki gösterebilmektedir.

Retroidler, yeni insektisitler içinde bulunan en süratli gelişen sınıftır. Bunların en önemli özelliği, düşük oranlarda kullanılmasına rağmen oldukça fazla toksisite sağlayabilmesidir. Farklı bir özelliği ise, zararlı tür böcekleri uzaklaştırıcı (repellent) tesir etmeleridir (Açık Ders Ankara, 2019).

1.4.2.3. Kullanım alanlarına göre pestisitler

Pestisitler en sık olarak tarımsal üretimde zararlılarla mücadele amacıyla kullanılmaktadır. Bunun dışında; bahçecilik, balık yetiştiriciliği/balık tarımı, ormancılık, süs bitkilerini koruma amaçlı (park, bahçe, oyun alanları), tütsüleme ve kereste korumacılığı, endüstri amaçlı böceklerin kontrolü, inşaat (duvar kağıdı yapıştırıcıları, boya, sıva, vb.), ev, ofis vb. yaşam alanlarında, denizlerdeki böceklerin kontrolü, gıda saklama, hayvancılık, toplum hijyeni ve beşeri ilaç amaçlarıyla kullanım alanları bulunmaktadır (Birişik, 2018).

1.4.3. Pestisit tayininde kullanılan yöntemler

Pestisit kalıntılarını saptamak için sıklıkla kromatografik metotlar kullanılmaktadır. Bu metotların başarılı olması, ekstraksiyon için kullanılan metot ile kalıntıların ekstraksiyon çözeltisine geçebilme seviyesine göre değişmektedir (Tiryaki, 2003). Pestisit analizlerinde, pestisitlerin yoğun biçimde kullanımının yaygınlaştığı 1940’larda renk tepkimesine bağlı kolorimetrik metotlardan günümüzde kullanılmakta olan ileri kütle spektrometrisi (MS) aletlerine kadar pek çok yöntem ve cihaz bulunmaktadır. Bunların içinde en yaygın olarak kullanılan metot uzun senelerdir gaz kromatografi kütle spektrometrisidir. Bu bölümde günümüzde kullanılan AOAC2007.01 ve EN 15662 Quechers pestisit analiz yöntemlerinden bahsedilecektir. Gıda endüstrisinin artan küreselleşmesiyle sonuç olarak gıda güvenliği konusunda daha fazla endişe bulunmaktadır. Sonuç olarak, analizinin yapılp izlenmesi gereken pestisitlerin sayısı artmıştır. QuEChERS, 2003 yılında tarımsal ürünlerde pestisit kalıntılarının çıkarılması için geliştirilen Hızlı-Kolay-Ucuz-Etkili-Sağlam-Güvenli bir ekstraksiyon yöntemidir.

1.4.3.1. AOAC2007.01 Quechers yöntemi

Quechers yönteminde, tek tür çözgenle polar ve polar olmayan özellikteki pestisitlerin ekstraksiyonu yapılmakta, aynı anda da ek konsantrasyon basamağına ihtiyaç duyulmaksızın, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS) ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi/Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) ile tahlil yapılabilmektedir (Lehotay ve diğ., 2005). Quechers yönteminin değişik çeşitleri 2005 ve 2007’te AOAC yöntemi olarak yayınlanmıştır (Lesueur ve diğ., 2008; Türköz ve Hışıl, 2008).

Quechers yönteminin konvansiyonel pestisit analizi yöntemlerine göre birkaç avantajı vardır. Bunlardan bazılarını şöyle sıralayabiliriz. Değişik polarite ve uçuculuk değerine sahip pestisit maddelerde yüksek geri kazanım oranları (%85 ve üzeri) sağlar. İç standart kullanımıyla maddelerin su miktarları sebebiyle meydana gelebilecek hacim hatalarını engelleyerek, doğruluk ve kesinliği yüksek bulgular verir. Tahlil süresi oldukça kısadır, ek olarak aynı zamanda birden çok örneğin çözülmesine de imkân verir. Çözgen tüketimi ve atık oluşumu da düşük seviyelerdedir. İş gücü bakımından oldukça hesaplıdır. Sınırlı büyüklükteki

mekanlarda, oldukça az ekipman ile ekstraksiyon yapılmasına olanak sağlar (Lehotay ve diğ., 2005).

1.4.3.2. EN 15662 Quechers yöntemi

Gıdalardaki pestisit kalıntıları için AOAC resmi yöntemi 2007.01 ile aynı ilkelere uygun olarak (EN 15662 QuECh-ERS yöntemi) asetonitril kullanılarak gıda örneklerinden pestisitlerin ekstraksiyonuyla başlamaktadır. Magnezyum sülfat ($MgSO_4$) ilavesi, sıvı-sıvı ayrışmasının meydana gelmesi için asetonitril ve suyun faz ayrılmasını indüklemektedir. Sodyum klorür, sodyum sitrat ve disodyum sitrat hidrojenat gibi tamponlama tuzları daha sonra, baz duyarlı pestisitlerin stabilitesi için pH seviyesini kontrol etmek amacıyla 4 ila 6 arasında bir pH seviyesini koruyarak eklenebilmektedir. Ekstraksiyondan sonra, üstteki organik tabaka asetonitrilden nemi uzaklaştırmak için susuz $MgSO_4$ ve zayıf bir anyon değiştirici SPE (Katı faz ekstraksiyon) sorbenti (PSA) ile harmanlanmakta ve hedef analitler çözeltide bırakılmaktadır.

Yeterli saflığı elde etmek için numunenin yapısına bağlı olarak farklı SPE sorbent karışımları kullanılmaktadır. Magnezyum sülfat, fazla suyu uzaklaştırmaya yardımcı olurken, ters faz C18 bağlı silika (C18-E), birincil ve ikincil amin bağlı silika (PSA), sırasıyla yağları ve organik asitleri uzaklaştırmaktadır. Pigmentli örnekler için, pigmentlere bağlı matris kalıntılarını gidermek için grafitlenmiş karbon siyahı (GCB) eklenebilmektedir (Leung ve diğ., 2012).

1.4.4. Tez çalışmasında Orbitrap LC MS/MS ile kalıntı tayini araştırılan pestisitlerin listesi

Sheridan ve Meola (1999) tarafından, yüzden fazla pestisitinin tayini, miktar tespiti ve doğrulanmasıyla ilgili olarak, gaz kromatografi ve iyon tuzaklı kütle spektrometresinin (MS/MS) kullanıldığı bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemin spesifitesi pek çok analit için, gaz kromatografisinin diğer dedektörleri olan Düz panel dedektörleri (FPD) ve Elektron yakalama dedektörleri (ECD) ile denk ya da daha fazladır.

Çalışmamızda kullanılan pestisitler, Thermo Q Exactive Orbitrap LC/MS/MS cihazı ile yapılmıştır. Tüm pestisitlerin standart stok çözeltileri 1000 µg/mL, karışım çözeltileriyse 10 µg/mL yoğunlukta asetonitril içerisinde hazırlanmıştır. Kullanılan pestisitlerin listesi Tablo 1.1.'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Çalışmamızda kullanılan pestisitler

Sıra	Etken madde	Ölçüm Limiti(µg/kg)	Sıra	Etken madde	Ölçüm Limiti(µg/kg)
1	2,4 D	5	154	Haloxypop-2-Ethoxyethyl	3
2	2,4 Dimethylaniline (DMA)	5	155	Haloxypop-methyl	3
3	2-phenylphenol	5	156	Heptenophos	5
4	Acephate	5	157	Hexaconazole	5
5	Acetamiprid	5	158	Hexaflumuron	5
6	Acetochlor	5	159	Hexythiazox	5
7	Acrinathrin	5	160	Imazosulfuron	5
8	Aldicarb	5	161	Imidacloprid	5
9	Aldicarb-sulfone	5	162	Indoxacarb	5
10	Aldicarb-sulfoxide	5	163	Iodosulfuron-methyl	5
11	Ametoctradin	5	164	Ioxynil	5
12	Amitraz	5	165	iprodion	5
13	Atrazine	5	166	Iprovalicarb	5
14	Azimsulfuron	5	167	Isocarbophos	5
15	Azinphos-ethyl	5	168	Isoprothiolane	5
16	Azinphos-methyl	5	169	Isoproturon	5
17	Azoxystrobin	5	170	Isopyrazam	5
18	Beflubutamid	5	171	Isoxaben	5
19	Benalaxyl	5	172	Kresoxim-methyl	5
20	Bendiocarb	5	173	Lenacil	5
21	Benfurocarb	1	174	Linuron	5
22	Bensulfuron-methyl	5	175	Lufenuron	5
23	Bentazone	5	176	Malathion	5
24	Bifenazate	5	177	Malathion-oxon	5
25	Bifentrin	10	178	Mandipropamid	5
26	Bitertanol	5	179	MCPA_negative	5
27	Boscalid	5	180	Mecarbam	5
28	Bromacil	5	181	Mecoprop	5
29	Bromoxynil	5	182	Mepaniprim-Hydroxypropyl	5
30	Bromuconazole	5	183	Mepanipyrim	5
31	Bupirimate	5	184	Mepronil	5
32	Buprofezin	5	185	Metalaxyl	5
33	Butralin	5	186	Metalaxyl-M	5
34	Butylate	5	187	Metamitron	10
35	Cadusafos	5	188	Methabenzthiazuron	5
36	Carbaryl	5	189	Methacrifos	5
37	Carbendazim/Benomyl	5	190	Methacrifos_M	5
38	Carbofuran	1	191	Methamidophos	5
39	Carbofuran, 3OH-	1	192	Methidathion	5
40	Carbosulfan	1	193	Methiocarb	5
41	Carboxin	5	194	Methiocarb-sulfone	5
42	Carfentrazone-ethyl	5	195	Methiocarb-sulfoxide	5

Tablo 1.1. (Devam) Çalışmamızda kullanılan pestisitler

43	Chlorantraniliprole	5	196	Methomyl	5
44	Chlorfenvinphos, B-	5	197	Methomyl_M	5
45	Chlorfluazuron	5	198	Methoxyfenozide	5
46	Chloridazon	5	199	Methoxyfenozide_M	5
47	Chloroxuron	5	200	Metolachlor	5
48	Chlorpropham	5	201	Metosulam	5
49	Chlorpyrifos-methyl	5	202	Metrafenone	5
50	Chlorsulfuron	5	203	Mevinphos	5
51	Cinosulfuron	5	204	Molinate	5
52	Clethodim	5	205	Monocrotophos	5
53	Clodinafop-propargyl	5	206	Monolinuron	10
54	Clofentezine	5	207	Myclobutanil	10
55	Clomazone	5	208	Napropamide	5
56	Clothianidin	5	209	Nicosulfuron	5
57	Cyazofamid	5	210	Omethoate	3
58	Cycloate	5	211	Oxadiargyl	5
59	Cycloxydim	5	212	Oxadiazon	5
60	Cyflufenamid	5	213	Oxadixyl	5
61	Cymoxanil	5	214	Oxamyl	10
62	Cypermethrin	5	215	Oxycarboxin	5
63	Cyproconazole	5	216	Oxydemeton-Methyl	5
64	Cyprodinil	5	217	Paclobutrazol	5
65	Deltametrin	5	218	Paraaxon methyl	5
66	Demeton-S-methyl	5	219	Paraaxon-Ethyl	5
67	Demeton-S-Methyl-Sulfone	5	220	Pencycuron	5
68	Desmedipham	5	221	Pendimethalin	5
69	Diafenthiuron	5	222	Permethrin, trans-	5
70	Dichlofluanid	10	223	Phenmediphan	5
71	Diclobof methyl	5	224	Phenthoate	5
72	Dicrotophos	5	225	Phorate Sulfoxide	5
73	Diethofencarb	5	226	Phorate-sulfone	5
74	Difenoconazole	5	227	Phosalone	5
75	Diflubenzuron	5	228	Phosmet	5
76	Diflufenican	5	229	Phosphamidon	5
77	Dimethachlor	5	230	Phoxim	5
78	Dimethenamid	5	231	Picolinafen	5
79	Dimethoate	5	232	Picoxystrobin	5
80	Dimethomorph	5	233	Pirimicarb	5
81	Diniconazole	5	234	Pirimiphos-ethyl	5
82	Dinocap	5	235	Prochloraz	5
83	Dinoterb	5	236	Profenofos	5
84	Dioxacarb	5	237	Profoxydim	5
85	Diphenamid	5	238	Promecarb	5
86	Diphenylamine	5	239	Prometryn	5
87	Disulfoton Sulfone	3	240	Propachlor	5
88	Disulfoton Sulfoxide	3	241	Propamocarb	5
89	Disulfoton_Na	3	242	Propaquizafop	5
90	Dithianon	5	243	Propargite	5
91	Diuron	5	244	Propazine	5
92	DMF	5	245	Propham_M	5
93	DMPF	5	246	Propiconazole	5
94	Dodine	5	247	Propoxur	5

