



BURSA SİYAHİ İNCİRİNDE (*Ficus carica L.*) ETHEPHON'UN METABOLİTİ OLAN 2-HYDROXYETHYL PHOSPHONIC ACID'E (HEPA) DÖNÜŞÜM SÜRECİNİN VE KALINTI DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İsmail AZAR* Hakan TOSUNOĞLU** Nurdan AKBAŞ*** Altan DENİZ****

ÖZET

Bu çalışmada, Bursa Siyahı İncirinde (*Ficus carica L.*) erken olgunlaşmayı sağlamak amacıyla ruhsatsız olduğu halde kullanıldığı bilinen Ethephonun, metaboliti HEPA'ya (2-Hydroxyethyl Phosphonic Acid) dönüşüm sürecinin belirlenmesi ve mevcut kalıntı durumunun tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Bursa'nın iki köyünde 4 incir ağacına 1500 mg/L dozunda Ethephon uygulanmış, bu ağaçlardan alınan örnekler periyodik olarak analiz edilmiştir. Uygulamanın 14.gününde incirler toplanarak 4°C'de muhafazaya alınmış ve analizlere bu örneklerden günasırı olarak devam edilmiştir. Yapılan analizlerde Ethephon miktarı ilk güne kıyasla 19. gün % 91 oranında azalmıştır. HEPA oluşumu yalnızca bir köyden alınan örneklerde gözlenmiştir. İlk olarak 17. gün 16,20 µg/kg düzeyinde HEPA tespit edilmiş, 24. gün ise bu miktar 47,30 µg/kg olarak bulunmuştur.

Çalışma incire uygulanan Ethephonun HEPA'ya dönüştüğünü göstermiştir. Ancak taze incirin raf ömrü süresince Ethephonun tamamının HEPA'ya dönüşmediği, ana bileşik Ethephon'un da bulunmaya devam ettiği gözlenmiştir. Bu durum, taze incirde Ethephon kalıntısının tespiti için yalnızca ana bileşiğin analizinin yeterli olduğu, HEPA analizinin ise doğrulayıcı bir parametre olarak değerlendirilebileceği kanaatini oluşturmaktadır.

Bursa bölgesindeki kalıntı durumunun tespiti için incelenen 572 örneğin analizi sonucunda 10 örnekte 95-1320 µg/kg arasında değişen miktarlarda Ethephon kalıntısı tespit edilmiştir. Bu miktarlar Avrupa Birliği mevzuatında bulunan 50 µg/kg MRL düzeyini aşmıştır. Bu örneklerin hiçbirinde HEPA tespit edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Ethephon, HEPA, Bursa Siyahı, İncir, Kalıntı, LC-MSMS

RESEARCH ON THE CONVERSION OF ETHEPHON TO ITS METABOLITE 2-HYDROXYETHYL PHOSPHONIC ACID (HEPA) AND RESIDUE LEVELS IN "BURSA SİYAHİ" FIG (*Ficus carica L.*)

ABSTRACT

In this study, it was aimed that the determination of degradation process of Ethephon which is known to be used to promote early ripening in Bursa Siyahı Fig (*Ficus carica L.*), although it has no licence for this commodity, to its metabolite HEPA and the determination of present residue levels.

For this purpose, 1500 mg/L Ethephon was applied to 4 fig trees in two villages in Bursa and the samples from those trees were analysed periodically. Figs were harvested on the day 14 after the Ethephon application, stored at 4°C and analysed every other day. The amount of Ethephon on the day 19 were decreased 91% in comparison with the first day. HEPA was determined in the samples from only one village. For the first time, on the day 17 of the application, HEPA was determined in the level of 16,20 µg/kg, and on the day 24 residue level of HEPA increased to 47,30 µg/kg.

The findings from this study showed that Ethephon decomposed to HEPA. However, it was observed that ethephon residue did not completely decompose to HEPA during the shelf life of fresh fig and the main compound Ethephon as well as HEPA was keeping on present. Therefore it can be said that analysis of main compound is enough to determine the Ethephon residue in fresh figs and analysis of HEPA as for that might be a confirmative parameter.

