

Pestisit Kalıntı Analiz Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

Miray BEKBÖLET

TÜBİTAK - Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Merkezi

ÖZET

Gıda maddelerinde bulunan pestisit kalıntıları çeşitli yöntemlerle saptanabilmektedir. Bu incelemede, kalıntı yöntemlerinin temel prensipleri, işlem basamakları ayrı ayrı incelenmiş ayrıca örnekleme üzerinde de durulmuştur. Çoklu kalıntı ve basitleştirilmiş çoklu kalıntı yöntemlerinin uygulama kolaylıkları açıklanmıştır.

ABSTRACT

BASIC PRINCIPLES OF PESTICIDE ANALYSIS

Basic principles of pesticide residue analyses are explained in terms of sampling, methodology and terminology. General Multi - residue and simplified Multi - residue methods are also discussed.

PESTİSİT KALINTI ANALİZ YÖNTEMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Pestisit kalıntılarının saptanması, pestisitlerin emin ve yeterli kullanımının sağlanması bakımından önemli olduğu kadar tüketici sağlığı ve çevre korunması açısından da çok önemli bir konudur. Ayrıca kalıntı analizleri yardımı ile deneme çalışmalarından alınan örneklerde degradasyon eğrilerinin çıkarılması, piyasa taraması sebebi ile toplanan örneklerde en yüksek sınıra (MRL) uygunluklarının saptanması ve diyet çalışmalarında toplam günlük alım değerlerinin çıkarılması mümkün olabilmektedir.

Araştırmanın sonucuna bağımlı olarak uygulanacak analitik yöntem değişebilmektedir. Örneğin, belirli bir ilaçlama geçmişi olan örnek incelemeye alınacaksa, analitik yöntem bir pestisit ve onun metabolitlerine duyarlı olmalıdır. Eğer piyasadan alınmış bir örnek incelenecekse MRL uygunluk araştırma konusu olacağından bir grup pestisit araştırılacaktır. Ayrıca örneklerde, bulunabilecek pestisit kalıntıları taraması yapılacak ise yine çoklu-kalıntı yöntemi uygulanacaktır ki, bu yöntemde olabilecek en yüksek sayıda pestisit, mevcut bütün maddelerden ekstre edilebilmelidir. Öncelikle in-

san tüketimine sunulan gıdalar önemli olmakla birlikte, hayvan yemleri, çevresel örnekler ve insan dokuları da pestisit kalıntıları bakımından araştırma konusu olmaktadır.

Analitik pratik :

Araştırmanın amacına bağımlı olmamakla birlikte, en azından uyulması gereken bazı önemli analitik gereksinimler karşılanmalıdır. Öncelikle araştırmacıda aranılan özellikler, yeterli mesleki bilgiye sahip olması ve kalıntı analizleri konusunda tecrübe kazanmış olmasıdır, Araştırma grubundaki elemanlar ekipman kullanımını ve genel laboratuvar tekniklerini bilmeli ve kalıntı analizinin prensiplerini anlamış olmalıdır.

Analitik yöntemin seçimi :

Literatür taraması yapıldığı zaman görülmektedir ki pestisit kalıntı analizleri üzerine yüzlerce yöntem bulunmaktadır. Ayrıca basitleştirilmiş metodlar da geliştirilmiştir.

Yöntem seçiminde gözönüne alınması gereken noktalar şunlardır :

1. Belirli bir yayın olması
2. Birkaç laboratuvar tarafından ortak çalışma yürütülerek yöntemin geçerliliğinin kanıtlanmış olması ve adı geçen yayında belirtilmesi.
3. Birden fazla kalıntının tayinine imkan tanınması. (Çoklu kalıntı yöntemi).
4. Belirtilen MRL'nin altında uygulanacak en çok sayıda kalıntı-ürün cinsi kombinasyonuna uygun olması.
5. Genel analitik laboratuvarı ekipmanı ile donatılmış bir laboratuvarda uygulanabilir olması.