Tablo 1.1. (Devam) Çalışmamızda kullanılan pestisitler

95	Emamectin B1a	5	248	Propylene Thiourea/Propineb	5
96	Emamectin Benzoate	5	249	Prosulfocarb	5
97	EPN	5	250	Prosulfuron	5
98	Epoxiconazole	5	251	Pymetrozine	5
99	EPTC	5	252	Pyraclostrobin	5
100	Ethiofencarb	5	253	Pyrazophos	5
101	Ethion	5	254	Pyridaben	5
102	Ethirimol	5	255	Pyridaphenthion	5
103	Ethoprophos	5	256	Pyridate	50
104	Etofenprox	5	257	Pyrimethanil	5
105	Etozazole	5	258	Pyriproxyfen	5
106	Famoxadone	5	259	Quinalphos	5
107	Famoxadone+Na	5	260	Quizalofop-ethyl	5
108	Fenamiphos	5	261	Rimsulfuron	5
109	Fenamiphos	5	262	Sethoxydim	5
110	Fenamiphos-sulfone	5	263	Simazine	5
111	Fenamiphos-sulfoxide	5	264	S-Metolachlor	5
112	Fenarimol	5	265	Spinosad Toplam1	5
113	Fenazaquin	5	266	Spinosad Toplam2	5
114	Fenbuconazole	5	267	Spirodiclofen	5
115	Fenhexamid	5	268	Spirotetramat	5
116	Fenoxaprop-ethyl	5	269	Spiroxamine	5
117	Fenoxycarb	5	270	Sulfosulfuron	5
118	Fenpropathrin	5	271	Tebuconazole	5
119	Fenpropimorph	5	272	Tebufenozide_M	5
120	Fenpyroximate	5	273	Tebufenpyrad	5
121	Fensulfothion	5	274	TEFLUTHRIN	5
122	Fensulfothion oxon	3	275	TEPP	5
123	Fensulfothion Sulfone	3	276	Tepraloxymid	5
124	Fenthion-sulfone	3	277	Terbufos	3
125	Fenthion-sulfoxide	3	278	Terbufos-sulfone	3
126	Fentin-Acetate-Chloride-Hydroxide-Oxide	3	279	Terbufos-Sulfoxide	3
127	Fipronil	4	280	Terbutylazine	5
128	Fipronil Sulfone	4	281	Terbutryn	5
129	Fipronil-Desulfinyl	4	282	Tetraconazole	5
130	Flazasulfuron	5	283	Tetramethrin	5
131	Flonicamid	5	284	Thiabendazole	5
132	Fluazifop-P-butyl	5	285	Thiacloprid	5
133	Fluazinam	5	286	Thiamethoxam	5
134	Flubendiamide	5	287	Thifensulfuron-methyl	5
135	Flufenacet	5	288	Thiobencarb	5
136	Flufenoxuron	5	289	Thiodicarb	5
137	Fluopicolide	5	290	Thiophanate-methyl	5
138	Fluopyram	5	291	Tolclofos-methyl	5
139	Flurochloridone	5	292	Tolyfluanid	10
140	Flurtamone	5	293	TPP	5
141	Flusilazole	10	294	Tralkoxydim	5
142	Flutolanil	5	295	Triadimefon	5
143	Flutriafol	5	296	Triadimenol	5
144	Fluvalinate	5	297	Triallate	5
145	Fluxapyroxad	5	298	Triasulfuron	5
146	Foramsulfuron	5	299	Triazophos	5
147	Forchlorfenuron	5	300	Tributyl Phosphate	5
148	Formetanate	5	301	Tricyclazole	5
149	Fosthiazate	5	302	Tridemorph	5
150	Furathiocarb	5	303	Trifloxystrobin	5
151	Halosulfuron-methyl	5	304	Triflumizole	5
152	Haloxypop	3	305	Triflumuron	5
153	Haloxypop	3	306	Triticonazole	5

1.4.5. Tez çalışmasında geri kazanım tayini yapılan pestisitler

Çalışmamızda, chlorpyrifos ethyl, dimethoate, fenazaquin, fenpyroximate, fipronil, hexythiazox, imidacloprid, malathion, pyriproxyfen ve spinosad (spinosyn A + spinosyn D) pestisitlerinin tayini yapılacaktır.

1.5. Literatür Özeti

Gıda maddelerinin antioksidan içeriği ve biyoyararlılıkları, gıdaların türüne, hasat zamanları ve metotlarına, depo ve saklama ortamındaki ısı, ışık, iklim, nem oranına, besin maddelerinin hazırlanması ve tüketicilerin tüketim alışkanlığına göre değişiklik göstermektedir (Cornelli, 2009; Moure ve diğ., 2000). Antioksidan kullanımının gittikçe artması nedeniyle, bu moleküllerle yapılan araştırma sayısı da artmaktadır. Bu araştırmalarda antioksidanların aktivitelerini ölçebilmek için geliştirilen yöntemler ve bu yöntemlerin antioksidan aktivitesi kavramı hakkında daha ayrıntılı bir gözlem yapılmaktadır.

Kahkönen ve diğ.'nin 1999'da yaptığı araştırmada fenolik bileşikler içeren 92 çeşit bitki ekstraktında antioksidan aktivite tayini metil linoleat otooksidasyon metoduyla saptanmıştır. Ekstraktlardaki toplam fenolik içeriğin Folin-Ciocalteu (FC) ile saptandığı bu araştırmada yenilebilen bitkilerin birçoğunda toplam fenolik içerikle antioksidan aktivitenin oldukça yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Yenilebilen bitkilerden çilek vb. küçük tanelere sahip bitkilerin, yenilmeyenlerden ise söğüt ve kızılçam kabuğu vb. bitkilerde antioksidan aktivitenin oldukça fazla olduğu saptanmıştır.

Thaipong ve diğ., çalışmalarında guava meyvesinin metanol ve diklorometan da hazırlanmış ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin saptanması için ABTS, DPPH, FRAP ve ORAC yöntemlerini kullanmışlar ve FRAP metodunun basit, hızlı ve tekrarlanabilir olması nedeniyle en iyi metot olduğunu bildirmişlerdir. Ek olarak, FRAP ile ortaya çıkan bulguların aynı ekstraktlarda saptanan askorbik asit ve total fenolik seviyeleriyle en iyi ilişkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Thaipong vd., 2006).

Villano ve diğ. (2007), polifenol bileşiklerinin DPPH radikali süpürme etkinliklerini araştırmışlardır. Bu çalışmalarında, yapılarındaki OH grubunun miktarına bağlı

biçimde en yüksek değer flavan-3-ollerde bulunmuştur. Gallik aside benzeyen moleküllerin DPPH radikalini büyük oranda süpürdüğü bildirilmiştir.

Calendula arvensis bitkisinde; kozmetik ürünlerinde yaygın biçimde kullanılan isorhamnetin, quercetin glikozitleri, lutein ve zeaxanthine gibi antioksidan özellikteki maddelerin bulunduğu bildirilmiştir (Piccaglia ve diğ., 1997; Gruenwald ve diğ., 2007).

Pathirana ve diğ. (2006), *Laurocerasus officinallis*'te protokateşuik, p-hidroksibenzoik, klorojenik, vanilik, kafeik, siringik ve p-kumarik asit gibi fenolik asitlerin varlığını saptamışlardır. Orhan ve diğ.'da (2011) bu bitkinin yapraklarındaki total fenol ve flavanoid oranının, meyve kısımlarından daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Berberis vulgaris bitkisinin meyveleri, kökleri ve kabuklarında ise belli miktarlarda klorojenik asit, malik asit, tanen vb. antioksidan kaynağı maddenin yanısıra (Hanachi ve diğ., 2009), N-(p-trans-kumaril) tyramin, kanabisin ve lyoniresinol gibi pek çok fenolik bileşen de saptanmıştır (Tomosaka ve diğ., 2008).

Gıdalarda pestisit kalıntılarını tayin etmek için üzerinde en çok çalışılan ürünler, yaş sebze ve meyvelerdir (en fazla elma). Ek olarak, buğday ya da un, yağ çeşitleri, balık, üzüm ve zeytin de en çok araştırılan ürünlerdendir (Delen ark., 2005).

Capras ve diğ., (1998), güneş altında ve fırınlarda kurutulan kayısılarda bitertanol, diazinon, iprodione, phosalone ve procymidone kalıntılarını incelemişlerdir. Diazinonun 1 hafta sonrasında tamamıyla bozunup kaybolduğunu, diğer pestisitlerin ise hasat öncesinde doruk noktası kalıntı limitlerinin %50'nin altında kalıntı içerdiğini bildirmişlerdir.

Dogheim ve diğ.'nin (2001) yaptıkları çalışmada, farklı sebze ve meyvelerde chlorpyrifos, carbaryl, dimethoate, bromopropylate, profenofos kalıntıları saptanmış ve dithiocarbamate kalıntısı yönünden analiz edilen 510 numunenin %9.4'ünde (üzüm ve şeftali) dithiocarbamate saptanmıştır.

Fenoll ve diğ., (2009) ise, biberdeki pestisit kalıntılarını incelemişlerdir. Analizleri sonucunda pirimicarb, pyriproxyfen ve buprofezin olmak üzere 3 insektisit ve cyprodinil, fludioxonil ve tebuconazole olarak ta 3 adet fungusit kalıntısı bulmuşlardır. Yapılan analizler GC/NPD metoduyla, doğrulama ise GC/MS “SIM” modu ile yapılmıştır.

Türkiye’de pestisit kalıntılarının analiz edilmesi için yapılan çalışmalar 1959’da başlamıştır. Ülkemizde hurma üzerinde yapılan pestisit kalıntı araştırmaları ise sınırlıdır.

Yiğit (1977), Marmara Bölgesi’nde bazı sebze ve meyvelerde pestisit kalıntılarını araştırmıştır. Bu araştırmada ürünlerin %83 kadarında birçok ilaç kalıntısına rastlanmıştır. Analizi yapılan sebze ve meyvelerin ortalama %4’ünde, %10 ile 16 arasında değişen oranlarda tolerans üstü kalıntılar bulunmuştur. Saptanan tesirli pestisitlerden bazıları DDT, endosülfan, parathion, lindane ve aldrin şeklinde bildirilmiştir.

Gökçay ve diğ., (1995), çekirdeksiz üzümelerde sofralık ve kurutmalık maksatlı Gibberellik asit pratikleri ve kalıntı çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Etkili bulunan dozda ve uygun zamanda gerçekleştirilen pratiklerden alınan yaş ve kuru üzümelerde gibberellik asit kalıntı oranları, Türkiye, İtalya ve Amerika tarafından belirlenen tolerans değerinin altında saptanmıştır.

Tatlı, tez araştırmasında Ege’de yetişen yaş meyve-sebzelerden ve kurutulmuş gıda ürünlerinden örnekleme yapıp pestisitlerin kalıntı analizini yapmıştır. Ürünlerde, organik klor, organik fosfor içeren insektisitlerle sentetik piretroit, strobilin ve benzimidazol türü fungusitler olmak üzere 50 çeşit pestisit kalıntısı çalışılmıştır. Domates, enginar, taze ve kuru incir ve patatesteki kalıntıların tespit limitinin altında, öteki örneklerdeyse en az 1 çeşit pestisit kalıntısının tespit limiti seviyesinde olduğu saptanmıştır. Analizi yapılan mahsüllerin %2.34’ünde maksimum kalıntı limitinin üzerinde kalıntı bulunmuştur.

Duru ve diğ., 2008 yılında İzmir’de örnekleme yapılan 145 sebze ve meyvede 33 çeşit pestisit kalıntısını araştırmışlardır. Analiz edilen 145 örneğin 74 ünde kalıntı saptanamamıştır. 30 üründe tolerans seviyesinin altında, 7 örnekteyse tolerans

değerinin üzerinde kalıntıya rastlanmıştır. En çok kalıntının da yaş ve kuru üzümle, domates mahsüllerinde olduğu bulunmuştur.

Çakar ve Gürel (2019), Antalya'dan elde edilen bal numuneleri içindeki pestisit kalıntılarını araştırmışlardır. 60 adet bal numunesinde 330 çeşit pestisit kalıntısı sıvı kromatografi tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ve gaz kromatografi kütle spektrometre (GC-MS) cihazlarıyla gerçekleştirilmiştir. Analizlerin sonunda, 330 çeşit pestisit kalıntısına herhangi bir numunede rastlanmamıştır.

Mfarrej ve diğ., (2017) hurmadaki pestisit kalıntılarını araştırdıkları çalışmalarında, GC-MS aracılığıyla pestisit kalıntısı analizi yapmışlardır. Analizler sonucunda hurma numunelerinde furan, asetik asit ve propanoik asit kalıntılarına rastladıklarını bildirmişlerdir.

Attia ve diğ.'nin 2019 yılında hurma numunelerinde pestisit kalıntılarını araştırdıkları çalışmalarında ise; örneklerde, hexythiazox, flufenoxuron, imidaclopride ve fenazaquin kalıntıları saptanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

2.1.1. Kullanılan kimyasallar

- Folin Ciocalteu çözeltisi (Sigma)
- Na₂CO₃ (Merck)
- Metanol (Merck)
- Asetonitril (Merck)
- Aseton (Sigma)
- Asetik asit (Merck)
- Formik asit (Merck)
- Gallik asit (Sigma)
- DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma)
- Askorbik asit (Sigma)
- MgSO₄ (Magnezyum sülfat) ve CH₃COONa (Sodyum asetat) kiti (Agilent)
- NaCl (Sodyum klorür) (Agilent)
- Na₂C₆H₆O₇ (Disodyum hidrojen sitrat) ve Na₃C₆H₅O₇.2H₂O(trisodyum sitratdihidrat) (Agilent)
- Primer sekonder amin (PSA) ve MgSO₄ kiti (Agilent)
- Pestisit mix standardı (Accu standardı, ABD)

2.1.2. Kullanılan cihazlar

- Orbitrap LC/MS/MS (Thermo)
- UV-GB spektrofotometresi (Shimadzu)
- Santrifüj (Rotofiks)
- Vorteks (Yellowline)
- Hassas terazi (Sartorius LA1200S)
- Blender
- Derin dondurucu

- Otomatik pipet (Eppendorf)
- Mikro şırınga
- 2ml’lik enjektör
- Laboratuvar araç gereçleri

2.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanmaları

2.1.3.1. DPPH radikali giderim aktivite tayini için kullanılan çözelti

10^{-3} M’lık DPPH çözeltisinin hazırlanması: 39 mg DPPH metanolde tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim metanol ile 100 mL’ye tamamlandı

2.1.3.2. Toplam fenolik madde miktarı tayini için kullanılan çözeltiler

%10’luk Na_2CO_3 çözeltisi: 10 g Na_2CO_3 100ml’lik balon jodede bir miktar saf suda çözülerek son hacmi saf su ile 100 ml’ye tamamlandı.

Folin-Ciocalteu (FCR) Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanıldı.

2.1.3.3. Pestisit analizi için kullanılan çözeltiler ve mobil fazlar

%1’lik asetonitrilde çözünmüş Asetik asit çözeltisi: 25 ml Asetik asit alınıp asetonitril ile 2500 ml’ye tamamlandı.

6,7 mM Formik Asit çözeltisi: Saflığı $> 99,9\%$ ve yoğunluğu $1,22 \text{ g/cm}^3$ olan formik asitten 100 ml’lik balon jodaye 25,28 ml alınıp üzeri destile su ile 100 ml’ye tamamlanarak 6,7 M formik asit çözeltisi hazırlandı. Sonra, 250 ml hacimli balon jodaye bir miktar su konuldu ve üzerine 6,7 M formik asit çözeltisinden 250 μl alınıp destile su ile 250 ml’ye tamamlanarak 6,7 mM’lık çözelti hazırlanmış oldu.

Mobil Faz A: 1000 ml’lik balon jodaye bir miktar destile su konuldu ve 4 ml amonyum format ve 1ml formik asit eklenerek son hacim destile su ile 1 litreye tamamlandı.

