

**TIBBİ BİTKİLERDE PESTİSİT KALINTILARI VE BAZI
PROSESLERİN KALINTI DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**PESTICIDE RESIDUES IN MEDICINAL PLANTS AND
EFFECT OF SOME PROCESSES ON RESIDUE LEVELS**

131000

**AYŞE ÖZBEY
A0019664**

Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

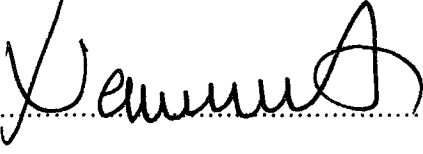
2003

131000

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

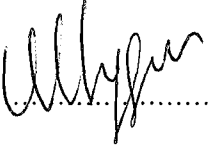
Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

: 

Prof. Dr. Nevzat ARTIK

Üye (Danışman)

: 

Yrd. Doç. Dr. Ümran UYGUN

Üye

: 

Doç. Dr. Vural GÖKMEN

ONAY

Bu tez /..... /..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

..... /..... /20.....



Prof. Dr. Seyfi KULAKSIZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

**TEZ YÜKSEK LİSANS ANABİLİM DALI
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

TIBBİ BİTKİLERDE PESTİSİT KALINTILARI VE BAZI PROSESLERİN KALINTI DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Ayşe Özbey

ÖZ

Bu çalışmada pestisit içermeyen ısırgan otu, kekik ve nane organofosforlu insektisidlerden fenitrothion, malathion, dimethoat, pirimifos-etil ve chlorpyrifos ile ilaçlanmıştır. Çalışmanın amacı, demleme işleminin pestisit kalıntıları üzerine etkisi ve insektisidlerin infüzyona geçişi ve ayrıca kurutma ve uçucu yağ ekstraksiyonunun kalıntıları nasıl etkilediğine bir yaklaşımda bulunmaktadır.

Demleme sırasında pestisitlerin suya geçişini araştırmak için zenginleştirilmiş bitkiler 5,10,15,20 dk'lık sürelerde kaynar suda bekletilmiştir. Bitki çaylarındaki pestisit kalıntıları, demleme süresinin artmasıyla azalmıştır ve azalma oranları çözünürlük, oktanol-su dağılım katsayısı ve Henry sabiti gibi bazı fiziko-kimyasal özellikleri ile yakından ilişkili bulunmuştur.

Kurutma işleminin etkisini araştırmak için pestisitlerle işlem görmüş taze nane yaprakları oda sıcaklığında ($17\pm 2^{\circ}\text{C}$) doğal koşullarda 10 gün süreyle kurutulmuştur. Kalıntı kaybı %89.13 ve %92.73 arasında bulunmuştur. Malathion, fenitrothion, chlorpyrifos, dimethoat ve pirimifos-etilin yarılanma ömürleri 2.5-3.5 gün arasındadır ve birinci derece kinetik ile bozulma göstermişlerdir.

Buhar distilasyonu ile üretilen kekik uçucu yağında organofosforlu insektisidlerin oranında önemli bir azalma gözlenmiştir.

Insektisid kalıntıları, alev iyonlaşma dedektörü ve gaz kromatografinin kullanıldığı bir çoklu kalıntı yöntemi ile analiz edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Organofosforlu pestisitler, tıbbi bitkiler, demleme, kurutma, uçucu yağ ekstraksiyonu

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Ümran UYGUN, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Müh. Bölümü

PESTICIDE RESIDUES IN MEDICINAL PLANTS AND EFFECT OF SOME PROCESSES ON RESIDUE LEVELS

Ayşe Özbey

ABSTRACT

In this study, nettle, thyme, and peppermint which contain no pesticides have been treated with fenitrothion, malathion, chlorpyrifos, dimethoate, pirimiphos-ethyl which are organophosphorus insecticides. The purpose of the work is to approach the effect of processing on pesticide residues and transfer of these insecticides into infusion, dried peppermint, and essential oil of thyme.

To investigate the pesticide translocation during infusion, fortified plants were immersed in boiling water 5,10,15,20 minutes. The residual pesticides in herb teas were decreased by extended brewing times. The rates of decrease were closely related to the water solubility, octanol-water partition coefficient and Henry's Law constant.

In order to investigate the effect of drying process, fresh peppermint leaves treated with pesticides were dried under natural conditions at ambient temperature ($17\pm2^{\circ}\text{C}$) for ten days. The residue decreases were found between 89,13% and 92,73%. Malathion, fenitrothion, chlorpyrifos, dimethoate and pirimiphos-ethyl showed decay rates with first order kinetics, and half lives ranging from 2,5 to 3,5 days.

A sharp decrease in the amount of organophosphorus insecticides was observed in thyme essential oil produced by steam distillation.

Residues of the insecticides were analyzed by a multiresidue method using gas chromatography with flame ionization detector.

Keywords: Organophosphorus pesticides, medicinal plants, infusion, drying, essential oil extraction.

Advisor: Assistant Prof. Dr. Ümran UYGUN, Hacettepe University, Dept. of Food Engineering

TC YEMİRLERİN KİMYASI
DOĞRUKAŞIYON MERKEZİ

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın belirlenmesi, planlanması ve yürütülmesinde büyük yardım ve desteğini gördüğüm tez danışmanım sayın hocam Yrd. Doç Dr. Ümran UYGUN' a,
Tüm Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü elemanları' na,
Çalışmada kullanılan kekik örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı Doğtab Doğacı & Gültabsan Ltd.Şti.'nden Mustafa Akpınar'a,
Her zaman yanımda olan sevgili dostlarım Arş.Gör. Bengi Akbulut ile Arş.Gör. Serpil Öztürk'e,
Ve hayatım boyunca bana destek olan sevgili aileme, içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe Özbey



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
EKLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Pestisitler.....	4
2.2. Organofosforlu Pestisitler.....	5
2.2.1. Malathion.....	6
2.2.2. Fenitrothion.....	7
2.2.3. Chlorpyrifos.....	7
2.2.4. Dimethoat.....	8
2.2.5. Pirimifos-etil.....	8
2.3. Gıda İşleme Yöntemlerinin Pestisit Kalıntılarına Etkisi.....	10
2.3.1. Yıkama.....	10
2.3.2. Kurutma.....	11
2.3.3. Demleme.....	13
2.3.4. Uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu.....	14
2.4. Tıbbi Bitkiler.....	16
2.4.1. Isırgan otu.....	16
2.4.2. Nane.....	17
2.4.3. Kekik.....	18
2.5. Tıbbi Bitkilerdeki Pestisit Kalıntıları.....	19
2.6. Çoklu Kalıntı Pestisit Analizleri.....	22
2.6.1. Örnek hazırlama.....	23
2.6.2. Gaz kromatografi ile belirleme.....	27
2.7. Pestisit Kinetiği.....	27
3. MATERYAL VE METOT.....	31
3.1. Materyal.....	31
3.2. Kimyasallar.....	31
3.3. Kullanılan Alet-Ekipman.....	31
3.3.1. Jel permeasyon kromatografi.....	31
3.3.2. Gaz kromatografi.....	32
3.4. Metot.....	32
3.4.1. Örnek hazırlama.....	32
3.4.2. Sıvı örneklerde ekstraksiyon.....	34
3.4.3. Katı örnek ekstraksiyonu.....	34
3.4.4. Jel permeasyon kolonunun kalibrasyonu.....	34
3.4.5. GC-FID analizi.....	35
4. SONUÇLAR.....	36
4.1. Çoklu Kalıntı Pestisit Analiz Yöntemi.....	36
4.2. Örnek Ekstraksiyonu.....	36
4.3. Sıvı Örnek Ekstraksiyonu.....	37
4.4. Jel Permeasyon Kromatografi ile Temizleme.....	38

4.5. Gaz Kromatografi.....	40
4.6. Isıl İşlemin Pestisit Kalıntılarına Etkisi.....	40
4.6.1. Nane.....	44
4.6.2. Kekik.....	50
4.6.3. Isırgan otu.....	55
4.7. Doğal Kurutmanın Pestisit Kalıntılarına Etkisi.....	58
4.8. Uçucu Yağ Ekstraksiyonunun Pestisit Kalıntılarına Etkisi.....	61
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	64
6. KAYNAKLAR.....	66
EKLER.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	75



ŞEKİLLER DİZİNİ

TC YEREL YEREL KURULU
DOKÜMANASYON MERKEZİ

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. GC-FID çalışma koşulları.....	32
Çizelge 4.1. Pestisitlerin geri kazanım oranları.....	37
Çizelge 4.2. Pestisitlerin elüsyon profili.....	38
Çizelge 4.3. Nane örneğinde kalıntı miktarları.....	45
Çizelge 4.4. Nane örneğinde suya geçiş ve toplam kayıp yüzdeleri.....	45
Çizelge 4.5. Pestisitlerin bazı fizikokimyasal özellikleri.....	47
Çizelge 4.6. Kekik örneğinde kalıntı miktarları.....	51
Çizelge 4.7. Kekik örneğinde suya geçiş ve toplam kayıp yüzdeleri.....	51
Çizelge 4.8. Isırgan örneğinde kalıntı miktarları.....	55
Çizelge 4.9. Isırgan örneğinde suya geçiş ve toplam kayıp yüzdeleri.....	55
Çizelge 4.10. Kurutma ile pestisit kalıntı miktarlarındaki değişim.....	59
Çizelge 4.11. Nandedeki nem değişimi.....	59
Çizelge 4.12. Uçucu yağda ve posadaki pestisit miktarları.....	63



EKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Ek 1. Pestisit kalıntı limitleri.....	73
Ek 2. Buhar distilasyon düzeneği.....	74



1. GİRİŞ

Çok zengin bir bitki örtüsü ve yerel türlere sahip olan ülkemizde yöresel olarak yenilip içilen, ilaç olarak kullanılan birçok yabani otun yanı sıra kültüre alınarak yetiştirilen pek çok tıbbi bitki ve baharat (kekik, nane, kimyon, maydanoz, ıhlamur vs) bulunmaktadır. Bu bitkilerin ekim alanları, üretim miktarı, iç ve dış ticaretteki yerinin ortaya konması oldukça zordur. Ancak ekonomik değeri olan sarımsak, soğan gibi birkaçı için bu verilere ulaşmak mümkündür (Özer vd., 2001; Erdemir, 2001).

Günümüzde geleneksel tedavi yöntemlerine olan ilginin artması nedeniyle bu bitkiler giderek önem kazanmıştır. Son araştırmalara göre hem endüstrileşmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkelere nüfusun büyük çoğunluğunun modern tıba rağmen tıbbi bitkileri ve geleneksel tedavi yöntemleriyle kendi kendini tedavi etme (self medication) şeklini tercih ettikleri görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporları, dünya nüfusunun %80'inin sağlık için genel olarak geleneksel tıba güvendiğini ortaya koymuştur (WHO, 1999; Zuin and Vilegas, 2000; Abou-Arab and Abou-Donia, 2001).

Akdeniz Bölgesi'nin bilgi çeşitliliği hastalık tedavisinde kullanılacak bitki araştırmalarını arttırmıştır. Günümüzde birçok bitki, ilaç hammaddesi olarak yetiştirilmektedir. Endüstrileşmiş ülkelerdeki ilaç hammaddelerinin yaklaşık %51'i bitkilerden hazırlanmaktadır. Bu bitkilere olan eğilimin artması bazı kuşkuları da beraberinde getirmiştir. Bu bitkilerin içeriklerinin araştırılması halk sağlığı yönünden önem taşımaktadır. Genellikle kontrolsüz ve yanlış kullanma sonucunda sağlığa zarar veren durumlar ortaya çıkabilmektedir. Literatürde bu bitkilerin toksik bileşenleriyle ilgili bilgiler yetersizdir. Ancak analitik yöntemlerin özellikle ekstraksiyon ve tanımlama yöntemlerinin gelişmesi bu alandaki kuşkuları azaltacak çalışmalara başlanmasına olanak sağlamıştır. Farklı yetiştirme koşulları, depolama ve uygulanan proseslerin etkisiyle aynı tür içinde bile farklı kimyasal kompozisyonlara sahip ürünler elde edilmektedir. Tüketicinin kötü kalitede bir ürün tüketmemesi ve aldatılmaması için bu ürünlerin standardize edilmesi şarttır. Standart hale getirilmiş bir ürün bilinen aktif veya karakteristik maddeleri içermelidir. Doğal bileşenler dışındaki maddeler yönetmeliklerin izin verdiği

düzeyde olmalıdır. Ancak pek çok ülkede bu bitkilerin üretimi ve pazarlanması denetim altında değildir. Tıbbi bitkilerin test edilmesinde mikrobiyolojik bulaşlar ve pestisit kalıntıları önemli kalite kriterleridir. Ayrıca bu ürünlerde mikotoksinler, ağır metaller, radyoaktif bozulma ürünleri ve diğer çevresel bulaşlar bulunabilir (Zuin and Vilegas, 2000; Özer vd., 2001).

Kültüre alınmamış tıbbi bitkilerin trafiğin yoğun olduğu yol kenarlarından, endüstri bölgelerine yakın yerlerden, yapay gübre ve pestisit kullanılmış tarım alanlarının yakınlarından toplanmaması önerilmektedir (Kırtunç, 2002). İlaç hammaddesi olarak kullanılacak bitkilerin yetiştirilmesinde pestisit kullanımı, kalıntı pestisitlerin bazı metabolik enzimleri daha aktif hale getirerek, ilacın aktif maddesinin etki süresini azaltacağı için istenmemektedir (Pluta, 1989).

Ekonomik değere sahip, baharat ve gıda olarak tüketilen ve büyük ölçekli tarımı yapılan bitkilerin çoğunlukla tedavi amaçlı kullanıldıklarını görmekteyiz. Pratikte bu bitkilerin büyük ölçekli tarımı pestisit kullanılmadan mümkün değildir. Pestisit uygulanması ile üründe doğrudan bulaşı olmasının yanı sıra, bu bitkilere dolaylı olarak da bulaşı olduğu bilinmektedir. Bisset'e göre, ürünlere pestisit uygulansa da uygulanmasa da her üründe kalıntı bulunma olasılığı vardır. Çünkü pek çok pestisidin tüm dünyada yaygın kullanımı ve doğada uzun süre kalıcı olmaları nedeniyle, pestisitlerle bulaşmamış toprak ya da su bulmak zordur. Ayrıca pestisit kullanımı çoğu ülkede yasalarla kontrol altına alınmışken, gelişmekte olan ülkelerde yasalar eksiktir veya göz ardı edilmektedir (Zuin and Vilegas, 2000).

Bu bitkiler değişik geleneksel yöntemlerle ilaç haline getirilirler; bitkiyi suda haşlayarak (infüzyon, haşlama, kaynatma, yıkama suyu), bitkiyi alkol veya alkol-su karışımında kaynatarak (tentür, sıvı çözeltiler, sprey gibi), bitki tozunu bir yağ bazına katarak, bitkinin kendisini kullanarak (bütün olarak tüketmek, yara tozu, kapsül halinde kullanmak, sigara gibi içerek veya tütsü olarak) veya damıtarak ve bitkinin uçucu yağlarını elde ederek (Buhner, 2001).

Bu araştırma kapsamında, ülkemizde hem gıda olarak hem de tedavi edici olarak tüketimi yaygın olan nane, ısırgan ve kekik örnekleri laboratuvar koşullarında beş farklı organofosforlu pestisitle (chlorpyrifos, dimethoat, fenitrothion, malathion, pirimifos-etil) zenginleştirilmiştir. Bu bitkilere uygulanan bazı geleneksel hazırlama

yöntemlerinin (demleme, kurutma, uçucu yağ ekstraksiyonu) kalıntı düzeylerine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca pestisitlerin bazı fiziko-kimyasal özellikleri ve ısıt işlemlerindeki davranışları arasındaki ilişki irdelenmiştir.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Pestisitler

Pestisitler, tarımsal ürünlerde zararlı ve hastalıkların neden olduğu kayıpları azaltmak ya da tümüyle engellemek üzere kullanılan kimyasallar olarak tanımlanabilir. Bitkilerin zararlılardan korunmasının yanı sıra hayvan sağlığını tehdit eden zararlıların kontrolünde de kullanılmaktadırlar (Buchel, 1983; Stan, 1990).

Pestisitler tarımsal ürünlere ve hayvan yemlerine üretim, depolama ve taşıma sırasında uygulanabilirler. Pestisit terimi, bitki büyüme düzenleyicilerini (bitki hormonlarını), yaprak dökücülerini, filizlenmeyi önleyen ajanları vb. içerirken; gübreleri, bitki ve hayvan besinlerini, gıda katkı maddelerini ve veteriner ilaçlarını içermez (Hajslova, 1999).

Temel gıda kaynaklarımızı sağlayan bitkiler böcek, fungus, virüs, bakteri ve diğer mikroorganizmaların neden olduğu 80000-100000 kadar hastalığın etkisi altındadır. Gelişmiş ülkelerde pestisit ve diğer kontrol yöntemleri kullanılmasına rağmen ürün zararlılarının neden olduğu kayıplar %30 civarındadır (Stan, 1990).

Pestisitlerin dünya çapında çok yaygın kullanılması tarımsal ürünlerde dolayısıyla gıdalarda ve hatta içme sularında kalıntı bırakmalarına neden olmaktadır. Tarım ilaçları kalitenin ve verimin artmasını sağlarken bilinçsiz ve kontrolsüz pestisit uygulamaları, gıdalardaki kalıntıların insan sağlığını tehdit edecek düzeye erişmesine neden olabilmektedir. Ayrıca bazı pestisitler kullanımı yasaklansa bile, çevredeki kalıcılıkları nedeniyle gıdalarda bulaşı olarak saptanabilirler. Tüm bu nedenlerden dolayı tüketicinin korunması için gıda örneklerindeki pestisit kalıntılarının etkili bir şekilde kontrol edilmesi önem kazanmaktadır (Stan, 1990; Delen vd., 1995).

Pestisitler biyolojik etkilerine göre aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar (Stan, 1990):

- İnsektisidler
- Fungusidler
- Herbisidler
- Akarisid ve aphisidler

- Molluscicidler
- Rodentisidler
- Bakterisid, pheromone ve bitki büyüme düzenleyicileri

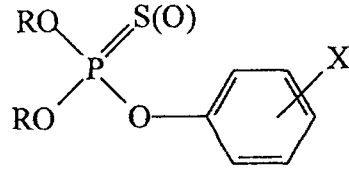
Pestisitler ayrıca sistemik ve kontakt (yüzey pestisidi) olarak da iki gruba ayrılabilirler. Kontakt veya yüzey pestisitleri bitki dokularına nüfuz etmedikleri için bitki dolaşım sistemiyle taşınmazlar. İlk kullanılan pestisitler genellikle bu türdeki pestisitlerdir. Yağmur, rüzgar ve güneş ışığı gibi atmosferik koşulların etkisiyle kalıcılıklarını koruyamadıkları için etkileri kısa sürelidir. Sistemik karakterli pestisitler bitkinin dış tabakasını geçerek dolaşım sistemiyle farklı doku ve bölgelere taşınırlar. İklim koşullarından çok az etkilenmeleri kalıcılıklarının uzun süreli olmasını sağlar (Cremlyn, 1991).

Diğer bir sınıflandırma kimyasal yapıya göre yapılmaktadır. Yaklaşık 500-600 çeşit pestisidin tüm dünyada kullanımda olduğu bilinmektedir (Stan, 1990).

- Organoklorlu pestisitler
- Organofosforlu pestisitler
- Karbamat pestisitler
- Fenolik pestisitler
- Asidik herbisidler, üre herbisidleri ve türevleri
- Dinitroanilin herbisidler
- Triazine herbisidler
- Merkaptoimid fungusidler
- Pyrethrinler ve pyrethroidler

2.2. Organofosforlu Pestisitler (OP)

Bu pestisitler İkinci Dünya Savaşı sonrasında geliştirilmiştir. Bugün yüzlerce çeşit OP pestisidin kullanımına izin verilmektedir. Bu grup pestisitlerin en önemli özelliği her birinin farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olmasıdır; özellikle oda sıcaklığında buhar basınçları ve çözünürlükleri birbirinden farklıdır. Aktif bir fosfor merkezi etrafındaki varyasyonlar ile çeşitlenmekte, farklı fiziksel, kimyasal, biyolojik özelliklerde ve farklı seçicilikte maddeler elde edilebilmektedir. Genel yapıları aşağıdaki gibidir:



R grupları genellikle metil veya etil gruplarıdır. X ise kompleks alifatik, homosiklik ya da heterosiklik yapıdaki (leaving group) ayrılan gruptur. Bu grup, fosfor atomuna direkt bir karbon atomuyla bağlı olabilir ya da bir ester (P-O-X) veya thioester (P-S-X) grubuyla katılabilir. Pek çok organofosforlu pestisit, çevrede kalıcılıklarının kısa olmasına rağmen insanda ve memelilerde çok toksiktir. Bu grubun bazı üyeleri fumigant olarak kullanılırken büyük bir kısmı kontakt ve sistemik insektisidlerdir. Bazı pestisitler yetiştirme sırasında ürünün korunmasında kullanılırken, bazıları hasat zamanına yakın bir sürede kullanılmak durumundadır. Yetiştirme sezonu sonunda kullanılan pestisitlerin, hasat sırasında üründe kalıntı bırakmamasına dikkat edilmelidir (Hassal, 1990).

Toksisite akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır. Organofosforlar genel olarak omurgalı ve omurgasızlarda nörotoksikant etki gösterirler. Akut toksisite mekanizması sinir sisteminde asetil kolinesteraz (AChE) ın inhibisyonuyla açıklanmaktadır. Asetil kolinesteraz önemli bir nörotransmitter olan asetil kolinin hidrolizinden sorumludur. Asetil kolinesteraz inhibe olduğu zaman asetil kolin sinir uçlarında birikir ve toksik düzeylere ulaşır. Bu da sinir sisteminde ciddi tahribatlara neden olur. Ciddi zehirlenmeler felç, koma ve ölümle sonuçlanabilir (Cremlyn, 1991).

2.2.1. Malathion

Malathion, diethyl (dimetoxythiophosphorylthio) succinate, dünyada ve ülkemizde en çok kullanılan organofosforlu insektisiddir. Malathion yüzey ya da loko sistemik bir insektisid olması ve düşük toksisitesi ($LD_{50}=1300$ mg/kg-2100 mg/kg) nedeniyle yaygın kullanılmaktadır. LD_{50} değerinin farklı kaynaklarda farklı verilmesi içerdiği safsızlıklardan kaynaklanmaktadır (WHO, 1997).

Meyve ve sebzeler, yağlı tohumlar, turunçgiller, tahıllar ve pek çok üründe kullanımına izin verilmektedir. Malathion memelilerde ve böceklerde oksidatif desülfürizasyona bağlı olarak hızla malaoxona dönüşür. Thio sülfür ($P=S$) atomunun oksijenle yer değiştirmesi sonucu ($P=O$) malathionun oldukça toksik bir metaboliti olan malaoxon (Şekil 2.1.) oluşur. Genellikle malathion hidrolizle detoksifikasyona uğrar. Son yapılan toksisite çalışmaları ticari malathionun önceleri kabul edildiği kadar güvenilir olmadığını, içerdiği safsızlıklar nedeniyle yüksek canlılarda daha toksik olduğunu ortaya koymuştur. Ticari malathionda 11 farklı safsızlık tanımlanmış ve özellikle sentez sırasında oluşan isomalathionun $P=O$ aktif grubu içerdiği için malathiona göre daha toksik olduğu belirtilmiştir (Hassal, 1990). Malathion için meyve ve sebzelerde maksimum kalıntı düzeyi ürünlere göre değişiklik göstermekle birlikte maksimum 1 ppm'dir (Anonymous, 1995). Malathion ve bu çalışmada incelenen diğer pestisitlerin Türk Gıda Kodeksi'nde yer alan kabul edilebilir en yüksek kalıntı değerleri Ek 1.'de verilmiştir.

2.2.2. Fenitrothion

Fenitrothion, O,O-dimethyl O-4-nitro-m-tolyl phosphorothioate, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün yaptığı sınıflandırmaya göre "moderately hazardous" (LD_{50} 503 mg/kg) grubuna giren organofosforlu bir insektisiddir (WHO, 1997). Ülkemizde buğdaylarda süneye karşı çok yaygın kullanılmaktadır. Pamuk, meyve ve sebze, tahıllarda (tarla ve depoda) kullanılmasına izin verilmektedir (Anonymous, 1995).

Fenitrothionun da diğer thionophosphate'lar ($P=S$) gibi aktivitesini gösterebilmesi için aktif oxon formuna yükseltgenmesi gerekir. Fenitrothion yüksek canlılarda çok çabuk parçalandığı için tercih edilmekteydi. Ancak son yapılan çalışmalar asıl molekül kadar toksik olan bir metabolitini (3-metil-4-nitrofenol) daha ortaya koymuştur (Hassal, 1990). Fenitrothionun meyve ve sebzelerde maksimum kalıntı düzeyi ürünlere göre değişim göstermekle birlikte maksimum 0.3 ppm'dir (Anonymous, 1995).

2.2.3. Chlorpyrifos

Chlorpyrifos, O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate, insektisid-akaricid olarak etkili organofosforlu bir insektisiddir. WHO'nun sınıflandırmasında "moderately hazardous" (LD_{50} 135 mg/kg) grubuna girmektedir. Çok geniş

uygulama alanı vardır. Yaprğa uygulandıında kalıcılığı yüksektir (WHO, 1997, Vidal et al, 1998).