Ethephon residue levels were 95 µg/kg to 1320 µg/kg in 10 of 572 samples that were harvested from Bursa region for establishing the current situation. These levels are much more than EU Regulation limit which is 50 µg/kg MRL. HEPA couldn't have been determined in any of these samples.

Keywords: Ethephon, HEPA, Bursa Siyahı, Fig, Residue, LC-MSMS.

* Zir. Yük. Müh.- Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü - BURSA

** Biyoloji Bilim Uzmanı- Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü - BURSA

*** Zir. Yük. Müh.- Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü - BURSA

**** Laborant- Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü - BURSA

1. GİRİŞ

Bursa Siyahı İnciri iç tüketimin yanı sıra yaş meyve sebze ihracatımızda önemli yer tutan ve özellikle Avrupa Birliği ülkelerinde tercih edilen bir üründür. Ancak bu üründe üreticilerin kendi ürünlerini pazara erken sürüp yüksek fiyat avantajı sağlamak amacıyla ruhsatlı olmadığı halde Ethephon kullandıkları bilinmektedir.

Ethephon (2-Chloroethyl phosphonic acid) sistemik etkili bir bitki gelişimini düzenleyicidir. Renksiz katı formda olup molekül formülü $C_2H_6ClO_3P$, molekül ağırlığı 144.5'dir. Ethephonun başlıca parçalanma ürünleri etilen gazı ve uçucu olmayan 2-hydroxyethyl phosphonic acid (HEPA) dir (EFSA Scientific Report, 2008).

İnsan sağlığına Ethephonun etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda ciltte ve gözde tahriş edici etkiye sahip olduğu (Tomlin, 1994) fakat herhangi bir genotoksik yada norotoksik hasara sebep olmadığı belirtilmektedir. Yapılan toksikolojik çalışmalarda HEPA'nın Ethephonun kendisinden daha toksik olduğu yönünde bir görüş hakim olduğu için tüketiciler açısından risk değerlendirmesine dahil edilmiştir (EFSA Scientific Report, 2008).

Ethephon; hasat öncesi elma, Frenk üzümü, böğürtlen, yaban mersini, vişne, turunçgiller, incir, domates, şeker pancarı ve kahvede olgunlaşmayı hızlandırmak için kullanılır. Ayrıca Frenk üzümü, kiraz ve Bektaşî üzümünde meyve sapını gevşeterek hasatın kolaylaştırılmasını sağlamak, genç elma ağaçlarında çiçek tomurcuk gelişimini arttırmak, tahıllar mısır ve ketende duraklamayı önlemek, fulya ve nergiste sap uzunluğunu azaltmak, ananasta çiçeklenmeyi sağlamak ve olgunlaşmayı düzenlemek, pamukta tohum kabuğunun açılmasını hızlandırmak, salatalıklarda meyve tutumu ve verimini arttırmak amacıyla kullanılır (Tomlin, 1994).

Ülkemizde mevcut mevzuata göre; Ethephon sadece domates ve pamukta ruhsatlandırılmıştır ve izin verilen maksimum kalıntı miktarı domateste 1 mg/kg ve pamuk tohumunda 2 mg/kg'dır. İncirde Ethephon kullanımı ruhsatlandırılmamıştır (TGK Tebliğ No:2009/62, 2009). Avrupa Birliği ilgili mevzuatında yer alan ürün gruplarından incirde izin verilen maksimum Ethephon değeri 0.05 mg/kg'dır.

Tahıllar üzerinde yapılan bir çalışmada, tahılların yenilebilir kısımlarında (danede) Ethephon ve HEPA miktarı birbirine yakın düzeylerde tespit edilmiştir. Zamanla HEPA miktarında göreceli olarak artış gözlenmiştir. Bu nedenle, Ethephonun meyve olgunlaştırma ajanı olarak kullanıldığı örneğin; domates, kiraz ve ananaslarda HEPA'nın hasatta, hatta hasat sonrasında daha da artan miktarlarda mevcut olabileceği sonucuna varılmıştır (EFSA Scientific Report, 2008).

Buğday, domates ve ananas üzerinde yapılan bir çalışmada, Ethephon uygulanan bu ürünlerin saman, dane, meyve ve yapraklarında hasat zamanında Ethephon ve/veya metaboliti HEPA tespit edilmiştir. HEPA tahıllarda Ethephon ile aynı düzeylerde bulunmuştur. (EFSA Scientific Report, 2008).