Mobil Faz B: 1000 ml’lik balon jodaye bir miktar MeOH konuldu ve 4 ml amonyum format ve 1 ml formik asit eklenerek son hacim MeOH ile 1 litreye tamamlandı.

2.2. Deneysel Yöntemler

2.2.1. Hurmaların temini ve ekstraktlarının hazırlanması

Deneylerde kullanılan İran, Tunus, Medine, Kudüs ve Bağdat hurmaları Kocaeli ilinde bulunan aktarlardan satın alındı. Antioksidan aktive analizlerinde kullanılacak hurmalar; ekstraksiyon için, blenderda ayrı ayrı öğütüldü ve her bir hurma türü ağzı kapalı 500 ml erlenlerde 100'er gram tartıldı. Hurmalara sırasıyla aseton ve asetonitril solventlerinden 200'er ml eklenerek 24 saat ekstraksiyona bırakıldı. Elde edilen asetonitril ve aseton ekstreleri süzgeç kağıdından süzüldü ve evaporatörde 40°C'de solventler uzaklaştırıldı. 30 mg/ml konsantrasyonda stok hurma ekstrakt çözeltileri kullanılan solventlerle çözülerek hazırlandı ve stok hurma çözeltilerinden istenilen derişimlere seyreltilerek her biri analiz için buzdolabında saklandı.

2.2.2. Antioksidan aktivite belirleme yöntemleri

2.2.2.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) serbest radikali giderim aktivitesi tayini

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini Gezer (2006) metoduna göre yapıldı. Stok çözeltiler kullanılarak, hurma çözeltileri 100, 200, 300, 400 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarına seyreltildi ve kendi solventiyle (asetonitril veya aseton) toplam hacim 3 ml'ye tamamlandı. Deney tüplerine farklı konsantrasyonlardaki hurma çözeltilerinin her birinden 2 ml alındı ve üzerine 1 mM DPPH çözeltisinden 1 ml ilave edildi. Vorteksleme işleminden sonra oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta inkübe edildi. Kontrol olarak aseton (veya asetonitrilden) 2 ml, DPPH çözeltisinden 1 ml alınarak çalışıldı. UV-VIS spektrofotometrede iki ayrı solventte farklı konsantrasyonlarda çalışılan hurmaların absorbansları 517 nm'de ölçüldü. Çalışmada standart olarak askorbik asit kullanıldı. Ekstraktların absorbans değerlerine göre % inhibisyon değerleri aşağıda verilen formül ile hesaplandı. Testler üç tekrarlı çalışıldı.

$$\% \text{ Inhibisyon} = 100 \times (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \quad (2.1)$$

A_{kontrol} : kontrolün absorbansı $A_{\text{örnek}}$: örneğin absorbansı

2.2.2.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Toplam fenol içeriğinin analizi Singleton ve diğerlerinin (1999) yöntemi esas alınarak gerçekleştirildi. 1 ml Folin Ciocalteu fenol maddesi 1 ml örneğe eklendikten sonra 5 dk karıştırıldı. Ardından 1 ml %10'luk Na_2CO_3 ilave edilerek üzeri saf su ile 10ml'ye tamamlandı ve oda sıcaklığında 120 dk inkübe edildi. Numunelerin absorbans ölçümleri 760nm'de UV-Visible spektrofotometreyle yapıldı. Standart olarak gallik asidin 50-600 $\mu\text{g/ml}$ aralığında kalibrasyon eğrisi oluşturularak sonuçlar köre karşı kaydedildi. Testler üç tekrarlı gerçekleştirildi.

2.2.3. Hurma numunelerinde pestisit kalıntı analizi

Hurmaların kalıntı pestisit analizleri için; yaygın olarak kullanılan, hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam, güvenilir ve çözgen sarfiyatı az olan Quechers metodu tercih edilmiştir.

2.2.3.1. AOAC 2007.01 Quechers metodu ile pestisit kalıntı analizi

Hurmaların pestisit kalıntı tayinleri AOAC 2007.01 Quechers (Çetinkaya, 2015) metodu ile yapıldı. Blenderda öğütülerek homojen hale getirilen hurmalardan 50ml'lik santrifüj tüplerine 5'er gram tartıldı. Üzerlerine 10 ml distile su ilave edildi. (SANTE 11813/2017 sayılı belgeye göre su içeriği %25'den az olan un, kuru meyve, bal ve baharat gibi ürünlerde örnek miktarı azaltılmak zorunda olabilir ve su ilavesi ile miktar 15 grama tamamlanır.) Üzerine önce 15 ml %1 'lik asetonitrilde çözünmüş asetik asit sonra da Quechers 1. aşama (6 g MgSO_4 ve 1,5 g CH_3COONa) tuzu eklendi. Santrifüj tüpü 2 dakika çalkalanarak numunede var olan pestisitlerin çözücüye geçmesi sağlandı. 4000 devirdeki santrifüjde 2 dk santrifüj edilen hurmaların üst fazından 8 ml alınarak içerisinde Quechers 2. Aşama (1200 mg MgSO_4 ve 400 mg PSA) tuzlarının bulunduğu 15ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı. 30 sn çalkalama işleminin ardından 4000 rpm'de santrifüj edilerek üst fazlardan 2ml'lik enjektörle alındı ve 0,45 μm filtreden geçirilip 1.5 ml'lik viallere 500 μl alındı. Viale 500 μl de 6,7mM formik asitten eklendi. Pestisit taranmasında kalibrasyon standartları da aynı şekilde 500 μl spike örnek (15 gram tartılmış numune) ve 500 μl formik asit şeklinde hazırlandı. Dolayısıyla hurmalar 5 g tartılarak çalışıldığı için

analizde 3 kat seyreltme yapılmış oldu ve sonuçlar seyreltme katsayısı dikkate alınarak değerlendirildi. Mobil faz olarak MeOH ve H₂O kullanıldı.

2.2.4. Kalibrasyon eğrisi oluşturma

Kullanılan pestisit standartları Accustandard (ABD) marka olup saflıkları yüksektir (>%99). Konsantrasyonları 1000 mg L⁻¹ olacak şekilde hazırlanan pestisitler çoklu Accu mix şeklinde satın alındı ve laboratuvarında çalışma ara stok solüsyonu olarak 500 µg/L konsantrasyonda hazırlanan mix standart kullanıldı. 5, 25, 50, 75 ve 100 µg/L seviyelerinde olacak şekilde pestisit içermeyen hurma matriksine standart solüsyondan sırasıyla 75, 375, 750, 1125 ve 1500 µl miktarlarında ikame yapılarak matriks etkisini elimine etmek amacıyla matriksli kalibrasyon oluşturuldu ve her seviyede 3 tekrarlı olacak şekilde hurmaların kromatografik tayinleri Orbitrap LC/MS/MS cihazında çalışıldı.

2.2.5. Hurmalarda AOAC 2007.01 Quechers ve EN 15662 Quechers metodları ile geri kazanım çalışması

2.2.5.1. AOAC 2007.01 Quechers yöntemiyle geri kazanım

SANTE/11813/2017 Gıda ve Yemde Pestisit dökümanına göre yüksek şeker ve düşük su içerikli ürünler grubuna giren hurma matriksleri homojen hale getirilerek 50 ml'lik santrifüj tüplerine 7,5 g tartılıp üzerlerine 7,5 ml saf su eklendi. 500 ppb accu mix pestisit standardından hurmalara 750 µl (50 ppb) spike yapıldı. Ardından %1 asetik asit içeren asetonitril eklendi. Ekstraksiyon aşamasında 6 g MgSO₄ ve 1,5 g CH₃COONa tuzları ilave edildi. Santrifüj tüpleri çalkalayıcıda 2 dk çalkalandıktan sonra 4000 rpm'de santrifüjlendi ve üst fazdan 8 ml alınarak quechers ikinci aşama tuzlarının bulunduğu (1200 mg MgSO₄ ve 400 mg PSA) 15 ml'lik santrifüj tüplerine aktararak 30 sn çalkalama işleminin ardından 4000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Üst fazlar 2ml'lik enjektörle 0,45µm filtreden geçirilip viallere 500 µl örnek, 500 µl formik asit çözeltisi (6,7 mM) eklendi. Kalibrasyon da aynı şekilde hurma matriksiyle çalışıldığından sonuçlar dilüsyon katsayısı ile çarpılmadan değerlendirildi.

2.2.5.2. EN 15662 Quechers yöntemiyle geri kazanım

Bu yöntemde de AOAC 2007.01 Quechers metodunda olduğu gibi homojen haldeki hurmalardan aynı miktarda tartım ve su ilavesinin ardından pestisit standardıyla 750 µl fortifikasyon (kirletme) işlemi yapıldı. AOAC 2007.01 Quechers yönteminden farklı olarak ekstraksiyon basamağında çözgen ilavesinin ardından 4 g magnezyum sülfat, 1 g sodyum klorür, 1 g trisodyum sitrat dihidrat, 0,5 g disodyum hidrojen sitrat ekstraksiyon tuzları eklendi. Bundan sonraki aşamada AOAC 2007.01 Quechers yöntemindeki adımlar izlenerek analiz yürütüldü.

Ekstraksiyon tuzları farklı olan Quechers'ın iki versiyonuyla geri kazanım çalışması yapılan hurmaların vialleri Orbitrap LC/MS/MS cihazında MeOH (metanol) ve H₂O mobil fazları kullanılarak okutuldu. Böylece aynı mobil fazlar ve ikinci aşama tuzları kullanılarak ekstraksiyon tuzlarının geri kazanıma olan etkisi incelendi.

MeCN (asetonitril) ve H₂O EN 15662 Quechers metodunun mobil fazlarıdır. Quechers metodunda mobil faz etkisinin geri kazanıma olan etkilerini inceleyebilmek üzere hurma matrikslerinin EN 15662 Quechers metodu ile geri kazanım çalışmaları yapıldı. Vialler bu kez mobil faz olarak MeCN ve H₂O kullanılarak cihazda okutuldu. Böylece aynı yöntemle geri kazanım çalışması yapıldığı için aynı ekstraksiyon tuzları kullanılıp mobil fazlar değiştirilmiş oldu.

2.2.6. Pestisit kalıntı analizi cihaz koşulları

380 pestisit kalıntı tayininde; akredite olan Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nün Orbitrap LC/MS/MS cihazı kullanılarak hurmalarda pestisit kalıntısı ve geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmaların gerçekleştirildiği cihaz bilgisi aşağıda verilmiştir.

- Marka: Thermo Dionex Ultimate 3000
- Dedektör: Q Exactive Focus
- Kolon: Thermo Scientific Accuroce aQC18 (Lot:15341), (100x2,1mm) 2,6µm
- Kolon sıcaklığı: 35 °C
- Oto örnekleyici sıcaklığı: 15 °C
- Akış hızı: 0,3ml/dk

- Enjeksiyon hacmi: 10µl
- Gradient sistem: A: %98, B: %2
- Çözücü A: H₂O, Çözücü B: MeOH



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları

3.1.1. DPPH radikal giderme tayini

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini Gezer (2006) metoduna göre yapıldı. Stok çözeltiler kullanılarak, hurma çözeltileri 100, 200, 300, 400 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarına seyreltildi.

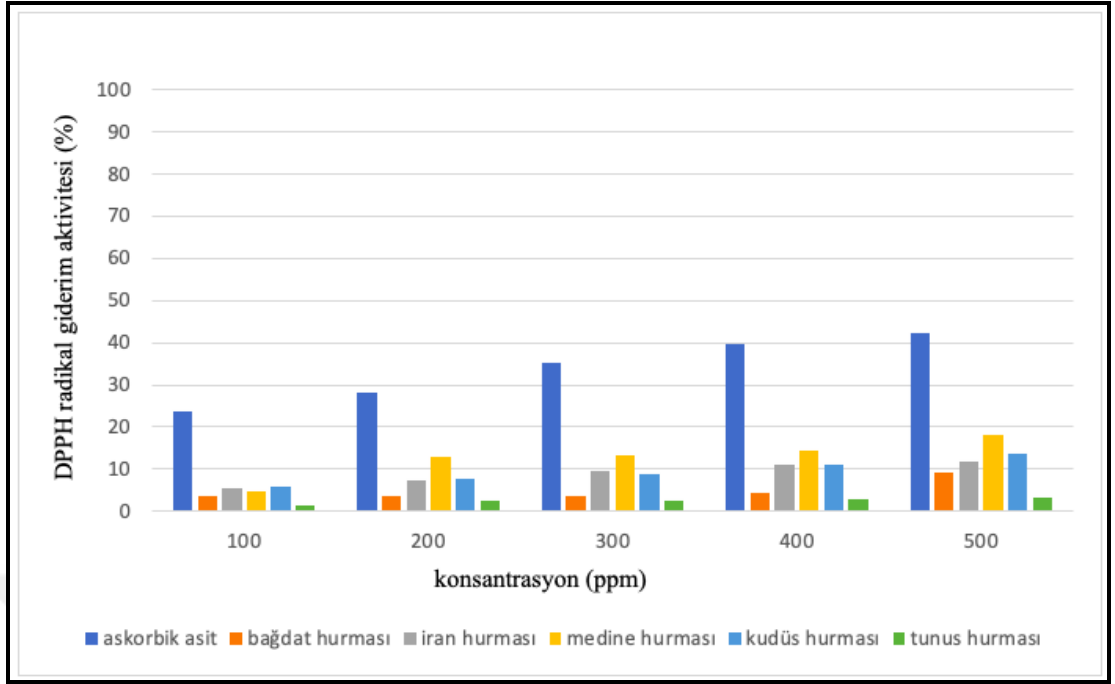
Şekil 3.1 ve 3.2’de hurma ekstraktlarının 517 nm dalga boyunda belirlenmiş olan asetonitril ve aseton içindeki 100, 200, 300, 400 ve 500 ppm konsantrasyonlardaki DPPH serbest radikali giderim aktivite grafikleri görülmektedir.

Grafiklerin çiziminde Tablo 3.1’de verilen sonuçlar kullanılmıştır. Bu değerlere göre en yüksek DPPH giderim aktivitesini Medine hurması aseton ekstraktı $43,57 \pm 0,37$ olarak, en düşük aktiviteyi ise Tunus hurması asetonitril ekstraktı $3,37 \pm 0,14$ olarak vermiştir.