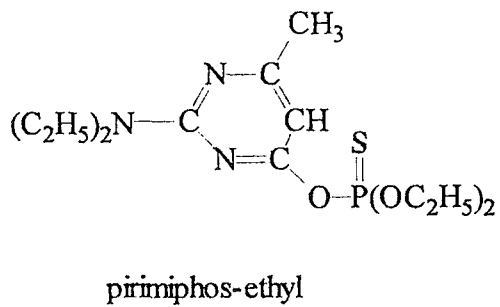
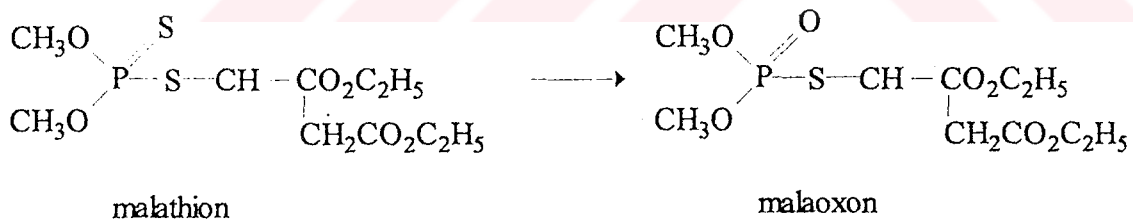
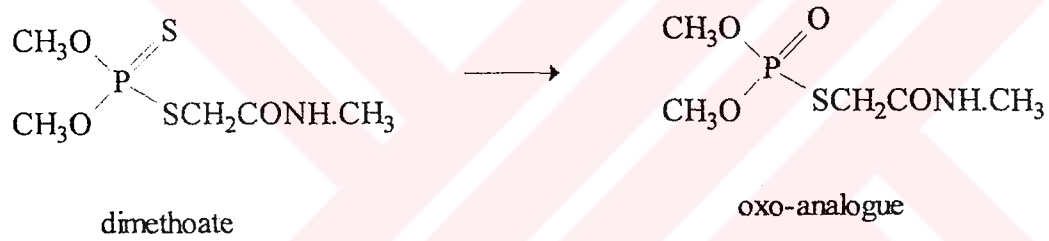
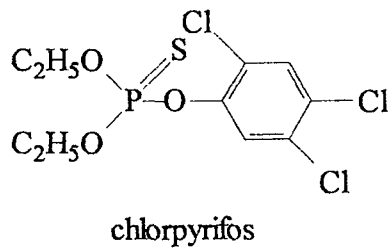
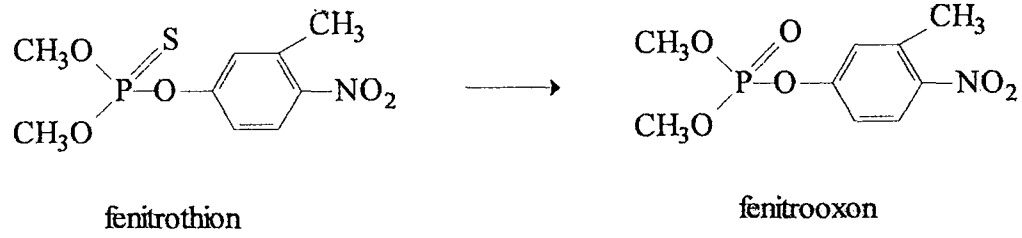
Toprakta 2-4 ay aktivitesini sürdürebilir. Meyve ve sebzelerde, tahıllarda, yağlı tohumlarda ve ticari önemi olan bazı otların üretiminde kullanılmasına izin verilmektedir. Ayrıca ev, restoran gibi bina ilaçlanmasında kullanılan formulasyonların temel bileşenidir. Ürünlerdeki maksimum kalıntı düzeyi 0,5 ppm'dir (Cremlyn, 1991; Anonymous, 1995).

2.2.4.Dimethoat

Dimethoat, O,O-dimethyl S-methylcarbamoylmethyl phosphorodithioate; 2-dimethoxyphosphinothioylthio-N-methylacetamide, sistemik etki gösteren organofosforlu insektisid-akarisiddir. WHO sınıflandırmasına göre "moderately hazardous" (LD₅₀ 150 mg/kg) grubunda yer alır (WHO, 1997). Yarılanma ömrü kısadır, bu yüzden son uygulama ve hasat arasındaki süre sadece yedi gündür. Yağda çözünmez, bu nedenle kalıntı bırakma ihtimali azdır. Bitkilerde ve hayvanlarda daha toksik olan oxo analoguna (P=S→P=O) metabolize olur (Şekil 2.1.) (Hassal, 1990). Meyvelerde, zeytin gibi yağlı bitkilerde kullanımı yaygındır. Bu ürünlerdeki maksimum kalıntı düzeyi 1 ppm olarak verilmiştir (Anonymous, 1995).

2.2.5.Pirimifos-etil

Pirimifos-etil, O-2-diethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl O,O-diethylphosphorothioate, WHO'nun yaptığı sınıflandırmaya göre "highly hazardous" grubunda yer alan (LD₅₀ 140 mg/kg) çok yüksek toksisitesi nedeniyle sınırlı kullanım alanı olan organofosforlu bir insektisiddir (WHO, 1997). Yaygın olarak kullanılan primiphos-methyl analogunun on katı kadar daha fazla toksiktir (Hassal, 1990). Mantar çiftliklerinde, çiçekçilikte, seralarda kullanılmasına ve tohumlara uygulanmasına izin verilmektedir (Cremlyn, 1991). Türk Gıda Kodeksi'nde pirimifos-etil için kabul edilebilir en yüksek kalıntı değerleri yer almamaktadır (bk. Ek 1)



Şekil 2.1. Pestisidlerin kimyasal yapısı

2.3. Gıda İşleme Yöntemlerinin Pestisit Kalıntılarına Etkisi

Ürünlerdeki kalıntı kontrolleri genellikle maksimum kalıntı sınırı (maximum residue limit, MRL) temel alınarak yapılmaktadır. Maksimum kalıntı düzeyleri her bir pestisit için ayrı ayrı, Good Agricultural Practise (GAP)'e göre yapılan tarla çalışmalarıyla, üründe bıraktıkları maksimum miktar olarak belirlenir. Endüstrileşmiş ülkelerde yetkili kurumların düzenli pestisit kalıntı izleme programları çerçevesinde yapılan toplam diyet çalışmalarıyla, gerçekte tüketilen pestisit düzeyinin maksimum kalıntı düzeylerine ulaşmadığı belirlenmiştir. Hasat sonrası hammaddeye uygulanan kabuk soyma, pişirme gibi ticari işlemlerin kalıntı düzeylerini önemli oranda azalttığı kabul edilmekteydi ancak son yıllarda bu anlayış değişmektedir. Amerikan Gıda Endüstrisi işlenmiş gıdalardaki kalıntı düzeyleri için bir veri tabanı oluşturmaya başlamıştır. Pek çok ülkede depolama ve belli başlı bazı işleme tekniklerinin kalıntılar üzerine etkilerinin belirlenmesi yasal zorunluluk haline gelmiştir. FAO/WHO 'nun pestisit kalıntıları ile ilgili raporlarında proses sırasında üründeki kalıntı miktarlarına ve metabolitlerine ilişkin bilgiler yer almaktadır. Prosesin etkisine ilişkin veriler, tüketicilerin maruz kalacağı gerçek kalıntı düzeylerini vermektedir. Gıdalara uygulanan işlemlerde pestisit kalıntıları sıklıkla asit ya da alkali koşullar altında hidrolize uğrarlar. Örneğin meyve suyu üretiminde asit hidrolizine uğrarlar. Bu tür uygulamalarda pestisitler kendilerinden daha toksik olan bozulma ürünlerini veya metabolitlerini oluşturabilirler (Chin, 1991; Holland et al., 1994).

2.3.1. Yıkama

Hammaddenin yıkanmasında sıklıkla yüksek basınçlı su, dezenfektanlar ve diğer yıkama yardımcıları kullanılmaktadır. Yıkamanın, çözünebilen ve fiziksel olarak hammaddeden uzaklaştırılabilen kalıntıların düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (Hajslova, 1999). Yıkamanın kalıntı düzeylerine etkisi birçok faktöre bağlıdır:

a) Pestisidin üründe yerleştiği yer ve sistemik bir pestisit olup olmadığı önemlidir. Yıkama işlemi ile kontakt etkili ilaçlar uzaklaştırılabilmektedir. Sistemik etkili (ürünün içine kadar yerleşmiş) ilaçlara yıkamanın etkisi yoktur (Artık ve Ekşi,

1993). Örneğin sistemik olan methamidophos, oldukça polar olmasına rağmen domatesten yıkama ile uzaklaştırılamamaktadır (Holland et al., 1994).

b) Kalıntının eskiliği: Bazı araştırmalar pestisidin eskiliğine bağlı olarak suyla uzaklaştırılmasının zorlaştığını göstermektedir (Holland et al., 1994; Hajslova, 1999).

c) Sudaki çözünürlük: Polar, suda çözünebilen pestisitlerin, lipofilik bileşiklere göre daha kolay uzaklaştırıldığı genel bir kural olarak verilse de (Holland et al., 1994; Hajslova, 1999) literatürdeki bazı çalışmalar pestisidin yıkanarak uzaklaştırılmasının sudaki çözünürlük ile korelasyon göstermediğini bildirmişlerdir (Cabras et al., 1997a; Krol et al., 2000).

d) Yıkamanın şekli ve suyun sıcaklığı: Sıcak suyla yıkama ve haşlama soğuk suyla yıkamadan daha etkili bulunmuştur (Holland et al., 1994; Hajslova, 1999). Kullanılan yıkama çözeltisinin tipi de önemlidir. Yapılan bir çalışmada patateslerden organoklorlu (OC) ve OP pestisitlerin uzaklaştırılmasında asidik çözeltilerin, nötral ve alkali çözeltilerden daha etkili olduğu gösterilmiştir. (Zohair, 2001).

Soliman (2001) patateslerden OC ve OP pestisitlerin uzaklaştırılmasında, asidik (asetik) ve nötral (NaCl) çözeltilerin, sudan daha iyi sonuç verdiğini, en etkili olan çözeltinin de asetik asit çözeltisi olduğunu göstermiştir.

Leyva ve ark. (1998) maruldan malathion kalıntılarının uzaklaştırılmasında su ve deterjan kullanımı arasında bir fark olmadığı ve tek başına su kullanarak, malathion kalıntılarının %30'unun uzaklaşabileceğini göstermiştir.

2.3.2. Kurutma

Kurutma sırasında gerçekleşen nem kaybı ürünlerdeki pestisit kalıntı miktarının artmasına yol açabilir. Kalıntıların bu prosesle konsantre olması pestisitlerin fizikokimyasal özelliklerine de bağlıdır. Genellikle kurutma sırasında yüksek sıcaklıkların kullanımı yüzeydeki kalıntıların buharlaşmasına neden olur. Ayrıca güneşte kurutma, çok hassas pestisitlerin fotolizine veya transformasyonuna neden olur. Dondurarak kurutma ya da vakumda kurutmanın kalıntı miktarında bir azalmaya neden olmadığı bildirilmektedir (Hajslova, 1999).

Alfalfa (bir yem bitkisi, yonca) bitkisinde, farklı kurutma işlemlerinin (güneşte, UV ışığında, karanlıkta kurutma) carbofuran kalıntılarına etkisi araştırılmış, karanlıkta kurutmada maksimum kalıntı kaybı %83.6, UV ışığında kurutmada %81.3 ve güneşte kurutmada maksimum kalıntı kaybı %89.8 olarak bulunmuştur (Archer, 1976).

Cabras ve ark. (1997a) yaptıkları bir çalışmada, kurutmanın kayısı üzerindeki bazı pestisit kalıntılarına etkisini araştırmışlardır. Kuru madde konsantrasyonunun yaklaşık beş katına çıktığı üründe, kalıntıların prosesten farklı düzeylerde etkilendiğini gözlemlemişlerdir. Fenitrothion tümüyle kaybolurken, dimethoat kalıntıları taze üründekiyle aynı kalmıştır. O-methoate ve ziram kalıntıları iki katına çıkmıştır.

Aynı araştırmacılar, kurutulmuş eriklerde kurutma prosesinin bazı pestisit kalıntıları üzerine etkisini incelemişlerdir. Kurutulduktan sonra üründe kuru madde konsantrasyonu üç katına çıkarken pestisit kalıntıları taze üründekinden yüksek bulunmamıştır (Cabras et al., 1998a).

Bir başka çalışmada, fırında kurutma ile güneşte kurutma işlemlerinin pestisit kalıntılarını farklı düzeylerde etkilediği açıklanmıştır. Bunu da güneş ışığının kalıntılar üzerine daha farklı yıkıcı bir etkisi olduğuna bağlamışlardır (Cabras et al., 1998b).

Tıbbi bitkilerin kurutulmasında da doğal ve yapay kurutma olarak iki yöntem uygulanır. Doğal kurutma gölgede ve güneşte yapılmaktadır. Geleneksel olarak yaygın olan kurutma şekli gölgede yapılan doğal kurutmadır. Kök, kabuk, tohum gibi duyarlılığı az olan bitki kısımları güneşte kurutulurken, yaprak, çiçek ve eterik yağ içeren hassas bitki kısımları gölgede 35 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda kurutulur. Kurutma süresi birkaç günle birkaç hafta arasında değişebilir. İyi kurutulmamış ürün mikrobiyal bozulmaya açıktır. Aşırı derecede kurutulan ürün ise kolayca toz haline gelir bu da bitkinin kompozisyonunu bozar.

Yapay kurutma bu bitkileri işleyen büyük işletmelerde uygulanmaktadır. Kurutma sıcaklığı ve hava akımı yapay olarak oluşturulduğu için kurutma işlemi iklim koşullarından bağımsız olarak daha kısa sürede gerçekleşmektedir. Yapay kurutma da, kurutma ortamının sıcaklığı 60 °C üzerine çıkmamalıdır. Yapılan bir

çalışmada ilk 24 saat 32 °C'de bekletilip sonra daha düşük derecelerde yapılan kurutmanın en iyi sonucu verdiği belirtilmiştir. Kök ve kabuklar için ilk 24 saatte optimum sıcaklık 50 °C olarak belirlenmiştir (Özer vd., 2001; Kirtunç, 2002).

Literatürde tıbbi bitkilerin kurutulması sırasında içerdikleri pestisitlerin kalıntı miktarlarındaki değişimin izlendiği çalışmalara rastlanmamıştır.

2.3.3. Demleme

Bitkilere uygulanan ısı işlemlerden biri, bitkilerin yaygın tüketildiği çay şeklinde demlemedir. Bu, bitkileri ilaç olarak en kolay hazırlama yöntemidir. Infüzyon hazırlanmasında uygulanacak yöntem yöresel olarak değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca bitkinin hangi kısmının (kök, çiçek, yaprak) kullanılacağı da infüzyon yöntemini değiştirmektedir. Isırgan otu, nane, kekik gibi yapraklı ve otsu bitkilerden infüzyon hazırlanması genel olarak bitki üzerine kaynar su eklenerek 10-20 dk ağız kapalı olarak bekletme şeklindedir. Kaynatma işlemi oksitlenmeye neden olması ve uçucu yağları uzaklaştırdığı için önerilmemektedir (Özer vd., 2001; Kirtunç, 2002).

Daha önce değinildiği gibi tıbbi bitkiler doğrudan veya dolaylı olarak pestisit bulaşısı içerebilmektedir. Demlemede kullanılan sıcak su, pestisitlerin çoğu için bir çözücü işlevi görür (Jaggi et al., 2001). Pestisitlerin demleme işlemi sırasındaki davranışlarının incelenmesi önemlidir. Demlenerek tüketilen bitkilerin başında gelen yeşil ve siyah çayda bu tür çalışmalara rastlanırken (Chen and Wan, 1988; Wan et al, 1991; Nagayama, 1996; Jaggi et al., 2001), diğer şifalı bitkilerde pestisit kalıntılarının işlemde nasıl etkilendiğine dair çok az araştırma vardır (Lino and Silveria, 1997a; Abou-Arab and Abou-Donia, 2001).

Abou-Arab ve Abou-Donia (2001) yaptıkları bir çalışmada 22 ayrı bitkide bazı organoklorlu ve organofosforlu pestisitlere ait kalıntı miktarlarının demleme ve kaynatma işlemlerinden nasıl etkilendiğini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, demleme işleminde, pestisitlerin farklı oranlarda demleme suyuna geçtiğini, kaynatma işleminde ise kalıntıların belirlenebilecek düzeyin altında olduğunu göstermişlerdir. Burada suya geçen miktarların bitki türüne, uygulanan pestiside ve işleme bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Lino ve Silveria (1997a)'nın yaptıkları çalışmada ise ıhlamura farklı demleme prosesleri uygulanmıştır. İncelenen organoklorlu pestisit kaybının pestisitlere ait sudaki çözünürlük ve fugasite değerleriyle ilişkide olduğu, ayrıca farklı demleme işlemlerinden etkilendikleri gösterilmiştir.

Çay üzerine yapılan çalışmalarda demleme ile suya geçen kalıntı miktarları ve pestisitlerin bazı özellikleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Wan ve ark. (1991) yeşil çaydan demleme suyuna geçen pestisit kalıntı yüzdesi ile çözünürlük arasında bir ilişki olduğunu, çözünürlüğü 10-150 mg/L aralığında bulunan pestisitler için bu ilişkinin doğrusal olduğunu göstermişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada ise demleme suyuna geçen pestisit oranı ile pestisidin oktanol-su dağılım katsayısı arasında bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Nagayama, 1996).

Jaggi ve ark. (2001)'in yaptıkları benzer bir çalışmada da demleme ile suya geçen kalıntı miktarının sadece sudaki çözünürlüğe değil oktanol-su dağılım katsayısına da bağlı olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca artan demleme sürelerinde suya geçen pestisit oranının arttığı bildirilmiştir.

Genel olarak ısıtılmanın kalıntı düzeylerine etkisi işlem koşullarına bağlıdır. Süre, sıcaklık, pH değeri, nem gibi faktörler kalıntı miktarını etkiler. Ayrıca pestisidin buhar basıncı ve hidroliz hızı onun kalıcılığını belirleyen temel fiziko-kimyasal özelliklerdir (Hajslova, 1999). Bütün bu etkilerin bileşimi olarak organofosforlu pestisitlerin ısıtılma sırasında önemli oranda kayba uğradığı pek çok araştırmada gösterilmiştir (Elkins et al., 1972; Nakamura et al., 1993; Coulibaly and Smith, 1993). Bununla birlikte ısıtılmanın her zaman kalıntı düzeyinde bir azalmaya yol açmadığını rapor eden çalışmalar da vardır. Friar ve Reynolds (1991) tiyabendazole uygulanan patateslerde kalıntıların mikrodalga pişirme ile uzaklaştırılmadığını açıklamışlardır.

2.3.4. Uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu

Bazı araştırmalarda yağlı tohumlarda ve diğer yağlı ürünlerden yağ elde edilmesi sırasında pestisit kalıntılarının aktif ingrediyeinin fiziksel ve kimyasal karakteristiklerine bağlı olarak yağa geçtiği ya da yan ürün ve uygulanan işlemlerle

son üründen uzaklaştığı gösterilmiştir. Lipofilik yapıdaki pestisitlerin yağlı üründe daha fazla tutulduğu rapor edilmiştir (Miyahara and Saito, 1993; Cabras et al., 1997a; Gözek et al., 1999).

Cabras ve ark. (2000) üç farklı pestisidin zeytinyağındaki kalıntı düzeylerini araştırmışlardır. Acephate ve methomidophos'un hammaddeye uygulanan işlemlerle uzaklaştırıldığını ancak buprofezinin yağdaki miktarının zeytindekinden dört kat daha fazla olduğunu gözlemişlerdir.

Gözek ve ark. (1999) radyoaktif izotopla etiketlenmiş dimethoat ile ilaçladıkları zeytin ağaçlarından elde edilen zeytinleri yağa işlemişler, nötralizasyon, ağartma ve deodorizasyon uygulanmış olan son üründe %4.4 oranında kalıntı tespit etmişlerdir.

Miyahara ve Saito (1993) soyadan yağ elde edilmesi sırasında prosesin farklı aşamalarının, pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasına etkisini araştırmışlardır. Prosesin her adımında önemli oranda kalıntının uzaklaştığını gözlemiş, özellikle alkali ile rafinasyon ve deodorizasyon basamaklarında bu etkinin en fazla olduğunu saptamışlardır.

İlk kez Eski Yunan'da bitkilerin sağlığa yararlı bileşiklerinin ayrılıp yoğunlaştırılarak kullanıldığı bilinmektedir. Pek çok bitkinin uçucu bileşenleri buhar distilasyonu veya presleme gibi fiziksel yöntemlerle ayrılarak uçucu yağları elde edilmektedir. Uçucu yağlar, parfümeride ve baharat sanayinde kullanıldığı gibi çeşitli hastalıklara etkileri nedeniyle geleneksel tedavi yöntemlerinde de sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yağların hem internal hem de eksternal kullanımı yaygındır (Ceylan, 1987; Özer vd., 2001; Kırtunç, 2002).

Literatürde bu yağlarda pestisit kalıntılarına prosesin etkisini araştıran iki çalışmaya rastlanmıştır. Starr ve ark., buhar distilasyonuyla elde ettikleri nane yağındaki kalıntı miktarlarının uygulanan sıcaklığa bağlı olarak değiştiğini belirtmişlerdir ve %0.5 yağ içeren taze naneden distilasyonla elde edilen yağda bitkidekinin 200 katı kadar kalıntı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Zuin and Vilegas, 2000).

İtalya'da 1991-1996 yılları arasında üretilen turunçgil uçucu yağlarında bazı organoklorlu pestisitler araştırılmış, örneklerde önemli oranlarda organoklorlu pestisit bulaşısı saptanmıştır (Saitta et al., 2000).

2.4. Tıbbi bitkiler

Uzun süreli gözlemlere dayanan bitkiyle sağaltım halk hekimliğinin temeli olmuştur. Artık günümüzde birçok bitki, ilaç hammaddesi olarak yetiştirilmektedir. Safılaştırılmış doğal maddelerin yanı sıra giderek artan sayıda ham bitki ekstraktları "naturopathic" ilaçlar olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu ilaçlarla tedavi "phytotherapy" olarak adlandırılan tedavi yönteminin temelini oluşturmaktadır. Modern tıbbı "alternatif" bir tedavi olarak ortaya çıkan bu yöntemin güvenilirliğini, kısa ve uzun süreli etkilerini, iyileştirme gücünü ortaya koymak çok zordur. Tıp ve eczacılık alanındaki yetkili organlar phytotherapy'nin önemini kabul etmekte isteksizdirler (Bruhn, 1989; Kırtunç, 2002).

Bu amaçla çok yaygın kullanılan üç bitki nane, kekik ve kanser tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği inanan ve halk arasında giderek popüler hale gelen ısırgan otudur.

2.4.1. Isırgan otu

Urticaceae familyasına ait, her iki yarım kürede de yabani olarak yetişen bir bitkidir. Bitkinin bütünündeki tüyler dokununca kaşıntı ve acı veren formik asit içerir. Küçük ısırgan otu (*Urtica urens* L.) ve büyük ısırgan otu (*U. dioica* L.) gibi iki türü vardır. Küçük ısırgan otu (*U. urens* L.) bir yıllık bitki olması dışında diğeriyle aynı özellikleri taşır. Boyu 60 cm kadardır. Büyük ısırgan otu (*U. dioica* L.) çok yıllık bir bitkidir ve boyu bazen 1m'yi aşabilir. Bazı ülkelerde ticari boyutta klorofil üretiminde kullanılmak amacıyla tarımı yapılmaktadır (Blumenthal et al., 2000; Kırtunç, 2002).

British Herbal Compendium, orta derecede diüretik ve hemostatik aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Flavonoid ve yüksek potasyum içeriği, diüretik aktivitesinden sorumlu tutulmaktadır. Yapılan bir çalışmada, romatizma hastası 152 kişiye üç hafta süre ile 1,5 g/gün kuru ısırgan otu ekstraktı verilmiş ve olumlu gelişmeler izlenmiştir. Myocardial veya kronik toplardamar yetmezliğine

yakalanmış hastalarla gerçekleştirilen bir başka çalışmada ısırgan suyu içirildikten sonra diüretik etki gözlenmiştir. Ayrıca böbrek taşlarının düşürülmesi ve tedavisinde ve idrar yolları enfeksiyonunun tedavisinde ısırgan otunun ve yapraklarının ilaç olarak kullanımı uygun bulunmuştur. Romatizmal rahatsızlıklarda destekleyici tedavi olarak internal ve eksternal uygulamasına izin verilmektedir. Akne tedavisinde ve eklemlerdeki ağrıların tedavisinde de kullanılmaktadır (Blumenthal et al., 2000).

Halk arasında kurutulmuş yaprak yerine taze bitki suyunun tüketildiği uzun süreli kürler yapılır. Ayrıca kuru yapraklar çay olarak hazırlanıp içilmektedir (Kırtunç, 2002). Son yıllarda kansere karşı etkili olduğu inancıyla ülkemizde çok sık kullanılmaya başlamıştır.

2.4.2. Nane

Lamiaceae familyasına ait çok yıllık bir bitkidir. Kültüre alınan ve yaygın ekimi yapılan nane *Mentha piperita* L. (İngiliz nanesi) *Mentha aquatica* L. ile *M. viridis* L. türlerinin bir melezi olarak kabul edilir (Baytop, 1963). Eski Romalılar'dan beri gıda ve tıbbi bitki olarak yetiştirilmektedir. 0.5-1 m boyunda, içerdiği mentolün kokusunu taşıyan bir bitkidir.

Uçucu yağlar içinde nane yağı önem bakımından ilk sırayı alır. Yağın tat-koku özellikleri büyük oranda ester ve alkol bileşenlerine bağlı iken tıbbi değeri sadece alkol bileşenine bağlanmaktadır. Yağa serinletici ve karakteristik kokusunu veren, alkol bileşeni olan mentol ve ester bileşeni olan menthyl acetate'dır (Grieve, 1977).

Nanenin gastrointestinal sistem, safra kesesi ve kanalı şikayetlerinde internal kullanımı uygun bulunmuştur. British Herbal Compendium, nanenin sindirim güçlüğü, bağırsak gazı ve safra bozuklukları gibi rahatsızlıklarda kullanımına izin vermektedir (Blumenthal et al., 2000).

Kurutularak elde edilen nane yaprakları, baharat olarak kullanılmasının yanı sıra tedavi amaçlı olarak demlenip çay olarak tüketilmektedir (Kırtunç, 2002).

