



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**ÜRETİCİ KOŞULLARINDA PESTİSİT UYGULANAN SULTANİ
ÇEKİRDEKSİZ ÜZÜMLERİNDE PESTİSİT KALINTILARININ
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞEGÜL DUMAN

Tez Danışmanı

PROF. DR. OSMAN TİRYAKİ

ÇANAKKALE – 2022



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**ÜRETİCİ KOŞULLARINDA PESTİSİT UYGULANAN SULTANİ
ÇEKİRDEKSİZ ÜZÜMLERİNDE PESTİSİT KALINTILARININ
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞEGÜL DUMAN

Tez Danışmanı

PROF. DR. OSMAN TİRYAKİ

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2020-3359

ÇANAKKALE – 2022



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Ayşegül DUMAN tarafından Prof. Dr. Osman TİRYAKİ yönetiminde ve .././20.. tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Üretici Koşullarında Pestisit Uygulanan Sultani Çekirdeksiz Üzümlerinde Pestisit Kalıntılarının Araştırılması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Osman TİRYAKİ

.....

(Danışman)

Doç. Dr. Perihan YOLCI ÖMEROĞLU

.....

Doç. Dr. Burak POLAT

.....

Tez No : 10487680

Tez Savunma Tarihi : 25/07/2022

.....

Doç. Dr. YENER PAZARCIK

Enstitü Müdürü

.././2022

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Ayşegül DUMAN

25/07/2022

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen, yoğun çalışmalarının arasında sabır ve özveri ile her an yanımda olan danışman hocam Prof. Dr. Osman TİRYAKİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın kromatografik analizleri için Çanakkale İl Gıda Kontrol Müdürlüğüne ve yardımda bulunan Pestisit Kalıntıları Laboratuvarında çalışan Uğur ÇİFTÇİ' ye teşekkür ederim.

Jüri üyeleri Doç. Dr. Perihan YOLCI ÖMEROĞLU ve Doç. Dr. Burak POLAT' a yaptıkları katkılardan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamımın her anında beni asla yalnız bırakmayan ve her daim destek olan değerli annem Fadime DUMAN' a ve rahmetli babam Yaşar DUMAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşegül DUMAN
Çanakkale, Temmuz 2022

ÖZET

ÜRETİCİ KOŞULLARINDA PESTİSİT UYGULANAN SULTANİ ÇEKİRDEKSİZ ÜZÜMLERİNDE PESTİSİT KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI

Ayşegül DUMAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Osman TIRYAKI

25/07/2022, 61

Bu çalışmada, chloryprifos-methly, lamda-cyhalothrin ve tebuconazole'un üzümde kalıntıları araştırılmıştır. Bekleme süresi (PHI) ile kalıntı arasındaki ilişkileri de araştırılmıştır. Manisa ilinin Sarıgöl ilçesindeki bir bağ alanında 30 omca bu etken maddeleri içeren üzüme ruhsatlı fungusit ve insektisitler ile 4 defa ilaç uygulanmıştır. Üzümler son ilaçlamanın 1., 3., 5., 7. ve 14. günlerinde hasat edilmiştir. Bu çalışmanın metod doğrulama kısmında pestisit içermeyen üzüm örnekleri üç pestisit için 0,1 x MRL, 1 x MRL ve 10 x MRL seviyelerinde fortifiye edilmiştir. Analizlerde QuEChERS Official Method 2007.01 yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, pestisit kalıntısı içermeyen üzüm homojenize edilmiş ve metod doğrulaması için spike edilmiştir. Ekstraksiyon ve clean-up işlemlerinin ardından numuneler kromatografi için LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. Geri kazanım aralıkları chloryprifos-methly, lamda-cyhalothrin ve tebuconazole için sırasıyla %91,3-131,4 (ortalama %114,80), %85,8-133,2 (ortalama %108,05), %90,3-111,6 (ortalama 102,96) olarak bulunmuştur. QuEChERS yönteminin geri kazanımı, %11,8 (n= 108) oransal standart sapma (RSD) ile %108,6 olmuştur. Bu veriler belirlenen geri kazanım limitleri (%60-140) ve tekrarlanabilirlik (RSD ≤ %20) ile uyumludur. Üç pestisit kalibrasyon eğrileri ($R \geq 0,999$) doğrusal olarak bulunmuştur. İlaçlanmış üzümde hasat dönemi ilerledikçe pestisitlerin kalıntı oranlarında düşüş gözlemlenmiştir. Kronik ve akut risk değerlendirmesi WHO Kılavuzuna göre yapılmış ve bu 3 pestisit maruziyet riski seviyesi saptanmıştır. Kronik ve akut maruziyet düşük bulunmuştur.

Anahta Kelimeler: Sultani Çekirdeksiz Üzüm, QuEChERS, Pestisit Kalıntısı, Hasat Öncesi Aralıklar



ABSTRACT

INVESTIGATION OF PESTICIDE RESIDUES IN SULTANI SEEDLESS GRAPES SPRAYED PESTICIDE UNDER FARMER CONDITIONS

Ayşegül DUMAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Plant Protection

Advisor: Prof. Dr. Osman TIRYAKI

25/07/2022, 61

In this study, chloryprifos-methly, lambda-cyhalothrin and tebuconazole residues in grapes were investigated. The relations between the waiting time (PHI) and the residue were also investigated. In a vineyard area in the Sarıgöl district of Manisa province, 30 vines of grapes were sprayed with licensed fungicides and insecticides 4 times, containing these active substances., The grapes were harvested in the 1st, 3rd, 5th, 7th ,14th days of the last spraying. In the method verifiation part of this study, pesticide-free grape samples were fortified at 0.1 x MRL, 1 x MRL and 10 x MRL levels of three pesticides. QuEChERS Official Method 2007.01 was used in the analysis. For this purpose, grapes without pesticide residue were homogenized and spiked for method verification. After extraction and clean-up, the samples were analyzed in LC-MS/MS device for chromatography. Recovery ranges for chloryprifos-methly, lambda-cyhalothrin and tebuconazole were 91.3-131.4% (mean 114.80%), 85.8-133.2% (mean 108.05%), 90.3-111.6% (mean 102.96), respectively. . The recovery of the QuEChERS method was 108.6% with a relative standard deviation (RSD) of 11.8% (n= 108). These data are fit with the set recovery limits (60-14%) and repeatability (RSD \leq 20%). The calibration curves ($R \geq 0.999$) of the three pesticides were linear. As the harvest period progressed in the treated grapes ,the residue ratios of pesticides decreased. The chronic and acute risk assessment was carried out according to the WHO Guidelines and the exposure risk level of these 3 pesticides was determined. Chronic and acute exposure was found to be low.

Keywords: Sultani Seedless Grapes, QuEChERS, Pesticide Residue , Pre-harvest Interval



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Üzüm.....	1
1.2. Üzüm yetiştiriciliğinde zararlı organizmalara karşı kullanılan mücadele yöntemleri.....	4
1.3. Pestisit tanımı.....	5
1.4. Pestisitlerin sınıflandırılması.....	6
1.5. Pestisit kalıntı analizlerinin tarihçesi.....	7
1.6. Kalıntı ve MRL.....	10

1.7.	EFSA ve RASFF.....	11
------	--------------------	----

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1.	Metot doğrulama (Verification).....	13
2.1.1.	Metot dayanıklılığı, sağlamlığı (Robustness/Ruggedness).....	14
2.1.2.	Özgünlük (Specificity).....	15
2.1.3.	Doğruluk (Accuracy).....	15
2.1.4.	Kesinlik (Precision).....	15
2.1.5.	Geri alım (Recovery).....	16
2.1.6.	Dedeksiyon limiti (Limit of Detection- LOD).....	16
2.1.7.	Hesap limiti (Limit of Quantification-LOQ)	17
2.1.8.	Doğrusallık (Linearity).....	17
2.2.	Metot geçerliliği ile ilgili yapılmış çalışmalar.....	18
2.3.	Üzüm örneklerinde kalıntı analizi.....	20

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.	Materyal.....	24
3.1.1.	Etken maddeler ve ticari formülasyonlar.....	24
3.1.2.	Kimyasallar.....	28
3.1.3.	Cihaz ve gereçler.....	30
3.2.	Yöntem.....	30

3.2.1. Denemenin kurulması ve örnek alınması	30
3.2.2. Metot doğrulama (verification).....	33
3.2.3. Üzüm örneklerinde kalıntı yöntemi.....	34
3.2.4 Pestisit risk değerlendirmesi	39

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Metot doğrulama.....	41
4.1.1. Doğrusallık (Linearity).....	41
4.1.2. Kromatografik tekraredilebilirlik.....	42
4.1.3. Hesaplama limiti (limit of Quantification, LOQ).....	43
4.1.4. Geri kazanım ve kesinlik.....	43
4.2. Üzüm örneklerinde bulunan kalıntılar.....	45
4.2.1. Chloryprifos-methyl.....	45
4.2.2. Lambda-cyhalothrin.....	46
4.2.3. Tebuconazole.....	47
4.3. Günlük pestisit alımının risk değerlendirilmesi.....	49
4.3.1 Chloryprifos-methyl.....	50
4.3.2. Lambda-cyhalothrin.....	50
4.3.3. Tebuconazole.....	50

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

KAYNAKÇA	54
EKLER	I
Ek Tablo 1. Üzüm için etken maddelerin üç farklı spike seviyesinde bulunan geri alım, SD ve RSD değerleri.....	I



SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Asetik Asit
AB	Avrupa Birliği
ADI	Kabul Edilebilir Günlük Alım Miktarı (Acceptable Daily Intake)
AOAC	Resmi Analitik Kimyacılar Derneği (Association Official Analytical Chemists)
AP	Analitik Porsiyon
AR _f D	Akut Referans Doz
BKÜ	Bitki Koruma Ürünü
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
CAC	Kodeks Alimentarius Komisyonu (Codex Alimentarius Commission)
CDI	Kronik Günlük Alım (Chronic Daily Intake)
CV	Varyasyon katsayısı (Co-efficient variation)
GLP	İyi Laboratuvar Uygulamaları (Good Laboratory Practies)
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromotography)
ICM	Entegre Ürün Yönetimi (Integrated Crop Management)
IEDI	Uluslararası Tahmini Günlük Alım (International Estimated Daily Intake)
IPM	Entegre Mücadele Yönetimi (Integrated Pest Management)
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle/Kütle Spektrometresi
LOD	Tespit Limiti (Limit of Detection)
LOQ	Hesaplama Limiti (Limit of Quantification)
MC	Matrisli Kalibrasyon (Matrix-matched Calibration)
MeCN	Asetonitril
MgSO ₄	Magnezyum Sülfat
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum Sülfat Heptahidrat
mM	milimolar
MRL	Maksimum Kalıntı Seviyesi (Maximum Residue Limit)
MPI	İzin Verilen Maksimum Alım (Maximum Permissible Intake)
NaAC	Sodyum Asetat
NEDI	Ulusal Tahmini Günlük Alım (National Estimated Daily Intake)

NESTI	Ulusal Tahmini Kısa Süreli Alım (National Estimate of Short-Term Intake)
NTMDI	Ulusal Teorik Maksimum Günlük Alım (National Theoretical Maximum Daily Intake)
PHI	İlaçlama ile Hasat Arasındaki Süre (Pre harvest Interval)
PPDB	Pestisit Özellikleri Veri Tabanı (Pesticide Properties Database)
PSA	Primary Secondary Amin
RASFF	AB Yem ve Gıdalar için Hızlı Alarm Sistemi (EU Rapid Alert System for Food and Feed)
Rpm	Dakikada Devir Sayısı (Revolutions per minute)
RQ	Risk Katsayısı (Risk Quotient)
SANCO	Directorate-General for Health and Consumers
SANTE	Directorate-General for Health and Food Safety
SD	Standart Sapma (Standard Deviation)
Sn	Saniye
$t_{1/2}$	Yarılanma Ömrü, gün
TGK	Türk Gıda Kodeksi
THQ	Hedef Tehlike Katsayısı (Target Hazard Quotient)
t_R	Alıkonma Süresi (Retention Time)
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TURKAK	Türk Akreditasyon Kurumu
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (Ultra-Performance Liquid Chromatography)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Ülkemizde sultani çekirdeksiz üzüm üretimi (ton)	3
Tablo 2	Türkiye üzüm verileri (bin ton)	3
Tablo 3	100 g üzüm içerisindeki besin maddeleri (kalori)	4
Tablo 4	Türkiye’de yıllara göre pestisit kullanımı (ton)	5
Tablo 5	Analitik konsantrasyonlarına göre geri kazanım limitleri ve RSD değerleri	16
Tablo 6	Lambda-cyhalothrin insektisitinin üzümde ruhsatlı preparatları	26
Tablo 7	Tebuconazole fungusitinin üzümde ruhsatlı preparatları	28
Tablo 8	Pestisitlerin bazı toksikolojik özellikleri	29
Tablo 9	Denemede uygulanan ilaçlama ve örnek alma formatı	31
Tablo 10	Üzüm örnekleme ve analiz formatı	32
Tablo 11	Geri alım çalışmaları için pestisitlerin fortifikasyon seviyeleri	34
Tablo 12	Pestisitlerle 3 farklı seviyede spike edilmiş üzümde geri alım ve RSD değerleri ile MRL ve LOQ değerleri	44
Tablo 13	Beş farklı hasat zamanlarında Sultani Çekirdeksiz üzümde chloryprifos-methyl kalıntıları (µg/kg)	46
Tablo 14	Beş farklı hasat zamanlarında Sultani Çekirdeksiz üzümde lambda- cyhalothrin kalıntıları (µg/kg)	47
Tablo 15	Beş farklı hasat zamanlarında Sultani Çekirdeksiz üzümde tebuconazole kalıntıları (µg/kg)	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Üzüm (a) ve asma bitkisi (b)	1
Şekil 2	Çoklu pestisit kalıntı analizlerinin tarihçesinin şematik gösterimi	8
Şekil 3	QuEChERS orijinal metodu ve işlem akış şeması	9
Şekil 4	Metot doğrulama (verification) parametreleri	14
Şekil 5	Chloryprifos-methly etken maddesinin kimyasal yapısı	25
Şekil 6	Lamda cyhalothrin etken maddesinin kimyasal yapısı	26
Şekil 7	Tebuconazole etken maddesinin kimyasal yapısı	27
Şekil 8	Deneme alanlarının ilaçlanması	32
Şekil 9	Deneme alanından örnek alımı	32
Şekil 10	Gerçek örneklerde uygulanan QuEChERS AOAC 2007.01 yönteminin analiz safaları	37
Şekil 11	Kimyasalların tartımı (a), homojenizasyon (b),örnek tartımı (c), vorteksleme işlemi (d), santrifüj (e) ekstraksiyon aşaması bitmiş örnekler (f), clean-up tüpüne ekstrakt aktarımı (g), clean-up aşaması bitmiş örneklerin 1,5 ml lik cam viyale ekstrakt aktarımı (h), LC-MS/MS cihazı (ı).	38
Şekil 12	Chloryprifos-methyl'in matrisli solüsyonlarda kromatogramı ve kalibrasyon eğrisi	41
Şekil 13	Tebuconazole'un matrisli solüsyonlarda kromatogramı ve kalibrasyon eğrisi	42

Şekil 14	Lambda-cyhalothrin'in matrisli solüsyonlarda kromatogramı ve kalibrasyon eğrisi	42
Şekil 15	Farklı hasat zamanlarında 3 pestisit kalıntılarının şematik gösterimi	49



BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Üzüm

Üzüm, asmagiller (Vitaceae) familyasının vitis cinsinden bir meyvedir. Üzüm dünyada kültürü çok eskilere dayanan meyvelerden biridir. Üzüm, sofralık, sirke reçel, üzüm suyu, şarap, kuru üzüm olarak tüketilebilir. Üzüm yapısal olarak salkımlar halinde oluşan bir meyve türüdür. Çeşitlerin arasında en sık dikimi yapılan en az 8,5 ha alanı ile Çekirdeksiz Thompson'dır, bir diğer adıyla bilinen Sultaniye üzümüdür. Anavatanı Küçük Asya (Anadolu dahil), Kafkasya bölgeleridir. (Anonim, 2021).



(a)



(b)

Şekil 1. Üzüm (a) ve asma bitkisi (b)

Sultaniye üzümü, orta-iri salkımlı, kabuğu incedir. Ağustos- Eylül aylarında hasat edilir.

Manisa'da yetiştirilen sultaniye üzümünün birçok özelliği arasından en dikkat çekenini ise tat ve aroma özelliği ile "sultanlara layık" olmasıyla Sultani ismini almış

olmasıdır. Bu üzüm İzmir bölgesinde de üretildiği için İzmir üzümü olarak bilinmektedir (Bioletti, 1918).

Ülkemizde neredeyse 1200 farklı üzüm çeşidi yetiştirilir. Türkiye üzüm yetiştiriciliği için en elverişli topraklarda yer alır. Ege, Marmara, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde üzüm yetiştirilir (Anonim, 2021)

Sultani Çekirdeksiz üzümü, yapısı incelendiğinde, salkımları ebat olarak orta irilikte ve sıklık açısından da normaldir. Şekilleri eliptik-yuvarlak ve renkleri ise yeşil-sarı ince kabukludur. Sultani üzümün, Türkiye’de olgunlaşım hasat edilmesi ağustos-eylül aylarında olmaktadır. Bu süre örtü altında uzatılabilmektedir. Sofralık, kurutmalık ve şıralık özellikleri, verim bakımından iyi standart bir üzümdür (Anonim ,2021).

Üzüm 2020 yılında 4208908 ton üretimi ve 4009979 da üretim alanı ile Türkiye'nin yerel tüketim ve ihracatında vazgeçilmez meyveleri arasındadır. Ege Bölgesi'nde özellikle Manisa ve İzmir çevresinde yetişen çekirdeksiz Sultaniye üzümü Türkiye'de çok yıllık bir bitkidir. 320604 dekar alanda 603724 ton Sultani Çekirdeksiz üzümü yetiştirilmiştir (TÜİK, 2021). 2020 yılında 259 bin tonu (%32,2) Türkiye'ye ait olmak üzere toplamda yaklaşık 803 bin ton kuru üzüm ihracatı gerçekleştirilmiştir. Türkiye üzüm üretiminde 5. sırada yer almakta ve bunun %38'ini Manisa ilinden karşılamaktadır. (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2021).

Türkiye’de üzüm için iklim koşulları çok uygundur. Tablo 1’de Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)’nda yer alan ülkemiz için sultaniye üzüm üretim verileri verilmiştir.

Tablo 1

Ülkemizde sultani çekirdeksiz üzüm üretimi (ton)

Yıl	Üretim (ton)
2015	586419
2016	610484
2017	668000
2018	458061
2019	656000
2020	603724
2021	422919

Kaynak: TÜİK,2022

Üretim yapılan her yerde mutlaka kayıplarda olmaktadır. Bu kayıpları en az düzeyde tutmak çok önemlidir. Tablo 2'ye bakıldığında üzüm ürünü için bazı veriler görülmektedir. 2019 yılında bir önceki yıla göre %6,4 oranında bir üretim kaybı, %7 oranında bir verim artışı olmuştur.

Tablo 2

Türkiye üzüm verileri (bin ton)

	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19	Değişim % ^{1/}
Alan (1000 da)	4620	4352	4169	4170	4054	-2,8
Verim (kg/da)	790	919	1007	943	1011	7,2
Üretim	4175	3650	4000	4200	3933	-6,4
İthalat	2312	2072	2288	2186	2181	-0,2
İhracat	16	14	8	9	131	1356
Stok Değişimi	1296	1003	1231	1397	1339	-4,2
	8	41	82	39	20	-47,8

Kaynak: FAO, ^{1/} verisi bulunan son iki piyasa yılının değişimini göstermektedir.