Pestisit kalıntı analiz yöntemleri çeşitli işlemlerden oluşmaktadır, araştırmacı personeli her basamaktaki amacı bilmeli ve aynen uygulamalıdır. Ayrıca kullanılan terminolojiyi de bilmelidirler (ANON 1984'a, ANON 1986).

Örnek hazırlama ve analiz yöntemi

Pestisit kalıntılarının saptanması amacına yönelik analiz çalışmalarında en önemli basamak örneklemedir.

Örnekleme, analiz laboratuvarının dışında gerçekleştirilmekle birlikte, gerçek örneği temsil edebilmesi ve kontaminasyondan kaçınılması bakımından çok önemlidir. Codex Alimentarius Committee on Pesticide Residues (CC PR) tarafından yapılan bir yayında örnekleme teknikleri detaylı olarak açıklanmıştır (ANON 1984 b).

Örneğin tekstürünün farklılık göstermesi ekstraksiyon, temizleme işlemlerinde değişikliklere neden olmaktadır. Örnekler ekstraksiyon işlemi için şu şekilde gruplandırılabilir (AOAC, 1984, PAM 1982).

1. Orta ve yüksek oranda su içeren örnekler,
 - 1.1 % 5-15 şeker içeren örnekler,
 - 1.2 % 15-30 şeker içeren örnekler,
2. Kuru örnekler
3. Yağ içeren örnekler

Ayrıca birinci grupta bulunan örnekler 3 alt gruba da ayrılabilir.

1. Kök sebzeler (Havuç, soğan gibi)
2. Düşük düzeyde klorofil içeren meyve ve sebzeler (çekirdekli meyveler, meyveli sebzeler, narenciye gibi)
3. Yüksek düzeyde klorofil içeren bitkiler (yapraklı sebzeler ve baklagiller).

Pestisit kalıntı analiz yöntemi genel olarak aşağıda verilen basamaklardan oluşmaktadır (Çizge 1).

1. Özütleme,
 2. Temizleme, (gerekli ise türevleme işlemi),
 3. Tayin
 4. Konfirmasyon (doğrulama)
1. Özütleme işlemi incelenen kalıntıyı yeterli bir şekilde ayıracak çözücü ile yapılır. Bu işlem arasında mümkün olan en fazla oranda karışıklık yapılabilecek maddeler uzak tutulmalıdır. Çözücü seçiminde dikkat edilecek önemli noktalar, kolay bulunabilir olması, kalitesi, fiyatı, toksisitesi ve uçucu olma özelliğidir. Polar özellikte olan çözücüler genellikle diğer komponentlerden daha fazla oranda özütlerler. Bu bakımdan çözücünün polaritesinin kalıntı özütünün polaritesine eş olmasına dikkat edilmelidir.

2. Özütün temizlenmesi genellikle gerekli olan bir aşamadır. Atmosferik basınçta yapılan kolon kromatografisi en çok uygulanan yöntemdir. Bunun yanısıra diğer bazı teknikler de geliştirilmektedir. Özellikle gel-permeation chromatography, kullanım kolaylığı bakımından olduğu kadar otomatik düzene uygunluğu bakımından da önemle tavsiye edilmektedir. Çizelge 1 ve Çizelge 2'de organik klorlu ve organik fosforlu pestisit analizlerinde uygulanan bazı özütlenme şartları ve temizleme işlemleri özetle verilmektedir.

3. Tayin aşamasında, son yıllarda en çok uygulanan yöntemler gaz ve likit kromatografisi (GLC ve HPLC) yöntemleridir. Eğer kalıntı miktarı yüksek ise spektrofotometrik yöntemler uygun olabilmektedir. Bazı pestisitler için spektrofotometrik yöntemler tek seçenek olmaktadır. GLC tayinlerde, elektron tutucu, alev fotometrik ve alkali alev iyonizasyon detektörler kullanılmaktadır. HPLC tayinlerinde ise UV/VIS ve floresans detektörler gerekli olmaktadır.