2.4.3. Kekik

Lamiaceae familyasına ait, çok yıllık bir bitkidir. Ülkemizde kültüre alınmış ve yabani olarak yetişen on kadar türünün olduğu bilinmektedir. Bu türler birbirinden ayırt edilmeden *Thymus serpyllum* gibi kullanılmaktadır. Diğer taraftan *Origanum* türleri de kekik olarak kabul edilmektedir (Baytop, 1963). Bahçe kekiği olarak bilinen *T. vulgaris* aromatik, 20-30 cm boyunda odunumsu bir bitkidir (Blumenthal et al.,2000).

Yabani kekik olarak bilinen *T. serpyllum* ise ülkemizde yaygın bulunan türüdür. Kuru, güneşli ve kireçli topraklarda yabani olarak yetişmesinin yanı sıra ekimi de yapılmaktadır. *T. serpyllum* da *T. vulgaris* gibi temel bileşen olarak timol ve karvakrol içermektedir. Ayrıca borneol, cymen ve tanen de içermektedir. Çok eski çağlardan beri hem baharat olarak hem de ilaç olarak değerlendirilmektedir (Baytop, 1963; Kirtunç, 2002).

*T. vulgaris*in bronchoantispazmodic, balgam söktürücü anti bakteriyel aktivitesi ve bronşit, öksürük tedavisinde kullanımı bildirilmiştir. In vitro denemelerde, thymonin, cirsilineol ve 8-methoxy cirsilineol flavonoidlerinin bronchospasmolytic etkiden sorumlu olabileceği gösterilmiştir (Blumenthal et al., 2000).

T. serpyllum da aromatik, antiseptik, anti spasmatik, diüretik ve uyarıcı etkiye sahiptir. Demlenerek göğüs rahatsızlıklarında ve baş ağrılarında tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Grieve, 1977).

Hem bahçe kekiğinden hem de yabani kekikten uçucu yağ elde edilmektedir (Macleod, 1968; Grieve,1977). Kekik yağı, konsantre olmuş timol ve karvakrol içeriği dolayısıyla antimikrobiyal, balgam söktürücü özelliklere sahiptir. Kekik yağı yüzyıllardan beri halk arasında kullanılmaktadır. Yüksek miktarda tüketildiğinde toksik olabileceğine dikkat çekilmiştir (Blumenthal et al., 2000). Ayrıca kekik yağı ticari olarak öksürük ilaçlarında, gargaralarda, diş macunlarında, deterjan ve parfümeri sanayinde kullanılmaktadır (Blumenthal et al., 2000).

Yağ, kekikten buhar distilasyonu ile elde edilir (Grieve, 1977; Erdemir, 2001). Buhar distilasyon yönteminde bitki, basınçlı buhar geçirilen bir imbiğe yerleştirilir. Buharın taşıdığı ısı yağ globüllerinin parçalanmasına ve yağın evapore olmasına

neden olur. Uçucu yağı taşıyan su buharı soğutma bölümünde tekrar yoğunlaşır ve uçucu yağ sudan ayrılarak yüzeyde toplanır. Üst kısımdaki yağ bir muslukla ayrılır (Ceylan, 1987).

2.5. Tıbbi Bitkilerdeki Pestisit Kalıntıları

Diğer tarımsal ürünler gibi tıbbi bitkiler de böcek, hastalık ve zararlıların etkisiyle kayba uğrarlar. Kültüre alınan bu bitkilerde, zararlıların kontrolü için pestisitler kullanılmaktadır. Pestisitler yetiştirme sırasında toprağa ya da ürüne uygulanabilmekte veya depolama sırasında fumigant olarak kullanılabilmektedirler. WHO (1998) raporuna göre, her ülkenin doğal olarak yetişen ya da kültüre alınmış tıbbi bitki materyallerinde pestisit kalıntılarını araması tavsiye edilmektedir. Bu bitkilerde pestisit kalıntıları için maksimum limitlerin belirlenmesinde FAO-WHO'nun daha önce gıdalar ve hayvan yemleri için belirlediği düzeylerin esas alınması önerilmektedir.

Bu araştırma kapsamındaki pestisitlerin çeşitli meyve ve sebzelerdeki kabul edilebilir kalıntı düzeyleri Türk Gıda Kodeksi'nde yer almaktadır ancak özel olarak tıbbi bitkilerdeki pestisid kalıntılarına ait verilere rastlanılmamaktadır (Anonymous, 2003).

Çoğunlukla taze olarak tüketilen bu ürünlerde kalıntı düzeylerinin tolerans sınırlarının üzerine çıkması halinde insan sağlığı için potansiyel bir tehlike oluşturacağı açıktır (Zuin and Vilegas, 2000).

Halk arasında bu bitkilerin tedavi amaçlı olarak sularının ya da infüzyonlarının sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir. Demleme sırasında pek çok kalıntı suya geçerek sağlık açısından risk oluşturabilmektedir. Bir çalışmada organoklorlu bileşikler için zayıf bir çözücü olan su ile hazırlanan bitki çaylarında kalıntı riskinin az olduğu ileri sürülmüştür (Pluta, 1988a). Organofosforlu pestisitler ise suda daha iyi çözündükleri için kalıntı düzeylerinin demleme suyunda yüksek olma riski vardır.

Bu bitkilerin son yıllarda, tedavi amaçlı kullanımının artmasıyla literatürde tıbbi bitkilerde pestisit kalıntılarına ilişkin araştırmalara daha sık rastlanmaktadır (Lino and Silveria, 1997a,b; Zuin and Vilegas, 2000; Ho and Hsieh, 2001; Abou-Arab and Abou-Donia, 2001; Ahmed et al., 2001).

Mısır'da yapılan bir araştırmada Abou-Arab ve ark. (1999) piyasadan sağlanan ve çok tüketilen beş ayrı bitkide (nane, papatya, anason, kimyon ve ıhlamur) pestisit kalıntı düzeylerini belirlemişlerdir. Örneklerin büyük bir kısmında, yüksek miktarlarda malathion, dimethoat ve profenofos (organofosforlu pestisidler) bulunmuştur. Ayrıca organoklorlu pestisitlerden aldrin, dieldrin, chlordane ve lindane çok düşük miktarlarda saptanmıştır. Chlorpyrifos, parathion, diazinon ve endosulfan kalıntılarının ise pek çok örnekte saptanamayacak düzeyde olduğunu açıklamışlardır. Bu bitkilerde düşük düzeyde de olsa DDT ve türevleri de saptanmıştır. DDT ve türevlerinin kullanımının yasak olmasına rağmen hala bitkilerde bulaşı olarak bulunmasını, çevresel kirliliğin ve izinsiz kullanımın bir sonucu olarak göstermişlerdir.

Aynı araştırmacılar yine yerel marketlerden sağladıkları çay, nane, maydanoz, ıhlamur gibi 20 değişik tür bitkide organoklorlu ve organofosforlu pestisit kalıntılarını ve bu kalıntılara bazı proseslerin etkilerini incelemişlerdir. Örneklerin çoğunda en fazla malathion kalıntıları bulunduğunu açıklamışlardır. Malathionun, dereotu, kereviz, çay, papatya ve safranda; dimethoatın ise kimyon ve papatyada yüksek miktarda saptandığını rapor etmişlerdir. Çalışılan örneklerde düşük miktarlarda pirimiphos-methyl, profenofos, chlorpyrifos, parathion ve diazinon; papatya örneklerinde lindane, aldrin, dieldrin, DDT, chlordane ve endrin; nanede ise yüksek düzeyde chlordane saptamışlardır. Uygulanan demleme işleminde pestisitlerin farklı oranlarda demleme suyuna geçtiğini, kaynatma işleminde ise kalıntıların belirlenebilecek düzeyin altında olduğunu açıklamışlardır (Abou-Arab and Abou-Donia, 2001).

Mısır'da yapılan başka bir çalışmada da, geleneksel olarak bebek ve çocuk beslenmesinde sıklıkla kullanılan anason, tarçın, zencefil ve farklı kimyon türlerinde organofosforlu insektisid düzeyi araştırılmıştır. Bu örneklerde malathion, dimethoat, chlorpyrifos ve profenofos kalıntıları saptanmıştır. Zencefil ve kimyon saptanabilir düzeyde kalıntı içermezken, diğer bitkilerde en az bir pestisit kalıntısına rastlanmıştır. Bu çalışmada da örneklerde en fazla malathion kalıntısı bulunduğu açıklanmıştır. Bunun nedeni olarak, malathionun Mısır'da tıbbi bitkilerin yetiştirilmesinde kullanılmasına izin verilen tek insektisid olması gösterilmiştir. Sistemik bir insektisid olan dimethoatın çoğu üründe kullanımı yasak olmasına

rağmen örneklerde kalıntılara sıklıkla rastlanmasını yetiştiricilerin yasal düzenlemelere uymadıkları şeklinde açıklamışlardır (Ahmed et al., 2001).

Ho ve Hsieh (2001)'in yaptıkları bir araştırmada tıbbi bitkilerde organoklorlu pestisit kalıntılarının belirlenmesinde, mikrodalga ekstraksiyonu (MAE) nun ve sonrasında bir katı faz mikroekstraksiyonun uygulandığı yeni bir ekstraksiyon yöntemini denemişlerdir. Yöntemin, kimyasal kullanımını azalttığını ve işlem süresini kısalttığını ayrıca seçicilik ve hassasiyetinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada ise tıbbi bitkilerde organoklorlu pestisitlerin belirlenmesi için yeni ekstraksiyon ve temizleme yöntemleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Çeşitli çözücülerin kullanıldığı Ultra Turrax ve ultrasonikasyon ekstraksiyon yöntemleri, C₁₈-bağlı silika ve Florisil kartuju ile temizleme yöntemleri denenmiştir. En iyi sonuçlar n-hekzanın kullanıldığı ultrasonikasyon ekstraksiyonu ve Florisil kartuj ile temizleme yönteminde elde edilmiştir (Lino and Silveria, 1997b).

Avustralya'da yapılan bir çalışmada alfalfa, papatya gibi bazı bitkilerde organoklorlu pestisitlerin (aldrin, dieldrin, endrin, heptaklor, p,p'- DDT) belirlenmesinde ters faz HPLC (UV dedektör) kullanımı araştırılmıştır. Sonuçlar GC-ECD ve GC-NPD' den elde edilen sonuçlarla da karşılaştırılarak test edilmiştir. Her iki yöntemle de (HPLC ve GC) örneklerde pestisit kalıntısı saptanmamıştır. HPLC yönteminin bazı pestisitler için saptama limiti yüksek olduğundan bu pestisitlerin analizi için uygun olmadığı, bunun dışındaki diğer pestisitlerin belirlenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Grice et al., 1999).

Polonya'da yapılan bazı çalışmalarda farklı bölgelerden sağlanan çok çeşitli bitki örneklerinin büyük bir kısmında DDT ve DDT metabolitleri DDD, DDE kalıntılarına rastlanmıştır. Bu bitkilerden elde edilen ve ilaç olarak tüketilen karışımlarda ve toz ürünlerde de aynı kalıntılar yüksek miktarlarda bulunmuştur (Pluta, 1988a,b; 1989).

Chen ve Wan (1988) yaptıkları bir çalışmada yeşil ve siyah çaydaki pestisit kalıntılarını etkileyen faktörleri incelemişlerdir. Bitkinin ekiminden tüketilmesine kadar, yetiştirme, işleme ve demleme aşamalarında pestisitlerin uzaklaştırıldığını belirtmişlerdir. Güneş ışığının neden olduğu fotolizinin ve büyüme sırasındaki

seyrelmenin, bitki yetiştirilirken pestisit düzeyini etkileyen en önemli faktörler olduğunu belirtmişlerdir. Kurutma ve fermentasyon işlemleri sırasındaki pestisit kayıplarının pestisidin buhar basıncından etkilendiğini belirtmişlerdir. Düşük buhar basıncına sahip ve ısıya dayanıklı pretroid pestisitlerin işlemde çok az etkilendiğini gözlemişlerdir. Çay demleme işlemi sırasında ise ekstrakta geçen pestisit kalıntılarının, pestisidin sudaki çözünürlüğü ile ilgili olduğunu belirlemişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada siyah çay, papatya çayı ve ıhlamurdaki organoklorlu pestisit kalıntıları araştırılmıştır. Test edilen örneklerin hiçbirinde kalıntı düzeylerinin maksimum sınırı aşmadığı bildirilmiştir. Ancak α -HCH'nin tüm örneklerde saptandığı, β -HCH ve DDT'nin de örneklerde sıklıkla bulunduğu belirtilmiştir. Ihlamur ve papatya örneklerinde siyah çaya göre daha fazla miktarda bulaşı olduğu saptanmıştır (Fernandez et al., 1993).

Danimarka'da ithal çaylarda yapılan bir çalışmada organoklorlu ve organofosforlu pestisit kalıntıları araştırılmıştır. Örneklerde organoklorlu pestisitlerden dieldrin, α -HCH, lindane, α -DDT ve türevlerinin bulunduğu rapor edilmiştir. Çayların ithal edildiği ülkeye göre pestisit kalıntı miktarı ve çeşidinin değiştiği de belirtilmiştir. Özellikle Çin çaylarında ve kaynağı bilinmeyen bazı çaylarda dimethoat kalıntıları bulunmuştur (Petersen and Jensen, 1986).

Shanker ve ark. (2001) çaydaki chlorpyrifos ve parathion-methyl kalıntılarının saptanmasında yeni bir ekstraksiyon ve temizleme yöntemi geliştirmişlerdir. Çaydan elde edilen ekstrakta bulunan kafeinin, GC ile analiz sırasında parathion-methyl ve chlorpyrifos ile girişim yapmasının bu pestisitlerin belirlenmesini güçleştirdiği açıklanmıştır. Kafeinin uzaklaşması için ekstraktın ılık suyla yıkandığı bu yöntemin iyi sonuç verdiği bildirilmiştir.

2.6. Çoklu Kalıntı Pestisit Analizleri

Bitkisel ve kimyasal özelliklerinin benzerliği, tek bir örnekteki belli bir grup pestisidin aynı yöntemle analiz edilmesine olanak sağlar. Bu tür tek bir yöntemle bir grup pestisidin analiz edildiği yöntemlere çoklu kalıntı analiz yöntemleri denir. Bugün pek çok gelişmiş ülkenin ulusal laboratuvarlarında bu yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin kullanıldığı örnekler şöyle sıralanabilir:

- a) Tek bir pestisidin uygulamadan sonraki kaybı (araştırma amaçlı çalışmalar)
- b) Tarımsal hammaddede pestisit kalıntılarının belirlenmesi
- c) Proses gıdalarda (son ürün) pestisit kalıntılarının belirlenmesi
- d) Çevresel örneklerde (su, toprak vb) kalıntıların nitelik ve niceliklerinin belirlenmesi (Ambrus and Thier, 1986).

Bir çoklu kalıntı analiz yöntemi, temel olarak kalıntıların kompleks bir matriksden ekstraksiyonunu, ekstrakta yer alan diğer bileşenlerin örnekten uzaklaştırılmasını ve son olarak da kalıntıların tanımlanması ve nicel olarak ölçülmesi aşamalarını içerir. Pestisitlerin nitel ve nicel analizi, genellikle ayırma performansı yüksek, kromatografik yöntemlerle gerçekleştirilir. Bu yöntem, aynı anda çok sayıda pestisidi düşük konsantrasyonlarda güvenilir şekilde saptayabilmektedir (Tekel and Hatik, 1996).

Gıda maddelerinin farklı ve kompleks yapıları farklı fiziksel ve kimyasal ayırma tekniklerini gerektirebilir. Gaz kromatografideki son analizin güvenilirliği, istenmeyen bileşenlerin örnekten yeterli düzeyde uzaklaştırılmasına bağlıdır. Ayırma ve temizleme prosedürü üç aşamada gerçekleşir.

- Örnekten kalıntıların ekstraksiyonu
- Ekstraksiyon çözücüsünün bir başka çözücü ile partitasyonu
- Jel permeasyon kromatografi ya da adsorpsiyon kromatografi

Ekstraksiyon ve temizleme, farklı polaritedeki bütün pestisitler için uygun olmalı, ayrıca yağlı ve yüksek nemli gıdalardan pestisitlerin ayrılabilmesine de izin vermelidir. Buna göre gıda örnekleri dört gruba ayrılmıştır (Stan, 1990).

2.6.1. Örnek hazırlama

Analiz için gerekli örnek ağırlığı ve büyüklüğü kodeks ve standartlarda belirtilmiştir. Burada amaç, örneğin tüm ürünü temsil etmesidir. Meyve ve sebze örneklerinin hazırlanmasında, homojenliği sağlamak için önce parçalama ve karıştırma işlemleri yapılmaktadır. Pek çok çoklu kalıntı analiz yönteminde örnek ağırlığı 50-100 g yaş ağırlık olarak belirlenmiştir (Holland and Malcolm, 1992).

Gıda örneklerinin kalıntı analizinde, ekstraksiyon ve partitasyon için çok çeşitli yöntemler ve çözücüler kullanılmaktadır. Elektron yakalama dedektörünün yer

aldığı bir gaz-sıvı kromatografi kullanılan diğer bir çoklu kalıntı analiz yöntemi Luke ve ark. (1975) tarafından tanımlanmıştır. Bu yöntemde, yüksek uçuculuğu, ucuzluğu ve düşük toksisitesi nedeniyle, asetonitril yerine aseton kullanılmıştır. Ekstrakt florisil kolonda temizlenmiştir. Polar pestisitler florisil kolondan geri kazanılamadığı için Luke ve ark. (1981) yöntemlerini modifiye etmişler ve daha seçici olan alev fotometri, elektriksel iletkenlik dedektörlerini kullanarak, florisil ile temizleme basamağını yöntemden çıkarmışlardır. Luke yönteminin dezavantajı, diklorometanın kullanıldığı kompleks bir partitasyon basamağı içermesi ve gaz kromatografi analizi öncesinde çözücü değişimi ile diklorometanın uzaklaştırılmasının gerekmesidir.

Organofosforlu pestisitlerin ve bunların oksidasyon ürünlerinin çoklu kalıntı analizi için geliştirilmiş Watts yöntemi (Watts and Storherr, 1969) susuz sodyum sülfatın eklendiği etil asetat ekstraksiyonu temeline dayanmaktadır. Bu yöntem partitasyon basamağı gerektirmemektedir ve ekstrakt doğrudan jel permeasyon kromatografi kolonuna verilebilmektedir. Etil asetat yöntemi meyve ve sebzelerdeki organofosforlu pestisit kalıntılarının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (MAFF, 1977; Hill et al., 1984; Holland and Malcolm, 1992).

- Katı faz ekstraksiyonu (Solid phase extraction, SPE)

SPE olarak bilinen sıvı-katı faz sistemi ile ekstraksiyon özellikle yüksek oranda su içeren matrisler için sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Sorbent seçimi hangi bileşiğin veya bileşik gruplarının analiz edileceğine bağlıdır. Kalıntı analizlerinde en çok kullanılan materyallerden biri olan florisil özellikle yağlı gıdalar için uygundur. Çok polar kalıntılar genellikle, çözücü polaritesi ne olursa olsun, florisil ile temizlenememektedir. Burada florisil yerine charcoal veya graphitized carbon black (GCB) gibi spesifik olmayan hidrofobik sorbentler kullanılmaktadır (Hajslova, 1999).

- Matris katı faz ekstraksiyonu (Matrix Solid Phase Extraction, MSPD)

Bir kromatografi kolonunda yapılan bu ekstraksiyonun su oranı yüksek örnekler için etkili olduğu bildirilmiştir. Meyve sebze örnekleri ise gerektiğinde az miktarda su eklenerek homojenize edilirler. Örneğe adsorbent ilave edilir, elde edilen püre şeklindeki karışım, içinde 5 mm susuz sodyum sülfat bulunan kolona aktarılır.

Daha sonra pestisit kalıntıları organik bir çözücü veya çözücü karışımıyla ekstrakte edilir. Bu yöntemin avantajı emülsiyon oluşturmamasıdır (Tekel and Hatrik, 1996).

-Katı faz mikroekstraksiyon (Solid Phase Microextraction, SPME)

Katı faz mikroekstraksiyon, Pawliszyn ve ark.'nın çevresel örneklerdeki kontaminantların ekstraksiyonunda kullandıkları yeni bir yöntemdir (Ho and Hsieng, 2001). Katı faz mikroekstraksiyon fiber, sulu çözeltiye daldırılıp fiberin hidrofobik yüzeyi ile sulu faz arasında bir partitasyon gerçekleştirilir. Sulu çözeltiden alınan fiber gaz kromatografinin ısıtılmış girişine yerleştirilir. Fiberde adsorbe olmuş bileşikler termal ayrılmaya uğrar ve kolona geçerler. Son yıllarda bu teknik organoklorlu ve diğer pestisitlerin ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Ho ve Hsieng (2001) tıbbi bitkilerde mikrodalga ile ekstrakte ettikleri organoklorlu bileşiklere daha sonra katı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulayarak pestisitleri tanımlamışlardır. Pestisitlerin nicel analizinde yöntemin tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Mikrodalga ile ekstraksiyon su gibi polar çözücülerin kullanıldığı bir yöntemdir. Su mikrodalga enerjisiyi absorbladığında yüksek sıcaklık ve basıncın etkisiyle aranan bileşik hızlı bir şekilde matriksden suya geçmektedir. Bu yöntemin avantajı çok az miktarda örnekle çalışmaya izin vermesi, çözücü olarak suyun kullanılmasıyla da hem çözücünden hem de zamandan kazanç sağlamasıdır.

-Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Son yıllarda pestisit kalıntılarının ekstraksiyonunda, pahalı ve toksik olan organik çözücü kullanımını azaltma yönünde bir eğilim vardır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu alternatif bir yöntem olarak önerilmektedir. Süperkritik akışkan yönteminde akışkanın ayırma gücünü artırmak için su, metanol gibi yardımcı çözücüler kullanılmaktadır. Süperkritik akışkan yönteminin üstünlükleri şöyle sıralanabilir:

- Az miktarda örnekle çalışılabilir, çabuk sonuç verir.
- CO₂ veya N₂O gibi toksik olmayan, ucuz çözücüler kullanılır.
- Süperkritik akışkanın yüzey gerilimi çok düşük olduğu için örneğin mikroporlarına kolaylıkla nüfuz edebilmekte, bu da ekstraksiyon hızını artırmaktadır.
- Süperkritik akışkan yöntemi kalıntının ısı ile bozulmasına yol açmaz.

Bu yöntemin dezavantajı, çok yüksek saflıkta CO₂ gerektirmesidir. Ayrıca yüksek oranda su içeren örneklerle çalışıldığında bazı sorunlar çıkabilmektedir (Tekel and Hatik, 1996).

Standart çoklu kalıntı analiz yöntemlerinin ekstraksiyon basamağı, şekerler gibi sudaki çözünürlüğü yüksek olan bazı bileşenlerin belirli düzeylerde uzaklaşmasını sağlar. Bununla birlikte bitkiler, pigmentler ve fenolikler gibi ekstrakte olabilen ve girişimi artıran çeşitli bileşikler de içermektedir. Örneğin klorofil gibi yüksek molekül ağırlıklı maddeler, gaz kromatografinin enjeksiyon bölgesinde birikerek sorunlara yol açabilir ve temizleme işlemi gerektirir (Holland and Malcolm, 1992).

Temizleme işleminin en önemli dezavantajı bazı kalıntı kayıplarının kaçınılmaz olmasıdır (Walters, 1986). Bu nedenle, Luke prosedürünü içeren birçok çoklu kalıntı analiz yöntemlerinde temizleme basamağı çıkarılmaktadır. Bunun yerine oldukça seçici gaz kromatografi dedektörleri kullanılmakta ve adsorpsiyon etkilerini en aza indirmek için sık sık enjektör ve kolon bakımı yapılmaktadır. Yüksek seçicilikte ve hassaslıktaki analiz sistemlerinin geliştirilmesi ile örnek temizleme işlemi elimine edilebilmektedir (Holland and Malcolm, 1992).

Jel permeasyon kromatografisi (GPC)

En yaygın kullanılan temizleme yöntemi, jel permeasyon kromatografisidir. Bu yöntemde büyük gözenekli bir matriks kullanılarak molekül büyüklüğüne göre ayırma yapılmaktadır. Büyük lipidler ve polimerik bileşikler genellikle pestisitlerden daha fazla molekül ağırlığına sahip oldukları için kolondan daha önce ayrılırlar. Bu teknik ilk defa yağlı gıdalardaki organoklorlu pestisitlerin ve poliklorlu bifenil kalıntılarının temizlenmesinde kullanılmıştır (Stalling et al., 1972).

Specht ve Tilkes (1985) tarafından geliştirilen, pek çok gıdadaki kalıntıların temizlenmesi için uygun olan, GPC yönteminde örnek, Bio-beads SX-3 polistiren dolgu maddesi ile doldurulan kolonda (25 mm ID x 40 cm uzunluk) siklo hekzan-etil asetat (1:1 mobil faz) çözücü karışımıyla yıkanmaktadır.

Bu yöntemin en önemli dezavantajı; düşük molekül ağırlıklı ko-ekstraktiflerin genellikle pestisit fraksiyonu ile birlikte yıkanması ve pestisitlerden tamamen ayrılmamasıdır. (Holland and Malcolm, 1992).

2.6.2. Gaz kromatografi (GC) ile belirleme

Gaz kromatografi, pek çok standart çoklu kalıntı analiz yönteminde kalıntıların belirlenmesinin temelini oluşturmaktadır. Bunun nedeni GC dedektörlerinin kalıntı analizi için gereken yüksek duyarlılığı ve seçiciliği sağlamasıdır. 1960' da keşfedilen elektron yakalama dedektörü, halojenli bileşiklere yüksek duyarlılığı nedeniyle klorlu pestisitler için ilk seçici dedektör olmuştur. 1960'ların ortalarında, alkali alev iyonlaşma dedektörü ve alev fotometri dedektörünün keşfedilmesi organofosfatların ve azot içeren bileşiklerin yüksek duyarlılıkla belirlenmesini sağlamıştır (Stan 1990; Holland and Malcolm, 1992).

Polimerik sıvı fazların yer aldığı kapiler fused silika kolonların keşfedilmesi ile de ayırma gücü yüksek, inert, stabil ve uzun ömürlü kolanlar kullanılmaktadır.

