



Araştırma Makalesi/Reserach Article

Farklı Yıkama İşlemlerinin Üzümlerde Tebuconazole Kalıntısına Etkileri

Ayşegül Duman¹

Uğur Çiftçi²

Osman Tiryaki^{3*}

¹ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Çanakkale

² Çanakkale Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Çanakkale.

³ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Çanakkale.

*Sorumlu Yazar: osmantiryaki@yahoo.com

Geliş Tarihi: 11.02.2021

Kabul Tarihi: 27.05.2021

Öz

Bu çalışmada, üzümde tebuconazole kalıntısının farklı yıkama yöntemleri ile giderilmesi araştırılmıştır. QuEChERS AOAC 2007.1 yönteminin üzümde tebuconazole kalıntı analizi için uygunluğu doğrulanmıştır. Bu amaçla metod doğrulama için (verification) hiçbir pestisit kalıntısı içermeyen üzümler homojenize edilmiş ve tebuconazole 0.05, 0.5 ve 5 mg/kg seviyelerinde spike edilmiştir. QuEChERS yöntemi, %6.33 standart sapma, %6.15 relatif standart sapma değeri ile %102.96 geri alım sağlamıştır (n=36). Bu bulgular SANTE geri alım limitleri (%60-140) ve tekrar edilebilirlik değerleri (RSD ≤ %20) ile uyumludur. Matrisli tebuconazole kalibrasyon eğrisi, 1-200 pg/μL sınırlarında doğrusaldır (R²≥0.999). Tebuconazole'un LOQ değeri 1 μg/kg olarak bulunmuştur, bu da üzümdeki MRL değeri olan 500 μg/kg ın çok altındadır. Bağda tebuconazole etkili maddeli fungusit ile 4 defa ilaçlama yapılmış ve son ilaçlamanın 1., 3., 5., 7., ve 14. günlerinde üzümler hasat edilmiştir. Üzümler yıkama uygulamalarına tabi tutulmuştur. Tebuconazole kalıntılarının artan yıkama süreleri ile azalmıştır. Benzeri şekilde hasat dönemi ilerledikçe kalıntı giderme oranları da azalmıştır. Kalıntı giderme oranı sırası, ultrasonik yıkama> asetik asit> sitrik asit> çeşme suyu şeklinde olmuştur. MRL'yi aşan kalıntılar, her 4 yıkama uygulamasında MRL'nin altına inmiştir.

Anahtar Kelimeler: Üzüm, pestisit kalıntısı, yıkama, QuEChERS AOAC 2007.1

The Effect of Different Washing Method on Tebuconazole Residue in Grapes

Abstract

Removing of tebuconazole residues from grapes by using various washing methods was investigated in the study. The suitability of the QuEChERS AOAC 2007.1 method for tebuconazole residue analysis in grapes was verified. For this purpose, grapes without any pesticide residue were thoroughly homogenized and tebuconazole was spiked at 0.05, 0.5 and 5 mg/kg levels. With the QuEChERS method 102.96% (n=36) of tebuconazole was recovered with a 6.33 standard deviation and 6.15% relative standard deviation (RSD). These findings are comply with SANTE recovery limits (60-140%) and specified repeatability (RSD ≤ 20%). The matrix-matched tebuconazole calibration curve was linear (R²≥0.999) over the range of 1-200 pg/μL. LOQ value of tebuconazole was 1 μg/kg, which less than MRL (500 μg/kg). In the vineyard, 4 times tebuconazole sprayed during season and grapes were harvested on the 1st, 3rd, 5th, 7th and 14th day of last spraying. Then grapes were treated with washing treatments. Tebuconazole residues decreased with increasing washing durations. Similarly, a gradual reduction was determined with the increasing harvest times. The order of residue removal was ultrasonic cleaner> acetic acid> citric acid> tap water. The residues exceeding the MRL decreased below the MRL by washing processes.

Keywords: Grape, pesticide residues, washing, QuEChERS AOAC 2007.1

Giriş

Ülkemizde 2019 yılında toplam 1.862.446 da alanda 4.100.000 ton üzüm üretimi yapılmış ve 317.777 da alanda 656.000 ton çekirdeksiz üzüm yetiştirilmiştir (TÜİK, 2020). Ülkemiz 2019 yılında 858.948 ton üretimiyle, 799.530 milyon dolarlık üzüm ihraç etmiştir. Vitaceae familyasından *Vitis* cinsine ait çok yıllık bir bitkidir. Türkiye, 2020 yılındaki 271 bin tonluk çekirdeksiz kuru üzüm üretimiyle, dünya kuru üzüm üretiminin %18'lik bölümünü karşılamıştır.

Ülkemizde üzüm yetiştiriciliği çok eskilere dayanmaktadır. Ülkemizde Ege Bölgesi'nde özellikle Manisa ve İzmir çevresinde yetiştiriciliği yapılan çekirdeksiz üzüm çok yıllık bir bitkidir. Manisa üretiminin neredeyse %90'ını sağlamaktadır. Üzüm üretiminde önemli hastalık ve zararlılar ekonomik kayıplara neden olmaktadır. *Uncinula necator* ve *Botrytis cinerea* bağlarda hastalık yapan



etmenlerin başında gelmektedir. Bu hastalıkları kontrol altına alabilmek için Bitki Koruma Ürünleri (BKÜ) veri tabanında ruhsatlı tebuconazole fungusiti kullanılmaktadır. Tebuconazole hatalı kullanıldığında kalıntı çıkabilmektedir.

Avrupa Birliğinin ‘Gıda ve Yemler için Hızlı Alarm Sistemi’ (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) verilerine göre pestisit kalıntısı nedeniyle uyarı alan ihraç ürünlerimiz arasında üzüm ürünü de yer almaktadır. RASFF sisteminde üzümde ülkemiz 2015 yılında tebuconazole aktif maddeleri birer uyarı almıştır (RASFF, 2021). Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (European Food Safety Authority, EFSA)’nın 2015 yılı kalıntı raporunda tebuconazole aktif maddesinin üzümde kalıntıya sebep olduğu bildirilmiştir (EFSA, 2017).

