

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**PESTİSİT KALINTILARININ OZON UYGULAMASI İLE ZEYTİNLERDEN
UZAKLAŞTIRILMASI VE ZEYTİNYAĞINA GEÇİŞ DÜZEYİNİN
BELİRLENMESİ**

Sevilay KIRIŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2014**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sevilay KIRIŞ tarafından hazırlanan “**Pestisit kalıntılarının ozon uygulaması ile zeytinlerden uzaklaştırılması ve zeytinyağına geçiş düzeyinin belirlenmesi**” adlı tez çalışması 18/04/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Y. Sedat VELİOĞLU

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN
Ankara Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Aziz TEKİN
Ankara Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU
Ankara Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN
Ankara Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Behiç MERT
Orta Doğu Teknik Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim DEMİR

Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

18/04/2014

Sevilay KIRIŞ

ÖZET

Doktora Tezi

PESTİSİT KALINTILARININ OZON UYGULAMASI İLE ZEYTİNLERDEN UZAKLAŞTIRILMASI VE ZEYTİNYAĞINA GEÇİŞ DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Sevilay KIRIŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Y. Sedat VELİOĞLU

Bu çalışmada; farklı sürelerde (2 ve 5 dakika) musluk suyu ve ozonlu su ile yapılan yıkama uygulamalarının, farklı yapıdaki bazı pestisitlerle ilaçlanan zeytin örneklerindeki pestisit kalıntılarını giderimindeki etkisi belirlenmiş ve bu kalıntıların proses sonrasında zeytinyağına geçme oranları gösterilmiştir. Ayrıca, yıkama uygulamalarının zeytinyağının önemli kalite parametreleri olan peroksit değeri, serbest yağ asitliği değeri, UV bölgede özgül soğurma değeri ve yağ asitleri kompozisyonu üzerine etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla öncelikle zeytin ve zeytinyağı örneklerinde pestisit kalıntılarının analizleri için kullanılan metotların metot performans kriterleri belirlenmiştir.

Uygulanan analiz metotları incelenen tüm pestisitler için test edilen doğrusalılık, gerçeklik, tekrarlanabilirlik, seçicilik, tespit limiti gibi kriterler açısından uygun bulunmuştur. Su ve ozonlu su ile yıkama, lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin ve deltamethrinde yapılan 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması hariç, test edilen tüm pestisitlerde kontrol örneğine göre önemli oranda pestisit kalıntılarının zeytinlerden uzaklaşmasını sağlamıştır ($P < 0,05$). Genel olarak uygulama süresi uzadıkça pestisit kalıntılarının azalma oranları ozonlu su ile yıkama uygulamasında artarken ($P < 0,05$), su ile yıkama uygulamasında fazla değişmemiştir ($P > 0,05$). Uygulamalar arasında fark yaratacak şekilde en fazla azalma, 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasında chlorpyrifos, beta-cyfluthrin, alpha-cypermethrin ve imidaclopridde sırasıyla %38, %50,6, %55,5 ve %61,2 oranlarında gerçekleşmiştir. Zeytinyağına işleme prosesi sırasında imidacloprid zeytinyağına geçmezken, kontrol grubundaki dimethoate hariç incelenen diğer aktif maddelerin miktarları zeytindekine göre artmıştır (işleme faktörü > 1). İşleme faktörü değerlerinde, su ile yıkama uygulaması dimethoatede yapılan 5 dakika su ile yıkama uygulaması hariç, önemli bir değişime yol açmazken ($P > 0,05$), ozonlu su ile yıkama uygulaması chlorpyrifos, dimethoate, beta-cyfluthrin, diflubenzuron ve triflumuronda değişime neden olmuştur ($P < 0,05$). Uygulamalar sonucunda zeytinyağı örneklerinde belirlenen peroksit, serbest yağ asitliği ve UV bölgede özgül soğurma değerleri (K_{270}) ile yağ asitleri dağılımı Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine uygun bulunmuştur.

Nisan 2014, 127 sayfa

Anahtar Kelimeler: zeytin, zeytinyağı, ozon, pestisit, kalıntı, uzaklaştırma

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

PESTICIDE REMOVAL FROM OLIVES BY OZONE TREATMENT AND THEIR TRANSITION RATIOS DURING OLIVE OIL PRODUCTION

Sevilay KIRIŞ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Y. Sedat VELİOĞLU

In this study, the effects of washing at different times (2 and 5 minutes) with tap water and ozonated water on the removal of pesticide residues sprayed to olive samples were determined and their transition ratios during olive oil production were revealed. Besides, the effects of washing applications on the important quality parameters, such as peroxide value, free fatty acids, specific absorption rate in the UV region and fatty acid composition were examined. For this purpose, the method performance criteria of the methods used for the pesticide residue analysis from olive and olive oil samples were first determined.