Enjeksiyon, gaz kromatografi analizinin başarısında en önemli prosestir. Birçok çalışma, ısı stabiliteyi düşük pestisitlerin analizinde, soğuk on-column enjeksiyonunun standart ayırmalı/ayırmasız enjeksiyona göre daha iyi sonuç verdiğini göstermiştir. Bununla birlikte on-column enjeksiyonda ko-ekstraktifler kolonunun kirlenmesine yol açmaktadırlar (Holland and Malcolm, 1992).

2.7. Pestisit Kinetiği

Pestisit kinetik çalışmaları, her türlü tarımsal ürüne uygulanan pestisitlere, tüketicilerin ve çevrenin ne kadar maruz kaldığının bir ölçüsünü vermesi açısından önemlidir. Kinetik çalışmaların en önemli amacı, zamana karşı bilinen değişkenlerle (ısı, ışık, pH vb) elde edilen deneysel verilerin bir özetini sunmak (yarılanma ömrünün hesaplanması gibi) ve maddenin kinetiğini etkileyen en önemli faktörleri tanımlamaktır. Bu veriler kullanılarak, farklı çevre koşullarında bir pestisidin konsantrasyonunda zamanla meydana gelecek değişiklikler tahmin edilebilir. Tarımsal ekosistemlerin kompleks yapısı pestisit davranışını tahmin etmeyi zorlaştırmaktadır. Ancak son yıllarda geliştirilen kinetik modellerle zamana bağlı olarak pestisit parçalanması hakkında yaklaşımlarda bulunabilmektedir. Daha az deneysel verinin kullanıldığı veri analizi teknikleriyle, pestisit uygulama dozları ve pestisit kalıntı izleme programlarında önemli yenilikler ve kolaylıklar sağlamaktadır (Von Götz et al., 1999).

Pestisit kinetik çalışmaları, genellikle toprakta ve suda pestisit kalıntılarının fiziksel, kimyasal ve biyolojik olaylardan nasıl etkilendiğini ortaya koymak üzere yapılmaktadır. Pestisit kalıntılarının toprağa, yer altı ve yer üstü sularına geçişini kontrol eden prosesleri araştırmaya yönelik çalışmalara literatür de sıklıkla rastlanmaktadır (Ramesh and Balasubramanian, 1999; Zheng and Liu, 1999; Von Götze et al, 1999).

Son yıllarda literatürde işlemlerin (depolama, kurutma, pişirme, kaynatma, demleme, yağa işleme vb.) pestisit kalıntılarının yarılanma ömrü ya da parçalanma hızlarına etkisinin araştırıldığı çalışmalar artmaya başlamıştır (Hasegawa et al., 1992; Nagayama 1996; Cabras et al., 1997b; Cabras et al., 1998a,b; Jaggi et al., 2001).

Bu işlemler sırasında pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasının büyük ölçüde pestisidin fiziksel ve kimyasal karakteristiklerine bağlı olduğu rapor edilmiştir. Bu özellikler, pestisidin molekül ağırlığı, çözünürlüğü, buhar basıncı, oktanol-su dağılım katsayısı, uçuculuğu, mineral ve organik maddelere tutunma eğilimi (hidrofilik, lipofilik karakter) gibi fiziko-kimyasal özelliklerdir. Pestisitlerin bu tür fiziko-kimyasal özelliklerine ilişkin veriler çeşitli kaynaklarda yer almaktadır (Suntio et al., 1988; Tomlin, 1994).

Son yıllarda fugasitenin temel alındığı modellerle bir kimyasalın toprak, yüzey suları ve bitkilerdeki yıkılma hızı, daha az deneysel veri kullanarak tahmin edilmeye çalışılmaktadır (Mackay, 2002).

Fugasite 1901 yılında G.N. Lewis tarafından gerçek sistemlere uygulanabilen yeni bir hal fonksiyonu olarak tanımlanmıştır. Çözeltideki bir bileşenin kaçma eğiliminin gerçek ölçüsüdür (Şahbaz, 1998).

Suntio ve ark. (1988) pestisitlerin ürüne, toprağa, su ve havaya geçişinin her bir bileşeninin fugasiteyle belirlendiğini açıklamışlardır. Fugasitenin de, kimyasalın havadaki kısmi basıncının dengedeki su konsantrasyonuna oranı olarak tanımlanan Henry sabitince (H) ($\text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$) kontrol edildiğini göstermişlerdir. 96 pestiside ait fiziko-kimyasal özelliklerin yer aldığı çalışmalarında fugasite ve Henry sabitlerini hesaplamışlardır. H sabiti küçük olan pestisitlerin toprakta, sedimentte ve yüzey sularında kalıcı olduğunu, büyük olanların ise uçuculuklarının yüksek

olduğunu belirtmişlerdir. H değeri $100 \text{ Pa.m}^3/\text{mol}$ 'ün üzerinde olan pestisitlerin normal çevre koşullarında hızla atmosfere geçtiğini, H değeri 25-100 arasındakilerin de önemli oranda gaz fazına geçtiğini, H değeri 1-25 aralığında olanlarda volatilizasyonun çok yavaş olduğu ancak yine de buharlaşma görüldüğü, 1'in altındakiler için volatilizasyonun çok az olduğunu ileri sürmüşlerdir. Su hacminin düşük olduğu çevre koşullarında pestisit kaybı için volatilizasyon önemli bir proses iken, sulu örneklerde ihmal edilebilecek bir proses olarak kabul edilmektedir.

Yeşil çayda organofosforlu pestisit kalıntılarının yıkama ve demleme işlemi sırasında azalma hızlarını araştıran Nagayama (1996), genellikle pestisit kalıntılarının uzaklaşmasının deneysel olarak ortaya konulduğunu, pestisit davranışının genel bir kurala bağlanmamış olmasına dikkat çekmektedir. Araştırmasında kalıntıların azalma hızlarının pestisitlerin oktanol-su dağılma katsayısı (Kow) ile çok yakından ilişkide olduğunu kanıtlamıştır. Çay yapraklarındaki kalıntı pestisidin konsantrasyonundan çok, pestisitlerin sudaki çözünürlükleriyle ilgili olduğunu açıklamıştır. Pestisitlere ait çözünürlük değerlerinin logaritmasına karşılık, çay suyuna geçen yüzde kalıntıların logaritmasını grafiğe geçirmiş ve aralarındaki ilişkinin doğrusal olduğunu bulmuştur.

Daha önce Chiou ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada Kow ile çözünürlük arasında önemli bir ilişki bulunduğunu belirten Nagayama (1996), çalışmalarını bu ilişkiye dayandırarak, suya geçen pestisit miktarının Kow ile önemli ilişkide olduğunu, pestisitlere ait Kow değerlerinin logaritmasını yüzde suya geçen kalıntıların logaritmasına karşı grafiğe geçirerek ($r=0.923$) göstermiştir.

Jaggi ve ark. (2001) benzer bir çalışmada, yeşil çaydan demleme suyuna geçen bazı organofosforlu pestisit kalıntılarının pestisitlerin çözünürlüğü, Kow değerleri ve demleme süresine bağlı olduğunu göstermişlerdir. Artan demleme süresince, sudaki kalıntı miktarının pestisitlerin fugasitesine ve uçuculuk özelliklerine bağlı olduğunu belirlemişlerdir.

Lino ve Silveria (1997a) bazı organoklorlu bileşiklerin ıhlamur çayına geçişini araştırmışlar, pestisit kalıntılarının yalnız çözünürlük ya da fugasiteye bağlı olmadığını kaynatma sırasında kimyasal bozulmayla da kalıntıların uzaklaştığını

belirtmişlerdir. Suntio ve ark.'nın pestisitler için verdiği fugasite ve buhar basınçları değerlerini kullanarak fugasitesi küçük olan pestisitlerin demleme sırasında daha kolay buharlaşarak ayrıldığını gözlemişlerdir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu araştırmada kullanılan fenitrothion ve malathion standartları Promochem GmbH (Almanya) ve pirimifos-etil, dimethoat, chlorpyrifos standartları Dr. Ehrenstorfer (Almanya) firmalarından sağlanmıştır.

Deney materyali olarak yerel marketlerden sağlanan taze nane, kuru nane, ısırgan ve kekik örnekleri kullanılmıştır. Yağ üretimi için yabani kekik örnekleri, bir uçucu yağ firmasından (Doğtab Doğacı & Gültabsan Ltd.şti.-Antalya) sağlanmıştır.

3.2.Kimyasallar

- Etil asetat (Merck)
- Siklohekzan (Merck)
- Sodyum sülfat, granüler, susuz (Merck)
- Bio-beads SX-3 (Bio-Rad)

3.3.Kullanılan Alet-Ekipman

Genel laboratuvar ekipmanları yanı sıra;

- Waring blender (model 32BL79)
- Rotari evaporatör (Bibby RE 100 Model)
- Vakum pompası (Millipore XX5522050 Model)
- Etüv

3.3.1. Jel permeasyon kromatografi (GPC)

Kolon: 14 cm ayarlanabilen flow adaptor eklenmiş Bio-Rad cam kromatografi kolonu (50 cmx1,5 cm ID)

Örnek girişi: 1ml hacimli örnek haznesi olan Bio-Rad rotary valf

Çözücü giriş sistemi: Akış hızı 1 ml dk'ya ayarlanabilen Bio-Rad Econo-pump (Model EP-1)

Yıkama çözeltisi: Etil asetat: siklohekzan (1:1 v/v)

Kolonun Hazırlanması: Yaklaşık 30 g Bio-beads SX-3 dolgu materyali 500 ml'lik erlene alınmış ve uygun hacimde (200 ml) yıkama çözeltisi eklenerek 24 saat jelin

şışmesi sağlanmıştır. Jel, kolona 32cm yüksekliğe kadar hiç hava kabarcığı kalmayacak şekilde doldurulmuştur.

3.3.2. Gaz kromatografi

Bu çalışmada HP 7673 otoenjektör, ayırmalı/ayırmasız enjeksiyon bloğu ve alev iyonlaşma dedektörü (FID) ile entegre edilmiş bir HP 5890 II serisi gaz kromatograf kullanılmıştır. AT-1 apolar, kapiler kolonda (30mx0.32 mm i.d, 0.25 µ film kalınlığı) ayırma gerçekleşmiştir. Gaz kromatografi çalışma koşulları Çizelge 3.1’de verilmiştir. Kromatogramlar sisteme entegre bir bilgisayarda alıkonma süreleri ve pik alanları hesaplanarak elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. GC-FID çalışma koşulları

Enjektör sıcaklığı	250 °C
Dedektör sıcaklığı	250 °C
Sıcaklık programı	150 °C (5dk) 150 °C→250 °C (10 °C/dak) 250 °C (5 dak)
Azot gazı	taşıyıcı 2.63 ml/dk toplam 33.1 ml/dk
Dedektör gazları	Hidrojen 42 ml/dk Kuru hava 560 ml/dk

3.4. Metot

3.4.1. Örnek hazırlama

Zenginleştirme için kullanılan pestisit I (dimethoat, pirimifos-etil ve malathion) ve pestisit II (fenitrothion ve chlorpyrifos) standart çözeltileri etil asetatla hazırlanmıştır. İki tekrarlı olarak gerçekleştirilen demleme işleminde 2’şer g’lık örnekler (nane, ısırgan, kekik) son hacimdeki konsantrasyon 40 ppm olacak şekilde standart pestisit çözeltileriyle zenginleştirilmiştir.

Uygulamadan sonra çözücünün uzaklaşması için çeker ocak içinde örnekler 15 dk karıştırılarak bekletilmiştir. Bu süre sonunda geleneksel çay demleme pratiğine

uygun olarak örnekler 100 ml kaynatılmış suda 5,10,15,20 dk sürelerde demlenmiştir. Isıl işlem sonunda sıvı kısım süzülerek katıdan ayrılmış ve her iki kısımda da pestisit kalıntı analizi yapılmıştır.

Kurutma deneyi için her 2.5 kg'lık taze nane örneklerinin zenginleştirilmesinde etil asetatla hazırlanmış 500 ml 100 ppm'lik standart pestisit I (dimethoat, malathion, pirimifos-etil) ve pestisit II (fenitrothion, chlorpyrifos) çözeltileri kullanılmıştır. Tepsilere ince bir tabaka halinde yayılan ürün tamamı aerosol kabına yerleştirilmiş pestisit çözeltileri ile çeker ocak içinde spreyleneştir. Bir saat oda sıcaklığında çözücünün evapore olması için bekletildikten sonra örnekler ilk gün için analize alınmıştır. Daha sonra laboratuvar ortamında (17 ± 2 °C) 10 gün süreyle gerçekleştirilen doğal kurutma sırasında örneklerde 2 günlük periyotlarla kalıntı ve kuru madde analizleri gerçekleştirilmiştir. Kuru madde tayinleri James (1995)'e göre yapılmıştır.

Buhar distilasyonu ile kekikten uçucu yağ ekstraksiyonu için 100'er g'lık, %3 yağ içeren yabani kekik örnekleri 250 ppm 10 ml pestisit I (malathion ve pirimifos-etil) ve pestisit II (fenitrothion ve chlorpyrifos) çözeltileri ile ayrı ayrı ilaçlanmış, çözücünün evaporasyonu için örnekler bir saat süreyle oda sıcaklığında karıştırılarak bekletilmiştir.

Buhar distilasyonu ile yağ elde etmek için Ek 2.'de şematik olarak gösterilen bir distilasyon balonu ve 10 g'lık örnek haznesi, bir soğutucu ve bir toplama balonundan oluşan sistem kullanılmıştır.

10 g örnek konulan hazne 1/3 oranında su içeren distilasyon balonuna yerleştirilmiş ve kaynatma işlemi başlatılmıştır. Başlangıçta uzun tutulan distilasyon süresi (20 dk) toplanan yağ miktarında daha fazla bir artışın olmadığı 10 dk ile sınırlandırılmıştır. 100 g'lık örneğin tamamı distilasyona uğratıldıktan sonra toplama balonundaki su ve yağ karışımı bir ayırma hunisine aktarılmış ve iki faz birbirinden ayrılmıştır. Çok az miktarda toplanan yağın sudan tümüyle uzaklaştırılabilmesi için 5 ml konik hazneli örnek şişesine aktarılmış ve yüzeyde toplanan yağ bir damlalık yardımıyla başka bir örnek kabına geçirilerek sudan tümüyle uzaklaştırılmıştır.

3.4.2. Sıvı örneklerde ekstraksiyon

Demleme suyunun tamamı (100 ml) ayırma hunisine alınıp 3x50 ml diklorometan çözeltisi ile yıkanmıştır. Ekstraktlar birleştirildikten sonra suyun uzaklaştırılması için 10-15 g susuz sodyum sülfat eklenerek karıştırılmış ve filtre edilmiştir. Ham ekstrakttaki çözücü rotari evaporatörde, vakum altında su banyosu sıcaklığı 50°C'yi aşmayacak şekilde 20 ml'ye kadar evapore edilmiştir. Çözücünün kalanı azot gazı altında uçurulmuştur. Balondaki kalıntı 10 ml etil asetat ile yeniden çözündürülmüş ve bu çözeltiden 1 ml örnek GPC kolonuna verilmiştir. Buradan toplanan örneğin hacmi yine azot altında 1 ml'ye küçültülmüştür.

3.4.3. Katı örnek ekstraksiyonu

Demleme işlemi uygulanan örneğin posası Model 32BL79 Waring blender'da 30 ml etil asetat ile homojenize edilmiştir. Homojenat vakum pompasına bağlı bir nuçe erlende Buchner hunisinden süzölmüştür.

Homojenat 2x20 ml etil asetat ile yıkanarak işlem tamamlanmıştır. Ekstrakttaki suyun uzaklaştırılması için 10 g susuz sodyum sülfat eklenmiş ve filtre edilmiştir. Ekstrakt hacmi evaporatörde vakum altında 10 ml'ye küçöltölmüş, 1 ml'si GPC kolonuna verilmiş, kolonda yıkanan örneğin hacmi azot altında 1 ml'ye konsantre edilmiştir.

Kurutma deneyinde 25 g taze nane örneği 125 ml etil asetatla Waring blender'da homojenize edilmiş ve ekstrakta yukarıda belirtilen işlem basamakları uygulanmıştır.

Buhar distilasyonu ile elde edilen yağ örneği (1 g) 25 ml etil asetat ile seyreltilmiş ve örneğin 1 ml'si GPC kolonuna verilmiştir. Kolonda yıkanan örneğin hacmi azot altında 1 ml'ye küçöltölmüştür.

3.4.4. Jel permeasyon kolonunun kalibrasyonu

10 ppm'lik hazırlanan pestisit standart karışım çözeltisinden 1 ml kolona verilmiş 1 ml/dk'lık akış hızıyla kolondan 2'şer ml toplanan fraksiyonlar gaz kromatografide analiz edilerek her bir pestisit için kolondan yıkama süreleri belirlenmiştir. Aynı

işlem 10 ppm'lik standart pestisit karışımı ile zenginleştirilen örnek ekstraktında da tekrarlanmıştır.

Yukarıda belirtilen kalibrasyon ile pestisitlerin 37-58 ml aralığında kolondan yıkandığı belirlenmiştir. Buna göre rutin analizlerde örneğin kolona verilışinden sonra kolondan toplanan ilk 35 ml'lik çözücü atılıp sonraki 25 ml toplanmış ve toplam hacim azot altında 1 ml'ye küçültülmüştür.

3.4.5. GC-FID analizi

Bütün örneklerde pestisitlerin nitel ve nicel analizi gaz kromatografik olarak gerçekleştirilmiştir.

Pestisit konsantrasyonlarının belirlenmesinde eksternal kalibrasyon yöntemi ile doğrusal regresyon kullanılmaya çalışılmış ancak doğrusal regresyonun 0.95'in altında bulunması nedeniyle tek nokta hesaplama yöntemi ile pestisit konsantrasyonları belirlenmiştir. Bunun için İngiliz Tarım Bakanlığı Laboratuvarları'nda rutin olarak kullanılan aşağıdaki eşitlik (MAFF, 1990) kullanılmıştır.

$$\text{Üründeki pestisit miktarı (ppm)} = \frac{\text{Pik Alanı} \times \text{Standardın Konsantrasyonu}}{\text{Standardın Alanı}}$$

4. SONUÇLAR

4.1. Çoklu Kalıntı Pestisit Analiz Yöntemi

Bu çalışmada nane, kekik, ısırgan otunda ve bunlardan hazırlanan ürünlerde fenitrothion, chlorpyrifos, dimethoat, pirimifos etil ve malathionun belirlenmesinde bir çoklu kalıntı analiz yöntemi kullanılmıştır. Örnekler etil asetat ekstraksiyonunu izleyen bir jel permeasyon kromatografi ile temizleme aşamasından sonra gaz kromatografiye uygulanmıştır. Hollanda, İngiltere, İsveç gibi ülkelerin Tarım Bakanlığı Laboratuvarları'nda uzun zamandan beri kullanılan yöntem pek çok gıda maddesi için test edilmiş ve rutin analizler için uygun bulunmuştur (Holland and Malcolm,1992). 1998'de WHO'nun yayınladığı raporda da tıbbi bitkilerde pestisit kalıntı analizinin temizleme aşaması için jel permeasyon kromatografi yöntemi önerilmektedir. Pek çok kalıntı analizinde örnek ağırlığı 50-100 g arasında değişmekle birlikte, bu çalışmada optimum örnek miktarı ön denemelerle maksimum 25 g olarak belirlenmiştir. WHO (1998) raporunda da tıbbi bitkiler için örnek miktarı 20 g olarak verilmiştir.

4.2. Örnek Ekstraksiyonu

Yüksek hızda bir blender'ın kullanıldığı ekstraksiyon ile örnek hacmi küçültülmüş örnek ve ekstraksiyon çözücüsü arasındaki etkileşim artırılarak daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Suyla karışan aseton ve asetonitril gibi çözücülerin ekstraksiyon etkinliğini artırdığı bilinmesine rağmen ham ekstrakt bitki matriksinden gelen suyu da içermektedir. Bu yüzden suyla karışmayan bir çözücü ile partitasyon gerekmektedir. Organofosforlu bileşiklerin etil asetat ile ekstraksiyonunun en büyük avantajı suyla karışmaması, partitasyon gerektirmemesi ve evaporasyonla ekstrakttan ayrılabilmesidir (Holland and Malcolm, 1992).

Etil asetat ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi hızlı ve temiz bir ekstrakt vermiş, evaporasyonla hacmi küçültülen ekstrakt doğrudan jel permeasyon kolonuna verilmiştir.

4.3. Sıvı Örnek Ekstraksiyonu

Sıvı gıda örneklerinden pestisit ekstraksiyonu için standart bir prosedür bulunmamasına rağmen organofosforlu pestisitlerin sudan ekstraksiyonu için hekzan, diklorometan, kloroform, benzen gibi çözücüler kullanılabilir. Ayrıca literatürde etil asetat ve asetonitril kullanıldığı çalışmalar da yer almaktadır (Barcelo' and Lawrence, 1992). Literatürde pestisitlerin infüzyondan ekstraksiyonu için sıklıkla hekzan ve diklorometan kullanıldığı rapor edilmiştir. (Wan et al., 1991; Nagayama, 1996; Lino and Silveria, 1997 a,b).

Bu çalışmada ekstraksiyon çözücüsü olarak diklorometan ile yüksek geri kazanımlar elde edilmiştir ve sulu örneklerden pestisitlerin ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Pestisitlerin çay örneklerinden diklorometanla geri kazanımı Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Çalışılan pestisitler içinde en yüksek çözünürlüğe (23,3 g/l) sahip olan dimethoatın, diklorometan gibi organik çözücülerde de iyi çözündüğü (>300 g/kg) bildirilmiştir (Tomlin, 1994).

Çizelge 4.1. Pestisitlerin geri kazanım oranları

Pestisit	Geri Kazanım Oranı,%
Fenitrothion	85,35
Malathion	92,79
Pirimifos-etil	95,10
Dimethoat	97,58
Chlorpyrifos	109,52

Diklorometan ile ekstrakte edilen sıvı örnekler temizlenmeden gaz kromatografiye verildiğinde çok yaygın çözücü piki elde edilmiş, zemin değeri bozulmuştur. Kullanılan genel amaçlı alev iyonlaşma dedektörü (FID) koekstraktiflere de yanıt verdiği için oldukça yoğun bir kromatogram elde edilmiştir. Bu nedenle de sıvı örneklerin jel permeasyon kolonunda temizlenmesi zorunlu hale gelmiş, örneklerden diklorometanın uzaklaştırılması ve ekstraktın etil asetata alınması gerekmiştir.

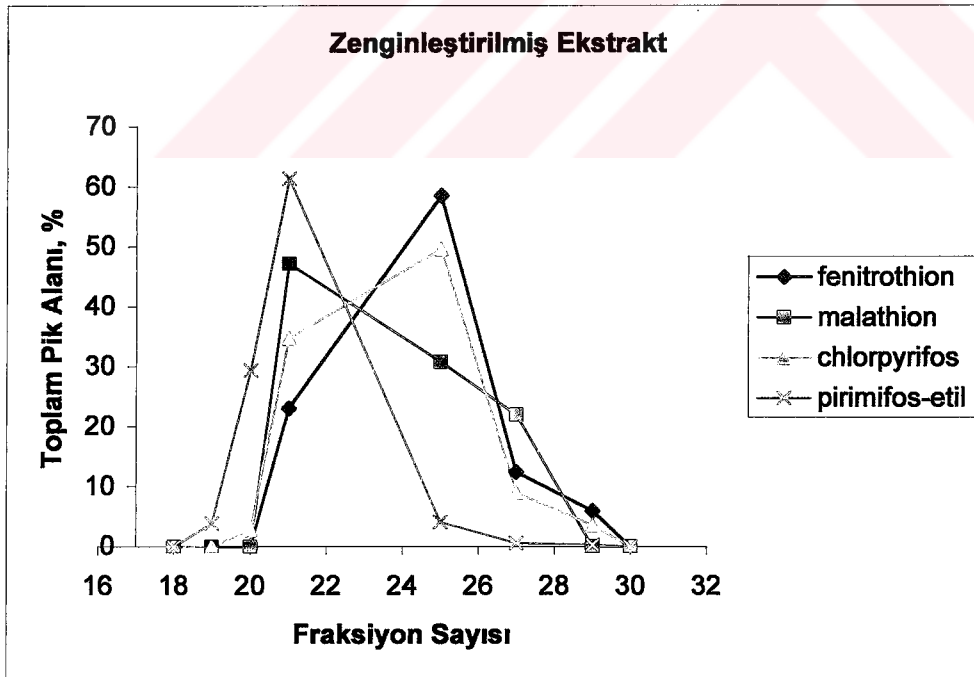
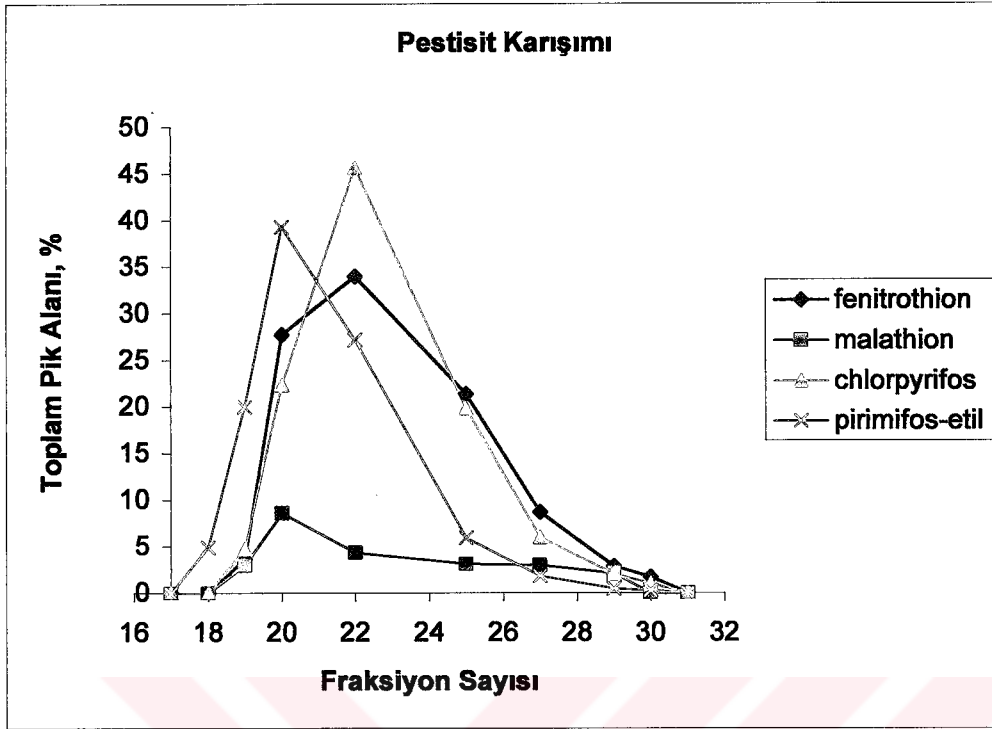
4.4. Jel Permeasyon Kromatografi İle Temizleme

Pestisitlerin belirlenmesinde jel permeasyon kromatografi kolonunun kalibrasyonu için standart pestisit çözeltileri kullanılmıştır. Standart pestisit çözeltileri ve pestisitlerle zenginleştirilmiş ham ekstraktlarla, pestisitlerin Bio Beads SX-3 kolondan elde edilen elüsyon hacimleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Pestisitlerin elüsyon profili

Pestisit	Elüsyon Hacmi, ml	Fraksiyon Sayısı	Zenginleştirilmiş Ekstraktın Elüsyon Hacmi,ml	Fraksiyon Sayısı
Fenitrothion	37-60	19-30	42-58	21-29
Malathion	37-58	19-29	42-54	21-27
Chlorpyrifos	37-60	19-30	39-58	20-29
Pirimifos-etil	35-60	18-30	37-58	19-29

Jel permeasyon kolonundan yıkanan her bir pestisit için belli bir hacim aralığı saptanmıştır. Pestisitlerin molekül ağırlıkları birbirine çok yakın olduğu için tümüyle ayırlanamamışlardır. Chamberlain (1990) da Bio Beads SX-3'de bazı organofosforlu pestisitler için benzer bir yıkama profili rapor etmiştir. Elüsyon profilini gösteren grafikten (Şekil 4.1.) atılan hacim 35 ml ve toplanan hacim 25 ml olarak belirlenmiştir. Standart pestisit karışımı ve zenginleştirilmiş ham ekstrakt ile elde edilen pestisitlerin elüsyon hacmi arasında küçük bir fark gözlenmiştir. Ayrıca pestisitlerle bitki matriksinden gelen ko-ekstraktifler arasında ayırma tümüyle gerçekleşememiş ve bunlar kolonda bant yayılmasına neden olmuştur. Bu etki daha çok bitkide bulunan yüksek miktardaki pigmentten kaynaklanmaktadır. Başlangıçtaki örnek miktarının azaltılması ile pigment etkisi büyük ölçüde azaltılmış ise de tümüyle giderilememiştir.