Üzüm besin maddelerince oldukça zengindir. İçerisinde C, F, B6, B12, Mg, Ca, D vitaminleri bulunur. Tablo 3’te 100 g bir üzümün içerisindeki besin maddeleri verilmiştir.

Tablo 3

100 g üzüm içerisindeki besin maddeleri (*Kalori)

Besin maddeleri	Miktarı, g
Kalori	66,0*
Protein	0,6
Karbonhidrat	0,0
Lif	0,9
Şeker	16,0
Yağ	0,1

*Kalori

Kaynak; *USDA,2022*

Ülkemizde üzüm %42 ‘si kurutmalık, %35’i sofralık, % 18’i pekmez, pestil, %5’i de şaraplık olarak tüketilmektedir. Sultani çekirdeksiz ve Narince gibi üzüm çeşitlerinin yaprakları da salamura olarak tüketilmektedir (Cangi ve Yağcı, 2017)

1.2. Üzüm yetiştiriciliğinde zararlı organizmalara karşı kullanılan mücadele yöntemleri

Üzüm üretiminde önemli pestler ekonomik kayıplara sebep olur. *Peronospora viticola*, *Uncinula necator*, *Phoma viticola*, *Botrytis cinerea* vb. üzümde önemli hastalıkları oluştururken, *Lobesia botrana*, *Tetranychus urticae* Koch., *Planococcus citri*, *Otiorynchus* spp., *Empoasca* spp., üzümde entomolojik etmenleri oluşturmaktadır. Bu hastalık ve zararlılara karşı farklı mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Bunlardan birisi

de kimyasal mücadeledir. Hastalık ve zararlıları kontrol altına alabilmek için birçok pestisit uygulaması yapılmaktadır.

Bu hastalık ve zararlılara karşı kimyasal mücadele dışında farklı mücadele yöntemleri de kullanılmaktadır. Bu önlem ve yöntemler; karantina önlemleri, kültürel, biyolojik, fiziksel ve biyoteknik mücadeledir. Bu mücadele yöntemlerinin hepsinin içinde bulunduğu Entegre Zararlı Mücadelesi (Integrated Pest Management, IPM) yönteminin tercih edilmesi doğru bir yaklaşımdır. Yine de kimyasal mücadele yönteminin kullanımı hızlı sonuç verdiği ve etkinliği olduğu için en çok tercih edilen yöntemdir (Delen vd. 2015).

1.3. Pestisit tanımı

Pestisit sözcüğü latince kökenli olup “pest” zararlı anlamına gelirken “cide” öldüren, yok eden anlamındadır.

Tablo 4

Türkiye’de yıllara göre pestisit kullanımı (ton)*

Yıl	İnsektisit	Fungisit	Herbisit	Akarisit	Rodentisit ve Mollussisit	Diğer (**)	Toplam
2015	8117	15984	7825	1576	197	5327	39026
2016	10425	20485	10025	2025	259	6835	50054
2017	11436	22006	11759	2452	236	6209	54098
2018	13583	23047	14794	2486	309	5801	60020
2019	11609	19698	12644	2124	264	4958	51297
2020	12347	20600	13250	2200	280	4995	53672

(*) formülasyon olarak

(**) Bitki gelişim düzenleyici, bitki aktivatörü, böcek cezbedici, nematisitler ve fumigantları içermektedir

Kaynak: TÜİK,2022

Pestisit, kimyasal bir madde, virüs ya da bakteri gibi biyolojik bir ajan, antimikrobik, dezenfektan ya da herhangi bir araç olabilir. Tüketicilerin beslenme kaynaklarına zarar veren, onların verim ve kalitesini düşüren, üreticilerin ise ekonomik kayıplarına neden olan bu zararlı organizmalardır. Bunlara karşı çeşitli bitki koruma önlemleri kullanılmaktadır. Bunlardan biri de pestisit uygulamasıdır.

1.4. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Bunlar; görünüşlerine, fiziksel yapılarına, ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif madde cins ve grubuna, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre sınıflandırılır. En yaygın olanları ise formülasyon şekilleri ve etkili oldukları zararlıya göre sınıflandırılır.

Etkili oldukları zararlı organizmaya göre fungusit, herbisit, nematisit, insektisit, akarisit, bakterisit, mollusisit ve rodentisit olarak sınıflandırılmaktadırlar.

Formülasyon şekillerine göre sınıflandırma: Islanabilir toz olanlar, Toz ilaçlar, Emülsiyon konsantre olanlar, Solüsyon konsantre olanlar, Suda çözünebilir toz olanlar, yağlardan Yazlık ve Kışlık olarak, Granüller, Peletler, Tabletler, Toz tohum ilaçlamasında kullanılanlar, Sıvı tohum ilaçları, Aerosoller, Zehirli yemler, Akıcı konsantreler, Kuru akışkan olanlar şeklindedir.

Etki şekillerine göre sınıflandırma: Bitkide, sistemik, yarı sistemik, sistemik olamayan olarak sınıflandırılır. Zararlıda, mide zehiri, değme (temas) zehiri, solunum zehiri olarak sınıflandırılabilir. Bileşimindeki etkili madde grubuna göre sınıflandırma:

Organik fosforular, Karbamatlı insektisitler, Pyrethroid (Piretroit) insektisitler olarak sınıflandırılır.

1.5. Pestisit Kalıntı Analizlerinin Tarihçesi

Pestisit kullanımı ürün üzerinde, ürün içerisinde, bitkide ve toprakta kalıntıya neden olmaktadır. Bu kalıntılar tüketilen ürünlerde risk oluşturmaktadır. Analizler ile kalıntı durumu belirlenmektedir.

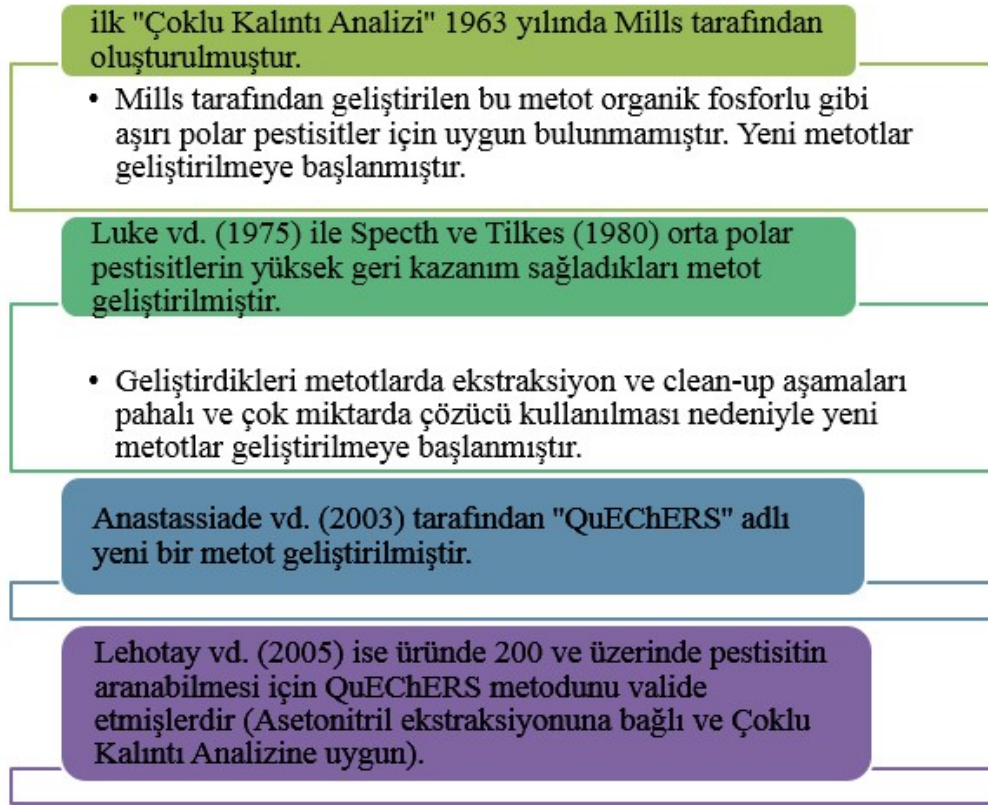
Pestisit kalıntı analizleri, farklı etken maddelerin farklı matrislerde analiz edilmesini sağlamaktadır. Analizlerde; güvenilir, sağlam, hızlı, hassas ve maliyeti düşük metotların uygulanması son derece önemlidir. 1960 yılının sonlarına doğru kromatografisi (Gas Chromatography, GC) tekniği geliştirilmiştir . Daha sonraki yıllarda, UV ya da floresans dedektörle birleştirilen Ters Faz Sıvı Kromatografisi'nin (Reverse Phase Liquid Chromatography, RPLC) tekniği ortaya koyulmuş ve sıvı kromatografisi (LC) kullanılmaya başlanmıştır. Kütle spektrometresi (MS) ile birleştirilen LC cihazları (LC/MS) en sık kullanılan cihaz haline gelmiştir. MS teknolojisinin gelişmesinin ardından (MS/MS) sistemleri bu alanda hayat bulmuştur. Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS), sıvı kromatografisinin (HPLC) kütle spektrometresinin (MS) kütle analizi yetenekleri ile fiziksel ayırma yeteneklerini birleştiren bir analitik kimya tekniğidir. LC-MS/MS tekniğiyle analitler kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilebilmektedir. Karmaşık ortamlarda yer alan tekli veya çoklu analitlerin analizinde, eser düzeydeki maddelerin analizinde, ilaç etken maddelerinin yanında safsızlık ve metabolitlerinin analizinde, gıdalardaki katkı maddeleri veya pestisitlerinin analizlerinde, kan, idrar, doku gibi biyolojik numunelerin analizlerinde yüksek hassaslık ve doğruluk ile sonuç almak mümkündür (Çetinkaya-Açar, 2015).

Günümüzde kalıntı analizlerinde “QuEChERS” (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) metodu kullanılmaktadır.

Anastassiades vd. (2003) ve Lehotay vd. (2005) tarafından geliştirilen QuEChERS metot versiyonları kalıntı analizlerinde kullanılmaktadır. Bitki, toprak ve yaş sebze-meyvelerde kullanılmaktadır. QuEChERS metodu pek çok ulusal ve uluslararası

laboratuvarında yaygın olarak kullanılmasına rağmen, kendi yerel laboratuvar koşullarımızda doğrulamaya ihtiyacı vardır (Çetinkaya-Açar, 2015).

Çoklu Kalıntı Analizleri pestisit kalıntı analizlerinde en çok kullanılan uygulama şeklidir. İlk çoklu kalıntı analiz aşamasından günümüze kadar olan analiz aşamalarını tarihsel bir biçimde Şekil 2’de yer verilmektedir.



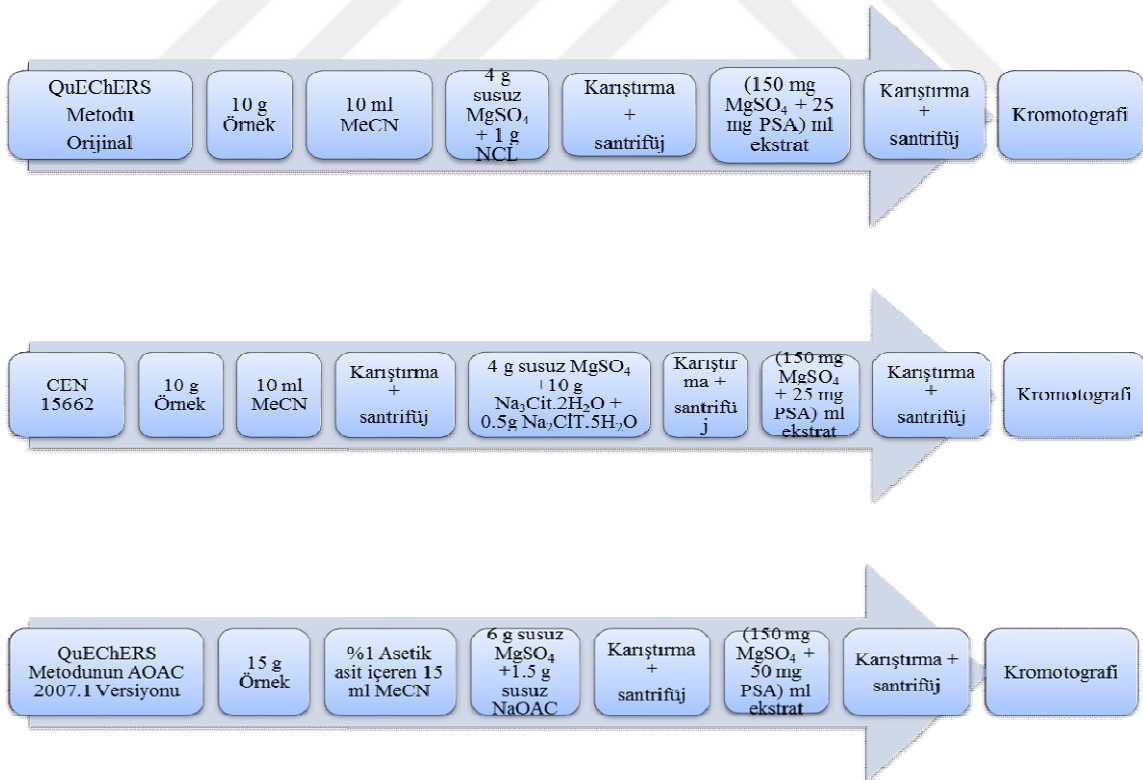
Şekil 2. Çoklu pestisit kalıntı analizlerinin tarihesinin şematik gösterimi

Kaynak: Luke vd. 1975; Specth ve Tilkes, 1980; Anastassiades vd. 2003; Lehotay vd. 2005.

Anastassiades vd. (2003) geliştirmiş oldukları QuEChERS metodunu metamidofos, asefat, ometoat, imazalil ve tiyabendazol gibi çok polar ve bazik bileşikler dahil olmak üzere çok çeşitli pestisit için %85 ila %101 (çoğunlukla >%95) arasında geri kazanımlar ve tipik olarak <%5 tekrarlanabilirlik elde etmişlerdir.

Lehotay vd. (2005) QuEChERS metodunun üzerinde değişiklikler yapmışlardır. Yöntemi, farklı matrikslerde 32 farklı pestisit için değerlendirmişler ve tipik yüzde geri kazanımları bazı sorunlu pestisitler için bile 95 ± 10 olarak bulmuşlardır. GC/MS analizinden önce toluene isteğe bağlı çözücü değişimini de değerlendirmişler, bunun da daha düşük tespit limitlerinin yararı ile eşit derecede iyi sonuçlar verdiğini göstermişlerdi

Anastassiades vd. (2007) ile Lehotay vd. (2005) daha zayıf sitrat tamponlama versiyonunu önermişlerdir. Her 2 uygulama güvenle kullanılmaktadır. ‘AOAC Official Method 2007.01’; Lehotay vd. (2005) yürüttüğü zayıf sitrat tamponlama yöntemini resmi metot olarak kabul etmişlerdir. ‘CEN, European Committee for Standardization Standart Method EN 15662’ (CEN, 2018); Anastassiades vd. (2007) kullandığı daha güçlü asetat tamponlama yöntemini resmi metot olarak kabul etmişlerdir. QuEChERS metodunun orijinal hali, AOAC 2007.01 ve CEN 15662 versiyonları Şekil 3’te verilmiştir.



Şekil 3: QuEChERS orijinal metodu ve işlem akış şeması

Kaynak: Anastassiades vd. 2003; Lehotay vd. 2005; Anastassiades vd. 2007

1.6. Kalıntı ve MRL

Kalıntı seviyeleri, birçok faktörden (uygulama dozu ve sayısı, uygulama zamanı, son ilaçlama ile hasat arasındaki süre, iklim koşulları, bitki koruma ürününün formülasyonu ve uygulama şekli) etkilenir. Dolayısıyla bitkisel üretimde hastalık, zararlı, yabancı ot gibi bitkiye olumsuz etkide bulunabilecek zararlılara karşı kullanılan kimyasal maddelerin kullanım esnasında, belirtilen maddelerde yapılan hatalardan dolayı kalıntılar meydana gelir. Bunlar, bitkide, ürün üzerinde, ürün içerisinde, toprakta, havada ve suda ilerleyen zamanlarda karşılaştığımız maddelere kalıntı (mg/kg) denilir (Anonim, 2022).

Maksimum Kalıntı Seviyesi (Maximum Residue Limit, MRL) ürünlerin içinde veya üzerinde yasal olarak bulunmasına izin verilen pestisit kalıntılarının seviyesidir. Kabul edilebilir günlük alım miktarı (Acceptable Daily Intake, ADI) değerleri temel alınarak belirlenen en yüksek pestisit kalıntı limiti anlamında gelir. Ülkelerin ticarete sorunlar yaşamaması için uluslararası geçerliliği bulunan FAO Kodeks seviyeleri ve AB MRL seviyeleri esas alınmaktadır.

Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz (No Observed Advers Effect Level, NOAEL) herhangi bir yan etki göstermeyen en yüksek dozdur, mg/kg olarak ifade edilir.

Kabul edilebilir günlük alım miktarı (Acceptable Daily Intake, ADI), tüketiciye fark edilebilir herhangi bir sağlık riski teşkil etmeyen, bir bireyin vücut ağırlığı esas alınarak tüm yaşamı boyunca gıdalarla günlük olarak alabileceği madde miktarını ifade eder. ADI seviyesinin belirlenmesi için NOAEL seviyesinin kullanılması gereklidir. NOAEL seviyesi güvenlik faktörüne (100) bölünerek ADI değeri bulunur.

Günlük alınmasına izin verilen en fazla miktar (Maximal Permissible Intake, MPI, mg/kişi/gün), ADI değerinden yola çıkılarak MPI değerine ulaşılır. Her gıda aynı oranda tüketilmediği için tüm gıdaların ayrı ayrı maksimum tüketim miktarının bulunması

gereklidir. Her gıda için MRL değerinin bulunması MPI değerinin bilinmesi sayesinde. MPI' in ADI' dan farkı, değerin kg insan ağırlığı başına değil, birey başına hesaplanmasıdır. Hesaplama ortalama insan canlı ağırlığı 60 kg olarak ele alınır.

Gözlenebilir en düşük yan etki seviyesi (Lowest Observable Adverse Effect Level, LOAEL), insanlar üzerindeki herhangi bir yan etkinin gözlemlendiği seviyeye denir.

Akut referans doz (Acute Reference Dose, ARfD), insan sağlığını tehdit etmeden tek bir öğünde tüketebileceği miktardır.

1.7. EFSA ve RASFF

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA), Avrupa'nın gıda güvenilirliğinin teminatıdır. Misyonu, gıda zincirindeki tehlikeleri bilimsel olarak değerlendirmektir. Böylece Avrupa'da güvenilir gıda tüketimine destek olmaktır. Çalışmaları gıda zincirinin hemen hemen tüm basamaklarını kapsamaktadır. Bunlar; gıda ve yem güvenilirliği, beslenme, hayvan sağlığı ve refahı ile bitki sağlığı ve bitki korumadır. EFSA'nın temel amacı Avrupa Birliği gıda ve yem zincirinin güvenilirliğine katkı sağlamak ve insan hayatının ve sağlığının yüksek düzeyde korunmasını sağlamaktır. EFSA'nın sorumlulukları, genel bilimsel değerlendirmeler sonucunda bilimsel tavsiye oluşturmak ve iletişimini yapmak, AB piyasasına sunulmadan önce güvenilirlik değerlendirmesi gerektiren gıda ve yem ürünlerinin değerlendirmesini yapmaktır. EFSA, bu şekilde yapmakta olduğu sorumluluklarla tüketicinin gıdalla ilgili risklerden korunmasına destek olmaktadır (EFSA,2022).