4. Yukarıda adı geçen aşamalardan sonra saptanmış olan pestisit kalıntısının konfirmasyonu gereklidir. Özellikle yasal işlemlerinin dikkate alınacağı durumlarda bir diğer yöntemle de kalıntının varlığı saptanmalıdır. Teyit etme amacı ile uygulanacak yöntem daha önce uygulanmış olan yöntemlerden mümkün olduğu kadar farklı olmalıdır.

Basitleştirilmiş yöntemlerin seçiminde ise gözönüne alınan kriterler;

1. Yöntemler, hassasiyet ve sensitivite açısından gaz kromatografik ve/veya likit kromatografik yöntem ile karşılaştırılabilir olmalıdır.
2. Yöntemler ana pestisitler ve önemli transformasyon ve degradasyon ürünlerine duyarlı olmalıdır.
3. Yöntemler, pestisit geçmişi bilinmeyen değişik gıda gruplarında ve uluslararası ticarete önemli olan gıdalarda uygulanabilir olmalıdır.

4. Ayrıca yöntemler basınçlı gazlarda ve yüksek saflıkta organik çözücülere gereksinim göstermemelidir.
5. Kullanılacak alet ve ekipman gaz kromatografisi ve likit kromatografisi yöntemleri ile karşılaştırıldığında daha ucuz olmalıdır.

Yukarıda belirtilen kriterlere uygunluk gösteren çok az sayıda yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler ince-tabaka kromatografik ve görünür bölgede spektrofotometrik yöntemlerdir. İnce tabaka kromatografisi yöntemi kolay, hızlı, hassas ve oldukça spesifik olması bakımından tercih edilmektedir. Hem kalitatif hem de kantitatif uygulama mümkündür. Spektrofotometrik yöntemler ise kantitatif sonuçlara uygundur. Organik klorlu pestisitlerin PAM yöntemi ile analizleri Kovacs metoduna dayanmaktadır. Organik fosforlu pestisitlerin analizi ise silikagel tabakalarda kloroform, hekzan/aseton (4:1, 7:3) veya benzen/aseton (2:1) ile geliştirilmiştir. Organik fosforlu ve

karbamat insektisitlerin enzim inhibisyon tekniği ile ince tabaka kromatografisi ile tayini mümkün olmaktadır. Klorlu fenoksi asitler, s-triazinler ve fenil üreler gibi herbisitler de Yip metodu ile saptanabilmektedir. İnce tabaka kromatografisi yöntemler basit olmakla beraber çok hassas bir temizleme işlemine gerek duyulmaktadır. Özellikle yağlar ve mumlar interfer edebilmekte ve Rf değerlerini etkilemektedirler (BATORA ve ark., 1981).

Çoklu kalıntı analiz yöntemleri ile 67 adet organik halojenli, 88 adet organik fosforlu insektisitler, 6 adet piretrin, 33 adet karbamat grubu insektisit ve herbisit, 21 adet üre grubu herbisit ve 15 adet de triazine grubu herbisit ayrıca 66 adet de çeşitli pestisitlerde saptanabilmektedir. Belirtilen bu kabarcık listeye rağmen adı geçen yöntemlerle saptanamayan pestisitler de Çizelge 3'de verilmektedir (AOAC, 1984, AMBRUS, 1981, BECKLER, 1985, LUKE, 1975, SPECHT, 1985).

Çizelge 1 : Bitkisel örneklerde bulunan organik klorlu (OK) ve organik fosforlu (OP) pestisitlerin analizlerinde uygulanan bazı temizleme yöntemleri.

