

Tallinna Tervishoiu Kõrgkool

farmaatsia õppetool

Silver Kruus

**PIPARMÜNDI DROOGIDES JA -TEEDES SISALDUVATE PESTITSIIDIDE
KVANTITATIIVNE ANALÜÜS NING VÕRDLUS**

Lõputöö

Juhendaja: Laine Parts

Tallinn 2017

Olen koostanud käesoleva lõputöö iseseisvalt. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite töödest, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on viidatud.

Lõputöö autori allkiri:.....

Kuupäev “.....“ 2017. a.

Luban Tallinna Tervishoiu Kõrgkoolil avalikustada oma kõvakõitelise lõputöö kõrgkooli raamatukogus ja lõputöö PDF versiooni raamatukoguprogrammis RIKSWEB (<http://riks.ttk.ee/>).

Lõputöö autori allkiri:.....

Kuupäev “.....“ 2017. a.

Lubatud kaitsmisele.

Juhendaja: Laine Parts MSc

.....

/allkiri/

Kuupäev “.....“ 2017. a.

KOKKUVÕTE

Silver Kruus (2017). Tallinna Tervishoiu Kõrgkool, farmaatsia õppetool. Piparmündi droogides ja -teedes sisalduvate pestitsiidide kvantitatiivne analüüs ning võrdlus. Lõputöö on 40 leheküljel, sisaldab 12 joonist, 9 tabelit ja 2 lisa kolmel leheküljel ning on kasutatud 26 kirjandusallikat.

Töö eesmärgiks oli uurida piparmündi kasvu ohustavaid tegureid, pestitsiidide kasutamist, pestitsiidide mõju inimesele, erinevaid adsorbente kolonnkromatograafilises metoodikas, pestitsiidide jääkide sisaldust piparmündi droogides ja piparmünditeedes, tuvastatud pestitsiidide jääkide jäämist kehtestatud piirnormidesse ja võrrelda piparmündi droogide ning piparmünditeede analüüsides tulemusi omavahel.

Töö on koostatud empiirilise uuringuna, mille kirjanduse ülevaate osas koguti andmed tõenduspõhistest allikatest ja andmebaasidest vastavalt teemale. Empiirilises osas viidi läbi analüütiline uuring, milles uuriti Eestis kasvatatud ning müüdavate piparmündi droogide ja Eesti jaekaubanduses müüdavate piparmünditeede pestitsiidide jääkide sisaldust gaasikromatograafilisel meetodil.

Piparmündi kasvu ohustavad peamiselt seenhaigused, nematoodid ja viirused; pestitsiide kasutatakse erinevate kahjurputukate, umbrohu, näriliste, seente, bakterite, tigude ning nälkjate tõrjeks; pikaajaline pestitsiididega kokkupuude võib kahjustada inimese elukvaliteeti ja võib põhjustada häireid erinevates elundkondades. Uuringus leiti, et jaekaubanduses müüdavad piparmünditeed sisaldavad rohkem erinevaid pestitsiidide jääke kui apteekides ja mahepoodides müüdavad piparmündi droogid. Enamus uuringu käigus tuvastatud pestitsiidide jäägid jäid Euroopa Liidu kehtestatud piirnormidesse, neljas erinevas proovis ületasid pestitsiidide jäägid Euroopa Liidu kehtestatud piirnorme.

Võtmesõnad: *Mentha x piperita* L., piparmünt, pestitsiidid, piirnormid, kvantitatiivne analüüs, gaasikromatograafia.

SUMMARY

Silver Kruus (2017). Tallinn Health Care College, Chair of Assistant Pharmacist. „Quantitative analysis and comparison of pesticides in peppermint leaves and teas“. The thesis consists of 40 pages, 26 references, 12 figures, 9 tables and 2 appendices on three pages.

The aim of this thesis was to investigate the factors which endanger growth of peppermint, the use of pesticides, the effects of pesticides on peoples health, the use of different adsorbents in column chromatography, the residues of pesticides in peppermint leaves and teas, the detection of pesticide residues remaining in approved limits and to compare results of peppermint leaves and teas.

The data was obtained from evidence-based sources and databases according to the subject. This thesis consists of an analytic study of where investigated pesticide residues in Estonia grown and sold peppermint leaves and in Estonian retail trade sold peppermint teas by a gas chromatographic method.

The growth of peppermint is endangered by fungal diseases, nematodes and viruses, pesticides are used for controlling various insects, weeds, rodents, fungi, bacteria, snails and slugs, long-term exposure to pesticides can harm a person's life quality and can lead to disturbances in different organ systems. The study found that peppermint teas contain more different pesticide residues than peppermint leaves than the ones that are sold in organic stores and in pharmacies. Most of the detected pesticide residues in the study were within the imposed pesticide limits stated by the European Union, in four different samples detected pesticide residues exceeded limits imposed by the European Union.

Key words: *Mentha x piperita* L., peppermint, pesticides, pesticide residue limits, quantitative analysis, gas chromatography.

SISUKORD

KOKKUVÕTE	3
SUMMARY	4
SISSEJUHATUS	6
1. PIPARMÜNT	9
1.1. Botaaniline iseloomustus	9
1.2. Droog	9
1.3. Keemiline koostis	9
1.4. Kasutamine	10
1.5. Piparmündi kasvu ohustavad tegurid	10
2. PESTITSIIDID	12
2.1. Pestitsiidide kasutamine	12
2.2. Pestitsiidide mõju inimestele	13
2.3. Pestitsiidide sisalduse regulatsioon	15
3. UURIMISTÖÖ METOODIKA	16
3.1. Kirjandusanalüüsi meetoodika	16
3.2. Analüütilise uuringu meetoodika	16
3.3. Kasutatud materjal	17
3.4. Proovide ettevalmistamine	19
3.5. Kolonnkromatograafia	20
3.6. Gaasikromatograafiline analüüs	24
3.7. Pestitsiidide jääkide analüüs	25
4. TULEMUSED	27
5. ARUTELU	30
JÄRELDUSED	34
KASUTATUD KIRJANDUS	36

LISAD

Lisa 1. – Tuvastatud pestitsiidide kvalitatiiv- ja kvantiteerimispiigid

Lisa 2. – Tabel 9. Analüüsil saadud pestitsiidide jääkide kvantitatiivse koguse ja kehtestatud piirnõrkude võrdlus.

SISSEJUHATUS

Piparmünt on tugeva iseloomuliku lõhnaga mitmeaastane rohttaim (Raal 2010b: 567), mille droogideks on piparmündilehed ja piparmündiõli (EP volume 2 2010). Piparmündi kasvu ja saagikuse peamiseks ohuteguriteks on: seemned, nematoodid (ümarussid) ja viirused (Kalra jt 2005).

Pestitsiid on igasugune aine või ainete segu, mis on mõeldud kahju põhjustavate või muud moodi sekkuvate kahjurite, soovimatute taimeliikide või loomade ennetamiseks, hävitamiseks või kontrollimiseks (EP volume 1 2010: 242). Pikaajaline kontakt pestitsiididega võib kahjustada inimese elukvaliteeti ning põhjustada häireid erinevates elundkondades (Mostafalou jt 2013: 158).

Piparmündi toime põhineb mentoolil, mis laiendab veresooni. Piparmünt soodustab samuti sapi nõristust, vähendab iiveldust ning gaaside teket ja valu seedekulglas ning maksa piirkonnas. (Raal 2010a: 281). Piparmündilehti ja piparmündiõli teatakse hästi nende aroomi- ja maitseomaduste põhjal. Seetõttu kasutatakse piparmündilehti ja –õli paljudes toidukaupades ning kosmeetikatoodetes. (McKay jt 2006). Lisaks toiduainetele leidub mündiõli (samuti piparmündiõli) sigarettides ja hambapastades (Löhmus 2006: 478). Samas võib piparmünt sisaldada erinevaid pestitsiidide jääke, mis pikaajalises kokkupuutel võivad kahjustada inimorganismi.

Uurimisprobleemideks on piparmündi laialdane kasutamine, pestitsiidide võimalik sisaldus piparmündis ja põhjalikum uuring kasutatavatest pestitsiididest ning nende mõjust inimorganismile. Lõputöö eesmärgiks on uurida apteekides ja jaekaubanduses müüdavate piparmündi droogide ja piparmünditeede võimalikku reostust pestitsiididega.

Uurimisülesanded on:

- mis ohustab piparmündi kasvu,
- milleks kasutatakse pestitsiide,
- millist mõju avaldavad pestitsiidid inimestele,
- võrrelda erinevaid adsorbente kolonnkromatograafiates,
- kas Eestis kasvatatud piparmündi droogid sisaldavad pestitsiidide jääke,
- kas Eesti jaekaubanduses müüdavad piparmünditeed sisaldavad pestitsiidide jääke,

- kas Eestis kasvatatud piparmündi droogide ja Eesti jaekaubanduses müüdavate piparmünditeede pestitsiidide jäägid jäävad kehtestatud piirnormidesse,
- võrrelda piparmündi droogides ja jaekaubanduse piparmünditeedes sisalduvate pestitsiidide jääkide sisaldust.

Lõputöö on järg kursusetööle „Piparmündi droogides sisalduvate pestitsiidide jääkide kvantitatiivne analüüs gaasikromatograafilisel meetodil“, mis kinnitas, et Eesti ettevõtete poolt kasvatatud piparmündi droogid sisaldavad pestitsiidide jääke. Kursusetöös tuvastatud pestitsiidide jäägid olid minimaalsed ja jäid kehtestatud piirnormidesse, kuid arvestades, et ravimtaimedele (sh piparmünt) on küll kehtestatud pestitsiidide piirnormid ja puudub süstemaatiline kontroll, võib järeldada, et erinevad piparmündi droogid ja piparmünditeed võivad sisaldada veel teisi pestitsiidide jääke.

Töös on kasutatud järgmiseid lühendeid:

EP – *European Pharmacopoeia* (tõlk Euroopa Farmakopöa)

EL – Euroopa Liit

Töös on kasutatud järgmiseid mõisteid:

Adsorbent – tahke aine, mis peab kinni erinevate ainete molekule pinna sidumisvõimega. (Lehman 2002: 627)

Kromatogramm – detektori signaali intensiivsuse muutus ajas, koosneb erineva kõrguse ja pindalaga piikidest. (Fundamentals of...2002: 14-15)

Pestitsiid (taimekaitsevahend) – pestitsiid on igasugune aine või ainete segu, mis on mõeldud kahju põhjustavate või muud moodi sekkuvate kahjurite, soovimatute taimeliikide või loomade ennetamiseks, hävitamiseks või kontrollimiseks ravimtaimete töötlemise, tootmise, ladustamise, transpordi või turustamise käigus. Pestitsiidide alla kuuluva ka aineid, mis on saakidele lisatud enne või pärast koristust ja on mõeldud kasutamiseks kasvuregulaatoritena, defoliantidena, kuivatusainetena või muude ainetena ning kaitsevad kaupa ladustamise ja transportimise ajal riknemise eest. (EP volume 1 2010: 242).

Piik – igale ainele vastab kromatogrammil kõver (piik), mille kõrgus sõltub aine kontsentratsioonist proovis. (Fundamentals of...2002: 47-48)

Retentsiooniaeg – aeg, mis kulub aine sisestamisest tema piigi maksimumi väljumiseni kromatogrammil. (Fundamentals of...2002: 47)

1. PIPARMÜNT

1.1. Botaaniline iseloomustus

Piparmünt (*Mentha x piperita* L.) on tugeva iseloomuliku lõhnaga mitmeaastane rohttaim, mis kasvab 30-70 sentimeetri kõrguseks. Piparmündi vars on püstine ja okslik, neljakandilise kujuga. Lehed teravad, munajas-süstjad, tervasaagja servaga. Pealt on lehed tumerohelised ning paljad. Lehe alumine pool on kaetud heledate ja lühikeste lidus karvadega. Piparmündi õied on väikesed, ebakorrapärase kujuga ja paiknevad männastena ülemiste lehtede kaenas. Õied on punakat või lillakat värvi. Piparmünt on hübriidtaim, mis tähendab, et teda saab ainult paljundada vegetatiivselt – risoomitükkide või pistokste abil. (Raal 2010b: 567).

1.2. Droog

Piparmündi droogideks on piparmündilehed ja piparmündiõli. Terved lehed peavad sisaldama eeterliku õli 12 ml/kg ja peenestatud lehed peavad sisaldama eeterliku õli 9 ml/kg, siis on tegemist droogiga. Eeterlik õli saadakse aurdestilatsiooni meetodil värsketest õitsevatest piparmündi taimedest. (EP volume 2 2010).