Şekil 4.1. Pestisitlerin Elüsyon Profili

Bio Beads SX-3 jel permeasyon kromatografide düşük moleköl ağırlıklı ko-ekstraktiflerin (pigmentler gibi) pestisitlerden tümüyle ayrılmadığı, bu yöntemin büyük gıda matrikslerinin (lipid, şeker) uzaklaştırılmasında daha çok etkili olduğu belirtilmektedir (Holland and Malcolm, 1992).

GPC dolgu materyalinde bir yıllık bir çalışma sonunda bir bozulma gözlenmemiştir. Bu teknik oldukça temiz ekstraktlar elde edilmesini sağlamış ve örnekler gaz kromatografiye uygulanmıştır.

4.5. Gaz Kromatografi

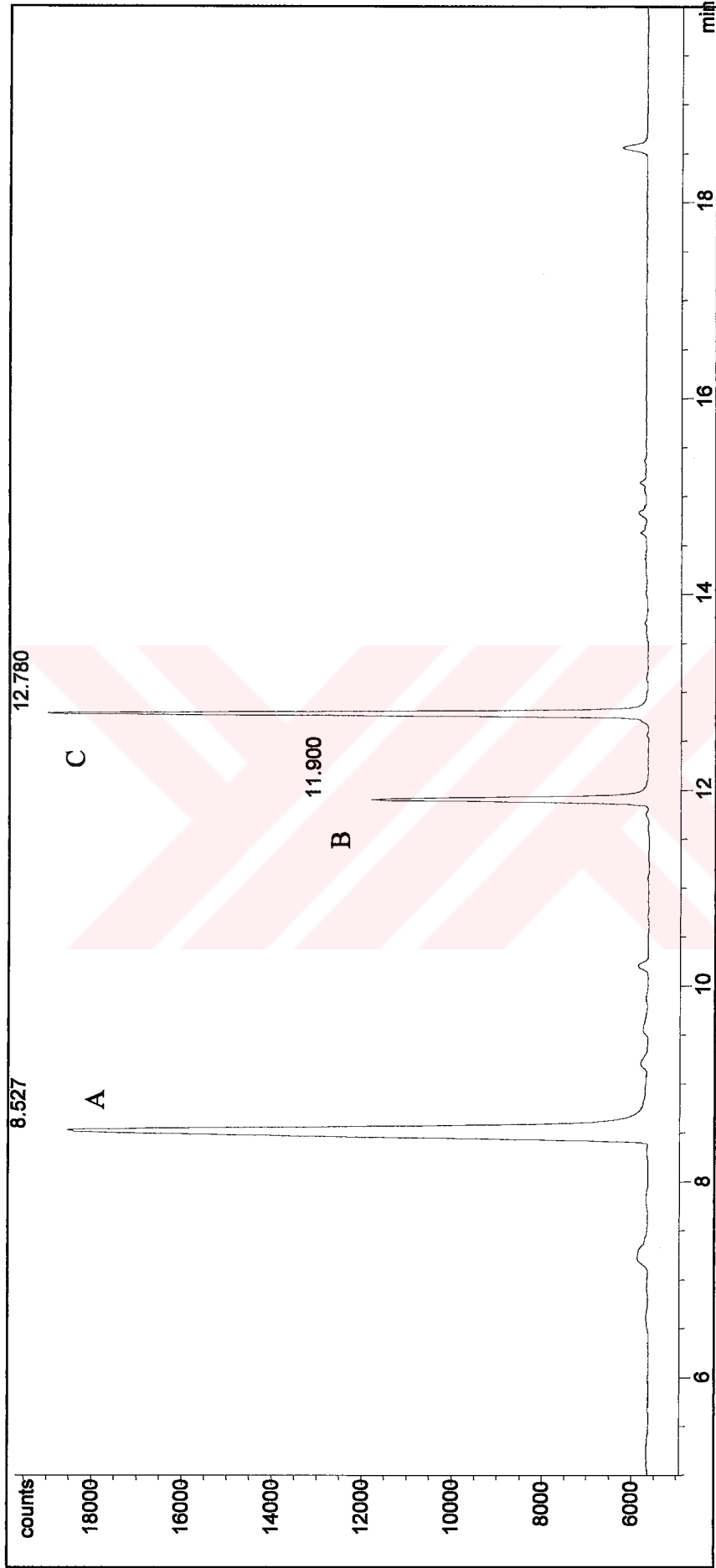
Saf pestisit karışımı çözeltilerinin 30 ml'lik AT-1 apolar kolon ve alev iyonlaşma dedektörü ile elde edilen kromatogramları Şekil 4.2a,b,c.' de verilmiştir.

Şekilde dimethoat, malathion ve pirimifos-etilin yer aldığı kromatogram, fenitrothion ve chlorpyrifos'un yer aldığı kromatogramla birlikte verilmiştir. Özellikle fenitrothionun alıkonma zamanının (11,647) malathionun alıkonma zamanı ile çok yakın olması nedeni ile pikler birbirinden çok iyi ayrılamamıştır. Pik alanlarının hesaplanmasında bir hataya yol açmamak için örneklerde zenginleştirme yapılırken dimethoat, malathion ve pirimifos-etil birlikte ve fenitrothion, chlorpyrifos ikilisi birlikte çalışılmıştır.

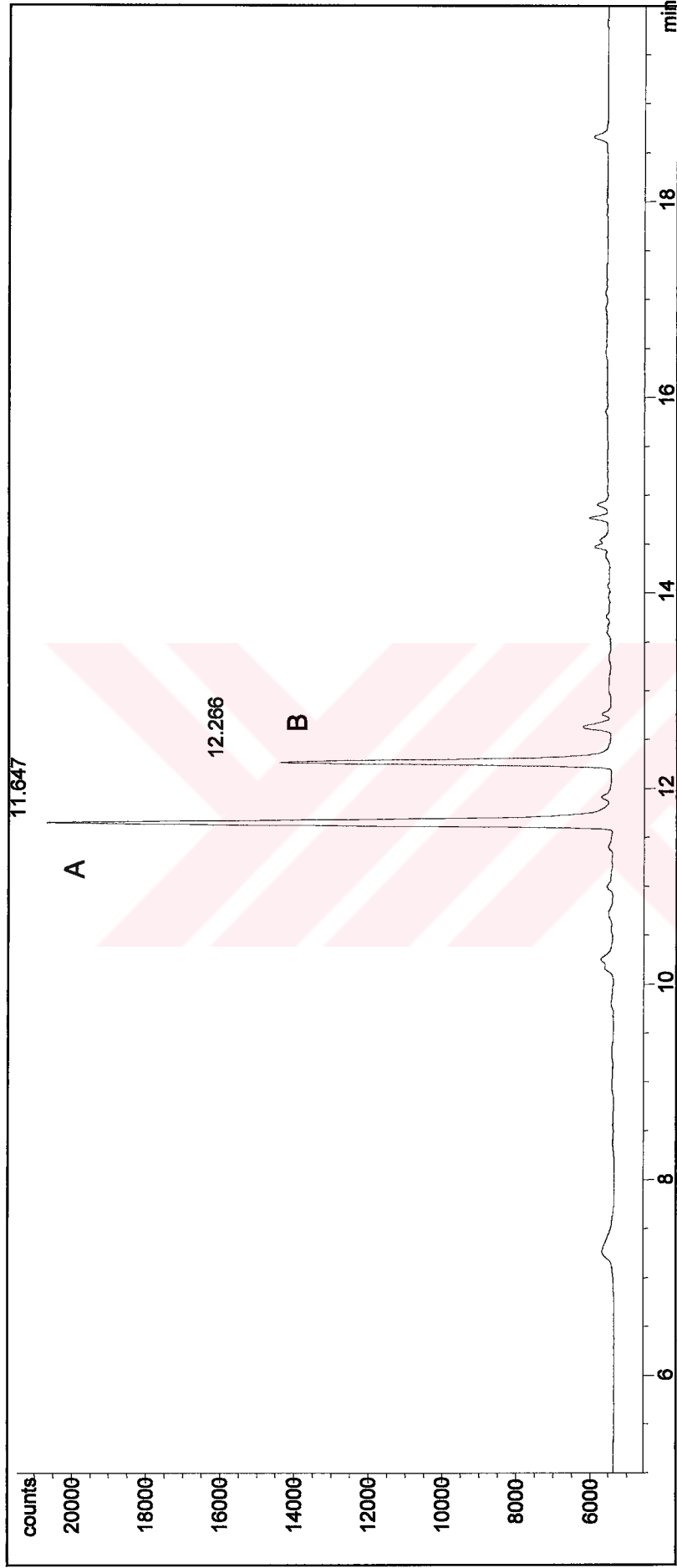
4.6. Isıl İşlemin Pestisit Kalıntılarına Etkisi

Bu çalışmada geleneksel demleme işlemleri dikkate alınarak pestisitlerce zenginleştirilmiş nane, kekik ve ısırgan otundan farklı demleme süreleri uygulanarak çay hazırlanmıştır. Literatürde bu tür demleme işlemlerinde genellikle 2-5 g bitki alınmakta ve 100-300 ml kaynar suda 10-20 dk bekletilmektedir. Bitkilerin yarar sağlayacak fonksiyonel bileşiklerinin kayba uğrayacağı kuşkusuyla kaynatma yapılmamaktadır.

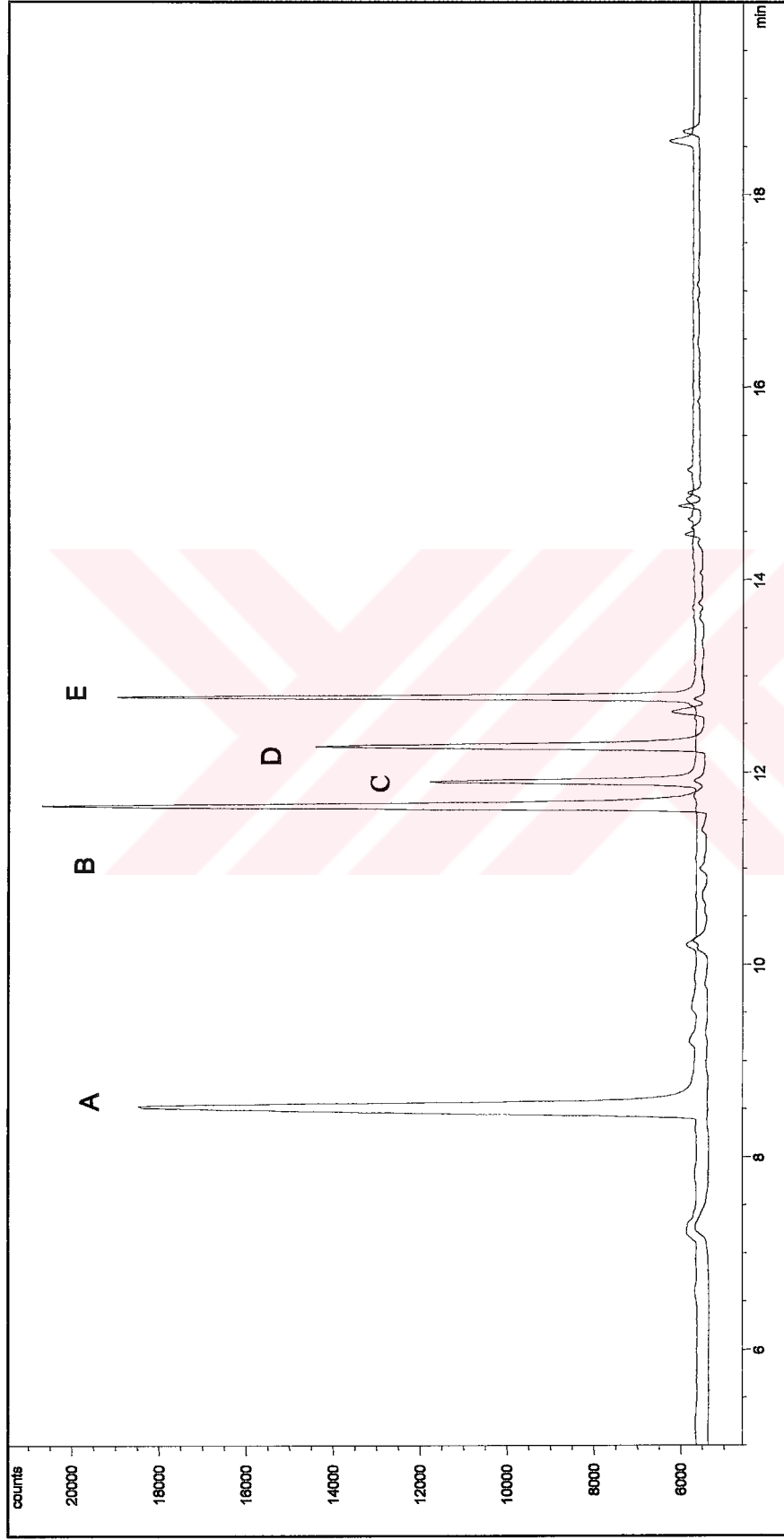
Yerel marketten sağlanan ve pestisit içermediği belirlenen kuru nane, kekik ve ısırgan örnekleri standart pestisit çözeltileriyle Bölüm 3.4.1.'de anlatıldığı gibi zenginleştirilmiştir. Çözücünün uzaklaşması ve pestisidin homojen dağılması için ürün karıştırılarak oda sıcaklığında 15 dk bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 100 ml kaynar su eklenerek farklı demleme sürelerine tabi tutulmuştur.



Şekil 4.2a. Pestisidlere ait kromatogramlar (A: Dimethoat, B: Malathion, C: Pirimifos-etil)



Şekil 4.2b. Pestisidlere ait kromatogramlar (A:Fenitrothion; B:Chlorpyrifos)



Şekil 4.2c. Pestisidlere ait kromatogramlar (A: Dimethoat; B: Fenitrothion; C: Malathion; D: Chlorpyrifos; E: Pirimifos-etil)

Demleme sonunda sıvı kısım süzülerek alınmış, posa ve infüzyon ayrı ayrı analize alınarak üründe kalan ve suya geçen kalıntı miktarları belirlenmiştir.

Wan ve ark. (1991) tarlada pestisit uygulanmış ve laboratuvarında pestisitlerle zenginleştirilmiş yeşil çay örneklerinde demleme ile suya geçen pestisit miktarlarında önemli bir farklılık olmadığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada pestisitlerin iç dokulara nüfuz etmesinin ekstraksiyon oranını çok az etkileyeceği kabul edilmiştir.

4.6.1. Nane

Farklı sürelerde yapılan demleme işlemleri sonunda nane infüzyonunda ve posada kalan pestisit miktarları Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.' de yer almaktadır. Çizelgelerde görüldüğü gibi demleme süresinin artmasına bağlı olarak pestisitlerin suya geçiş oranları zamanla azalma gösterirken (Şekil 4.3.) posadaki kalıntı miktarlarında önemli bir değişiklik olmamıştır. Toplam kayba bakılacak olursa, her bir pestisit için zamanla kaybın arttığı ve her pestisit için bu oranın farklı düzeyde olduğu görülmektedir. Demleme sırasında ısının etkisiyle pestisitlerin parçalandığı, su ile hidrolize uğradığı ve açık bir sistemde çalışıldığı için kısmen buharlaşma ile kayba uğradıkları düşünülmektedir.

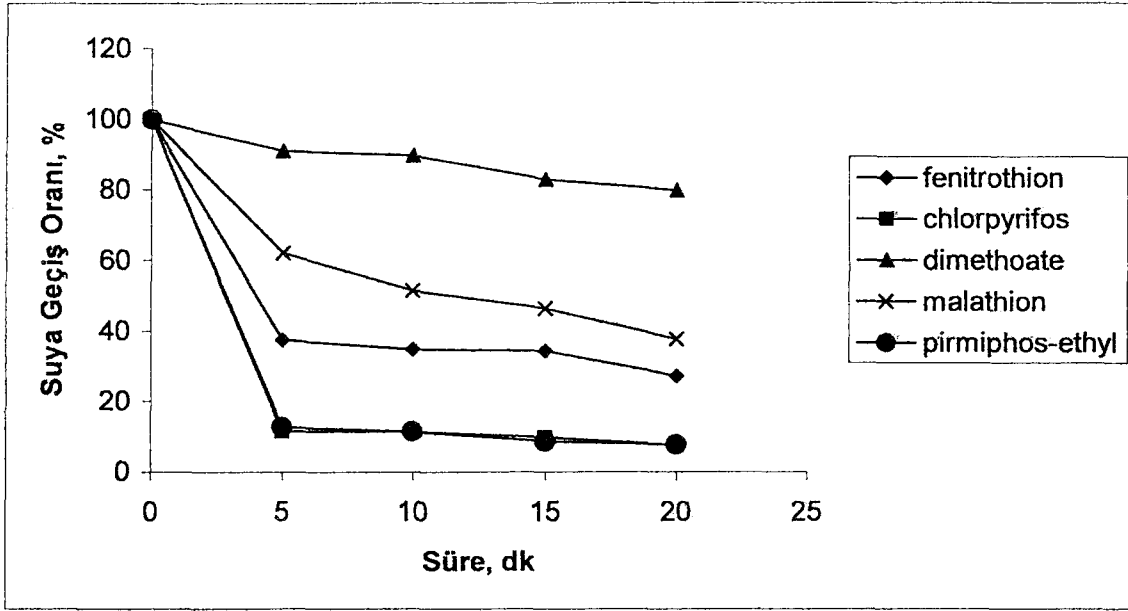
Nagayama (1996) yaptığı çalışmada 2,5,10 dk'lık pişirme sürelerinde, ıspanaktan pişirme suyuna geçen pestisit kalıntı oranlarının zamanla azaldığını rapor etmiştir. Sonuçlarımız bu çalışma ile uyumludur. Bir başka çalışmada siyah çayda 2,5,10 dk'lık demleme sürelerinde, zamanın artmasına bağlı olarak suya geçen pestisit miktarlarının arttığı bildirilmiştir (Jaggi et al., 2001). Bu çalışmada da 5 ve 10 dk'lık demleme sürelerinde suya geçen pestisit miktarları arasında çok büyük bir farklılık gözlenmezken, önemli bir farklılık 5 ve 20 dk'lık demleme uygulanan örnekler arasında belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Nane örneğinde kalıntı miktarları, ppm

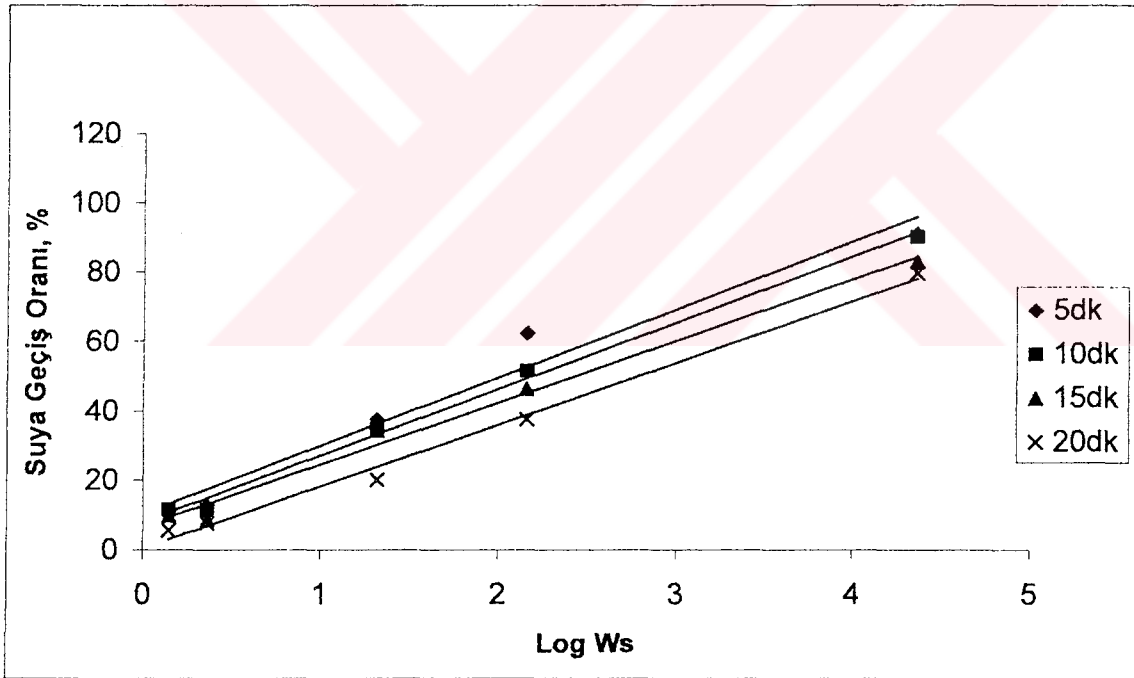
Süre, dk	fenitrothion		chlorpyrifos		dimethoat		malathion		pirimifos-etil	
	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa
5	15,05±0,55	4,56±0,32	4,58±0,48	5,78±0,46	36,45±2,51	3,39±0,71	24,88±1,02	9,32±2,93	5,07±0,20	5,67±1,83
10	13,92±1,52	4,07±0,69	4,59±0,34	4,67±0,49	35,82±4,05	3,99±1,23	20,61±1,82	10,01±2,76	4,60±0,25	5,34±1,25
15	13,67±0,72	4,27±0,14	3,96±0,07	5,03±0,08	33,15±6,57	4,46±1,08	18,54±3,81	11,48±3,92	3,45±0,20	6,00±0,99
20	10,82±0,58	4,23±0,67	2,96±0,58	5,16±0,78	31,91±1,80	4,89±0,61	14,99±2,42	9,88±1,23	3,09±0,41	5,73±1,32

Çizelge 4.4. Nane örneğinde suya geçiş ve toplam kayıp yüzdeleri

Süre, dk	fenitrothion		chlorpyrifos		dimethoat		malathion		pirimifos-etil	
	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %
5	37,6	62,37	11,4	74,01	91	0,52	62,2	8,67	12,7	69,4
10	34,8	55,05	11,5	76,84	89,6	0,45	51,5	17,49	11,5	75,15
15	34,2	55,16	9,9	77,51	82,8	5,98	46,3	14,02	8,6	76,39
20	27,05	71,99	7,39	81,66	79,7	8,01	37,5	37,83	7,7	77,97



Şekil 4.3. Nane örneğinde demleme süresi ve pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri arasındaki ilişki



Şekil 4.4. Nane infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve sudaki çözünürlüklerinin logaritması (Log Ws) arasındaki ilişki

Pestisitlerin suya geçişlerinin, onların fiziko-kimyasal özelliklerinden etkilendiği bilinmektedir. Suyu geçen miktarların pestisitlerin çözünürlükleri (W_s) ile birebir ilişkide olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Chen and Wan, 1988; Wan et al., 1991; Nagayama, 1996; Jaggi et al., 2001).

Bu araştırma kapsamındaki pestisitlere ait bazı fiziko-kimyasal özellikler Çizelge 4.5.' de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Pestisitlerin bazı fiziko-kimyasal özellikleri

Pestisid	Sudaki çözünürlük (mg/L) ^a	Oktan-ol-su dağılım katsayısı ^a	Henry sabiti $H=P_L^s/C_L^s$ (20°C'de) ^b	Fugasite (20°C'de) ^b	Buhar basıncı (Pa) ^b
Chlorpyrifos	1,4	4,7	1,75	0,6	0,0025
Pirimifos-etil	2,3	5	c	c	0,00068 ^a
Fenitrothion	21	3,43	0,0036	1	0,00040
Malathion	145	2,75	0,0023	1	0,0010
Dimethoat	23300	0,7	0,00011	0,48	0,021

^aTomlin, 1994

^bSuntio et al., 1988

^cBildirilmemiştir

40 ppm'lik zenginleştirme ile en yüksek kalıntı 5 dk'lık demleme sonunda, dimethoat ile elde edilmiş (36.45 ppm) buna bağlı olarak üründe kalan minimum miktar yine beş dakikalık demleme sonucu dimethoatta gözlenmiştir. En düşük kalıntı miktarı ise (2.96 ppm) 20 dk'lık demleme sonunda chlorpyrifosda gözlenmiştir. Aynı örneğin posada kalan miktarı ise 5.19 ppm'dir (Çizelge4.3.).