Gıda ve yemlerde hızlı uyarı sistemi (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF), gıda zincirinde halk sağlığına ilişkin riskler tespit edildiğinde hızlı tepki verilmesini amaçlayan ve bilgi akışını sağlayan bir kuruluştur. RASFF, AB, dünyadaki en yüksek gıda güvenliği standartlarından birine sahiptir. RASFF portalı, herkesin erişimine açık olarak, gıda ve yemlerde yapılan analizlerde MRL aşımalarını yayınladığı web ortamıdır. Analizler, ürünlerin sınırdan geçişi sırasında veya markette satışı sırasında

alınan örneklerden yapılabilir. Analiz sonuçlarına göre, ürünün sınırdan geçişi yasaklanabilir veya piyasadan toplanmasına karar verilebilir. Portal üzerinde, bildirim yapan ülke, ürün adı, menşei ülke, tarih, alınacak aksiyon gibi bilgiler görülebilir.1979'da oluşturulan RASFF, bilgilerin üyeleri arasında etkin bir şekilde paylaşılmasını sağlar. RASFF da bildirim sınıflandırması; Uyarı, Bilgi ve Sınır Reddetme' den oluşur.

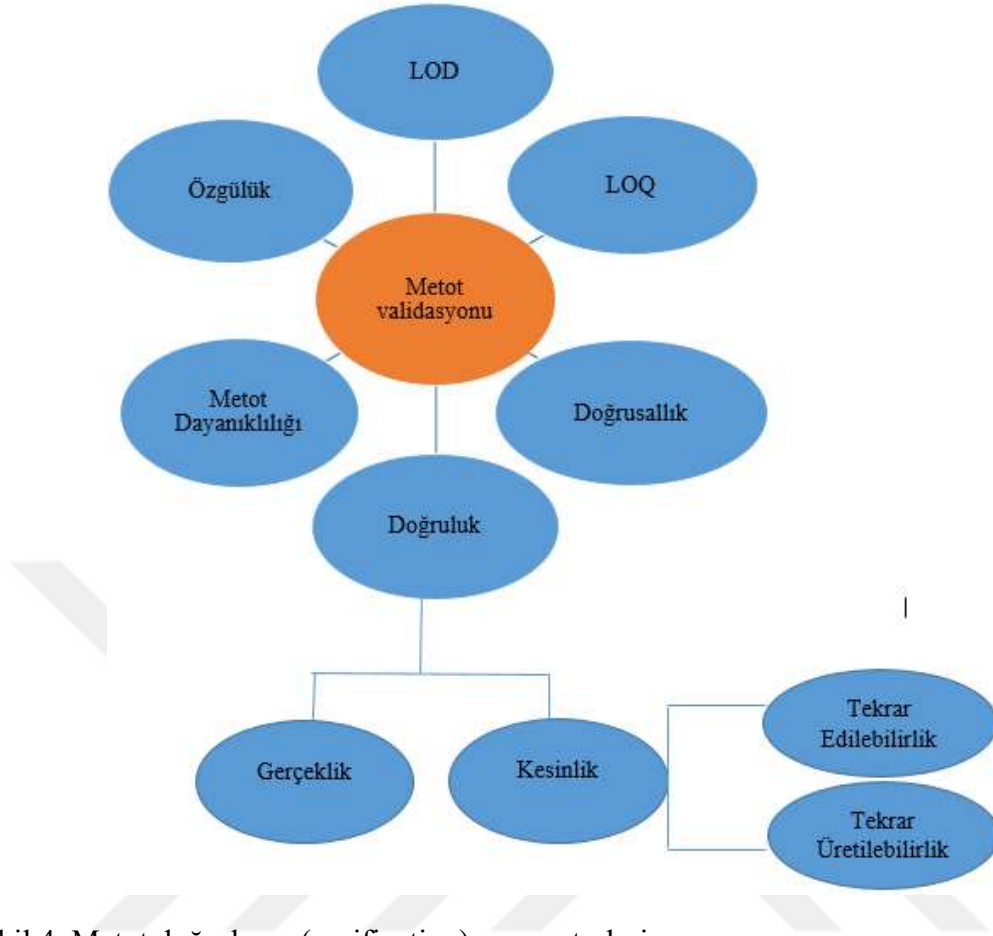
Bu çalışma kapsamında Ege Bölgesi Manisa ili Sarıgöl İlçesinde Sultani çekirdeksiz üzüm yetiştirilen bir üretici bağında 2020 yılı yetiştirme sezonunda kurulan denemeden hasat edilen üzüm (*Vitis vinifera* L.) örneklerinde lambda-cyhalothrin, tebuconazole, chlorpyrifos-methyl aktif maddeleri uygulanarak, bu aktif maddelerin kalıntı seviyelerini belirlemek hedefimiz olmuştur. Ayrıca ürünlerde kalıntı oluşmasında en önemli bir faktör olan son ilaçlama ile hasat arasındaki geçmesi gereken sürenin (Pre harvest Interval, PHI) önemini vurgulamak için çeşitli PHI aralıklarında hasat yapılmıştır. Bu bakımdan da çalışmanın özgün değeri artmıştır ve çalışma alanında genişletilmiştir. Analiz aşamalarında QuEChERS Official Method 2007.01 yöntemi uygulanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Metot doğrulama (Verification)

Metot validasyonu, aslında bir hata değerlendirme süreci ya da analitik hatalar üzerinde yoğunlaşılması olarak bilinir. Hata çeşitlerinin ve bu hataların nasıl belirleneceği, bu amaçla hangi analitik işlemlerin yapılacağı ve ne kadar verinin gerekli olduğu, hangi istatistiksel işlemlerin yapılmasının gerektiği, izin verilebilir hata büyüklüğünün ne olacağı gibi sorular metot validasyonu alanına girer. Metot doğrulama ise geliştirilmekte olan ve valide edilen bir metodun kendi laboratuvar şartlarında işleyip, gerekli olan performans koşullarını karşıladığının saptanmasıdır (EUROCHEM, 2014; TURKAK, 2019). Validasyon ve doğrulama çalışmalarında birden fazla parametre bulunmaktadır. Kantitatif analizlerde laboratuvar tarafından yeni bir metot geliştirildiğinde validasyon parametreleri uygulanır. Bu parametreler; geri alım (recovery), doğruluk (accuracy), kesinlik, dedeksiyon limiti, hesaplama limiti, dayanıklılık, özgülük ve doğrusallık bu parametreler arasındadır (EUROCHEM, 2014). Metot doğrulama parametreleri Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. Metot doğrulama (verification) parametreleri

2.1.1. Metot dayanıklılığı, sağlamlığı (Robustness/Ruggedness)

Robustness; bir laboratuvarında birçok araştırmacının ayrı günlerde ayrı kalibrasyon eğrileri ile yaptıkları analizlerin değerlendirilmesidir. Ayrıca geliştirmiş oldukları metodu koordineli bir şekilde valide etmeleri gerekmektedir. Ruggedness; analitik metodun farklılık ve değişimlerine karşı dayanıklılığıdır (Tiryaki, 2017). Her iki parametre için laboratuvar koşullarında bir eksiklik var mı, temizliği yapılmış mı, kullanılacak olan kimyasalların tarihleri geçmiş mi ve kullanılacak olan cihazın kontrolleri yapılmış mı gibi soruların yanıtları verilmelidir. Hataların düşük olması analiz sonucunda olumlu bir etki yaratırken, hatanın büyük olması olumsuz etkileri beraberinde getirmektedir (Çetinkaya-Açar ve Diler, 2018).

2.1.2. Özgürlük (Specificity)

Özgürlük, çalışılan pestisitın diğer pestisitlerin olduğu örnek içinden için metotta ayırt edilmesine olarak tanımlanır. Bu parametre diğer metotlar üzerinde çalışılarak belirlenir. Sağlık ve Gıda Güvenliği Genel Müdürlüğü (Directorate-General for Health and Food Safety, SANTE) dokümanlarında bu parametre, dedektörün analiti belirleyecek kriteri sağlama yeteneğidir (Anonim, 2019; SANTE, 2020).

2.1.3. Doğruluk (Accuracy)

Doğruluk, bir ölçüm sonucunun referans (gerçek) değere yakınlığını ifade eder. Doğruluğun kesinlik ve gerçeklik olmak üzere iki bileşeni vardır.

2.1.4. Kesinlik (Precision)

Kesinlik, gelişigüzel hataların dağılımı üzerinde değerlendirme yapmaktadır ve bir değere bağlı değildir. Kısaca dağılım göstergesi olarak düşünölebilmektedir. Standart sapma (SD) ve RSD (Relative Standard Deviation) değerleri ile ifade edilmektedir (EURACHEM, 2014).

Tekrarlanabilirlik (Repeatability-r)

Herhangi bir analitin ölçümünün (genellikle geri alım testleriyle veya referans materyal analizleriyle elde edilen) aynı metotla, aynı laboratuvarında, aynı kişilerce, aynı ekipman ile farklı günlerde elde edilen analiz sonuçlarının kesinliğidir. SD ve RSD değerleri ile ifade edilir (SANTE, 2021).

Tablo 5

Analit konsantrasyonlarına göre geri kazanım limitleri ve RSD değerleri

Konsantrasyon sınırı (mg/kg)	%CV (%RSD)	Ortalama geri alım limitleri
≤1	35	50-120
≤ 0,01	30	60-120
> 0,01-≤ 0,1	20	70-120
> 0,1-≤ 1,0	15	70-110
>1	10	70-110

Kaynak: *Anonim, 1999; SANCO, 2004; Dülger, 2021*

Tekrarüretilebilirlik (Reproducibility-R)

Farklı laboratuvar koşullarında farklı araştırmacılar tarafından farklı ekipmanlar kullanılarak yöntemin uygulanabilirliğinin test edilmesidir. Aynı yöntem olmalıdır. Konsantrasyonun tekraredilebilirlik değerinde olduğu gibi bu parametrede de ne seviyede olduğu öğrenilmelidir. Bu parametreler ikiye ayrılmaktadır; birincisi laboratuvarlar arası tekrarüretilebilirlik ve ikincisi laboratuvarlar içi tekrarüretilebilirliktir (Anonim, 2019).

2.1.5. Geri alım (Recovery)

Geri alım parametresi metot performansının en çok kullanılan parametresidir. Geri alım çalışması, fortifikasyon (zenginleştirme) ve diğer analiz basamakları ile elde edilir. Bu parametre için en az üç fortifikasyon seviyesi olmalıdır.(SANTE, 2020). Geri alım limitleri için analit konsantrasyonuna bağlı olarak değerlendirme yapılabilir. Farklı örnek konsantrasyonlarında belirlenen %RSD değerleri Tablo 5’de verilmektedir. Ancak son yıllardaki SANTE dökümanlarında geri alım limiti %60-140, RSD değerlerinin ise %20den yüksek olmaması istenmektedir (SANTE, 2021).

2.1.6. Dedeksiyon limiti (Limit of Detection-LOD)

Dedeksiyon Limiti metodun laboratuvar koşullarında örnekteki varlığını tespit edebildiği ancak kesin miktarını ölçemediği en düşük analit konsantrasyonudur. Kalıntı analizlerinde LOD, kromatografik sistemdeki gürültü, sinyal oranlarından hesaplanabildiği gibi kalibrasyon eğrisinin denkleminde de hesaplanabilmektedir. Ancak yeni sistem LC-MS/MS ve GC-MS/MS sistemlerinde LOD değerini sistem kendisi otomatik olarak vermektedir.

2.1.7. Hesap limiti (Limit of Quantification-LOQ)

Tayin limiti, bir metodun çalışma aralığının alt sınırı ölçüm limitidir. Tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak da tanımlanmaktadır. LOQ değeri için geri alım çalışmaları yapılmalı ve ardından %70-120 değer aralığında bulunması gerekmektedir. Bu parametrenin RSD değeri ise %20'den az bulunmalıdır. En az konsantrasyon değeri LOQ olarak alınmalıdır. MRL değerinden de düşük olmalıdır. Kalıntı analizlerinde LOQ, kromatografik sistemdeki gürültü, sinyal oranlarından hesaplanabildiği gibi kalibrasyon eğrisinin denkleminde de hesaplanabilmektedir. Ancak yeni sistem LC-MS/MS ve GC-MS/MS sistemlerinde LOQ değerini sistem kendisi otomatik olarak vermektedir.

2.1.8. Doğrusallık (Linearity)

Doğrusallık, pestisit kalıntı analizlerinde genellikle kullanılan bir validasyon parametresidir. Kalibrasyondaki farklılık üzerine çalışılan aktif maddenin özelliğine bağlıdır. Bu parametrenin analiz yöntemiyle de bir ilgisi vardır. Analizlerde kalibrasyon eğrilerinin oluşturulabilmesi en az 3 farklı konsantrasyon aralığında hazırlanan standart çözeltilere bağlıdır. Çözeltilerin her birinden kromatografik cihaza iki tekrarlı

enjeksiyonlar aktarılır. Korelasyon katsayısı, denklem, eğim, kesişim ve doğrusal eğri olarak sonuçlar ortaya çıkmalıdır (EUROCHEM, 2014).

2.2. Metot geçerliliği ile ilgili yapılmış çalışmalar

Souza vd. (2016) yaptıkları bir çalışmada, üzüm suyunda 25 pestisit miktarını ölçmek LC-MS/MS cihazını kullanmışlardır. Bu yöntem, Brezilya'da üzüm kültüründe yaygın olarak kullanılan pestisit eşzamanlı olarak belirlenmesi için Ulusal Metroloji, Standardizasyon ve Endüstriyel Kalite Enstitüsü (Instituto Nacional de Metrologia Qualidade Tecnologia, INMETRO)' ne göre optimize etmişler ve doğrulanmışlardır. Örnekler QuEChERS metodunun AOAC Resmi Yöntem 2007.01 ve Standart Yöntem EN 15662 versiyonu ile analiz etmişlerdir, her iki yöntem de istatistiksel olarak eşdeğer iyileşmeler ve varyasyon katsayılarını sunmuşlardır. Hiçbir pestisit içermeyen üzüm suyu örnekleri, 0,005 ve 2 mg/l seviyelerinde spike edilmiş (fortifikasyon) geri alım değerleri %101-112 arasında ve RSD değerleri de %11-16 arasında bulunmuştur.

Yiğit vd. (2012) 19 pestisiti HPLC-Diode Array Dedektörü kullanarak analiz etmişlerdir. Patlıcan, şeftali, domates, mandalınadan pestisit içermeyen örnekler metot validasyon çalışmaları için kullanılmış ve sonuçlar kabul edilebilir aralıklarda bulunmuştur. Her bir pestisit için Alet Tespit Limiti (IDL) ve Tahmini Yöntem Tespit Limiti (EMDL) hesaplanmıştır. Matris uyumlu kalibrasyon grafiklerinden elde edilen korelasyon katsayısı 0,99'dan yüksekti. Ortalama geri kazanımlar %75,39-121,95 arasındaydı ve doğruluk için bağıl standart sapmalar (%RSD) %20'den düşüktü. Ayrıca kesinlik (gün içi tekrarlanabilirlik ve günler arası tekrarlanabilirlik) için hesaplanan RSD %10'dan düşük bulunmuştur.

Türköz ve Hışıl (2018) yaş üzümelerde 61 aktif maddenin GC kullanarak analiz etmişlerdir. Sonuçlar kabul edilir aralıklarda bulunmuştur. LOD ve LOQ değerleri MRL'den düşük, matriste hazırlanan kalibrasyonlardan elde edilen korelasyon katsayıları (R^2) 0,99'dan yüksek, geri kazanımlar % 70-120 arasında ve RSD %20'den düşük bulunmuştur.

Dülger ve Tiryaki (2021) üç pestisiti (boscalid, chlorpyrifos ve tebuconazole) 0,1 X MRL, 1,0 X MRL ve 10 X MRL seviyelerinde şeftali ve nektarine spike işlemi uygulayarak QuEChERS yöntemini doğrulamak amacıyla bu çalışmayı gerçekleştirmişlerdir.. Ekstraksiyon ve clean up için QuEChERS 2007.1 versiyonu takip edilip, daha sonra numuneler kromatografi için LC-MS/MS'e tabi tutulmuştur. Üç pestisitinin tespit sınırı AB-MRL'nin altındadır. Şeftali için boscalid, chlorpyrifos ve tebuconazolenin geri kazanım oranları sırasıyla %122,25 (RSD= %12,14, n= 25), %108,36 (RSD= %18,81, n= 25) ve %109,90 (RSD= %19, n= 25) bulunmuştur. Şeftali için toplam geri kazanım oranı %113,51 olarak belirlenmiştir (RSD= %17,33, n= 75). Nektarin için boscalid, chlorpyrifos ve tebuconazolenin geri kazanım oranları sırasıyla %124,45 (RSD= %4,66, n= 27), %108,11 (RSD= %11,33, n= 27) ve %109,94 (RSD= %11,83, n= 27) bulunmuştur. Nektarin için toplam geri kazanım oranı %113,61 olarak belirlenmiştir (RSD=%11,44, n=81). Bu rakamlar geri kazanım sınırları (%60-140) ve tekrarlanabilirlik için belirtilen değerler (RSD ≤ %20) dahilinde bulunmuştur.

Durmaz ve Tiryaki (2018) çalışmalarında QuEChERS metodu ile Golden Delicious ve Starking Delicious elma çeşitlerinde chlorpyrifos etken maddenin kalıntı analizi için 0,05, 0,5 ve 5,0 mg/kg seviyelerinde fortifiye ederek validasyon işlemi yapmışlardır. QuEChERS analitik metodun adımları olan ekstraksiyon ve clean up dan sonra LC-MS/MS kullanarak kromatografik ayrıştırma yapılmıştır. Golden D örneğinden geri alım %70,87-112,99 arasında gerçekleşmiş, ortalaması ise %89,32'dir. Tekrar edebilirlik değerleri ise %8,36-14,03 arasında bulunmuştur. Starking D elma örneği için ise geri alım yüzdesi %69,08-100,3 arasında gerçekleşmiş ve ortalaması %79,82'dir. Tekrar edebilirlik değerleri %1,96-12,88 arasında gerçekleşmiştir. Chlorpyrifos için tüm metodun geri kazanımı %84,60, RSD ı ise %15,68 olarak bulunmuştur. Bulunan sonuçlar istenen geri kazanım aralığında (%70-120) ve tekrar edebilirlik kabul oranı için belirtilen değerlere (RSD ≤% 20) uygun bulunmuştur.

Hollosi vd. (2012) yaptıkları bir çalışmada, üzüm, bebek maması ve buğday unu matrislerindeki 48 pestisitinin eşzamanlı olarak belirlenmesi için numune hazırlama yöntemini açıklamışlardır. Doğrudan LC-MS/MS cihazı ile birleştirilmiş numune temizliği

için türbülanslı akış kromatografisi yöntemi uygulanmıştır. Yöntemin amacı toplam analiz süresini azaltmak, manuel laboratuvar çalışmasını ortadan kaldırmak, temiz ekstraktlar sağlamak ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmektir. Bebek maması için 0,8 – 6,0 ng/g ve diğer matrisler için 0,8-10,3 ng/g arasında tespit limitlerini belirleyen tekli laboratuvar metodu validasyonu (single method validation) yapılmıştır. Gün içi kesinlik değerleri %4-18 arasında değişirken, günler arası kesinlik %5-22 aralığında açıklanmıştır. Metot geri kazanımı %67-124 arasında değişmiştir.