Droogiks sobivad lehed, mis kogutakse enne taime õitsemist või õitsemise alguses. Lehed on tugeva iseloomuliku lõhnaga ja maitsetl on lehed jahutavad ning aromaatsed. (Raal 2010a: 281). Piparmünt õitseb augustist septembrini või oktoobrini (Leht 2010: 240). Piparmündiõli on värvitu, kahvatukollane või rohekaskollane, iseloomuliku lõhna ja jahutava maitsega vedelik (Raal 2010a: 281).

1.3. Keemiline koostis

Piparmündilehed sisaldavad 0,5...4% eeterlikku õli. Eeterliku õli põhikomponendiks on L-mentool. Lisaks sisaldab õli teisi terpenoidseid ühendeid: limoneen, tsineool, mentoon, mentofuraan, isomentoon, metüülatsetaat, pulegoon ja karvoon. Peale terpenoidide leidub lehtedes veel flavonoide, tanniine, triterpeene ja steroole. (Raal 2010a: 281).

Piparmündi taimedest saadud piparmündiõli peab sisaldama: mentooli 30,0...55,0%; limoneeni 1,0...5,0%; tsineooli 3,5...14,0%; mentooni 14,0...32,0%; mentofuraani

1,0...9,0%; isomentooni 1,5...10,0%; metüülatsetaati 2,8...10,0%; pulegooni kuni 4,0% ja karvooni kuni 1,0% (EP volume 2 2010).

1.4. Kasutamine

Päevane annus on 3-6 g kuivatatud piparmündi lehti või sellega ekvivalentne kogus mõnda piparmündipreparaati (Raal 2010a: 281). Piparmündiõli päevane annus on 0,15-0,6 ml päevas (Veitch jt 2013: 576). Piparmündi toime põhineb mentoolil, mis laiendab reflektorselt südame-, kopsu- ja ajuveresooni. Piparmündi paikse kasutamise korral ahenevad perifeersed veresooned ja seetõttu väheneb närvilõpmete tundlikkus ning valu. Piparmünt soodustab samuti sapi nõristust, vähendab iiveldust ning gaaside teket ja valu seedekulglas ning maksa piirkonnas. (Raal 2010a: 281).

Piparmündiõli kasutatakse köha ja külmetuse sümptomaatiliseks raviks ning seda võib kasutada nii välispidiselt kui ka seespidiselt. Välispidiselt kasutatakse seda paikset manustatavate ravimivormides nagu salvid. Seespidiste ravimivormide korral leidub piparmündiõli imemistablettides või aerosoolpihustites. Samuti tehakse piparmündiõliga inhalatsioone. (Veitch jt 2013: 575).

Piparmündilehti ja piparmündiõli teatakse hästi nende aroomi- ja maitseomaduste põhjal. Seetõttu kasutatakse piparmündilehti ja -õli paljudes toidukaupades ning kosmeetikatoodes. (McKay jt 2006). Piparmündi eeterlikke õlisid kasutatakse närimiskummis, šokolaadis ja likööris. Lisaks toiduainetele leidub mündiõli (samuti piparmündiõli) sigarettides ja hambapastades. Kosmeetikatoodes kasutatakse piparmündi eeterlikke õlisid lõhnaainetena. (Lõhmus 2006: 478).

1.5. Piparmündi kasvu ohustavad tegurid

Müntide perekond (samuti piparmünt) on tundlik mitmete erinevate haiguste, millega kaasnevad märkimisväärsed kahjud saagile ja toodangule. Hetkel on müntidel tuvastatud üle 30 patogeeni. Piparmündi patogeenide alla kuuluvad: seened, nematoodid (ümarussid) ja viirused. (Kalra jt 2005: 71-73).

Müntide perekonda ohustavad kõige enam erinevad seenhaigused. Peamisteks seenhaigusteks on: *Puccinia menthae* (roostehaigus), *Alternaria alternata* (lehelaikus),

Rhizoctonia solani (õhuline lehemädanik), *Verticillium dahliae* (närtsimine), *Phoma stasseri* (varremädanik, *Rhizoctonia solani* / *bataticola* (juure- ja võsude mädanik) ja *Erysiphe cichoracearum* (jahukaste). Piparmündi kasvu ja saagikust ohustavad kõik eelnevalt nimetatud seenhaigused, eriti roostehaigus. (Kalra jt 2005: 73-78).

Roostehaiguse korral tekivad piparmündi lehtedele iseloomulikud tumepruunid spooretootvad pustulid ja seetõttu on lehtede langemine tavaline. Roostehaigus süveneb, kui kasvatamist jätkata samas piirkonnas mitmel järjestikusel aastal. Piparmündil saab roostehaigust vältida, kui kasutada nakkusvabu istiktaimi. Vajadusel võib taimi pritsida nikkelkloriidiga, tebukonasooliga, mankotseebiga ja propikonasooliga, mis pakuvad usaldusväärset kaitset taimedele. (Kalra jt 2005: 73-74).

Piparmündi nakatajateks on *Meloidogyne* perekonda ja *Pratylenchuse* perekonda kuuluvad nematoodid. *Meloidogyne* nematoodidesse nakatunud taimed on kiduramad. Neil on väikesed ja klorofüllivaesed lehed. Väljajuurimisel on nakatunud taimedel vähem juurealgmeid ning juurekarvu ja juurtel asetsevad väikesed sõlmed ning gallid. *Pratylenchuse* perekonda kuuluvate nematoodidega nakatunud taimedel on kängujäänud kasv, lehepõletus (pruunistunud lehekoed) ja haiguskolded juurestikus. (Kalra jt 2005: 78-80).

Viiruste puhul ei kaasne suuri mõjutusi piparmündi kasvule. Kuigi infektsioonitekitajad võivad kanduda edasi järgmiste aastate taimedele vegetatiivse paljundamise kaudu. Seepärast on suureks probleemiks pigem viirusvabade istikute säilitamine. (Kalra jt 2005: 80).

2. PESTITSIIDID

2.1. Pestitsiidide kasutamine

Pestitsiidide kasutamine sõltub konkreetselt tõrjeobjektist. Loomsete kahjurite tõrjeks kasutatakse zootsiide. Zootsiidide alla liigituvad insektitsiidid ja akaritsiidid (lestade tõrje). Taimeriiki kuuluvate kahjustajate tõrjeks kasutatakse fütotsiide. Fütotsiidide alla kuuluvad herbitsiidid, fungitsiidid ja bakteritsiidid (bakterihaiguste tõrjeks). (Ameerikas 2000:13-14). Pestitsiidide hulka liigituvad ka kasvuregulaatorid (EP volume 1 2010: 242). Kasvuregulaatorid on bioloogiliselt aktiivsed ained, mis muudavad taimedes toimuvaid füsioloogilise ja biokeemilisi protsesse (Ameerikas jt 2000: 14). Täpsem pestitsiidide jaotus on toodud tabelis 1.

Tabel 1. Pestitsiidide klassifikatsioon (Arias-Estevez jt 2007, kohandatud: 248).

Tõrjeobjeti järgi		Toimemehhanismi või toimeaja järgi	
Tüüp	Sihtmärk	Tüüp	Toime
Bakteritsiidid (puhastusvahendid / desinfectandid)	Bakterid	Süsteemne	Liigub läbi taime või kahjuri, järgneb imendumine
Defoliandid	Taimelehed	Kontaktne	Tapab kokkupuutel kahjuri
Kuivatusained	Taimelehed	Fumigantne	Siseneb kahjuriisse gaasina
Fungitsiidid	Seened	Mitte selektiivne	Mürgine nii saagile kui umbrohule
Herbitsiidid	Umbrohi	Selektiivne	Mürgine ainult umbrohule
Insektitsiidid	Kahjurputukad	Tärgamiseelne	Tõhus pärast istutamist ja enne taimede või umbrohu tärgamist
Akaritsiidid	Lestad / puugid	Tärgamisjärgne	Tõhus pärast taimede või umbrohu tärgamist
Mollusktsiidid	Nälkjad / teod	Enne istutamist	Tõhus enne taimede istutamist
Nematotsiidid	Ümarussid	Protektiivne	Tõhus enne taime nakatumist
Kasvuregulaatorid	Taimekasv	Kõrvaldaja	Tõhus pärast taime nakatumist
Rodentitsiidid	Närilised	Pinnast steriliseeriv	Mürgine kogu taimeestikule
Puidukaitsevahendid	Puitu hävitavad organismid	Seedemürk	Tapab loomkahjustajad pärast mürgi allaneelamist

Herbitsiidid on umbrohutõrjeks mõeldud pestitsiidid. Herbitsiide saab jaotada: kontaktseks, süsteemseks, tärkamiseelseks või tärkamisjärgseks. Kontaktsed herbitsiidid mõjuvad konkreetsele taimeosale ega kandu taimes edasi. Süsteemsed herbitsiidid liiguvad taimesse juurte või maapealsete osade kaudu ning kanduvad seal laiali, hävitades kogu taime. Tärkamiseelsed herbitsiidid toimivad tärkavatele umbrohtudele ja ei lase umbrohul idaneda. Tärkamiseelsete herbitsiidide toime on pikaajaline. Tärkamisjärgsed herbitsiidid toimivad tärganud umbrohtudel, kui umbrohul on idulehtede ja esimeste pärislehtede kasvufaas. (Ameerikas jt 2000: 14;16-17).

Insektitsiidid on kahjurputukate tõrjeks mõeldud pestitsiidid. Insektitsiidide all võidakse mõista ka teisi loomse päritoluga taimekahjustajaid (ümarussid, teod, nälkjad, närilised). Insektitsiide saab jaotada keemilise koostise järgi: kloororgaanilised, karbamaadid, fosfororgaanilised ja püretroidid. (Ameerikas jt 2000: 13;40-143).

Fungitsiidid on seenhaiguste tõrjeks mõeldud pestitsiidid. Fungitsiide jaotatakse keemilise koostise järgi: anorgaanilised, ditiokarbamaadid, bensimidasoolid, fenüülamiidid ja triasoolid. Anorgaanilised fungitsiidid on mehhanismilt kontaktse toimega. Lisaks fungitsiidsele toimele, on anorgaanilised fungitsiidid ka toitaineks taimedele. Ditiokarbamaadid on kontaktse toimega fungitsiidid, mida kasutatakse väga erinevate seente poolt põhjustatud taimehaiguste tõrjeks. Bensimidasoole kasutatakse kompleksseenhaiguste tõrjeks. Fenüülamiidid on süsteemse toimega fungitsiidid, mida kasutatakse lehemädaniku, jahukaste ja juuremädanike tõrjeks. Fenüülamiide kombineeritakse kahe või mitme kontaktse fungitsiidiga vältimaks resistentsuse teket. Triasoolid on süsteemsed fungitsiidid, mida kasutatakse paljude seenhaiguste tõrjeks. (Ameerikas jt 2000:14;50-53).

2.2. Pestitsiidide mõju inimestele

Pikaegne kontakt pestitsiididega võib kahjustada inimese elukvaliteeti ning põhjustada häireid erinevates elundkondades. Nendeks elundkondadeks on närvisüsteem, endokriinsüsteem, immuunsüsteem, kuse-suguelundkond, südame-veresoonkond ja hingamiseldkond. Samuti on olemas tõendeid seoste kohta pestitsiidide ja krooniliste haiguste vahel nagu vähk, Parkinson, Alzheimer, diabeet, kardiovaskulaar- ja kroonilised neeruhaigused. (Mostafalou jt 2013: 158).

Esimesed tõendid vähi ja pestitsiidide vahelisest seosest pärinevad 1950 ja 1960 aastatest. Nimelt leiti suurem naha- ja kopsuvähi esinemissagedus põllumeestel, kes kasutasid insektitsiide viinamarjapõldudel. Seoses paljude uuringutega, mis on teostatud viimase 60 aasta jooksul, on avastatud uusi tõendeid pestitsiididega kokkupuutumise ja vähkkasvajate vahel. Nendeks vähkkasvajateks on rinna-, eesnäärme-, kopsu-, pärasoole-, munandi-, kõhunäärme-, söögitoru-, mao- ja nahavähk ning mitte-Hodgkini lümfoom. Hetkel peetakse pikaajalist väikese annuselist pestitsiididega kokkupuudet üheks olulisemaks riskiteguriks vähkkasvajate levikul. Seega enne turustamist on pestitsiidile kehtestatud katsed, mis tuvastavad pestitsiidide võimaliku kantserogeensuse. (Mostafalou jt 2013: 158).