Çizelge 4.5.'den görüldüğü gibi çözünürlük değeri en yüksek olan dimethoat, suya en fazla geçmiştir. Toplam pestisit kaybına bakıldığında en az kaybın yine dimethoat da olduğu saptanmıştır (Çizelge4.3.). Örneklerin sıvı olması nedeniyle dimethoatın evaporasyonla uzaklaşması zordur. Su hacminin düşük olduğu çevre koşullarında pestisit kaybı için evaporasyon önemli bir prosesken, sulu örneklerde evaporasyonla pestisit kaybı ihmal edilecek kadar azdır (Suntio et al., 1988). Suntio ve ark. (1988) nın pestisitlerin buhar basınçlarının çözünürlüğe oranı ile elde ettikleri Henry sabitlerinin (H) birden düşük olduğu durumlarda evaporasyonla uzaklaşmanın çok az olduğu hipotezi bu çalışmada deneysel olarak gösterilmiştir.

Çözünürlük değeri en düşük olan chlorpyrifos, diğerlerine göre suda çok daha az çözünmüştür. Beş dakikalık demleme süresi sonunda sudaki kalıntı miktarı 4.58

ppm'dir. Diğer pestisitlere göre buhar basıncı daha yüksek olan chlorpyrifosun 20 dk demleme sonundaki kaybında (2.96 ppm) evaporasyonun da etkili olduğu düşünülmektedir. Henry sabiti açısından bakıldığında birden daha büyük değere sahip chlorpyrifosun beklenildiği gibi evaporasyonla da kayba uğradığı anlaşılmaktadır.

Pestisitlerin demleme işlemi sırasındaki davranışlarına genel bir yaklaşımda bulunabilmek için suya geçen kalıntı miktarları yüzdeleri ile pestisitlere ait çözünürlük değerleri ve oktanol-su dağılım katsayıları arasındaki ilişki incelenmiştir. Her demleme süresi için suya geçiş yüzdelerine karşı pestisitlerin sudaki çözünürlüklerinin logaritması grafiğe geçirilmiş (Şekil 4.4.) ve her süre için doğrusal ilişkiler gözlenmiştir ($R^2_5=0,969$; $R^2_{10}=0,995$; $R^2_{15}=0,989$; $R^2_{20}=0,993$).

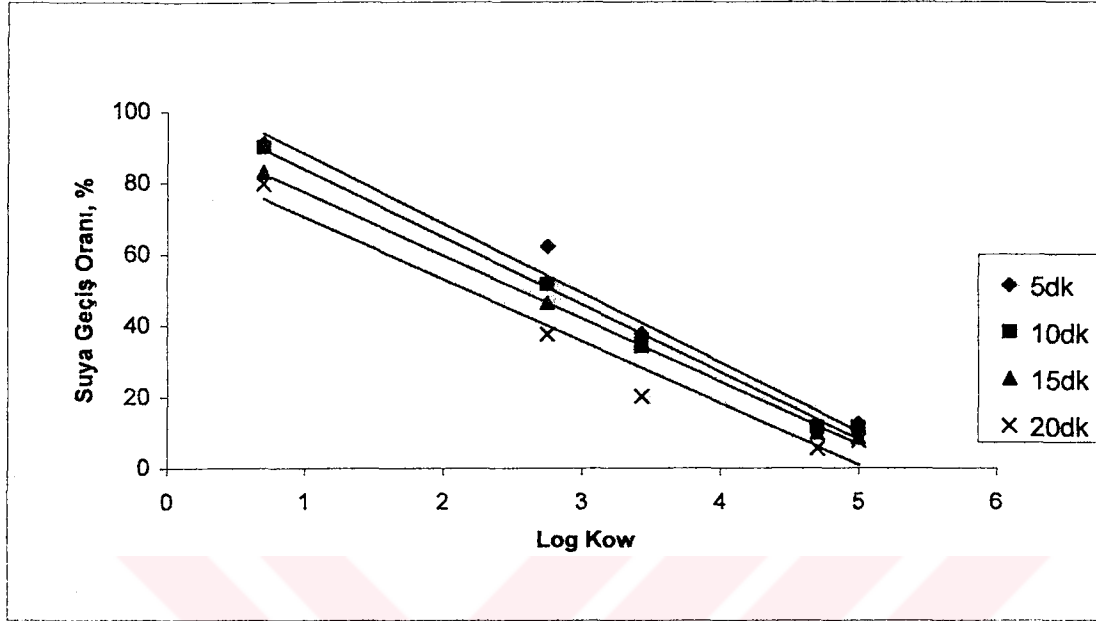
Pestisit kalıntılarının suya geçişi zamanla azalmakla birlikte kalıntı miktarları çözünürlüklerinin logaritması ile doğrusal olarak artmaktadır. Farklı demleme süreleri için eğimlerinin hemen hemen aynı olduğu ($m_5=19,58$; $m_{10}=17,78$; $m_{15}=19,11$; $m_{20}=17,34$) doğrusal ilişkiler gözlenmiştir. Bu da suya geçiş oranlarının çözünürlükle olan ilişkisinin süreden bağımsız olduğunu göstermektedir.

Oktan-ol-su dağılım katsayısı (K_{ow}) bir pestisidin yağdaki çözünürlüğünü göstermektedir. Genellikle K_{ow} değeri 4'ü aşan pestisitler yağda çözünür olarak kabul edilirler. Yüksek K_{ow} değerine sahip bileşiklerin bitki dokularına nüfuz edebilme yetenekleri de yüksektir (Hajslova, 1999).

Her demleme süresi için suya geçiş yüzdelerine karşı pestisitlerin oktan-ol-su dağılım katsayılarının logaritması (K_{ow}) grafiğe geçirilmiş (Şekil 4.5.) ve her süre için doğrusal ilişkiler gözlenmiştir ($R^2_5=0,975$; $R^2_{10}=0,994$; $R^2_{15}=0,998$; $R^2_{20}=0,984$). Suyu geçiş oranları ve çözünürlük ilişkisinin bir benzeri, log K_{ow} değerleriyle de elde edilmiştir. Pestisitlerin K_{ow} değerleri arttıkça suya geçme oranları doğrusal olarak azalmaktadır. Her demleme süresi için K_{ow} değeri ile suya geçiş yüzdeleri arasındaki ilişki hemen hemen birbirine paralel olarak gözlenmiştir.

Benzer ilişkiler Wan ve ark. (1991) tarafından yeşil çaydan hazırlanan demleme suyunda gözlenmiş ve yüzde geçişler ile log W_s arasında doğrusal bir ilişki rapor edilmiştir. Nagayama (1996) yeşil çayda log W_s 'ye karşılık suya geçiş yüzdelerinin logaritması arasındaki ilişkinin doğrusal olduğunu gösterememiş ancak log K_{ow} ile

suya geçişler arasında doğrusal bir ilişki belirlemiştir. Aynı şekilde Jaggi ve ark. (2001) suya geçiş yzdelерinin logaritmasının hem log Ws hem de log Kow ile doğrusal ilişkide olduğunu bildirmişlerdir.

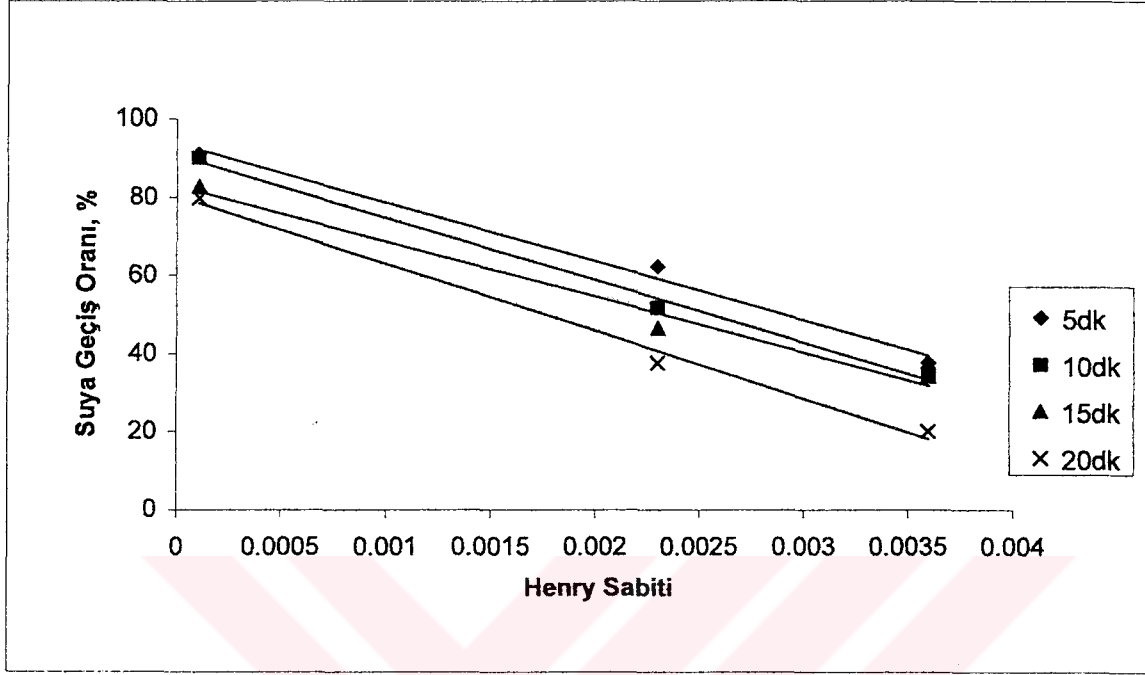


Şekil 4.5. Nane infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve oktanol-su dağılım katsayısı (Log Kow) arasındaki ilişki

Bu ilişkilere ek olarak suya geçiş yzdelерinin pestisitlerin Henry sabitleri ile ilişkisi de irdelenmiştir. Dimethoat, fenitrothion ve malathionun Henry sabitlerine karşı her demleme süresi için suya geçiş yzdelерinin incelendiği grafikte (Şekil 4.6.) her süre için doğrusal ilişkiler gözlenmiştir ($R^2_5=0,990$; $R^2_{10}=0,994$; $R^2_{15}=0,982$; $R^2_{20}=0,992$). Pestisitlerin Henry sabitleri arttıkça suya geçme oranları doğrusal olarak azalmaktadır. Chlorpyrifos Henry sabiti birden büyük olduğu için (izelge 4.5.) bu grafikte yer almamış ancak beklenildiği gibi, Henry sabiti en büyük olduğundan suya en az oranda geçmiştir.

Pirimifos-etil için bir Henry sabiti değeri bildirilmemiştir. Sudaki znrlğ ve oktanol-su dağılım katsayısı chlorpyrifosa oldukça yakın olan pirimifos-etil suya geçiş ve toplam kayıp açısından incelendiğinde chlorpyrifosa benzer bir eğilim izlemektedir. Bu yüzden bu pestisidin de Henry sabitinin birden büyük olabileceği düşünülmektedir.

Literatürde yer alan çalışmalarda, pestisitlerin suya geçiş oranları ve pestisit kayıplarının fugasite ve uçuculuk oranlarına bağlı olabileceği üzerinde durulurken, Henry sabitinin etkisi incelenmemiştir.



Şekil 4.6. Nane infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve Henry sabitleri arasındaki ilişki

4.6.2. Kekik

Kekik infüzyonunda ve posasında farklı demleme sürelerinde saptanan pestisit kalıntı miktarları Çizelge 4.6. ve Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Çizelgelerde ve Şekil 4.7.'de görüldüğü gibi, demleme süresinin artmasına bağlı olarak pestisitlerin suya geçiş oranları genellikle azalma gösterirken, posadaki kalıntı miktarları genel bir eğilim izlememektedir.

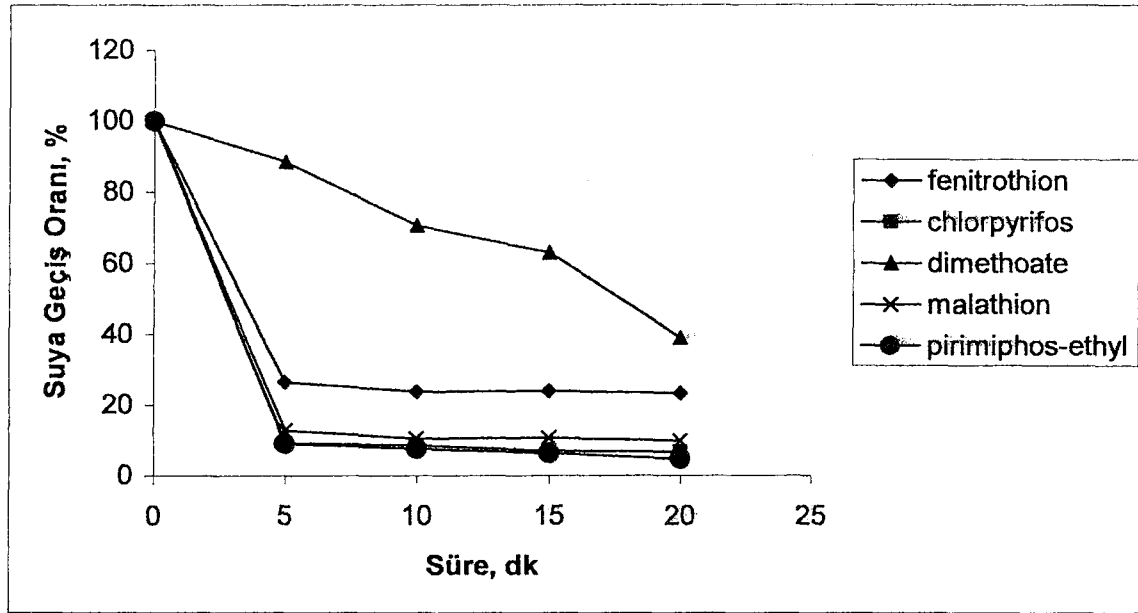
Uygulanan 40 ppm'lik zenginleştirmeye en yüksek kalıntı, nane infüzyonuna benzer şekilde 5 dk'lık demleme sonunda çözünürlüğü en yüksek olan dimethoat için elde edilmiştir. En düşük kalıntı miktarı 20 dk sonunda nane örneklerinde chlorpyrifos için saptanırken kekik örneğinde pirimifos-etil için belirlenmiştir. İki pestisidin benzer fiziko-kimyasal özellikleri göz önüne alındığında, bu beklenen bir sonuçtur. Çözünürlük değerleri diğerlerine göre düşük olan chlorpyrifos ve pirimifos-etil en az oranda suya geçmişlerdir.

Çizelge 4.6. Kekik örneğinde kalıntı miktarları, ppm

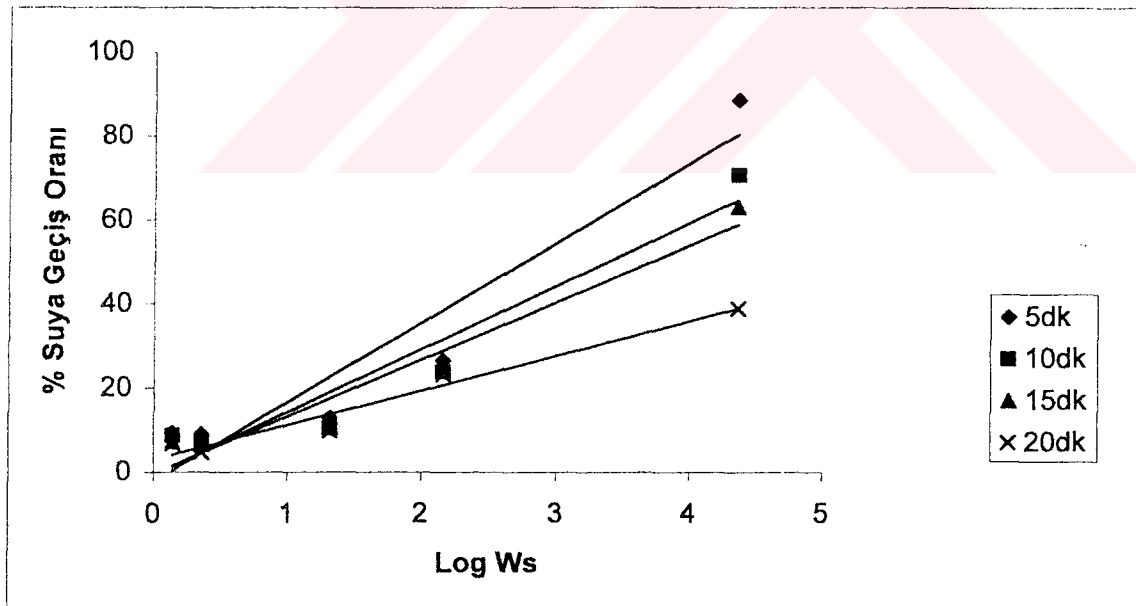
Süre, dk	fenitrothion		chlorpyrifos		dimethoat		malathion		pirimifos-etil	
	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa
5	10,61±0,34	2,34±0,44	3,73±0,22	3,83±1,06	35,40±2,17	1,87±0,69	5,15±0,40	0,43±0,25	3,60±0,58	2,65±0,15
10	9,53±1,23	2,72±0,15	3,51±0,93	4,95±0,60	28,26±4,68	2,06±0,87	4,20±0,23	1,02±0,06	3,02±0,19	3,98±0,07
15	9,60±0,17	3,17±0,28	2,85±0,18	4,53±0,18	25,19±1,03	1,45±0,59	4,28±0,13	0,66±0,16	2,57±0,03	2,70±0,45
20	9,29±0,81	2,41±0,33	2,70±0,26	3,66±0,35	15,52±4,97	2,30±0,25	3,90±0,04	0,79±0,08	1,87±0,08	2,80±0,14

Çizelge 4.7. Kekik örneğinde suya geçiş ve toplam kayıp yüzdeleri

Süre, dk	fenitrothion		chlorpyrifos		dimethoat		malathion		pirimifos-etil	
	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %
5	26,5	67,6	9,3	81,1	88,5	6,8	12,9	86,0	9,0	84,4
10	23,8	69,4	8,8	78,9	70,6	24,2	10,5	86,9	7,6	82,5
15	24,0	68,1	7,1	81,5	63,0	33,4	10,7	87,6	6,4	86,8
20	23,2	70,8	6,8	84,1	38,8	55,5	9,8	88,3	4,7	88,3



Şekil 4.7. Kekik örneğinde demleme süresi ve pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri arasındaki ilişki



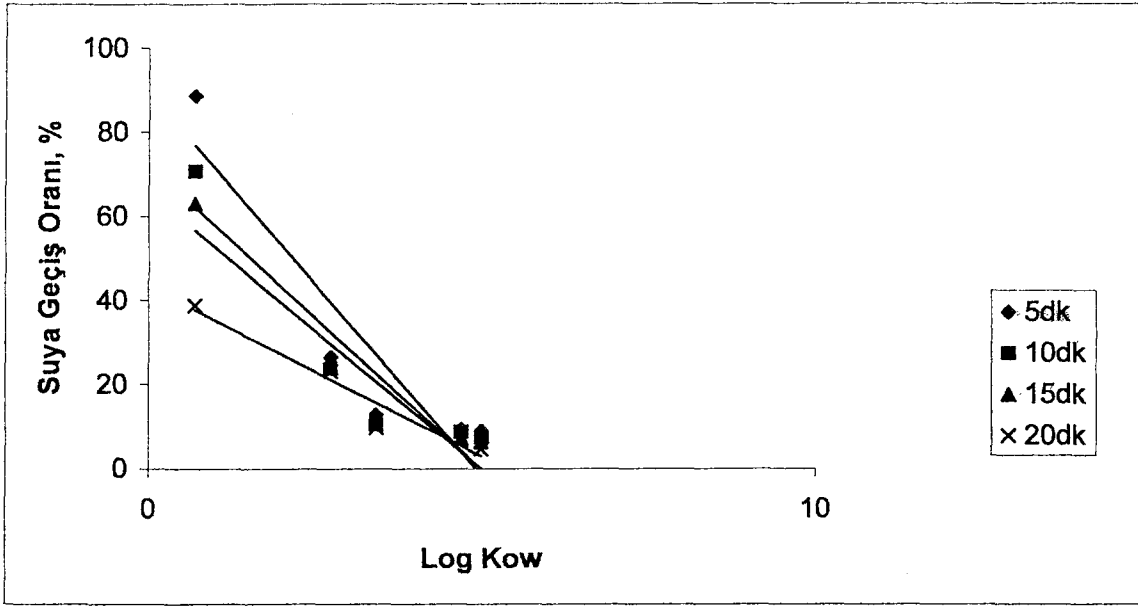
Şekil 4.8. Kekik infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve sudaki çözünürlüklerinin logaritması (Log Ws) arasındaki ilişki

Toplam kayıp oranları incelendiğinde, genellikle, zamanla kaybın arttığı ve her pestisit için bu oranın farklı olduğu görülmektedir. Yirmi dakika sonundaki toplam kayba bakıldığında, fenitrothion, pirimifos-etil ve chlorpyrifos kaybı nane infüzyonunda alınan sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Aynı süre sonunda dimethoat ve malathion nane infüzyonlarında daha yüksek kalıntı bırakırken, kekik infüzyonlarındaki kalıntıları görece olarak düşüktür.

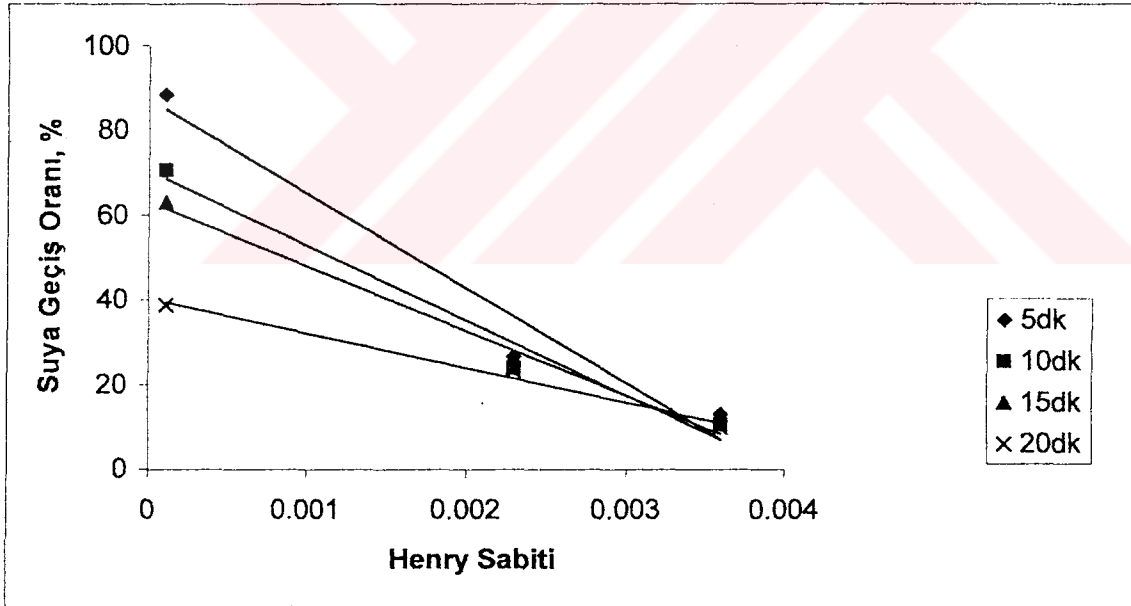
Şekil 4.8'de her demleme süresi için kekik suyuna geçen kalıntılar ile pestisitlerin çözünürlük değerleri arasındaki ilişki verilmektedir. Pestisit kalıntılarının suya geçişi zamanla azalmakla birlikte sudaki kalıntı miktarları, çözünürlüklerinin logaritması ile doğrusal olarak artmaktadır. Her bir demleme süresi için kurulan ilişkinin R^2 değerleri $R^2_5=0,910$; $R^2_{10}=0,919$; $R^2_{15}=0,946$; $R^2_{20}=0,962$ şeklindedir. Kekik infüzyonlarında, dimethoate dışında demleme sıcaklığı ve süresine bağlı olarak pestisitlerin suya geçişlerinde çok büyük bir azalma gözlenmediği bu grafikte de ortaya konulmuştur.

Şekil 4.9'da kekik çayında her demleme süresi için suya geçen kalıntılar ile pestisitlerin Kow değerleri arasındaki ilişki görülmektedir. Regresyon katsayılarına bakılarak ($R^2_5=0,860$; $R^2_{10}=0,870$; $R^2_{15}=0,902$; $R^2_{20}=0,945$) bu ilişkilerin doğrusal olduğuna karar verilememiştir. Kow değerleri artarken, pestisit kalıntılarının suya geçiş oranının zamanla azaldığı deneysel olarak gösterilmiştir.