Çatak ve Tiryaki (2019) Çanakkale’de Cuma pazarından alınan hıyar örneklerinde pestisit kalıntıları üzerine yaptıkları araştırmada metodun geçerliliğini de ele almışlardır. Bu kapsamda, acetamiprid, chlorpyrifos ve formetanate hidroklorür için geri kazanımları sırasıyla %69,95-%116,67 (ortalama %89,13), %66,4-%106,42 (ortalama %84,14), %75-123 (ortalama %111,178) aralığında bulunmuştur. Yöntemin ortalama geri kazanımı ise %18,35 RSD değeri ile %94,00 olarak saptanmıştır.

2.3 Üzüm örneklerinde kalıntı analizi

Manisa’da satış alanlarından 2017 yılında alınan 232 asma yaprağı analiz ediliyor. Araştırmada 232 numune LC-MS/MS ile QuEChERS yöntemi kullanılarak analiz ediliyor ve analizler sonucunda 318 pestisit kalıntısına ulaşıyor. Elde edilen sonuçlar, Türk Gıda Kodeksi (TGK), MRL’ye göre değerlendirilmiştir. 85 (%36,6) örnekte pestisit kalıntısına rastlanmış olup toplam 52 örnekte (%22,4) TGK MRL’lerin üzerinde pestisit etken maddesi tespit edilmiştir. Analiz edilen asma yaprağı örneklerinde 318 pestisit etken maddesinden, 42 değişik pestisit ve 210 sonucun 92 ‘sinde e MRL değerlerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Analiz edilen asma yapraklarında en çok rastlanan etken maddenin metalaxyl, TGK MRL değerleri üzerinde çıkan etken maddenin ise azoxystrobin olduğu çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Sonuçlar, asma yapraklarında pestisit kalıntısının yüksek oranda tespit edildiğini göstermektedir. Yapılan analiz sonuçlarının geri kazanım değerlerinin ortalaması alınarak metodun geri kazanımı ve RSD değerleri belirlenmiştir. Ortalama geri kazanımları %81,77-102,38’dir. ve %RSD değerlerini %20’den düşük bulmuşlardır (Türköz vd. 2019)

Cesnik vd. (2008) bir çalışmalarında, 67 farklı pestisit için hasat edilen üzüm örneklerini analiz etmişlerdir. Dithiocarbamate'lerin belirlenmesi için GC-MS cihazını kullanmışlardır. Bir zm numunesi (%2,1) hiçbir kalıntı içermemiştir veya LOQ altında çıkmıştır, 28 numune (%59,6) MRL'den daha düşük veya eşit kalıntılar içermiş, ve 18 numune (%38,3) için ulusal MRL'leri aşmıştır. rnek başına tespit edilen en yüksek insektisit sayısı yedi olarak belirlemişlerdir. Üzümlerde en sık bulunan pestisitler; folpet (%97,9), cyprodinil (%51,1), dithiocarbamet (%44,7), chlorothalonil (%23,4), chlorpyriphos (%19,1) ve pyrimethanil (%14,9) olarak belirtmişlerdir. Risk değerlendirmesi, yüksek cyprodinil ve fludioxonil kalıntılarının tüketicisi sağlığı için herhangi bir risk oluşturmadığı belirtilmiştir (ADI değerinin yüzdesi olarak ulusal tahmini akut alımı %100 den az bulunmuştur.

Rose vd. (2009) yaptıkları çalışmada bir dizi kırmızı ve beyaz şarap marc üzüm çeşidini temsil eden 24 üzüm rneği toplamışlar ve bazı fungusit ve insektisit kalıntıları için analiz etmişlerdir. Fungisitler, procymidone, iprodione, cyprodinil, fenhexamid, fludioxinil, pyrimethanil ve trifloxystrobin ve insektisitler, indoxacarb ve tebufenozide kalıntı konsantrasyonları, üzüm çekirdeği yağı ve üzüm çekirdeği ununda , üzüm meyvesi ve beyaz şarap marctan daha yüksek sonuç elde etmişlerdir. Bağıl konsantrasyonlar, octanol-su dağılım katsayıları (log Kow) ile yaklaşık olarak orantılı ifadesini kullanmışlardır. Bir dizi başka fungusit ve insektisit saptamışlar, ancak meyve ve marc'a göre yağ ve tohumda önemli lde konsantre olmadıklarını gözlemlemişlerdir. zm ekirdeği yağı ve üzüm çekirdeğinde pestisit kalıntısı bulamamışlar ve bunun şarap yan ürünlerinin üretilmesi olasılığını etkileyeceğini ifade etmişlerdir.

Edder vd. (2009) bir çalışmalarında, şarapta olası düşük pestisit kalıntılarına yol açan en etkili *Botrytis cinerea* karşıtı stratejileri incelemişlerdir. şarap üreticilerine üzüm bağları için *Botrytis cinerea*'ya karşı koruma için bir dizi yüksek kaliteli üzüm sağlamak ve nihai üründeki pestisit kalıntılarını en aza indirgemek için çeşitli tedavi yaklaşımları test etmişlerdir. *Botrytis cinerea*'yı kontrol etmek için farklı spesifik fungusit tedavileri ile toplam 10 stratejiyi, farklı büyüme aşamalarında üzümlere uygulamışlardır. Bu aşamalar:

çiçeklenme, demet kapanması ve renk değişimidir Çalışma kapsamında *Botrytis cinerea*'ya duyarlılığı yüksek olan Gamay asma çeşidi seçilmiştir. Her deneysel arsada hasat zamanı geldiğinde hastalık insidansını (belirli bir nüfusta belirli bir zaman dilimi içerisinde belirli bir hastalık veya hastalıkların yeni olgularının sayısını ifade eder) ve şiddetini değerlendirmişlerdir. Ek olarak, her muamelede kalıntı seviyelerini izlemek ve şarap yapım işleminin her aşamasında değişiklikleri takip etmek için üzüm, şurup ve şaraplarda pestisit kalıntı analizi yapılmıştır. Anti-*Botrytis* fungusit tedavisinin etkinliği ile şaraptaki pestisit kalıntıları arasında bir korelasyon kurmuşlardır. Çeşitli fungusitlerin kullanıldığı çeşitli stratejiler, şaraptaki pestisit kalıntılarını en aza indirirken arıtma etkinliği açısından iyi sonuçlar vermiş, böylece fungus direncinin gelişimini sınırlamak için ilginç alternatifler sağladığını ifade etmişlerdir.

Cus vd. (2010) çalışmalarında 2007 yılında bağ bozumunda iki beyaz ve iki kırmızı üzüm çeşidinin vinifikasyon (şarap yapımı) işlemindeki pestisit kalıntıları araştırmışlardır. Şarap işleminde ezilmiş olan üzüm, şıra, yaprak ve şarap örneklenmiştir. Ayrıca, olgunlaşmış üzümlerden de numune alınmıştır. Tüm numuneler üç kez alınmış ve 117 pestisit analiz edilmiştir. LC-MS/MS ve GC-MS/MS cihazları kullanılarak, boscalid ve phosalone olgunlaşmış üzümlerde en kalıcı pestisit olmuşlardır. Şaraptaki pestisit kalıntılarının konsantrasyonları, vinifikasyon işleminin katı ve sıvı fazları, özellikle de ezilmiş üzümlerin preslenmesi ve alkollü fermantasyondan sonra şarap rafı sırasında ayırmalar yoluyla önemli ölçüde azaltılmıştır. Vinifikasyon işlemi boyunca, boscalid, siprodinil, dimetomorf, fenheksamid, metalaksil ve promididon ve şaraplardaki kalıntılar sırasıyla 0,01-0,02, 0,04, 0,01-0,08, 0,12-0,13, 0,09-0,11 ve 0,07-0,13 mg/l olarak bulunmuştur.

Turgut vd. (2010) Ege bölgesinde 99 farklı çiftlikten sofralık üzüm örneği toplamışlardır. Pestisit kalıntıları sadece geleneksel tarım uygulamaları kullanan çiftliklerde tespit edilmiştir. Organik veya entegre zararlı yönetimi (IPM) kullanan çiftliklerde üzümlerde insektisit tespit edilmiştir. Lambda-cyhalothrin'in geleneksel çiftliklerde en önemli riski oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Ersoy vd. (2011) Konya ilinde pazar ve marketlerden toplanılan 101 adet yaş üzüm ve 10 adet çilek örneklerinde 203 adet pestisit kalıntı seviyelerini araştırmışlardır. QuEChERS metodu kullanarak LC-MS/MS ve GC-MS kromatografi cihazlarında kalıntı analizleri yapılmıştır. Araştırma bulgularına göre yaş üzüm örneklerinde pestisit rastlanılmayan örnek toplam örneğin %38'ini oluşturmuştur. Çilek örneklerinde %70'inde kalıntıya rastlanılmamıştır. Çilek ve yaş üzüm örneklerinde kullanımı yasaklanan etken maddeler bulunmuştur. Bazı örneklerde kalıntı TGK-MRL'nin üzerinde bulunmuştur

Yakar (2018) çalışmasında çekirdeksiz sofralık üzümlerde pestisit kalıntılarını belirlemek amacıyla, Hatay ilinde yerel marketlerden sağladığı 60 adet çekirdeksiz sofralık üzüm örneğini 80 adet pestisit kalıntısı açısından incelemiştir. Üzüm örneklerindeki kalıntılarını QuEChERS metodu ve LC-MS/MS cihazı ile analiz etmiştir. Analiz sonuçlarına göre carbendazim, dimethomorph, azoxystrobin, cypermetrin, metalaxyl, chlorpyrifos, myclobutanyl, imazalil, fludioxonil, dithiocarbamate ve cyprodinil kalıntıları tespit etmiştir. 9 örnekte tespit edilen imazalil ve carbendazim kalıntıları, MRL değerini aşmıştır.

Nalcı vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada, Çanakkale'de iki büyük marketten aldıkları erkenci ve orta geç/son turfanda üzüm çeşitlerinin pestisit kalıntılarını araştırmışlardır. Üzüm numunelerinin ekstraksiyon ve clean-up işlemlerinde, QuEChERS metodunu uygulamışlar ve kromatografik analizler için ise LC-MS/MS cihazını kullanmışlardır. Analiz sonucunda, 10 numunenin hepsinde en az bir pestisit kalıntısı tespit edilmiştir. Erkenci üzüm çeşidi numunelerinde farklı seviyelerde (0,011-0,018 mg/kg) pyraclostrobin kalıntısı tespit edilmiştir. Üzümlerde pyraclostrobin aktif maddesinin MRL değeri TGK 'da 1 mg/kg, FAO kodeksinde 2 mg/kg olduğundan, elde edilmiş kalıntı miktarları MRL değerlerinin altında kalmıştır. Orta geç/son turfanda üzüm çeşidi numunelerinde kalıntısına rastladıkları pestisitlerin sayısı oldukça fazla olmuştur. Beş örnekte boscailid aktif maddesinin kalıntısı tespit edilmiştir. Analiz edilen farklı pestisitlerin kalıntı seviyelerinin AB ve TGK MRL değerlerinin altında olduğu bildirilmiştir.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

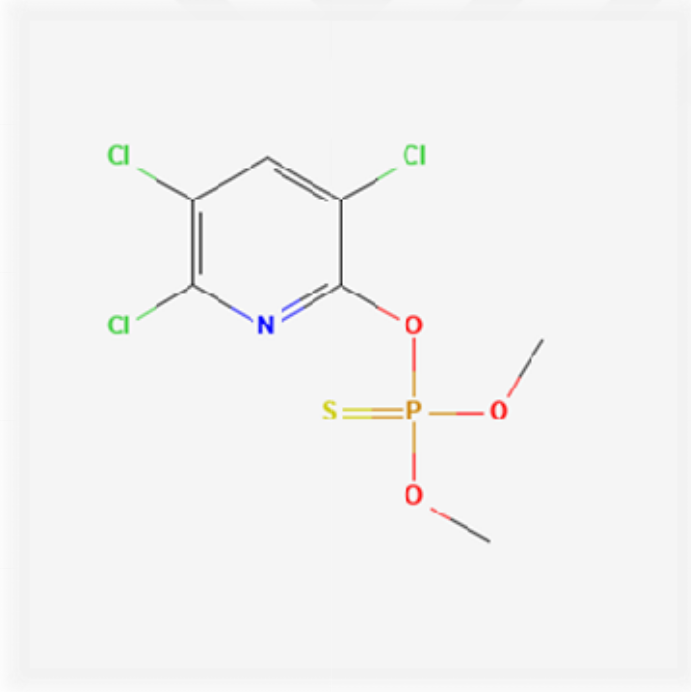
Çalışmamızda, Manisa ili Sarıgöl ilçesinde Sultani çekirdeksiz üzüm yetiştirilen bir üretici bağda, belirlenen 20 omca gruba ayrılmış ve numaralandırılmıştır. 1-4 arası omcalar 1. grup, 5-8 arası omcalar 2. grup, 9-12 arası omcalar 3. grup, 13-16 arası omcalar 4. grup ve son olarak 17-20 arası omcalar ise 5. grubu oluşturacak şekilde toplamda 5 gruba ayrılmıştır. Üretici deneyimlerine paralel olarak bağda Luna Experience SC 400 (Tebuconazole 200 g/l + Fluopyram 200g/l) Karate Zeon CS 25 (Lambda-cyhalothrin 50 g/l) ml / 100 l su ve Reldan 22E EC (Chlorpyrifos-methyl 227 g/l) fungusit ve insektisitleri kullanılmıştır.

3.1.1. Etken maddeler ve ticari formülasyonlar

Bu çalışma kapsamında analiz edilecek etken maddeler chlorpyrifos-methyl, lambda-cyhalothrin, tebuconazole'dur. Chlorpyrifos-methyl, lambda-cyhalothrin, tebuconazole pestisitleri için Dr. Ehrenstorfer Laboratories GmbH'den (Wesel, Almanya) sırasıyla %98,73, %98,6 ve %99,69 saflıkta etken maddeler kullanılmıştır. Chlorpyrifos-methyl, lambda-cyhalothrin, tebuconazole aktif maddelerinin bazı özellikleri Tablo 8'de verilmiştir.

Chlorpyrifos-methyl, organofosfat geniş spektrumlu bir insektisittir. Bu aktif maddenin kimyasal yapısı Şekil 5' de verilmiştir. Suda çözünürlüğü düşüktür, oldukça uçucudur ve hareketsizdir. Memeliler için çok toksik değildir, ancak bir asetil kolinesteraz

inhibitörü ve bir nörotoksik madde olarak sınıflandırılır. Balıklar ve bal arıları için oldukça zehirlidir (PPDB, 2020). Chloryprifos-methy aktif maddesi, üzümde, salkım güvesi (*Lobesia botrana*), turuncgil unlubiti (*Planococcus citri*) gibi zararlılara karşı kullanılmaktadır. T.C Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından 16 pestisit etkili maddesi 23.05.2020 tarihinde yasaklanmıştır. Bakanlıkça 5 Ağustos 2020 tarihinde 9 pestisit etkili maddesi daha ilave edilmiştir. 7 pestisit in ise, Aralık 2021 tarihinde yeniden yapılacak değerlendirmeye kadar kullanım alanlarının kısıtlanmasına karar verilmiştir. 9 tarım ilacı yasaklamış, 7 tanesine kısıtlama getirilmiştir (Anonim, 2022). Chloryprifos-metyl etkili maddesinde bu listede yer almaktadır. Bu etkili maddenin kullanımının sonlandırılma tarihi 31.12.2021'dir fakat bağda kullanımı 01.09.2020'de sona ermiştir. Bu nedenle BKÜ veritabanında bu etkili madde ile ilgili herhangi bir ruhsat bulunmamaktadır

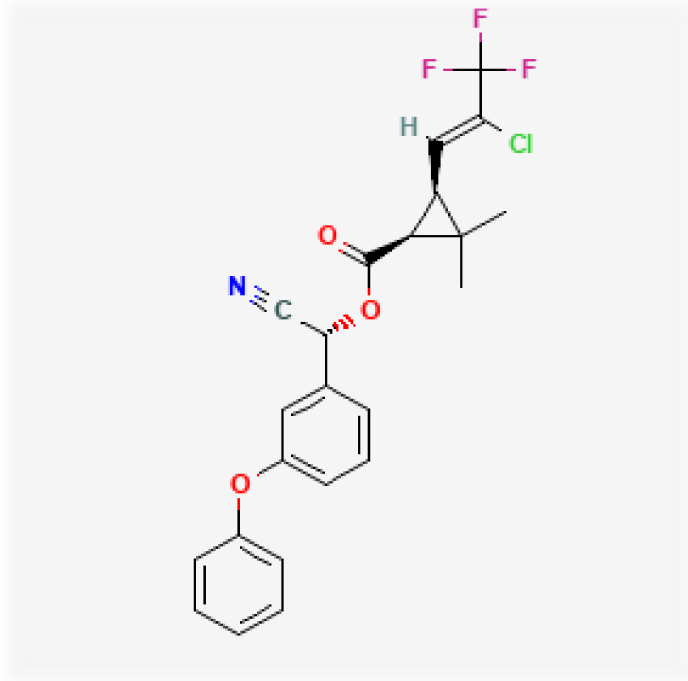


Şekil 5: Chloryprifos-methly etken maddesinin kimyasal yapısı

Kaynak: *Pubchem, 2022*

Lamda cyhalothrin sentetik bir piretroid insektisittir. Suda çözünürlüğü düşüktür, nispeten uçucudur, hareketli değildir ve kimyasal özelliklerine göre yeraltı suyuna sızma

riski düşüktür. CAS'da sicil numarası 91465-08-6'dır. Molekül ağırlığı 449,85 g/mol'dür. Kimyasal yapısı Şekil 6'da de verilmiştir. Üzümde ruhsatlı preparatları ise Tablo 6'da verilmiştir. Lambda cyhalothrin, memeliler için oldukça toksiktir. Ayrıca balıklar, suda yaşayan omurgasızlar ve bal arıları için oldukça zehirlidir (PPDB,2022) Bağlarda, salkım güvesi (*Lobesia botrana*), ve maymuncuk (*Otiorrhynchus spp*) zararına karşı kullanılmaktadır.