The applied method of analysis were found to be suitable according to criteria of linearity, trueness, repeatability, selectivity and limit of quantification. Washing with tap water and ozonated water provided a significant removal of pesticide residues from olives ($P < 0,05$) with the exception of 2 minutes ozonated water washing in lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin and deltamethrin. Generally, extending the application time increased the reduction ratios of pesticide in ozonated water washing ($P < 0,05$), but did not make significant change in tap water washing ($P > 0,05$). Among applications, the maximum reduction with significant difference was achieved after 5 minutes of ozonated water washing in the contents of chlorpyrifos, beta-cyfluthrin, alpha-cypermethrin and imidacloprid, in the ratios of 38%, 50,6%, 55,5% and 61,2% respectively. During olive oil processing, imidacloprid did not pass into olive oil but the level of all the other active substances increased in olive oil as compared to olives except dimethoate in control grup (processing factor > 1). Washing with tap water, with the exception of 5 minutes tap water washing in dimethoate, did not make a significant change ($P > 0,05$) in the processing factor values but ozonated water washing provided significant change ($P < 0,05$) in the content of chlorpyrifos, dimethoate, beta-cyfluthrin, diflubenzuron and triflumuron. After all applications, the determined peroxide, free fatty acid, specific absorption rate in the UV region (K_{270}) values and fatty acid composition were consistent with Turkish Food Codex Communique of Olive Oil and Pomace Oil.

April 2014, 127 pages

Key Words: olive, olive oil, ozone, pesticide, residue, removal

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde ve çalışmalarım sırasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği), araştırma süresince yaptıkları değerli öneri ve katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi üyeleri değerli hocalarım Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma) ve Prof. Dr. Aziz TEKİN'e (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği), zeytin örneklerin temini konusundaki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Aslı YORULMAZ'a (Adnan Menderes Üniversitesi Gıda Mühendisliği), ozonlama ve zeytinyağına işleme prosesi sırasındaki yardımlarından dolayı danışman hocamın öğrencileri Yeşim KÖLÜK ve Merve YİĞİT'e, istatistiksel analizlerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde yardımcı olan arkadaşım Dr. Esra ALPÖZEN'e (İzmir Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü) teşekkür ediyorum.

Bu çalışmanın analiz bölümü Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvar Müdürlüğü'nde gerçekleştirilmiştir. Başta kurum müdürüm sayın Dr. Berrin ŞENÖZ ve mesai arkadaşım Fazıl DİLER olmak üzere benden esirgemedikleri laboratuvar olanakları ve kişisel destekleri için tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Son olarak desteklerini hayatım boyunca hissettiğim aileme teşekkür ediyorum.

Sevilay KIRIŞ

Ankara, Nisan 2014

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| TEZ ONAY SAYFASI | |
| ETİK | i |
| ÖZET..... | ii |
| ABSTRACT..... | iii |
| ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR..... | iv |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | vii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | viii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ..... | 3 |
| 2.1 Pestisitler..... | 3 |
| 2.2 Pestisitlerin Giderimi..... | 11 |
| 2.3 Pestisit Analizleri..... | 13 |
| 2.4 Zeytin ve Zeytinyağı..... | 15 |
| 2.4.1 Zeytin..... | 15 |
| 2.4.2 Zeytinyağı..... | 18 |
| 2.5 Ozon..... | 25 |
| 2.5.1 Ozonun genel özellikleri..... | 25 |
| 2.5.2 Ticari ozon üretimi..... | 28 |
| 2.5.3 Gıda sanayinde ozon uygulamaları..... | 30 |
| 2.5.4 Gıda maddelerinden pestisit kalıntılarının ozon uygulaması ile uzaklaştırılması..... | 34 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 41 |
| 3.1 Materyal..... | 41 |
| 3.1.1 Zeytin ve zeytinyağı örnekleri..... | 41 |
| 3.1.2 Kimyasallar..... | 41 |
| 3.2 Yöntem..... | 43 |
| 3.2.1 Zeytin örneklerinin ilaçlanmasında kullanılacak pestisitlerin, ilaçlama konsantrasyonunun ve spreylene solüsyon miktarının belirlenmesi..... | 43 |
| 3.2.2 Zeytinlerin ilaçlanması..... | 44 |
| 3.2.3 Zeytinleri ozonlu su ile yıkanması ve yıkama sürelerinin belirlenmesi.... | 46 |
| 3.2.4 Zeytinyağının elde edilmesi..... | 49 |
| 3.2.5 Pestisit tayini..... | 49 |
| 3.2.5.1 Zeytin örneklerinden pestisitlerin ekstraksiyonu..... | 49 |
| 3.2.5.2 Zeytinyağı örneklerinden pestisitlerin ekstraksiyonu..... | 50 |
| 3.2.5.3 GC-ECD koşulları..... | 51 |
| 3.2.5.4. GC-MS koşulları..... | 52 |
| 3.2.5.5 LC-MS/MS koşulları..... | 53 |
| 3.2.6 Bazı metot performans kriterlerinin belirlenmesi çalışmaları..... | 55 |
| 3.2.6.1 Kalibrasyon kurvesi..... | 55 |
| 3.2.6.2 Tayin limiti (LOQ)..... | 55 |
| 3.2.6.3 Gerçeklik ve tekrarlanabilirlik..... | 56 |
| 3.2.6.4 Seçicilik/Spesifiklik..... | 56 |
| 3.2.7 Zeytinyağı kalite analizleri..... | 56 |
| 3.2.7.1 Peroksit değeri tayini..... | 56 |