Pestitsiididel on samuti kahjulik mõju nii mehe- kui ka naise reproduktiooni süsteemile. Pestitsiididega pikaajasel kokkupuutel on täheldatud järgmisi reproduktiooni süsteemi häireid nagu vähenenud viljakus nii meestel kui naistel, antiandrogeenne toime ja nurisünnituse riski suurenemine. (Mostafalou jt 2013: 159).

Teadlased on leidnud seoseid Alzheimeri ja Parkinsoni tõve vahel. Parkinsoni tõve ja pestitsiidide omavahelise seotuse toob välja Freire C. ja Koifman S. uuring: *Pesticide exposure and Parkinson's disease: Epidemiological evidence of association* (2012). Uuringus on välja toodud, et on olemas seosed pikaajasel kokkupuutel pestitsiidide ja Parkinsoni tõve vahel, kuid need seosed vajavad veel tugevat tõestust (Freire jt 2012). Alzheimeri tõve seotust ja pikaajalist pestitsiididega kokkupuudet on samuti uuritud erinevate uuringute käigus (Mostafalou jt 2013: 159). Kümme aastat kestnud uuringus, kus osalesid eakamad maapiirkonna elanikud, ilmnes suurenenud risk haigestuda Alzheimeri tõppe. Antud uuringus uuriti täpsemalt kesknärvisüsteemi mõjutavaid pestitsiide (fosfororgaanilised). Selle tulemusel leiti, et inimestel, kes olid kokkupuutunud fosfororgaaniliste pestitsiididega, arenes hiljem välja Alzheimeri tõbi. (Hayden jt 2010).

Pestitsiidide ja ka teiste haiguste, nagu (diabeedi, kroonilised neeruhaigused ning, kardiovaskulaar haigused) vahel on leitud seoseid. Näiteks leiti kloororgaanilisi pestitsiide kroonilistel neeruhaigetel. Samuti on leitud seoseid fosfororgaaniliste pestitsiidide ja koronaararteri haiguste vahel. (Mostafalou jt 2013: 163).

2.3. Pestitsiidide sisalduse regulatsioon

Euroopa farmakopöa (EP) kehtestab pestitsiidide piirnormid, mis on lubatud droogides. Samas lisatakse, et pestitsiidide piirnormid, mis ei ole välja toodud antud EP-s, kehtestab Euroopa Nõukogu direktiiv, selle lisad ja direktiivi uuendused. (EP volume 1 2010: 242).

Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus (EÜ) nr 1107/2009 „Taimekaitsevahendite turulelaskmise ja nõukogu direktiivide 79/117/EMÜ ja 91/414/EMÜ kehtetuks tunnistamise kohta“ sätestab eeskirjad kaubanduslikus vormis taimekaitsevahendite turule lubamise, nende turulelaskmise, kasutamise ja kontrolli kohta ühenduse (EL) piires. Määruse 1107/2009/EÜ eesmärgiks on tagada inimeste ja loomade tervise ning keskkonna kõrgetasemeline kaitse. (Taimekaitsevahendite turulelaskmise... 2009). Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus (EÜ) nr 396/2005 „Taimses ja loomses toidus ja söödas või nende pinnal esinevate pestitsiidide jääkide piirnormide ja nõukogu direktiivi 91/414/EMÜ muutmise kohta“ sätestab pestitsiidide jääkide piirnormid taimses ja loomses toidus (Taimses ja loomses... 2005). Määruses 396/2005/EÜ kehtestatud pestitsiidide piirnormid ja määruses 1107/2009/EÜ turulelubatud pestitsiidid leiab Euroopa Liidu Pestitsiidide andmebaasist (Euroopa Liidu...).

„Taimekaitsevahend peab Eestis turustamiseks ja kasutamiseks vastama õigusaktidega kehtestatud nõuetele ega tohi nõuetekohase kasutamise korral olla ohtlik inimesele või keskkonnale.“ (Taimekaitsevahendid... 2016: 1) Eesti Vabariigi Põllumajandusamet haldab Taimekaitsevahendite registrit, kuhu on kantud turulelaskmise loa saanud taimekaitsevahendid (Põllumajandusameti taime...). „Turustada ja kasutada on lubatud ... Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määruse (EÜ) nr 1107/2009 kohaselt Eestis turulelaskmise loa saanud või enne seda taimekaitseseaduse alusel turule lubatud taimekaitsevahendit.“ (Taimekaitsevahendid... 2016: 1)

3. UURIMISTÖÖ METOODIKA

3.1. Kirjandusanalüüsi meetoodika

Lõputöö kirjandusallikate leidmiseks on kasutatud Tallinna Tervishoiu Kõrgkooli raamatukogu, Tallinna Ülikooli akadeemilist raamatukogu, interneti otsingumootoreid *Google* ja *Google Scholar*. Kasutatud kirjanduse hulka kuuluvad teatmeteosed, õpikud, raamatud, teaduslikud artiklid, elektroonilised allikad ja elektroonilised andmebaasid. Elektroonilised teaduslikud artiklid on leitud *ScienceDirect*'ist (interneti aadressilt *sciencedirect.com*) ja ajakirjast *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* (interneti aadressilt *tandfonline.com/toc/whsm20/current*) ning otsingusõnadeks on *Menthae Piperitae, peppermint, peppermint diseases, pesticides, pesticide limits, pesticide residues, pesticide toxicity, adsorbent, column chromatography*, piparmünt, piparmündi haigused, pestitsiidid, pestitsiidide jäägid, pestitsiidide piirnормid, taimekaitsevahendid, taimekaitsevahendite piirnормid, taimekaitsevahendite kasutamine, taimekaitsevahendite mürgisus, adsorbent, kolonnkromatograafia.

Kirjandusallikate kriteeriumiteks oli allikate tõenduspõhisus, ilmumisaasta, ja vastavus töö teemale. Töös kasutatud materjalid ilmusid aastatel 1989 kuni 2016. Lõputöö koostamisel ja vormistamisel järgiti juhendit „Kirjalike üliõpilastööde struktuur ja vormistamine Tallinna Tervishoiu Kõrgkoolis“ (2015). Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd on tsiteeritud või refereeritud kirjandusallikatest ja on tekstis viidatud. Uurimistöös on autor lähtunud eetika nõuetest.

3.2. Analüütilise uuringu meetoodika

Pestitsiidide jääkide kvantitatiivne analüüs viidi läbi Tallinna Tervishoiu Kõrgkooli instrumentaalanalüüsi laboris. Pestitsiidide jääkide kvantitatiivse sisalduse määramiseks piparmündis kasutati viite erinevat piparmündi droogi ja kuute erinevat piparmünditeed, mis on toodetud erinevate ettevõtete poolt. Kolonnkromatograafiate adsorbentide võrdlemiseks kasutati *Peppermint leaves tea* piparmünditeed, mille edasimüüjaks oli Rimi Eesti Food AS. Piparmündi droogid pärinesid ettevõtetest: OÜ Elujõud, OÜ Kubja Ürt, MK Loodusravi OÜ, Uuskaubi talu ja OÜ Vadi Gild. Pakendatud droogid osteti apteekidest ja mahepoest (Uuskaubi droog). Piparmündi teede tootjateks või edasimüüjateks olid: Rimi Eesti Food AS, *Amropa Aussenhandels GmbH*, *Teekanne*

GmbH, Wilken Tee GmbH, Maxima Eesti OÜ ja OÜ Ektoni hulgikaubandus. Piparmündi teed osteti erinevatest toidukauplustest.

Proovide ettevalmistusprotsess põhines standardprotseduuril „*Method N: Extraction with acetone, liquid-liquid partition with dichloromethane or cyclohexane/ethyl acetate, clean-up with gel permeation and silica gel chromatography*“ (Eesti Standard... 2008: 16-20).

Analüüs teostati gaasikromatograafiliselt, kasutades Agilent Technologies 7890B gaasikromatograafi koos mass-selektiivse detektoriga Agilent Technologies 5977A (kasutati *single ion* meetodit, kus otsitakse konkreetsete ühendite ioone) ja kapillaarkolonni (HP-5MS 30m x 0,250mm). Kandegaasina kasutati heeliumit. Ahjutemperatuur programmeeriti nii, et algtemperatuur oli 80°C, seejärel kasvas temperatuur astmeliselt kuni 320°C (maksimaalne temperatuur).

Analüütide retentsiooniaegade kindlaks tegemiseks kasutati kaubanduslikke referentsaineid. Piikide identifitseerimine põhines NIST MS Search 2.2 andmebaasil (2014 aasta versioon), kasutades analüüsimiseks skaneerivat režiimi (*full scan*). Analüütide piikide retentsiooniaja piirkonnas uuriti analüütidele iseloomulikke massi ja laengu suhtega ionide leidumist (*single ion*). Referentsainete lahuseid analüüsides tehti kalibratsioon, mille abil kvantiteeriti proovis leiduvate pestitsiidide sisaldused.

Proovist saadud andmete kvalitatiivne analüüs teostati Agilent MassHunter Qualitative Analysis B.07.00 programmi (2014 aasta versioon) abil ja kvantitatiivne analüüs teostati Agilent MassHunter Quantitative Analysis B.07.00 programmi (2008 aasta versioon) abil.

3.3. Kasutatud materjal

Uuringus kasutati viite piparmündi droogi ja seitset piparmünditeed. Piparmündi droogid osteti apteekidest ja mahepoest. Pakendatud piparmündi drooge turustavad apteekides ja mahepoodides järgnevad ettevõtted: OÜ Elujõud, OÜ Kubja Ürt, MK Loodusravi OÜ, Uuskaubi talu, OÜ Vadi Guild. Töös kasutatud piparmündi drooge on näha joonisel 1. Ülevaade droogide korjeaastast, parim enne kuupäevast ja muu tooteinformatsioon on välja toodud tabelis 2.



Joonis 1. Töös kasutatud piparmündi droogid.

Tabel 2. Droogide korjajaasta ja parim enne kuupäev.

Tootja	Korjajaasta	Parim enne	Kogus pakendis (g)
OÜ Elujõud	2016	01.07.2018	20
OÜ Kubja Ürt	2016	31.12.2018	15 ± 1
MK Loodusravi OÜ	2015	07.2017	20
Uuskaubi talu	2016	20.07.2018	15
OÜ Vadi Guild	2015	01.08.2017	15 ± 1

Uuringus kasutatud piparmünditeed osteti erinevatest toidukauplustest. Osadele piparmünditeede pakenditele ei olnud märgitud tootjad, selle asemel oli pakendile märgitud edasimüüja. Piparmünditeede tootjateks või edasimüüjateks olid: Rimi Eesti Food AS, Amropa Aussenhandels GmbH, Teekanne GmbH, Wilken Tee GmbH, Maxima Eesti OÜ ja OÜ Ektoni hulgikaubandus. Töös kasutatud piparmünditeesid on näha joonisel 2. Uuringus kasutatud piparmünditeede nimed, tootja või edasimüüja ja muu tooteinformatsioon on välja toodud tabelis 3.



Joonis 2. Töös kasutatud piparmünditeed.

Tabel 3. Uuringus kasutatud piparmünditeede tooteinfo.

Nimi	Tootja (*Edasimüüja)	Päritolumaa (tootmiskoht)	Parim enne	Kogus pakendis (g)
<i>PEPPERMINT leaves tea</i>	Rimi Eesti Food AS*	Läti	10.2018	50g
<i>Piparminttu Tee</i>	Amropa Aussenhandels GmbH	Saksamaa	23.11.2018	20x1,25g (25g)
<i>Peppermint</i>	Teekanne GmbH	Saksamaa	10.2019	20x2,25g (45g)
<i>Pfefferminze</i>	Wilken Tee GmbH	Saksamaa	13.06.2018	20x1,5g (30g)
<i>Peppermint tea</i>	Maxima Eesti OÜ*	Teadmata	06.2018	20x1,5g (30g)
Piparmünditee	Rimi Eesti Food AS*	Poola	08.2018	20x1,5g (30g)
<i>MIĘTA herbatka ziolowa</i>	OÜ Ektoni hulgikaubandus*	Poola	11.2018	30x1,5g (45g)

Mõned kasutatud droogid ja teed sisaldasid visuaalse hinnangu alusel ka muud taimset materjali (heinakõrred). Selleks nopiti kõrvaline materjal välja, et vältida proovide saastumist sellest. Enamus poest ostetud piparmünditeed oli pakendatud teekotikesesse. Piparmünditee puru kättesaamiseks lõigati kotikesed katki.

