

OZONLU SUYLA YIKAMANIN DOMATESLERDE PESTİSİT GİDERİMİ, ASKORBİK ASİT VE RENK ÜZERİNE ETKİLERİ

Y. Sedat Velioglu^{1*}, Ergün Cönger², Pelin Aksu³,
Şeyda Fikirdeşici-Ergen⁴, H. Merve Yiğit-Baltacı⁵

¹ Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Dışkapı-Ankara

² BASF, Bitki Koruma Bölümü, Can İş Merkezi, 48. Sk. No:5/2, Balgat-Ankara

³ Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Yenimahalle-Ankara

⁴ Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tandoğan-Ankara

⁵ Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, İstanbul İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, İstanbul

Geliş tarihi / Received: 16.02.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 24.03.2016

Kabul tarihi / Accepted: 27.03.2016

Özet

Domateslere laboratuvar koşullarında iki farklı pestisit (azoxystrobin ve chlorpyrifos) uygulanmıştır. Bu domatesler daha sonra suda veya ozon uygulanan suda yıkanmıştır. Uygulamaların pestisit giderimi, askorbik asit düzeyi ve renk üzerine olan etkileri incelenmiştir. Yapılan uygulamaya bakılmaksızın chlorpyrifosun azoxystrobine göre çok daha kolay giderildiği görülmüştür. Azoxystrobine su, çalkalamalı su ve ozonlu su ile yapılan 5 dakikalık yıkama işlemi sırasıyla %4.4, %13 ve %39 oranında giderim sağlarken aynı uygulamalar 30 saniye süreli chlorpyrifos uygulamasında sırasıyla %74, %77 ve %86 oranında giderim sağlamıştır. Renk ve askorbik asit içerikleri açısından suyla ve ozonlu suyla yapılan yıkama uygulamaları arasında önemli bir fark görülmemiştir. Yıkama işlemleri askorbik asitte %7-13'lük, a/b değerinde %2-5'lik bir azalmaya yol açmıştır. Askorbik asitte görülen kayıp yapılan uygulamadan çok vitaminin sudaki çözünürlüğü ile ilgilidir.

Anahtar kelimeler: Domates, ozon, pestisit, yıkama, giderim, askorbik asit, renk

EFFECTS OF OZONATED WATER WASHING ON PESTICIDE REMOVAL, ASCORBIC ACID AND COLOUR OF TOMATOES

Abstract

Tomatoes were treated with two different pesticides (azoxystrobin and chlorpyrifos) in a lab scale study followed by washing in water and ozone bubbled water. The effects of these treatments on pesticide removal, color (a/b values) and ascorbic acid losses were

evaluated. Chlorpyrifos was degraded more easily compared to azoxystrobin regardless of treatments. Water and nitrogen or ozone bubbled water treatments resulted in 4.4, 13 and 39% reduction in azoxystrobin content after 5 min treatment time while same treatments

resulted in 74, 77 and 86% chlorpyrifos reduction in 30 s of treatment time, respectively. The given treatments had no significant effect on ascorbic acid losses and color changes. The ascorbic acid losses and color changes were 7 to 13 and 2 to 5%, respectively. Ascorbic acid losses were assumed to be due to the higher water solubility of it other than the applied treatments.

Keywords: Tomatoes, ozone, pesticide, washing, removal, ascorbic acid, colour

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ avelioglu@ankara.edu.tr,

☎ (+90) 312 203 3300/3619,

☎ (+90) 312 317 8711

GİRİŞ

Tarımsal üretimin artırılması amacıyla günümüzde en sık kullanılan tekniklerden biri de kimyasal savaşımıdır. Bu amaçla kullanılan pestisitler, tarımsal üretimde sağladığı artışla önemli bir girdi oluştururken, aynı zamanda bilinçsiz kullanım nedeniyle, bir kısmının gıdalarda kalarak beslenme yoluyla insan bünyesine alınması bir takım sağlık risklerini de beraberinde getirmektedir. Genellikle bitkiler ve bitkisel ürünler üzerinde az ya da çok pestisit kalıntısı bulunmaktadır. Burada önemli olan kalıntının miktarıdır. Kalıntı düzeyinin insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturmadığı sınır, genellikle maksimum kalıntı limiti (tolerans, MRL) olarak tanımlanır (1). Gıdalarda, tarımsal ürünlerde veya hayvansal yemlerde yasal olarak bulunmasına izin verilen MRL düzeyleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu'nun (FAO) bünyesinde bulunan Kodeks Alimentarius Komisyonu (CAC), ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), AB Komisyonu gibi kurumlar tarafından belirlenmekte ve yönetmelikler düzenlenmektedir.

Tarımsal savaşımında insektisit kullanımında dikkat edilecek en önemli konu ürünün MRL değeri üzerinde kalıntı içermemesidir. Gıda maddelerinde bulunan pestisit kalıntı düzeyi; gıdalara tarladaki pestisit uygulamaları, evde hazırlanması/pişirilmesine kadar uzanan işleme ve depolama parametreleri ile etken maddelerin fizikokimyasal özellikleriyle doğrudan ilişkilidir. Özellikle yıkama ve pişirme gibi parametreler, pestisit özelliklerine bağlı olmak kaydıyla kalıntı düzeylerinde önemli azalmaları sağlayabilmektedir. Ayrıca farklı pestisit etken maddeleri fizikokimyasal parametrelerine göre farklı sürelerde parçalanmaktadır (2). Ürünlerdeki kalıntıların giderimi için suyla yıkama, ısıtma, buharda pişirme, ışığa maruz bırakma, asidik veya bazik ortamlarda bekletme gibi işlemler uygulanmaktadır. Hasat edilmiş ürünlerde su ile yıkamada kalıntıların azalması, yıkama suyunda çeşitli oksidanların kullanımını gündeme getirmiştir.