| | |
|--|------------|
| 3.2.7.2 Serbest yağ asitliği tayini..... | 57 |
| 3.2.7.3 UV bölgede özgül soğurma değeri..... | 57 |
| 3.2.7.4 Yağ asitleri kompozisyonu tayini..... | 58 |
| 3.2.8 İstatistiki analiz..... | 59 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 60 |
| 4.1 Pestisit Kalıntısı Analiz Metotlarının Metot Performans Kriterlerine İlişkin Bulgular..... | 60 |
| 4.1.1 Doğrusallık..... | 60 |
| 4.1.2 Gerçeklik ve tekrarlanabilirlik..... | 63 |
| 4.1.3 Tayin limiti (LOQ)..... | 68 |
| 4.1.4 Seçicilik/Spesifiklik..... | 69 |
| 4.2 Ozonlu Su ve Su ile Yıkama Uygulamalarının Zeytin Örneklerinden Pestisit Kalıntılarının Uzaklaştırılması Üzerine Etkisi..... | 70 |
| 4.2.1 Birinci grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamaların pestisit düzeylerine etkisi..... | 70 |
| 4.2.2 İkinci grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamaların pestisit düzeylerine etkisi..... | 74 |
| 4.2.3 Üçüncü grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamaların pestisit düzeylerine etkisi..... | 77 |
| 4.2.4 Yapılan uygulamaların zeytin örneklerindeki pestisit düzeylerine etkisine ilişkin genel değerlendirme..... | 80 |
| 4.3. Ozonlu Su ve Su ile Yıkama Uygulamalarının Pestisit Kalıntılarının Zeytinyağına Geçiş Düzeylerine Etkisine İlişkin Bulgular..... | 85 |
| 4.4 Su ve Ozonlu Su ile Yıkama Uygulamalarının Zeytinyağının Kalite Parametrelerine Etkisi..... | 95 |
| 4.4.1 Su ve ozonlu su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının peroksit değerine etkisi..... | 95 |
| 4.4.2 Ozonlu su ve su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının serbest yağ asitliği değerine etkisi..... | 96 |
| 4.4.3 Ozonlu su ve su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının UV bölgede özgül soğurma değerine etkisi..... | 97 |
| 4.4.4 Su ve ozonlu su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının yağ asitleri kompozisyonuna etkisi..... | 99 |
| 5. SONUÇ..... | 103 |
| KAYNAKLAR..... | 106 |
| EKLER..... | 119 |
| EK 1 Çalışmada kullanılan aktif maddelerin bazı fizikokimyasal özellikleri... | 120 |
| EK 2 Zeytinyağı işleme sırasında kullanılan kırıcı, yoğurucu ve pres..... | 121 |
| EK 3 Birinci grup pestisitler için örnek kromatogram (imidacloprid)..... | 123 |
| EK 4 İkinci grup pestisitler için örnek kromatogram (alpha-cypermethrin)... | 124 |
| EK 5 Üçüncü grup pestisitler için örnek kromatogram (chlorpyrifos)..... | 125 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 126 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|-----|
| Şekil 2.1 Türkiye’de ekonomik açıdan önem arz eden yağlık zeytin çeşitlerinin bölgesel olarak genel dağılımı..... | 17 |
| Şekil 2.2 Zeytin meyvesinin biyolojik yönden yapısı ve başlıca kısımlarının oranları..... | 17 |
| Şekil 2.3 Korona akım metodu şeması..... | 29 |
| Şekil 3.1 Zeytinlerin ilaçlanmasında kullanılan düzenek..... | 45 |
| Şekil 3.2 Ozon jeneratörü..... | 47 |
| Şekil 3.3 Ozon gazının suya verilmesi..... | 48 |
| Şekil 3.4 Yıkama işleminde kullanılan örgülü çelik sepet ve su banyosu..... | 48 |
| Şekil 3.5 Zeytinyağına işleme prosesi..... | 49 |
| Şekil 4.1 İkinci karışımda bulunan pestisitlerin zeytin örneklerindeki kromatogramları..... | 63 |
| Şekil 4.2 İkinci karışımda bulunan pestisitlerin zeytinyağı örneklerindeki kromatogramları..... | 64 |
| Şekil 4.3 Birinci grup zeytin örneklerinde uygulamalar sonrasındaki pestisit miktarlarının değişimi..... | 71 |
