

Gıdalarda Pestisit Kalıntı Analizlerinde Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC)' nin Kullanımı

Nuran Yigit^{1*}, Aysel Bayhan Öktem², Pelin Aksu^{1**}

¹TKB Ziraî Mücadele Merkezi Araştırma Enstitüsü, Yenimahalle, Ankara

²Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Besin Analizleri ve Beslenme ABD, Etiler, Ankara

*nuran_hayran@hotmail.com, **peliaksu@hotmail.com

Özet

Modern tarım ve gıda işlemlerinde kimyasal maddeler, değişik nedenler için uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Ürünün çekiciliğini ve kalitesini arttırmak, raf ömrünü uzatmak bu nedenlerin başında gelir. Koruyucular, pestisitler, hormonlar, doğal ve yapay vitaminler bu maksatla kullanılan kimyasal maddelere örnek olarak verilebilir. Bu tür maddelerin belirli limitlerin üzerinde kullanılması insan sağlığı için istenmeyen sonuçlara neden olabilmektedir. Bu sebeple pek çok ülkede bu tür kimyasal ya da katkı maddelerinin belirli limitlerde kullanılması ve kullanımlarının denetlenmesi gerekir. Gıda analizlerinde pek çok organik bileşiğin tayininde kromatografik metotlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisitlerin analizinde, Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC)'nin kullanımı son 20 yılda daha çok geliştirilmiştir. HPLC'nin en büyük avantajı, ısı ile bozulan ve uçucu olmayan ayrıca polaritesi yüksek bileşiklerin analizine imkân sağlamasıdır (1). Bu çalışmada gıda maddelerinde HPLC cihazı kullanılarak geliştirilen pestisit kalıntı analizleri yer almaktadır.

Anahtar Kelimeler: HPLC (yüksek basınç sıvı kromatografisi), Pestisit kalıntısı, Gıda

Giriş

Dünya nüfusunun hızla artmasına bağlı olarak gıda maddesi ihtiyacı da gün geçtikçe artmaktadır. Bu ihtiyacın karşılanabilmesi için birim alandan daha fazla verim alınması ve ürünlerin korunması gerekmektedir (2). Tarım ürünlerinin arzu edilen miktar ve kalitede üretilebilmesi, bu ürünlerin hastalık ve zararlılardan korunmasıyla mümkündür. Bu nedenle tüm dünyada özellikle gelişmiş ülkelerde pestisitler (tarım ilaçları) yaygın olarak kullanılmaktadır. Nedeni ise çabuk ve kesin sonuç vermesi, kolay uygulanmasıdır (3). Ancak, pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu zararlı organizmalarda dayanıklılık oluşturabilme riskleri ve kalıntıları yoluyla insan sağlığına ve çevreye olumsuz etkileri olabilmektedir (4). Bunun için de gıda maddelerinde toleransların üzerinde pestisit kalıntısı bulunup bulunmadığının tespit edilmesi gerekir. İzin verilen kalıntı limitlerinin milyonda kısım (ppm), milyarda kısım (ppb) gibi oldukça düşük düzeylerde olması, kalıntı analizlerini, zorlaştırmakta ve analiz giderlerini

arttırmaktadır. Bu yüzden de pestisit kalıntı analizlerinde en etkili yaklaşımın “Çoklu kalıntı analizleri” olduğu kabul edilmektedir (5).

HPLC ile Yürütülmüş Kalıntı Çalışmaları

Gıda güvenliği gibi kavramlarla birlikte, pestisitlerin kullanımının da artması nedeniyle pestisit kalıntı çalışmaları büyük önem kazanmış, daha hızlı ve kolay metot arayışlarına başlanmıştır. Aşağıda bu konuda yapılan çalışmalar özet ve karşılaştırmalı olarak yer almaktadır.

Çileklerdeki pestisit kalıntılarının analizi için geliştirilen bir metotta, mikrodalga ve katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) yöntemi ile kromatografi (GC ve HPLC) eşleştirilerek 20 aktif madde analiz edilmiştir. Çözücü kullanılmadan çoklu kalıntı hazırlama tekniği (SPME) ile metodun etkililiğini arttıran, mikrodalga kullanımını ile hızlı, basit, çevre dostu ve diğer metotlara göre daha ekonomik bir metot elde edilmesini sağlamıştır. Çizelge 1’de bazı aktif maddeler için Franda’daki maksimum kalıntı limitleri (MRL), doğrusalılık (r^2), saptama ve kantitasyon limiti (LOD, LOQ) ve rölatif standart sapma (RSD) değerleri görülmektedir.