Anastasiades ve ark. (2003) tarafından geliştirilen QuEChERS analiz yöntemi, meyve ve sebzelerde (Lehotay, 2007; Sahoo ve ark., 2014; Tiryaki, 2016), hatta toprak örneklerinde pestisit kalıntıları analizi için güvenle kullanılmaktadır (Temur ve ark., 2012). Son yıllarda bu yöntemin QuEChERS-AOAC Official Method 2007.01 versiyonu kullanılmaktadır.

Yaş meyve sebzelerde pestisit kalıntılarının analizine ilaveten bunların işlenmiş (yıkama, kabuksoyma, meyve suyu, salça vb) ürünlerinde de kalıntıların belirlenmesi araştırmaları bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada yıkama işlemi domates salçasında endosulfan ve deltamethrin kalıntılarını sırasıyla %30.62 ve %47.58 oranında azaltmıştır. Yıkama sonrası proseslerde (ön ısıtma, pulp yapma ve pastörizasyon) işlemlerinin kombine etkisi araştırılmış ve deltamethrin kalıntısının %2.33 oranında arttığı, endosulfan kalıntısının ise %66.5 oranında azaldığı bildirilmiştir (Pala ve ark., 2006).

Satpathy ve ark. (2012) sebzelerden organik fosforlu pestisitlerin (chlorpyrifos, fenitrothion, formotion, malathion, parathion ve parathion methyl) yıkama solüsyonları (su, %0.9 NaCl, %0.1 NaHCO₃, %0.1 asetik asit, %0.001 KMnO₄, %0.1 askorbik asit, %0.1 malik asit) ve kaynatma ile giderilmesi üzerine çalışmışlardır. Araştırmaya alınan tüm sebzelerde yıkama solüsyonları pestisitleri %20-89 oranında, kaynatma işlemi ise %52-100 oranında azaltmıştır. Kaynatma uygulaması yıkama uygulamasına göre daha fazla etkin bulunmuştur.

Üzümle yapılan bir çalışmada, üzümlerdeki penconazole, hexaconazole, diazinon, ethion ve phosalone kalıntılarının giderilmesi için çeşme suyu, asetik asit (%2 v/v), ve sodyum bikarbonat (%2 w/v) solüsyonları ile 5, 10 ve 15 dakika süre ile yıkamışlardır. 15 dakika yıkama işleminde sodyum bikarbonat (%2 w/v) pestisit giderilmesinde en etkili bulunmuş olup; penconazole, hexaconazole, diazinon, ethion ve phosalone kalıntılarını sırasıyla %94.47, %93.65, %95.39, %71.56 ve %63.13 oranında azaltılmıştır. Yapılan risk değerlendirmesinde diazinon dışındaki pestisitler için herhangi bir sağlık riskinin olmadığını belirtmişlerdir (Heshmati ve ark., 2020).

Ong ve ark. (1996) tarafından, azinphos-methyl, captan ve formetanate hidroklorürün taze ve işlenmiş elmalarda klorlu ve ozonlu su yıkamasının etkinliği araştırılmışlardır. Klorlu su ve ozonlu su muamelesiyle pestisitler %50-100 oranında giderilebilmiştir. Ozonlama, pestisitlerin parçalanmasında da etkili olmuştur. Pestisitlerin bozunma hızı genellikle daha yüksek pH ve sıcaklıkta artmıştır.

Üzümle yapılan başka bir çalışmada ise su ve ultrasonik yıkama ile bağlarda kullanılan difenoconazole, azoxystrobin, thiamethoxam, abamectin ve tebuconazole pestisitlerinin giderilmesi üzerine çalışılmıştır. Çeşme suyu ve ultrasonik yıkama ile üzümdeki pestisit kalıntıları, sırasıyla %72.1 ve %100 oranında azaltılabilmektedir (Zhou ve ark., 2019).

Krol ve ark. (2000) yıkama işlemi ile ürünlerdeki pestisit kalıntılarının azaltılması üzerine çalışmışlar ve birçok üründe kalıntıların kısa süreli yıkama ile azaltılabildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar kalıntıların azaltılmasında pestisitlerin suda çözünürlüğünün önemli bir etken olmadığını, yıkama sırasında mekanik olarak etkinin önemli bir etken olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmanın bulguları laboratuvar koşullarında spike edilerek yapılan yıkama uygulamalarının, tarla koşullarında yapılan ilaçlanma ve sonunda ürün yıkama uygulamayı yansıtmadığını göstermiştir.

Sebzelerde chlorpyrifos ve metabolit kalıntılarını yıkama ve pişirme ile giderilmesi üzerine çalışılmıştır. Bu tür işlemlerde yıkama solüsyonu, pH değeri, pişirme modu, işlem süresi gibi birçok faktörün önemi vurgulanmıştır. Pişirme işleminin yıkamaya göre daha etkili olduğunu, chlorpyrifosun pişirme ile TCP (3,5,6-trichloro-2-pyridinol)’a dönüştüğünü bildirmişlerdir (Ling ve ark., 2011).

Konya ilinde pazar ve marketlerden alınan 101 parti yaş üzüm ve 10 parti çilek örneklerinde 203 adet pestisit kalıntı seviyeleri belirlenmiştir. Kalıntı analizleri QuEChERS metodu ve LC-MS/MS ve GC-MS ile yapılmıştır. Araştırma bulgularına göre yaş üzüm örneklerinde etken madde



rastlanılmayan örnek toplam örneğin %38'ini oluşturmuştur. Çilek örneklerinin %70'inde kalıntıya rastlanılmamıştır. Çilek ve yaş üzüm örneklerinde kullanımı yasaklanan etken maddeler tespit edilmiştir. Bazı örneklerde kalıntı TGK'nın limit değeri üzerinde bulunmuştur (Ersoy ve ark., 2011).

Çanakkale'de marketlerden alınan erkenci ve orta geç/son turfanda üzümlerde pestisit kalıntıları Nalcı ve ark. (2018) tarafından araştırılmıştır. Orta geç/son turfanda üzümlerde daha fazla sayıda kalıntıya rastlanılmıştır. MRL değerlerinin altında boscalid ve pyraclostrobin kalıntısı bulunmuştur.