| Şekil 4.4 İkinci grup zeytin örneklerinde uygulamalar sonrasındaki pestisit miktarlarının değişimi..... | 75 |
| Şekil 4.5 Üçüncü grup zeytin örneklerinde uygulamalar sonrasındaki pestisit miktarlarının değişimi..... | 78 |
| Şekil 4.6 Yıkama uygulamalarının zeytinyağına geçen pestisit miktarına etkisi..... | 94 |
| Şekil 4.7 Yağ asitleri kompozisyonuna ilişkin örnek kromatogram..... | 101 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|--|-----|
| Çizelge 2.1 Kullanıldıkları zararlılara göre pestisitler..... | 4 |
| Çizelge 2.2 Pestisitlerin sağlık üzerine etkilerine göre sınıflandırılması..... | 9 |
| Çizelge 2.3 Pestisitlerin akut toksisite yönünden sınıflandırılması..... | 10 |
| Çizelge 2.4 Ülkelere göre zeytinyağı ihracatımız | 22 |
| Çizelge 2.5 Zeytin yetiştiriciliğinde kullanılan başlıca pestisitler..... | 24 |
| Çizelge 2.6 Saf ozonun bazı özellikleri..... | 26 |
| Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan standart maddelere ilişkin bazı bilgiler..... | 42 |
| Çizelge 3.2 Zeytin örneklerinin ilaçlanmasında kullanılan 3 farklı pestisit grubundaki pestisitler ve MRL değerleri..... | 44 |
| Çizelge 3.3 Zeytin örneklerine yapılan uygulamalar..... | 46 |
| Çizelge 3.4 Pestisitlerin SIM parametreleri..... | 53 |
| Çizelge 3.5 LC-MS/MS cihazında analiz edilen pestisitlerin MRM parametreleri... | 54 |
| Çizelge 4.1 Zeytin ve zeytinyağı örneklerinin kalibrasyon kurvesine ilişkin bilgiler..... | 61 |
| Çizelge 4.2 Zeytin çalışmalarının gün içi geri alma ve tekrarlanabilirlik değerleri..... | 65 |
| Çizelge 4.3 Zeytinyağı çalışmalarının gün içi geri alma ve tekrarlanabilirlik değerleri..... | 66 |
| Çizelge 4.4 Zeytin örneklerinde yapılan uygulamalar sonucu kalan pestisit düzeyleri (ng/g) ve bunun oransal azalmaları (%) (n=3)..... | 72 |
| Çizelge 4.5 İncelenen aktif maddelerde en fazla azalmanın görüldüğü uygulamalar..... | 82 |
| Çizelge 4.6 Pestisitlerin kontrol ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması sonucundaki zeytin örneklerindeki konsantrasyonları ve MRL değerleri (ng/g)..... | 83 |
| Çizelge 4.7 Kontrol örneklerinin işleme faktörleri (n=3)..... | 86 |
| Çizelge 4.8 Ozonlu su ile 2 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)..... | 86 |
| Çizelge 4.9 Ozonlu su ile 5 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)..... | 87 |
| Çizelge 4.10 Su ile 2 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)..... | 87 |
| Çizelge 4.11 Su ile 5 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)..... | 88 |
| Çizelge 4.12 Uygulamalar sonucu belirlenen işleme faktörü değerleri (n=3)..... | 91 |
| Çizelge 4.13 Zeytinyağına geçen pestisit kalıntı oranları (%)..... | 92 |
| Çizelge 4.14 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların peroksit değerine etkisi (meq O ₂ /kg yağ) (n=3)..... | 95 |
| Çizelge 4.15 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların serbest yağ asitliği değerlerine etkisi (% oleik asit cinsinden) (n=3)..... | 97 |
| Çizelge 4.16 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların K ₂₃₂ değerine etkisi (n=3)..... | 98 |
| Çizelge 4.17 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların K ₂₇₀ değerine etkisi (n=3)..... | 98 |
| Çizelge 4.18 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların yağ asitleri kompozisyonuna etkisi (%) (n=3)..... | 102 |