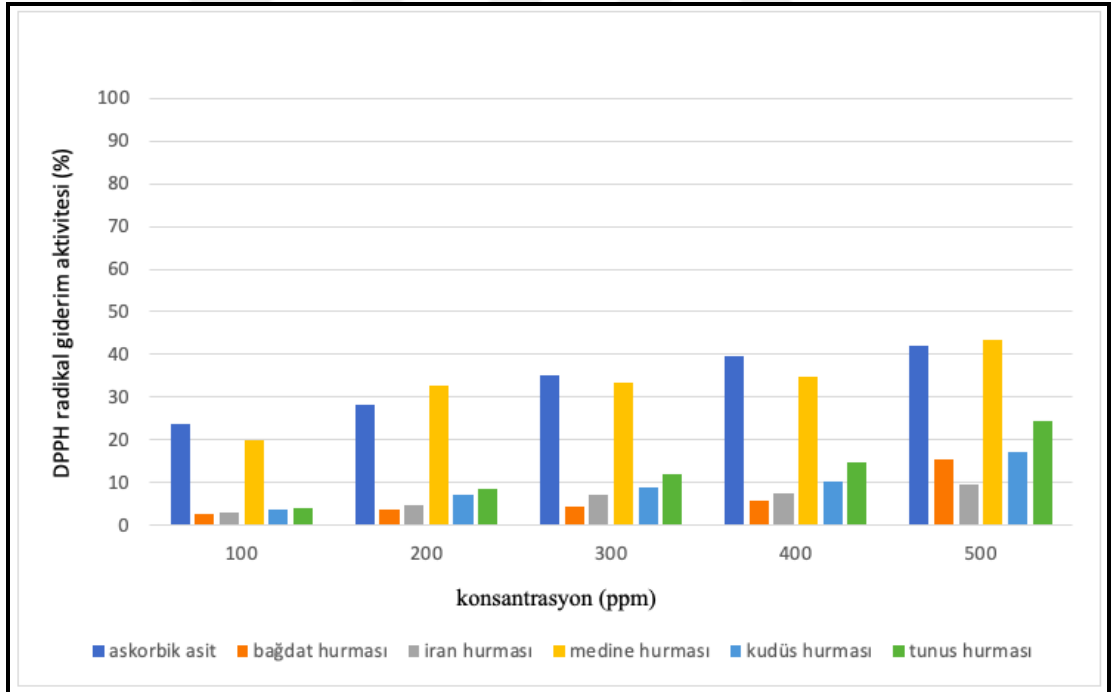
Çalışmamızda hurmaların DPPH radikal giderim aktivitesi, aseton ekstraktlarında en yüksek Medine hurması ($43,57 \pm 0,37$) ve sonrasında Tunus hurması ($24,44 \pm 0,12$), Kudüs hurması ($17,04 \pm 0,38$), Bağdat hurması ($15,42 \pm 0,53$) ve İran hurması ($9,70 \pm 0,12$) şeklinde görülmüştür.

Asetonitril ekstraktlarında ise sırasıyla medine hurması ($18,24 \pm 0,95$), Kudüs hurması ($13,65 \pm 1,64$), İran hurması ($11,66 \pm 0,41$), Bağdat hurması ($9,07 \pm 3,32$) ve Tunus hurmasında ($3,37 \pm 0,14$) saptanmıştır.

Medine hurması, standart olarak kullanılan askorbik asitten daha yüksek DPPH giderim aktivitesi göstermiştir.



Şekil 3.1. Asetonitril ekstrlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)



Şekil 3.2. Aseton ekstrlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Tablo 3.1. Hurma ekstraktlarının % DPPH radikali süpürme aktivitesi verileri

Ekstrakt	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	DPPH radikali giderme aktivitesi (%)
İran Hurması asetonitril ekstraktı	100	5,46 $\pm$ 0,21
	200	7,43 $\pm$ 0,28
	300	9,50 $\pm$ 0,34
	400	11,21 $\pm$ 0,06
	500	11,66 $\pm$ 0,41
İran hurması aseton ekstraktı	100	2,87 $\pm$ 0,61
	200	4,86 $\pm$ 0,45
	300	7,06 $\pm$ 0,04
	400	7,64 $\pm$ 0,50
	500	9,70 $\pm$ 0,12
Bağdat hurması asetonitril ekstraktı	100	3,63 $\pm$ 0,51
	200	3,74 $\pm$ 0,04
	300	3,71 $\pm$ 0,81
	400	4,33 $\pm$ 0,13
	500	9,07 $\pm$ 3,32
Bağdat hurması aseton ekstraktı	100	2,74 $\pm$ 0,83
	200	3,67 $\pm$ 0,48
	300	4,51 $\pm$ 0,06
	400	5,64 $\pm$ 0,88
	500	15,42 $\pm$ 0,53
Medine hurması asetonitril ekstraktı	100	4,70 $\pm$ 1,89
	200	12,97 $\pm$ 0,07
	300	13,38 $\pm$ 0,04
	400	14,56 $\pm$ 1,20
	500	18,24 $\pm$ 0,95
Medine hurması aseton ekstraktı	100	20,07 $\pm$ 0,81
	200	32,85 $\pm$ 0,07
	300	33,49 $\pm$ 0,52
	400	34,87 $\pm$ 0,45
	500	43,57 $\pm$ 0,37
Kudüs hurması asetonitril ekstraktı	100	6,03 $\pm$ 0,32
	200	7,66 $\pm$ 0,39
	300	8,93 $\pm$ 0,62
	400	11,02 $\pm$ 0,23
	500	13,65 $\pm$ 1,64
Kudüs hurması aseton ekstraktı	100	3,67 $\pm$ 0,35
	200	7,13 $\pm$ 0,33
	300	8,74 $\pm$ 0,16
	400	10,26 $\pm$ 0,44
	500	17,04 $\pm$ 0,38
Tunus hurması asetonitril ekstraktı	100	1,59 $\pm$ 0,60
	200	2,47 $\pm$ 0,01
	300	2,55 $\pm$ 0,10
	400	3,03 $\pm$ 0,11
	500	3,37 $\pm$ 0,14
Tunus hurması aseton ekstraktı	100	3,89 $\pm$ 0,27
	200	8,56 $\pm$ 0,14
	300	11,84 $\pm$ 0,17
	400	14,87 $\pm$ 2,16
	500	24,44 $\pm$ 0,12
Askorbik asit	100	23,67 $\pm$ 0,09
	200	28,38 $\pm$ 0,22
	300	35,62 $\pm$ 0,42
	400	40,44 $\pm$ 0,57
	500	42,55 $\pm$ 0,76

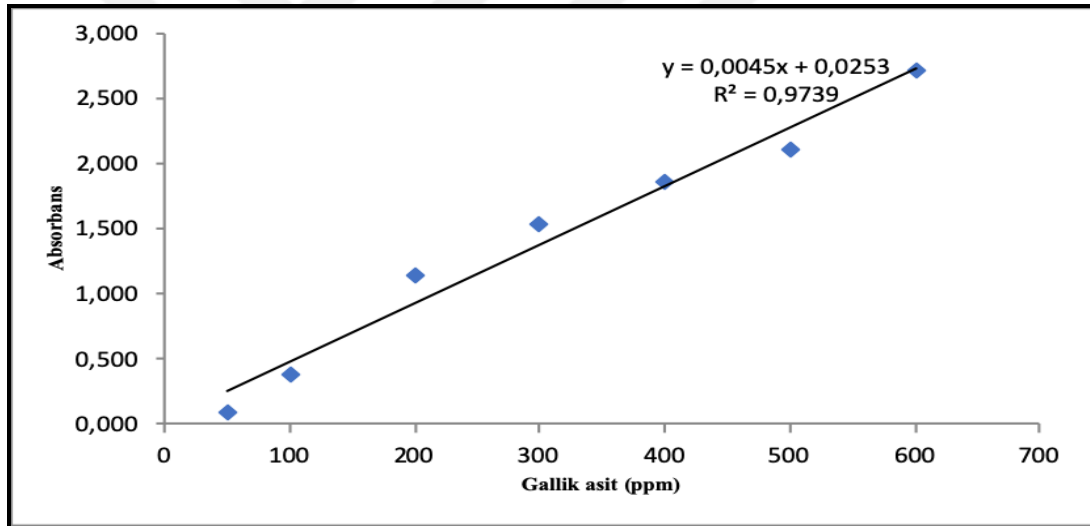
*Değerler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Hurma ekstralarının DPPH giderim aktiviteleri arasındaki fark Bonferoni testi ile hesaplanmıştır. Standart askorbik asit ile medine hurması asetonitril ekstresi hariç tüm hurma ekstraları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$). Bu farklılık standart askorbik asit lehinedir.

3.1.2. Toplam fenolik içerik tayini (Folin Ciocalteu yöntemi)

Hurma ekstralarında toplam fenol içeriği tayini için öncelikle standart bileşik olarak kullanılan gallik asit grafiği hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formülden de yine tüm ekstralarda bulunan toplam gallik asit miktarları hesaplandı (r^2 : 0,9739). Bu amaçla hazırlanan standart gallik asit grafiği Şekil 3.3.'te verilmiştir.

$$y = 0,0045x + 0,0253 \quad (3.1)$$



Şekil 3.3. Toplam fenol içeriği analizi için gallik asit standart grafiği

Tablo 3.2.'de Bağdat (zahidi), Tunus (berni), kudüs (medjoul), İran (mazafati) ve Medine (hudri) *Phoenix dactylifera* L. hurmalarının toplam fenol içerikleri gallik asit standart grafiğinden elde edilen formülle mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g hurma olarak hesaplanan sonuçları görülmektedir. Toplam fenolik içeriklerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı ve hurmaların toplam fenolik içeriklerinin farklı sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu değerlere göre hurmaların asetonitril ekstraktlarının 500 ppm'deki toplam fenol içerikleri sırasıyla; Tunus ($15,86\pm0,09$), Bağdat ($12,89\pm0,23$), Kudüs ($8,63\pm0,07$), Medine ($7,72\pm0,16$) ve İran ($7,13\pm0,10$) olarak saptanmıştır. Hurma aseton ekstraktlarının 500 ppm'deki toplam fenol

içerikleri ise; Bağdat ($29,24 \pm 0,07$), İran ($16,79 \pm 0,17$), Tunus ($14,81 \pm 0,07$), Kudüs ($13,92 \pm 0,18$), Medine ($12,27 \pm 0,16$) olarak bulunmuştur. Toplam fenol içeriği en yüksek Bağdat hurması aseton ekstraktında iken en düşük fenolik içerik İran hurması asetonitril ekstraktında elde edilmiştir.

Tablo 3.2. Hurma ekstraktlarının toplam fenol içerikleri (mg GAE/100 g hurma)

Ekstrakt	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Toplam Fenol İçeriği (mg GAE/100 g hurma)
İran Hurması asetonitril ekstraktı	100	$5,91 \pm 0,11$
	200	$6,18 \pm 0,09$
	300	$6,34 \pm 0,07$
	400	$6,61 \pm 0,14$
	500	$7,13 \pm 0,10$
İran hurması aseton ekstraktı	100	$6,61 \pm 0,15$
	200	$7,00 \pm 0,15$
	300	$7,79 \pm 0,17$
	400	$8,41 \pm 0,19$
	500	$16,79 \pm 0,17$
Bağdat hurması asetonitril ekstraktı	100	$9,19 \pm 0,27$
	200	$9,76 \pm 0,21$
	300	$11,08 \pm 0,29$
	400	$12,09 \pm 0,17$
	500	$12,89 \pm 0,23$
Bağdat hurması aseton ekstraktı	100	$18,89 \pm 0,29$
	200	$19,44 \pm 0,10$
	300	$20,06 \pm 0,09$
	400	$24,17 \pm 0,08$
	500	$29,24 \pm 0,07$
Medine hurması asetonitril ekstraktı	100	$6,29 \pm 0,11$
	200	$6,61 \pm 0,10$
	300	$6,98 \pm 0,15$
	400	$7,45 \pm 0,06$
	500	$7,72 \pm 0,16$
Medine hurması aseton ekstraktı	100	$8,47 \pm 0,12$
	200	$9,02 \pm 0,15$
	300	$10,79 \pm 0,13$
	400	$11,84 \pm 0,12$
	500	$12,27 \pm 0,16$
Kudüs hurması asetonitril ekstraktı	100	$7,49 \pm 0,08$
	200	$7,70 \pm 0,11$
	300	$8,04 \pm 0,09$
	400	$8,30 \pm 0,10$
	500	$8,63 \pm 0,07$
Kudüs hurması aseton ekstraktı	100	$11,25 \pm 0,13$
	200	$11,56 \pm 0,11$
	300	$12,66 \pm 0,26$
	400	$13,03 \pm 0,09$
	500	$13,92 \pm 0,18$
Tunus hurması asetonitril ekstraktı	100	$7,61 \pm 0,13$
	200	$8,14 \pm 0,26$
	300	$9,11 \pm 0,12$
	400	$9,50 \pm 0,07$
	500	$15,86 \pm 0,09$
Tunus hurması aseton ekstraktı	100	$8,08 \pm 0,19$
	200	$11,71 \pm 0,07$
	300	$11,95 \pm 0,11$
	400	$12,64 \pm 0,21$
	500	$14,81 \pm 0,07$

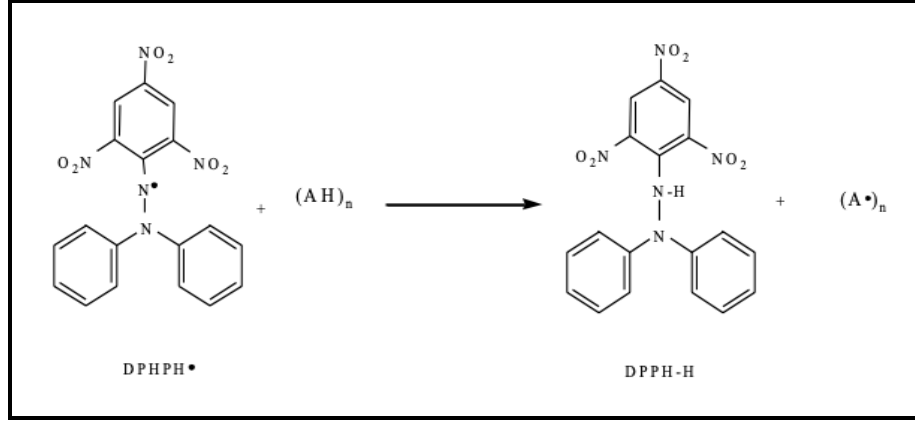
*Değerler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Hurma ekstralarının toplam fenolik içerikleri istatistiksel olarak incelendiğinde; standart galik asit ile Medine hurması asetonitril, kudüs hurması asetonitril ve kudüs hurması aseton ekstraları hariç tüm hurma ekstraları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p<0,05$).