Polat ve Tiryaki (2020) Kıpya biberlerine üç kez pestisit uygulamışlar ve son ilaçlamanın 1., 2. ve 3. günlerinde hasat yapmışlardır. Daha sonra biberler çeşme suyu, asetik asit (%9), sitrik asit (%9) ile yıkama ve ultrasonik yıkama işlemlerine (2 ve 5 dakika) tabi tutulmuştur. Üç farklı hasat süresi ve iki farklı yıkama zamanına bağlı olarak, her uygulama için işleme faktörleri (Pf) ve pestisiti giderme oranları hesaplanmıştır. Chlorpyrifos için son ilaçlamanın 1. gününde hasat edilen örneklerden 5 dakika süre ile yapılan sitrik asit ve asetik asit uygulamalarında kalıntı MRL altına indirilmiştir. Formetanate hydrochloride için yıkama uygulamaları kalıntıyı MRL altına indirememiştir. Genel olarak artan işlem süresi ile yıkamalarda kalıntı giderek azalmıştır. Benzer şekilde, hasat sürelerinin artması ile kalıntı seviyelerinde kademeli bir düşüş kaydedilmiştir. Ultrasonik yıkama ve sitrik asit (%9) ile yıkama daha etkili bulunmuştur. Sistemik olmayan pestisitler (chlorpyrifos) sistemik olanlardan (acetamiprid) yıkama işlemiyle daha kolay uzaklaştırılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, farklı zamanlarda (son ilaçlamadan 1., 3., 5., 7., ve 14. günlerinde) hasat edilen çekirdeksiz üzümlerde tebuconazole fungusit kalıntısının 2 ve 5 dakika süre ile çeşme suyu, asetik asit (%9), sitrik asit (%9) ile yıkama ve ultrasonik yıkama işlemleri ile azaltılmasıdır. Analizler QuEChERS-AOAC Official Method 2007.01 ve LC-MS/MS tekniği ile yapılacaktır. Metodun uygunluğu SANTE (2019)'a göre valide edilecek, sonra da gerçek örnekler analiz edilecektir. Bekleme süresi (Pre Harvest Interval, PHI) ile kalıntı arasındaki ilişki de ortaya çıkarılmış olacaktır.

Materyal ve Yöntem

Kimyasallar ve Çözücüler

Tebuconazole fungusit standardı %98.6 saflıkta Dr. Ehrenstorfer Lab., GmbH (Wesel, Germany)'dan temin edilmiştir. Tebuconazole fungusitinin bazı fizikokimyasal ve toksikolojik özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. %99.9 saflıkta MeCN (asetonitril), %99.5 saflıkta MgSO₄.7H₂O (7 sulu magnezyum sülfat) ve %99.0 saflıkta NaAC (sodyum asetat) Merck Firmasının (Darmstadt, Germany)'dan temin edilmiştir. Primary-secondary amine (PSA, 40 µm, 100 g) Agilent (Santa Clara, CA, USA)'dan temin edilmiştir.

Tebuconazole stok solusyonu 10 mg standardının 10 mL lik balon jodede 10 mL MeCN ile çözülmesiyle hazırlanmıştır (1000 µg/mL). 1.0 µg/mL konsantrasyonda çalışma solusyonu ve 1-200 pg/µL sınırlarında kalibrasyon solusyonları hazırlanmıştır. 0.05, 0.5, ve 5 mg/kg fortifikasyon seviyelerine eşdeğer olan tebuconazole solusyonları da, (0.1xMRL, 1xMRL ve 10xMRL değerlerine karşılık) hazırlanmıştır. 10 kat MRL ile spike edilen örnek ekstarktları 1-200 pg/µL kalibrasyon sınırlarına uyarlamak için seyreltilmiştir. Hesaplamalar, temsili örnek matrisi ile yapılan matrisli kalibrasyon ile yapılmıştır (SANTE, 2019). Elma örneği eksrtaktı Sınıf II'yi (klorofil içeriği olmayan ve su oranı yüksek olan) temsilen üzüm ekstraktı yerine kullanılmıştır (CAC, 2003).

Alet ve ekipmanlar

Tebuconazole'un kromatografik analizleri için , ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ kolonu (1.7 µm 2.1 mm x100 mm) bağlanan with LC-MS/MS (Waters I Class Plus UPLC + Xevo TQ-S micro MS Detector) sistemi kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi, akış oranı, alıkonma zamanı (tR) ve toplam koşum zamanı sırasıyla, 1 µL, 0.35 mL/dak., 9.69 dak., 15 dak olarak bulunmuştur. 10 mM NH₄CH₄CO₂ pH 5, su (A) ve 10 mM NH₄CH₄CO₂, 95% MeOH (B)'den oluşan bir gradiyent program kullanılmıştır. Tebuconazole için çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanılmış, hesaplama iyonu olarak 308.14/69.97 m/z; doğrulama iyonu olarak ise 310.14/69.97 m/z belirlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan diğer ekipmanlar ise; ultrasonik banyo (Medisson 12UT, Türkiye) otomatik pipet (Microlit CE) santrifüj (Hettich EBA 280, 4500 rpm), 50 mL'lik santrifüj tüpleri, ± 0.1 mg hassasiyette hassas terazi (Shimadzu ATX224), blender ((Waring Commercial Blender), vorteks (VELP scientifica), cam GC viyalleri (Agilent technologies, 1500 µL) ve diğer cam malzemelerdir.