Çizelge 1. Bazı pestisitlerin HPLC’deki r^2 , LOD, LOQ ve RSD değerleri ile MRL’leri

Pestisit	MRL (Fransa mg/kg)	r^2	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)	RSD
Carbendazim	0,100	0,9994	22,3	74,4	5,7
Diethofencarb	0,500	0,9977	17,9	59,7	7,3
Napropamide	0,100	0,9964	17,4	44,5	3,0
Buprimate	0,500	0,9977	13,4	57,9	4,1

Çizelge 1’de yer almayan diğer aktif maddelerin LOQ değerleri 50 $\mu\text{g/kg}$ konsantrasyonda (RSD < %20) MRL değerinin altında bulunmuştur (6).

Bir başka çalışmada ısı ile bozunan ve uçucu olmayan on dokuz tane pestisit kalıntısının tespiti için geliştirilen çoklu kalıntı analiz metodunda, Luke çoklu kalıntı ekstraksiyon yöntemi modifiye edilmiş; elma, fasulye, marul, biber, patates ve domates örnekleri Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi/Termospray/Kütle Dedektörü-Seçici İyon Modu (HPLC/TSP/MS-SIM) kullanılarak analiz edilmiştir (7).

Meyve ve yüzey sularındaki organik fosforlu pestisitlerin (paraoxon, methyl parathion, parathion, guithion ve fenitrothion) analizi HPLC/UV (Absorbans Dedektörü) kullanılarak yapılmıştır. Meyvelerdeki pestisit kalıntılarının analizi için hızlı ve basit bir örnek hazırlama işlemi geliştirilmiştir. Elde edilen geri kazanımlar %83-118 (RSD<%6) arasında olmuştur (8).

Süper kritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) ve HPLC kullanılarak çoklu pestisit kalıntıları ve bu pestisitlerin metabolitlerinin saptandığı bir metot geliştirilmiştir. 27 pestisit saptanmasına imkan sağlayan çalışma, salatalık, patates, elma, turp ve muz örneklerinin analizinde kullanılmıştır. 27 pestisit için saptama limiti 0,05–0,1 ng'dır (9). Sebze ve meyvelerdeki acetamiprid, imidacloprid ve nitenpyram kalıntıları HPLC/DAD (Diyot Array Dedektör) ve C-18 kolon kullanılarak analiz edilmiştir. Örneklerin ekstraksiyonunda asetonitril kullanılmıştır. Tüm geri kazanım çalışmaları boyunca elde edilen RSD %10 dan küçük çıkmıştır (10).

Bir başka çalışmada, eski çoklu kalıntı analiz metotlarında kullanılmış olan birçok parametre bir araya getirilerek, etkin bir örnek hazırlama yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemin en önemli avantajı elde edilen örnek ekstraktlarının hem GC' de hem de HPLC' de analiz edilebilmesi olmuştur (11).

Katı faz mikroekstraksiyon ve HPLC/DAD eşleştirilerek altı tane organoklorlu pestisidin (folpet, nuarimol, penconazole, triadimenol, triadimefon ve vinclozolin) şaraptaki kalıntısının tespiti için yeni bir metot geliştirilmiştir (12).

Sebze ve meyve sularındaki N- metilkarbamatlı pestisitler (carbaryl, carbofuran, methiocarb, methomyl, oxamyl ve propoxur) için hızlı bir çoklu kalıntı analiz metodu geliştirilmiştir. Metodun temeli N-metilkarbamatlı pestisitlerin florosilde tutunması ve daha sonra düşük hacimde asetonla ekstraksiyonu esasına dayanır. Çalışmada post kolon türevlendirme ve HPLC/ Floresans Dedektör kullanılmıştır (13). Sebze ve meyvelerde kullanılan bazı insektisitler için HPLC/DAD/MS kullanılarak basit ve çok yönlü bir metot geliştirilmiştir. Metot, sebze ve meyve örneklerinin temizleme işlemi yapılmadan analizine imkan vermektedir (14). Sebze ve meyvelerde bulunan 12 pestisit aynı anda tayin edildiği bir metot geliştirilmiştir. Pestisitlerin temel hat çizgisinde ayrılmaları için ters faz HPLC ve dereceli elüsyon kullanılmış, analiz 32 dakikada tamamlanmıştır. Bu pestisitlerin saptama aralığı 0,14–2,65 ng'dır. Geliştirilen bu metot toplam 40 sebze ve meyve örneğinde denenmiştir. Sebze ve meyvelerde iz miktarda pestisit analizinde kullanılan metodun hızlı, doğru, duyarlı ve tekrar üretilebilirliği yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür (15).