3.4. Proovide ettevalmistamine

Vajadusel piparmündi proovid (vt Joonis 3.) peenestati mehaanilise veskiga. 3,0 grammile peenestatud piparmündi proovile lisati 100 µl isotoopmärgistatud pestitsiidide sisestandardi lahust ($^{13}\text{C}_{12}$ p,p'-DDE, $^{13}\text{C}_{12}$ isodriin, $^{13}\text{C}_{12}$ metoksükloor ja $^{13}\text{C}_{12}$ heksaklorobenseen).



Joonis 3. Peenestatud piparmündi proovid.

Pärast sisestandardlahuse lisamist, lisati proovile 25 ml atsetooni/heksaani lahust (suhtes 1:1) ja ekstraheeriti ultrahelivannis 5 minutit. Pärast esimest ekstraheerimist lisati proovidele veel 25 ml atsetooni/heksaani lahust (suhtes 1:1) ja ekstraheeriti 15 minutit. Pärast 15 minutit ekstraheerimist, filtreeriti (vt Joonis 4.) proov läbi eelnevalt lahustiga (heksaan) pestud filtri rotatsiooniaurusti kolbi.



Joonis 4. Ekstraheeritud proovide filtreerimine läbi kurdfiltrri.

Saadud ekstraheeritud proov kontsentreeriti rotatsiooniaurutis temperatuuril 35°C pöörlemiskiirusel 51 pöoret/min. Kontsentreeritud proov oli valmis puhastamiseks kolonnkromatograafia abil.

3.5. Kolonnkromatograafia

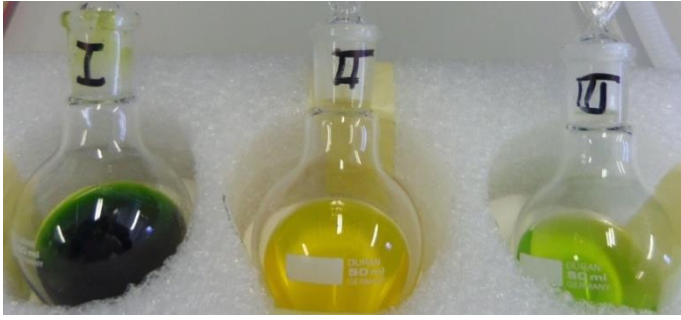
Gaasikromatograafia on võimeline eraldama ja kvantifitseerima analüüti või analüüte kompleksproovist. Sellegipoolest ei ole gaasikromatograafia võimalik kõiki proove analüüsida kompleksproovidenä. Kompleksproovi mitte analüüsimiseks on mitmeid põhjuseid. Esiteks, proov võib sisaldada koostisosi, mis võivad häirida määratava analüüdi tuvastamist. Teiseks, proov võib sisaldada koostisosi, mis võivad kahjustada analüüdi tuvastamiseks kasutatava seadme osi. Nendel juhtudel tuleb proov puhastada segavatest koostisosadest. (Lundanes jt 2014: 161).

Kolonnkromatograafia on osadeks lahutamise meetodika, mis hõlpsasti võimaldab kompleksproovid erinevateks koostisosadeks eraldada. Kolonnkromatograafia meetodikas kasutatakse klaaskoloni, mis on täidetud adsorbendiga. (Eaton 1989: 127-128). Kompleksproovi, mis tuleb koostisosadeks eraldada, pannakse sisse koloni ülemisest osast. Seejärel kompleksproov elueeritakse (pestakse läbi koloni) vedela lahustiga või

lahustite seguga. Proovi erinevad koostisosad tõmbuvad adsorbendi pinnale. Koostisosade tõmbumistugevus adsorbendi pinnale sõltub, ainete polaarsusest ja teistest struktuuriomadustest. (Lehman 2012: 627).

Kolonnkromatograafias kasutatakse erinevaid adsorbente, mis on erinevate aktiivsuseastmetega ja osakeste suurustena (Lehman 2012: 628). Adsorbentide sidumisvõime sõltub adsorbendi polaarsusest ja kompleksproovi koostisosade polaarsusest. Polaarsuse kasvades, kasvab ka sidumisvõime ja seda raskem on viia kõiki kompleksproovi koostisosi läbi kolonni. (Eaton 1989: 1129-30). Alumiiniumoksiid (Al_2O_3) on tugevalt adsorbeeriv ja laialdaselt kasutatav adsorbent kolonnkromatograafias. Alumiiniumoksiidi kasutatakse mitte-polaarsete kuni keskmiselt polaarsete komponentide korral kompleksproovis. Silikageel ei ole nii adsorbeerivate omadustega kui alumiiniumoksiid. Silikageeli kasutatakse erinevate orgaaniliste komponentide (nt amiinid, asoaineid, ketoonid) adsorbeerimiseks. (Eaton 1989: 131).

Parima adsorbendi välja valimiseks tehti katse kolme erineva adsorbendiga. Üks klaaskolonn täideti silikageeliga, teine klaaskolonn täideti aktiivsöe ja silikageeli seguga ning kolmas klaaskolonn täideti alumiiniumoksiidiga. Puhastamiseks valiti välja *Peppermint leaves tea* piparmünditee. *Peppermint leaves tea* piparmünditeed kaaluti kolme erinevasse kolbi 3,0 grammi ja ekstraheeriti samamoodi nagu teised proovid. Samuti filtreeriti proovid läbi kurdfiltride rotatsiooniaurusti kolbidesse ja kontseentreeriti. Kontseentreeritud proovid pipeteeriti erinevate adsorbentidega täidetud klaaskolonnidesse. Rotatsiooniaurusti kolvid puhastati piisaval hulgal n-heksaani/atsetooni lahusega (suhtes 1:1) ja puhatuslahus lisati kolonni. Pärast proovide läbiimbumist kolonnide adsorbendidest lisati kolonnidesse 5ml n-heksaani/atsetooni lahust (suhtes 1:1) ning pärast lahuse läbiimbumist lisati veel 5 ml n-heksaani/atsetooni lahust (suhtes 1:1). Kui proovid olid kolonnkromatograafist läbi elueerunud, siis võrreldi proovide värvuseid omavahel. Silikageeliga täidetud kolonnkromatograafi läbinud proovi värvus oli tumeroheline. Alumiiniumoksiidiga täidetud kolonnkromatograafi läbinud proovi värvus oli kollane. Silikageeli ja aktiivsöega täidetud kolonnkromatograafi läbinud proovi värvus oli läbipaistev, kuid mis hiljem muutus roheliseks. Proovide värvused on näha joonisel 5.



Joonis 5. I - silikageeliga täidetud kolonnkromatogrammi läbinud proovi värvus; II - alumiiniumoksiidiga täidetud kolonnkromatogrammi läbinud proovi värvus; III - silikageeli ja aktiivsöe seguga täidetud kolonnkromatogrammi läbinud proovi värvus.

Katse näitas, et paremini adsorbeerivad (värvuse muutuse järgi) alumiiniumoksiid ning silikageeli ja aktiivsöe segu. Selle katse põhjal otsustati, et ülejäänud proovide puhastamiseks kasutatakse kolonnkromatograafides alumiiniumoksiidi koos silikageeli ja aktiivsöe seguga.

Rotatsiooniaurusti kolvist pipeteeriti kontsentreeritud proov kolonnkromatograafi, et puhastada proov klorofüllist ja muudest analüüsi segavatest ainetest (nt eeterlikud õlid, rasvhapped, jne). Kolonnkromatograaf koosnes klaaskolonnist, mille peenemas otsas oli tehnilise klaasvilla topp ja kolonni peenem osa oli täidetud alumiiniumoksiidi ning silikageeli ja aktiivsöe seguga (vt Joonis 6.).



Joonis 6. Kolonnkromatograafid.

Rotatsioonaurusti kolb puhastati piisaval hulgal n-heksaani/atsetooni lahusega (suhtes 1:1) ja puhastuslahus lisati kolonni. Pärast proovi läbiimbumist kolonnist lisati kolonni 5ml n-heksaani/atsetooni lahust (suhtes 1:1) ning pärast lahuse läbiimbumist lisati veel 5 ml n-heksaani/atsetooni lahust (suhtes 1:1). Proovi värvuse säilimise korral puhastusprotsessi korrati. Proov pipeteeriti uude kolonnkromatograafi ja kolb puhastati piisaval hulgal n-heksaani/atsetooni lahusega (suhtes 1:1) ning puhastuslahus lisati kolonni. Lahuse läbiimbumisel kolonnist, lisati uuesti 5ml n-heksaani/atsetooni lahust (suhtes 1:1) ning pärast lahuse läbiimbumist lisati veel 5 ml n-heksaani/atsetooni lahust (suhtes 1:1). Vajadusel proov kontsentreeriti ja korrati puhastusprotsessi. Loodusravi-, Vadi- ja Kubja proovi kolmanda ja neljanda kolonnkromatograafia adsorbentideks olid alumiiniumoksiid ja silikageel. Alumiiniumoksiidi ja silikageeli kasutamise põhjuseks oli aktiivsöe ning silikageeli segu otsasaamine. Proovide puhastamiseks kulunud kolonnkromatograafiate arv on toodud tabelis 4.

Tabel 4. Erinevate droogide puhastamiseks kulunud kolonnkromatograafiate arv ja kasutatud lahustid: Hex/Ats (1:1) - n-heksaani/atsetooni lahus (suhtes 1:1).

Nr	Proov	Kolonnkromatograafiate arv			
		1	2	3	4
		1. lahusti ja 2. lahusti	1. lahusti ja 2. lahusti	1. lahusti ja 2. lahusti	1. lahusti ja 2. lahusti
1.	<i>MIĘTA herbatka ziolowa</i>	Hex/Ats (1:1)			
2.	Piparmünditee	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)		
3.	<i>Peppermint</i>	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)		
4.	<i>Piparminttu Tee</i>	Hex/Ats (1:1)			
5.	<i>Pfefferminze</i>	Hex/Ats (1:1)			
6.	<i>Peppermint tea</i>	Hex/Ats (1:1)			
7.	Uuskaubi	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)		
8.	Elujõu	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	
9.	Loodusravi	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)
10.	Vadi	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)
11.	Kubja	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)	Hex/Ats (1:1)

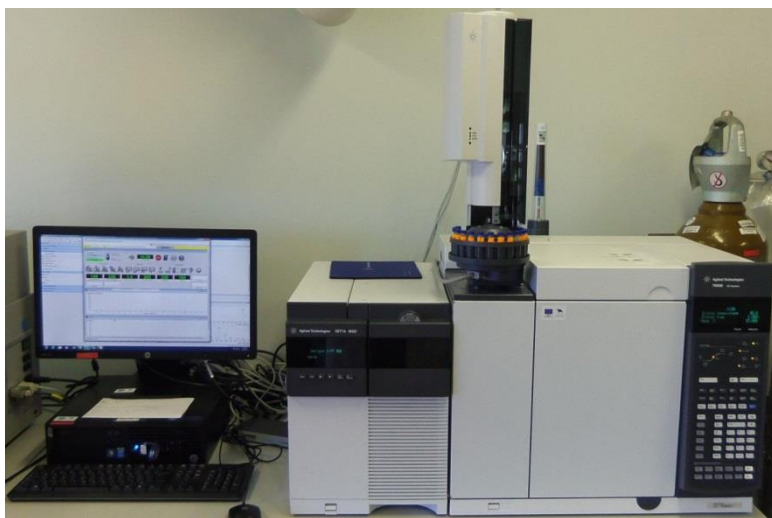
Pärast kolonnkromatograafiat, kui proov oli värvusetu, kontsentreeriti proov rotatsioonaurutis. Osadest proovidest ei olnud võimalik kõiki värvaineid eemaldada ja jäid värvilt kollaseks. Kontsentreerimine toimus temperatuuril 35°C ja pöörlemiskiirus oli 51 pöört/minutis. Kontsentreeriti kuni 1 ml kontsentreeritud proovi saamiseni, mis pipeteeriti viaali. Viaalis olev proov oli valmis gaasikromatograafiliseks kvalitatiiivseks analüüsiks.