Son yıllarda, özellikle de ozonun 1997'de ABD'nde GRAS kabul edilmesinden sonra pestisitlerin ozonla parçalanmasına dair çalışmalar hızlanmıştır. Ozon, gıda sanayinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Bunlar arasında meyve ve sebzelerde, mikroorganizmaların inaktivasyonu, mikotoksinlerin giderilmesi, hatta ürünün raf

ömürünün uzatılması sayılabilir (3). Meyve-sebze sektörünün önemli problemlerinden mikotoksin (4-5) ve pestisit (6-8) kalıntılarının gıdalardan uzaklaştırılmasında da umut veren sonuçlar göstermektedir. Ozon, 2.07 mV'luk oksidasyon potansiyeline sahipken; hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloroz asit (HOCl), klor (Cl_2) ve klordioksitin (ClO_2) oksidasyon potansiyelleri sırasıyla 1.78, 1.49, 1.36 ve 1.27 mV'tur. Görüldüğü gibi ozonun oksidasyon potansiyeli diğer oksidan ajanların potansiyellerinden oldukça yüksektir (9-10). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, ozonla sulu çözeltilerde; 2,4-dichlorophenoxyacetic asit (11), phorate (12), dissuloton, terbufos ve dyfonate (13), malathion (14), atrazine (15), diazinon (16), pirimiphos-methyl (17) ve chlorophenylurea pestisitleri (18), pyrimethanil (19) gibi belli pestisitlerin parçalanabileceği belirlenmiştir. Bir çalışmada pH 9'daki sulu çözeltide 30 dakika ozonlama ile diazinonun hemen hemen tamamının parçalandığı belirlenmiştir (16). Elmalara iki farklı düzeyde (1 ve 10 mg/kg) uygulanan mancozeb kalıntılarının ozon uygulamalarıyla %56-97 oranında azaldığı bildirilmiştir (6). Benzer bir çalışmada 1 ve 3 mg/kg konsantrasyonundaki ozonlu suyun üç farklı pH (4.6, 7.0, 10.7) ve iki farklı sıcaklıkta (10 ve 21°C) mancozeb degradasyonundaki etkinliği model sistem çalışmalarında incelenmiş ve degradasyonun pH'ya bağlı olarak değiştiği ve en hızlı degradasyonun pH 7'de gerçekleştiği saptanmıştır (7). Hwang ve ark. (20), mancozeb uygulanmış ve farklı yıkama uygulamalarına tabi tutulmuş elma ve ürünlerindeki mancozeb ve ethylenethiourea (ETU) seviyelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak, gerek mancozebin, gerekse kanserojen ETU bileşiğinin giderilmesinde 3 mg/kg konsantrasyondaki ozonlu su, 500 mg/kg klorlu su ile birlikte en etkin yöntem olarak belirlenmiştir. Ozonun etkinliği farklı ürün çeşitleri için mancozeb gideriminde %82-100 ve ETU gideriminde %76-100 olarak belirlenmiştir. Ozonlu su uygulamasının tüm meyve, meyve dilimi, kabuğu soyulmuş ve soyulmamış elmalardan yapılan soslarda gerek mancozeb gerekse ETU miktarını tespit edilebilir limitin altına düşürdüğü bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada; bentazonun ozonla oksidasyon reaksiyon mekanizması ve kinetiği incelenmiştir. Destile su içinde, karanlık koşullarda, 120 gün sonunda dahi bozunumu görülmeyen bentazonun, ozon oksidasyonu ile giderimi kısa süreler içinde