Pestisit	Özütlenme ml/g. örnek	Faz ayrımı	Kolon Kromatografisi	Elusyon	Referans
OF, OP	200/100 Acnit	100 PE	Florisil	200 PE/Eth 94 + 6	AOAC (1984)
				200 PE/Eth 85 + 15	PAM (1982)
OP	200/100 Acnit	30 Dichlm	6 g C/MgO/Celite 1 + 2 + 4	120 Bz/Actnit 1 + 1	AOAC (1984) PAM (1982)
OK, OP diğerleri	150/50 AC	100, 2x50 Dichlm	7 g C/MgO/Celite 1 + 2 + 4	150 Dichlm	Ambrus (1981)
OK, OP diğerleri	200/100 AC	100 Dichlm	32 cm Bio Beads S-X3	175 Cyclh/EEAC	Specht (1985)
OK, OP	200/100 AC	2x50 Dichlm	Sweep-Co Dist		Ebling (1985)
OK, OP	125/25 Et Ac	—	Sweep-Co Dist		AOAC (1984)
OK, OP	200/50 AC	150 Dichlm	Silica Gel	200 PE/ Dichlm	Steinwandler (1985)

Çizelge incelendiğinde görülmektedir ki, pestisitler arasında, ülkemizde sebze ve meyvelere en yaygın olarak uygulanan ditiyo karbamatlar ve son yıllarda önem kazanan 2,4 D ve 2,4,5-T gibi bitkinin gelişimini etkileyen hormonlar ve benomil ve karbendazim gibi fungusitler bulunmaktadır. Ditiyokarbamatlara klasik tayin yöntemi uygulaması çok güç ve tekrarlanabilirliği düşük bir yöntemdir (CULLEN, 1964). Son yıllarda STEINWANDTER (1985 a) tarafından çok pratik ve ucuz bir yöntem geliştirilmiştir. (Bu konuda yapılmış bir çalışma ayrıca yayınlanacaktır.)

2,4 D-diklorofenoksiasetik asit tayini yöntemleri ise geri kazanırlılığı düşük sayılabilecek yöntemlerdir (ERICKSON ve HIELD, 1962). Ayrıca butoksietil esteri türevi % 79 geri kazanırlılık düzeyinde elektron tutucu dedektörlerle gaz kromatografik yöntemle saptanabilmektedir (OHLIN, 1986 a). Benomil ve karbendazim için en uygun yöntemin HPLC yöntemi olduğu bildirilmektedir (OHLIN, 1986 b).

Sonuç olarak görülmektedir ki, bir tek yöntemle tüm gıda gruplarında bulunabilecek pestisitlerin analizlerini yapabilmek mümkün değildir. Ancak çoklu kalıntı yöntemleri soruna çözüm getirebilmekte ve pestisit kalıntıları gruplar halinde saptanabilmektedir.

Çizelge 2 : Yağlarda ve yağ içeren örneklerde bulunan organik klorlu (OK) ve organik fosforlu (OP) pestisitlerin analizinde uygulanan bazı temizleme yöntemleri.

Yağ g. max	Özütleme Faz ayrımı	Kolon Kromatografisi	Elusyon	Referans
3	PE/Acnit	Florisil	200 PE/Eth 94 + 6	AOAC (1984)
			200 PE/Eth 85 + 15	PAM (1982)
5	PE/DMF	Florisil	200 PE/Eth 94 + 6	Specht ve Thier (1985)
1	PE Çöz.	Florisil	300 PE/Dichlm 8 + 2	Stijve ve Thier (1985)
0.5	Hex. Çöz.	Alumina	150 Hex.	Telling ve ark. (1977)
0.5	PE Çöz.	Silica Gel	250 PE	Steinwandler ve Schluter (1977)
0.3	GPC Çöz.	Bio Beads S + X3	100 + 65 Cyclh/ EtAC 1 + 1	Specht (1985)

Çizelge 1 ve Çizelge 2'de kullanılan kısaltmalar :