Çizelge 1. Tebuconazole'un fizikokimyasal ve toksikolojik özellikleri (WHO, 2009; EU, 2020; PPDB ,2020)

Parametre	Değer
Kimyasal formül	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O
Grup	Triazole
Etki mekanizması	Sistemik
Fiziko-kimyasal özellikleri	
LogP: Octanol su ayrışma katsayısı (pH 7, 20°C)	3.7
Suda çözünürlük (mg/L, 20°C)	36
Erime noktası (°C)	10536
Kaynama noktası (°C)	Kaynamadan önce ayrışır
Degradasyon noktası (°C)	350
Molekül ağırlığı (g/mol)	307.82
GUS indeksi	1.86
Toksikolojik özellikleri	
ADI: Günlük kabul edilebilir alım (mg/kg/bw/gün)	0.03
AB MRL (mg/kg)	0.5
ARfD: Akut Referans Doz (mg/kg bw)	0.03
MPI: Günlük alınmasına izin verilen maksimum miktar (mg/insan/gün)	1.8
Memeliler – Akut LD ₅₀ (mg/kg)	1700
Memeliler – Deri LD ₅₀ (mg/kg)	> 2000
Memeliler – Solunum LC ₅₀ (mg/L)	> 5.090
Koc değeri	-
WHO Sınıflandırması	II
Sağlık sorunları	Üreme / gelişme etkileri, göz tahriş edici

Tarla denemesi ve örnekleme

Deneme, Manisa ili Sarıgöl ilçesinde çekirdeksiz üzüm yetiştirilen bir üretici bağında 2020 yılı yetiştirme sezonunda kurulmuştur. Yetiştirme sezonu süresince tüm kültürel işlemler yapılmıştır. Üretici deneyimlerine paralel olarak bağda Luna Experience SC 400 (Tebuconazole 200 g/L + Fluopyram 200 g/L; bekleme süresi 14 gün) ile 25 mL/100 Lsu ile 4 defa fungusit uygulaması yapılmıştır (Şekil 1). Hasat işlemleri son ilaçlamanın, 1. (ilaçlamadan 4 saat sonra) 3., 5., 7., ve 14. günlerinde yapılmıştır. Her hasatta 4 kg çekirdeksiz üzüm örneği (toplam 50 kg) toplanmış, buz kutusu ile taşınarak laboratuvara getirilmiştir.

Yıkama uygulamaları

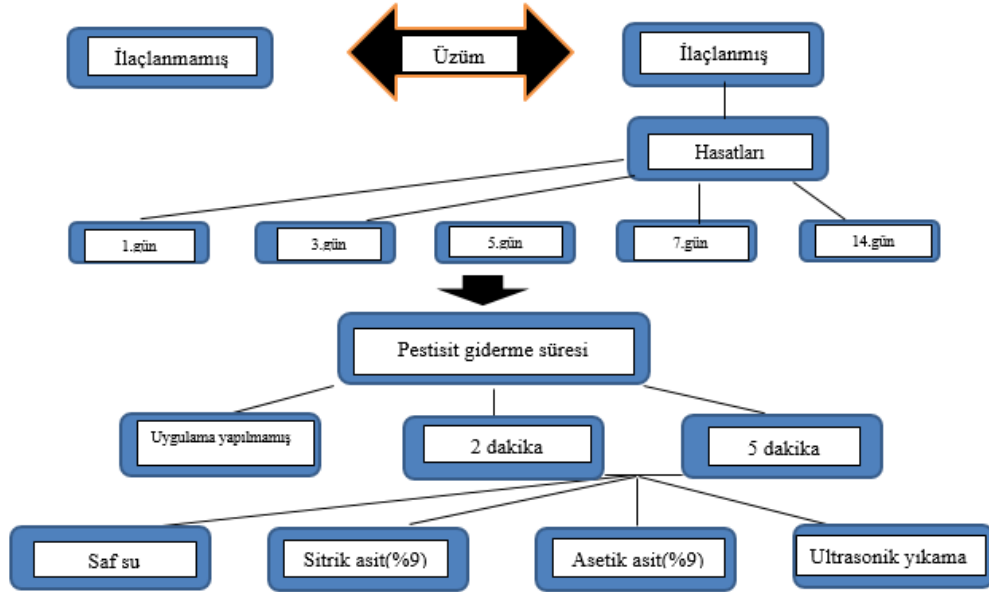
Sultani çekirdeksiz üzüm örnekleri 5 litrelik yıkama solüsyonlarına (20°C) 2 ve 5 dakika batırılarak yıkanmış, sonra da laboratuvar koşullarında ıslaklığı kurutularak analize hazır hale getirilmiştir (Şekil 2). Üzümler çeşme suyu, asetik asit, sitrik asit ve ultrasonik yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Tebuconazole kalıntılarının giderilmesi için uygulanan yıkama prosedürleri Şekil 3'de verilmiştir. Asit çözeltileri olarak %9'luk sitrik asit solüsyonu ve %9'luk asetik asit solüsyonu kullanılmıştır (Randhawa ve ark., 2014). Ultrasonik yıkama uygulamasında ise, örnekler ultrasonik banyoda 2 ve 5 dakika süre ile bekletilmiştir. Tüm yıkama işlem uygulamalarından sonra örnekler laboratuvar koşullarında herhangi bir hızlandırıcı kurutma işlemi olmadan normal hava koşulunda kurutulmuş ve analizler için hazır hale getirilmiştir. Hiç işlem görmemiş üzümlerdeki tebuconazole kalıntısını belirlemek için yıkanmamış numuneler kullanılmıştır. 5 hasat zamanına ve iki işleme süresine dayanan tüm yıkama uygulamaları Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 1. Deneme alanındaki bağların ilaçlanması



Şekil 2. Yıkama işlemine tabi tutulmuş üzümün laboratuvar koşullarında kurutulması



Şekil 3. Yıkama uygulamalarının basamakları

Analizler (Ekstraksiyon ve clean-up) ve değerlendirmeleri

Analizlerde resmi QuEChERS-AOAC Metodu 2007.01 kullanılmıştır (Lehotay, 2007). Her analiz metodunun performansının kendi laboratuvar koşullarında doğrulanması gerekmektedir. Bu amaçla geri alım belirlenmesi için fortifikasyon denemesi yapılmıştır (SANTE, 2019). Yaklaşık 1 kg (EC 2002) örnek hata kaynağını ortadan kaldırmak için tanelenerek homojenize edilmiştir (Omeroglu ve ark., 2013). 50-mL santrifüj tüpüne hiç pestisit uygulanmamış üzüm örneklerinden (blank) 15 g homojenize örnek (analitik porsiyon) aktarılır, üzerine yukarıda açıklanan spike solusyonlar (100 µL MeCN içersinde) ilave edilmiştir. Tüpe 15 mL MeCN (%1 asetik asit içeren) eklenmiş ve tüpler 1 dak vortekslenmiştir. Şekil 4’de gösterilen analiz basamakları takip edilmiştir. Spike edilmiş örneklerden 4 analitik porsiyon (x3 GC viyali), yıkama işlemine tabi tutulmuş örneklerden ise 4 analitik porsiyon (x