sağlanabilmiştir (21). Wu ve ark. (8), düşük konsantrasyonda çözünmüş ozonun dört farklı pestisit parçalanması üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda 30 dakika içinde %60 ila %99 oranında parçalanma olduğu, etkinliğin suda çözünmüş ozon miktarı ve sıcaklık ile doğrudan ilgili olduğu belirlenmiştir. Üç farklı sebze fenitrothion kalıntılarının gideriminde farklı tip mikrobaloncuk kullanımının etkilerinin incelendiği bir çalışmada dekompresyon tip jeneratörün gaz-su sirkülasyon tip jeneratöre göre daha etkili olduğu görülmüştür (22). Fenitrothionun marul ve çeri domateslerindeki kalıntısının azaltılmasında 30 OC'lik sıcaklık uygulamasının denenen diğer sıcaklıklara göre daha etkin olduğu anlaşılmıştır (23). Hurma yapraklarındaki fenitrothion ve benomyl kalıntılarının ozonlama ile uzaklaştırılması üzerinde yapılan bir çalışmada mikrobaloncuk uygulamasının etkin olduğu ve yaprakların direnci ile rengi üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı görülmüştür (24). Taze çay yapraklarında O₃/UV/TiO₂ uygulaması ile cypermethrinde %80, malathionda ise %78 azalma görülmüştür. Çalışma sırasında taze çay yapraklarında ve suda yapılan O₃/UV/TiO₂ uygulamalarında pH'nın sudaki denemelerde etkili, çay yapraklarında ise etkisiz olduğu görülmüştür (25). Bir çalışmada chlorothalonil kalıntısı içeren portakal 5 dakika boyunca ozonlanmış ve kalıntı miktarında %100'lük bir azalış görülmüştür. Aynı şekilde tetradifon içeren limonda 5 dakika ozonlama ile kalıntı miktarında %98.6, chlorpyrifos ethyl içeren greyturta ise kalıntı miktarında %94.2 azalma görülmüştür. Bu üç pestisit ile yapılan musluk suyunda gıdaların yıkanması denemeleri ise, ozonlu suda yapılan yıkama işleminin musluk suyuna kıyasla çok daha etkin olduğunu göstermiştir (26). Yapılan başka bir çalışmada chlorfluazuron ve chlorothalonil uygulanan sebzeler ozonla 15 dakika 250mg/saat ve 500mg/saat akış hızı olmak üzere iki ayrı işleme tabi tutulmuştur. Uygulanan işlemler sonucunda; 250mg/saat akış hızında chlorfluazuron için %51, chlorothalonil için %53 azalma görülmüştür. Akış hızı 500mg/saat olduğunda ise chlorfluazuron için %75, chlorothalonil için %77 azalma olduğu belirlenmiş ve sebzelerdeki pestisit kalıntı miktarları "Gıdalarda Pestisit Kalıntı Limit Standartları-Standards for Pesticide Residue Limits in Foods" seviyesine düşürülmüştür (27). Farklı çalışmalarda elmalardaki mancozeb kalıntılarının ozonlama ile % 56-97 oranında giderilebildiği (6), üzümün ozon atmosferinde

depolanması sonucu fenhexamid, cyprodinil ve pyrimethanilin azalmasının hızlandığı (28), mum ile kaplanmış Navel portakallarının 180-200 ng/L düzeyinde ozon içeren atmosferde 35 gün depolanması sonucunda imazalil, malathion ve chlorpyrifos kalıntılarının normal atmosferde depolamadakine göre çok daha fazla azaldığı (29) belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kullanılan Pestisitler ve Domateslerin İlaçlanması: Çalışmada sudaki çözünürlüklerinin az olması nedeniyle (30) azoxystrobin (fungisit, metoksi-akrilat grubu) ve chlorpyrifos (insektisit, organik fosforlu) pestisitleri seçilmiştir. Bu bileşiklere ilişkin bazı bilgiler Çizelge 1'dedir. Denemede kullanılan domatesler bir marketten satın alınmıştır. Her tekerrür için 8 domates (yaklaşık 2 kg) olacak şekilde toplamda bitki koruma ürünü (BKÜ) uygulanması gerekli domates miktarı belirlendikten sonra homojenliğin sağlanabilmesi için örneklerin tamamı aynı anda BKÜ uygulamasına alınmıştır. Bu amaçla azoxystrobin (250 SC) ticari preparatı 75mL/100L su oranına göre hazırlanmıştır. 1 kg domatesin kapladığı alan yaklaşık 1 m² olarak ölçülmüş ve kalibrasyonda püskürtme yöntemiyle her bir kg domates başına 200 mL su kullanılacağı tespit edilmiştir. Bu nedenle örneklerin tamamı (yaklaşık 5 kg domates) için yaklaşık 1000 mL ilaçlı su kullanılmış, yaklaşık 30 cm uzaklıktan el spreyi ile ilaç püskürtülerek uygulanmıştır. İlaçlama sırasında domatesler üzerinde birikim olmamasına dikkat edilmiş, bu amaçla ilaçlama devam ederken bir taraftan da domateslerin bulunduğu plastik sepet elle sürekli olarak sallanmıştır. İlaçlama işlemi bittikten sonra, tarla koşullarına benzerlik göstermesi için domatesler güneşin altına alınmış ve 3 saat kuruması beklenmiştir. Örnekler, kontrol, suda bekletme, azot (N₂) altında suda bekletme ve ozonlama işlemlerine tabi tutulmuştur. Chlorpyrifos'ta farklı olarak sebzeler için tavsiye dozu esas alınarak gerekli hesaplamalar yapılmış ve 0.96g aktif madde/400mL su olacak şekilde ilaç çözeltisi hazırlanmıştır.

Domateslerin Yıkaması

İlaçlanmış domatesler, her deneme için 8'er tane olmak üzere dış kısmından soğutucu sıvı geçen ve sıcaklığı 15°C'de sabit tutulan ve içerisinde tam olarak 2.5 L çeşme suyu bulunan ozonlama tankına, tanka uygun boyuttaki çelik bir sepet içerisinde konulmuştur. Suyun içine jeneratörden

Çizelge 1. Çalışmalarda kullanılan aktif maddelere ilişkin bazı bilgiler
Table 1. Several properties of studied active ingredients

Aktif Madde Adı <i>Active ingredient</i>	İçerik ve formülasyonu <i>Content and formulation type</i>	Ticari Adı <i>Commercial name</i>	Üreticisi <i>Producer</i>	Önerilen Dozu <i>Recommended dosage</i>	Sudaki çözünürlük <i>Water solubility</i>
Azoxystrobin	250 g/L – SC ¹	Quadris	Syngenta	75 mL/100 L water	6 mg/L (20°C)
Chlorpyrifos	480 g/L- EC ²	Sarban 4E	Safa Tarım	200 mL/da	1.4 mg/L (25°C)