Henry sabitleriyle suya geçiş yüzdeleri arasında kurulan ilişkide de (Şekil 4.10), Henry sabitleri arttıkça suya geçme oranlarının doğrusal olarak azaldığı gözlenmiştir. Her bir demleme süresi için kurulan ilişkilerin R^2 değerleri $R^2_5=0,958$; $R^2_{10}=0,973$; $R^2_{15}=0,983$; $R^2_{20}=0,989$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.9. Kekik infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve oktanol-su dağılım katsayısı (Log Kow) arasındaki ilişki



Şekil 4.10. Kekik infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve Henry sabitleri arasındaki ilişki

4.6.3. Isırgan otu

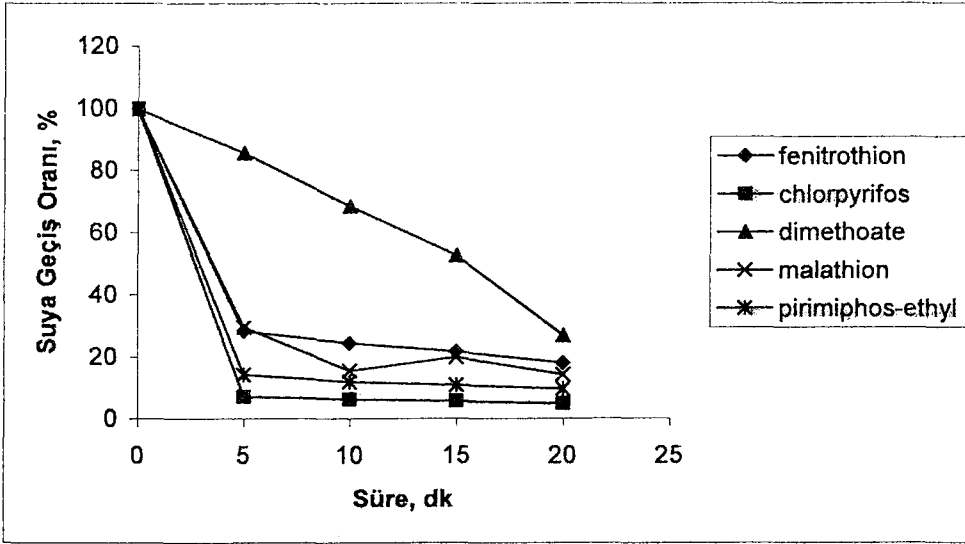
Geleneksel olarak ısırgan otu hem taze bitkiden hazırlanan suyu şeklinde hem de kuru yapraklarından hazırlanan infüzyon olarak tüketilmektedir. Bu çalışmada araştırma kapsamındaki pestisitleri içermeyen kuru ısırgan otu deney materyali olarak kullanılmıştır. Isırgan otu daha önce belirtildiği gibi, pestisitlerce zenginleştirilmiş ve diğer örneklerde olduğu gibi demleme işlemine tabi tutulmuştur. Isırgan infüzyonunda ve posasında farklı demleme sürelerinde elde edilen pestisit kalıntı miktarları Çizelge 4.8. ve 4.9.'da verilmiştir.

Çizelge 4.8. Isırgan örneğinde kalıntı miktarları, ppm

	fenitrothion		chlorpyrifos		dimethoat		malathion		pirimifos-etil	
Süre, dk	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa	infüzyon	posa
5	11,36±2,06	2.99±0.51	2.93±0.36	2.05±0.32	34.24±3.43	4.36±0.54	11.84±1.73	5.86±0.47	5.75±0.95	2.31±0.01
10	9.80±1.21	2.57±0.26	2.56±0.09	1.66±0.05	27.37±1.29	3.95±0.29	6.21±0.47	6.40±0.46	4.82±0.71	2.64±0.38
15	8.71±1.53	2.30±0.44	2.29±0.16	1.84±0.15	26.66±1.47	2.64±0.23	3.97±0.26	4.66±0.86	4.37±0.20	1.82±0.03
20	7.22±1.76	1.85±0.23	1.98±0.11	1.82±0.29	10.75±2.52	3.03±0.61	5.77±1.62	6.08±1.85	3.94±1.07	2.64±0.63

Çizelge 4.9. Isırgan örneğinde suya geçiş ve toplam kayıp yüzdeleri

	fenitrothion		chlorpyrifos		dimethoat		malathion		pirimifos-etil	
Süre, dk	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %	Suya Geçiş, %	Toplam Kayıp, %
5	28.4	64.13	7.3	87.58	85.6	3.51	29.6	55.75	14.4	79.84
10	24.5	69.09	6.4	89.46	68.4	21.73	15.5	68.51	12.1	81.29
15	21.8	72.16	5.7	89.71	52.6	40.79	19.9	68.45	10.9	84.55
20	18.1	77.27	4.9	90.56	26.9	65.53	14.4	70.41	9.8	83.59



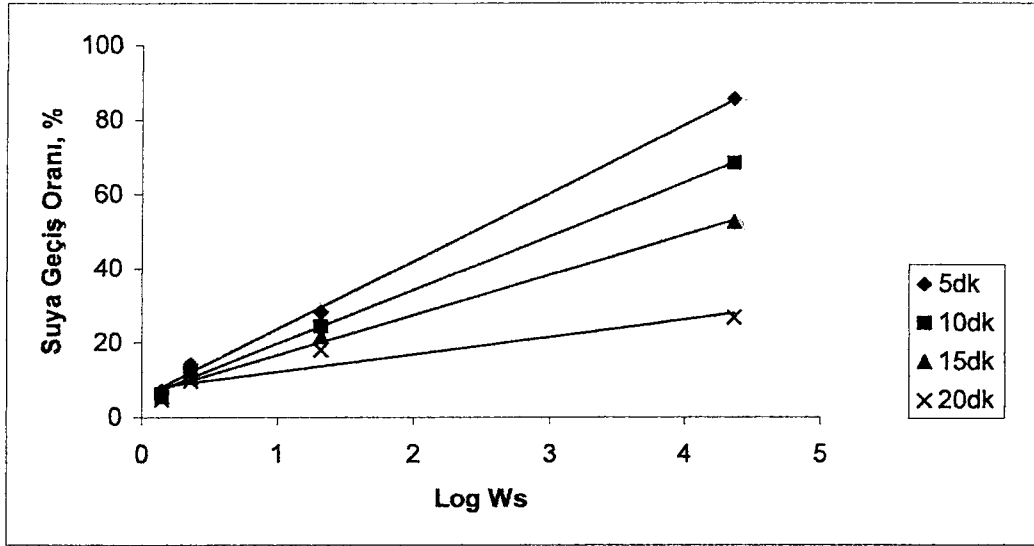
Şekil 4.11. Isırgan örneğinde demleme süresi ve pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri arasındaki ilişki

Çizelgelerden ve Şekil 4.11.'den görüldüğü gibi, ısırgan suyunda da pestisitler diğer örneklerle benzer bir eğilim göstermişlerdir. Yine suya en fazla geçen pestisit, çözünürlüğü en yüksek olan dimethoate olmuştur, 20 dk sonunda suya geçen kalıntı miktarlarında en büyük azalma bu pestisitle gerçekleştirilmiştir. Toplam kayıplar incelendiğinde zamanla kayıpların arttığı, suya geçen miktarlarda ise bir azalma olduğu gözlenmiştir.

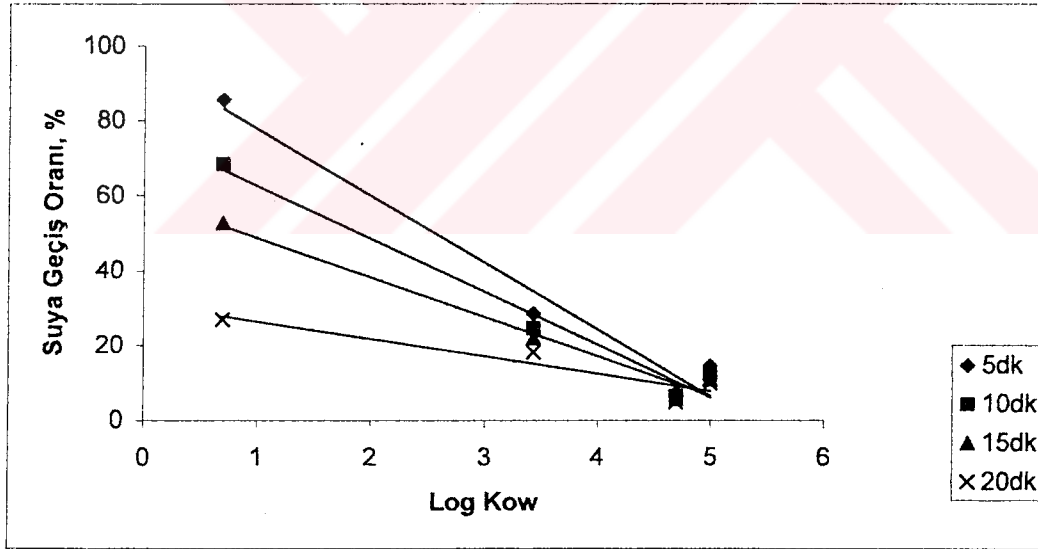
Çalışmanın bu kısmında da ısırgan infüzyonuna geçen kalıntılar ve pestisitlerin çözünürlükleri arasında bir ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Pestisitlerin sudaki çözünürlükleri arttıkça yüzde geçiş oranları artmaktadır. Bu ilişki malathion hariç diğerleri için doğrusal elde edilmiştir (Şekil 4.12.). Her demleme süresi için regresyon katsayıları, $R^2_5=0,998$; $R^2_{10}=0,999$; $R^2_{15}=0,995$; $R^2_{20}=0,887$ olarak bulunmuştur.

Benzer şekilde, pestisitlerin log Kow değerleri ile suya geçen kalıntı miktarları arasında da malathion hariç doğrusal bir ilişki saptanmıştır ($R^2_5=0,967$; $R^2_{10}=0,971$; $R^2_{15}=0,972$; $R^2_{20}=0,885$). Kow değeri küçük olan pestisitler daha fazla oranda suya geçmişlerdir (Şekil 4.13.).

Henry sabitleri suya geçen miktarlar arasındaki ilişki bu kısımda da incelenmiştir. Ancak bu ilişki doğrusal bulunmamakla birlikte, Henry sabiti küçük olan pestisidin daha fazla oranda suya geçtiği prensibi bozulmamıştır.



Şekil 4.12. Isırgan infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve sudaki çözünürlüklerinin logaritması (Log Ws) arasındaki ilişki



Şekil 4.13. Isırgan infüzyonunda pestisitlerin suya geçiş yüzdeleri ve oktanol-su dağılım katsayısı (Log Kow) arasındaki ilişki

4.7. Doğal Kurutmanın Pestisit Kalıntılarına Etkisi

Yerel pazardan sağlanan ve araştırılan pestisitleri içermediği belirlenen taze nane örnekleri iki kısma ayrılmış, ilki 100 ppm 500 ml pestisit çözeltisi (fenitrothion ve chlorpyrifos) ile, ikincisi 100 ppm 500 ml pestisit çözeltisi (malathion, pirimifos-etil, dimethoat) ile sürekli karıştırılarak spreyleneştir. Çözücünün uzaklaşması için bir saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra örnekler ilk gün analizine alınmışlardır. Laboratuvar ortamında on gün süreyle gerçekleştirilen doğal kurutma sırasında iki günlük periyotlarla örneklerde kalıntı ve kuru madde analizleri yapılmıştır.

İlk uygulamadan sonra ve kurutma işlemi sırasında ürünlerdeki pestisit kalıntıları Çizelge 4.10.'da verilmiştir. On günlük kurutma periyodu sonunda yüzde kayıplar açısından pestisitler arasında çok büyük kayıp gözlenmemiş en yüksek kayıp chlorpyrifosta %92,73, en düşük dimethoatta %89,13 oranında gerçekleşmiştir.

Genelde kayıpların yaklaşık %50 sinin ilk altı günlük sürede olduğu, sekizinci günün sonunda da kalıntı konsantrasyonlarının belli bir stabiliteye ulaştığı gözlenmiştir. Bu, ürünlerdeki nem kaybının da en yüksek olduğu dönemdir (Çizelge 4.11.). Oda sıcaklığının $17\pm 2^{\circ}\text{C}$ olduğu kurutma koşullarında kuru madde miktarında altıncı günden sonra belli bir stabiliteye ulaşıldığı gözlenmiştir. Bu nedenle de kurutma işlemi on günlük bir periyotla sınırlı kalmıştır.

Bazı araştırmacılar tarafından kurutma sırasında üründen pestisitlerin uzaklaşmasında fizikokimyasal özelliklerin etkili olduğu rapor edilmiştir (Cabras et al., 1998a,b; Hajslova, 1999).

Buhar basınçları açısından bakıldığında (Çizelge 4.5.), bu çalışmada kullanılan pestisitler en yüksekten en düşüğe doğru dimethoat >chlorpyrifos >malathion >fenitrothion >pirimifos-etil şeklinde sıralanmaktadır. Kurutma sonunda kalıntı miktarlarına bakıldığında, en yüksek değerler fenitrothion ve pirimifos-etilde gözlenmiştir. Benzer buhar basıncına sahip malathion ve chlorpyrifos kalıntıları için kurutma sonunda birbirlerine çok yakın değerler bulunmuştur. En yüksek buhar basınçlı ve başlangıç konsantrasyonu en düşük olan dimethoat kurutma sonunda en az kalıntı bırakan pestisittir. Bu sonuçlardan kalıntıların pestisitlerin buhar basınçlarıyla bire bir ilişkide olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.10. Kurutma ile pestisit kalıntı miktarlarındaki değişim

	Fenitrothion		Chlorpyrifos		Dimethoat		Malathion		Pirimifos-etil	
Süre, gün	Konsant-rasyon, ppm	Kayıp, %	Konsant-rasyon, ppm	Kayıp, %	Konsant - rasyon, ppm	Kayıp, %	Konsant-rasyon, ppm	Kayıp, %	Konsant-rasyon, ppm	Kayıp, %
0	165,57±1,22	0	126,16±0,19	0	43,56±0,68	0	99,89±2,94	0	124,24±3,76	0
2	150,64±5,40	9,02	80,18±0,99	36,44	40,91±1,94	6,07	91,21±1,83	8,69	110,90±2,55	10,73
4	76,91±6,44	53,55	36,99±3,44	70,68	29,48±2,76	20,9	60,45±3,25	39,48	94,69±5,09	23,78
6	29,49±3,35	82,19	29,36±2,06	76,73	4,14±0,48	88,9	23,69±1,88	76,29	54,23±1,97	56,35
8	17,79±4,62	89,25	10,51±1,88	91,67	4,11±0,03	88,96	9,30±0,31	90,69	13,82±0,36	88,88
10	13,72±1,19	91,72	9,17±0,24	92,73	4,05±0,15	89,13	8,74±0,31	91,25	12,47±0,34	89,96

Çizelge 4.11. Nandedeki nem değişimi

Süre, gün	0	2	4	6	8	10
Nem,	85	52,67	10,38	9,53	9,74	9,47
%	85	61,59	13,95	11,44	11,62	11,33

Cabras ve ark. (1998b) taze ve kurutulmuş kayısıdaki kalıntı miktarlarını belirledikleri çalışmada fenitrothionun kurutma sonunda tümüyle kaybolduğu, dimethoatta ise değişiklik olmadığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada dimethoat en düşük kalıntı konsantrasyonuna sahip pestisit olarak görülse de başlangıç konsantrasyonuna bakıldığında en az kayba uğrayan pestisit olduğu açıktır. Fenitrothionda son kalıntı miktarı yüksek olmakla birlikte başlangıçtan beri azalmaya bakıldığında kaybın %92'ye yakın olduğu bu da sonuçlarımızın Cabras ve ark.'nın sonuçları ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Pestisitlerin azalmasının kinetiğini belirlemek üzere pestisit konsantrasyonları zamana karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.14.). Kurutma sırasında üründe pestisitlerin yarılanma ömrü regresyon analizi kullanılarak hesaplanmıştır.

Şekil 4.14.'de fenitrothion, malathion, chlorpyrifos, dimethoat ve pirimifos-etilin kaybolma hızlarının birinci derece reaksiyon kinetiğini izlediği korelasyon katsayılarına bakılarak belirlenmiştir ($R^2_{fen}=0,969$; $R^2_{chl}=0,971$; $R^2_{mal}=0,955$; $R^2_{dim}=0,916$; $R^2_{pir}=0,908$). Bu pestisitlere ait bozulma hızı sabitleri (k) birinci derece kinetik hız eşitliğinden hesaplanmıştır:

$$C_t = C_0 e^{-kt}$$

C_t = Herhangi bir andaki konsantrasyon, ppm

C_0 = Başlangıç konsantrasyonu, ppm

k = Reaksiyon hız sabiti, gün⁻¹

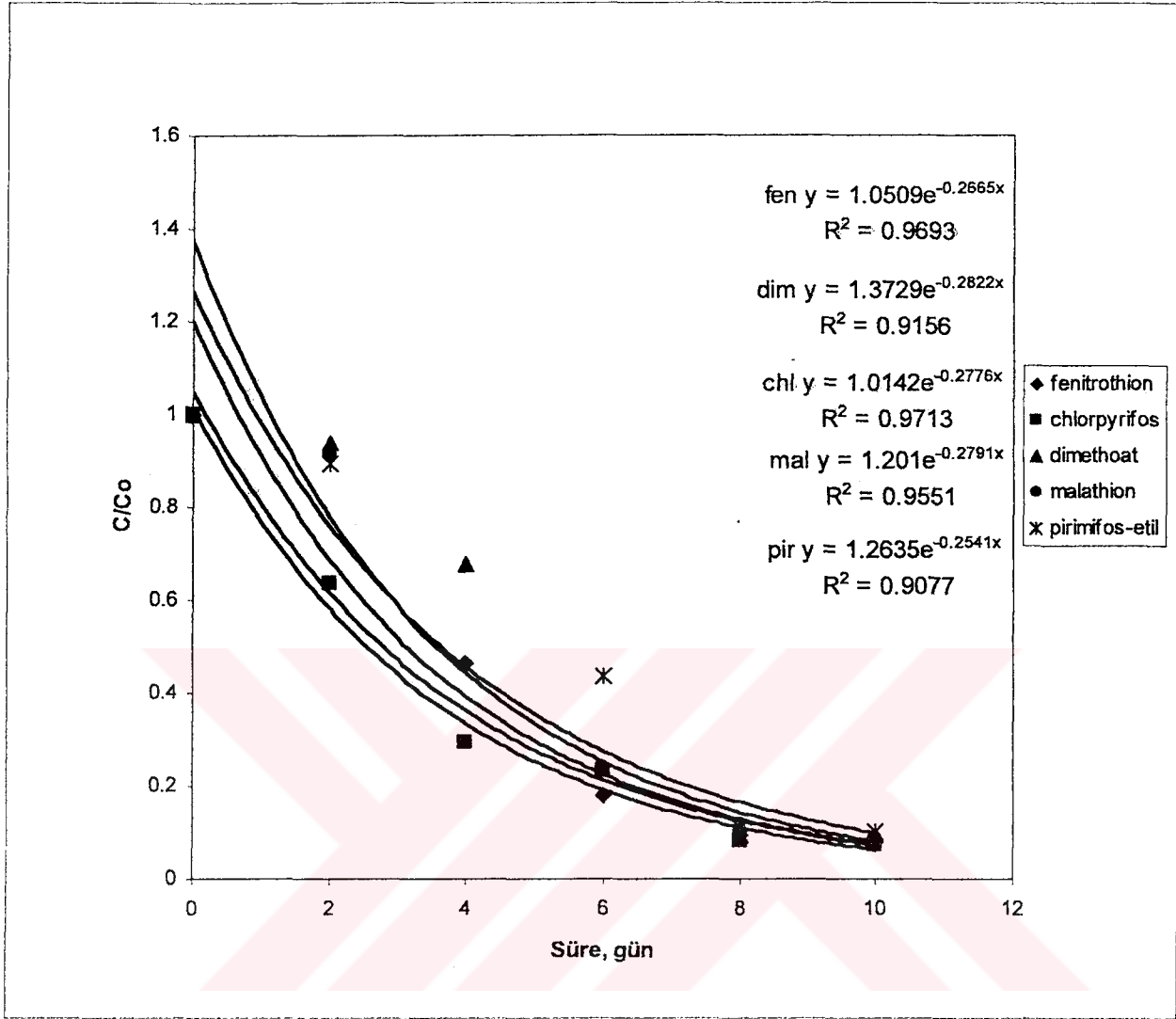
t = Zaman, gün

Pestisitlerin yarılanma ömürleri $t_{1/2} = [\ln(0.5)]/k$ eşitliğine göre belirlenmiştir.

Fenitrothion için en büyük kayıp deneyin altıncı gününde belirlenmiştir. Yarılanma ömrü 3 gün olarak hesaplanmıştır. En hızlı azalmayı gösteren chlorpyrifos için en büyük kayıp dördüncü günde gözlenmiştir. Yarılanma ömrü 2.5 gün olarak hesaplanmıştır. Malathionda da fenitrothiona benzer şekilde en büyük kayıp altıncı günde tespit edilmiştir ve yarılanma ömrü 3 gündür. Pirimifos-etil, en düşük buhar basıncına sahip pestisit olarak (Çizelge 4.5.) en uzun yarılanma ömrüne (3,5 gün) sahiptir. On günlük kurutma süresince, diğer pestisitlerde olduğu gibi 8. ve 10. günlerde azalmanın hızı yavaşlamış, kalıntı miktarı belli bir stabiliteye ulaşmıştır.

En düşük azalmanın gözleendiği dimethoatta yarılanma ömrü yaklaşık 3,5 gün olarak hesaplanmıştır. Kalıntı miktarları altıncı günün sonunda stabil bir değere ulaşmış ve işlemin sonuna kadar bu değer değişmemiştir.

Bu çalışmada kurutma işlemi ile kuru madde miktarının artmasına bağlı olarak pestisit kalıntı miktarlarının yüksek bulunabileceği beklentisinin tersine son ürünlerdeki kalıntı miktarları kuru madde üzerinden değerlendirildiğinde başlangıça göre oldukça düşüktür. Kurutmanın sonunda kuru madde konsantrasyonu yaklaşık 8 kat artarken, kalıntıdaki gerçek azalma, başlangıcın yaklaşık 10 katı kadardır.



Şekil 4.14. Kurutma sırasında pestisit konsantrasyonlarındaki değişim

Bütün pestisitler için, doğal kurutmada yarılanma ömrü 2,5-3,5 gün aralığındadır. Nerede pestisit kalıntılarının kurutma ile kaybı pestisitlerin buhar basınçlarından etkilenmesinin yanı sıra büyük ölçüde kuruma sırasında nemle birlikte buharlaşma sonucu gerçekleşmiştir.

4.8. Uçucu Yağ Ekstraksiyonunun Pestisit Kalıntılarına Etkisi

Çalışmanın bu kısmında uçucu yağ üreten Doğtab Doğacı & Gültabsan Ltd.Şti.'nden (Antalya) sağlanan ve %3 yağ içerdiği belirtilen yabani kekik örneklerinden buhar distilasyonu ile kekik yağı elde edilmiştir. Buhar distilasyonu

için, buharın geçişine izin veren bir örnek haznesinin yer aldığı özel bir distilasyon balonu kullanılmıştır.

Distilasyon balonu bir kondansöre bağlanmış ve distilat kondansörün ucuna yerleştirilen bir balonda toplanmıştır. Kapalı bir sistem oluşturulmaya çalışılsa da bağlantı yerlerinden yoğun bir buhar kaybı gözlenmiş bu nedenle de uçucu yağ verimimiz %1 ile sınırlı kalmıştır. Yağ ekstraksiyonu için pestisitlerle zenginleştirilen 100 g kekik, örnek haznesi hacminin küçük olması nedeniyle 10 g'lık parçalar halinde işleme alınmıştır. İşlem süresi ön denemelerle belirlenmiş yağ miktarında daha fazla bir artışın olmadığı süre (buharlaşıma başladıktan sonra 10 dk) optimum olarak alınmıştır.

Çalışmanın bu kısmında da, alıkonma zamanı birbirine yakın olan pestisitlerin pik alanlarının hesaplanmasında bir hataya yol açmamak için, malathion ve pirimifos-etil birlikte, fenitrothion ve chlorpyrifos birlikte çalışılmıştır. 100 g örnek, 10 ml 250 ppm pestisit çözeltisiyle (son konsantrasyon 100 ppm olacak şekilde) zenginleştirilmiş yarım saat sürekli karıştırılarak çözeltinin bitkide homojen olarak dağılması sağlanmış ve daha sonra uçucu yağ elde edilmiştir.

Yağ örneğinde kalıntı miktarlarının analizi için standart yöntem modifiye edilmiştir. FDA'nın pestisit analiz kılavuzunda yağ örneklerinin GPC'de temizlenmesi için, hazırlanacak çözeltide yağ miktarının 1/5'i geçmemesi gerektiği belirtilmektedir (FDA, 2000). Benzer bir çalışma İngiliz Tarım Bakanlığı Laboratuvarları'nda yapılmış, yağ örnekleri GPC'den önce yıkama çözeltisiyle (etil asetat+sikloheksan, 1+1) 1/5 oranında seyreltilmiştir (MAFF, 1992).

Bu çalışmalara benzer şekilde, 1 g elde edilen yağ önce yıkama çözeltisiyle 5 ml'ye seyreltilmiş ancak gaz kromatografide elde edilen kromatogram çok yoğun olduğu için seyreltme hacmi 25 ml'ye çıkartılmıştır.

Çizelge 4.12.' de pestisitlerce zenginleştirilmiş yabancı kekikten buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda ve üründe kalan pestisit kalıntıları verilmektedir. Organofosforlu pestisitler, organoklorlu pestisitlerle karşılaştırıldığında yağda daha az çözünen bileşikler olmakla birlikte uçucu yağa geçtikleri Çizelge 4.12'den görülmektedir.

Çizelge 4.12. Uçucu yağda ve posadaki pestisit miktarları, ppm

Fenitrothion		Chlorpyrifos		Malathion		Pirimifos-etil	
Yağ	Posa	Yağ	Posa	Yağ	Posa	Yağ	Posa
5,84±0,38	6,15±1,41	5,73±0,73	8,25±0,35	4,57±0,45	7,34±0,88	4,73±0,41	4,87±0,52

Literatürde uçucu yağlarda pestisit kalıntıları ile ilgili pek fazla çalışmaya rastlanılmamış, yalnızca nanceden distilasyonla elde edilen yağın, bitkidekinin 200 katı kadar kalıntı içerebileceği iddia edilmiştir (Zuin and Vilegas, 2000).

Yağa işlemenin etkisi genellikle yemeklik, bitkisel yağlar (zeytinyağı, soya yağı) da çalışılmış, ekstraksiyon, rafinasyon, ağartma, deodorizasyon gibi işlem basamaklarının kalıntılar üzerine etkisi incelenmiştir (Miyahara and Saito, 1993; Cabras et al., 1997a).