3.6. Gaasikromatograafiline analüüs

Gaasikromatograafia on laboratoorne meetod, mis võimaldab segusid eraldada üksikuteks komponentideks. Seda kasutatakse segu komponentide sisalduse kindlakstegemiseks ja nende kontsentratsiooni määramiseks. Gaasikromatograafiline süsteem koosneb reguleeritavast ja puhastavast kandegaasi süsteemist, mis kannab proovi läbi kolonni, sisestussüsteemist, mis toimib ka vedelate proovide aurutina, kolonnist, kus toimub komponentide eraldamine, detektorist ja andmetöötluse vahendist. (Fundamentals of...2002: 10-15).

Gaasikromatograafilise protsessi käigus viiakse valmistatud proov aurukambrisse, kus see aurutatakse ning liigub edasi koos kandegaasiga kolonni. Komponentideks lahutamine toimub ainete lenduvuse põhjal – mida lendavam on aine, seda kiiremini läbib ta kolonni (ehk seda lühem on retentsiooniaeg). Tulemused on näidatud kromatogrammil, kus iga piik esindab ühte komponenti. Retentsiooniaja järgi saab iga komponenti identifitseerida. Piigi järgi saab määrata komponendi kvantitatiivse sisalduse. Kvantitatiivne sisalduse saab määrata piigi kõrguse või pindala kaudu. (Fundamentals of...2002: 10-15).

Gaasikromatograafiline analüüs viidi läbi Agilent Technologies 7890B gaasikromatograafiga koos mass-selektiivse detektoriga Agilent Technologies 5977A (kasutati *single ion* meetodit, kus otsitakse konkreetsete ühendite ioone) ja kapillaarkolonnist (HP-5MS 30m x 0,250mm). Uuringus kasutatud gaasikromatograaf koos mass-selektiivse detektoriga on näha joonisel 7.



Joonis 7. Uuringus kasutatud gaasikromatograaf koos mass-selektiivse detektoriga.

Kandegaasina kasutati heeliumit. Ahjutemperatuur programmeeriti nii, et algtemperatuur oli 80°C, seejärel kasvas temperatuur astmeliselt kuni 320°C (maksimaalne temperatuur). 1µL valmistatud proovist süstiti automaatset sissesüstimissüsteemi (autosamplerit) kasutades 10 µL mikrosüstalt.

3.7. Pestitsiidide jääkide analüüs

Analüüsiks valiti välja 11 pestitsiidi, mida hakati tuvastama erinevates piparmünditeedes ja droogides. Pestitsiidide valik põhines Eesti Statistika 2015 aasta andmebaasil „Toimeaine kogus turustatud taimekaitsevahendites“ (Statistika andmebaas...), Euroopa Liidu Pestitsiidide andmebaasil (Euroopa Liidu...) ja artiklil *Methods of Analysis—Determination of Pesticides in Sediment Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry* (Hladik jt 2012). Tuvastamiseks valitud pestitsiidid, lubatus Euroopa Liidus ja liikmesmaades ning kehtestatud piirnormid on väljatoodud Tabelis 5.

Tabel 5. Otsitavad pestitsiidid, nende lubatus Euroopa Liidus ja liikmesmaades ning kehtestatud piirnormid (Euroopa Liidu...).

Pestitsiid	Klassifikatsioon	Lubatus EL-s	Lubatus liikmesmaades	Piirnorm (mg/kg)
Kvintoseen	Fungitsiid	Keelatud	Keelatud	0,1
Klorotaloniil	Fungitsiid	Lubatud	Eesti, Läti, Poola, Saksamaa	0,05
Fenpropidiin	Fungitsiid	Lubatud	Eesti, Läti, Poola, Saksamaa	0,05
Diklofluaniid	Fungitsiid	Keelatud	Keelatud	0,01
Fenpropimorf	Fungitsiid	Lubatud	Eesti, Läti, Poola, Saksamaa	0,1
Tolüülfluaniid	Fungitsiid, akaritsiid	Keelatud	Keelatud	0,1
Kinoksüfeen	Fungitsiid	Lubatud	Poola, Saksamaa	0,05
Propikonasool	Fungitsiid	Lubatud	Eesti, Läti, Poola, Saksamaa	0,05
Tebukonasool	Fungitsiid	Lubatud	Eesti, Läti, Poola, Saksamaa	0,05
Epoksikonasool	Fungitsiid	Lubatud	Eesti, Läti, Poola, Saksamaa	0,05
Boskaliid	Fungitsiid	Lubatud	Eesti, Läti, Poola, Saksamaa	0,9

Pestitsiidi tuvastamiseks töötati välja meetodika. Meetodikas määrati igale pestitsiidile neile omased massi ja laengu suhtega ioonid (kaksiooni), mis otsiti NIST MS Search 2.2

andmebaasist (2014 aasta versioon). Esimene NIST andmebaasi alusel leitud ning antud analüüdile iseloomulik kindla massi ja laengu suhtega ioon oli kvantiteerimiseks, mille piigi pindala alusel mõõdeti pestitsiidi jäägi sisaldust proovis. Teise iooni piik oli kvalitatiivpiik, mis kinnitas, et tegemist on otsitava pestitsiidiga. Samuti määrati igale pestitsiidile retentsiooniaeg (\pm üks minut), mis saadi kalibreerimismislahuse kromatogrammilt. Iga pestitsiidi kvantiteerimispiigid, kvalitatiivpiigid ja retentsiooniajad on toodud tabelis 6.

Tabel 6. Pestitsiidide tuvastamiseks kasutatud massi ja laengu suhted ning retentsiooniajad.

Pestitsiid	Retentsiooniaeg (min)	Massi ja laengu suhe (m/z)	
		1. piik (kvantiteerimispiik)	2. piik (kvalitatiivpiik)
Kvintoseen	21,85	237	295
Klorotaloniil	22,83	266	264
Fenpropidiin	25,05	98	145
Diklofluaniid	25,70	123	167
Fenpropimorf	26,13	128	43
Tolüülfluaniid	27,74	137	238
Kinoksüfeen	32,85	237	272
Propikonasool	33,18	173	259
Tebukonasool	33,73	125	250
Epoksikonasool	34,61	192	138
Boskaliid	44,56	140	112

Proovi analüüsimisel saadud andmete põhjal moodustati programmi Agilent MassHunter Qualitative Analysis B.07.00 ja kirjeldatud metoodika abil kromatogramm. Saadud kromatogramm oli aluseks pestitsiidi jääkide kvantitatiivseks analüüsiks programmiga Agilent MassHunter Quantitative Analysis B.07.00 (2008 aasta versioon).

4. TULEMUSED

Analüüsi käigus tuvastati viie pestitsiidi jäägid kaheksast proovist. Erinevatest proovidest leiti fenpropidiini-, diklofluaniidi-, fenpropimorfi-, tolüülfluaniidi- ja tebukonasooli jääke. Fenpropidiini jääke leiti ühest jaekaubanduse piparmünditeest. Diklofluaniidi- ja fenpropimorfi jääke leiti kahest erinevast jaekaubanduse piparmünditeest. Tolüülfluaniidi jääke leiti kolmest erinevast jaekaubanduse piparmünditeest ja kahest erinevast piparmündi droogist. Tebukonasooli jääke tuvastati ühest piparmündi droogist. Näiteid tuvastatud pestitsiidide kvalitatiiv- ja kvantiteerimispiikidest on näha joonistel 8-12. (vt Lisa 1). Täpsem ülevaade proovides tuvastatud pestitsiidide jääkidest on väljatoodud tabelis 7.

Tabel 7. Tuvastatud pestitsiidide jäägid proovides (x – tuvastatud).

		Proov	Pestitsiidid	Kvintoseen	Klorotaloniil	Fenpropidiin	Diklofluaniid	Fenpropimorf	Tolüülfluaniid	Kinoksüfeen	Propikonasool	Tebukonasool	Epoksikonasool	Boskaliid
Jaekaubanduse piparmünditeed	<i>MIĘTA herbatka ziolowa</i>		-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Piparmünditee</i>		-	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-
	<i>Peppermint</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Piparminttu Tee</i>		-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Pfefferminze</i>		-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
	<i>Peppermint tea</i>		-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
Piparmündi droogid	<i>Uuskaubi</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Elujõu</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
	<i>Loodusravi</i>		-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
	<i>Vadi</i>		-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
	<i>Kubja</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tuvastatud fenpropidiini- ja tebukonasooli jäägid olid kahes erinevas proovis üle tuvastamispiiri, kuid jäid alla määramispiiri (0,05 mg/kg). Fenpropimorfi jäägid olid kahes erinevas proovis üle tuvastamispiiri, kuid jäid alla määramispiiri (0,1 mg/kg). Diklofluaniidi tuvastati kahes erinevas piparmünditee proovis. Esimene tuvastatud diklofluaniidi jääk ületas määramispiiri, milleks oli kehtestatud piirnorm (0,01 mg/kg). Teine tuvastatud diklofluaniidi jääk jäi tuvastamis- ja määramispiiri (0,01 mg/kg) vahele. Ülejäänud proovides ei tuvastatud fenpropidiini-, fenpropimorfi-, diklofluaniidi- ja tebukonasooli jääke. Tolüülfluaniidi jääk oli kahes proovis tuvastamis- ja määramispiiri (0,1 mg/kg) vahel. Tolüülfluaniidi jäägid kolmes erinevas proovis ületasid määramispiiri,

milleks oli kehtestatud piirnorm. Ülejäänud proovides ei tuvastatud tolüülfluaniidi jääke. Teiste pestitsiidide jääke proovides ei tuvastatud, jäädes alla tuvastamispiiri (5 µg/kg), seega loeti tõestatuks nende mittedisaldumine proovides. Täpsem proovides sisaldunud pestitsiidide jääkide kvantitatiivsete koguste ja kehtestatud piirnormide võrdlus on toodud tabelis 9. (vt Lisa 2).

Tabelist 7. on näha, et piparmünditeedes tuvastati rohkem erinevaid pestitsiidide jääke kui piparmündi droogides. Kui kuuest piparmünditeest viies tuvastati nelja erineva pestitsiidi jääke, siis viiest piparmündi droogist kolmes tuvastati kahe erineva pestitsiidi jääke. Tuvastatud pestitsiidide jääkidega piparmündi droogid ei sisaldanud rohkem kui ühe pestitsiidi jääke. Samas tuvastatud pestitsiidide jääkidega piparmünditeed võisid sisaldada mitme erineva pestitsiidi jääke. Kõige rohkem tuvastati pestitsiidide jääke proovis Piparmünditee, kus tuvastati diklofluaniidi-, fenpropimorfi- ja tolüülfluaniidi jääke. *MIĘTA herbatka ziolowa* proovis tuvastati diklofluaniidi- ja fenpropimorfi jääke. *Piparminttu Tee* proovis tuvastati fenpropidiini jääke. *Pfefferminze-* ja *Peppermint tea* proovis tuvastati tolüülfluaniidi jääke. *Peppermint* proovis ei tuvastatud mitte ühegi pestitsiidi jääke. Piparmündi droogidest leiti kahe erineva pestitsiidi jääke. Tolüülfluaniidi jääke tuvastati Loodusravi- ja Vadi proovis. Elujõu proovis tuvastati tebukonasooli jääke. Uuskaubi- ja Kubja proovist ei tuvastatud mitte ühegi pestitsiidi jääke.

Piparmünditeedes seitsmest tuvastatud pestitsiidist kolm ületasid EL kehtestatud piirnorme. Nelja tuvastatud pestitsiidide jäägid piparmünditeedes jäid EL kehtestatud piirnormidesse. Piparmündi droogide kolmest tuvastatud pestitsiidist üks ületas EL kehtestatud piirnormi. Ülejäänud tuvastatud pestitsiidide jäägid piparmündi droogides jäid EL kehtestatud piirnormidesse. Analüüsi käigus tuvastatud pestitsiidid, nende jäägid proovides ja jäämine kehtestatud piirnormidesse on kokkuvõetud tabelis 8.

Tabel 8. Tuvastatud pestitsiidid, nende jäägid proovides ja jäämine kehtestatud piirnormidesse (kvant.kogus – kvantitatiivne kogus; pn – piirnorm).