1. GİRİŞ

Tarımsal üretimde pestlerden kaynaklanan sorunlarla mücadelede, yüksek etki göstermesi ve kullanım kolaylığı nedeniyle pestisit kullanımı en çok tercih edilen yöntemdir. Dünya genelinde 1000'in üzerinde aktif madde bu zararlılara karşı kullanılmaktadır (Fernandez-Alba ve Garcia-Reyes 2008). Pestisitlerin tarımsal uygulamalarda kullanılması ile hem dünya genelinde gıda üretim miktarı artmış (Wilson ve Tisdell 2001, Gonzalez-Rodriguez vd. 2008) hem de daha kaliteli ürün elde edilmiştir (Fenol vd. 2007). Tarımsal üretimdeki bu yararlarının yanında, pestisitler oldukça yüksek toksik etkiye sahip bileşiklerdir ve çevresel koşullara karşı da oldukça dirençlidirler (Beyer ve Biziuk 2008, Krueve vd. 2008). Yüksek oranda pestisit kalıntısı içeren gıdalar ile beslenen insanlar ve çevredeki diğer canlılarda akut ve kronik zehirlenmeler görülebilmektedir.

Zeytinyağı, dünya üzerinde ülkemizin de yer aldığı Akdeniz kuşağına özgü zeytin ağacının (*Olea europaea*) meyvesinden yağın kalitesini değiştirmeyen koşullarda fiziksel yöntemlerle üretilen ve çoğunlukla daha sonra herhangi bir işlem yapılmadan tüketilen doğal bir yağdır (Garcia-Reyes vd. 2007, Dıraman vd. 2009). Zeytinyağının kalitesi öncelikle hammaddenin kalitesi ile ilgilidir. Hammaddede yüzey lekeleri, yara izleri, delikler veya haşerelerin neden olduğu diğer zararlar olmamalıdır (Cunha vd. 2010). Bu nedenle pestisit uygulaması kalitenin ve randımanın artmasında önemlidir (Garcia-Reyes vd. 2007). Özellikle pestisitler, zeytin kurdu, zeytin pamuklu biti, zeytin sineği, zeytin çiçek sap sokanı, zeytin güvesi, zeytin yara koşnili, zeytin kabuklu biti ve zeytin kırlangıç böceği ile mücadelede kullanılarak hasat ve üretim kayıplarını önemli ölçüde azaltmaktadır (Yücer 2010). Buna karşın kullanılan bu pestisitlerin kalıntıları zeytinlerde ve dolayısıyla da zeytinyağlarında zaman zaman bulunabilmektedir. Bununla birlikte, zeytin ve zeytinyağlarında pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması için yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Ozon kuvvetli bir oksidan maddedir ve oksitleyici etkisi klordan yaklaşık 1,5 kat daha fazladır. Ozon; klor ve diğer dezenfektanlara göre daha geniş mikroorganizma spektrumuna etkilidir (Xu 1999). Ozon özellikle fenolik halkaya veya doymamış

bağlara sahip bazı organik bileşikleri okside edebilmekte, içme ve kullanım sularındaki pestisitleri ve gıdalardaki bazı mikotoksinleri azaltabilmektedir (Smilanick vd. 1999). Yapılan çalışmalarda kuvvetli bir oksidan olan ozon gazının pestisit gideriminde oldukça etkili olduğu gösterilmiştir (Wu vd. 2009). Ancak, kullanılacak olan ozonun dozunun çok duyarlı bir şekilde saptanamaması durumunda gıdanın bileşiminde yer alan bazı besin öğelerinin de okside olması söz konusu olabilmektedir.

Bu tez çalışması ile ozon uygulamasının zeytinyağına işlenecek zeytin örneklerinde farklı yapıdaki bazı pestisitleri ne düzeyde giderilebileceği, zeytinyağının önemli kalite parametreleri üzerine etkisi ve bu kalıntıların proses sonrasında zeytinyağına geçme oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Pestisitler

Bitki ve hayvanlara zarar veren canlı organizmalara karşı kullanılan kimyasal ilaçların tümüne pestisit adı verilmektedir (Karakaya ve Boyraz 1992). Bu organizmalar büyüme evrelerinde bitkinin tüm kısımlarını istila ederek %20-%50 arasında verim kaybına neden olabilmektedirler. Çiftçiler zararlı organizmalarla mücadelede kimyasal ilaç kullanımını kültürel, mekaniksel, biyolojik ve kimyasal metotlar gibi farklı kontrol önlemleri arasından çabuk sonuç verdiği için tercih etmektedirler (Nguyen vd. 2010). Kimyasal ilaçlar, bilinçli ve kontrollü kullanıldıklarında ekonomiktirler ve ürünü toksin salgılayan organizmalardan da koruyabilirler. Pestisitlerin tarımsal uygulamalarda kullanılması dünya genelinde gıda üretim miktarını arttırmıştır (Wilson ve Tisdell 2001, Gonzalez-Rodriguez vd. 2008). Aynı zamanda da elde edilen ürünün kalitesini geliştirmiştir (Fenoll vd. 2007, Bidari vd. 2011). Ayrıca pestisitler hasat sonrasında depolama sırasında ürün kalitesinin korunması için de kullanılmaktadırlar (Hercegova vd. 2007, Romero-Gonzalez vd. 2008). Dünya genelinde 1000'in üzerinde aktif madde bu zararlılara karşı kullanılmaktadır (Fernandez-Alba ve Garcia-Reyes 2008).