Şekil 6: Lambda cyhalothrin etken maddesinin kimyasal yapısı

Kaynak: *Pubchem, 2022*

Tablo 6

Lambda-cyhalothrin insektisinin üzümde ruhsatlı preparatları

Zararlı	Preperat Adı/Formülasyon	Ruhsat Tarihi ve numarası	Uygulama Dozu (.ml/100 l su)	Bekleme Süresi, gün (PHI)
Salkım güvesi	REKOR 50 EC (İMAL)	30.11.2018/11266	20	7
	KARATE ZEON (İTHAL)	31.03.1998/3377	20	7

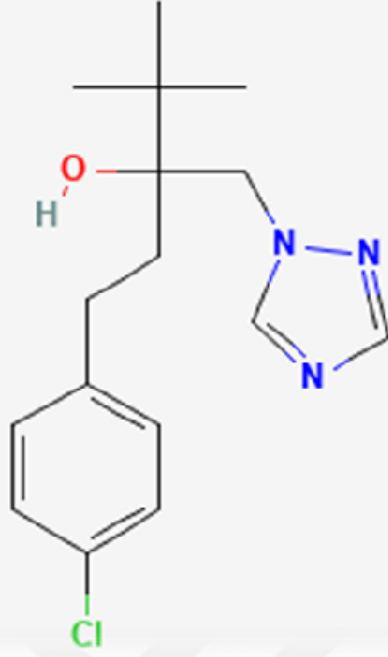
TEKVANDO 5 EC (İMAL)	14.06.1999/3636	20	7
KUNG-FU 5 EC (İMAL)	25.08.1998/3477	20	7
PETRA 5 EC (İMAL)	07.12.2004/4918	20	7
LAMDEX 50 CS (İTHAL)	07.08.2012/8789	25	7
NAKAVT 5 EC (İMAL)	13.01.2022/12213	20	7
SHINYA (İMAL)	11.01.2022/12206	20	7
SUNALDA 50 EC (İMAL)	26.10.2021/12100	20	7
LITHCO (İTHAL)	12.08.2021/12013	20	7

Kaynak: BKÜ,2022

Tebuconazole, madde gruplarından triazole ve conazole gruplarına ait bir fungusittir

Molekül ağırlığı 307,82 g/mol'dür (PPDB, 2020). CAS'da sicil numarası Kimyasal yapısı Şekil 7' de verilmiştir. Bağlarda, külleme (*Uncinula necator*) hastalığına karşı kullanılmaktadır. İlacın kullanımı Ağustos 2021 tarihinde sonlandırılmıştır.

Tebuconazole, kiral bir moleküldür. Kiral terimi, kendisinin rotasyonla elde edilemeyen bir ayna görüntüsünü oluşturabilen veya bu ayna görüntüsüne sahip olan cisimleri, özellikle molekülleri tanımlamak için kullanılır.



Şekil 7: Tebuconazole etken maddesinin kimyasal yapısı

Kaynak: PubChem,2022

Tablo 7

Tebuconazole fungusitinin üzümde ruhsatlı preparatları

Zararlı	Preperat Adı/Formülasyon	Ruhsat Tarihi ve numarası	Uygulama Dozu (..ml/100 l su)	Bekleme Süresi, gün (PHI)	
Bağ küllüsü (<i>Uncinula</i>)	NEOCAM (İMAL)	17.09.2020/11698	25	14	
	MICROPLUS (İTHAL)	DISPERSS WG	28.06.2017/10922	*25	14
	RALLY EC 250 (İMAL)		11.04.2006/5477	40	21
	MYSTIC 250 EC (İTHAL)		03.09.2013/9313	40	21
	COLONY 250 EC (İMAL)		06.09.2012/8839	40	21

PESTİGE 250 EC (İMAL)	24.07.2014/9754	40	21
HANİCUR 25 EC (İMAL)	25.05.2010/7745	40	21
ORİUS 25 EW (İTHAL)	09.08.2006/5600	40	21
PİVOT 25 EC (İMAL)	07.08.2012/8797	40	21

*gram

Kaynak: BKÜ,2022

3.1.2. Kimyasallar

Chloryrifos-methyl, lambada-cyhalothrin, tebuconazole pestisitleri için Dr. Ehrenstorfer Laboratories GmbH'den (Wesel, Almanya) sırasıyla %98,73, %98,6 ve %99,69 saflıkta etken maddeler kullanmıştır. Chloryrifos-methyl, lambada-cyhalothrin, tebuconazole aktif maddelerinin bazı özellikleri Tablo 8'de verilmiştir. Ekstraksiyon aşamasında kullanılan çözücü ve kimyasallar asetonitril (MeCN, %99,9 saflıkta, Merck), magnezyum sülfat heptahidrat (%99,0-100,5 saflıkta MgSO₄.7H₂O, Merck) ve sodyum asetat (%99 saflıkta NaAC)'dir. Clean-up aşamasında kullanılan kimyasal ve çözücüler bondesil PSA (Primary Secondary Amin, 40 µm, 100 g, Analitik saflıkta, Agilent) ve MgSO₄.7H₂O'tır

Tablo 8

Pestisitlerin bazı toksikolojik özellikleri

	Lambda-cyhalothrin	Chlorpyrifos-methyl	Tebuconazole
Kimyasal formül	C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O
Grup	Pyrethroid	Organophosphate	Triazole
Aksiyon Modu	Sistemik Olmayan	Sistemik Olmayan	Sistemik
logP	5,50	4,70	3,70

Sw	0,005	2,740	36,000
Kaynama Noktası	Kaynamadan Önce Ayrışır	Kaynamadan Önce Ayrışır	Kaynamadan Önce Ayrışır
Bozunma Noktası (°C)	275	175	350
Moleküler Kütle (g/mol)	449,85	322,53	307,82
ADI - Kabul Edilebilir Günlük Alım Miktarı	0,0025	0,0100	0,0300
MPI - İzin Verilen Maksimum Alım	0,15	0,60	1,80
ARfD - Akut Referans Doz, mg/kg	0,005	0,100	0,030
Memeliler – Akut LD ₅₀ mg/kg	56	5000	1700
Memeliler – Deri LD ₅₀ (mg/kg)	> 632	> 2000	> 2000
Memeliler – Soluk Alma LC ₅₀ mg/l	0,066	>0,670	> 5,090
Koc değeri	283707	4565	-
WHO Sınıflandırması*	II	III	II
Sağlık sorunları	Endokrin bozucu Göz tahriş edici Cilt tahriş edici	Üreme/Gelişme etkileri Nörotoksik Kolinesteraz engelleyicisi	Üreme / gelişme etkileri Göz tahriş edici

*II: Orta derecede tehlike, III: Hafif derecede tehlike

Kaynak: *PPDB,2020*

3.1.3. Cihaz ve gereçler

Çalışmamız süresince kullanılan araç ve gereçler, LC-MS/MS kromatografi cihazı (Waters I Class Plus UPLC + Xevo TQ-S micro MS Detector; ESI + mode), Santrifüj (Hettich EBA 280, 4500 rpm), Hassas tartım aleti (Shimadzu ATX224, ± 0,0001 g) ve tartım kapları, Vorteks (VELP Scientifica), Blender (Waring blender), Hamilton şırınga, Viyal, 1,5 ml, Ölçü silindiri, Tek kullanımlık pipet, 50 ml'lik Falcon tüpü, Mikropipet, Balon joje, Üstün power sırt pülverizatörü (16 l)'dür.

3.2. Yöntem

3.2.1. Denemenin kurulması ve örnek alımı

Deneme, Manisa ili Sarıgöl ilçesinde Sultani çekirdeksiz üzüm yetiştirilen bir üretici bağında 2020 yılı yetiştirme sezonunda kurulmuştur. Belirlenen 20 omca gruba ayırılmış ve numaralandırılmıştır. 1-4 arası omcalar 1. grup, 5-8 arası omcalar 2. grup, 9-12 arası omcalar 3. grup, 13-16 arası omcalar 4. grup ve son olarak 17-20 arası omcalar ise 5. Grup olarak numaralandırılmıştır. Yetiştirme sezonu süresince tüm kültürel işlemler yapılmıştır. Üretici deneyimlerine paralel olarak bağda Luna Experience SC 400 (Tebuconazole 200 g/l + Fluopyram 200g/l) ile 25 ml/100 l su, Karate Zeon CS 25 (Lambda-cyhalothrin 50 g/l) ml / 100 l su ve Reldan 22E EC (Chlorpyrifos-methyl 227 g/l) 200 ml / 100 l su ile 4 defa fungusit ve insektisit uygulaması yapılmıştır. İlaç uygulama sayısı bağ küllemesi ile salkım güvesi biyolojisi ve oluşturdukları zarara göre 4 adet olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. İlaçlama 16 l'lik sırt pülverizatörü ile yapılmıştır (Şekil 8). Seçilen aktif maddeleri içeren bitki koruma ürünleri ile ilaçlamalar ve örnekleme (Şekil 9) zamanları son ilaçlamanın, 1., 3., 5., 7., ve 14., günleridir. Örnekler ilaçlı parsellerden ve kontrol parselden alınmıştır. İlaçlama ve örnek alma Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9

Denemede uygulanan ilaçlama ve örnek alma formatı

Etkili Madde (e.m.)	Preparat - Önerilen Doz	Kullanılan Zararlılar	İlaçlama sayısı (adet)	Bekleme süresi, gün	Örnekleme zamanı
Lambda-cyhalothrin 50 g/l	KARATE ZEON CS – 25 ml / 100 l su	<i>Otyorynchus spp.- Lobesia botrana</i>	4	7	Son ilaçlamanın 1.günü, 3. günü, 5. günü, 7.günü, 14. günü
Tebuconazole 200 g/l +	LUNA EXPERIENCE SC 400 - 25 ml	<i>Uncinula necator</i>	4	14	Son ilaçlamanın 1.günü, 3. günü, 5. günü, 7.günü,

Fluopyram 200 g/l	/ 100 L su				14. günü
Chlorpyrifos- methyl 227 g/l	RELDAN 22E EC – 200 ml / 100 l su	<i>Lobesia botrana</i>	4	7	Son ilaçlamanın 1.günü, 3. günü, 5. günü, 7.günü, 14. günü

İlk ilaçlama 29.06.2020 tarihinde Luna Experience SC 400 ve Karate Zeon karışımı yapılarak uygulanmıştır. Bir gün sonra 30.06.2020 tarihinde Karate Zeon ile aynı etki mekanizması, farklı gruplara sahip olan Reldan 22 E ile uygulama yapılmıştır. İkinci uygulama 14.07.2020 tarihinde aynı şekilde Luna Experience SC 400 ve Karate Zeon karışımı yapılarak uygulanmış, yine bir gün sonra 15.07.2020 tarihinde Reldan 22 E ile uygulama yapılmıştır. Üçüncü uygulama 09.08.2020 ve 10.09.2020 tarihinde yapılmış olup, dördüncü uygulama yani son uygulama 21.08.2020 tarihinde yapılmıştır.

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. Üzüm örnekleme ve analiz formatı Tablo 10 gösterilmiştir.



Şekil 8: Deneme alanlarının ilaçlanması



Şekil 9: Deneme alanından örnek alımı

Tablo 10

Üzüm örnekleme ve analiz formatı

Hasat zamanı (Son ilaçlama ile hasat arası süre)	Alınan örnek sayısı (tekerrür)	AP	GC viyali	TOPLAM AP
1.gün	5 adet /1 kg	3 AP/1 kg	3 GC viyali/AP	15 AP (45 GC viyali)
3.gün	5 adet /1 kg	3 AP/1 kg	3 GC viyali/AP	15 AP (45 GC viyali)
5. gün	5 adet /1 kg	3 AP/1 kg	3 GC viyali/AP	15 AP (45 GC viyali)
7.gün	5 adet /1 kg	3 AP/1 kg	3 GC viyali/AP	15 AP (45 GC viyali)
14.gün	5 adet /1 kg	3 AP/1 kg	3 GC viyali/AP	15 AP(45 GC viyali)
Kontrol	1 adet/1 kg	3 AP/1 kg	3GC viyali/AP	3 AP
TOPLAM 78 AP (234 GC viyali)				

*Analitik porsiyon

3.2.2. Metot doğrulama (verification)

Kalite kontrol prosedürlerinin önemli bir bileşeni metot doğrulamadır. QuEChERS yöntemi büyük ölçüde iyi donanımlı laboratuvarlarda güvenle kullanılmaktadır. Ancak çalışılan laboratuvarlarda metodun işlediğinin doğrulanması gerekir. Chlorpyrifos-methyl, lambada-cyhalothrin, tebuconazole aktif maddelerinin stok çözeltileri toluen ile hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri (1 µg/ml) üç aktif madde için hazırlanmış olan stok çözeltilerden elde edilmiştir. Chlorpyrifos-methyl için 20-4000 , lambada-cyhalothrin 10-2000 ve tebuconazole için ise 1-200 pg/µl sınırlarında temsili matris uyumlu kalibrasyon çözeltileri asetonitril ile hazırlanmıştır. 0,1, 1 ve 10 X MRL fortifikasyon

seviyelerine karşılık gelen Chlorpyrifos-methyl, lambda-cyhalothrin ve tebuconazole standart çözeltileri hazırlanmıştır. Yaklaşık 1 kg üzüm numunesi bir blender ile homojenize edilmiştir. 10,0 MRL düzeyindeki spike işlemi kalibrasyon aralığında olacak şekilde seyreltilmiştir. Daha sonra hazırlanan fortifikasyon çözeltilerinden 100 µl MeCN içinde 15 g homojenize numune üzerine ilave edilmiştir. Elde edilen karışım 30 sn vortekslenmiş ve 15 dk numuneye pestisit nüfuz etmesi için beklenmiştir (Şekil 10). Matrisli kalibrasyonda çalışılan örnekler için ürün özelliğine göre temsili örnek kullanılabileceği CAC (2019) ve SANTE (2020)'de açıklanmıştır. Üzüm örneği ve üç aktif madde için validasyon işlemi tekli metot validasyon yaklaşımı ile gerçekleştirilmiştir (Thompson vd. 2002).

Geri alım çalışması (Recovery)

Araştırmada kullanılacak olan aktif maddelerin analiz yapılan laboratuvar koşullarında geri alım değerlerinin belirlenmesi analizin başında bilinmesi gereken önemli bir kalite parametresidir. Bu anlamda daha önceden blank (hiç pestisit uygulanmamış üzüm örneği), homojenizasyon işleminden sonra Tablo 11' de verilen formata göre her 3 pestisitle 0,1X MRL, 1X MRL ve 10X MRL seviyelerinde 4 tekrarlı (analitik porsiyon) fortifikasyon yapılmıştır. Her analitik porsiyondan 3 ayrı GC viyaline örnek alınmıştır. Şekil 10'da verilen analiz basamaklarından sonra LC-MS/MS de geri alım %'leri hesaplanmıştır.

Tablo 11

Geri alım çalışmaları için fortifikasyon seviyeleri

Fortifikasyon seviyeleri	Kod	Chlorpyrifos-methyl µg/kg	Lambda-cyhalothrin µg/kg	Tebuconazole, µg/kg
0.1 X MRL	IF1/1-4	100	8	50
1 X MRL(*)	F2/1-4	1000	80	500
10 X MRL	F3/1-4	10000	800	5000

3.2.3. Üzüm örneklerinde kalıntı analiz yöntemi

Analiz yöntemi olarak QuEChERS AOAC 2007.01 metodu kullanılmıştır. Analizler homojenizasyon, ekstraksiyon, clean-up ve kromatografi olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır.

Anastassiades vd. (2003) orijinal QuEChERS metodu asetonitril ekstraksiyonu ve dispersive-SPE clean-up sistemi kullanarak yaş meyve ve sebzelerde kalıntı analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Bu metotta birçok pestisit için geri alımların %85-101 arasında, tekrar edilebilirliğinin ise %5'ten küçük olduğunu bulmuşlardır. Yöntemin bu hali farklı araştırmacılar tarafından farklı reaktifler ile yeniden düzenlenmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada ürünlerde 200'den fazla pestisit belirlenmesi için QuEChERS yöntemini valide etmişlerdir (Lehotay vd. 2005). Lehotay vd. (2005)'nin ortaya çıkarmış olduğu asetat tamponlama değişikliği "AOAC Official Method 2007.01" resmi metodu ve Anastassiades vd. (2007)'nin ortaya çıkarmış olduğu sitrat tamponlama ise "European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662" resmi metodu olmuştur (Çetinkaya-Açar, 2015). QuEChERS yöntemi birçok laboratuvar çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Polat ve Tiryaki 2019 ve 2020). Laboratuvar alt yapısının yeterince iyi olmadığı şartlarda metot doğrulamaya ihtiyaç duyulmaktadır (Ömeroğlu vd. 2012; Tiryaki, 2006).

Yaptığımız çalışmada QuEChERS yönteminin AOAC 2007.01 resmi metodu uygulanmıştır. Örneklerin analiz edilmesinde QuEChERS metodunun ekstraksiyon ve clean-up basamakları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi-Ziraat Fakültesi-Bitki Koruma Bölümü Pestisit Kalıntı Laboratuvarında yapılmıştır. Örneklerin kromatografik analizleri Çanakkale İl Gıda Kontrol Laboratuvarından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Kullanılacak olan yöntemin bütün analitik aşamaları (homojenizasyon, ekstraksiyon, clean-up ve kromatografi), Şekil 10'de kısaca gösterilmiştir.

Homojenizasyon

2020 yılı içerisinde, Haziran, Temmuz, Ağustos aylarında deneme alanından hasat edilen üzüm örnekleri 30 omcadan (örnekleme formatı Tablo 10'da gösterilmiştir) 1'er kg olmak üzere alınmıştır (EC, 2002). Buz kutularında taşınarak laboratuvara getirilen örnekler analiz edilmiştir. Her biri 1'er kg olan üzüm örnekleri kendi içinde homojen olacak şekilde AB rehberinde yer alan bilgiler doğrultusunda analizler için blender ile parçalanmıştır.

Ekstraksiyon

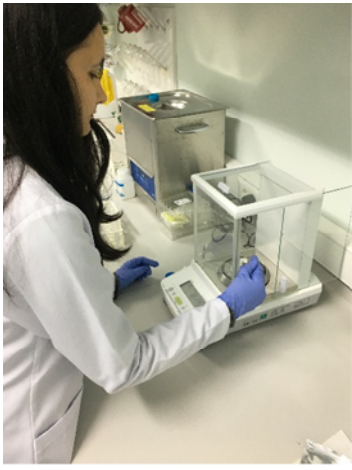
QuEChERS metodunun ekstraksiyon aşamasında gerekli olan kimyasal tartımlar bittikten sonra homojenize örnekten 15 g AP tartılıp 50 ml'lik Falcon tüpünün içine aktarılıp üzerine %1'lik AA (asetik asit) içeren 15 ml MeCN ilave edilmiştir. Ardından 1 dk vortekslenmiştir. Daha sonra 12,3 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ve 1,5 g NaAC eklenerek 1 dk daha vortekslenmiştir. Ekstraksiyon aşamasının son basamağı olarak 5000 rpm'de 5 dk santifüj edilmiştir.

Clean-up

QuEChERS yönteminin ikinci aşaması olan clean-up'ta her 1 ml ekstrakt için 50 mg PSA + 307 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (8 ml için toplam 400 mg PSA+2456 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) içeren tüpün üzerine 8 ml supernatant eklenmiştir. Ekstrakt eklendikten sonra vorteks ile 30 sn karıştırılmıştır. Clean-up işleminin son basamağında ekstrakt 6000 rpm hızında 3 dk santrifüj edilmiştir.

Kromatografi

Ekstraksiyon ve clean-up aşamaları bittikten sonra her bir GC viyale 1 ml ekstrakt mikropipet yardımıyla eklenilmiş ve LC/MS-MS cihazında analiz edilmiştir. Kromatografik analizler LC-MS/MS (Waters I Class Plus UPLC + Xevo TQ-S micro MS Detector; ESI + mode) cihazına bağlanmış Acquity UPLC BEH C₁₈ kolonu (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) sisteminde ile gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 1 µl, akış hızı 0,35 ml/dk ve toplam koşum süresi 15 dakikadır. Gradyent program olarak metanol içinde 10 mM NH₄CH₃CO₂ (B), su içinde (pH= 5) 10 mM NH₄CH₃CO₂ (A) kullanılmıştır. Chloriryfos-methyl, lambada-cyhalothrin, tebuconazole için hesaplama iyonları sırasıyla 321,88/124,93 m/z, 467,22/225,04 m/z ve 308,14/69,97 m/z olarak, doğrulama iyonları ise sırasıyla 323,99/124,93 m/z, 467,22/141,06 m/z ve 310,14/69,97 m/z olarak kullanılmıştır.