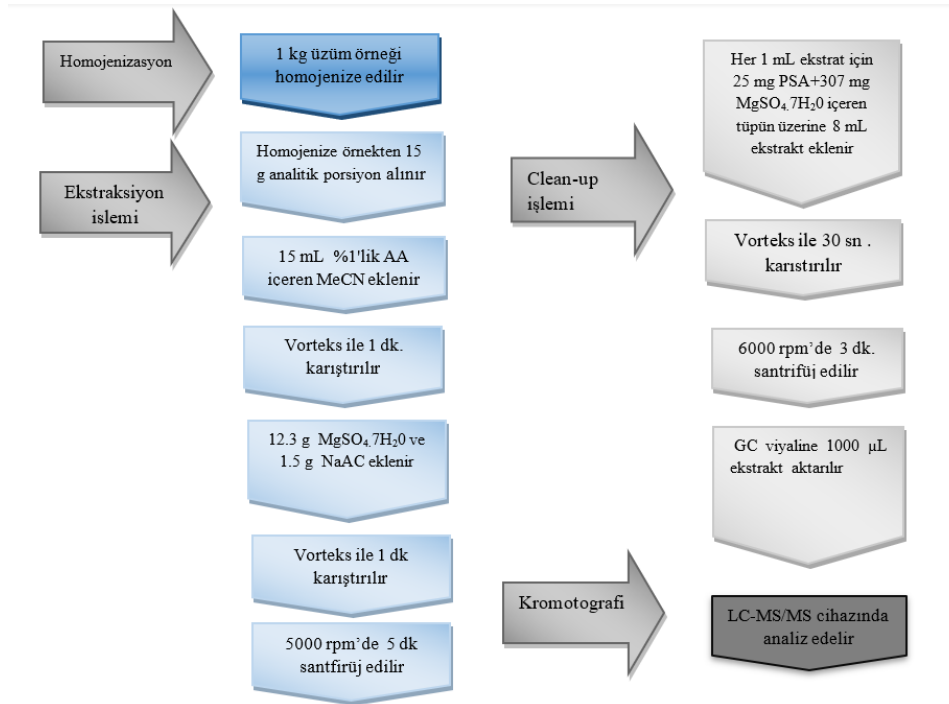
1 GC viyalı analiz edilmiştir. GC viyallerine alınan örneklerin kromatografik analizleri LC-MS/MS cihazında yapılmıştır. Geri alım belirlemelerinde Eşitlik 1 kullanılmıştır (Çatak ve Tiryaki 2020).

$$\text{Geri alım \%} = \frac{\text{Ölçülen konsantrasyon}}{\text{Spike edilen konsantrasyon}} \times 100 \quad (1)$$

Analiz metodu SANTE kılavuzlarına uygun olarak doğrulanmıştır. Metot doğrulama için, geri alım (%), RSD (%), doğrusalılık, tekrar edilebilirlik, LOQ ve gerçeklik (%) değerlendirmeleri yapılmıştır. (SANTE 2019). Metodun doğrusalılığı tebuconazole için 1-200 pg/μL konsantrasyon sınırlarında kontrol edilmiştir.

Her yıkama prosedürünün işleme faktörü (Pf) Eşitlik 2 ile hesaplanmıştır (OECD, 2008). Pf<1 ise işlenmiş ürünündeki pestisit azaldığını, Pf>1 ise işlenmiş ürünündeki pestisit kalıntısının arttığını göstermektedir (Dong, 2012; Lozowicka ve ark., 2016). Pf değerleri Tarım Orman Bakanlığı–GKM tarafından yayınlanan veri tabanında verilmiştir (Anonim, 2020).

$$Pf = \frac{\text{İşlenmiş ürünün kalıntı konsantrasyonu}}{\text{İşlenmemiş ürünün kalıntı konsantrasyonu}} \quad (2)$$



Şekil 4. QuEChERS-AOAC Official 2007.01 yönteminin tüm analitik basamakları

Bulgular ve Tartışma

Metodun performansı

Üzümde tebuconazole kalıntı analizi için tesbit limiti (LOQ) 1 µg/kg olarak bulunmuştur, bu da üzümde AB MRL değeri olan 500 µg/kg'ın çok altındadır. Tebuconazole standardının temsili elma örnek matrisi içindeki kalibrasyon eğrisi 1-200 pg/μL konsantrasyon sınırlarında doğrusal olarak bulunmuştur. Matrisli kalibrasyon eğrilerinde regresyon denklemi analitik fonksiyon olarak bilinir ve kantitatif hesaplamada bu denklem kullanılır (Tiryaki ve ark., 2008). İlgili analitik fonksiyon denklemi $y = -30050.1x + 4334.48$, korelasyon katsayısı da 0.999 olarak hesaplanmıştır ($R^2 \geq 0.999$). Herhangi bir ekstraktta pestisit standardı alıkonma zamanı (retention time, tR) ± 0.1 sınırlarında olmalıdır (Ömeroğlu ve ark., 2012). Tebuconazole standardının tR'ı tüm kalibrasyon konsantrasyonlarında 9.69 dak olduğundan kromatografik tekrar edilebilirlik (RSD) 0.00 olarak bulunmuştur. Geri alım, kesinlik ve tekrarlanabilirlik, dedeksiyon limiti, kesinlik, gerçeğe yakınlık gibi metot validasyonu kriterleri, tebuconazole'un 3 spike seviyesi ve herbirinden 4 analitik porsiyon analiz yapılarak



değerlendirilmiştir. Geri alım, bulunan değer, spike seviyesi değerine oranlanması ile bulunmuştur (Eşitlik 1). Üzüm matrisinden tebuconazole geri alım oranları %90.27- 111.60 arasında değişmiş, ortalama %102.96 olarak bulunmuştur (Çizelge 2). Metodun kesinliği (tekrarlı analizlerin birbirine yakınlığı) olarak RSD değeri %6.15, standart sapma (SD) da 6.33 olmuştur (n=36). Üzümde tebuconazole fungusiti için tüm bireysel geri alımlar ve RSD değerleri SANTE (2019) kabul edilebilir kriterleri ile (%60 ≤ Q ≤ %140 ve RSD ≤ %20) uyumlu bulunmuştur. Üzümlerde tebuconazole analizi için QuEChERS AOAC 2007.1 yöntemi gerekli metod performans kriterlerini sağlamıştır.