¹ SC: Süspansiyon konsantre, ²EC: Emülsiyon konsantre

¹ SC: Suspension concentrate, ²EC: Emulsion concentrate

(20g/saat kapasiteli Opal OG 20, Ankara) elde edilen gaz ozon, gaz dağıtıcı paslanmaz çelik poröz dağıtıcı (Fisher Scientific Solvent Inlet Filter, 10µm gözenek çaplı) ile verilmiştir. Ozon miktarı debi ölçer (Riteflow flow-meter, 150 mm, size 2, Bel-Art Products Pequannock, NJ, ABD) kullanılarak 600mL/dak olacak şekilde ayarlanmıştır. 5 dakikalık ozonlama sonucu sudaki ozon düzeyi Palintest test kitiyle yaklaşık 13 mg/kg olarak ölçülmüştür. (Ozon gazının suya verilmesini takiben domatesler derhal tanka alınmıştır. Domatesler istenilen sürede ozonlandıktan sonra akış kesilmiş, ön denemelerde miktarının 1 mL olmasına karar verilmiş reaksiyon durdurucu (5.2g/L konsantrasyondaki Difco Neutralizing Buffer, Cat. Nr. 236210, Becton, Dickinson and Sparks, MD, ABD) eklenmiş ve domatesler sudan hızlıca alınmıştır. Su ile yapılan yıkama işleminde ise tüm koşullar aynı tutulmuş, ancak ozon gazı çıkışının çalkalama etkisini elemine edebilmek için bu kez suya aynı başlıkla ve aynı düzeyde azot gazı verilmiştir. Her işlem sonunda su yenilenmiş ve suyun sıcaklığı 15°C'ye ulaştığında bir sonraki denemeye geçilmiştir. Çalışmada kullanılan pestisitlerin ozona duyarlılıkları birbirinden çok farklı olduğundan ozonlama süreleri farklı tutulmuştur.

Domateslerde Kalıntı Analizleri

Farklı yıkama işlemleri uygulanan domatesler, pestisit kalıntı analizleri için hazırlanmıştır. Kontrol grubu, ozonlanan grup ve suda bekletilen domateslerde tekerrür edilen her grup için üçer ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemleri AKSU (1) ve Quechers (31) metotlarına göre yapılmıştır. Buna göre; 10 g homojenize domates örneği 10 mL asetonitril: diklorometan (1:1) ilave edilip, bir dakika karıştırıldıktan sonra üzerine 4 g susuz MgSO₄ ve 0.5 g NaCl ilavesi yapılarak 2 dakika daha tüp karıştırıcıda karıştırılmış ve homojenat 5000 devir/dak'da 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Ekstraktan 2 mL alınarak, içinde 0.03 g diamino + 0.03 g PSA sorbentleri ve 0.3 g

susuz MgSO₄ bulunan tüpe konarak karıştırıldıktan sonra aynı devir ve sürede tekrar santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Çalışmada azoxystrobin HPLC ile, chlorpyrifos ise GC/µECD cihazıyla belirlenmiştir (1, 30). Azoxystrobin tayininde uygulanan HPLC koşulları şu şekildedir: Sistem, Agilent 1100, otomatik enjektörlü, akış hızı, 1 mL/dak; pompa, dereceli elüsyon pompası; kolon RP C-18; kolon fırını sıcaklığı, 25°C; detektör DAD (200-400 nm aralıkta); enjeksiyon hacmi 20µL; data analiz programı, ChemStation LC 3D (rev. B.01.01). Chlorpyrifos tayininde uygulanan GC/µECD koşulları ise şu şekildedir: Gaz kromatografisi, Agilent 6890N GC; oto örnekleyici (ALS), Agilent 6890 serisi; taşıyıcı gaz, helyum (yüksek saflıkta, %99.999 BOSS); akış hızı, 1 mL/dak sabit akış; Kapiler kolon, HP-5 (%5 phenyl methyl siloxane) (30m x 0.25mm x 0.25µm film kalınlığı); bölünmeli/ bölünmesiz enjeksiyon blok sıcaklığı, 250 °C; enjeksiyon hacmi, 1 µL bölünmeli enjeksiyon; bölünme oranı 1:50; kolon sıcaklık programı, 70°C (2 dak), 25°C/dak ile 280°C (7 dak), toplam analiz süresi: 17.40 dak; detektör, µECD; detektör sıcaklığı, 300 °C; detektör makeup gazı ve akışı, N₂ (%99.999 saflıkta) 59 mL/dak.

Domateste Renk ve Askorbik Asit Tayini

Örneklerde Minolta 300 CR kolorimetresi ile Hunter sistemine göre L, a, b renk ölçümleri yapılmıştır. Renk tayininde tüm parseller için alınan domateslerin tamamı analize alınmıştır. Aygıtın kendi plakasıyla kalibrasyonundan sonra her bir domates örneği 4 tekrarlı olarak okunmuş ve değerler L, a, b olarak kaydedilmiştir. Domateslerde bulguların yorumlanmasında a/b (kırmızılık/sarılık) değeri dikkate alınmıştır.