3.2. Antioksidan Çalışmaları İle İlgili Tartışma

Bu çalışmada kullanılan İran, Tunus, Medine, Kudüs ve Bağdat hurmaları Kocaeli ilinde bulunan aktarlardan satın alınmıştır. Antioksidan aktive analizlerinde kullanılacak hurmalar; ekstraksiyon için, blenderda ayrı ayrı öğütölüp her bir hurma türü ağzı kapalı 500 ml erlenlerde 100'er gram tartılmış ve hurmalara sırasıyla aseton ve asetonitril solventlerinden 200'er ml eklenerek 24 saat ekstraksiyona bırakılmıştır. Elde edilen asetonitril ve aseton ekstraları süzgeç kağıdından süzölldükten sonra evaporatörde 40°C'de solventler uzaklaştırılmıştır. 30 mg/ml konsantrasyonda stok hurma ekstrakt çözeltileri kullanılan solventlerle çözümlerek hazırlanmış olup, stok hurma çözeltilerinden istenilen konsantrasyonlara seyreltilip çalışılmıştır.

Çalışmamızda antioksidan kapasite tayini için iki yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden biri olan DPPH radikali giderme (Şekil 3.4.) tayini, meyve ve sebze ekstraktları için uygulanmakta olan spektrofotometrik bir metottur ve antioksidan maddelerin kararlı bir organik azot radikali olan DPPH radikalini ortadan kaldırıcı tesirini saptamaya dayanmaktadır. Folin Ciocalteu yönteminde ise, Folin Ciocalteu reaktifi fosfomolibdat ve fosfotungstattan oluşmakta ve fenolik-polifenolik antioksidan maddenin, reaktif bileşiğin oksidasyon reaksiyonunu inhibe etmek için gereken kolorimetrik saptanmasında kullanılmaktadır. Bu metot, tahlil edilen miktarı ölçmektedir (Vinson ve diğ., 2005), ancak bu ayıracın yalnızca toplam fenolik bileşiklerin miktarını değil de örnek içerisinde bulunan bütün indirgeyicilerle de tepkime verdiği bildirilmektedir. Bu sebeple ayıracın sadece örnek içinde bulunan fenolik bileşik seviyesini değil tüm karışımın toplam indirgeme yeteneğini de saptadığı hakkında tartışmalar bulunmaktadır (Ikawa ve diğ., 2003). Yine de Folin-Ciocalteu reaktifiyle toplam fenolik bileşik miktarının saptanması, neredeyse bütün antioksidan araştırmalarında örnek içerisindeki fenolik bileşiklerin saptanmasında kullanılmakta olan standart bir metottur. Çalışmamızda da bu yöntemle toplam fenol tayini yapılmıştır.



Şekil 3.4. Bir antioksidanın DPPH radikalini gidermesi

Fenolik asitler (gallik, protokatekin, kafeik ve rosmarinik asitler), fenolik diterpenler (karnosol, karnosik asit, rosmanol ve rosmadial), flavonoidler (quercetin, kateşin, naringenin, kaempferol vb.) ve uçucu yağların (öjenol, karvakrol, timol, mentol, p-cymene, okaliptol vb.) bitki ve meyvelerin antioksidan kapasiteleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir (Brewer ve diğ., 2011).

Çalışmamızda hurmaların % DPPH radikal giderim aktivitesi, en yüksek medine hurması aseton ekstraktında ($43,57 \pm 0,37$), en düşük kapasite ise tunus hurması asetonitril ekstraktında ($3,37 \pm 0,14$) saptanmıştır. Kchaou ve diğ. (2014), hurma ekstraktlarında DPPH yöntemiyle en yüksek aktiviteyi Allig ekstraktında ve en düşük aktiviteyi ise Deglet Nour'da gözlemişlerdir. Allig, bejo ve deglet nour hurmalarının radikal süpürücü aktivitelerini sırasıyla %58.77, % 40.78 ve %23.98 olarak saptamışlardır. Saafi ve diğ. (2009), tunus hurması türlerinde %DPPH giderim aktivitesini %1,53 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda tunus hurması aseton ekstresi DPPH giderim aktivitesi Saafi ve diğ.'nın çalışmasına göre yüksek, Kchaou ve diğ.'nın çalışmasına göre düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda hurmaların asetonitril ekstraktlarının 500 ppm'deki toplam fenol içerikleri; medine ($7,72 \pm 0,16$), kudüs ($8,63 \pm 0,07$), iran ($7,13 \pm 0,10$), bağdat ($12,89 \pm 0,23$), tunus ($15,86 \pm 0,09$) mg GAE/100 g olarak saptanmıştır. Hurma aseton ekstraktlarının 500 ppm'deki toplam fenol içerikleri ise; bağdat ($29,24 \pm 0,07$), iran ($16,79 \pm 0,17$), tunus ($14,81 \pm 0,07$), kudüs ($13,92 \pm 0,18$), medine ($12,27 \pm 0,16$) mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir. Toplam fenol içeriği en yüksek bağdat hurması aseton ekstraktında iken en düşük fenolik içerik iran hurması asetonitril ekstraktında

elde edilmiştir. Kchaou ve diğ. (2014), allig, deglet nour ve bejo hurmalarının toplam fenolik içeriklerini sırasıyla $505,49 \pm 3,36$ mg, $240,38 \pm 1,12$ mg ve $391,94 \pm 5,18$ mg olarak hesaplamışlardır. İrtəm (2013), araştırmasında hurmalarda toplam fenolik madde içeriğini ortalama $147,14$ mg GAE/100 g olarak belirlerken fenolik madde muhteviyatı en yüksek $250,62$ mg GAE/100 g ile Dökme İran Rabbi hurmasında, en düşük ise $35,21$ mg GAE/100 g ile İran Rutab hurmasında bulunmuştur.

Benmeddour ve diğ. (2013), Cezayir hurmalarındaki fenolik madde içeriklerini inceledikleri çalışmalarında en yüksek fenolik maddeyi ghazi hurmasında $954,59$ mg GAE/100 g ve deglet nour hurmasında $225,57$ mgGAE/100 g olarak saptamışlardır. Mansouri ve diğ. (2005) ise, Cezayir hurmalarındaki fenolik madde içeriğini $2,49-8,36$ mgGAE/100 g arasında hesaplamışlardır.

Hurmalardaki antioksidan aktiviteler ve toplam fenolik madde içeriklerinin farklı olmasının nedenleri olarak; tür, olgunlaşma safhaları, yetiştirilme, taşınma, saklama koşulları, ekstraksiyon metodu ve çalışılan yöntemler sayılabilir.

3.3. Pestisit Kalıntı Analizi Bulguları

3.3.1. Pestisit kalıntıları taraması

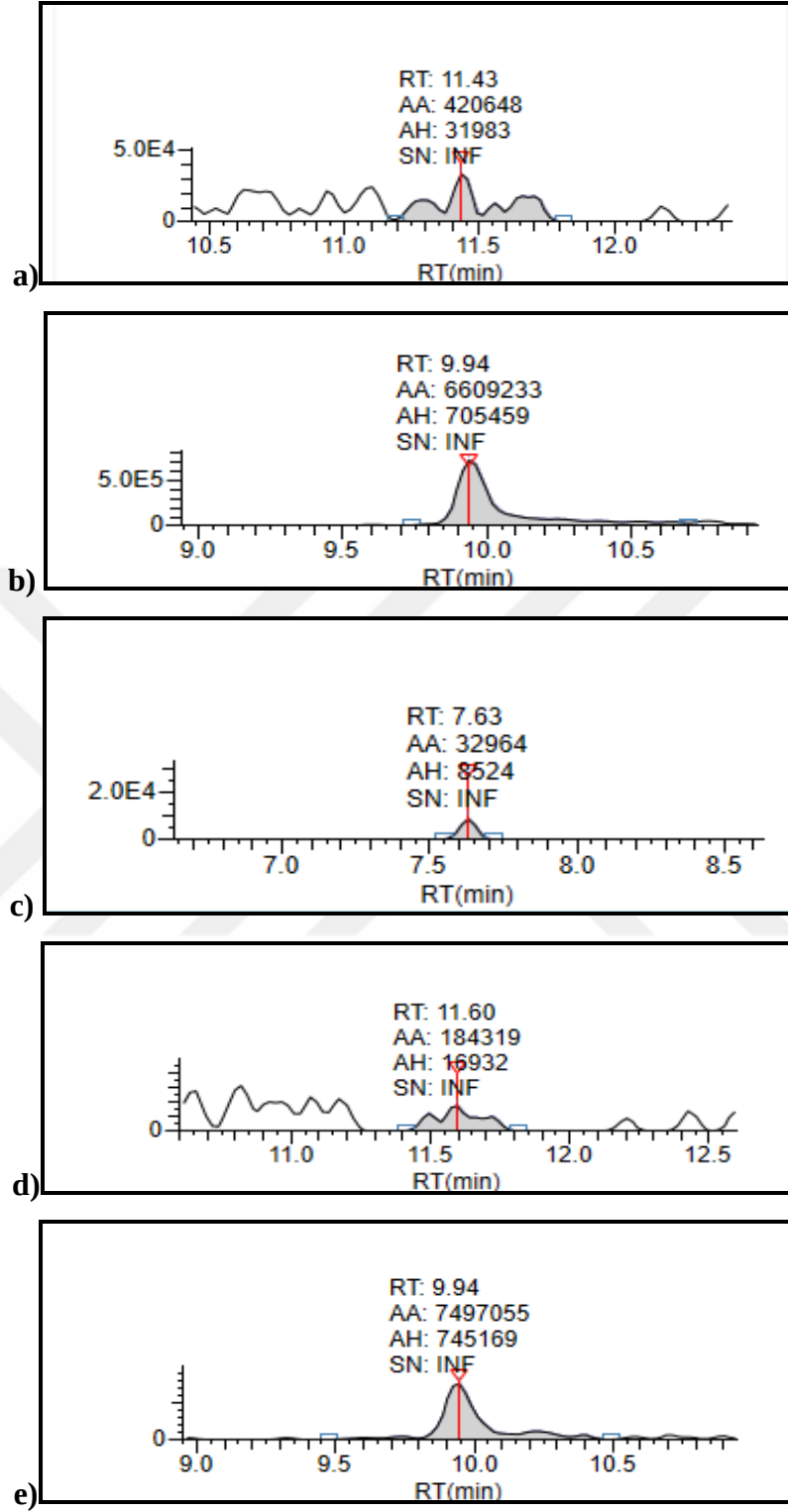
Tablo 3.3'te hurma ekstraktlarında saptanan maddeler ve kalıntı pestisit konsantrasyonları yer almaktadır. İran hurmasında herhangi bir pestisit madde kalıntısı saptanmamıştır. Bağdat hurmasında Malathion oxon (0.222 ± 0.111 µg/kg), kudüs hurmasında Cyprodinil (0.189 ± 0.094 µg/kg) ve Fenpropimorph (0.423 ± 0.212 µg/kg), medine hurmasında Cyprodinil (0.165 ± 0.082 µg/kg), Dioxacarb (36.384 ± 18.192 µg/kg), Fenpropimorph (0.213 ± 0.106 µg/kg), Malathion oxon (0.249 ± 0.124 µg/kg) ve Terbufos (7.224 ± 3.612 µg/kg), tunus hurmasında Cyprodinil (0.249 ± 0.124 µg/kg) ve Fenpropimorph (0.189 ± 0.094) kalıntıları saptanmıştır. Medine hurmasında Dioxacarb kalıntısı tolerans limitinin üzerinde bulunmuş olup diğer pestisitler tolerans değerlerinin altındadır. Pestisit kalıntılarına ait kromatogramlar Şekil 3.5'de verilmektedir.

Tablo 3.3. Hurma numunelerinde belirlenen pestisit kalıntı konsantrasyonları ve Türk Gıda Kodeksi (TGK)’ne göre değerlendirilmesi

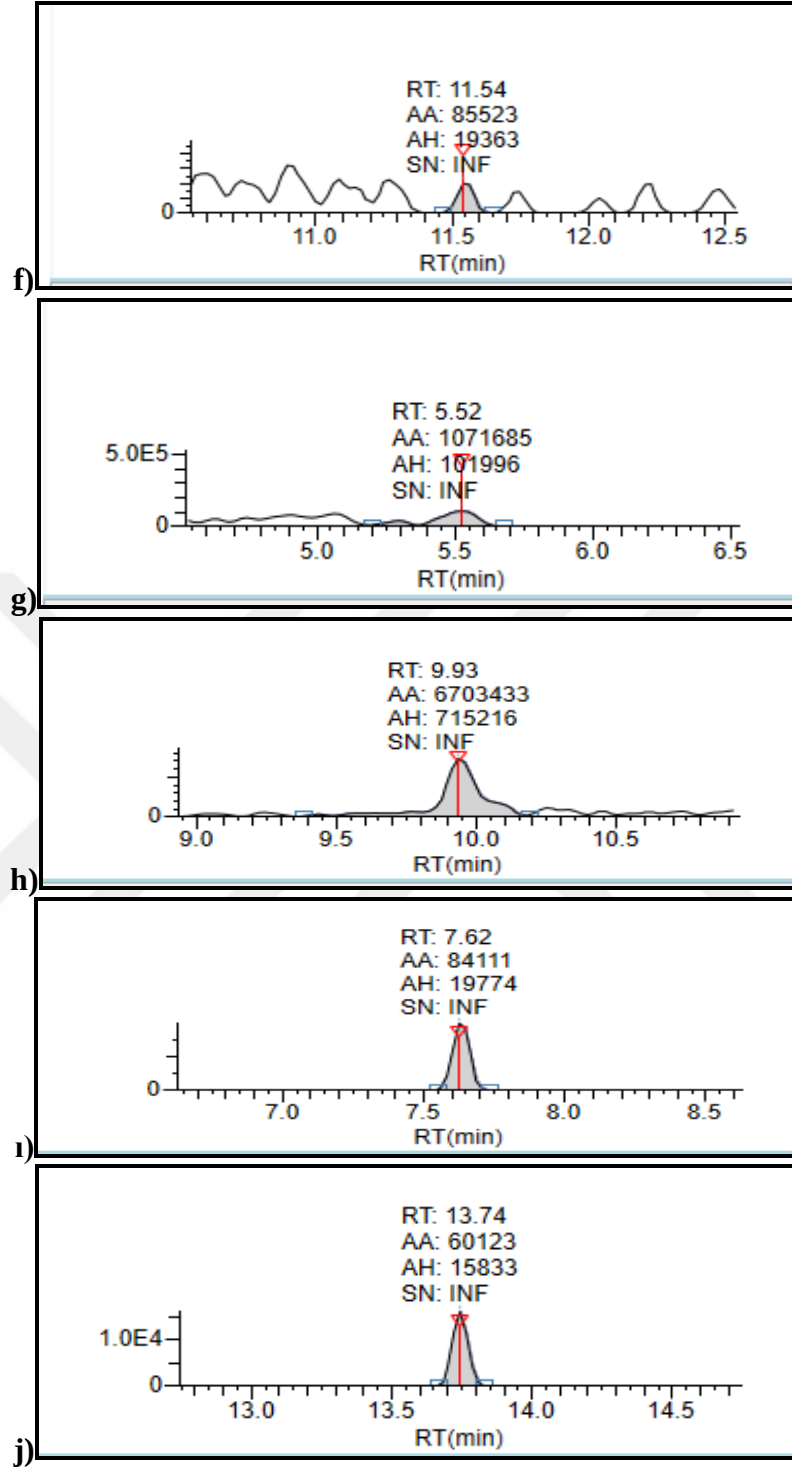
Örnek	Bulunan etken madde	Kalıntı Miktarı (µg/kg)	Analiz Metodu / Cihazı	TGK Tolerans Değeri (µg/kg)
İran Hurması	---	TE	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	---
Bağdat Hurması	Malathion oxon	0.222±0.111	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	20*
Kudüs Hurması	Cyprodinil	0.189±0.094	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	20*
	Fenpropimorph	0.423±0.212	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	50*
	Cyprodinil	0.165±0.082	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	20*
	Dioxacarb	36.384±18.192	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	10*
Medine Hurması	Fenpropimorph	0.213±0.106	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	50*
	Malathion oxon	0.249±0.124	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	20*
	Terbufos	7.224±3.612	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	10*
Tunus Hurması	Cyprodinil	0.249±0.124	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	20*
	Fenpropimorph	0.189±0.094	AOAC 2007.01 Ouechers /Orbitrap LC/MS/MS	50*