Çizelge 2. Tebuconazole fungusiti için metod doğrulama (verification) performans kriterleri (3 spike seviyesi x 4 tekrarlı analiz x 3 adet 1mL LC-MS/MS; n=36)

Spike edilen	Konsantrasyon (µg/kg)		Geri alım %	RSD %
	Analitik Porsiyon	Bulunan Değer*		
50	1	55.63	111.27	0.37
	2	52.70	105.40	0.83
	3	55.40	110.80	0.31
	4	54.20	108.40	0.18
	Ortalama	54.48	108.97	2.27
500	1	495.63	99.13	0.07
	2	466.87	93.37	0.45
	3	543.77	108.75	0.91
	4	499.07	99.81	0.94
	Ortalama	501.33	100.27	5.76
5000	1	5136.65	102.73	5.66
	2	4758.08	95.16	8.14
	3	4958.15	99.16	1.47
	4	5079.40	101.59	3.57
	Ortalama	4983.07	99.66	5.41
QuEChERS metodunun tüm geri alımı, n=36, SD=6.33 ;Geri alım aralığı = 90.27- 111.60			102.96	6.15

* 3 viyal okumasının ortalaması

Yıkılmamış üzümlerde tebuconazole kalıntıları

Yıkamanın etkinliğini göstermek ve Eşitlik 2 deki Pf değerlerini hesaplamak için yıkılmamış örneklerde de tebuconazole kalıntıları analiz edilmiştir. 5 farklı omca grubundan (herbiri 4 omca) alınan örneklerdeki ortalama kalıntılar farklı hasat dönemlerine göre Çizelge 3 de verilmiştir. 1.gün örneklerinde (ilaçlamadan 4 saat sonra alınan örneklerde) ve 3.gün örneklerinde tebuconazole kalıntıları sırasıyla 650.58 µg/kg ve 570.85 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu değerler 500 µg/kg olan MRL değerinin üzerindedir. Artan hasat süreleriyle kalıntılar azalmış olup, 5.gün, 7.gün ve 14.gün (tebuconazole bekleme süresi) sırasıyla, 337.06 µg/kg, 244.78 µg/kg ve 198 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu da pestisit uygulamasından sonra hasat için bekleme sürelerinin diğer ifade ile PHI aralıklarına uymanın önemini birkez daha ortaya koymuştur.

Çizelge 3. Yıkılmamış üzümlerde tebuconazole kalıntıları (µg/kg)

Bekleme süresi Tekerrür	1.gün	3.gün	5.gün	7.gün	14.gün
1	651.10	506.10	308.30	311.85	209.85
2	609.50	620.35	355.50	283.75	207.30
3	670.70	648.65	363.00	207.85	194.00
4	661.00	532.20	411.40	213.10	191.10
5	660.60	546.95	247.10	207.35	187.75
Ortalama	650.58	570.85	337.06	244.78	198.00
SD	23.99	60.75	62.17	44.16	9.94
RSD, %	3.69	10.64	18.44	18.16	5.02
AB MRL, µg/kg	500				

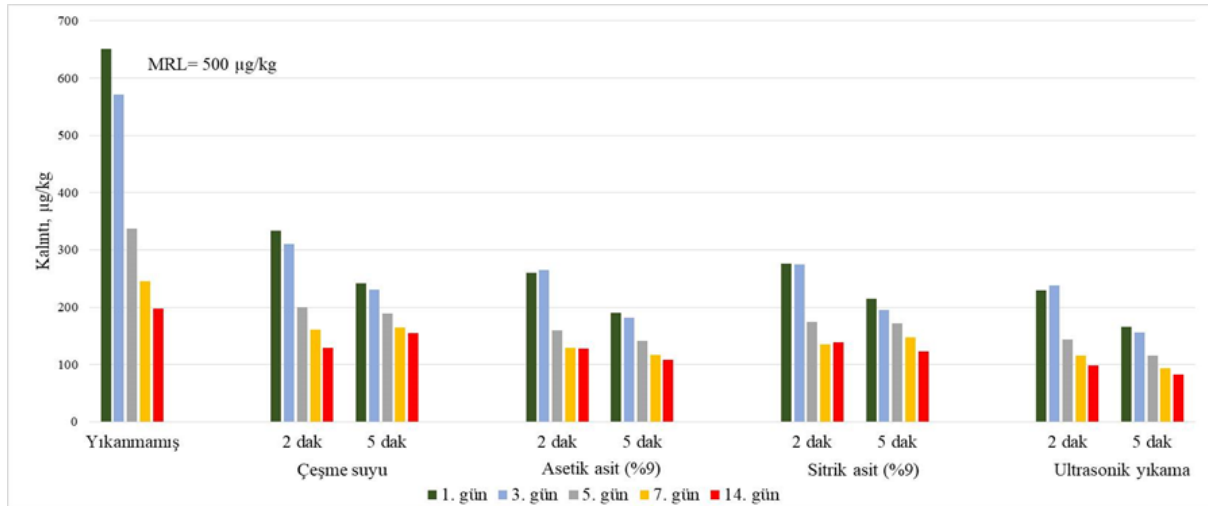
Farklı yıkamalarda üzümlerde tebuconazole kalıntısı

Yıkama işlemlerinde tebuconazole kalıntısı, azalma oranları ve hesaplanan Pf değerleri Çizelge 4 de verilmiştir. Pf değerleri < 1 olması, uygulamaların üzümlerde kalıntının azalmasında etkili olduğunu gösterir. Yıkama süresinin artmasıyla kalıntı giderme oranları artmıştır. Benzeri şekilde bekleme süresi (PHI) arttıkça kalıntı giderme oranları da azalmıştır. Bu pestisit in örneğe daha fazla nüfuz etmesinden dolayıdır. Ayrıca yıkama proselerinde tebuconazole kalıntılarının seyri Şekil 5’ de de görülmektedir.