Askorbik asit analizlerinde Reyes (32) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Plastik bir behere blenderde iyice parçalanmış yaklaşık ±0,001 g duyarlılıkla 4 g örnek tartılmış ve üzerine %3'lük sitrik asit çözeltisinden 24 mL ilave edilmiştir. Bu

karışım, ultratürax cihazında, beherin etrafına buz poşetleri sarılarak homojenize edilmiş ve kaba filtre kağıdından bir santrifüj tüpüne süzölmüş ve süzöntü 0oC'de 6000 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Katı faz ekstraksiyon kartuşları (Phenomenex, Strata C18-E, 55µm, 70A, 100 mg, Torrance, CA, ABD) vakum manifold cihazına yerleştirildikten sonra üst kısım, işlem öncesinde önce 3 mL metanol ve bunu takiben 3 mL su ile şartlandırılıp, kartuşların içinde su damlası kalmayacak şekilde vakumlanarak kurutulmuştur. Şartlandırılmış kartuşlardan, santrifüj edilen örneklerin üst fazı geçirilmiştir ve HPLC aygıtına enjekte edilmiştir. Kullanılan aygıtla ilişkin bilgiler şu şekildedir: Sistem, Agilent 1100, otomatik enjektörlü, 100 örnek tepsili; Akış hızı, 0,5 mL/dakika; hareketli faz, %2'lik potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) çözeltisi [o-fosforik asit ile pH'sı 2,4'e ayarlanmış], isokratik akış; kolon, Thermo Scientific Reverse faz-C18 (250 x 4.6mm x 5µm); kolon fırını çalışma sıcaklığı, 25°C; detektör ve çalışma dalga boyu, diyot array detektör, 242 nm; enjeksiyon hacmi, 20µL data analiz programı, ChemStation LC 3D (rev B.01.01). L-askorbik asit standardının (Sigma-Aldrich) %3'lük sitrik asit çözeltisi içerisinde çözdürülmesiyle askorbik asit stok çözeltisi (500 ppm'lik) elde edilmiştir. Bu stok çözeltiden de 250, 100, 50 ve 25 ppm'lik standart çözeltiler yine %3'lük sitrik asit çözeltisi içerisinde hazırlanmış ve HPLC cihazında okumaları gerçekleştirilerek askorbik asit standart eğrisi çizilmiş ve eğrinin regresyon katsayısı R²= 0,9989 olarak bulunmuştur. Söz konusu eğri Şekil 1'de verilmiştir. Ayrıca hesaplamalarda kullanılmak üzere domateslerde kuru madde miktarı refraktometre ile ölçölmüş ve 5,3 briks olarak bulunmuştur. Askorbik asit standart eğrisinin çizilmesiyle örneklerdeki C vitamini miktarlarının kantitatif hesaplamaları gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2. Uygulamaların azoxystrobin ve chlorpyrifos azalmasına etkileri*
Table 2. Effects of treatments on pesticide reduction*

Domateslere uygulanan işlem Applied treatment on tomatoes	Azalma (%) Reduction (%)	
	Azoxystrobin	Chlorpyrifos
Suda bekletme Soaking in water	4.40±0.13 ^A	73.54±1.80 ^A
N ₂ altında suda bekletme Soaking in water with N ₂ flow	13.07±0.28 ^B	76.63±2.80 ^A
Ozonlama Ozonation	39.14±0.02 ^C	86.27±3.21 ^B

* Uygulama süresi azoxystrobin ve chlorpyrifosta sırasıyla 5 dakika ve 30 saniyedir.
* Treatment times for azoxystrobin and chlorpyrifos are 5 min and 30sec, respectively.
A-C: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir (P<0.05).
A-C: Different letters in a column indicating a statistically significant difference (P<0.05).

İstatistik analiz

İstatistiksel analizler SPSS for Windows (ver.10.1, USA) paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Örnekler arasında anlamlı bir fark olup olmadığı varyans analizi (one-way ANOVA) ile değerlendirilmiş ve farklılığın derecesi Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Analizlerde P<0.05'lik güven seviyeleri dikkate alınmıştır (33).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Azoxystrobinde suda bekletme ile ozon uygulaması arasında pestisit miktarında yaklaşık 9 katlık bir azalma ortaya çıkmıştır (Çizelge 2). Bu durumun bir kısmının ozonun çalkalama etkisinden kaynaklandığı düşünölmektedir bu kez suda yıkama sırasında tanka ozonla aynı debide N₂ gazı verilmiştir. Bu kez fark 3 kata inmiş olmasına rağmen bu azalma da çok üst düzey bir azalma anlamına gelmektedir. Özetlenecek olursa çalkalamalı suda azoxystrobinde %13 azalma olurken, ozonlu suda azalma %39'a çıkmıştır ve rakamlar ozon uygulamasının söz konusu aktif maddenin giderimindeki etkisini açık bir şekilde ortaya koymaktadır. Emölsiyon konsantre (EC) formölsasyonlu chlorpyrifosla ilaçlanmış domateslerde ozonlu suyun kalıntı miktarını azaltma etkisinin, suda bekletmeye ya da azot gazı akışı altında suda bekletmeye göre daha fazla olduğu görölmüştür (Çizelge 2) ve bu fark ANOVA testi ile doğrulanmıştır. Burada da suda bekletmeye göre çalkalama uygulamasında %3, çalkalamalı su ile ozon uygulamasında ise yaklaşık %13'lük bir fark vardır. 30 saniye gibi kısa bir uygulama süresinde bile chlorpyrifos miktarı %86 kadar azaltılabilmektedir. Ayrıca EC formölsasyona sahip chlorpyrifos aktif maddeye sahip bitki koruma ürünleri suda çözönmeyip, organik çözücülerde çözöünebilmektedir.