İncir ağacına meyve olgunlaşmasının son döneminde uygulanan Ethephonun 8 günde meyve renginin yeşilden mavimsi siyaha dönüşmesini teşvik ettiği, bu dönüşümün ilk 4 gün içinde hızlı bir biçimde, sonraki 4 gün içinde yavaşlayan bir hızla gerçekleştiği ve bu sürede meyvelerin maksimum büyüklüğe ulaştığı ve tam olgunluğa eriştiği bildirilmiştir (Puech ve ark., 1976).

Bursa siyahı incirinin birinci, ikinci ve üçüncü gelişme periyodu uzunlukları, meyve çapları 11 mm'ye ulaştıktan sonra, sırasıyla 44, 35 ve 13 gündür. Yapılan bir çalışmada yavaş gelişme periyodu olan ikinci periyodun sonunda incir ağacının yaprak ve meyveleri üzerine 200 ve 500 ppm dozunda sprey şeklinde Ethephon uygulanmış ve bunun meyve gelişimini teşvik ettiği, olgunlaşma periyodunu kısalttığı gözlenmiştir. Ethephon uygulanan incirler, Ethephon uygulanmayan kontrol örneklerinden 5 gün önce olgunlaşmaya başlamış ve kontrol meyveleri yeni olgunlaşmaya başladığında, Ethephon uygulanan meyvelerin büyük bölümünün hasat edilmiş olduğu bildirilmiştir (Çelikel ve ark., 1997).

Bu çalışma ile Ethephon'un metaboliti HEPA'ya dönüşüm sürecinin ve bölgemizde üretilen incirlerde Ethephon ve HEPA kalıntı düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın birinci amacı Bursa bölgesinde yetiştirilen incirlerde Ethephon uygulanmasına bağlı olarak farklı olgunlaşma süresince incirlerde Ethephonun metaboliti olan HEPA'ya dönüşümünün incelenmesi, ikinci amacı ise Bursa Bölgesinde üretilen incirlerde Ethephon ve HEPA kalıntı düzeylerinin belirlenmesidir.

Çalışmanın birinci bölümü olan Ethephonun HEPA'ya dönüşüm süresinin tespiti için Bursa'nın Fadıllı ve Kaymakoba köylerinde 2'şer ağaç olmak üzere toplam 4 ağaca 1500 mg/L dozunda Ethephon uygulanmıştır. Bu ağaçlardan Fadıllı Köyünde bulunanlar "Fadıllı-1(F1)" ve "Fadıllı-2(F2)", Kaymakoba Köyünde bulunanlar ise "Kaymakoba-1(K1)" ve "Kaymakoba-2(K2)" olarak isimlendirilmiştir. Uygulama yapılan her bir ağaçtan uygulama öncesinde kontrol örnekleri alınmıştır. Uygulama yapıldıktan 3 saat sonra 1. gün örnekleri ve daha sonra 3., 5., 7., ve 10. günlerde olacak şekilde toplam 5 defa örnek alınmıştır. Her bir örneklemede ağaçlardan yaklaşık 2 kg'lık ikişer örnek alınmıştır. 14.gün olgunlaşmış olan incirler ağaçtan toplanarak 4°C'de muhafazaya alınmıştır. Muhafazaya alınan incirlerden F-1, K-1 ve K-2 ağaçlarının örneklerinden raf ömürleri sonuna kadar birer gün ara ile 3 defa, F-2 ağacının örneklerinden ise 5 defa analiz örneği alınabilmektedir.

Böylece deneme çalışmaları kapsamında toplam 76 örnek iki paralel olarak Ethephon ve HEPA yönünden analiz edilmiştir.

Bölgemizdeki incirlerde Ethephon ve HEPA'nın kalıntı durumunun tespiti için yapılan çalışmalar kapsamında ise 572 numunede Ethephon ve HEPA analizleri yapılmıştır.