Pestisitler kullanıldıkları zararlılara göre insektisitler, fungusitler, bakterisitler, herbisitler, akarisitler, rodentisitler, afisitler, mollussisitler, nematositler, repellentler gibi; molekül yapılarındaki fonksiyonel gruplara göre organoazotlu, organohalojenli, organik fosforlu, organosulfürlü, karbamatlı...vb. olarak da sınıflandırılabilirler (Ahmed 2001). Herbisitler tarım ilaçları içinde %47'lik bir payla birinci sırayı almaktadır. Bunu %29 ile insektisitler izlemektedir. Fungisitlerin ise %19'luk bir payı bulunmaktadır. Herbisitler ve insektisitler, kullanımın %70'den fazla bir bölümünü oluşturmaktadır. Diğer pestisit grupları ise %5'lik bir paya sahiptirler. Kullanıldıkları zararlılara göre pestisitler çizelge 2.1'de verilmiştir (Tiryaki vd. 2010).

Çizelge 2.1 Kullanıldıkları zararlılara göre pestisitler (Tiryaki vd. 2010)

| Pestisit Sınıfı | Etki Ettiği Zararlı Grubu |
|------------------------|----------------------------------|
| İnsektisitler | Böcekler |
| Fungusitler | Funguslar |
| Herbisitler | Yabancı otlar |
| Akarasitler | Akarlar |
| Bakterisitler | Bakteriler |
| Molluskisitler | Yumuşakçalar |
| Rodentisitler | Kemirgenler |
| Nematisidler | Nematodlar |

Pestisitler ayrıca sistemik ve kontakt (yüzey pestisiti) etkili olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Sistemik pestisitler bitki dokusuna nüfuz eder ve doku içinde çeşitli bölgelere taşınıp yerleşerek etki gösterirler. Böylece etkileri daha uzun sürer. Kontakt pestisitler ise yağmur, rüzgar ve güneş ışığında uzun süre kalıcılıklarını koruyamazlar bu nedenle etki süreleri kısadır (Ayaz ve Yurttagül 2012).

Pestisitler tarımsal üretimdeki yararlarının yanında oldukça yüksek toksik etkiye sahip bileşenler içerirler ve çevresel koşullara karşı da oldukça dirençlidirler (Beyer ve Biziuk 2008, Kruve vd. 2008). Pestisitlerin aşırı ve/veya yanlış kullanımları, zararlıların pestisitlere karşı direnç kazanmasına da yol açmaktadır. 2007 yılı itibari ile pestisite maruz kalınması sonucunda 553 eklem bacaklı türünün en az bir insektisit veya akaraside karşı dayanıklı hale geldiği bildirilmiştir. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın verilerine göre ülkemizde 2012 yılında yaklaşık 922,619 TL değerinde, 52,397 kg'dan fazla pestisit bayilere satılmıştır (Anonim 2014).

Aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu artan pestisit tüketimi çevre kirlenmesi ve insan sağlığı açısından çeşitli sorunların ortaya çıkmasına yol açmıştır. Söz konusu bu kimyasal maddelerin ürünler üzerindeki kalıntılara ise pestisit kalıntısı ismi verilmektedir (Soyel 2004). Bulunmasına izin verilen en yüksek pestisit kalıntı miktarı, maksimum kalıntı limiti (Maximum Residue Level, MRL) olarak tanımlanmakta ve 1

kg üründe bulunmasına izin verilen mg aktif madde (mg/kg) olarak ifade edilmektedir (Dömötörova ve Matisova 2008).

Uluslararası düzeyde, Birleşmiş Milletler bünyesinde görev yapan Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) ve Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organization, FAO)'nun bünyesinde oluşturulan Kodeks Alimentarius Komisyonu (Codex Alimentarius Commission, CAC) 1962'den; Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA) 1976'dan itibaren gıda güvenliği açısından pestisit kalıntılarını değerlendirmekte ve gıdalarda bulunabilecek maksimum kalıntı limitlerini belirlemektedir. Avrupa Birliği de birçok pestisit için gıdalarda bulunmasına izin verilen MRL miktarlarını belirlemiştir (Anonymous 2009a).