	Proov	Pestitsiid	Kvant.kogus (mg/kg)	Piirnorm (mg/kg)	Tulemus
Piparmünditeed	<i>MIĘTA herbatka ziołowa</i>	Diklofluaniid	≈0,030	0,01	Ületab pn-i
		Fenpropimorf	< 0,1	0,1	Jääb pn-i
	Piparmünditee	Diklofluaniid	< 0,01	0,01	Jääb pn-i
		Fenpropimorf	< 0,1	0,1	Jääb pn-i
		Tolüülfluaniid	< 0,1	0,1	Jääb pn-i
	<i>Piparminttu Tee</i>	Fenpropidiin	< 0,05	0,05	Jääb pn-i
	<i>Pfefferminze</i>	Tolüülfluaniid	≈0,290	0,1	Ületab pn-i
<i>Peppermint tea</i>	Tolüülfluaniid	≈0,151	0,1	Ületab pn-i	
Piparmündi Droogid	Elujõu	Tebukonasool	< 0,05	0,05	Jääb pn-i
	Loodusravi	Tolüülfluaniid	≈0,230	0,1	Ületab pn-i
	Vadi	Tolüülfluaniid	< 0,1	0,1	Jääb pn-i

Uuring kinnitas, et jaekaubanduses müüdavad piparmünditeed sisaldavad rohkem erinevaid pestitsiidide jääke kui apteekides ja mahepoodides müüdavad piparmündi droogid. Piparmünditeedes oli pestitsiidide jääke rohkem nii arvuliselt kui ka kvantitatiivselt. Jaekaubanduses müüdavatest kuuest piparmünditeest viies tuvastati nelja erineva pestitsiidi jääke. Samas apteekides ja mahepoodides müüdavatest viiest droogist kolmes tuvastati kahe erineva pestitsiidi jääke. Enamus tuvastatud pestitsiidide jäägi piparmündi droogides ja –teedes jäid alla EL kehtestatud piirnorme. Piparmünditeedes kaheksast tuvastatud pestitsiidi jäägist kolm ületasid EL kehtestatud piirnorme, kuid piparmündi droogides kolmest tuvastatud pestitsiidi jäägist üks ületas EL kehtestatud piirnormi. Antud uuringuga ei olnud võimalik tuvastada pestitsiidide päritolu proovides.

5. ARUTELU

Piparmündi kasvu ohustavad eelkõige seened, nematoodid ja viirused. Piparmünt on eriti ohustatud erinevate seenhaiguste poolt, mis põhjustavad taimedel kidurat kasvu ja lehtede langemist, mille tulemusel väheneb piparmündilehtede saagikus. Piparmündi seenhaigused on *Puccinia menthae* (roostehaigus), *Alternaria alternata* (lehelaiksus), *Rhizoctonia solani* (õhuline lehemädanik), *Verticillium dahliae* (närtsimine), *Phoma stasseri* (varremädanik, *Rhizoctonia solani* / *bataticola* (juure- ja võsude mädanik) ja *Erysiphe cichoracearum* (jahukaste). Piparmündi seenhaiguste tõrjeks saab kasutada erinevaid fungitsiide.

Pestitsiide kasutatakse erinevate kahjurputukate, umbrohu, näriliste, seente, bakterite, tiguude ning nälkjate tõrjeks. Pestitsiidide hulka kuuluvad lisaks kasvuregulaatorid, mida kasutatakse taime füsioloogiliste- ja biokeemiliste protsesside muutmiseks. Seega leiavad pestitsiidid laialdast kasutust taimekasvatustes. Pikaajaline pestitsiididega kokkupuude võib kahjustada inimese elukvaliteeti ja võib põhjustada häireid närvisüsteemis, endokriinsüsteemis, immuunsüsteemis, kuse-suguelundkonnas, südame-veresoonkonnas ja hingamiseldkonnas. Samuti on leitud seoseid krooniliste haiguste (vähk, Parkinson, Alzheimer, diabeet, kardiovaskulaar- ja kroonilised neeruhaigused) ja pestitsiidide vahel. Seetõttu on pestitsiidi jääkidele kehtestatud piirnormid, et tagada ohutus inimestele ja inimest ümbritsevale keskkonnale.

Käesolevas uurimistöös katsetati erinevaid adsorbente, et välja selgitada milliseid adsorbente hakatakse kasutama kolonnkromatograafiates. Katse korraldati kolme erineva adsorbendiga: silikageel, silikageeli ja aktiivsöe segu ning alumiiniumoksiid (Al_2O_3). Katse tulemuste põhjal selgus, et proovi puhastavad paremini silikageeli ja aktiivsöe segu ning alumiiniumoksiid. Katsest saadud tulemuste põhjal, otsustati kolonnkromatograafias kasutada adsorbentidena silikageeli ja aktiivsöe segu koos alumiiniumoksiidiga.

Käesolevas uurimistöös uuriti, kas Eestis kasvatatud piparmündi droogid ning jaekaubanduses müüdavad piparmünditeed sisaldavad pestitsiidide jääke ja kas tuvastatud jäägid jäävad kehtestatud piirnormidesse. Lisaks võrreldi omavahel pestitsiidide sisaldust piparmündi droogides ja piparmünditeedes. Lõputöös leiti, et Eestis kasvatatud piparmündi droogid ja jaekaubanduses müüdavad piparmünditeed sisaldavad erinevaid pestitsiidide jääke. Pestitsiidide jääke leiti kolmest piparmündi droogist ja viiest piparmünditeest. Viie tuvastatud pestitsiidi jäägi (sh tolüülfluaniid, diklofluaniid) kvantitatiivne kogus proovides oli minimaalne ja täpset kvantitatiivset kogust ei olnud võimalik välja arvutada. Seega oli

nende kvantitatiivne kogus nullilähedane ja jäi kehtestatud piirnormidesse. Tolüülfluaniidi tuvastatud jäägid kolmes erinevas proovis ületasid määramispiiri, ületades seega kehtestatud piirnormi (0,1 mg/kg). Tolüülfluaniidi kvantitatiivne kogus proovides oli: $\approx 0,290$ mg/kg; $\approx 0,151$ mg/kg; $\approx 0,230$ mg/kg. Diklofluaniidi tuvastatud jääk piparmünditee proovis ületas kehtestatud piirnormi (0,01 mg/kg) ja tuvastatud kvantitatiivne jääk oli 0,03 mg/kg. Teiste pestitsiidide jääke ei tuvastatud proovides, seega tõestati nende mittesisaldumine ja jäämine kehtestatud piirnormidesse. Piparmündi droogide ja piparmünditeede võrdlemisel selgus, et piparmünditeed võivad sisaldada rohkem erinevaid pestitsiidide jääke kui piparmündi droogid. Piparmünditeedes oli pestitsiidide jääke rohkem nii kvantitatiivselt kui ka arvuliselt.

Antud uuringu tulemusi, et piparmünditeed sisaldavad rohkem pestitsiidide jääke kui piparmündi droogid, võis mõjutada mitu erinevat tegurit. Esimeseks teguriks on tootepakend, kuhu piparmünditeede puru ja piparmündi droogid olid pakendatud. Uuringus kasutatud piparmünditeed olid pakendatud teekottidesse. Enamus piparmündi droogid olid pakendatud kilekottidesse va üks droog, mis oli pakendatud paberikotti. Piparmünditeede pakkimiseks mõeldud teekotid võivad samuti sisaldada erinevate pestitsiidide jääke. Piparmünditee kokkupuutel teekotiga võib aset leida ristsaastumine ja pestitsiidide jäägid võivad ülekanduda piparmünditeesse. Välistamiseks saastumist teekottidest, võiks tuvastada samu pestitsiidide teekottide materjalist. Teekottide analüüsimisel saadud tulemusi võrrelda selle piparmünditee tulemustega, mille pakendamiseks seda kasutati. Tulemuste võrdlemisel saaks kindlaks teha, kas saastumine võib olla tingitud teekotist või mitte. Teiseks faktoriks on tootepakendi hermeetilisus. Kahe piparmünditee pakkekarbid olid üle kiletatud ja tekitatud hermeetiline keskkond pakendis. Ühe piparmünditee teekotid olid pakendatud eraldi hermeetiliselt suletud pakenditesse. Samuti oli hermeetiliselt pakendatud piparmündi droogid va üks droog, mis oli pakendatud paberikotti. Ülejäänud piparmünditeede pakkekarbid ei olnud hermeetiliselt suletud. Mitte-hermeetiline pakend võib tingida piparmünditee või –droogi saastumise ümbritseva keskkonna õhutamust. Saastumist õhutamust on raske kindlaks teha ja seetõttu tuleb arvestada, et mõned pestitsiidide positiivsed proovid võivad olla tingitud õhutamust, mis on sattunud pakendisse. Kolmas tegur on analüütilised kaod proovide puhastamisel kolonnkromatograafilisel meetodil. Kui proovi puhastamiseks tehakse rohkem kui üks kolonnkromatograafia ja laborinõud, kus proov oli, ei puhastada korrektselt, siis võivad tekkida analüütilised kaod, kuid ka saastumine kokkupuutel analüüsitarkude ja-

pindadega. Korduvate kolonnkromatograafide tulemuseks võib olla see, et otsitavat pestitsiidi ei tuvastata proovis. Antud uurimistöös said enamus piparmünditeede proovid puhastatud ühe kolonnkromatograafia etapiga. Kahe piparmünditee proovi puhastamiseks tehti kaks kolonnkromatograafia etappi. Piparmündi droogide puhastamiseks tehti kaks kuni neli kolonnkromatograafia etappi. Piparmündi droogide puhastamiseks tehtud kolonnkromatograafide arv ja laborinõude ebapiisav puhastamine, võisid põhjustada analüütilisi kadusid, mille tulemusel ei olnud võimalik tuvastada pestitsiidide jääke piparmündi droogide proovides. See omakorda võis tingida selle, et piparmünditeede proovides tuvastati rohkem pestitsiidide jääke kui piparmündi droogide proovides. Neljandaks teguriks on pestitsiidide stabiilsus. Pestitsiidid võisid laguneda erinevate tegurite (temperatuur, keskkonna pH) tõttu. Pestitsiidide lagunemisel ei ole neid enam võimalik otse tuvastada proovis. Pestitsiidide lagunemise korral tuvastatakse neid läbi nende laguproduktide. Pestitsiidide laguprodukte antud töö käigus ei uuritud. Pestitsiidide lagunemist oleks saanud vältida, uurides põhjalikumalt pestitsiidide stabiilsust ja luues neile proovides paremad keskkonna tingimused.

Antud uuringus saadud tulemus (piparmündi droogid ja –teed sisaldavad pestitsiidide jääke) näitab, et konkreetsed tooted sisaldavad pestitsiidide jääke. Analüüsil saadud tulemusi ei saa laiendada sama tootja terve toodangu kohta. Kinnitamaks, et sama tootja kõik piparmündi tooted võivad sisaldada pestitsiidide jääke, tuleks uurida sama toote erinevaid partiisid. Samuti tuleks sama tootja piparmündi tooteid hankida erinevatest kohtadest (kauplused, apteegid). Erinevatest kohtadest ostmine aitaks paremini eristada pestitsiide, mis võisid ristsaastuda õhutolmust konkreetses ostukohas. Erinevatest partiidest ja kohtadest ostetud piparmündi toodete analüüsil saadud tulemuste põhjal, saaks täpsema kinnituse, et teatud piparmündi tooted võivad sisaldada pestitsiidide jääke.

Ravimtaimede (sh piparmünt) pestitsiidide sisaldust reguleerib Euroopa farmakopöa, kuid sealne pestitsiidi jääkide nimekiri on lühike ja ülejäänud piirnormid tuleb vaadata Euroopa Liidu Pestitsiidide andmebaasist. Euroopa Liidu Pestitsiidide andmebaas kehtestab piirnormid toiduainete kohta sh taimeteed, mis on tehtud lehtedest ja ravimtaimedest. Pestitsiidide jääkide sisaldust toiduainetes ja selle jäämist kehtestatud piirnormidesse kontrolli teostab iga EL liikmesmaa vastav asutus (Eestis Veterinaar- ja Toiduamet). Eestis teostatakse pestitsiidi jääkide kontrolli toiduainetele (ka teepõõsa lehtedele), kuid ei teostata kontrolli ravimtaimedele ja taimeteedele, mis on tehtud lehtedest ja

ravimtaimedest (nt piparmünt). Hetkel puudub täpne info, kui palju pestitsiidide jääke sisaldavad Eestis kasvatatud ravimtaimed (sh piparmünt) ja Eesti jaekaubanduses müüdavad taimeteed (sh piparmünditee). Käesoleva töö autori arvates tehtud uuring tõestab apteegis müüdavate piparmündi droogide paremat kvaliteeti kui Eesti jaekaubanduses müüdavate piparmünditeede.