Ethephon ve HEPA'nın analizi Anastassiades ve ark.(2010)'a göre yapılmıştır. Bu metoda göre ekstraksiyon için homojenize edilmiş olan numuneden 50 ml'lik santrifüj tüpü içerisine 10 g tartılır. Üzerine %1 konsantr formik asit içeren metanol ilave edilerek 2 dk. süre ile kuvvetlice çalkalanır ve 7500 rpm de 3 dk. santrifüj edilir. Üst fazdan yaklaşık 2 ml alınarak 0.22 µm lik filtreden süzülerek vialere alınır ve 20 µl enjeksiyon yapılır.

Kalibrasyon grafiğinin oluşturulmasında sertifikalı saf Ethephon (Dr.Ehrenstorfer) ve HEPA (Dr.Ehrenstorfer) standartları 1000 ppm konsantrasyona seyreltilmiş daha sonra 20 ppm'lik standart karışımı hazırlanmıştır. Çalışmalarda 250, 100, 50, 25 ve 10 ppb konsantrasyonlarında kalibrasyon standartları kullanılmıştır. Hazırlanan kalibrasyonlarda korelasyon her iki analit için de en az 0,99 olmuştur.

Yapılan çalışmalar sonucunda ölçüm limiti değeri (LOQ) Ethephon ve HEPA için sırasıyla 20.38 ppb ve 50,45 ppb olarak bulunmuştur. Her iki analit için S/N oranının minimum gerekli düzey olan 10'dan büyük olduğu görülmüştür. Metodun geri kazanım oranları Ethephon için %83 ile %109,9 arasında, HEPA için ise %76,6 ile %108,05 arasında bulunmuştur.

Kullanılan metoda göre sonuçların hesaplanmasında ekstraksiyon esnasında incirden gelen öz suyun metanole karıştığı göz önüne alınarak bulunan sonuç 1,7 ile çarpılmıştır.

Analizler LC-MS/MS (Shimadzu 20AD LC-Applied Biosystems 3200 QTrap MS/MS) cihazı ile ESI negatif iyonizasyon modunda gerçekleştirilmiştir. Analitik Kolon olarak Dionex IonPac AS11 2x250 mm Anion Exchange, Guard kolon olarak da Dionex IonPac AG11 2x50 mm kolon kullanılmıştır. Likit Kromatografi cihazına ait çalışma parametreleri Çizelge 1'de, MS/MS çalışma parametreleri ise Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 1. Likit kromatografi cihazı çalışma parametreleri

Zaman (dak.)	Mobil Faz A (Su)	Mobil Faz B (1mM Sitrik asit pH:11)	Toplam Akış ml/dak.
0	100	0	0,3
8:00	50	50	0,3
11:00	50	50	0,3
11:01	100	0	0,3
21:01	100	0	0,3

Çizelge 2. MS/MS çalışma parametreleri

Analit	Q1	Q3
ETHEPHON (ESI-, Dwell Time 150 ms)	142.895	107.000
	106.905	79.000
	142.895	78.800
HEPA (ESI-, Dwell Time 150 ms)	124.9	78.9
	124.9	95
	124.9	62.9

3.BULGULAR

Ethephonun metaboliti HEPA'ya dönüşüm sürecinin incelenmesi amacıyla Ethephon uygulanan incir ağaçlarından alınan örneklerin analiz sonuçları ağaç bazında şöyledir:

F-1 ağacı örneklerinde ortalama Ethephon miktarının 19. günde 1. güne oranla %89,7 azaldığı görülmüştür. HEPA ise ilk kez 17. günde 16,20 µg/kg düzeyinde tespit edilmiş ve 19.günde HEPA miktarının 88,70 µg/kg'a yükseldiği görülmüştür (Çizelge 3).

Çizelge 3. Ethephon uygulanan F-1 kodlu ağaçtan alınan örnekler ve 4°C’de depolanan örneklere ait sonuçlar

	Günler	Ethephon µg/kg				HEPA µg/kg			
		1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD	1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD
	Kontrol	-	-	-		-	-	-	
Ağaçtan	1	2180	1810	1995,00	13,11	-	-	-	
	3	1165	1170	1167,50	0,30	-	-	-	
	5	750	778,5	764,25	2,64	-	-	-	
	7	402	394	398,00	1,42	-	-	-	
	10	383	367,5	375,25	2,92	-	-	-	
4 °C	14	308	303	305,50	1,16	-	-	-	
	17	209	227	218,00	5,84	15,75	16,65	16,20	3,93
	19	198	213	205,50	5,16	87,4	90	88,70	2,07

Ort:Ortalama, RSD: Yüzde Standart Sapma.