Ülkemizde pestisit kalıntı limitleri Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından belirlenmektedir. Uygulamalar 91/414/EEC sayılı Avrupa Birliği Direktifi ve 396/2005/EC sayılı Avrupa Birliği Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü'nün ilgili hükümleri dikkate alınarak çıkarılan Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'ne göre yapılmaktadır ve AB uyum çalışmaları gereğince sürekli güncellenmektedir (Anonim 2011).

Pestisitlerin yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılmaları sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kalıntıları ortaya çıkmış ve bulunan miktarların yüksekliği dikkat çekmiştir (Lambropoulou ve Albanis 2007). Pestisitler uygulandıkları alanlardan fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak rüzgar, yağmur gibi etkenlerle başka yerlere sürüklenerek çevre sorunlarına neden olmaktadır. Bir kısmı buharlaşarak atmosferde kalıcı toksik madde birikimine sebep olurken bir kısmı da fotokimyasal yolla parçalanarak toksik veya toksik olmayan maddelere dönüşmektedir. Diğer bir bölümü de toprakta tutulmakta, toprağı kirletmekte ve toprak içinde kimyasal ve mikrobiyolojik parçalanma tepkimeleri geçirmektedir. Bir kısmı ise yağmur, sel ve kar suları ile topraktan sürüklenmekte, nehir, göl ve deniz sularını kirletmektedir. Tarımda pestisitlerin kullanılması nedeniyle hava, toprak ve su zamanla kirletilmektedir. Bu sebeple pestisitler, doğal besin zincirinde yer alan tüm canlıların hayatını tehdit etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 1995 yılında yayınlanan raporuna göre,

her yıl dünyada yaklaşık 1 milyon insan pestisit kaynaklı nedenlerle zehirlenmekte, 20,000 kadarı da ölmektedir (Erdoğan 2010). Kalıntı riski en fazla olan ürünler, hasattan hemen sonra tüketime sunulan taze sebze ve meyvelerdir. Diğer bir risk grubu ise depolanmış ürünlerdir. Depolarda insektisit ve fungusitlerin yanlış kullanımı kalıntı riskini önemli ölçüde arttırmaktadır.

Hammaddelerin işlenmesi sırasında uygulanan işlemler son ürünlerdeki pestisit kalıntı miktarını farklı oranlarda etkilemektedir. Uygulamalar sırasında, hammaddedeki pestisit kalıntısı miktarları kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlar (hidroliz, oksidasyon, mikrobiyal degradasyon vb.) ve fizikokimyasal prosesler (buharlaştırma, absorpsiyon vb.) ile değişebilmektedir. Bu nedenle de, endüstriyel proseslerde pestisitlerin işleme faktörleri pestisitlerin fizikokimyasal özelliklerine ve aynı zamanda da işlenen ürünün doğası ve yapısına bağlı olarak değişmektedir. Meyve işlemenin (yıkama, kabuk soyma, ısıl işlem vb.) son ürünlerdeki pestisit kalıntısını azalttığı ve/veya tamamen yok ettiği bilinmektedir. Meyve suyu, şarap ve reçel proseslerinde pestisitlerin işleme faktörlerinin düşük olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, bazı durumlarda, işlenmemiş ürünlerin proses sırasında konsantrasyonundan dolayı, örneğin kuru ve rafine edilmemiş bitkisel sıvı yağ üretiminde, kalıntı miktarı son üründe artabilmektedir (Amvrazi ve Albanis 2008). Bu nedenle işlenmiş ürünlerde işleme faktörlerinin belirlenerek son ürünlerdeki pestisit konsantrasyonunun bu faktöre göre değerlendirilmesi önemlidir.

Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'nde (Anonim 2011) işleme faktörü “işlenmiş ürünlerdeki pestisit kalıntı miktarının o işleme tabi tutulacak ürünlerdeki kalıntı miktarına oranı” şeklinde tanımlanmaktadır. İşleme faktörünün 1'den büyük olması proses sırasında kalıntı miktarının arttığını, 1'den küçük çıkması ise proses sırasında kalıntı miktarının azaldığını göstermektedir (Jiang vd. 2013).