Çalışma sonuçlarımızı karşılaştırabileceğimiz bir araştırma sonucu bulunamadığından, bitkisel yağlara 200°C'de uygulanan deodorizasyon işleminin sonuçlarıyla benzerlik kurulmaya çalışılmıştır. Zeytinyağı ve soya yağıyla yapılan üç farklı çalışmada da en yüksek pestisit kaybının deodorizasyondaki yüksek sıcaklığın etkisiyle gerçekleştiği rapor edilmiştir (Miyahara and Saito, 1993; Cabras et al., 1997a; Gözek et al., 1999).

Buhar distilasyonu ile yüksek sıcaklıklara çıkılmasa da 100 ppm'lik zenginleştirme ile her pestisitte yaklaşık %95 oranında kayıplar gözlenmiştir.

Gözek ve ark. (1999)'nın zeytinyağı ile çalışmasında deodorizasyon aşamasının son üründe %4.4 oranında kalıntı bıraktığı belirtilmektedir. Benzer bir kalıntı miktarına ulaştığımız araştırmamızda kaybın nedeni %1'lik düşük yağ verimi olabilir. %3 oranında uçucu yağ içeren örneğin %2'lik kısmı evapore olarak uzaklaşırken pestisit kalıntılarının önemli bir kısmının da bununla birlikte ayrıldığı düşünülmektedir. Pestisitlerin fiziko-kimyasal özellikleri (log Ws, log Kow ve buhar basıncı) ile kalıntı miktarları arasında bir ilişki kurulamamış, her bir pestisit için benzer kalıntı oranları elde edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Laboratuvar koşullarında pestisitlerle zenginleştirilen ürünlerde kalıntıların dokuya nüfuz edemedikleri ve bunun tarla ilaçlaması ile aynı ekstraksiyon oranlarını veremeyeceği düşünülebilir. Ancak bu çalışmada yaprak ya da toz şeklindeki kuru örneklerin zenginleştirilmesinin, fiziksel yapılarından dolayı tarla ilaçlaması ile çok farklı sonuçlar vermeyeceği kabul edilmiş ve bu görüş Wan ve ark. (1991)'nin yaptıkları benzer bir çalışma ile desteklenmiştir.

Bir çoklu kalıntı analiz yönteminin başarısı temelde ekstraksiyon basamağının başarısına bağlıdır. Sıvı örnekler için standart bir yöntem bulunmadığı için denediğimiz birkaç ekstraksiyon çözücüsü içinde kullanılan diklorometanla oldukça yüksek geri kazanımlar elde edilmiştir. Oldukça yoğun pigment içeren örneklerin jel permeasyon kromatografi ile temizlenmesi aşamasında pigmentlerin neden olduğu bant yayılması nedeniyle pestisitler ve pigmentler arasında tam bir ayırma gerçekleştirilememiştir. Ancak gaz kromatografide alev iyonlaşma dedektörü ile yapılan analizde matris bileşenlerini alıkonma zamanları, pestisitlerden oldukça farklı olduğu için analizde bir sorun yaratmamışlardır.

Bu çalışmada çay hazırlama, kurutma ve uçucu yağ ekstraksiyonunun bazı organofosforlu pestisitlerin nane, kekik ve ısırgan otundaki kalıntıları üzerine etkileri araştırılmıştır.

Günümüzde diğer pestisitlere göre daha düşük kalıntı bıraktıkları bilinen ve yaygın kullanılan organofosforlu pestisitler beklenildiği gibi uygulanan işlemlerle kayba uğramışlardır. Proses sırasında pestisit davranışlarının pestisidin fiziko-kimyasal özelliklerine, uygulanan işleme ve bitkinin türüne bağlı olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada bitkilerden hazırlanan infüzyonlarda işlem süresinin artmasına bağlı olarak demleme suyuna geçen kalıntı miktarlarının azaldığı belirlenmiştir.

Nane infüzyonunda suya geçiş oranları, pestisitlerin çözünürlüğü ve bir pestisidin havadaki kısmi basıncının dengedeki su konsantrasyonuna oranı olarak tanımlanan Henry sabiti ile doğrusal olarak artarken, yağda çözünürlüğü ifade eden oktanol-su dağılım katsayısı ile doğrusal olarak azalmıştır. Kekik infüzyonunda da suya geçiş oranları ile çözünürlük ve Henry sabiti arasında doğrusal ilişki gözlenirken, oktanol-su dağılım katsayısı ile elde edilen ilişkinin

doğrusal olmadığı gözlenmiştir. Isırgan otu örneğinde malathion dışındaki diğer pestisitler için suya geçiş oranları çözünürlük ile doğrusal olarak artmış, oktanol-su dağılım katsayısı ile yine doğrusal olarak azalmıştır. Henry sabitleri ile böyle bir doğrusal ilişki saptanamamıştır.

Geleneksel kurutmaya en yakın olan doğal kurutma işlemi ile on günlük periyot sonunda tüm pestisitlerin önemli oranda kayba uğradığı belirlenmiştir. Bütün pestisitler için yarılanma ömrü 2.5-3.5 gün aralığı olarak saptanmıştır. Kurutma sırasında pestisitlerin yarılanma ömrüne ilişkin literatürde bir bilgi yer almadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Nerede pestisit kalıntılarının kurutma ile kaybı pestisitlerin buhar basınçlarından etkilenmesinin yanı sıra büyük ölçüde kuruma sırasında buharlaşarak ayrılan nem ile birlikte uzaklaşma sonucu gerçekleşmiştir.

Uçucu yağ ekstraksiyonunda, yağa geçiş oranlarının pestisitlerin oktanol-su dağılım katsayılarına göre gerçekleşmesi beklenirken tüm pestisitler benzer oranlarda kalıntı bırakmıştır. Üründen yağın tamamının alınamadığı sistemde yaklaşık %5'lik bir pestisit geçişi bu prosesin kalıntıları uzaklaştırmak yerine son üründe daha yüksek miktarlarda kalıntı bırakacağını göstermektedir. Bu çalışma bir ön deneme niteliğindedir, daha sonraki çalışmalar sistem iyileştirilerek tekrarlanmalıdır.

Öneriler

- Genel olarak gıda işleme yöntemleri tıbbi bitkilerdeki organofosforlu pestisitlerin kalıntı düzeylerinde belirgin bir azalmaya neden olmaktadır. Bu yüzden bu bitkilerin işlenmiş formda tüketilmesi uygundur.
- Özellikle kurutma işlemi, bu prosese uygun olan tıbbi bitkilerdeki kalıntıların azaltılması için önemlidir.
- Suda çözünürlüğü yüksek olan pestisitlerin infüzyon halinde tüketilecek ürünlere uygulanmaması gerekmektedir.
- Pestisitlerin uzaklaştırılması açısından infüzyon süresinin 5 dk'nın altında olmaması önerilir.

6. KAYNAKLAR

- Abou-Arab, A.A.K., Kawther, M.S., El Tantawy, M.E., Badeaa, R.I., Khayria, N., 1999, Quality estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market, *Food Chemistry*, 67, 357-363.
- Abou-Arab, A.A.K., Abou Donia, M.A., 2001, Pesticide residues in some Egyptian spices and medicinal plants as affected by processing, *Food Chemistry*, 72, 439-445.
- Ahmed, M.T., Loutfy, N., Yousef, Y., 2001, Contamination of medicinal herbs with organophosphorus insecticides, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 66, 421-426.
- Ambrus, A., Thier, H.P., 1986, Application of multiresidue procedures in pesticide residue analysis, *Pure and Applied Chem.*, 58, 1036-1061.
- Anonymous, 1995, Ruhsatlı Zirai Mücadele İlaçları, T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara, 257s.
- Anonymous, 2003, Pestisit Kalıntı Limitleri, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü,
<http://www.kkgm.gov.tr/Genel/index.asp?Prm=/Mevzuat/Kodeks.asp?Adres=KodeksList.html>.
- Archer, T.E., 1976, Effects of light on the fate of Carbofuran during the drying of Alfalfa, *J. Agric. Food Chem.*, 24(5), 1057-1062.
- Artık, N., Ekşi, A., 1993, Gıdalarda Pestisit Kalıntıları ve Limitleri, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 16, Ankara, 22s.
- Barcelo, D., Lawrence, J.F., 1992, Residue Analysis of Organophosphorus Pesticides. *Emerging Strategies for Pesticide Analysis*. Cairns, T., Sherma, J. (eds), CRC Pres Inc., pp. 127-151.
- Baytop, O.T., 1963, Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 499 s.
- Blumenthal, M., Goldberg, A., Brinckman, J., 2000, *Herbal Medicine, Integrative Medicine Communications*, United States of America, pp.297-378.
- Bruhn, J.G., 1989, The use of natural products in modern medicine, *Acta Pharm. Nord.*, 1(3), 117-130.
- Buchel, K. H., 1983, *Chemistry of Pesticides*, John Wiley & Sons, Inc., pp. 48-49.
- Buhner, S.H., 2001, *Bitkisel Antibiyotikler*, Platform Yayıncılık, 115s.

- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Melis, M., Pirisi, F.M., Karim M., Minelli E.V., 1997a, Persistence of insecticide residues in olives and olive oil, J. Agric. Food Chem., 45, 2244-2247.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Minelli, E.V., Cabitza, F., Cubeddu, M., 1997b, Residues of some pesticides in fresh and dried apricots, J. Agric. Food Chem., 45, 3221-3222.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Pirisi, F.M., Brandolini, V., Cabitza, F., Cubeddu, M., 1998a, Pesticide residues in prune processing processes, J. Agric. Food Chem., 46, 3772-3774.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Melis, M., Pirisi, F.M., Cabitza, F., Cubeddu, M., 1998b, Pesticide residues on field-sprayed apricots and apricot drying processes, J. Agric. Food Chem., 46, 2306-2308.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Pirisi, F.M., Cabitza, F., Pala, M., 2000, Acephate and buprofezin residues in olives and olive oil, Food Additives and Contaminants, 17 (10), 855-858..
- Ceylan, A., 1987, Tıbbi Bitkiler II (uucu yağ ierenler), Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, 188s.
- Chamberlain, S.J., 1990, Determination of multi-pesticide residues in cereals products and animal feed using gel permeation chromatography, Analyst, 115, 1161-1165.
- Chen, Z., Wan, H., 1988, Factors affecting residues of pesticides in tea, Pesticide Science, 23, 109-118.
- Chin, H.B., 1991, The Effect of Processing on Residues in Foods: The Food Processing Industry's Residue Database, ACS Symposium Series, 446, 175-182.
- Coulibaly, K., Smith, J.S., 1993, Thermostability of organophosphate pesticides and some of their major metabolites in water and beef muscle, J. Agric. Food Chem., 41, 1719-1723.
- Cremllyn, R.J., 1991, Agrochemicals Preparation and Mode of Action, John Wiley & Sons, pp. 105-140.
- Delen, N., Tosun N., Toros, S., Öztürk, S., Yücel, A., alı, S., 1995, Tarım İlaları Kullanım ve retimi, IV. Türkiye Ziraat Mhendisliğı Teknik Kongresi, T.C. Ziraat Bankası Yayınları, II. Cilt, Ankara, 1015-1029.
- Elkins, E.R., Farrow, R.P., Kim, E.S., 1972, The effect of heat processing and storage on pesticide residues in spinach and apricots, J. Agr. Food Chem., 20(2), 286-291.
- Erdemir, A.D., 2001, Şifalı Bitkiler, Doğal İlalarla Geleneksel Tedaviler, Alfa Basım Yayım Dağıtım Ltd. Şti., İstanbul-Bursa,

- FDA, 2000, Pesticide Analytical Manual, Volume 1, US Department of Health and Human Services, Section 304 21- 304 24.
- Fernandez, N., Sierra, M., Garcia, J.J., Diez, M.J., Teran, M.T., 1993, Organochlorine pesticide residues in black tea, camomile, and linden, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 50, 479-485.
- Friar, P.M.K., Reynolds, S.L., 1991, The effects of microwave-baking on Thiabendazole residues in potatoes, Food Add. And Contam., 8(5), 617-626.
- Gözek, K., Yücel, Ü., Ilim, M., Aysal, P., Tunçbilek, A.Ş., 1999, ¹⁴C-Dimethoate residues in olive oil during oil processing, J., Environ. Sci. Health, B34(3), 413-429.
- Grice, I.D., Salzman, M., Stiff, I., Griffiths, L.R., 1999, Simultaneous determination of Aldrin, Dieldrin, Endrin, Heptachlor, and p,p'-DDT in medicinal plant extracts using a novel highperformance liquid chromatography method, J. Liq. Chrom. & Rel. Technol., 22(15), 2337-2344.
- Grieve, M., 1977, A Modern Herbal: The medicinal, culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folklore of herbs, grasses, fungi, shrubs and trees with all their modern scientific uses, Jonathan Cape Ltd, London, 916 p.
- Hajslova, J., 1999, Pesticides. Environmental Contaminants in Food. Moffat, C.F., Whittle, K.J. (eds), Sheffield Academic Pres, pp. 215-272.
- Hasegawa, Y.T., Tonogai, Y., Nakamura, Y., Ito, Y., 1992, Residue levels of Dichlorvos, Chloropropam and Pyrethrins in post-harvest-treated potatoes during storage or processing into starch. J. Agric. Food Chem., 40, 1240-1244.
- Hassal, K.A., 1990, The Biochemistry & Uses of Pesticides, Second Edition, Macmillian Press Ltd., pp. 81-123.
- Hill, A.R.C., Wilkins, J.P.G., Findlay, N.R.I., Lontay, K.E.M., 1984, Organophosphorus sulphides, sulphoxides, and sulphones Part1: Determination of residues in fruit and vegetables by GLC, Analyst, 109, 483-487.
- Ho, W., Hsieh, S., 2001, Solidphase microextraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants, Analytica Chimica Acta, 428, 111-120.
- Holland, P.T., Malcolm, C.P., 1992, Multiresidue Analysis of Fruits and Vegetables. Emerging Strategies for Pesticide Analysis. Cairns, T., Sherma, J. (eds), CRC Pres Inc., pp. 71-99.
- Holland, P.T., Hamilton, D., Ohlin, B., Skidmore, M.W., 1994, Effects of storage and processing on pesticide residue in plant products, Pure & Appl. Chem., 66(2), 335-356.

- Jaggi S., Sood, C., Kumar, V., Ravindranath, S.D., Shanker, A., 2001, Leaching of pesticides in tea brew, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5479-5483.
- James, C.S., 1995, *Analytical Chemistry of Foods*, Blackie Academic & Professional, 178p.
- Kırtunç, E., 2002, Doğa Eczanesi, Şifalı Bitkiler, 4RENK Yayın Tanıtım Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 214s.
- Krol, W.J., Arsenault, T.L., Pylypiw Jr., H.M., Mattina, M.J.I., 2000, Reduction of pesticide residues on produce by rinsing, *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4666-4670.
- Leyva, J., Lee, P., Goh, K.S., 1998, Removal of Malathion residues on lettuce by washing, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 60, 592-595.
- Lino, C.M., Silveira, M.I.N., 1997a, Loss of organochlorine pesticide residues during the infusion processes of Linden (*Tilia cordata* Mill.), *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2718-2722.
- Lino, C.M., Silveira, M.I.N., 1997b, Extraction and clean-up methods for the determination of organochlorine pesticide residues in medicinal plants, *Journal of Chromatography A*, 769, 275-283.
- Luke, M.A., Froberg, J.E., Masumoto, H.T., 1975, Extraction and clean-up of organochlorine, organophosphate, organonitrogen, and hydrocarbon pesticides in produce for determination by GLC, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 58(5), 1020-1026.
- Luke, M.A., Froberg, J.E., Doose, G.M., Masumoto, H.T., 1981, Improved multiresidue GC determination of organophosphorus, organonitrogen, and organohalogen pesticides in produce, using Flame Photometric and Electrolytic Conductivity Detectors, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64(5), 1187-1195.
- Mackay, D., 2002, Airwater Fugacity Model, Canadian Environmental Modelling Centre, <http://www.trentu.ca/cemc/Airwat.html>.
- Macleod, D., 1968, *A Book of Herbs*, London: Duckwoth, 191 p.
- MAFF, Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods, 1977, Determination of residues of organophosphorus pesticides in fruits and vegetables, *Analyst*, 102, 858-863.
- MAFF, Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods, 1990, *Pesticide Residue Analysis* (unpublished).
- MAFF, Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods, 1992, Report of two co-operative trials of a gel permeation chromatographic method for the isolation of pesticide residues from oils and fats, *Analyst*, 117, 1451-1455.

- Miyahara, M., Saito, Y., 1993, Pesticide removal efficiencies of soybean oil refining processes, *J. Agric. Food Chem.*, 41, 731-734.
- Nagayama, T., 1996, Behavior of residual organophosphorus pesticides in foodstuffs during leaching and cooking, *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2388-2393.
- Nakamura, Y., Sekiguchi, Y., Hasegawa, S., Tsumura, Y., Tonagai, Y., Ho, Y., 1993, Reductions in postharvest-applied Diclorvos, Chlorpyrifos-methyl, Malathion, Fenitrothion, and Bromide in rice during storage and cooking processes, *J. Agric. Food Chem.*, 41, 1910-1915.
- Özer, Z., Tursun, N., Önen, H., 2001, *Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam*, 4RENK Yayın Tanıtım Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 253s.
- Petersen, J.H., Jensen, K.G., 1986, Pesticide residues in black tea, *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, 182, 489-491.
- Pluta, J., 1988a, Studies on contamination of vegetable drugs with halogen derivative pesticides, *Pharmazie*, 43, 348-351.
- Pluta, J., 1988b, Studies on contamination of vegetable drugs with halogen derivative pesticides, *Pharmazie*, 43, 121-123.
- Pluta, J., 1989, Studies on concentration of halojen derivatives in herbal products from various regions of Poland, *Pharmazie*, 44, 222-224.
- Ramesh, A., Balasubramanian, M., 1999, Kinetics and hydrolysis of fenamiphos, fipronil, and trifluralin in aqueous buffer solutions, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3367-3371.
- Saitta, M., Di Bella, G., Salvo, F., Lo Curto, S., Dugo, G., 2000, Organochlorine pesticide residues in Italian citrus essential oils, 1991-1996, *J. Agric. Food Chem.*, 48, 797-801.
- Shanker, A., Sood, C., Kumar, V., Ravindranath, S.D., 2001, A modified extraction and clean-up procedure for the detection and determination of parathion-methyl and chlorpyrifos residues in tea, *Pest Management Science*, 57, 458-462.
- Soliman, K.M., 2001, Changes in concentration of pesticide residues in potatoes during washing and home preparation, *Food and Chemical Toxicology*, 39, 887-891.
- Specht, W., Tilkes, M., 1985, Gascchromatographische bestimmung von ruckstanden an pflanzenbehandlungsmitteln nach clean-up uber gel chromatographie und mini-kieselgel-saulen-cgromatographie, 5. Mitteilung, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 322, 443-445.
- Stalling, D.L., Tindle, R.C., Johnson, J.L., 1972, Clean-up of pesticide and polychlorinated biphenyl residues in fish extracts by GPC, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 55, 32-38.

- Stan, H.J., 1990, Pesticides. Principles and Applications of Gas Chromatography in Food Analysis. Gordon, M.H. (ed), Ellis Horwood Ltd., pp. 261-326.
- Suntio, L.R., Shiu, W.Y., Mackay, D., Seiber, J.N., Glotfelty, D., 1988, Critical review of Henry's Law Constants for pesticides, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 103,1-59.
- Şahbaz, F., 1998, Su ve Buz. Gıda Kimyası. Saldamlı, İ. (ed), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara,ss.9-36.
- Tekel, J., Hatik, S., 1996, Pesticide residue analysis in plant material by chromatographic methods: Clean-up procedures and selective detectors, Journal of Chromatography A, 754, 397-410.
- Tomlin, C., 1994, The Pesticide Manual: A World Compendium, Incorporating the Agrochemicals Handbook, British Crop Protection Council, 1341p.
- Vidal, J.L.M., Gonzalez, F.J.E., Galera, M.M., Cano, M.L.C., 1998, Diminution of chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon in tomatoes and green beans grown in greenhouses, J. Of Agric. Food Chem., 46, 1440-1444.
- Von Götz, N., Nörtersheuser, P., Richter, O., 1999, Population based analysis of pesticide kinetics, Chemosphere, 38(7), 1615-1630.
- Walters, S.M., 1986, Clean-up of Samples. Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Volume XV. Zweig, G. And Sherma, J. (eds), Academic Pres Inc., pp. 67-108.
- Wan, H., Xia, H., Chen, Z., 1991, Extraction of pesticide residues in tea by water during the infusion process, Food Additives and Contaminants, 8 (4), 497-500.
- Watts, R.R., Storherr, R.W. 1969, Gas Chromatography of organophosphorus pesticides: Retention times and response data on three columns, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 52, 513-521.
- WHO, 1997, The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification,1996-1997,World Health Organization, Geneva, 64p.
- WHO, 1998, Quality Control Methods for Medicinal Plant Material, World Health Organization, Geneva, 115p.
- WHO, 1999, WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, Volume 1, World Health Organization, Geneva.
- Zheng, W., Liu, W., 1999, Kinetics and mechanism of the hydrolysis of imidacloprid, Pesticide Science, 55, 482-485.
- Zohair, A., 2001, Behaviour of some organophosphorus and organochlorine pesticides in potatoes during soaking in different solutions, Food and Chemical Toxicology, 39, 751-755.

Zuin, V.G., Vilegas, J.H.Y., 2000, Pesticide residues in medicinal plants and phytomedicines, *Phytotherapy Research*, 14, 73-88.

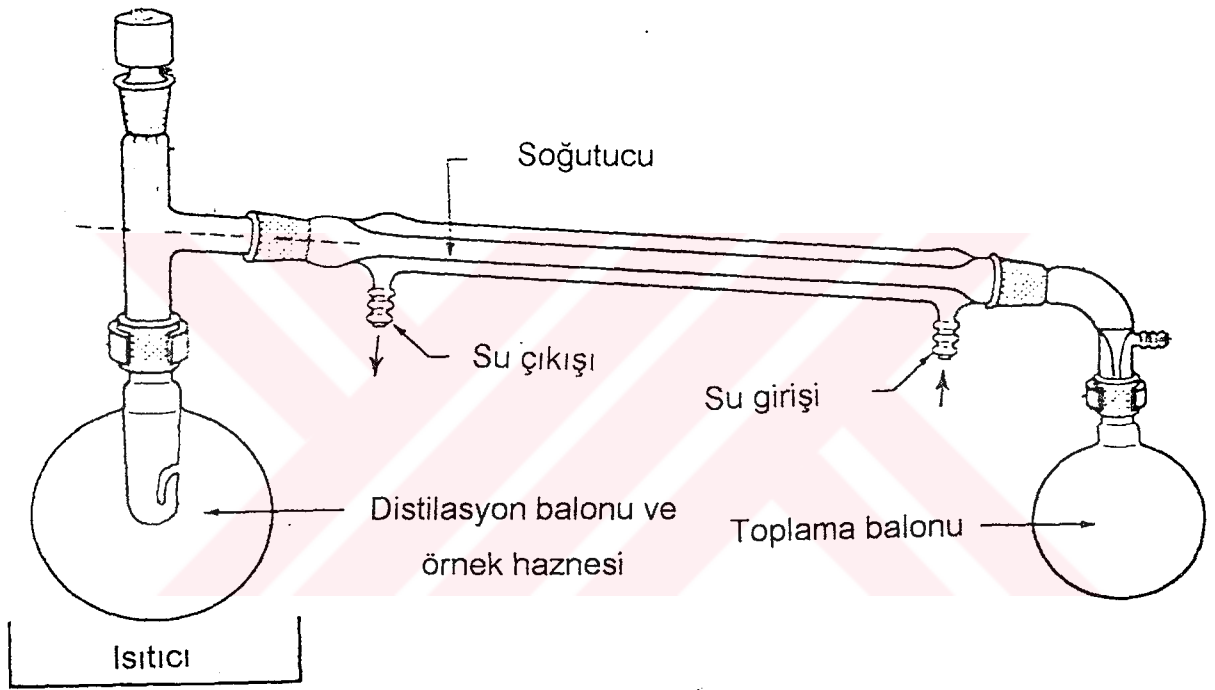


EKLER

Ek 1. Pestisit kalıntı limitleri

Pestisit Adı	Ürünün Adı	Kabul Edilebilir En Yüksek Değer mg/kg (ppm)
Chlorpyrifos	Şeftali, elma, armut, üzüm	0.5
	Kuru üzüm	1.0
	Domates, biber, hıyar, marul, patlıcan, ayçiçeği	0.2
	Zeytin, fındık	0.1
	Patates, soğan, lahana, mısır, buğday, havuç, şeker pancarı, pamuk tohumu	0.05
	Peynir	0.01
Dimethoate	Şeftali, erik, kiraz, elma, armut, üzüm	1.0
	Zeytin, soya, şeker pancarı, pamuk tohumu	0.05
Fenitrothion	Kiraz, elma, armut, üzüm, şeftali, erik, kayısı	0.3
	Domates, biber, marul, lahana, şeker pancarı, hububat	0.2
	Soya	0.1
	Hıyar, pamuk tohumu, et	0.05
	Süt	0.002
Malathion	Şeftali, erik, kiraz, turunçgiller, mısır, zeytin	2.0
	Elma, armut, üzüm, biber, patates, lahana, soğan, hıyar, domates, marul, havuç, şerbetçiotu	0.5
	Hububat, fındık, kavun, nohut, mercimek, kurutulmuş meyveler	8.0
	Soya, pamuk tohumu	0.2

Ek 2. Buhar distilasyon düzeneği



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayşe ÖZBEY
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 06.01.1979
Adres : Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği
Bölümü 06532 Beytepe/Ankara

Tel : 0(312) 297 7100
Fax : 0(312) 299 2123
E-posta : aozbey@hacettepe.edu.tr

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise : 1992-1995, Ankara İncesu Lisesi
Lisans : 1995-2000, Hacettepe Üniversitesi Gıda
Mühendisliği Bölümü
Yabancı Dil : İngilizce
İş Tecrübesi :

2003- Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde Araştırma Görevlisi
olarak görev yapmaktadır