AC — Aseton

Acnit — Asetonitril

Bz — Benzen

Cyclh — Sikloheksan

Dichlm — Diklorometan

DMF — Dimetilformamid

EtAC — Etilasetat

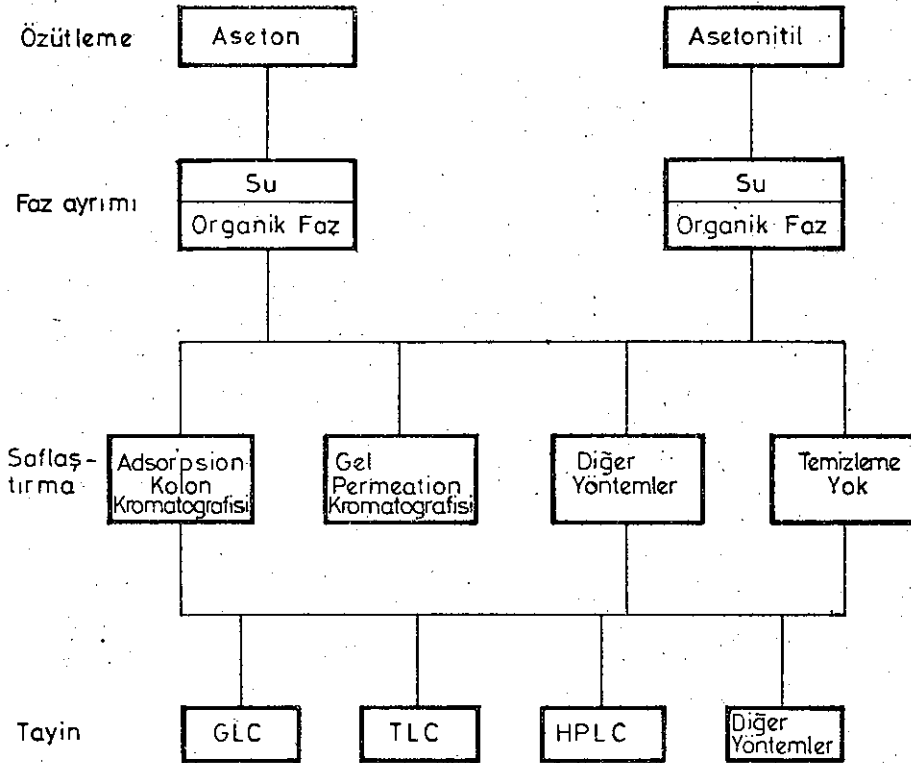
Eth — Dieterler

Hex — Hekzan

PE — Petrol eter

Çizelge 3 : Genel çöktü kalıntı yöntemleri ile saptanamayan pestisitler.

Azocyclotin	Bromoxynil	Chloromequat	Amitrole
Cyhexatin	2,4 D	Diquat	Antrachinon
Fenbutatinoxide	Dalapon	Difenzoquat	Aramite
Fentin	Dicamba	Morfamquat	Asulam
Benomyl	Dichlorprop	Panaquat	Benzadox
Carbendazim	Dinoseb	Ferbam	Chlorflurenol
Fuberidazol	Dinoterb	Mancozeb	Daminozide
Thiabendazol	DNOC	Maneb	Dodine
Thiophanate - Methyl	Ferprop	Metam	Etephon
	Ioxnil	Metiram	Flurenol
	MCPA	Methylmetiram	Glyodin
	MCPB	Nabam	Glyphosate
	Mecoprop	Nema	Guazatine
	Medinoterb	Propineb	Maleichydrazide
	1975,, SPECHT, 1985).	Thiram	Metal aldehyde
	Naphthylacetic acid	Vondozeb	Methyl bromide
	Naphthylacetamide	Zineb	Nicotine
	Pentachlorophenol	Ziram	Piperoryl butoxide
	2,4,5 -T		Roterone
	2,3,6 -TBA		Sethoxydim
	TCA		Sulphur
			Tridemorph
			Trifenmorph



Çizge 1. Bitkisel materyalde basitleştirilmiş analiz işlemleri.