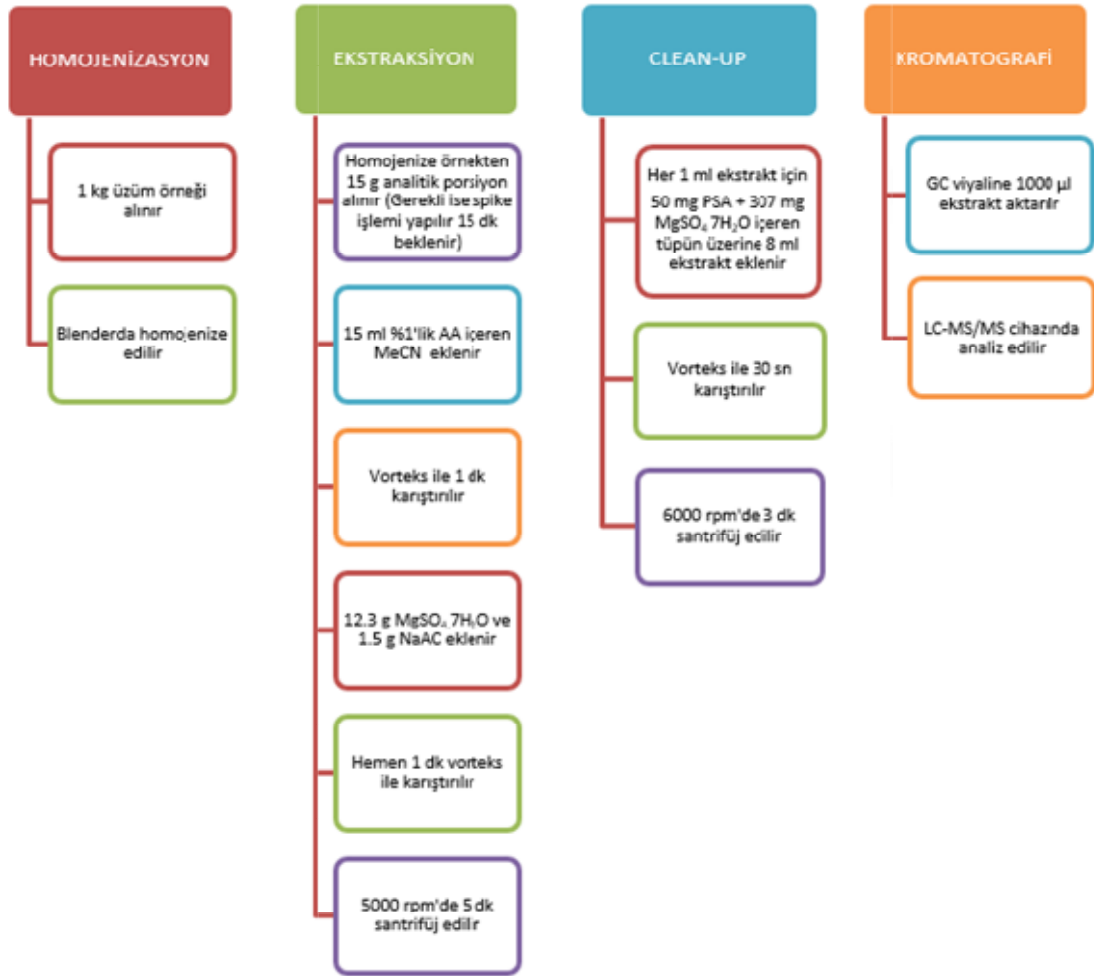
(a)



(b)

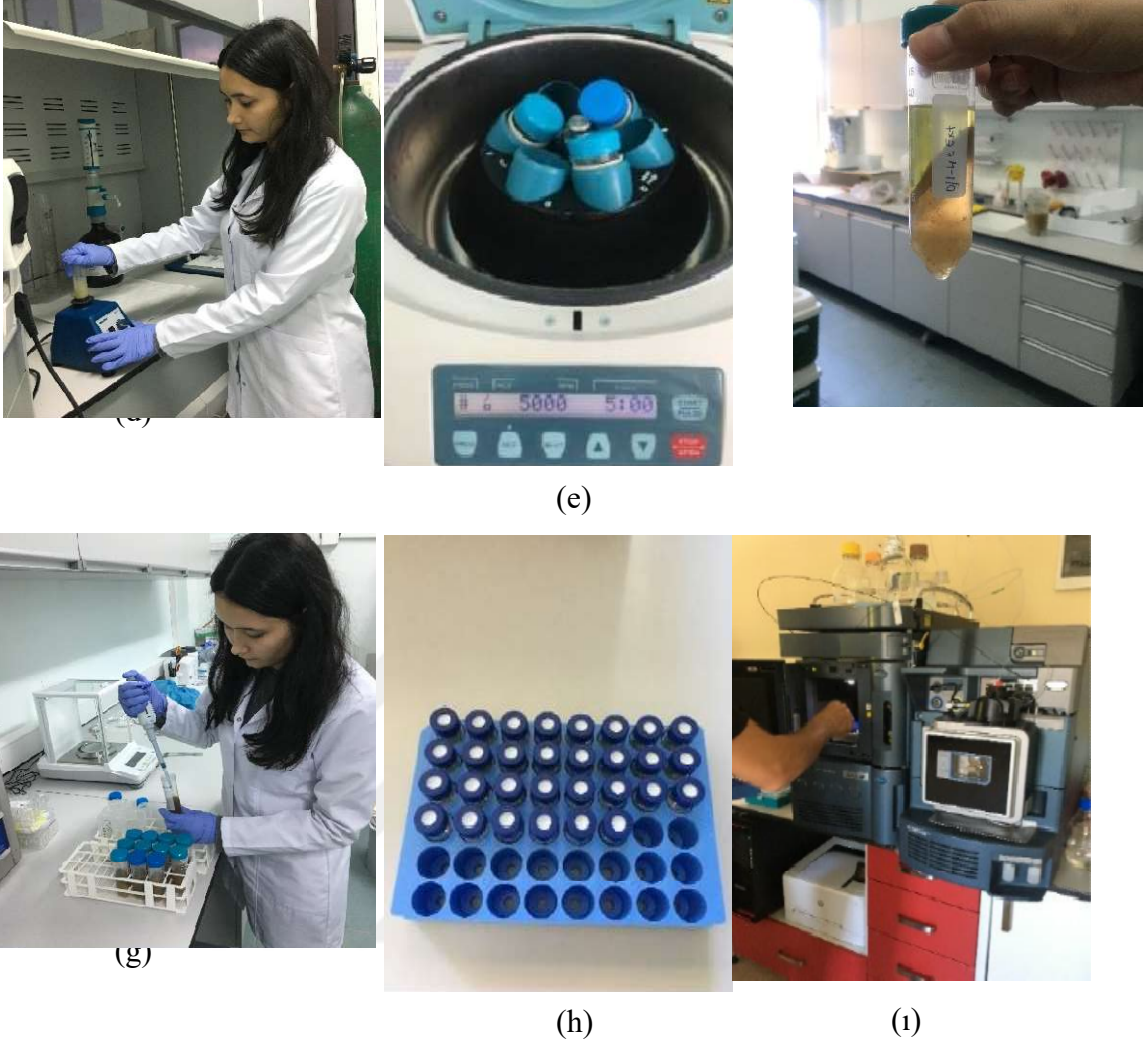


(c)



Şekil 10: Gerçek örneklerde uygulanan QuEChERS AOAC 2007.01 yönteminin analiz safhaları

Ayrıca tüm bu analiz basamaklarında uygulanan işlemler Şekil 11'de verilmiştir.



Şekil 11: kimyasalların tartımı (a), homojenizasyon (b),örnek tartımı (c), vorteksleme işlemi (d), santrifüj (e) ekstraksiyon aşaması bitmiş örnekler (f), clean-up tüpüne ekstrakt aktarımı (g), clean-up aşaması bitmiş örneklerin 1,5 ml lik cam viyale ekstrakt aktarımı (h), LC-MS/MS cihazı (i).

Farklı hasat zamanlarına göre 5 (1-5) farklı gruptan alınan numunelerdeki ortalama pestisit kalıntıları (her grup 4 asma) tablolarla desteklenerek gösterilmiştir. SAS Deneysel verilerin istatistiksel analizleri için istatistiksel yazılım kullanılmıştır. Elde edilen veriler Bonferroni düzeltmeli LSD testi yardımıyla karşılaştırılmıştır.

3.2.4. Pestisitlerin risk değerlendirmesi

Pestisitlerin risk değerlendirmeleri WHO kılavuzlarına göre yapılmıştır (WHO, 1997). Ortalama Ulusal Teorik Maksimum Günlük Alım (National Theoretical Maximum Daily Intake, NTMDI) ve % ADI değerleri Denklem 3.1 ve 3.2 ile hesaplanmıştır. Ortalama Teorik Maksimum Günlük Alım (Theoretical Maximum Daily Intake, TMDI) (mg/gün) hesaplanması %ADI miktarı ile MPI çarpımına eşittir. Ülkemizde kişi başi yıllık üzüm tüketimi 0,08 kg'dır (TÜİK, 2021). WHO (1997)'ya göre ADI değerinin %100'n aşmayan değerlere sahip olan pestisitlerin kronik maruz kalma düzeyi düşüktür. Örneğin chloryprifos-methly aktif maddesi için kalıntı miktarı, 1.gün 1008 µg/kg ile 1268,1 µg/kg arasında değişiklik göstermiş olup, Chloryprifos-methly aktif maddesinin 1.gün kalıntı ortalaması 1142,09 µg/kg olarak hesaplanmıştır. MRL değerinin oldukça üzerinde bulunmuştur. Ortalama NTMDI Denklem 3.1 ile 0,001522792 mg/gün ve Denklem 3.2 ile NEDI %15,23 olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ortalama NTMDI} \left(\frac{\text{mg}}{\text{gün}} \right) = \text{Günlük zm tüketimi} \left(\frac{\text{kg}}{\text{gün}} \right) \times \text{Ortalama pestisit kalıntısı} \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \quad (3.1)$$

$$\%ADI = \frac{\text{Ortalama NTMDI}}{\text{MPI}} \quad (3.2)$$

Benzeri şekilde bulunan en yüksek kalıntı değerleri (mg/kg) , ile ARfD değerleri kullanılarak akut maruziyet hesaplaması da (Denklem 3.3 ve 3.4) yapılmıştır (Liu vd. 2020; Malhat vd. 2021).

$$\text{TMDI} \left(\frac{\text{mg}}{\text{gün}} \right) = \frac{\left(\text{Günlük zm tüketimi} \left(\frac{\text{kg}}{\text{gün}} \right) \times \text{En yüksek kalıntı} \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right)}{60 \text{ kg}} \quad (3.3)$$

$$\text{NEDI (\%ARfD)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{gün}} \right) = \left(\frac{\text{Ortalama NTMDI}}{\text{ARfD}} \right) \times 100 \quad (3.4)$$



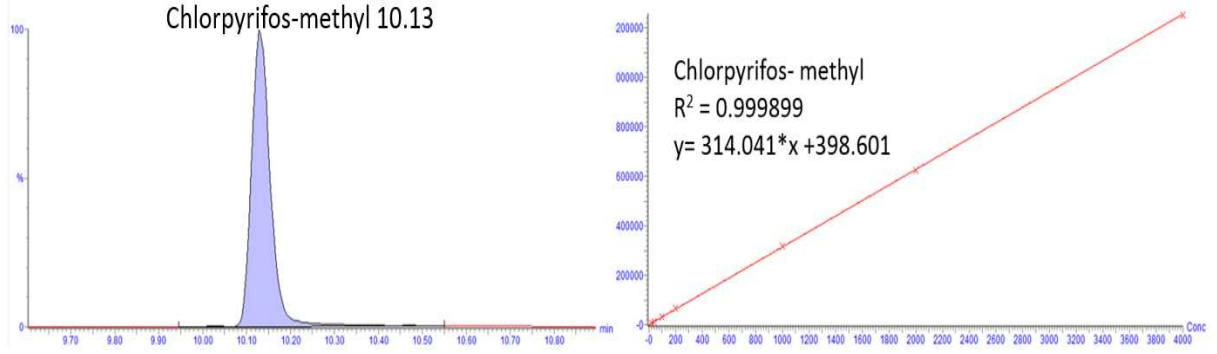
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

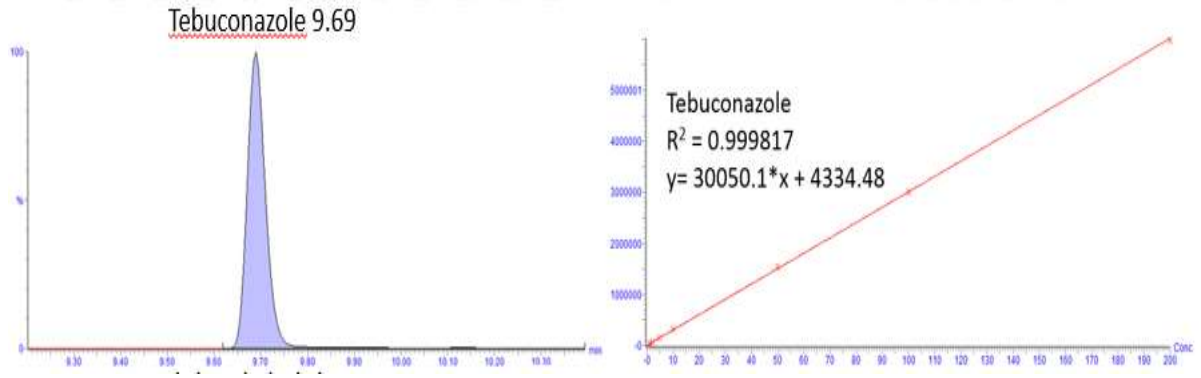
4.1. Metot doğrulama

4.1.1 Doğrusallık (Linearity)

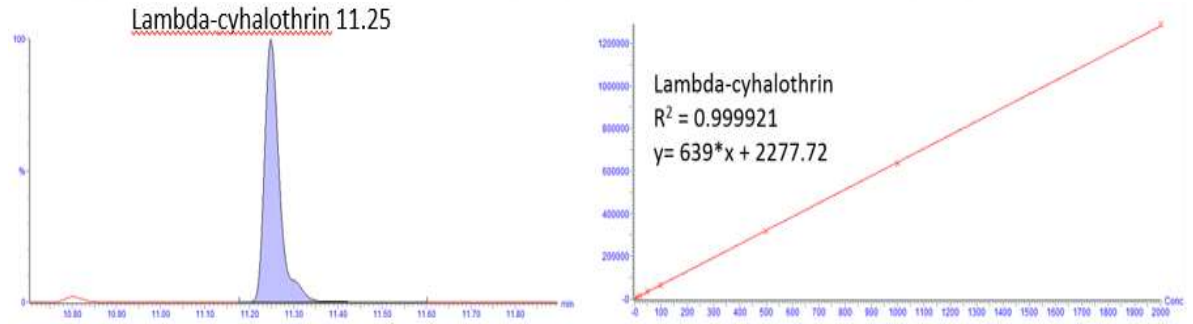
Üç farklı pestisit için kromatogramlar ve kalibrasyon eğrileri Şekil 12-14'de verilmiştir. Temsili elma matrisinde chlorpyrifos-methyl, lambda-cyhalothrin ve tebuconazole için sırasıyla kalibrasyon eğrileri 20-4000 pg/µl, 10-2000 pg/µl ve 1-200 pg/µl aralığında doğrusal olarak bulunmuştur. Tüm pestisitlerin korelasyon katsayısı $R^2 \geq 0,999$ olarak bulunmuştur. Matrisli kalibrasyon eğrilerinin regresyon denklemleri analitik fonksiyon olarak bilinir ve analitlerin miktar tayini için kullanılır (Tiryaki vd. 2008). Chlorpyrifos-methyl, lambda-cyhalothrin ve tebuconazole aktif maddelerinin kromatogramları, kalibrasyon eğrileri, regresyon denklemleri ve korelasyon katsayıları sırasıyla Şekil 12, 13 ve 14' de verilmiştir.



Şekil 12: Chlorpyrifos-methyl'in matrisli solüsyonlarda kromatogramı ve kalibrasyon eğrisi



Şekil 13: Tebuconazole'un matrisli solüsyonlarda kromatogramı ve kalibrasyon eğrisi



Şekil 14: Lambda-cyhalothrin'in matrisli solüsyonlarda kromatogramı ve kalibrasyon eğrisi

4.1.2. Kromatografik tekraredilebilirlik

Pestisit aktif maddelerinin alıkonma süreleri (Retention time, tR), $\pm 0,1$ dk tolerans ile kalibrasyon standardına uymalıdır (Brankovic vd. 2019; SANTE, 2020). Pestisitlerin kromatografik tekrarlanabilirliğini değerlendirmek için matris solüsyonları kullanılmıştır. Chlorpyrifos-methyl (20-4000 pg/ μ l aralığında) , lambda-cyhalothrin (10-2000 pg/ μ l aralığında)ve tebuconazole (1-200 pg/ μ l aralığında) için alıkonma süreleri (dakika) sırasıyla 10,13, 11,25 ve 9,69'dur. Pestisitler için kromatografik tekrarlanabilirlik, MC çözeltileri 5 tekrarlı koşum ile değerlendirilmiştir.

4.1.3. LOQ

Chlorpyrifos-methyl, lambda-cyhalothrin ve tebuconazole için LOQ değerleri sırasıyla 20, 10 ve 1 µg/kg olarak bulunmuştur. LOQ değerleri ilgili MRL değerlerinin(chlorpyrifos-methyl için 1000 µg/kg, lambda-cyhalotrin için 80 ug/kg ve tebuconazole için 500 ug/kg) altında çıkmıştır. Tablo 12’de gösterilmiştir.

4.1.4. Geri kazanım ve kesinlik

Yöntem doğruluğu ve kesinliği, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik (%RSD) ile değerlendirilmiştir (SANTE, 2019; EURACHEM, 2014)., sırasıyla 3 pestisit için geri alım oranları Tablo 12’de verilmiştir. Geri alım değeri, bulunan kalıntının spike seviyesine bölünmesi ile elde edilir. Ek Tablo 1’de tüm pestisitler için elde edilen geri alım değerleri tekerrürler bazında verilmiştir. Geri alım oranları chlorpyrifos-m için %91,28-131,40, lambda-cyhalothrin için %85,81 – 133,20 ve tebuconazole için %90,26 – 111,60 arasında değişmiştir. Geri kazanım oranları 3 pestisit için sırasıyla %114,8 (RSD= %11,0, n= 36), %108,0 (RSD= %14,1, n= 36) ve %103,0 (RSD= % 6,1, n= 36) bulunmuştur. Toplam geri kazanım %108,6 (RSD= %11,8, n=108). Bu rakamlar geri kazanım sınırları (%60-140) ve tekrarlanabilirlik için belirtilen değerler (RSD ≤ %20) dahilinde bulunmuştur (SANTE, 2020).

Hollosi vd. (2012) üzüm matrisinde tebuconazole için geri kazanım oranını %82.67 (%9.66 RSD ile) olarak bildirmişlerdir.