F-2 ağacı örneklerinde ise Ethephon miktarı 1. güne göre 24. günde %88,2 azalmıştır. Bu ağacın örneklerinde ilk kez 19. gün 34,28 µg/kg HEPA bulunmuştur. HEPA miktarı 21. günde 69,73 µg/kg’a yükselmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Ethephon uygulanan F-2 kodlu ağaçtan alınan örnekler ve 4°C’de depolanan örneklere ait sonuçlar

	Günler	Ethephon µg/kg				HEPA µg/kg			
		1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD	1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD
	Kontrol	-	-	-		-	-	-	
Ağaçtan	1	1450	1890	1670,00	18,63	-	-	-	
	3	973,5	985	979,25	0,83	-	-	-	
	5	654	717	685,50	6,50	-	-	-	
	7	585	556	570,50	3,59	-	-	-	
	10	479	570	524,50	12,27	-	-	-	
4 °C	14	377	346	361,50	6,06	-	-	-	
	17	262,5	290	276,25	7,04	-	-	-	
	19	285	264	274,50	5,41	23,75	44,8	34,28	43,43
	21	191	196,5	193,75	2,01	47,15	92,3	69,73	45,79
	24	193	201	197	2,87	53,5	41,1	47,30	18,54

Ort:Ortalama, RSD: Yüzde Standart Sapma.

Çizelge 3 ve Çizelge 4 incelendiğinde Ethephon miktarındaki azalmanın her iki ağaçta benzer şekilde gerçekleştiği görülmektedir. Aynı şekilde HEPA’nın tespit edildiği dönem ve tespit edilen HEPA miktarları da her iki ağaç için paralellik arz etmektedir.

K-1 ağacı örneklerinde Ethephon miktarı 1. güne oranla 19. gün %96,2 azalmıştır. Bu ağaçtan alınan örneklerde HEPA tespit edilememiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Ethephon uygulanan K-1 kodlu ağaçtan alınan örnekler ve 4°C’de depolanan örneklere ait sonuçlar

	Günler	Ethephon µg/kg				HEPA µg/kg			
		1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD	1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD
	Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ağaçtan	1	765	756	760,50	0,84	-	-	-	-
	3	164	163,45	163,73	0,24	-	-	-	-
	5	206,5	204	205,25	0,86	-	-	-	-
	7	105	79,4	92,20	19,63	-	-	-	-
	10	102	79,5	90,75	17,53	-	-	-	-
4 °C	14	49,5	36,9	43,20	20,62	-	-	-	-
	17	33,75	28,9	31,33	10,95	-	-	-	-
	19	29,3	28,9	29,10	0,97	-	-	-	-

Ort:Ortalama, RSD: Yüzde Standart Sapma.

K-2 ağacında örneklerinde ise Ethephon miktarının 1. güne oranla 19. günde %98,4 azaldığı görülmüştür. Bu ağaçtan alınan örneklerde de HEPA ya rastlanmamıştır (Çizelge 6).

Çizelge 6. Ethephon uygulanan K-2 kodlu ağaçtan alınan örnekler ve 4°C’de depolanan örneklere ait sonuçlar

	Günler	Ethephon µg/kg				HEPA µg/kg			
		1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD	1.örnek	2.örnek	Ort.	RSD
	Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ağaçtan	1	1710	1310	1510,00	18,73	-	-	-	-
	3	172	66,25	119,13	62,77	-	-	-	-
	5	175	187,5	181,25	4,88	-	-	-	-
	7	54,1	55	54,55	1,17	-	-	-	-
	10	75,2	67,5	71,35	7,63	-	-	-	-
4 °C	14	58,6	30,1	44,35	45,44	-	-	-	-
	17	33,75	28,9	31,33	10,95	-	-	-	-
	19	22,2	26,3	24,25	11,96	-	-	-	-

Ort:Ortalama, RSD: Yüzde Standart Sapma.