KAYNAKLAR

- AMBRUS, A., LANTOS, J., VISI, E., CSATLOS, I ve SARVARIL 1981. General Method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil and water I. Extraction and clean up. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 64 (3) : 733 - 742.
- AMBRUS, A. ve THIÉR, H.P. 1986. Application of multiresidue procedures in pesticides residue analysis, pure and Applied Chemistry 58 (7) : 1035 - 1062.
- ANON, 1984. a. Guide to Codex Recommendations concerning pesticide residues. Part 7. Codex Guidelines on good practice in pesticide residue analysis FAO/WHO, Rome.
- ANON, 1984. b. Guide to Codex Recommendations Concerning Pesticide Residues. Part 6. Recommended Methods of Sampling for the determination of pesticide residues. FAO/WHO, Rome.
- ANON, 1986. Guide to Codex Recommendations concerning pesticide residues. Part 8. Recommendations for methods of analysis of pesticide residues. FAO/WHO, Rome.
- AOAC, 1984. Official Methods of Analysis 14 th Edition Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- BATORIA, V., VITOROVIC, S. LJ., THIÉR, H. P. ve KLISENKO, M.A. 1981. Development and evaluation of simplified approaches to residue analysis. Pure and Applied Chemistry 53 (5) : 1039 - 1049.
- CULLEN, T.E. 1964. Spectrophotometric determination of dithiocarbamate residues on food crops. Analytical Chemistry 36 (1) : 221 - 224.
- DFG : Rückstand analytik von pflanzen Schutzmitteln, 1-8 Lieferun. Verlag Chemie, Weinheim, 1985.
- BECKER, G. Method S-8
- EBING, W. Method XII-2 ve S13
- SPECHT, W. Method S-9 ve Method XII.6
- SPECHT, W. ve THIÉR, H.P. Method S-10
- STLVE, T. ve THIÉR, H.P. Method S-9
- ERICKSON, L.C. ve HIELD, H.Z. 1962. Determination of 2,4 - Dichlorophenoxy acetic Acid in Citrus Fruit. Agricultural and Food Chemistry. 10: 204-207.
- LUKE, M.A. FROBERG, J.E. ve MASUMOTO, H.T. 1975. Extraction and clean up organochlorine, organophosphate, organonitrogen and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gaz.liquid chrom. Journal of the Association of Official Analytical Chemists 58 (5) : 1020-1026.
- OHLIN, B. 1986 a. Residues of 2,4 dichlorophenoxy acetic acid (2,4 D) in citrus fruits. 1973 - 1984. Var Foda Suppl 1/86 61 - 68.
- OHLIN, B. 1986 b. A High Performance Liquid Chromatography multiresidue method for determination of pesticides in fruits and vegetables. Var Foda Suppl 2/86 111 - 131.
- PAM, 1982. Pesticide Analytical Manual. Food and Drug Administration, Washington DC. U.S.A.
- STEINWANDTNER, H. 1985 c. Contributions to the gas chromatographic head Space Analysis. Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie 321 (4) : 375.
- STEINWANDTNER, H. 1985 b. Universal 5- min On line method for extracting and isolating pesticide residues and Industrial Chemicals. Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie 322 (8) : 752 - 754.
- STEINWANDTNER, H. ve SCHLUTER, H. 1977. Contributions on the application of silica gel in pesticide analysis. I. Simplified multimatrix method for the determination of chlorinated hydrocarbon pesticides and polychlorinated biphenyls. Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie 286: (1-2) : 90 - 94.
- TELLING, G.M., SLOSSONS, D.J. ve BRINKMAN, H.W. 1977. Determination of organochlorine insecticide residues in fatty foods using a cleanup technique based on a single column of activated alumina. Journal of Chromatography 137 (2) : 405 - 423.