Seetõttu tuleks kehtestada süstemaatiline pestitsiidide jääkide kontroll ravimtaimedele (sh piparmünt), mis tagaks ravimtaimete veel parema kvaliteedi ja ohutuma kasutamise. Samuti tuleks tihendada kontrolli taimeteede (sh piparmünditee) üle, mis tagaks taimeteede ohutuma tarvitamise. Lisaks tuleks korraldada uus uuring, mis kinnitaks antud uuringus saadud tulemusi. Soovitav oleks uuringu tulemuste kinnitamiseks kasutada selektiivsemat meetodit, näiteks tandem-massidetektoriga gaasikromatograafiat (GC-MS/MS).

JÄRELDUSED

Kirjanduse analüüsi põhjal ohustavad piparmündi kasvu seened, nematoodid ja viirused. Seened ja nematoodid põhjustavad piparmündi taimedel kidurat kasvu ja lehtede langemist, mille tulemusel väheneb piparmündilehtede saagikus.

Pestitsiide kasutatakse erinevate kahjurputukate, umbrohu, näriliste, seente, bakterite, tiguude ning nälkjate tõrjeks. Pestitsiidide hulka kuuluvad lisaks kasvuregulaatorid, mida kasutatakse taime füsioloogiliste- ja biokeemiliste protsesside muutmiseks.

Mitmed uuringud on tõestanud, et pikaajaline pestitsiididega kokkupuude võib kahjustada inimese elukvaliteeti ja võib põhjustada häireid erinevates elundkondades. Pikaajalsed uuringud on leidnud seoseid krooniliste haiguste (vähk, Parkinson, Alzheimer, diabeet, kardiovaskulaar- ja kroonilised neeruhaigused) ja pestitsiidide vahel.

Parimad adsorbendid kolonnkromatograafilises meetodis on silikageeli ja aktiivsöe segu ning alumiiniumoksiid. Silikageel ei ole nii heade adsorbeerivate omadustega kui alumiiniumoksiid ning silikageeli ja aktiivsöe segu.

Uuringust selgus, et Eesti ettevõtete poolt kasvatatud piparmündid sisaldavad antud uuringu alusel pestitsiidide jääke. Proovide analüüsimisel tuvastati tebukonasooli jääke ühes proovis ja tolüülfluaniidi jääke kahes erinevas proovis. Tuvastatud tebukonakonasooli kvantitatiivne jääk jäi tuvastamis- (5 µg/kg) ja määramispiiri (0,05 mg/kg) vahele, seega jäi tebukonasooli jääk EL kehtestatud piirnormi 0,05 mg/kg.. Esimene tuvastatud tolüülfluaniidi kvantitatiivne jääk oli ≈0,230 mg/kg, mis ületas EL kehtestatud piirnormi 0,1mg/kg. Teine tuvastatud tolüülfluaniidi kvantitatiivne jääk jäi tuvastamis- (5 µg/kg) ja määramispiiri (0,1 mg/kg) vahele, seega jäi tolüülfluaniidi jääk EL kehtestatud piirnormi 0,1 mg/kg. Teiste pestitsiidide jääke droogide proovides ei tuvastatud ja nende sisaldus oli alla meetoodika tuvastamispiiri (5 µg/kg).

Uuringust selgus, et Eesti jaekaubanduses müüdavad piparmünditeed sisaldavad antud uuringu alusel pestitsiidide jääke. Proovide analüüsimisel tuvastati fenpropidiini, diklofluaniidi, fenpropimorfi ja tolüülfluaniidi jääke viies erinevas piparmünditees. Tuvastatud fenpropidiini kvantitatiivne jääk jäi tuvastamis- (5 µg/kg) ja määramispiiri (0,05 mg/kg) vahele, seega jäi fenpropidiini jääk EL kehtestatud piirnormi 0,05 mg/kg. Esimene tuvastatud diklofluaniidi kvantitatiivne jääk jäi tuvastamis- ja määramispiiri (0,01 mg/kg) vahele, seega jäi diklofluaniidi jääk EL kehtestatud piirnormi 0,01 mg/kg. Teine

tuvastatud diklofluaniidi kvantitatiivne jääk oli $\approx 0,03$ mg/kg, seega ületas diklofluaniidi jääk EL kehtestatud piirnormi 0,01 mg/kg. Fenpropimorfi jääke tuvastati kahes erinevas jaekaubanduse piparmünditees. Mõlemas proovis jäi fenpropimorfi kvantitatiivne jääk tuvastamis- (5 μ g/kg) ja määramispiiri (0,1 mg/kg) vahele, seega jäid fenpropimorfi jäägid EL kehtestatud piirnormi 0,1 mg/kg. Tolüülfluaniidi tuvastati kolmes erinevas piparmünditee proovis. Ühes proovis jäi tolüülfluaniidi kvantitatiivne jääk tuvastamis- (5 μ g/kg) ja määramispiiri (0,1 mg/kg) vahele, seega jäi tolüülfluaniidi jääk EL kehtestatud piirnormi 0,1 mg/kg. Tolüülfluaniidi kvantitatiivsed jäägid kahes erinevas proovis olid $\approx 0,290$ mg/kg ja $\approx 0,151$ mg/kg, seega tolüülfluaniidi jäägid ületasid EL kehtestatud piirnormi 0,1 mg/kg. Teiste pestitsiidide jääke piparmünditeede proovides ei tuvastatud ja nende sisaldus oli alla meetoodika tuvastamispiiri (5 μ g/kg).

Uuringust selgus, et jaekaubanduses müüdavad piparmünditeed sisaldavad rohkem erinevaid pestitsiidide jääke kui apteekides ja mahepoodides müüdavad piparmündi droogid. Jaekaubanduses müüdavatest kuuest piparmünditeest viies tuvastati nelja erineva pestitsiidi jääke. Kahe piparmünditee proovides tuvastatud pestitsiidide jäägid ületasid EL kehtestatud piirnorme, teised tuvastatud jäägid jäid EL kehtestatud piirnormidesse. Apteekides ja mahepoodides müüdavatest viiest droogist kolmes tuvastati kahe erineva pestitsiidi jääke. Ühe piparmündi droogi tuvastatud pestitsiidi jääk ületas EL kehtestatud piirnormi, teised tuvastatud jäägid jäid EL kehtestatud piirnormidesse. Lõplike järelduste tegemiseks on siiski vajalikud kinnitavad kordusanalüüsid.

Lõputöö andis ülevaate piparmündi kasvu ohustavatest teguritest, pestitsiidide kasutusvaldkondadest ja pestitsiidide mõjust inimorganismile. Lõputöö käigus selgus: paremate adsorbeerivate omadustega on silikageel ja aktiivsöe segu ning alumiiniumoksiid; piparmündi droogid ja piparmünditeed võivad sisaldada pestitsiidide jääke ning enamus tuvastatud pestitsiidide jäägid jäävad EL kehtestatud piirnormidesse; piparmündi droogide ja piparmünditeede omavahelises võrdluses selgus, et kvaliteetsemad on piparmündi droogid. Antud uuringu tulemuste alusel on enamiku leitud pestitsiidide jäägid minimaalsed ja ei kujuta tavatarbimise juures tarbija tervisele ohtu. Antud lõputöö on oma eesmärgid täitnud ning kõik uurimisülesanded on saanud vastused.

KASUTATUD KIRJANDUS

Ameerikas, M., Pähnapuu, O., Tuubel, E., Rooma, L. (2000). Keemilised taimekaitsevahendid Saku: AS Rebellis

Arias-Estevez, M., Lopez-Periago, E., Martinez-Carballo, E., Simal-Gandara, J.; Mejuto, J.C.; Garcia-Rio, L., (2007). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Vol 123; Issue 4, 247–260
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880907001934> (30.04.2017)

Council of Europe (2010). European Pharmacopeia - 7th edition volume 1 Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe

Council of Europe (2010). European Pharmacopeia - 7th edition volume 2 Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe

Eaton, C. D., (1989). Laboratory Investigations in Organic Chemistry Ameerika Ühendriigid: McGraw-Hill

Eesti Standard (2008). Mitterasvased toiduained. Mitme jäägi tekkimisega meetodid pestitsiidijääkide määramiseks gaasikromatograafia abil. Osa 2: Ekstraheerimise ja puhastamise meetodid Brüssel: European Committee for Standardization

Eesti Statistika, Statistika andmebaas, otsingusõna „taimekaitsevahend“
<http://pub.stat.ee/px-web.2001/dialog/statfile2.asp> (10.05.2017)

Eesti Vabariigi Põllumajandusamet, Taimekaitsevahendite register
<http://www.pma.agri.ee/index.php?id=104&sub=132&sub2=242> (30.04.2017)

Euroopa Liidu Pestitsiidide andmebaas, <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN> (20.05.2017)

Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus Taimses ja loomses toidus ja söödas või nende pinnal esinevate pestitsiidide jääkide piinormide ja nõukogu direktiivi 91/414/EMÜ muutmise kohta (Euroopa Liidu Teataja, 2005, 396/2005, 70, 23.02.2005) <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/HTML/?uri=OJ:L:2005:070:FULL&from=ET> (16.05.2017)

Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus Taimekaitsevahendite turulelaskmise ja nõukogu direktiivide 79/117/EMÜ ja 91/414/EMÜ kehtetuks tunnistamise kohta (Euroopa Liidu Teataja. 2009, 1107/2009, 309, 21.11.2009) <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/HTML/?uri=CELEX:32009R1107&from=ET> (16.05.2017)

Freire, C., Koifman S. (2012). Pesticide exposure and Parkinson's disease: Epidemiological evidence of association *NeuroToxicology*, 33, 947–971
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161813X1200126X> (30.04.2017)

Fundamentals of Gas Chromatography. (2002). Agilent Technologies, Inc.
http://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G1176-90000_034327.pdf (30.04.2017)

Hayden, K.M., Norton, M.C., Darcey, D., Ostbye, T., Zandi, P.P., Breitner, J.C., Welsh-Bohmer, K.A., (2010). Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: the Cache County study. *Neurology*, 74, 1524–1530. http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/43670518/Occupational_exposure_to_pesticides_incr20160312-25200-1wnzshx.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAJ56TQJRTWSMTNPEA&Expires=1483633919&Signature=1sOPomQM6oCoQJsQU9uR3TNd51I%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DOccupational_exposure_to_pesticides_incr.pdf (30.04.2017)

Hladik, M.L., McWayne, M.M., (2012). Methods of Analysis—Determination of Pesticides in Sediment Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry Ameerika Ühendriigid: U.S. Department of the Interior, U.S. Geological Survey (07.05.2017)

Kalra, A., Singh, H. B., Pande, y R., Samad, A., Patra, N. K., Sushil Kumar (2005). Diseases in Mint: Causal Organisms, Distribution, and Control Measures *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 11:1-2, 71-91 http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1300/J044v11n01_03 (30.04.2017)

Lehman W. J. (2002). Multiscale Operational Organic Chemistry: A Problem-Solving Approach to the Laboratory Course Ameerika Ühendriigid: Prentice Hall

Leht, M. (2010). Eesti taimede määraja Tartu: Eesti Loodusfoto

Lundanes, E., Reubsæet, L., Greibokk T., (2014). Chromatography: Basic Principles, Sample Preparations and Related Methods Saksamaa: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA

Lõhmus, R., (toim) (2006). Maailma toiduainete entsüklopeedia Tallinn: TEA kirjastus

McKay, D., Blumberg, B. J., (2006). A Review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L) *Phytotherapy Research* 20(8), 619-633 https://www.researchgate.net/publication/7015287_A_Review_of_the_bioactivity_and_potential_health_benefits_of_peppermint_tea_Mentha_piperita_L (30.04.2017)

Mostafalou, S., Abdollahi, M., (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268, 157–177 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X13000549> (30.04.2017)