Ethephon uygulanan K-1 ağacında 1. günde 760,5 µg/kg Ethephon tespit edilirken bu miktar K-2 ağacında 1510 µg/kg olarak bulunmuştur (Çizelge 5, Çizelge 6). Aradaki farkın uygulamanın homojen olarak gerçekleşmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. 3. gün sonuçlarına bakıldığında ise Ethephon miktarının hızlı bir şekilde azaldığı ve her iki ağacın sonuçlarının birbirlerine yaklaştığı görülmektedir. Ethephon miktarındaki azalmanın uygulama sonrasında “K” köyünde meydana gelen şiddetli yağıştan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ethephon miktarlarının birbirine yaklaşması yağışa kadar geçen sürede Ethephonun bitki bünyesine geçişinin benzer miktarlarda olabildiğini düşündürmektedir.

Analiz sonuçlarını köyler bazında değerlendirdiğimizde ise durum şöyledir:

“F” Köyü örneklerinde ortalama Ethephon kalıntısı miktarı 24.gün 1.güne oranla %89,2 azalmıştır. Bu köyden alınan örneklerde ilk olarak 17. gün 16,20 µg/kg olarak tespit edilen HEPA miktarı ise 24. gün örneklerinde 47,30 µg/kg olmuştur (Çizelge 7).

Çizelge 7. Ethepon uygulanan“F” kodlu Köye ait ortalama analiz sonuçları

	Günler	Ethepon µg/kg				HEPA µg/kg			
		1.ağaç	2.ağaç	Ort.	RSD	1.ağaç	2.ağaç	Ort.	RSD
	Kontrol	-	-	-		-	-	-	
Ağaçtan	1	1995	1670	1832,50	12,54	-	-	-	
	3	1167,5	979,25	1073,38	12,40	-	-	-	
	5	764,25	685,5	724,88	7,68	-	-	-	
	7	398	570,5	484,25	25,19	-	-	-	
	10	375,25	524,5	449,88	23,46	-	-	-	
4 °C	14	305,5	361,5	333,50	11,87	-	-	-	
	17	218	276,25	247,13	16,67	16,2	-	16,20	
	19	205,5	274,5	240,00	20,33	88,7	34,275	61,49	62,59
	21	-	193,75	193,75			69,725	69,73	
	24	-	197	197,00			47,3	47,30	

Ort:Ortalama, RSD: Yüzde Standart Sapma.

“K” köyü örneklerinde ortalama Ethepon kalıntısı miktarı 19. gün 1. güne oranla % 97,7 azalmıştır. “K” köyü örneklerinde HEPA oluşumuna rastlanmamıştır (Çizelge 8).

Çizelge 8. Ethepon uygulanan“K” kodlu Köye ait ortalama analiz sonuçları

	Günler	Ethepon µg/kg				HEPA µg/kg			
		1.ağaç	2.ağaç	Ort.	RSD	1.ağaç	2.ağaç	Ort.	RSD
	Kontrol	-	-	-		-	-	-	
Ağaçtan	1	760,5	1510	1135,25	46,68	-	-	-	
	3	163,73	119,13	141,43	22,30	-	-	-	
	5	205,25	181,25	193,25	8,78	-	-	-	
	7	92,2	54,55	73,38	36,28	-	-	-	
	10	90,75	71,35	81,05	16,93	-	-	-	
4 °C	14	43,2	44,35	43,78	1,86	-	-	-	
	17	31,32	32,42	31,87	2,43	-	-	-	
	19	29,1	24,25	26,68	12,86	-	-	-	

Ort:Ortalama, RSD: Yüzde Standart Sapma.