Turgut vd. (2010) çalışmalarında ise, chlorpyrifos-methyl için 0,01 ve 0,05 mg/kg spike seviyelerinde geri kazanım oranlarını sırasıyla, %102 (%3,0 RSD ile) ve %99 (%2,10 RSD ile) olarak bildirmişlerdir. Lambda-cyhalothrin için geri kazanım %83 (%5,45 RSD ile) olarak rapor edilmiştir. Ve toplam geri kazanım (%1,43 RSD ile) %81 olarak rapor edilmiştir

Tablo 12

Pestisitlerle 3 farklı seviyede spike edilmiş üzümelerde geri alım ve RSD değerleri ile MRL ve LOQ değerleri

	Chlorpyrifos-methyl			Lambda- cyhalothrin			Tebuconazole		
MRL, µg/kg	1000			80			500		
LOQ, µg/kg	20			10			1		
Spike seviyesi, µg/kg	100	1000	10000	8	80	800	50	500	5000
Bulunan, µg/kg	128,69	1123,23	10345,5	9,72	77,74	843,25	54,48	501,33	4983,07
Ortalama geri alım, %	128,69	112,32	103,40	121,57	97,17	105,40	108,96	100,26	99,66
SD	2,02	8,53	8,6	16,78	7,25	8,47	2,47	5,77	5,36
RSD, %	1,57	7,59	8,32	13,80	7,46	8,04	2,26	5,76	5,40
n	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Geri alım, %	91,28-131,40			85,81-133,2			90,26-111,60		
Tüm geri alım, %	114,81			108,05			102,96		
SD	12,65			15,27			6,33		
RSD, %	11,02			14,13			6,15		
n	36			36			36		
Üzüm için QuEChERS-AOAC 2007.01 metodunun (accuracy) tüm geri alımı: 108,60 % (n=108; SD=12,87; RSD%=11,85)									

Bu çalışmada bulunan sonuçlar QuEChERS AOAC 2007.01 metodunun üzümelerde pestisit analizi için doğru ve hızlı bir yöntem olduğunu göstermiştir.

4.2. Üzüm örneklerinde bulunan kalıntılar

Beş farklı hasat zamanlarına göre 5 (1-5) farklı gruptan alınan numunelerdeki ortalama pestisit kalıntıları (her grup 4 asma) Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15’de verilmiştir.

4.2.1. Chlorpyrifos-methyl

Deneme alanından 5 farklı günde hasat edilen chlorpyrifos-methyl alıntı miktarı ve SD değeri Tablo 13’de verilmiştir. Chlorpyrifos- methyl için MRL değeri 1000 µg/kg, LOQ değeri de 20 µg/kg dır, bekleme süresi ise 7 gündür. Farklı hasat zamanlarında 3 pestisite ait kalıntı durumları şematik olarak Şekil 16’da verilmiştir. Chlorpyrifos-methyl kalıntıları 1.gün numunelerinde 1142,09 µg/kg (uygulamadan 4 saat sonra) MRL değerinin üzerinde çıkmıştır. Analizlerde chlorpyrifos-methyl kalıntısı, 3.günde 697,55 µg/kg, 5. günde 71,77 µg/kg, 7. günde (chlorpyrifos-methyl için PHI) 26,43 µg/kg ve 14. günde 12,15 µg/kg olarak bulunmuştur. Chlorpyrifos-methyl kalıntı seviyelerinin hasat süresi uzadıkça kalıntı seviyelerinin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 16). 7 günlük PHI’da 1. ve 3. gün numuneleri ile , 5., 7. ve 14. gün numunelerinde istatistikî fark çıkmış ve MRL değerinden oldukça düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Örneklerin son ilaçlamanın ilk günü ve son hasat günü arasındaki fark oldukça açıktır. Bu değerler 1. gün 1000 µg/kg ın üzerindeyken, 14. gün ise bu değerîn oldukça altında bir değerdir. Yine buradan PHI faktörünün oldukça önemli olduğu da ortaya çıkmaktadır. Önceki çalışmada, Manisa ilinin çekirdeksiz üzüm bağlarından (Sultaniye üzümü) alınan iki örnekte chlorpyrifos-methyl kalıntısı MRL değerinin üzerinde çıktığı bildirilmiştir (Turgut vd. 2010)

Tablo 13

Beş farklı hasat zamanlarında Sultani Çekirdeksiz üzümde chloryprifos-methyl kalıntıları ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Tekerrür	Son ilaçlama ve hasat arasındaki süre (PHI, gün)				
	1	3	5	7	14
1 (1-4 omca arası)	1208,41 \pm 65,8 ^A	764,27 \pm 21,6 ^B	63,17 \pm 11,2 ^C	20,43 \pm 2,9 ^C	11,87 \pm 1,7 ^C
2 (5-8 omca arası)	1042,25 \pm 30,1 ^A	770,53 \pm 90,6 ^B	79,21 \pm 3,1 ^C	23,75 \pm 10,4 ^C	13,95 \pm 0,7 ^C
3 (9-12 omca arası)	1030,63 \pm 11,7 ^A	704,00 \pm 26,1 ^B	55,13 \pm 12,3 ^C	27,52 \pm 2,5 ^C	8,76 \pm 1,0 ^C
4 (13-16 omca arası)	1195,47 \pm 48,7 ^A	583,01 \pm 72,1 ^B	82,35 \pm 8,0 ^C	26,73 \pm 3,7 ^C	14,55 \pm 0,2 ^C
5(17-20 omca arası)	1233,70 \pm 55,2 ^A	665,93 \pm 30,1 ^B	78,70 \pm 6,9 ^C	33,73 \pm 2,3 ^C	11,61 \pm 0,9 ^C
Ortalama	1142,09 ^A	697,55 ^B	71,71 ^C	26,43 ^C	12,15 ^C
SD	97,50	77,36	11,89	4,94	2,28
RSD, %	8,53	11,09	16,58	18,70	18,77
AB MRL, $\mu\text{g}/\text{kg}$	1000				

Aynı satırda farklı büyük harflerle belirtilen ortalamalar önemli ölçüde farklıdır, $P \leq 0.05$

4.2.2. Lambda-cyhalothrin

Uygulama alanından 5 farklı günde hasat edilen Lambda-cyhalothrin aktif maddesinin kalıntı miktarı ve SD değeri Tablo 14’de verilmiştir. Lambda-cyhalothrin için MRL değeri 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ değeride 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dır, bekleme süresi ise 14 gündür. Farklı hasat zamanlarında 3 pestisite ait kalıntı duruları şematik olarak Şekil 16’da verilmiştir. Analizlerde lambda-cyhalothrin kalıntıları 1.gün numunelerinde 381,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (uygulamadan 4 saat sonra) MRL değerinin üzerinde çıkmıştır, 3.günde 307,39 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 5.günde 68,77 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 7.günde (lambda-cyhalothrin için PHI) 64,26 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve 14 günde 56,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur. Pestisitlerin kalıntı seviyelerinin hasat süresi uzadıkça doğru oranda azaldığı gözlenmiştir (Şekil 16). Lambda-cyhalothrin 7 günlük PHI’da 1. ve 3. gün numuneleri ile , 5., 7. ve 14. gün numunelerinin ortalama kalıntısı önemli ölçüde farklı çıkmış ve MRL değerinden oldukça düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Örneklerin

son ilaçlamanın ilk günü ve son hasat günü olan 14. gün arasındaki fark oldukça açıktır. Bu değerler 1. gün 80 µg/kg in üzerindeyken, 14. gün ise bu değerinde çokça altında bir değerdir. Yine buradan PHI faktörünün oldukça önemli olduğuna da açıklık getirilmiştir. Turgut vd. (2010) Manisa bağlarından örneklenen 4 üzümde kalıntı düzeylerinin MRL'yi aştığını bildirmiştir.

Tablo 14

Beş farklı hasat zamanlarında (n=5) Sultani Çekirdeksiz üzümde lambda- cyhalothrin kalıntıları (µg/kg)

Tekerrür	Son ilaçlama ve hasat arasındaki süre (PHI, gün)				
	1	3	5	7	14
1 (1-4 omca arası)	339,10±0,8 ^A	250,03±56,9 ^B	54,33±1,5 ^C	47,76±1,2 ^C	65,20±4,8 ^C
2 (5-8 omca arası)	499,83±83,1 ^A	378,50±2,4 ^B	59,93±4,7 ^C	65,76±7,0 ^C	51,36±5,0 ^C
3 (9-12 omca arası)	337,80±28,1 ^A	311,60±87,5 ^A	68,53±5,6 ^B	82,90±5,0 ^B	47,30±0,7 ^B
4 (13-16 omca arası)	325,40±4,4 ^A	342,86±86,5 ^A	79,06±7,2 ^B	63,93±4,3 ^B	70,26±2,0 ^B
5 (17-20 omca arası)	403,60±18,0 ^A	253,93±67,7 ^B	81,96±2,7 ^C	60,96±17,6 ^C	49,64±2,9 ^C
Ortalama	381,15 ^A	307,39 ^B	68,77 ^C	64,26 ^C	56,75 ^C
SD	73,05	55,85	11,90	12,57	10,28
RSD, %	19,16	18,17	17,30	19,56	18,11
AB MRL, µg/kg	80				

Aynı satırda farklı büyük harflerle belirtilen ortalamalar önemli ölçüde farklıdır, P ≤0.05

4.2.3. Tebuconazole

Ortalama tebuconazole kalıntı seviyesi 1. gün 650,58 µg/kg ve 3. gün 570,85 µg/kg olarak bulunmuştur (Tablo 15). Tebuconazole etken maddesinin MRL değeri 500 µg/kg'dır ve bulunan bu değerler 500 µg/kg olan MRL değerinin üzerinde çıkmıştır. Artan hasat süreleri ile kalıntılar azalmıştır (Şekil 16). Tebuconazole'un kalıntı seviyeleri 5. günde 337,06 µg/kg, 7. günde 244,78 µg/kg ve 14. günde 198 µg/kg (tebuconazole için PHI) olarak bulunmuştur.. 14 günlük PHI'da kalıntı seviyeleri MRL değerini aşmadığı

gözlemlenmiştir. 7. ve 14. gün örneklerinin ortalama kalıntısı diğerlerinden önemli ölçüde farklı çıkmıştır. Örneklerin son ilaçlamanın ilk günü ve son hasat günü olan 14. gün arasındaki fark oldukça açıktır. Bu değerler 1. gün 500 µg/kg ın üzerindeyken, 14. gün ise bu değerinde çokça altında bir değerdir. Yine buradan PHI faktörünün oldukça önemli olduğuna da açıklık getirilmiştir.7

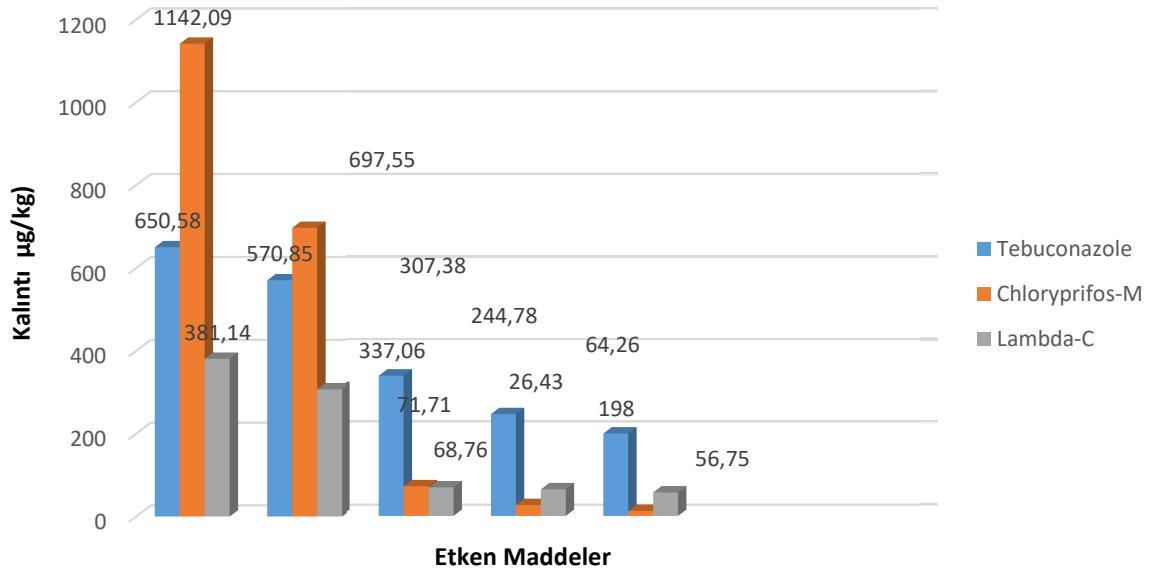
Tüm pestisitler için, 1. ve 3.gün üzüm örneklerinin kalıntı seviyeleri ile 7. ve 14. gün üzüm örneklerinde tespit edilen kalıntı seviyeleri önemli ölçüde farklı çıkmıştır. Benzer şekilde, Majed vd. (2021) 3 pestisit için PHI' lerin önemini açıkça göstermiştir.

Tablo 15

Beş farklı hasat zamanlarında (n=5) Sultani Çekirdeksiz üzümde tebuconazole kalıntıları (µg/kg)

Tekerrür	Son ilaçlama ve hasat arasındaki süre (PHI, gün)				
	1	3	5	7	14
1(1-4 omca arası)	651.10±73,8 ^A	506,10± 23,8 ^B	308,30±2,2 ^C	311,85±25,14 ^C	209,85±7,8 ^C
2 (5-8 omca arası)	609,50±42,1 ^A	620,35±46,0 ^A	355,50±40,2 ^B	283,75±11,43 ^{BC}	207,30±3,4 ^C
3(9-12 omca arası)	670,70±35,9 ^A	648,65±67,8 ^A	363,00±35,7 ^B	207,85±7,08 ^C	194.00 ±8,3 ^C
4 (13-16 omca arası)	661.00±33,5 ^A	532.20±65,8 ^B	411,40±26,4 ^C	213,10±3,65 ^D	191,10±1,5 ^D
5 (17-20 omca arası)	660,60±33,8 ^A	546,95±85,9 ^A	247,10±10,9 ^B	207,35±7,09 ^B	187,75±10.8 ^D
Ortalama	650,58 ^A	570,85 ^B	337,06 ^C	244,78 ^D	198,00 ^D
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				

Aynı satırda farklı büyük harflerle belirtilen ortalamalar önemli ölçüde farklıdır, P ≤0.05



Şekil 15: Farklı hasat zamanlarında 3 pestisit kalıntılarının şematik gösterimi

4.3. Günlük pestisit alımının risk değerlendirilmesi

Pestisitlerin risk değerlendirmeleri WHO kılavuzlarına göre yapılmıştır (WHO, 1997). Ortalama NTMDI (National Theoretical Maximum Daily Intake, Ulusal Teorik Maksimum Günlük Alım) ve % ADI değerleri Denklem 3.1 ve 3.2 ile hesaplanmıştır. Ortalama TMDI (Teorik Maksimum Günlük Alım, Theoretical Maximum Daily Intake) (mg/gün) hesaplanması %ADI miktarı ile MPI çarpımına eşittir. Ülkemizde kişi başına yıllık üzüm tüketimi 0,08 kg'dır (TÜİK, 2021). Örneğin chloryprifos-methly aktif maddesi için kalıntı miktarı, 1.gün 1008 µg/kg ile 1268,1 µg/kg arasında değişiklik göstermiş olup, Chloryprifos-methly aktif maddesinin 1.gün kalıntı ortalaması 1142,09 µg/kg olarak hesaplanmıştır. MRL değerinin oldukça üzerinde bulunmuştur. Ortalama NTMDI 0,0015 mg/gün ve NEDI %15,23 olarak hesaplanmıştır. Denklem 3.3 ve 3.4 ile de akut risk (%ARfD) 1,69 olarak hesaplanmıştır.

4.3.1. Chlorpyrifos-methyl

MRL'yi aşan chlorpyrifos-methyl, 1. günde 1008 ve 1268,1 µg/kg arasında değişmiştir. Chlorpyrifos-methyl için toplam ortalama kalıntı ise 1142,09 µg/kg, ortalama NTMDI 0,0015 mg/gün ve kronik risk (NEDI, %ADI) %15,23 olarak hesaplanmıştır. Denklem 3.3 ve 3.4 ile de akut risk (%ARfD) % 16,91 olarak hesaplanmıştır.

4.3.2. Lambda-cyhalothrin

MRL'yi aşan lambda-cyhalothrin kalıntıları 1. günde 321,20 ile 563,30 µg/kg arasında değişmiştir. Toplam ortalama kalıntı seviyesi 381,15 µg/kg, ortalama NTMDI 30,49 µg/gün ve NEDI %20,33 olarak hesaplandı. MRL'yi aşan lambda-cyhalothrin kalıntıları 3. günde 176,20 ile 437,5 µg/kg arasında değişmiştir. Toplam ortalama kalıntı seviyesi 307,39 µg/kg, ortalama NTMDI 0,0004 mg/gün ve kronik risk (NEDI, %ADI) %16,39 olarak hesaplanmıştır. Denklem 3.3 ve 3.4 ile de akut risk (%ARfD) % 23,33 olarak hesaplanmıştır.

4.3.3. Tebuconazole

MRL'yi aşan tebuconazole kalıntıları, 1. günde 565,9 ile 733,2 µg/kg arasında değişmiştir. Toplam ortalama kalıntı seviyesi 0,65058 mg/kg, ortalama NTMDI 0,00087 mg/gün ve NEDI %2,90 olarak hesaplanmıştır 3. günde tebuconazole kalıntıları 480,66 ile 700,98 µg/kg arasında değişmiştir. Toplam ortalama kalıntı seviyesi 0,57085 mg/kg ortalama NTMDI 0,0008 mg/gün ve kronik risk (NEDI, %ADI) %2,53 olarak hesaplanmıştır. Denklem 3.3 ve 3.4 ile de akut risk (%ARfD) %3.11 olarak hesaplanmıştır.

Benzer şekilde, Cesnik vd. (2008) üzümde chlordan, lambda-cyhalothrin ve tebuconazole kalıntıları için günlük risk değerlendirmeleri yapmışlardır ve MRL'yi aşan kalıntıların herhangi bir sağlık riski oluşturmadığını belirtmişlerdir.



BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Tarımsal üretimde kullanılan pestisitler, mahsülün korunmasında, iyileştirilmesinde önemli bir role sahiptir. Pestisitlerin bu rolünün yanı sıra insan sağlığı ve çevreye etkisi açısından risk taşırlar. Bu çalışma Manisa ilinin Sarıgöl ilçesinde denemesi kurulan bir bağ alanından, (chlorprifos-methyl, lambda-cyhalotrin, tabuconazole) pestisit uygulamaları yapılan üzüm örnekleri alınarak pestisit kalıntıları araştırılmış ve de pestisitlerin bekleme süreleriyle olan ilişkileri değerlendirilmiştir.