Chlorpyrifosun sulu ortamda özellikle serbest Cl varlığında hızla degrade olduğu diğer çalışmalarda görülmüş (34), bu çalışmada çıkan sonuçlar bu durumu doğrular niteliktedir.

Bilindiği üzere ozon çok kuvvetli bir oksidandır ve askorbik asit ve renk üzerinde etkisi söz konusudur. Dolayısıyla pestisit giderimi yapılırken oksidasyona duyarlı ögelerin durumunun bilinmesi önem taşımaktadır. Ozonlanan örneklerdeki renk ve askorbik asit düzeyleri sırasıyla Çizelge 3 ve Çizelge 4'de verilmiştir. Çizelge 3'ten görüleceği üzere ilaçlanan domateslere uygulanan ozonlama işlemi ile azoxystrobinde %39 gibi yüksek düzeyde bir pestisit giderimi sağlanmasına karşın (Çizelge 2) domateste kırmızılık (a/b) değeri üzerinde ancak %4'lük sınırlı bir azalma oluşmuştur. Pestisit giderimi oranının %20-25'lerde tutulması hedeflenirse bu oranın ancak %1-2'lerde kalacağı düşünülebilir ki bu önemsiz bir renk kaybı anlamına gelecektir. Chlorpyrifos için de aynı durum geçerlidir ve burada domateslerin doğrudan 30 saniye ozonlanmasında pestisit oranında %86 azalma söz konusuysen renk kaybı (a/b) ancak %3 kadardır. Bu süre %20-25'lik azalma için 5-10 saniyelerde tutulduğunda renk kaybı azoxystrobinde olduğu gibi ancak %1-2'lerde olacaktır. Nitekim gaz ozonla çileklerde pestisit giderimi üzerinde yapılan bir çalışmada (37) işlem sonrası 4°C'de 10 gün muhafaza ile meyvelerde pH ve renk değerlerinde anlamlı bir değişim gözlemlenmediği bildirilmiştir.

Gene gaz ozonla domateslerde yapılan benzer bir çalışmada (36), domates meyvelerinde renk,

ağırlık, şeker miktarı, asitlik ve antioksidan kapasitesi gibi özelliklerinde herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir.

Azoxystrobin ozonla gideriminin askorbik asit üzerine etkisi ele alındığında (Çizelge 4) her ne kadar askorbik asit düzeyleri arasında bir miktar fark görünüyorsa da Duncan testine göre, ozon uygulanmış ve uygulanmamış örnekler aynı grupta yer almaktadır. Dolayısıyla görülen azalma BKÜ uygulamasından değil, muhtemelen askorbik asidin sudaki yüksek çözünürlüğünden kaynaklanmaktadır. Benzer durum chlorpyrifos uygulaması için de büyük ölçüde geçerlidir (Çizelge 4). Burada ozon uygulaması ile uygulanmaması arasında ancak %2'lik bir fark söz konusudur. Çizelge 2'de 30 saniyelik bir ozon uygulamasıyla bile %86'lık bir chlorpyrifos gideriminin olduğu görülmektedir. Dolayısıyla gene hedeflenen %20-25'lik giderim için süre 10 saniye civarında tutulduğunda düzeyleri arasındaki bu fark da muhtemelen ortadan kalkacaktır ki kayıp aynı kalsa bile %2'lik bir askorbik asit kaybının, elde edilen yüksek giderim düşünüldüğünde önemli olmayacağı açıktır. Yapılan bir çalışmada da (35) dilimlenmiş domateslere gaz ozon uygulanması ile domateslerin askorbik asit miktarı ve renk değerlerinde belirgin bir değişim gözlemlenmediği belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada ele alınan iki pestisit düzeylerinin ozonlama ile etkin bir şekilde azaltılabileceği ve yapılan işlemin renk ve askorbik asit üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmadığı ortaya konulmuştur.

Çizelge 3. Ozonlama işleminin domateslerde renk üzerine etkileri
Table 3. Effects of ozonation on colour of tomatoes

Aktif madde ve uygulanan işlem Active ingredient and treatment	L	a	b	a/b	% azalma (a/b) Reduction, % (a/b)
Azoxystrobin					
İlaçsız domates <i>Untreated tomatoes</i>	40.2±2.5	31.6±3.1	31.5±2.5	1.00 ^A	-
Suda 5 dakika ozon uygulaması <i>5 min ozone treatment in water</i>	41.2±3.0	31.3±3.2	32.6±3.0	0.96 ^{AB}	4.0±1.6 ^A
Suda 5 dakika azot uygulaması <i>5 min nitrogen treatment in water</i>	40.2±2.9	30.3±2.9	30.9±2.9	0.98 ^A	2.0±0.7 ^B
5 dakika suda bekletme <i>5 min soaking</i>	41.4±2.3	31.4±3.1	32.5±2.8	0.96 ^{AB}	4.0±0.6 ^A
İlaçlı kontrol <i>Pesticide applied control</i>	40.3±2.9	30.3±2.5	31.6±3.0	0.95 ^B	5.0±0.4 ^C
Chlorpyrifos					
İlaçsız domates <i>Untreated tomatoes</i>	39.9±2.3	32.9±2.4	32.7±3.9	1.00 ^A	-
Suda 30 saniye ozon uygulaması <i>30 sec ozone treatment in water</i>	38.3±2.5	32.3±3.1	33.2±2.8	0.97 ^{AB}	3.0±0.8 ^A
Suda 30 saniye azot uygulaması <i>30 sec nitrogen treatment in water</i>	39.4±2.4	31.5±3.2	31.9±3.4	0.99 ^A	1.0±0.6 ^B
30 saniye suda bekletme <i>30 sec soaking</i>	39.5±2.1	32.8±3.0	33.3±3.3	0.99 ^A	1.0±0.4 ^B
İlaçlı kontrol <i>Pesticide applied control</i>	39.5±2.6	31.5±3.2	33.3±2.2	0.95 ^B	5.0±2.3 ^C

A-C: Her bir aktif madde için sütunlardaki farklı harfler istatistik olarak farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

A-C: Different letters in columns indicating a statistically significant difference ($P<0.05$) for each active ingredient.