Sebze, meyve ve tahıllarda kullanılan flupoxam, linuron, rimsulfuron, diflubezuron, fenoxycarb, methomyl, tetradifon, benomyl, carbendazim ve thiophanate-methyl pestisitlerinin kalıntı analizleri için üç farklı ekstraksiyon yöntemi ve HPLC-DAD kullanmıştır. Analizde ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırılmıştır (16).

Sonuçlar

Gıdalardaki pestisit kalıntılarının tespitinde HPLC cihazının oldukça yaygın olarak kullanıldığı ve son yıllarda kullanımının daha da arttığı görülmektedir. Özellikle yüksek sıcaklıklarda bozulan ve bu nedenle de gaz kromatografisi ile analiz edilemeyen pestisitlere analiz imkanı sağlaması HPLC'nin en büyük avantajlarından biridir. HPLC ile aynı anda nicel ve nitel analiz yapılabilen; basit,

Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

hızlı ve ekonomik metotlar geliştirilebilmekte ve bunlar uygulamaya verilmektedir. HPLC cihazında değişik dedektörlerin kullanılması ile farklı kimyasal yapılardaki pestisitlerin analizlerinin yapılabilmesi çalışma yelpazesini genişletmektedir.

Kaynaklar

1. Hişıl Y. 1999. *Enstrümental gıda analizleri-I*. Ege Ün. Basımevi, İzmir.
2. Kumbur H, Özer Z, Özsoy HD. 2005. Tarım ilaçlarının (pestisitlerin) çevresel etkileri ve Mersin ili'nde kullanım düzeyleri. GAP IV Tarım Kongresi, 702-707s, 21-23 Eylül 2005, Şanlıurfa.
3. Anonim. Tarım ilaçları çalışma grubu raporu. Ankara 2006:1-54.
4. Delen N, Durmuşoğlu E, Günca A, Güngör N, Turgut C, Burçak A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI Teknik Kongresi, 629-648s, 3-7 Ocak 2005, Ankara.
5. Aksu P. 2007. Meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntılarının tayininde Gaz Kromatografisi /Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile çoklu kalıntı analiz yönteminin geliştirilmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi (Yayınlanmamış), 389 s, İzmir.
6. Urruty L, Montury M. 2002. SPME and pesticides residues in food analysis application to strawberries. *Revue de la Faculte des Sciences de Bizerte Volume I*, p. 5-11, <http://www.fsb.rnu.tn/recherche/Revue/v1art02.pdf>
7. Liu CH, Mattern GC, Yu X, Rosen RT, Rosen JD. 1991. Multiresidue determination of nonvolatile and thermally labile pesticides in fruits and vegetables by thermospray liquid chromatography/mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 39: 718-723.
8. Carabias MR, Rodriguez GE, Amigo Moran MJ, Hernandez MJ. 1992. Sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in fruits and surface waters by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr*; 607 (1) 37-45.
9. Kaihara A, Yoshii K, Tsumura Y, Nakamura Y, Ishimitsu S, Tonogai Y. 2000. Multiresidue analysis of pesticides in fresh fruits and vegetables by supercritical fluid extraction and Hplc. *Journal of Health Science*, 46 (5) 336-342.
10. Obana H, Okihashi M, Akutsu K, Kitagawa Y, Hori S. 2002. Determination of acetamiprid, imidacloprid and nitenpyram residues in vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography with diode array detection. *J Agric Food Chem*, 50 (16) 4464-7.
11. Anastassiades M, Lehotay SJ, Štajnbaher D, Schenck FJ. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*. 86 (2) 412-431.
12. Millan S, Sampedro MC, Unceta N, Goicolea MA, Rodriguez E, Barrio RJ. 2003. Coupling solid-phase microextraction and high-performance liquid chromatography for direct and sensitive determination of halogenated fungicides in wine. *J Chromatogr A* 995 (1-2) 135-42.
13. Sanchez-Brunete C, Alberio B, Tadeo JL. 2004. High-performance liquid chromatography multiresidue method for the determination of N-methylcarbamates in fruit and vegetable juices. *J Food Prot*. 67 (11) 2565-9.
14. Caboni P, Sarais G, Angioni A, Garau VL, Cabras P. 2005. Fast and versatile multiresidue method for the analysis of botanical insecticides on fruits and vegetables by HPLC/DAD/MS. *J Agric Food Chem*. 53 (22) 8644-9.
15. Li Y, Sun C, Zhao J, Yang L. 2006. Simultaneous determination of multiresidual pesticides in vegetables and fruit by high performance liquid chromatography. *Se Pu*. 24 (3) 251-5.
16. Michel M, Buszewski B. 2002. Hplc determination of pesticide residue isolated from food matrices. *J. Liq. Chrom & Rel. Technol*. 25: 2293-2306.