Üzümlerin 2 dakika çeşme suyu ile yıkanması ile 1., 3., 7., ve 14.gün örneklerinde, sırasıyla, %48.77, %45.69, %40.62, %34.48, %35.04 oranında tebuconazole kalıntısı azalmıştır (Çizelge 4). Kalıntı azalma oranları 5 dakika süre uygulamasında ise sırasıyla, %62.84, %59.95, %43.92, %32.58, %22.11 olarak bulunmuştur. Genel olarak çeşme suyu ile tüm hasat dönemlerinde ortalama kalıntı giderme oranları 2 dakika ve 5 dakika süre ile yapılan uygulamalarda sırasıyla, %40.92 ve %44.22 olmuştur. Çizelge 4’ün incelenmesinden anlaşılacağı üzere, benzeri şekilde asetik solüsyon yıkamalarında ve ultrasonik yıkamada da 5 dakika süre ile uygulama, 2 dakika uygulamasına göre daha yüksek oranlarda azalma sağlamıştır. Yine tüm hasat dönemlerinde ortalama kalıntı giderme oranları 2 dakika ve 5 dakika süre ile yapılan uygulamalarda, asetik asit ile yıkamada %49.77 ve %58.96; sitrik asitle yıkamada %46.63 ve %51.80; ultrasonik yıkamada ise %56.86 ve %66.62 olmuştur.

Biberler de pirimiphos-methyl kalıntılarının azaltılması konusunda yapılan bir çalışmada, ultrasonik yıkama en başarılı olurken ikinci sırada sitrik asit olmuştur (Çatak ve ark., 2020). Zhou ve ark. (2019) tarafından üzümlerde 2 dak yıkama ve arkasından 30 s durulama ile tebuconazole kalıntısı %87.8 oranında azaltılmıştır. Çalışmamızda bu oran, farklı hasat dönemlerinde ve farklı yıkama sürelerine bağlı olarak %22.11-62.84 arasında değişmiştir.

Sonuç olarak üzümlerde tebuconazole kalıntılarının giderilmesinde ultrasonik yıkama ve asit solüsyonları ile yıkama, çeşme suyu ile yıkamadan daha etkili olmuştur. Her iki yıkama sürelerinde ve tüm hasat günlerinde tebuconazole kalıntılarını giderme oranı sırası, ultrasonik yıkama > asetik asitle yıkama > sitrik asitle yıkama > çeşme suyu ile yıkama şeklindedir. Yukarıda belirtildiği üzere yıkanmamış üzümlerde 1.gün ve 3.gün örneklerde bulunan MRL’yi aşan kalıntılar, her 4 uygulama ile MRL’nin altına indiği belirlenmiştir.



Şekil 5. Farklı yıkama uygulamalarında tebuconazole kalıntısındaki değişiklikler



Çizelge 4. Farklı yıkama işlemlerinin üzümde tebuconazole kalıntısına etkisi (azalma oranları ve işlem faktörü değerleri)

Uygulama	Bekleme süresi, PHI, gün	Uygulama süresi, dak	Kalıntı, µg/kg	İşleme faktörü (Pf)	Azalma oranı, %	
Yıkanmamış	1	-	650.58			
	3	-	570.85			
	5	-	337.06			
	7	-	244.78			
	14	-	198.00			
Çeşme suyu	1	2	333.32	0.51*	48.77	
		5	241.73	0.37	62.84	
	3	2	310.02	0.54	45.69	
		5	230.32	0.40	59.65	
	5	2	200.14	0.59	40.62	
		5	189.02	0.56	43.92	
	7	2	160.39	0.66	34.48	
		5	165.03	0.67	32.58	
	14	2	128.62	0.65	35.04	
		5	154.23	0.78	22.11	
	<i>2 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>40.92</i>
	<i>5 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>44.22</i>
	Asetik asit (%9)	1	2	260.25	0.40	60.00
			5	190.23	0.29	70.76
3		2	265.42	0.46	53.50	
		5	181.15	0.32	68.27	
5		2	159.80	0.47	52.59	
		5	141.11	0.42	58.14	
7		2	129.07	0.53	47.27	
		5	116.78	0.48	52.29	
14		2	127.76	0.65	35.48	
		5	108.23	0.55	45.34	
<i>2 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>49.77</i>	
<i>5 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>58.96</i>	
Sitrik asit (%9)		1	2	275.47	0.42	57.66
			5	214.23	0.33	67.07
	3	2	275.12	0.48	51.81	
		5	194.60	0.34	65.91	
	5	2	174.49	0.52	48.23	
		5	171.75	0.51	49.04	
	7	2	135.12	0.55	44.80	
		5	147.75	0.60	39.64	
	14	2	138.90	0.70	29.85	
		5	122.48	0.62	38.14	
	<i>2 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>46.63</i>
	<i>5 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>51.80</i>
	Ultrasonik yıkama	1	2	229.12	0.35	64.78
			5	166.23	0.26	74.45
3		2	237.41	0.42	58.41	
		5	156.15	0.27	72.65	
5		2	143.28	0.43	57.49	
		5	115.11	0.34	65.85	
7		2	115.07	0.47	52.99	
		5	93.78	0.38	61.69	
14		2	97.76	0.49	50.63	
		5	82.23	0.42	58.47	
<i>2 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>56.86</i>	
<i>5 dakika yıkamanın ortalama kalıntı giderme oranı</i>					<i>66.62</i>	

*333.32/650.58



Sonuç ve Öneriler

QuEChERS AOAC 2007.1 yöntemi üzümde tebuconazole kalıntı analizleri için gerekli kriterleri ve limitlerini sağlamıştır. Manisa İli-Sarıgöl ilçesinde tebuconazole uygulanmış bağlardan hasat edilen üzümler yıkama proseslerine tabi tutulmuştur. Kalıntı giderme oranı sırası, ultrasonik yıkama> asetik asit > sitrik asit > çeşme suyu şeklinde olmuştur. Tebuconazole kalıntıları artan yıkama süreleri ile azalmıştır. Benzeri şekilde hasat dönemi ilerledikçe kalıntı giderme oranları azalmıştır. Burada pestisit uygulamasından sonra PHI aralıklarına uymanın önemi daha da artmaktadır. Ayrıca tebuconazole fungusiti sistemik olduğu için ilerleyen hasat dönemlerinde üzümler nüfuz eden kalıntının giderilme oranı düşmektedir. 1.gün ve 3.gün örneklerinde MRL'yi aşan kalıntı çeşme suyu ve diğer yıkama uygulamalarıyla MRL'nin altında bulunmuştur. Buradan da meyve sebzelerin tüketilme öncesi yıkanmasının gerekliliği bir kez daha ortaya çıkmıştır.