TEŞEKKÜR

Bu makale TÜBİTAK tarafından desteklenen 110 O 201 nolu projenin sonuçlarının bir bölümünden yararlanılarak hazırlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Aksu P. 2007. Meyve ve Sebzelerdeki Pestisit Kalıntılarının Tayininde Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrofotometresi (GC/MS) ile Çoklu Kalıntı Analiz Yönteminin Geliştirilmesi, (Doktora Tezi, basılmamış), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği ABD, İzmir.
2. Holland PT, Hamilton D, Ohlin B, Skidmore W. 1994. Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. *Pure and Appl Chem.* 66:335-356.
3. Guzel-Seydim ZB, Grene AK, Seydim AC. 2004. Use of ozone in the food industry. *Lebensm. Wiss- u Tech.* 37:45-460.
4. Karaca H, Velioglu YS. 2009. Effects of some metals and chelating agents on patulin degradation by ozone. *Ozone Sci Eng.* 31:224-231.
5. Karaca H, Velioglu YS, Nas S. 2010. Mycotoxins: contamination of dried fruits & degradation by ozone. *Toxin Rev.* 29:51-59.
6. Hwang ES, Cash JN, Zabik MJ. 2001. Postharvest treatments for the reduction of mancozeb in fresh apples. *J Agric Food Chem.* 49: 3127-3132.
7. Hwang ES, Cash JN, Zabik MJ. 2001. Ozone and hydrogen peroxyacetic acid treatment to reduce or remove EBDCs and ETU residues in a solution. *J Agric Food Chem.* 49:5689-5694.

8. Wu JG, Luan TG, Lan CY, Lo WH, Chan GYS. 2007. Efficacy evaluation of low-concentration of ozonated water in removal of residual diazinon, parathion, methyl-parathion and cypermethrin on vegetable. *J Food Eng.* 79: 803-809.
9. Kim JG, Yousef AE, Dave S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *J Food Protect.* 62:1071-1087.
10. Kim JG, Yousef AE, Khadre MA. 2003. Ozone and its current and future application in the food industry. *Adv Food Nutr Res.* 45:167-218.
11. Chu W, Ching MH. 2003. Modeling the ozonation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid through a kinetics approach. *Water Res.* 37:39-46.
12. Ku Y, Lin HS. 2002. Decomposition of phorate in aqueous solution by photolytic ozonation. *Water Res.* 36:4155-4159.
13. Chen WR, Sharpless C, Linden KG, Suffet IH. 2003. Treatment of organophosphate pesticides on the EPA contaminant candidate list using ozonation, International Ozone Assoc. 16th World Congress 31 Aug -5 Sept. Las Vegas Nevada USA. pp: 261-274.
14. Masten SJ, Tian M, Upham BL, Trosko JE. 2001. Effect of selected pesticides and their ozonation by products on gap junctional intercellular communication using rate liver epithelial cell lines. *Chemosphere* 44:457-465.
15. Ma J, Graham NJD. 2000. Degradation of atrazine by manganese-catalysed ozonation-influence of radical scavenges. *Water Res.*34:3822-3828.

Çizelge 4. Ozonlama işleminin domateslerde askorbik asit üzerine etkileri
Table 4. Effects of ozonation on ascorbic acid contents in tomatoes

Aktif madde ve uygulanan işlem Active ingredient and treatment	Askorbik asit (mg/kg) Ascorbic acid (mg/kg)	Askorbik asit (mg/kg KM) Ascorbic acid (mg/kg DM)	% azalma Reduction (%)
<i>Azoxystrobin</i>			
İlaçsız domates <i>Untreated tomatoes</i>	121.9±1.41	2299.7±26.78	---
Suda 5 dakika ozon uygulaması <i>5 min ozone treatmnt in water</i>	112.7±0.33	2127.4±6.21	7.49±0.27 ^A
Suda 5 dakika azot uygulaması <i>5 min nitrogen treatment in water</i>	113.4±0.97	2139.5±18.15	6.98±0.80 ^A
5 dakika suda bekletme uygulaması <i>5 min soaking</i>	111.7±1.39	2108.1±26.44	8.33±1.15 ^A
İlaçlı kontrol <i>Pesticide applied control</i>	1110±4.57	2093.9±86.36	8.94±3.76 ^A
<i>Chlorpyrifos</i>			
İlaçsız domates <i>Untreated tomatoes</i>	162.8±4.02	3071.5±75.77	---
Suda 30 saniye ozon uygulaması <i>30 sec ozone treatment in water</i>	147.3±3.96	2278.6±74.88	9.54±2.44 ^{AB}
Suda 30 saniye azot uygulaması <i>30 sec nitrogen treatment in water</i>	151.0±2.43	2848.7±46.03	7.25±1.50 ^B
30 saniye suda bekletme uygulaması <i>30 sec soaking</i>	148.1±0.57	2794.5±10.84	9.02±0.35 ^{AB}
İlaçlı kontrol <i>Pesticide applied control</i>	141.4±2.22	2667.9±41.78	13.14±1.36 ^C

A-C Her bir aktif madde için aynı sütündeki farklı harfler istatistiki olarak farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

A-C: Different letters in columns indicating a statistically significant difference ($P<0.05$) for each active ingredient ($P<0.05$).