Metot verifikasyon çalışması ile QuEChERS AOAC 2007.01 analitik yönteminin üzümdeki pestisit kalıntılarının hızlı ve doğru bir şekilde saptanmasını sağlayabileceği sonucuna varılmıştır. QuEChERS yönteminin her 3 pestisit için genel geri kazanımı, %11,8 (n= 108) nispi standart sapma (RSD) ile %108,6 olmuştur. Bu rakamlar geri kazanım limitleri (%60-140) ve tekrarlanabilirlik için belirtilen değerler ($RSD \leq \%20$) dahilindedir. Üç pestisit kalibrasyon eğrileri ($R \geq 0,999$) doğrusal bulunmuştur

Çalışmada, 1. ve 3. gün üzüm örneklerinde MRL'yi aşan lambda-cyhalothrin (80 µg/kg) ve tebuconazole (500 µg/kg) kalıntıları tespit edilmiştir. MRL'yi aşan chlorprifos-methyl kalıntı seviyeleri (1000 µg/kg) sadece 1. gün numunelerinde tespit edilmiştir. Örneklerin hiçbiri, pestisitlerin PHI' sında MRL'yi aşan kalıntılar içermemiştir. Araştırmamızda hasat dönemi ilerledikçe pestisitlerin kalıntılarında belirli miktarlarda düşüş gözlemlenmiştir Bir mahsule bir pestisit uygulandığında, tavsiye edilen PHI' ya kesinlikle uyulması gerektiği sonucuna varılabilir. Mevcut günlük risk değerlendirmeleri, hesaplanan tayin analizine göre MRL'yi aşan kalıntıların herhangi bir sağlık riski oluşturmadığını ortaya koymuştur. Her 3 pestisit için akut risk oranı kronik riske göre daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmada, sadece üzümde pestisit kalıntıları araştırılmıştır, ancak asma yaprakları Türkiye'de yaygın olarak asma yaprağı olarak tüketildiğinden, asma yapraklarında bu tür kalıntıların araştırılması için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir

Çalışma kapsamında kalıntısı bulunan pestisitlerin, pestisit alımı risk değerlendirilmesi de yapılmıştır. Günlük meyve tüketimi, ortalama pestisit kalıntıları

verilerinden pestisit riski %ADI olarak hesaplanmıştır. Kronik maruziyet WHO (1997) yaklaşımı ile yapılan hesaplamalar sonucunda üzüm tüketiminde pestisitlere herhangi bir maruziyet riski her 3 pestisit için de bulunmadığı belirtilebilir. Akut risk değerlendirmesi ise ARfD ve en yüksek kalıntı verilerinden hesaplanmıştır. Bu değerlendirmede de maruziyet riski her 3 pestisit için de bulunmadığı belirtilebilir. Ancak risk maruziyet değerlendirmesi daha geniş veri grubu ile yapıldığında daha sağlıklı sonuçlar elde edilebilecektir



KAYNAKÇA

- Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D. ve 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’’. *Journal of AOAC International*. 86, 412-431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
- Anastassiades, M., Scherbaum, E., Tsdelen, B. ve Stajnbaher, D. (2007). Wiley-VCH, weinheim in: Ohkawa H., Miyagawa H., Lee P.W. (Eds.). ‘‘Crop protection’’, *Public Health, Environmental Safety*. Germany. 439 p.
- Akar, Y. (2018). ‘‘Çekirdeksiz sofralık üzümlerde pestisit kalıntılarının belirlenmesi’’. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28, 4, 444-447.
- Anonim, (2019). Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyon Rehberi. Erişim adresi: https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Kont/Kimyasal_Fiziksel_Val_Ver_Rehberi.pdf.
- Anonim, (1999). Guidelines for Single-laboratory Valitadion of Analytical Methods for Trace-level Concentrations of Organic Chemicals AOOC/FAO/IAEA/IUPAC Expert Consultation Meeting, Milkolc, Hungary, 8-11 November,1999. Erişim adresi: http://www.iaea.org/trc/pest-qa_val_guide.pdf
- Anonim, (2020). Dünya gazetesi. Erişim adresi: <https://www.dunya.com/sectorler/tarim/9-tarim-ilacina-daha-yasak-7-tanesine-kisitlama-getirildi-haberi-477387>
- Anonim, (2021). Tarfin. Erişim adresi: <https://tarfin.com/blog/uzum-yetistiriciligi-nasil-yapilir> (Erişim tarihi: 28.04.2022)
- Anonim, (2021). Pestisit Tanımı. Erişim adresi: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/185361/mod_resource/content/1/Konu%204.pdf. (Erişim tarihi: 02.03.2022)
- Anonim, (2022). Gıdalarda pestisit kalıntıları nedir?. Erişim adresi: <https://bioeasy.com.tr/gidalarda-pestisit-kalintilari-nedir/>

- AOAC, (2007). AOAC Official Method 2007.01 Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate. Erişim adresi: https://nucleus.iaea.org/sites/fcris/Shared%20Documents/SOP/AOAC_2007_01.pdf
- Bioletti, T. (1918). ‘‘The seedless raisin grapes’’. *Bulletin of the California Agricultural Experimental Station*, 298, 86. (Erişim tarihi: 17.04.2022)
- BKÜ, (2021). T. C. Tarım ve Orman Bakanlığı. Bitki Koruma Ürünleri Veri Tabanı. Erişim: 10.12.2021, <https://bku.tarimorman.gov.tr/>
- Branković, M., Anđelković, D., Kocić, H. ve Kocić, G. (2019). ‘‘Assessment of GC–MS response of selected pesticides in apple matrices related to matrix concentration’’. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. Volume 54(5). DOI:10.1080/03601234.2019.1571367.
- CAC, (2019). Representative commodities/samples for validation of analytical procedures for pesticide residues. In Codex Alimentarius Commission Guidelines on good laboratory practice in pesticide residue analysis. CAC/GL 40-1993. Erişim adresi: http://www.fao.org/input/download/standards/378/cxg_040e.pdf.
- Cangi, R., Yağcı, A., (2017). ‘‘Bağdan sofraya yemelik asma yaprak üretimi’’. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6, 137-148. <https://doi.org/10.17100/nevbiltek.288316>.
- Cesnik, B. H., Gregorcic A., Cus F. (2008). ‘‘Pesticide residues in grapes from vineyards included in integrated pest management in slovenia’’. *Journal Food Additives & Contaminants*, Part A. 25(4): 438-443
- Cus, F., Cesnik, B. H., Bolta, V. S., Gregorcic, A. (2010). ‘‘Pesticide residues in grapes and during vinification process’’ *Food Control*, 21(11): 1512-1518.
- Çatak, H. ve Tiryaki, O. (2019). Validation of QuEChERS method for the analyses of acetamiprid, chlorpyrifosand formetanate hydrochloride residues in cucumbers, *Ist 56 International Erciyes Agriculture, Animal and Food Sciences Conference (AGANFOS-2019)*, Kayseri, TÜRKİYE, 24-27 Nisan 2019. Abstract Book, pp.17-17.
- Çetinkaya-Açar, Ö. (2015). Pestisit analizleri eğitim notu. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Kalıntı/Pestisit Birimi

- Çetinkaya-Açar, Ö. ve Diler, F. (2018). T.C Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı pestisit analizleri için metot validasyonu ve ölçüm belirsizliği hesaplanması. Erişim adresi: [https://kms.kaysis.gov.tr/\(X\(1\)S\(sb4li40ubweho5snkpraze5n\)\)/Home/Goster/58442?AspxAutoDetectCookieSupport=1](https://kms.kaysis.gov.tr/(X(1)S(sb4li40ubweho5snkpraze5n))/Home/Goster/58442?AspxAutoDetectCookieSupport=1)
- Delen, N., Tiryaki, O., Türkseven, S. ve Temur C. (2015). ‘‘Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları, çözüm önerileri’’, TMMOB-Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi, 12-16 Ocak 2015, Ankara, Bildiriler Kitabı-2, 758-778
- Durmaz, A., Tiryaki, O. (2018). ‘‘Elmalarda chloryprifos’un QuEChERS analiz yöntemi ile metot validasyonu’’. *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4, 2, 33-45. Bildiri özetleri, 227.
- Dülger, H., Tiryaki O. (2021). ‘‘Verification of An Efficient Method for the Determination of Some Pesticide Residues in Nectarine and Peach’’. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 10, 1, 69-76. <https://doi.org/10.33202/comuagri.1006612>
- EC, (2002). Commission Directive 2002/63/EC of 11 July 2002 Establishing community methods of sampling for the official control of pesticide residues in and on products of plant and animal origin and repealing. Erişim adresi: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002L0063&from=E>
- Edder, P., Ortelli, D., Viret, O., Cognard, E., Montmollin, A., Zali O. (2009). ‘‘Control Strategies Against Grey Mould (Botrytis Cinerea Pers.: Fr) and Corresponding Fungicide Residues in Grapes And Wines’’. *Journal Food Additives & Contaminants: Part A*, 26(5): 719-725.
- EFSA, (2022). Scientific Report of EFSA. Erişim Adresi: <https://www.efsa.europa.eu/en/about/howwework>
- EURACHEM, (2014). The Fitness for Purpose of Analytical Methods -a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second Edition, ISBN 978-91-87461-59-0. Erişim adresi: <http://www.eurachem.org>
- 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.

- FAO, (2021). Erişim tarihi: 14.08.2021, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Hollosi, L., Mittendorf, K., Şenyuva, Z. H. (2012). "Coupled turbulent flow chromatography: LC-MS/MS Method for the analysis of pesticide residues in grapes". *Baby Food and Wheat Flour Matrices*. *Chromatographia*. 75, 1377-1393.
- Liu, Y., Liu, S., Zhang Y., Qin, D., Zheng, Z., Zhung, G., Lv, Y., Liu, Z, Dong, Z., Liao, X., Li, X. (2020). "The degradation behaviour, residues distribution, and dietary risk assessment of malathion on vegetables and fruits in China by GC-FPD". *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106754>
- Luke, M.A., Froberg, J.E. ve Masumotoi, H.T. (1975). "Extraction and clean-up of organochlorine, organosphosphate, organonitrogen and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography". *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 58(5), 1020-1026. <https://doi.org/10.1093/jaoac/58.5.1020>
- Lehotay, S.J., Mastovska, K. ve Lightfield, A.R. (2005). "Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables". *Journal of AOAC International*. 88(2), 615-629. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.2.615>
- Malhat, F., Abdallah, O., Ahmed, F., Salam, S-A., Anagnostopoulos C., Ahmed, M-T. (2020). "Dissipation behavior of thiophanate-methyl in strawberry under open field condition in Egypt and consumer risk assessment". *Environmental Science and Pollution Research*. 28,1029–1039. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10186-4>
- Majed, L., Hayar, S., Zeitoun, R., Maestroni, B-M., Dousset, S. (2021). "The effects of formulation on imidacloprid dissipation in grapes and vine leaves and on required pre-harvest intervals under Lebanese climatic conditions". *Molecules*, 27, 252. DOI: 10.3390/molecules27010252.
- Nalcı, T., Dardeniz, A., Polat, B., Tiryaki, O. (2018). "Erkenci Ve Orta Geç/Son Turfanda Üzüm Çeşitlerinin Pestisit Kalıntı Miktarlarının QuEChERS Analiz Yöntemi İle Belirlenmesi". *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6, 39-44.
- Ömeroglu, P.Y., Boyacioglu, D., Ambrus, A., Karaali, A. ve Saner, S. (2012)." An Overview on steps of pesticide residue analysis and contribution of the individual

steps to the measurement uncertainty”. *Food Analytical Methods*. 5(6), 1469-1480.
<https://doi.org/10.1007/s12161-012-9396-4>

Polat, B. ve Tiryaki, O. (2019). “Determination of some pesticide residues in conventional-grown and IPM-grown tomato by using QuEChERS method”. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 54(2):112-117. Doi no: 10.1080/036012323.2818.1531663.

Polat, B. ve 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.*, 55,1-10. <https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1660563>.

PubChem, (2022). National Center for Biotechnology Information. Erişim adresi: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/213013>

PPDB, (2022). Pesticide Properties Database Erişim adresi: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>

Rose, G., Lane, S., Jordan, R. (2009). “The fate of fungicide and insecticide residues in australian wine grape by-products following field application”. *Food Chemistry*. 117(4): 634-640.

SANCO, (2004). Quality Control Procedures for Pesticide Analysis. Document No: SANCO/10476/2003; 5/February/2004/. Erişim adresi: https://food.ec.europa.eu/system/files/2021-10/pesticides_aas_guidance_annex2_10328-2004.pdf

SANTE, (2020). Guidance Document on Pesticide Analytical Methods for Risk Assessment and Post-approval Control and Monitoring Purposes SANTE/2020/12830, Rev.1. Erişim Adresi: https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-02/pesticides_mrl_guidelines_2020-12830.pdf

SANTE, (2021). Guidance SANTE 11312/2021 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Erişim adresi: <https://www.accredia.it/documento/guidance-sante-11312-2021-analytical->

[quality-control-and-method-validation-procedures-for-pesticide-residues-analysis-in-food-and-feed/](#)

SAS (1999). Institute. SAS V8 User Manual, Cary, NC.

Thompson, M., Ellison, S.L.R. ve Wood, R. (2002). ‘‘Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis’’. *Pure Appl. Chem.* 74 (5), 835–855. <https://doi.org/10.1351/pac200274050835>

Tiryaki, O. (2006). ‘‘Method validation for the analysis of pesticide residues in grain by thinlayer chromatography’’. *Accreditation and Quality Assurance*. ISSN: 0949-1775, 11(10), 506-514. <https://doi.org/10.1007/s00769-006-0171-3>

Turgut, C., Örnek, H., Cutright, J. T. (2010). ‘‘Determination of pesticide residues in turkey’s table grapes: the effect of integrated pest management, organic farming, and conventional farming’’. *Environmental Monitoring*, 173, 315-323. DOI: 10.1007/s10661-010-1389-4.

Türkiye İstatistik Kurumu, TÜİK, (2021). Erişim : <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>

Türkiye İstatistik Kurumu, TÜİK, (2022). Erişim : <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>

Tiryaki, O., Baysoyu, D., Seçer, E. ve Aydın, G. (2008). ‘‘Testing the stability of pesticides during sample processing for the chlorpyrifos and malathion residue analysis in cucumber including matrix effects’’. *Bull of Environ Contam Toxicol*, 80(1), 38-43. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9308-2>

Tiryaki, O. (2017). Pestisit kalıntı analizlerinde kalite kontrol ve (QC) ve kalite güvencesi (QA). NOBEL Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık TİC. LTD. ŞTİ. Yayın no: 1697, Fen Bilimleri No: 129, ISBN: 978-605-320-604-0 2. Basım Mart 2017

Türköz, G., Hışıl, Y. (2018). ‘‘Yaş üzümde pestisit kalıntılarının GC [Çoklu-Dedektörlere(μ -ECD, MSD, Dual-FPD) sahip gaz kromatografisi] ile çoklu kalıntı tayini için analiz yönteminin geliştirilmesi’’. *Dokuz Eylül Üniversitesi-Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*. 20, 60. DOI: 10.21205/deufmd.2018206069.

- Türköz, G., Çınar E., Karakaya S. (2019).’’Manisa ilinde toplanan asma yapraklarında pestisit kalıntıları’’. Akademik Gıda Dergisi, 17(1), 55-60. DOI : 10.24323/akademik-gida.544073
- Tarım ve Orman Bakanlığı, (2021). Tarım Ürünleri Piyasa Raporu. Erişim: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%203%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2021-Haziran%20Tar%C4%B1m%20%203%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/%C3%9Cz%C3%BCm,%20Haziran-2021,%20Tar%C4%B1m%20%203%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasa%20Raporu,%20TEPGE.pdf> (Erişim tarihi: 13.04.2022)
- U.S. Department Of Agriculture, USDA, (2022). Erişim: <https://www.usda.gov/>
- World Health Organization, WHO, (1997). Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues. Retrieved March 26, 2021, from https://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/pesticide_en.pdf?ua=1
- Yiğit, N., Öktem, A., Yentür, G. (2012). ‘‘Bazı meyve ve sebzelerde pestisit kalıntılarının analizinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile çoklu kalıntı analiz metodunun geliştirilmesi’’. *Bitki Koruma Bülteni*. 52(4): 375-394.

EKLER

Ek Tablo 1

Üzüm için etken maddelerin üç farklı spike seviyesinde bulunan geri alım, SD ve RSD değerleri

	Fortification mg/kg	Kod	Found ppb= μ g/kg	Recovery %	SD	RSD%	Doğruluk %
Chlorpyrifos-m	0,1 mg/kg = 100 μ g/kg	F1/1 Ort.	127,9	127,9	1,2	0,9	127,9
		F1/2 Ort.	129,6	129,6	2,5	1,9	129,6
		F1/3 Ort.	127,5	127,5	2,4	1,9	127,5
		F1/4 Ort.	129,8	129,8	1,6	1,3	129,8
		F1 Ort.	128,7	128,7	2,0	1,6	128,7
	1 mg/kg = 1000 μ g/kg	F2/1 Ort.	1078,7	107,9	1,8	1,6	107,9
		F2/2 Ort.	1011,6	101,2	0,8	0,8	101,2
		F2/3 Ort.	1202,8	120,3	1,1	1,0	120,3
		F2/4 Ort.	1183,3	118,3	6,9	5,9	118,3
		F2 Ort.	1123,2	112,3	8,5	7,6	112,3
	10 mg/kg = 10000 μ g/kg	F3/1 Ort.	9913,8	99,1	5,0	5,0	99,1
		F3/2 Ort.	9498,8	95,0	5,2	5,5	95,0
		F3/3 Ort.	10683,2	106,9	6,6	6,1	106,9
		F3/4 Ort.	11267,1	112,7	5,6	5,0	102,8
		F3 Ort.	10340,5	103,4	8,6	8,3	103,4
Geri alımların ortalaması				114,8	12,6	11,0	
, Tebucanozole	0,05 mg/kg = 50 μ g/kg	F1/1 Ort.	55,6	111,3	0,4	0,4	111,3
		F1/2 Ort.	52,7	105,4	0,9	0,8	105,4
		F1/3 Ort.	55,4	110,8	0,3	0,3	110,8
		F1/4 Ort.	542,	108,4	0,2	0,2	108,4
		F1 Ort.	54,5	109,0	2,5	2,3	109,0
	0,5 mg/kg = 500 μ g/kg	F2/1 Ort.	495,6	99,1	0,1	0,1	99,1
		F2/2 Ort.	466,9	93,3	0,4	0,4	93,4
		F2/3 Ort.	543,8	108,7	1,0	0,9	108,7
		F2/4 Ort.	499,1	99,8	0,9	0,9	99,8

Ek Tablo 1'in devamı

	F2 Ort.	501,3	100,3	5,8	5,8	100,2	
	F3/1 Ort.	5136,6	102,7	5,8	5,7	102,7	
5	F3/2 Ort.	4758,1	95,2	7,7	8,1	95,2	
mg/kg=	F3/3 Ort.	4958,1	99,2	1,4	1,5	99,2	
5000	F3/4 Ort.	5079,4	101,6	3,6	3,6	101,2	
µg/kg	F3 Ort.	4983,1	99,7	5,4	5,4	99,7	
	Gerı alımların ortalaması		103,0	6,3	6,1		
Lambda-cyhalothrin	F1/1 Ort.	9,9	123,6	31,2	25,2	123,6	
	0,008	F1/2 Ort.	9,5	118,2	13,1	11,1	118,2
	mg/kg=	F1/3 Ort.	10,0	124,5	8,6	6,9	124,5
	8 µg/kg	F1/4 Ort.	9,6	120,0	17,0	14,2	120,0
		F1 Ort.	9,7	121,6	16,8	13,8	121,6
		F2/1 Ort.	79,8	99,7	1,8	1,9	99,7
	0,08	F2/2 Ort.	70,3	87,5	1,9	2,2	87,8
	mg/kg=	F2/3 Ort.	83,6	104,5	1,0	0,9	104,5
	80 µg/kg	F2/4 Ort.	77,3	96,6	7,7	8,0	96,6
		F2 Ort.	77,7	97,2	7,2	7,5	97,2
		F3/1 Ort.	852,6	106,6	8,3	7,8	106,6
	0,8	F3/2 Ort.	813,6	101,7	11,7	11,5	101,7
	mg/kg=	F3/3 Ort.	816,0	102,0	3,9	3,9	102,0
	800	F3/4 Ort.	890,8	111,3	9,0	8,1	111,3
	µg/kg	F3 Ort.	843,2	105,4	8,5	8,5	105,4
		Gerı alımların ortalaması		108,0	15,3	14,1	