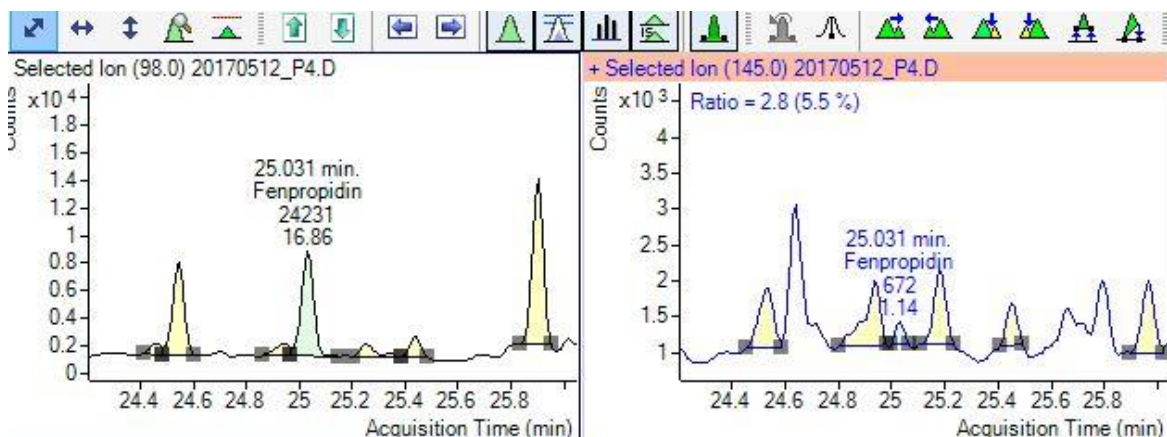
Raal, A. (2010a). Farmakognoosia Tartu: Tartu Ülikooli Kirjastus

Raal, A. (2010b). Maailma ravimtaimede entsüklopeedia Tallinn: Eesti Entsüklopeediakirjastus

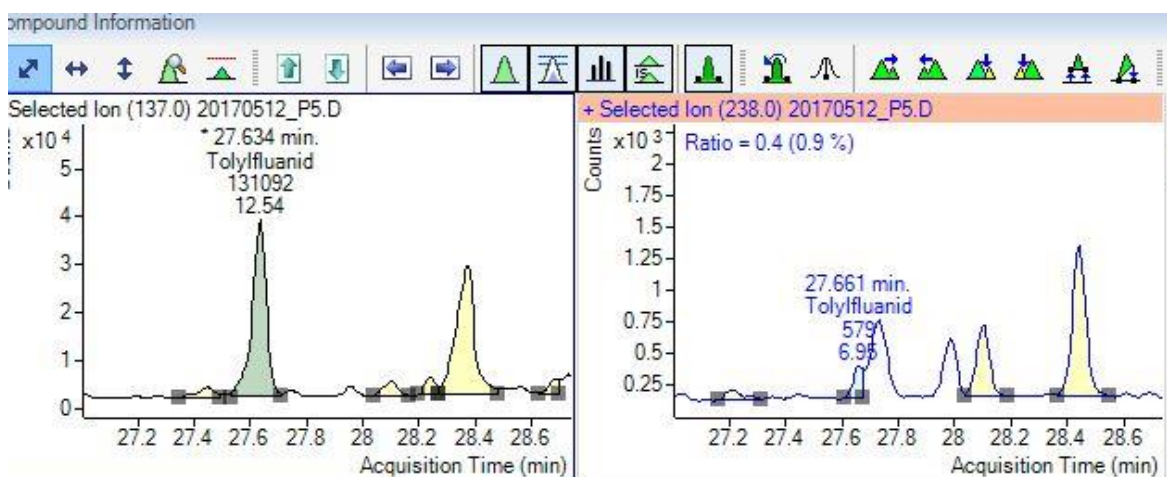
Taimekaitsevahendid ja kasvuregulaatorid kasutamiseks Eesti Vabariigis. (2016). Põllumajandusameti taimekaitse ja väetise osakonna registreerimise büroo. Saku. <http://www.pma.agri.ee/docs/pics/Ecoprint%20I%20variant.pdf> (30.04.2017)

Veitch, C. N., Smith, M., Barnes, J., Anderson, A. L., Phillipson, D. J., (2013). Herbal Medicines: Fourth Edition Suurbritannia: Pharmaceutical Press

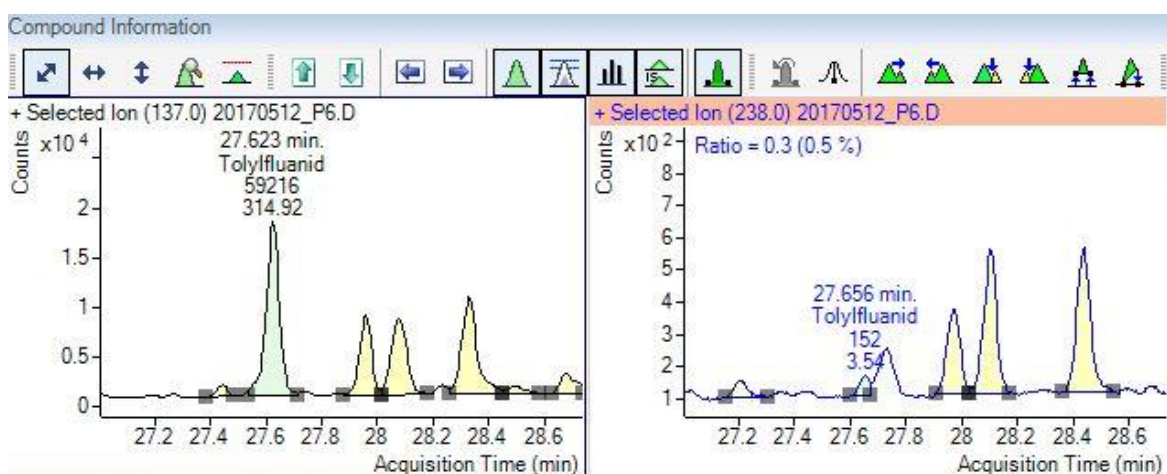
Tuvastatud pestitsiidide kvalitatiiv- ja kvantiteerimispiigid



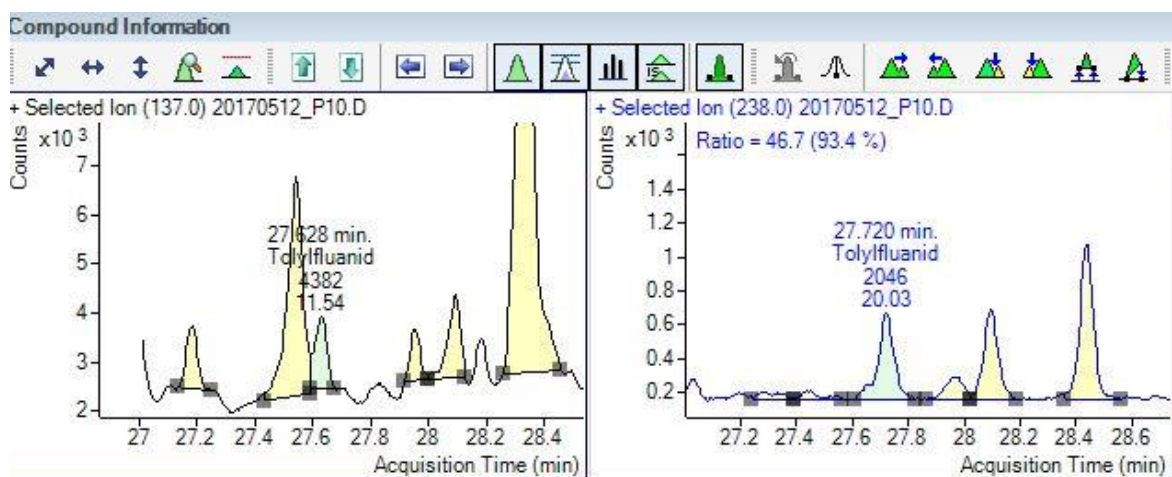
Joonis 8. Proovis *Piparmintu Tee* tuvastatud fenprodiini kvantiteerimis- ja kvalitatiivpiik.



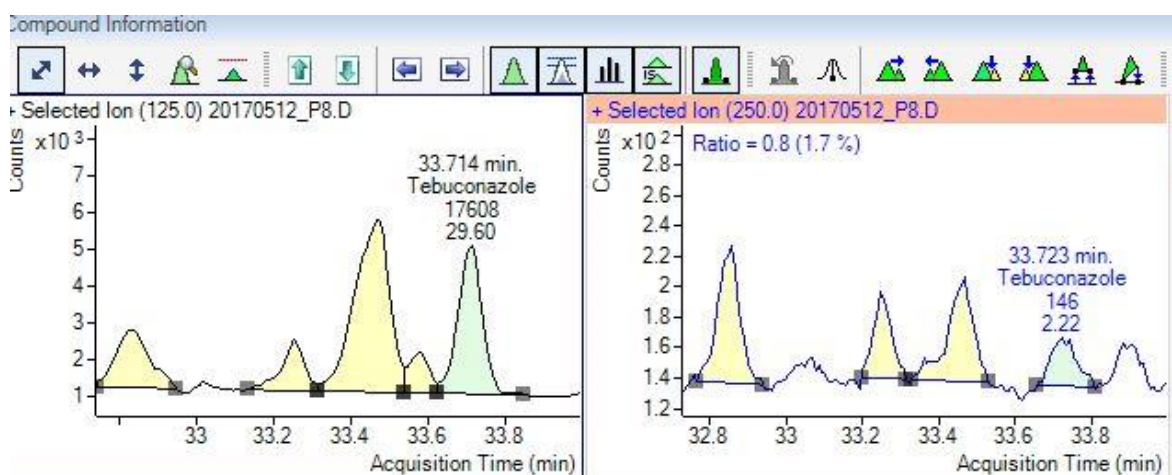
Joonis 9. Proovis *Pfefferminze* tuvastatud tolüülfluaniidi kvantiteerimis- ja kvalitatiivpiik.



Joonis 10. Proovis *Peppermint tea* tuvastatud tolüülfluaniidi kvantiteerimis- ja kvalitatiivpiik.



Joonis 11. Proovis Vadi tuvastatud tolüülfluaniidi kvantiteerimis- ja kvalitatiivpiik.



Joonis 12. Proovis Elujõu tuvastatud tebukonasooli kvantiteerimis- ja kvalitatiivpiik.

Tabel 9. Analüüsil saadud pestitsiidide jääkide kvantitatiivse koguse ja kehtestatud piirnormide võrdlus. * - Euroopa liidus keelatud pestitsiid (Euroopa Liidu...).

Pestitsiid	Analüüsil saadud pestitsiidi jääk proovis	Piirnorm (mg/kg)	Jäämine piirnormidesse
Kvintoseen*	Kõik proovid < 5 µg/kg	0,1	Proovid jäävad piirnormidesse
Klorotaloniil	Kõik proovid < 5 µg/kg	0,05	Proovid jäävad piirnormidesse
Fenpropidiin	5 µg/kg < <i>Piparminttu Tee</i> < 0,05 mg/kg	0,05	Proovid jäävad piirnormidesse
	Teised proovid < 5 µg/kg		
Diklofluaniid*	<i>MIĘTA herbatka ziolowa</i> ≈0,030 mg/kg	0,01	Proov ületab piirnormi
	5 µg/kg < Piparmünditee < 0,01mg/kg	0,01	Proov jääb piirnormi
	Teised proovid < 5 µg/kg	0,01	Proovid jäävad piirnormidesse
Fenpropimorf	5 µg/kg < <i>MIĘTA herbatka ziolowa</i> < 0,1 mg/kg	0,1	Proovid jäävad piirnormidesse
	5 µg/kg < Piparmünditee < 0,1 mg/kg		
	Teised proovid < 5 µg/kg		
Tolüülfluaniid*	5 µg/kg < Piparmünditee < 0,1 mg/kg	0,1	Proov jääb piirnormi
	<i>Pfefferminze</i> ≈0,290 mg/kg	0,1	Proov ületab piirnormi
	<i>Peppermint tea</i> ≈0,151 mg/kg	0,1	Proov ületab piirnormi
	Loodusravi ≈0,230 mg/kg	0,1	Proov ületab piirnormi
	5 µg/kg < Vadi < 0,1 mg/kg	0,1	Proov jääb piirnormi
	Teised proovid < 5 µg/kg	0,1	Proovid jäävad piirnormidesse
Kinoksüfeen	Kõik proovid < 5 µg/kg	0,05	Proovid jäävad piirnormidesse
Propikonasool	Kõik proovid < 5 µg/kg	0,05	Proovid jäävad piirnormidesse
Tebukonasool	5 µg/kg < Elujõu < 0,05 mg/kg	0,05	Proovid jäävad piirnormidesse
	Teised proovid < 5 µg/kg		
Epoksikonasool	Kõik proovid < 5 µg/kg	0,05	Proovid jäävad piirnormidesse
Boskaliid	Kõik proovid < 5 µg/kg	0,9	Proovid jäävad piirnormidesse