16. Ku Y, Chang JL, Shen YS, Lin SY. 1998. Decomposition of diazinon in aqueous solution by ozonation. *Water Res.* 32:1957-1963.
17. Chiron S, Rodriguez A, Fernandez-Alba A. 1998. Application of gas and liquid chromatography-mass spectrometry to the evaluation of pirimiphos methyl degradation products in industrial water under ozone treatment. *J Chromatogr A.* 823:97-107.
18. Tahmassebi LA, Nelieu S, Kerhoas L, Einhorn J. 2002. Ozonation of chlorophenylurea pesticides in water: reaction monitoring and degradation pathways. *Sci Total Env.* 291:33-44.
19. Agüera A, Almansa E, Tejedor A, Fernández-Alba A. 2000. Photocatalytic pilot scale degradation study of pyrimethanil and of its main degradation products in waters by means of solid-phase extraction followed by gas and liquid chromatography with mass spectrometry detection. *Env Sci Tech.* 34:1563-1571.
20. Hwang ES, Cash JN, Zabik MJ. 2002. Degradation of mancozeb and ethylenethiourea in apples due to postharvest treatments and processing. *Food Chem Tox.* 67:3295-3300.
21. Ölmez T, Tünay O, Bahnemann D. 2006. Çoklu substrat sistemlerinde bentazonun ozon oksidasyonu ile giderim mekanizmasının incelenmesi. *İTÜ Dergisi* 16:103-114.
22. Ikeura H, Kobayashi F, Tamaki M. 2011. Removal of residual pesticide, fenitrothion, in vegetables by using ozone microbubbles. *J Food Eng.* 103:345-349.
23. Ikeura H, Kobayashi F, Tamaki M. 2013. Ozone microbubble treatment at various water temperatures for the removal of residual pesticides with negligible effects on the physical properties of lettuce and cherry tomatoes. *J Food Sci.* 78:350-355.
24. Ikeura H, Hamasaki S, Tamaki M. 2013. Effects of ozone microbubble treatment on removal of residual pesticides and quality of persimmon leaves. *Food Chem.* 138:366-371.
25. Lin L, Xie M, Liang Y, He Y, Chan GY, Luan T. 2012. Degradation of cypermethrin, malathion and dichlorvos in water and on tea leaves with O₃/UV/TiO₂ treatment. *Food Control* 28:374-379.
26. Kuşvuran E, Yıldırım D, Mavruk F, Ceyhan M. 2012. Removal of chlorpyrifos ethyl, tetradifon and chlorothalonil pesticide residues from citrus by using ozone. *J Hazard Mat.* 241-242: 287-300.
27. Chen JY, Lin YJ, Kuo WC. 2013. Pesticide residue removal from vegetables by ozonation. *J Food Eng.* 114:404-411.
28. Karaca H, Walse SS, Smilanick JL. 2012. Effect of continuous 0.3 µL gaseous ozone exposure on fungicide residues on table grape berries. *Postharvest Biol Technol.* 64:154-159.
29. Metzger C, Barnes JD, Singleton I, Andrews P. 2007. Effect of low level ozone-enrichment on the quality and condition of citrus fruit under semi-commercial conditions. *IOA Conference and Exhibition*, Valencia, Spain, pp: 5.11:1-7.
30. Tomlin CDS. 2003. The e-Pesticide Manual (13th ed. ver. 3.0 2003-04) British Crop Protection Council, UK.
31. Lehotay SJ, Kok A, Hiemstra M, Bodegraven P. 2005. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *JAOAC Int.* 88:595-614.
32. Reyes LF, Villareal JE, Zevallos LC. 2007. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit and vegetable tissue. *Food Chem.* 101:1254-1262.
33. SPSS Statistics Data Editor 17.0 License Authorization Wizard <http://cs.its.uiowa.edu/software/documents/SPSS17.0MacintoshSiteLicenseInstallationInstructions.pdf>
34. Duirk SE, Collette TW. 2006. Degradation of chlorpyrifos in aqueous chlorine solutions: Pathways, kinetics, and modeling. *Environ Sc. Technol.* 40: 546-551.
35. Heleno FF, de Queiroza ME, Neves AA, Freitas RS, Faroni LR, DeOliviera AF. 2014. Effects of ozone fumigation treatment on the removal of residual difenoconazole from strawberries and on their quality. *J Environ Sci Health B.* 49:94-101.
36. Rodoni L, Casadei N, Concellon A, Alicia ARC, Vicente AR. 2010. Effect of short-term ozone treatments on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality and cell wall degradation. *J Agric Food Chem.* 58:594-599.
37. Aguayo E, Escalona VH, Artes F. 2006. Effect of cyclic exposure to ozone gas on physicochemical, sensorial and microbial quality of whole and sliced tomatoes. *Postharvest Biol Technol.* 39:169-177.