HEPA “F” Köyü örneklerinde ilk olarak 17. gün tespit edilmiş ve denemenin sonuna kadar görülmeye devam etmiştir. Bu dönemde “F” Köyü örneklerinde tespit edilen Ethepon miktarı 247,13 µg/kg ile 197 µg/kg arasında değişmektedir. Aynı dönemde “K” Köyü örneklerindeki Ethepon miktarı ise 31,33 µg/kg ile 26,68 µg/kg arasında değişmektedir. Bu veriler incelendiğinde örneklerde HEPA oluşumunun gerçekleştiği dönemde “F” Köyü örneklerindeki Ethepon miktarının “K” Köyü örneklerine göre oldukça fazla olduğu görülmektedir (Çizelge 9). “K” Köyü örneklerinde HEPA tespit edilememesinin nedeninin bu fark olduğu düşünülmektedir. Diğer bir ifade ile “K” Köyü örneklerinde tespit edilebilir düzeyde HEPA oluşumuna yetecek miktarda Ethepon bulunmadığı düşünülmektedir. İki köyün deneme sonuçlarına bakıldığında “F” köyünde bulunan her iki ağacın örneklerinde Ethepon miktarının çalışma boyunca kademeli olarak azaldığı, “K” köyü ağaçlarının örneklerinde ise Ethepon miktarının kısa süre içinde büyük miktarda düştüğü görülmektedir. Çalışmanın 3. gününde “F” köyü örneklerinde Ethepon kalıntısı miktarında ortalama % 41,5 azalma olurken bu oran “K” köyü örneklerinde % 88,6 olmuştur. Bu durumun Ethepon uygulaması sonrasında “K” köyünde meydana gelen yağıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 9: Ethepon uygulaması yapılan “F” ve “K” kodlu köylerin ortalama Ethepon ve HEPA sonuçları

	Günler	Ethepon µg/kg			HEPA µg/kg		
		F Köyü	K Köyü	Ortalama	F Köyü	K Köyü	Ortalama
	Kontrol	-	-	-	-	-	-
Ağaçtan	1	1832,5	1135,3	1483,88	-	-	-
	3	1073,4	116,43	594,90	-	-	-
	5	724,88	193,25	459,06	-	-	-
	7	484,25	73,375	278,81	-	-	-
	10	449,88	81,05	265,46	-	-	-
4 °C	14	333,5	43,775	188,64	-	-	-
	17	247,13	31,325	139,23	16,2		16,20
	19	240	26,675	133,34	61,4875		61,49

Ort:Ortalama, RSD: Yüzde Standart Sapma.

Her iki köyün örneklerinden elde edilen veriler birlikte incelendiğinde çalışmanın sonuna kadar tüm örneklerde Ethepon kalıntısı tespit edildiği görülmektedir. Kanada’da 1977 yılında kurutmalık incirler ile yapılan bir çalışmada 240 g/L dozunda ethepon hektara 1000 L olacak şekilde sprey olarak hasat öncesinde uygulanmıştır. Uygulamadan sonraki 21 ile 41. günler arasında yapılan analizlerde 220 µg/kg ile 2730 µg/kg arasında değişen miktarlarda Ethepon kalıntısı tespit edilmiştir (FAO, 1995). Hem bu çalışmanın hem de bizim çalışmamızın sonuçları incirlerde Ethepon uygulamasının belirli bir süre boyunca kalıntıya neden olduğunu göstermektedir.

Bölgedeki kalıntı durumunun tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda ise toplam 572 numune Ethepon ve HEPA yönünden analize alınmıştır. Bu örneklerin 562 adedinde herhangi bir kalıntıya rastlanmamıştır. 10 örnekte ise 95 µg/kg, 113 µg/kg, 161 µg/kg, 174 µg/kg, 189 µg/kg, 303 µg/kg, 501 µg/kg, 603 µg/kg, 828 µg/kg ve 1320 µg/kg Ethepon kalıntısı tespit edilmiştir. Tespit edilen kalıntıların tamamı Avrupa Birliği’nin ilgili mevzuatında bulunan 50 µg/kg maksimum kalıntı limitinin üzerinde bulunmuştur. Daha önceden meyve ve sebzelerde Ethepon kalıntısının tespiti için yapılmış farklı çalışmalarda benzer sonuçlara ulaşıldığı görülmüştür (Anastassiades ve ark., 2008; Bauer ve ark., 2010).

Tarama amacıyla analize alınan hiçbir örnekte HEPA tespit edilememiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada Ethephon uygulamasından 14 gün sonra incirler hasat edilmiş, HEPA ise ilk olarak uygulamadan sonraki 17. günde tespit edilmiştir. Tarama örneklerinin hasattan hemen sonra laboratuvara geldiği ve analize alındığı düşünüldüğünde, bu örneklerde HEPA tespit edilememesi Ethephonun HEPA'ya dönüşüm sürecine dair veriler ile paralellik göstermektedir.