Kaynaklar

- Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Schenck, F.J., 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.* 86: 412–431.
- Anonim, 2020. Pestisitlerin kalıntı limitlerinin değerlendirilmesinde kullanılacak işleme faktörleri veritabanı. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Isletmeleri/isleme_faktorleri_veritabanı.xls m. Erişim Tarihi: 21.01.2021
- CAC, 2003. Codex Alimentarius Commission Guidelines on good laboratory practice in pesticide residue analysis. CAC/GL 40-1993 http://www.fao.org/input/download/standards/378/cxg_040e.pdf. Erişim Tarihi: 15.03.2018.
- Çatak, H., Tiryaki, O., 2020. Insecticide residue analyses in cucumbers sampled from Çanakkale open markets. *Türkiye Entomoloji Dergisi*. 44(4): 449-460.
- Çatak, H., Polat, B., Tiryaki, O., 2020. Farklı yıkama uygulamaları ile kopya biberlerde pirimiphos-methyl kalıntısının giderilmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 35 (1): 97-105.
- EFSA, 2017. The 2015 European Union report on pesticide residues in food. European Food Safety Authority. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4791>. Erişim Tarihi: 25. 01. 2021
- Ersoy, N., Tatlı, Ö., Özcan, S., Evcil, E., Coşkun, L.Ş., Erdoğan, E., Keskin, G., 2011. Üzüm ve çilekte pestisit kalıntılarının LC-MS/MS ile belirlenmesi. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*. 25 (2): 70-80.
- Heshmati A., Ahmadabi N. A., Rahimi A., Vahidinia A., Taheri M., 2020. Dissipation behavior and risk assessment of fungicide and insecticide residues in grape under open-field, storage and washing conditions. *Journal of Cleaner Production*. 270: 122287.
- Krol, W.J., Arsenult, T.L., Pylypiw, M.H., Mattina, M.J.I., 2000. Reduction of pesticide residues on produce by rinsing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(10): 4666-4670.
- Lehotay, S. J. 2007. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *J. AOAC Int.* 90: 485–520.
- Ling, Y., Wang, H., Yong, W., Zhang, F., Sun, L., Yanh, M., Wu, Y.N., Chu, X.G., 2011. The effects of washing and cooking on chlorpyrifos and its toxic metabolites in vegetables. *Food Control*. 22(1): 54-58.
- Lozowicka, B., Jankowska M., Hrynko, I., Kaczynski, P., 2016. Removal of 16 pesticide residues from strawberries by washing with tap and ozone water, ultrasonic cleaning and boiling. *Environmental Monitoring and Assessment*. 188 (1): 51-69.
- Nalcı, T., Dardeniz, A., Polat, B., Tiryaki, O., 2018. Erkenci, orta geç/son turfanda üzüm çeşitlerindeki pestisit kalıntılarının QuEChERS analiz yöntemi ile belirlenmesi. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 6: 39-44
- Ömeroglu, P.Y., Ambrus, Á., Boyacıoğlu, D., 2013. Estimation of sample processing uncertainty of large-size crops in pesticide residue analysis. *Food Analytical Methods*. 6(1): 238-247.
- Ong, K.C., Cash J.N., Zabik M.J., Siddiq M., Jones A.L., 1996. Chlorine and ozone washes for pesticide removal from apples and processed apple sauce. *Food Chemistry*. 55(2): 153-160.
- Pala, U. Ç., Bilişli, A., 2006. Fate of endosulfan and deltamethrin residues during tomato paste production. *Journal of Central European Agriculture*. 7 (2): 343-348.
- Polat, B., Tiryaki O., 2020. Assessing washing methods for reduction of pesticide residues in capia pepper with LC-MS/MS. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*. 55(1): 1-10.
- Randhawa, M. A., Anjum, M.N., Butt, M.S., Yasin, M., Imran, M., 2014. Minimization of imidacloprid residues in cucumber and bell pepper through washing with citric acid and acetic acid solutions and their dietary intake assessment. *International Journal of Food Properties*. 17(5): 978-986.



- RASFF, 2021. RASFF Portal. Rapid Alert System for Food and Feed. <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=SearchForm&cleanSearch=1>. Erişim Tarihi: 25. 01. 2021
- Sahoo, S. Mandal, K. Kumar, R., Singh, B. 2014. Analysis of fluopicolide and propamocarb residues on tomato and soil using QuEChERS sample preparation method in combination with GLC and GCMS. *Food Analytical Methods*. 7 (5): 1032-1042.
- Satpathy, G., Tyagi, Y., Gupta, R., 2012. Removal of organophosphorus (op) pesticide residues from vegetables using washing solutions and boiling. *Journal of Agricultural Science*. 4 (2).
- Temur, C., Tiryaki, O., Uzun, O., Basaran, M.,2012. Adaptation and validation of QuEChERS method for the analysis of trifluralin in wind-eroded soil, *J. Environ. Sci. and Health, Part B*. 47 (9): 842-850.
- Tiryaki, O.,2016. Validation of QuEChERS method for the determination of some pesticide residues in two apple varieties. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 51(10): 722–729.
- TÜİK,2020. Türkiye İstatistik Kurumu. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr>. Erişim Tarihi: 08.03.2021
- Zhou, Q., Biain, Y., Peng, Q., Liu, F., Wang, W. Chen, F. 2019. The effects and mechanism of using ultrasonic dishwasher to remove five pesticides from rape and grape. *Food Chemisrty*. 298: 125007.