TE: Tespit edilemedi. *'lı değerler LOD (maksimum izin verilen tespit limiti) TGK yönetmeliği Ek 5'te MRL olmayan pestisitler için LOD belirtilmiştir.

AOAC 2007.01 quechers metodu ile pestisit kalıntı taraması yapılan malathion oxon, cyprodinil, fenpropimorph, dioxacarb ve terbufos etken maddelerinin kromatogramları Şekil 3.5’de gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Pestisit kalıntılarına ait kromatogramlar. a) Tunus cyprodinil b) Tunus Fenpropimorph, c) Bağdat malathion oxon, d) Kudüs cyprodinil, e) Kudüs Fenpropimorph



Şekil 3.5. (Devam) f) Medine cyprodinil, g) Medine Dioxacarb, h) Medine Fenpropimorph, ı) Medine malathion oxon, j) Medine terbufos

Tablo 3.3'te analizi yapılan beş çeşit hurmaya ait pestisit kalıntısı sonuçları verilmiştir. Hurmalarda tespit edilen kalıntı miktarları pik alanlarından yararlanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Avrupa Komisyonu Gıda Güvenliği Maksimum Kalıntı

Limitleri listesi ve Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği dikkate alınarak değerlendirilmiştir. TKG yönetmelik eklerinde hurma örneğinde bulunabilecek pestisitlerin maksimum kalıntı miktarları (MRL) ppm (mg/kg) olarak verilmiştir. Buna karşın bu çalışma sonuçlarının daha iyi yorumlanabilmesi için bu değerler Tablo 3.3'te ppb ($\mu\text{g/kg}$) cinsinden kullanılmıştır.

Bu çalışmada hurmalar Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği limitleri altında kalıntı ihtiva ettiklerinden dolayı olumlu olarak kabul edilmiştir. Sadece olumsuz olarak medine hurmasında yasaklı pestisitlerden olan dioxcarb etken maddesi $36.384 \pm 18.192 \mu\text{g/kg}$ kalıntı miktarıyla, izin verilen MRL değerinin ($10 \mu\text{g/kg}$) üstünde olduğu tespit edilmiştir. SANTE rehberine göre laboratuvarın kendine ait hesaplanmış genişletilmiş ölçüm belirsizliği değerinin %50'nin altında olduğunu kanıtlamasıyla sonuçlarını %50 ölçüm belirsizliğiyle raporlayabilir. Buna göre yapılan pestisit tarama çalışmasında sonuçlar %50 belirsizlikle verilmiştir.

3.3.2. Pestisit geri kazanımı

Hurmalarda, chlorpyrifos ethyl, dimethoate, fenazaquin, fenpyroximate, fipronil, hexythiazox, imidacloprid, malathion, pyriproxyfen ve spinosad (spinosyn A + spinosyn D) pestisitlerinin geri kazanım tayini AOAC 2007.01 ve EN 15662 Quechers metodu ile yapılmıştır.

AOAC 2007.01 Quechers metoduna göre chlorpyrifos methylin geri kazanımı medine hurmasında 57.069, tunus hurmasında 56.430, bağdat hurmasında 55.576, iran hurmasında 50.176 ve kudüs hurmasında 45.046 olarak bulunmuştur. Dimethoate geri kazanımı 56.689, Fenpyroximate geri kazanımı 56.008, Pyriproxyfen geri kazanımı 58.896 ve Spinosad (A+D) toplamı geri kazanımı 53.453 ile medine hurmasında, Fenazaquin geri kazanımı 57,618 ile bağdat hurmasında, Fipronil geri kazanımı 46,384, Hexythiazox geri kazanımı 57,328 ve Malathion geri kazanımı 58,503 ile tunus hurmasında ve İmidacloprid geri kazanımı ise 58,512 olarak iran hurmasında saptanmıştır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. AOAC 2007.01 Quechers metodu ile seçilen pestisitlerin geri kazanım değerleri

Pestisit	Spike Konsantrasyonu (µg/kg)	Analiz Metodu/Cihazı	İ.H	K.H	Geri Alma M.H	B.H	T.H
Chlorpyrifos methyl	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	50.176	45.046	57.069	55.576	56.430
Dimethoate	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	54.905	53.057	56.689	53.943	55.714
Fenazaquin	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	53.984	50.071	54.752	57.618	54.718
Fenpyroximate	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	54.538	50.827	56.008	54.709	55.278
Fipronil	40	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	40.442	40.184	43.399	42.965	46.384
Hexythiazox	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	56.181	51.136	56.342	56.060	57.328
İmidacloprid	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	58.512	53.976	58.098	56.924	54.569
Malathion	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	54.552	55.670	58.226	58.195	58.503
Pyriproxyfen	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	52.119	53.772	58.896	56.412	55.054
Spinosad (A+D) toplamı	50	AOAC 2007.01.Quechers/ Orbitrap LC/MS/MS	48.362	49.064	53.453	52.238	52.663

*Hurmalar 3 tekrarlı çalışılarak ortalamaları alınmıştır. (n=3) İ.H: İran hurması, K.H: Kudüs hurması, M.H: Medine hurması, B.H: Bağdat hurması, T.H: Tunus hurması

Hurmalarda, chlorpyrifos ethyl, dimethoate, fenazaquin, fenpyroximate, fipronil, hexythiazox, imidacloprid, malathion, pyriproxyfen ve spinosad (spinosyn A + spinosyn D) pestisitlerinin tayininin EN 15662 Quechers metodu ile geri kazanım sonuçları Tablo 3.5'te verilmiştir.

Chlorpyrifos methyl kazanımı en fazla tunus hurmasında (55,507), Dimethoate (60,256), Fipronil (47,032), Malathion (55,941) medine hurmasında, Fenazaquin (55,488), Fenpyroximate (55,958), Hexythiazox (57,829), Pyriproxyfen (57,164) ve Spinosad (A+D) toplamı (53,904) en fazla tunus hurmasında, İmidacloprid (57,079) iran hurmasında saptanmıştır.

Tablo 3.5. EN 15662 Quechers metodu ile seçili pestisitlerin geri kazanım değerleri

Pestisit	Spike Konsantrasyonu (µg/kg)	Analiz Metodu/Cihazı	Geri Alma				
			İ.H	K.H	M.H	B.H	T.H
Chlorpyrifos methyl	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	40,361	49,326	53,716	44,042	55,507
Dimethoate	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	54,518	54,512	60,256	55,458	54,776
Fenazaquin	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	39,694	52,046	52,488	45,726	55,488
Fenpyroximate	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	43,947	46,757	53,409	45,652	55,958
Fipronil	40	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	31,954	38,296	47,032	36,845	43,550
Hexythiazox	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	44,229	50,845	56,994	51,480	57,829
İmidacloprid	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	57,079	53,117	56,468	55,794	55,687
Malathion	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	44,468	50,050	55,941	48,511	53,612
Pyriproxyfen	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	40,032	48,364	55,399	45,126	57,164
Spinosad (A+D) toplamı	50	EN 15662 Quechers/Orbitrap LC/MS/MS	39,238	46,398	52,305	42,668	53,904

* Hurmalar 3 tekrarlı çalışılarak ortalamaları alınmıştır. (n=3) İ.H: İran hurması, K.H: Kudüs hurması, M.H: Medine hurması, B.H: Bağdat hurması, T.H: Tunus hurması.

3.4. Tayin Sınırı ve Geri Kazanım Çalışmaları İle İlgili Tartışmalar

Bu çalışmada mobil faz etkisinin incelenmesinde EN 15662 Quechers yöntemi tercih edilmiştir. Ekstraksiyon aşamasında sitrat (EN 15662 tuzları) tampon tuzları, temizleme aşamasında ise MgSO₄ ve PSA tuzları kullanılmıştır. Vialler Orbitrap LC/MS/MS cihazında sırasıyla metanol-su ve asetonitril-su ile hazırlanan mobil fazlarla okutulmuştur. Geri kazanım değerleri her iki mobil faz türünde de SANTE/11813/2017 Gıda ve Yemde Pestisit dökümanına göre beklenen %70-120 geri alma kriterlerini sağlamıştır. Ancak mobil faz olarak asetonitril-su kullanıldığında chlorpyrifos methyl pestisit etkeni kromatogramda taranmamıştır. Buradan metanol-su kullanılarak hazırlanan mobil fazlarla daha iyi tarama elde edildiği görülmüştür.

Pestisit standardı ile kirletilen hurmaların geri kazanımlarına farklı ekstraksiyon tuzlarının etkilerini incelemek için beş hurma da AOAC 2007.01 Quechers ve EN 15662 Quechers yöntemleri ile çalışılmıştır. Temizleme (clean up) aşamasında aynı

şekilde MgSO₄ ve PSA tuzları kullanılmış ve Vialler Orbitrap LC/MS/MS cihazında mobil faz olarak MeOH-H₂O kullanılarak okutulmuştur. Geri kazanım değerleri her iki mobil faz türünde de SANTE/11813/2017 Gıda ve Yemde Pestisit dökümanına göre beklenen %70-120 geri alma ve ≤20% RSD kriterini sağlamıştır. Ancak asetat tamponlu yöntemde (AOAC 2007.01 Quechers) daha iyi taramanın elde edilmesi ve daha az kimyasal tuz kullanılması sebebiyle sitrat tamponlu yöntemine göre (EN 15662 Quechers) avantajlar sağlamıştır. Ersoy ve diğ. (2011), erik numunelerinde yaptıkları pestisit kalıntı analizlerinde, numunelerin birinde 8 µg / kg Benomyl carbendazim, 19 µg / kg Phosalone, farklı bir örnekte 26 µg / kg Phosalone ve başka birinde de 10 µg / kg Phosalone kalıntılarına rastlamışlardır. Bu örneklerde saptanan kalıntıların Türk Gıda Kodeksi tolerans sınırlarının altında olduğu görülmüştür. Uçan ve diğ. (2009) çalışmasında ise meyvelerde 24 çeşit organik klorlu pestisit kalıntı analizi yapılmış ve Avrupa Birliği Mevzuatı'na göre MRL limitlerinin altında bulgular saptanmıştır. Chauzat ve diğ. 2006 yılındaki çalışmalarında, bal numunelerini 36 pestisit kalıntısı için 3 sene süresince incelemişlerdir. Numunelerin %69 kadarında imidacloprid ve 6 kloronikotinic asit saptamışlar ve 11 numunede de 1.1 µg/kg ve 5.7 µg/kg aralığında değişen miktarlarda 6 kloronikotinic asit belirlemişlerdir. Mullin ve diğ. (2010) ise, Amerika'da arıcılıkla uğraşan yerlerden topladıkları balmumu örneklerinde pestisit kalıntılarını analiz etmişlerdir. Çalışmaların sonucunda 176 adet bal mumu numunesinin 49'unda 2,5-84 ppb aralığında değişen miktarlarda pendimethalin kalıntısı saptanmıştır. Bir diğer çalışmada ise; Saygılı (2017) Kırklareli bölgesindeki arıcılardan topladığı bal numunelerinde 57 numunenin 4'ünde pendimethalin düzeyinin MRL seviyesi 50 ppb üzerinde olduğunu, 11 numunede ise propargit kalıntısının sınır değerinin üzerinde olduğunu tespit etmiştir. Al-Samarraie ve diğ. 1988 yılındaki araştırmalarında hurma örneklerinde fenitrothion, klorpirifos ve primifos-metil kalıntılarını sırasıyla 3.9, 1.9 ve 1.5 mg / kg olarak bildirirken, Khan ve diğ. (2001) hurma numunelerinde dimethoat kalıntısı (0.44 mg / kg) saptamışlardır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hurma meyvesi (*Phoenix dactylifera* L.) %50'den fazla şeker içeriğine sahip tatlı bir meyvedir. Hurmanın (*Phoenix dactylifera* L.) kökeninin Kuzey Afrika veya Orta Doğu'dan geldiği düşünülmektedir.

Antioksidanlar düşük yoğunluklarda organik moleküllerin serbest radikal mekanizmalı oksidasyonuna engel olan bileşiklere verilen genel bir isimdir. Bitkilerin bazıları antioksidan olarak kullanılmakta ve ticareti yapılmaktadır. Bu açıdan, koruyucu etkileri olan antioksidanların çeşitli bitkilerde ölçülmesi oldukça önemlidir.