4.SONUÇ

Yapılan deneme çalışmalarının sonuçları incelendiğinde; İncire Ethephon uygulanması sonrasında meyvelerde kalıntı miktarının zamanla azaldığı, ancak meyvelerin raf ömürleri tamamlanincaya kadar Ethephon kalıntısı bulunmaya devam ettiği görülmektedir. Bu çalışmada uygulanan analiz yöntemi ile taze incirlerin tüketilebilecekleri son güne kadar Ethephon kalıntısı tespit edilebilmiştir. Bu durum üreticiler tarafından Ethephon uygulanmış ağaçlardan alınacak örneklerde Ethephon kalıntısının bu yöntemle kesin olarak tespit edilebileceğini göstermektedir. Ayrıca, ihracat için toplanan incirlerin iç tüketim amaçlı olanlara kıyasla daha erken hasat edildiği göz önüne alınırsa; Ethephon kullanılması durumunda kalıntı miktarının daha yüksek seviyelerde olacağı anlaşılmaktadır.

Ethephon uygulamasından elde edilen sonuçlara bakıldığında HEPA tespit edilen örneklerde aynı anda Ethephon kalıntısının da bulunduğu, hatta Ethephon kalıntısı miktarının HEPA miktarından daha fazla olduğu görülmektedir. Çalışmada hiçbir örnekte tek başına HEPA tespit edilmemiştir. Bu durum taze incirlerin raf ömrü sonuna kadar Ethephon kalıntısının tamamen HEPA'ya dönüşümünün mümkün olmadığını göstermektedir. Diğer bir ifadeyle incire Ethephon uygulanması durumunda incirlerin tüketilebileceği son güne kadar kalıntı kontrolü için yalnızca ana molekülün analizinin yeterli olduğu görülmektedir. Sonuç olarak metabolit HEPA'nın analizinin yapılmasının doğruluğu destekleyici olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Bölgemizdeki kalıntı durumunun belirlenmesi amacıyla yapılan tarama çalışmalarından elde edilen bulgularda; İncire Ethephon uygulamasının çok yaygın olmadığını ortaya koymaktadır. Ancak; üreticilerin bilinçlendirilmesi, denetim faaliyetlerinin artırılması ile incirde Ethephon uygulamasından tamamen vazgeçileceği düşünülmektedir.

5.KAYNAKÇA

Anastassiades, M., Kolberg, D.I., Eichhorn, E., Benkenstein, A., Lukačević, S., Mack, D., Wildgrube, C., Sigalov, I., Dörk, D., Barth, A., (2010). Quick Method for the Analysis of numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin via LC-MS/MS involving Simultaneous Extraction with Methanol (QuPPE-Method) EURL-SRM. Highly Polar Pesticides in Samples from the Market. CVUA, Stuttgart.

Bauer, N., Kolberg, D., Wieland, M., Barth, A. and Anastassiades, M., (2010). Ethephon-a Growth Regulator Detected in a Broad Range of Crops. CVUA Stuttgart, PM 034.

Çelikel, F., G., Kaynas, K., Özelkök, S. ve Ertan, Ü., (1997). Effects of Ethephon on Fruit Development and Ripening of the Fig (*Ficus carica* L.) variety "Bursa Siyahı". *Acta Horticulturae (ISHS)*, 441: 145-152.

EFSA Scientific Report, (2008). Conclusion Regarding the Peer Review of the Pesticide Risk Assessment of the Active Substance Ethephon. Conclusion on the Peer Review of Ethephon, 174, 1-65.

FAO, (1995). Pesticides Residues in Food-1994 Evaluation Part 1- Residues Volume 1, Rome-Italy, 520.

Puech, A. A., Rebeiz, C., A. and Crane, J. C., (1976). Pigment Changes Associated with Application of Ethephon (2-Chloroethyl Phosphonic Acid) to Fig (*Ficus carica* L.) Fruits. *Plant Physiology*, 57, 504-509.

The British Crop Protection Council and The Royal Society of Chemistry, 1994. The Pesticide Manual-Incorporating The Agrochemicals Handbook, ed: Tomlin C., Cambridge-UK.

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Bulunmasına İzin Verilen Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği (Tebliğ No:2009/62), EK-2, Bölüm 1