Bitkileri hastalıklardan, zararlı ve yabancı böcek ve otlardan korumak için kullanılan koruma tedbirleri farklı metotları içerse de, birçok ülkede olduğu gibi, ülkemizde de en çok kullanılan metot pestisitlerin bulunduğu kimyasal savaştır. Bilinçsiz ve kontrolsüz kimyasal mücadele, zararlı organizmalarda duyarlılığın azalmasına neden olarak, pestisitlerin etkisiz kılınmasına yol açar, çevre kirliliği meydana getirir, gıdalara zehirli kalıntılar bulaştırıp tarım ürünleri ihracatında problemler oluşturur.

Çalışmamızda medine, tunus, iran, bağdat ve kudüs hurmalarıyla çalışılmıştır. Bu hurmaların antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini yapılmış ve toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir. Hurmaların kalıntı pestisit analizleri için, Quechers metodu kullanılmıştır. Chlorpyrifos methyl, dimethoate, fenazaquin, fenpyroximate, fipronil, hexythiazox, imidacloprid, malathion, pyriproxyfen ve spinosad (spinosyn A+spinosyn D) pestisitlerinin geri kazanım tayinleri AOAC 2007.01 ve EN 15662 Quechers metodu ile yapılmıştır.

Çalışmamız sonucunda;

- En yüksek DPPH giderim aktivitesini medine hurması aseton ekstraktı $\%43,57 \pm 0,37$, en düşük aktiviteyi ise tunus hurması asetonitril ekstraktı $\%3,37 \pm 0,14$ şeklinde vermiştir.

- Toplam fenol içeriği en yüksek bağdat hurması aseton ekstraktında ($29,24 \pm 0,07$ mg GAE/100 g hurma) iken en düşük fenolik içerik iran hurması asetonitril ekstraktında ($7,13 \pm 0,10$ mg GAE/100 g hurma) elde edilmiştir.
- Bağdat hurmasında Malathion oxon (0.222 ± 0.111 µg/kg), kudüs hurmasında Cyprodinil (0.189 ± 0.094 µg/kg) ve Fenpropimorph (0.423 ± 0.212 µg/kg), medine hurmasında Cyprodinil (0.165 ± 0.082 µg/kg), Dioxacarb (36.384 ± 18.192 µg/kg), Fenpropimorph (0.213 ± 0.106 µg/kg), Malathion oxon (0.249 ± 0.124 µg/kg) ve Terbufos (7.224 ± 3.612 µg/kg), tunus hurmasında Cyprodinil (0.249 ± 0.124 µg/kg) ve Fenpropimorph (0.189 ± 0.094) kalıntıları saptanmıştır. Medine hurmasındaki Dioxacarb kalıntısının tolerans limitinin üzerinde olduğu saptanmıştır. Ülkemizde dioxacarb kullanımı yasaklanmıştır. Bu yüzden hurma yetiştiricileri bu pestisitleri kullanmamaya dikkat etmelidirler. Bu konuda hurma yetiştirici birliklerinin üyelerini çeşitli faaliyet ve eğitimlerle bilgilendirmesi gerekmektedir.
- AOAC 2007.01 Quechers metoduna göre chlorpyrifos methylin geri kazanımı en yüksek medine hurmasında 57.069 olarak bulunmuştur. Dimethoate geri kazanımı 56.689, Fenpyroximate geri kazanımı 56.008, Pyriproxyfen geri kazanımı 58.896 ve Spinosad (A+D) toplamı geri kazanımı 53.453 ile en yüksek medine hurmasında, Fenazaquin geri kazanımı 57,618 ile bağdat hurmasında, Fipronil geri kazanımı 46,384, Hexythiazox geri kazanımı 57,328 ve Malathion geri kazanımı 58,503 ile tunus hurmasında ve İmidacloprid geri kazanımı ise 58,512 ile en fazla iran hurmasında saptanmıştır.

Çalışmamızdaki hurmalarda antioksidan kapasite tayini literatürle uyumludur. Toplam fenolik madde içerikleri literatürdeki bulguların bir kısmından düşük bulunmuştur. Bunun nedeni hurmaların türü, olgunlaşma safhaları, yetiştirilme, taşınma, saklama koşulları, ekstraksiyon metodu ve çalışılan yöntemler gibi etkenler olabilir. Çalışmamız, literatürde hurmalarda antioksidan aktivitesi ve pestisit kalıntı analizlerinin ikisini bir arada yapan nadir çalışmalardan biri olması yönüyle literatüre katkıda bulunacaktır. Bu analizlerin farklı bölgelerden alınan hurmalarla ve daha fazla sayıda numuneyle yapılması sonuçların doğruluğunu arttıracaktır.

Tüm bu sonuçlar ışığında; hurmaların uluslararası standartlara uyması ve böylece hurma ihracatında karşılaşılan şeker şurubu, pestisit kalıntısı gibi problemlerin

engellenmesi sağlanmalıdır. Ayrıca, insan sağlığının tehlikeye girmemesi için pestisitlerin kullanılmasına izin verilmemeli, kullanımını denetleyen mekanizmalar oluşturulmalı, pestisit kalıntılarının saptanması amacıyla yetiştiricilerin bulunduğu yerlerin yakınlarında yapılan tarımsal faaliyet ve ilaçlar hakkında bilgi sahibi olunmalı ve hurmaların güncel bilgiler ışığında yetiştirilmeleri gerekmektedir. Pestisit kalıntısı problemlerine daha köklü çözümler üretilebilmesi için başta yetiştiriciler ilaçlama hususunda bilgilendirilmelidir. İlaçlamanın gerekli olduğu zamanlarda çevre ve canlılara minimal seviyede hasar verecek ilaçların kullanılması ve yetiştiricilerin tarım takvimi, yönetmelik gibi resmi kurallardan haberdar olması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

Abbès F., Kchaou W., Blecker C., Ongena M., Lognay G., Attia H., Besbes S., Effect of Processing Conditions on Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Date Syrup, *Ind Crops Prod*, 2013, **44**, 634-642.

Al-Farsi M., Alasalvar C., Morris A., Baron M., Shahidi F., Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix Dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman, *J Agric Food Chem*, 2005, **53**(17), 7592-7599.

Al-Samarraie A.I., Al-Hafdh E., Abdul-Majed K., Basumy M.A., The Chemical Control of The Lesser Date Moth, *Batrachedra Amydruala* Meyr, and Residue Levels of Organophosphate Insecticides in Dates, *Pesticide Science*, 1988, **25**, 227-230.

Al-Shabib W., Marshall R.J., The Date Palm the Possible Use as The Best Food for The Future, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2003, **54**(4), 247-259.

Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., Mc-Donald S., Robards K., Methods for Testing Antioxidant Activity, *Analyst*, 2002, **127**(3), 183-198.

Arnao M.B., Cano A., Acosta M., Total Antioxidant Activity in Plant Material and its Interest in Food Technology, *Recent Res. Devel in Agricultural and Food Chemistry*, 1998, **8** (2), 893-905.

Attia S., Zougari S., Sahraoui H., Aloui R., Nsir S., Hached W., Nsir G., Lebdi K.G., Pesticide Residues Surveillance of Date Palm (*Phoenix Dactylifera*) in The South of Tunisia, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2019, **7**(2), 1085-1088.

Baytop T., *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*, Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Türk Dil Kurumu Yayınları, No: 578, 1997.

Benmeddour Z., Mehinagic E., Meurlay D. L., Louaileche H. Phenolic Composition and Antioxidant Capacities of Ten Algerian Date (*Phoenix Dactylifera* L.) Cultivars: A Comparative Study, *Journal of Functional Foods*, 2013, **5** (1), 346-354.

Benzie I.F.F., Strain J.J., Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure Of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, *Methods Enzymol*, 1999, **99**, 15-27.

Bielski B.H.J., Cabelli D.E., Superoxide and Hydroxyl Radical Chemistry in Aqueous Solution, *Active Oxygen in Chemistry*, 1996, **93** (1), 66-104.

Birişik N., *Teoriden Pratiğe Kimyasal Mücadele*, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 2018. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/62781/mod_resource/content/0/5-%2B.pdf (Ziyaret tarihi: 6 Haziran 2020).

Boskou D.G., Blekas M., Tsimidou: Phenolic Compounds in Olive and Olives, *Current Topics in Nutraceutical Research*, 2005, **3**(2), 125-136.

Boxin O.U., Dejian H., Maureen A.F., Elizabeth K.D., Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study, *J Agric Food Chem*, 2002, **50**(11), 223-228.

Brewer, M. S., Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2011, **10**(4), 221-247.

Cao G.H., Russell R.M., Lischner N., Prior R.L., Serum Antioxidant Capacity is Increased by Consumption of Strawberries, Spinach, Red Wine or Vitamin C in Elderly Women, *J Nutri*, 1998, **128**(12), 2383-2390.

Capras P., Conte E., Pesticide Residues in Grapes and Wine in Italy Food Additives and Contaminants, *OCT*, 2001, **18** (10), 880-885.

Ceballos-Picot I., Witko-Sarsat V., Merad-Boudia M., Nguyen A.T., Thévenin M., Jaudon M.C., Zingraff J., Verger C., Jingers P., Descamps-Latscha B., Glutathione Antioxidant System as A Marker of Oxidative Stress in Chronic Renal Failure, *Free Radic Biol Med*, 1996, **21**(6), 845-853.

Chae H.Z., Kang S.W., Rhee S.G., Isoforms of Mammalian Perox- Iredoxin That Reduce Peroxides in Presence of Thioredoxin, *Methods Enzymol*, 1999, **300**, 219-226.

Chauzat M.P., Faucon J.P., Martel A.C., Lachaize J., Cougoule N., Aubert M., A Survey on Pesticide Residues in Pollen Loads Collected By Honey-Bees (*Apis mellifera*) in France, *J. Econ. Entomol*, 2006, **99** (2), 253-262.

Coats J.R. *Insecticide Mode of Action*. Academic Press, 2012.

Cody V., Middleton E., Harborne J.B., *Plant Flavonoids in Biology and Medicine-Biochemical, Pharmacological, and Structure-activity Relationships*, Alan R Liss, New York, 1986.

Cornelli U., Antioxidant Use in Nutraceuticals, *Clin Dermatol*, 2009, **27**(2), 175-194.

Cowan M.M., Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clin. Microbiol Rev*, 1999, **12**(4), 564-582.

Çakar E., Gürel F., Süzme ve Petekli Balların Pestisit, Naftalin ve Antibiyotik Kalıntıları Bakımından Karşılaştırılması, *Mediterranean Agricultural Sciences*, 2019, **32**(3), 453-459.

Çetinkaya-Açar, Ö., *Pestisit Analizleri Eğitim Notu*, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Kalıntı/Pestisit Birimi, 2015.

Daglia M., Polyphenols as Antimicrobial Agents. *Curr. Opin. Biotechnol*, 2012, **23**(2), 174–181.

Date Palm Tissue Culture Laboratory, 2006, Date Palm Tissue Culture Laboratory, 4 June 2007. <http://datepalm.uaeu.ac.ae/subpages/Laboratory.html>

Delen N., Durmuşoğlu E., Güncan A., Güngör N., Turgut C., Burçak A., Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları, VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 3-7 Ocak 2005.

Dembinska-Kiec, A., Mykkanen, O., Kiec-Wilk, B., Mykkanene H., Antioxidant Phyto-chemicals Against Type 2 Diabetes, *British J. Nutri*, 2008, **99**(1), 109-117.

Dogheim S.M., Alla S.A.G., El-Marsafy, A.M., Monitoring of Pesticide Residues in Egyptian Fruits and Vegetables During 1996. *Journal of AOAC International*, MAR-APR 2001, **84**(2), 519-531.

Dowson V.H.W., Date Production and Protection With Special Reference to North Africa and The Near East, *FAO Technical Bulletin*, 1982, **35**, 294.

Duru A.U., Örnek H., Burçak A.A., İzmir İli’nde Satışa Sunulan Bazı Meyve ve Sebzelelerde Pestisit Kalıntılarının Araştırılması. I. Bitki Koruma Ürünleri ve Makinaları Kongresi, Bitki Koruma Ürünleri (Cilt I, Pestisitler)., Bildiriler Kitabı, Antalya, 59-69, 2013.

EPA, NSMW, Disposing Pesticides, <https://www.epa.nsw.gov.au/your-environment/pesticides/preventing-pesticide-misuse/safe-disposal-pesticides> (Ziyaret tarihi: 3 Haziran 2020).

Ersoy N., Tatlı Ö., Özcan S., Evcil E., Coşkun L.Ş., Erdoğan E., LC-MS/MS ve GC-MS’le Bazı Sebze Türlerinde Pestisit Kalıntılarının Tespiti, *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 2011, **25** (3), 79-85.

Fenoll J., Ruiz E., Hellín P., Lacasa A., Flores P., Dissipation Rates of Insecticides and Fungicides in Peppers Grown in Greenhouse and Under Cold Storage Conditions, *Food Chemistry*, 2009, **113**(2), 727-732.

Gardner P.T., White T.A.C., McPhail D.B., Duthie G.G., The Relative Contributions of Vitamin C, Carotenoids and Phenolics to The Antioxidant Potential of Fruit Juices, *Food Chem*, 2000, **68**(4), 471-474.

Gezer K., Duru M. E., Kıvrak, I., Türkoglu, A., Mercan, N., Turkoglu, H., Gülcan, S., Free-radical Scavenging Capacity and Antimicrobial Activity of Wild Edible Mushroom From Turkey, *African Journal of Biotechnology*, 2006, **5** (20), 1924-1928.

Gilman E., Watson D., Phoenix Canariensis: Canary Island Date Palm, *Bulletin ENH-598*, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, FL, 2006.

Gomes F.S., Costa P.A., Campos M.B.D., Tonon R.V., Couri S. Cabral L.M.C., Watermelon Juice Pretreatment With Microfiltration Process for Obtaining Lycopene, *International J of Food Sci and Technol*, 2013, **48**(3), 601-608.

Gökçay E., Kocamaz A., Akman İ., Küçükkalıpçı F., Çekirdeksiz Üzüm Çeşidinde Sofralık ve Kurutmalık Amaçlı “Giberellik Asit” Uygulamaları ve Kalıntılarının Araştırılması, *Zir. Müc. A.*, 174- 175, 1995.

Grossman S.R., Reznik T., Albeck M., New Plant Water Soluble Antioxidant (NAO) from Spinach, Editors: Asada K., Toshikawa T., *Frontiers of Reactive Oxygen Species in Biology and Medicine*, 1994, **43**, 57-73.

Halliwell B., Biochemistry of Oxidative Stress, *Biochemical Society Transactions*, 2007, **35**(5), 1147-1150.

Halliwell B., Clement M.V., Long L.H., Hydrogen Peroxide in The Human Body, *FEBS Lett*, 2000, **486**(1),10–3.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C., The Definition and Measurement of Antioxidants in Biological Systems, *Free Radical Biology and Medicinal*, 1995, **18**(1), 125-126.

Hamilton-Miller J.M., 1995. Antimicrobial properties of Tea (*Camellia sinensis* L.), *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, **39**(11), 2375.

Hanachi P., Sh G., Using HPLC to Determination the Composition and Antioxidant Activity of *Berberis vulgaris*, *European Journ Of Scientific Research*, 2009, **29**(1), 47-54.

Havsteen B., Flavonoids, a Class of Natural Products of High Pharmacological Potency, *Biochem Pharmacy*, 1983, **32**, 1141-1148.

Huang D., Ou B., Prior R.L., The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays, *J Agr Food Chem*, 2005, **53**(6), 1841–1856.

Ikawa M., Schaper T.D., Dollard C.A., Sasner J.J., Utilization of Folin-Ciocalteu Phenol Reagent for The Detection of Certain Nitrogen Compounds, *J Agric Food Chem*, 2003,**51**(7),1811-1815

IRAC, IRAC Mode of Action Classification Scheme, 2017.

İrtem F., Erzurum Piyasasında Satılan Başlıca Hurma (*Phoenix Dactylifera* L.) Çeşitlerinin Kimyasal, Fiziksel ve Mikrobiyolojik Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2013, 352143.

Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, **47**(10),3954-3962.

Kchaou W., Abbès F., Mansour R. B., Blecker C., Attia H., Besbes S., Phenolic Profile, Antibacterial and Cytotoxic Properties of Second Grade Date Extract From Tunisian Cultivars (Phoenix Dactylifera L.), *Food Chem*, 2016, **194** (1), 1048–1055.

Khairi M.M.A., Elhassan M.I., Bashab F.A., The Status of Date Palm Cultivation and Date Production in Sudan, *Acta Hortic*, 2010, **882** (2), 37-42.

Khan A. J., Azam K. M., Razvi S. A. Pesticide Residue Analysis of Date Palm Fruits By Gas Chromatography Mass Spectrophotometry. 2nd Inter. Conf. on Date Palms, Al-Ain, United Arab Emirates Univ., March 25-27, 2001, 211-215.

Kontos H.A., Wei E.P., Ellis E.F., Jenkins L.W., Povlishock J.T., Rowe G.T., Synthesis in Cats, *Circ Res*, 1985, **57**(1),142-151.

Kuppusamy P., Zweier J.L., Characterization of Free Radical Generation By Xanthine Oxidase. Evidence for Hydroxyl Radical Generation, *J Biol Chem*, 1989, **264** (17), 9880-9884.

Lehotay S.J., Aharonson N., Pfeil E. Ibrahim M., A., Development of a Sample Preparathion Technique for Supercritical Fluid Extraction for Multiresidue Analysis of Pesticides in Produce, *J. AOAC Int*, 1995, **78**(3),831-840.

Lehotay S.J., Maštovská K., Lightfield A.R., Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables, *Journal of AOAC International*, 2005, **88**(2), 615-629.

Lesueur C., Knittl P., Gartner M., Mentler A., Fuerhacker M., Analysis of 140 Pesticides from Conventional Farming Foodstuff Samples After Extraction with the Modified QuEChERS Method, *Food Control*, 2008, **19**(9), 906-914.

Leung A.K.K., Hafez I.M., Baoukina S., Belliveau N., Lipid Nanoparticles Containing siRNA Synthesized by Microfluidic Mixing Exhibit an Electron-Dense Nanostructured Core, *J. Phys. Chem*, 2012, **116**(34), 18440-18450.

Li Y., *Antioxidant in Biology and Medicine: Essentials, Ad- Vances, and Clinical Applications*, Nova Science Publishers USA, 2011.

Liu R.H., Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action, *J Nutr*, 2004, **134** (Suppl 12), 3479-3485.

Liyana-Pathirana C., Dexter J., Shahidi F., Antioxidant Properties of Wheat As Affected By Pearling, *J Agric Food Chem*, 2006, **54**(17), 6177-84.

London L., Meyers J.E., General Patterns of Agrichemical Usage in The Southern Region of South Africa, *South African Journal of Science*, 1995, **91**, 509–514.

Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P. Phenolic Profile and Antioxidant Activity of The Algerian Ripe Date Palm Fruit (Phoenix Dactylifera), *Food Chemistry*, 2005, **89**(3), 411-420

- Marnett L.J., Oxyradicals and DNA Damage, *Carcinogenesis*, 2000, **21**(3), 361–370.
- Mates J.M., Perez-Gomez C., Nunez de Castro I., Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clin Biochem*, 1999, **32**(8), 595–603.
- Mbah C.J., Orabueze I., Okorie N.H., Antioxidants Properties of Natural and Synthetic Chemical Compounds: Therapeutic Effects on Biological System, *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*, 2019, **3**(6), 28-42.
- McIntyre M., Bohr D.F., Dominiczak A.F., Endothelial Function in Hypertension, *Hypertension*, 1999, **34**(1), 539–45.
- Mfarrej M.F.B., Al-Darmaki K., Al-Dhanhani A., Afach E., Determination of Pesticide Residues on Date Palm in the UAE, *International Journal of Applied Engineering Research*, 2017, **12**(16), 6012-602.
- Michelson A.M., McCord J.M., Fridovich I., Superoxide and Superoxide Dismutases, Academic Press, London, 1977.
- Moharram H.A., Youssef M.M., Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review, *Alex J Fd Sci Technol*, 2014, **11**(1), 31-42.
- Moure A., Cruz J.M., Franco J.D., Domínguez, M.J., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., Parajó, J. C., Natural Antioxidants From Residual Sources, *Food Chem*, 2000, **172** (2), 145-71.
- Mukherji S.M., Singh S.P., *Reaction Mechanism in Organic Chemistry*, Macmillan India Press, Madras, 1986.
- Mullin C.A., Frazier M., Frazier J.L., Ashcraft S., Simonds R., van Engelsdorp, D., Pettis, J.S., High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications For Honey Bee Health, *PLoS ONE*, 2010, **5** (3), e9754.
- National Academy of Science. Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotene and Other Carotenoids: Overview, Antioxidant Definition, and Relationship to Chronic Disease. In Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids Washington, DC, 35-57, 2000.
- Nem Rajesh, K., Yadav S., Sulekha M., Antioxidant- A Review, *J, Chemical and Pharmaceutical Research*, 2009, **1**(1), 102-104.
- Nixon R.W., The Date Palm: “Tree of Life” in The Subtropical Deserts, *Econ. Bot*, 1951, **5**(3), 274–301.
- Nordberg J., Arner E.J., Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and The Mammalian Thioredoxin System, *Free Radical Biol Med*, 2001, **31**(11), 1287-1312.

Orhan I.E., Akkol E.K., Estimation of Neuroprotective Effects of *Laurocerasus Officinalis* Roem. (Cherry Laurel) By In Vitro Methods, *Food Res Int*, 2011, **44**(3), 818-822.

Percival M., Antioxidants-A Review. Clinical Nutrition Insights, *Advance Nutrition Publications*, 1998, **31**, 201-205.

Pham-Huy L.A., Hua H.E., Pham-Huy C., Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *Int J Biomed Sci*, 2008, **4**(2), 89–96.

Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L., Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases, *Ind J Clin Biochemi*, 2015, **30**(1), 11-26.

Piccaglia R., Marotti M., Chavari G., Gandini N., Effect of Harvesting Date And Climate on Flavanoid and Carotenoid Contents of Marigold (*Calendula officinalis*L.), *Flavour and Fragrance Journal*, 1997, **12**(2), 85-90.

Pisochi A.M., Negulescu G.P., Methods for Total Antioxidants Activity Determination: A. Review, *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 2011, **1**(1), 1-10.

Popenoe P. B., The Date Palm. Editors: Field H., *Field Research Projects*, Coconut, Miami, FL, 1973.

Saafi E. B., El Arem A., Issaoui M., Hammami M., Achour L. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Four Date Palm (*Phoenix Dactylifera*.) Fruit Varieties Grown in Tunisia, *International Journal of Food Science & Technology*, 2009, **44** (11), 2314-2319.

Sanchez M. C., Review: Methods Used to Evaluate The Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems, *Food Science Technology Internal*, 2002, **8**(3),121-137.

Saygılı, M. Kırklareli İlinde Arıcılık Faaliyeti Yapan Üreticilerden Toplanan Peteklerde Antibiyotik ve Pestisit Kalıntısı Aranması, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2017, 457205.

Schauss A.G., Polyphenols and Inflammation, Editors: Watson R.R., Preedy V.R., *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Disease*, Academic Press, San Diego, 2013.

Shahidi F., Janitha P.K., Wanasundara P.D., Phenolic Antioxidants, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1992, **32**(7), 67-103.

Sharma O.P., Bhat T.K., DPPH Antioxidant Assay Revisited, *Food Chemistry*, 2009, **113**(4),1202-1205.

Sheridan R.S., Meola J.R., Analysis of Pesticide Residues in Fruit, Vegetables, and Milk by Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, *Journal of AOAC Int*, 1999, **82**(4),982-990.

Shinwari M.A., *Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*, Academic Pres, London,1300-1305, 1992.

Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventös, R.M., Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants By Means of Folin-Ciocalteu Reagent, *Methods of Enzymology*, 1999, **299**(1974), 152-178.

Stadtman E.R., Levine R.L., Protein Oxidation, *Ann N Y Acad Sci*, 2000, **899**, 191-208.

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntısı Analizlerinin Analitik Kalite Kontrol ve Validasyon Prosedürleri için Rehber Dokümanı, <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Duyuru/123/Gida-Ve-Yemlerde-Pestisit-Kalintisi-Analizlerinin-Analitik-Kalite-Kontrol-Ve-Validasyon-Prosedurleri-Icin-Rehber-Dokumani-Yayimlanmistir> (Ziyaret tarihi: 3 Haziran 2020).

Tatlı, Ö., Ege Bölgesine Özgü Bazı Yaş Meyve, Sebze ve Kurutulmuş Gıda Ürünlerinde Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Tespiti, Yüksek Lisans Tezi, ÇÜ., Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2006, 183551.

Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L., Byrne D.H., Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity From Guava Fruit Extracts, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, **19**(6-7), 669-675.

Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Zevallos I.C., Biyne D.H., Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity From Guava Fruit Extract, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, **19**(6-7), 669-675.

Tiryaki O., Türkiye’de Yapılan Pestisit Kalıntı Analiz ve Çalışmaları, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2016, **32**(1),72-82.

Tiryaki O., Aysal P., ve Özyardımcı B., TLC Analysis of Some Pesticide Residues Using Enzyme Inhibition Techniques, *The Journal of Turkish Phytopathology*, 2003, **32**(3), 123-133.

Tomosaka H., Chin W.Y., Salim A.A., Keller J.W., Chai H., Kinghorn D.A., Antioxidant and Cytoprotective Compounds From *Berberis Vulgaris* (Barberry), *Phytotherapy Research*, 2008, **22**(7), 979-981.

Türköz G., Hışıl Y., Pestisit Kalıntılarının Analizlerinde Son Gelişmeler, *Dünya Gıda*, 2008, **5**, 76-79.

Uçan H.N., Dursun S., Gür K., Aktümsek A. Organochlorine Pesticide Residue Analyses in Some Fruit Samples Collected from Konya City Supermarkets, *Asian Journal of Chemistry*, 2009, **21**(6), 4843-4855.

Uhl N.W., Dransfield J., *Genera Palmarum: A Classification of Palms Based on the Work of Harold, E. Moore, Jr, L.H. Bailey Hortorium and the International Palm Society*, Lawrence, KS, 214-217, 1987.

Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Cronin M.T., Mazura M., Telser J., Review Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease, *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, **39**(1), 44-84.

Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M.L., Troncoso A.M., Garcia- Parrilla M.C., Radical Scavenging Ability of Polyphenolic Compounds Towards DPPH Free Radical, *Talanta*, 2007, **71**(1), 230-235.

Vinson J.A., Zubik L., Bose P., Samman N., Proch J., Dried Fruits: Excellent In Vitro and in Vivo Antioxidants, *J. Am. Coll. Nutr*, 2005, **24**(1),44-50.

Vivek K.G., Surendra K.S., Plants as Natural Antioxidants, *Natural Production Radia*, 2006, **5**(4), 326-334.

Wrigley G., Date Palm, Editors: Smartt J., Simmonds N.W., *Evolution of Crop Plants*. 2nd ed. Longman Group, Essex, UK, 399-403,1995.

Yiğit V., *Türkiye’de Meyve ve Sebzelerde Bulunan Pestisit Kalıntıları Üzerine Araştırmalar*, TÜBİTAK Marmara Bil. Araş. Ens., Yayın No: 21, 1977.

Yla-Herttuala S., Oxidized LDL and Atherogenesis, *Ann N Y Acad Sci*, 1999, **874**, 134-137.

Zaid A., de Wet P.F., Botanical and Systematic Description of The Date Palm, Editors: Zaid A., Arias-Jiménez, E. J., *Date Palm Cultivation*, FAO Plant Production and Protection Paper 156, Rev 1, Rome, Italy, 2002.

Zohary D., Hopf M., *Domestication of Plants in The Old World: The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe, and The Nile Valley*, Oxford University Press, Oxon, UK, 2000.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Şaki N., **Yılmaz G.**, Bazı Hurma Çeşitlerinin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi ve Pestisit Kalıntılarının Araştırılması, *31.Ulusal Kimya Kongresi*, İstanbul, Türkiye, 10-13 Eylül 2019.



ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini Kocaeli’de tamamladı. 2008 yılında girdiği Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2012 yılında mezun oldu. 2014-2015 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Eğitim Fakültesi’nde pedagojik formasyon öğrenimini gördü. 2017 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalı’nda yüksek lisans öğrenimine başlamış olup halen devam etmektedir. 2017 yılından beri Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Kalıntı Laboratuvar Birimi’nde görev yapmaktadır.