Klorlu hidrokarbonlu ve organik fosforlu pestisitler etkilerinin yüksek, fiyatlarının ise düşük olması nedeni ile birçok zararlı ile mücadelede tercih edilen kimyasallardır (Frenich vd. 2007). Klorlu pestisitler yapılarında, karbon, hidrojen ve klor atomları içeren basit bir kimyasal sınıfı oluştururlar. 1940'lı yıllarda böcek öldürücü olarak

kullanıma giren bu ilaçlar günümüzde önemini kaybetmiştir ve kullanımdan kaldırılmaktadırlar. Bazıları çok kuvvetli insektisit özelliğine sahip Cyclodiene sınıfının ilk üyeleri 2. Dünya Savaşı'ndan hemen sonra sentezlenerek kullanıma girmiştir. Chlordane 1945, aldrin ve dieldrin 1948, heptachlor 1949, endrin 1954, endosulfan 1956 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Bu sınıf içerisindeki etken maddelerin en önemli özellikleri değişik doymamış bileşiklerin hexachlorocyclopentadiene ile reaksiyona girmesiyle üretilen yoğunlaştırılmış klor halkaları içermesidir (Anonim 2005b). Klorlu hidrokarbonlu pestisitlerin, lipofilik özellikleri ve stabiliteilerinin yüksekliği nedeniyle et, yumurta sarısı veya karaciğer gibi yağlı dokularda birikmeleri kolaydır. Bu nedenle de dirençli organik bileşikler (POPs) olarak ifade edilirler ve kolaylıkla gıda zincirine ulaşarak sağlık için risk oluşturabilirler (Frenich vd. 2007). Bu nedenle birçok klorlu hidrokarbonlu pestisit kullanımı yasaklanmıştır ya da kullanım miktarı sınırlandırılmıştır. Aldrin, chlordane, dieldrin, endrin, heptachlor, hexachlorobenzene (HCB), mirex ve toxaphene kullanımı 1980'lerden beri yasaklanmış olan klorlu hidrokarbonlu pestisitlere örnek olarak verilebilir. DDT'nin kullanımı ise 1995'ten sonra yasaklanmıştır (Ahmad vd. 2010). Türkiye'de kullanımına izin verilen hiçbir klorlu hidrokarbonlu pestisit (OCPs) bulunmamaktadır. Organik fosforlu pestisitler (OPPs), OCPs pestisitlere göre doğada daha az stabildirler (Frenich vd. 2007, Rodrigues vd. 2011). En fazla kullanılan OPPs insektisitlerden bazıları parathion, malathion ve diazinondur (Zacharia 2011). Dünyada pestisit tüketiminin yaklaşık %45'ini bu grup bileşikler oluşturmaktadırlar (Anonim 2005b). Ülkemizde ruhsatlandırılan teknik madde listesine ve yasaklanan bitki koruma ürünleri aktif madde listesine Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün web sitesinden ulaşılabilir (Anonim 2013a).

Pestisit zehirlenmelerinde organik fosforlu pestisitler ilk sırada gelmektedir. Ülkemizde 2008 yılında Ulusal Zehir Merkezi'ne yapılan pestisit zehirlenmesi başvurularının arasında en fazla (%47,66) zehirlenmeye yol açan grubun insektisitler olduğu bildirilmiştir. İnsektisit kaynaklı zehirlenmelerin %20,98'ini organik fosforlu insektisitler oluşturmaktadır. Organik fosforluların etki mekanizması asetilkolinesteraz enziminin baskılanmasına dayanmaktadır. Bir nörotransmitter olan asetilkolini, kolin ve asetik asite parçalayan asetilkolinesteraz, merkezi ve periferik sinir sisteminde,

nöromusküler birleşme noktalarında ve eritrositlerde bulunmaktadır. Sinir sinyallerinin sinir liflerinden düz kaslara ve iskelet kaslarına, salgı bezlerine ve otonom sinir düğümlerine, aynı zamanda merkezi sinir sistemi içerisinde iletilmesinin düzgün işleminde asetilkolinesteraz enziminin kritik bir görevi bulunmaktadır. Organik fosforlular, asetilkolinesteraz enzimini, aktif bölgesindeki serin aminoasitinin hidroksil grubunu fosforlayarak inaktif hale getirirler. Asetilkolinesteraz enzimi baskılandığında, sinir sisteminde asetilkolin birikmeye başlamakta ve bunun sonucunda muskarinik ve nikotinik reseptörler aşırı uyarılmaktadır. Bu duruma “kolinerjik sendrom” denilmektedir. Kolinerjik sinir kavşaklarında asetilkolin miktarının artması, düz kasların kasılmasına ve salgı bezlerinin salgı yapmasına sebep olmaktadır. İskelet kası kavşaklarında aşırı miktarda birikmiş asetilkolin uyarıcı olabileceği gibi, hücreyi paralyze de edebilmektedir. Merkezi sinir sisteminde yüksek miktardaki asetilkolin, duyuşsal ve davranışsal bozukluklara, koordinasyon bozukluğuna, motor fonksiyonların baskılanmasına ve solunum yetmezliğine yol açmaktadır. Solunum bozukluğuna eşlik eden artmış akciğer salgılarının, organik fosforlu zehirlenmelerinde görülen ölümlerin en sık karşılaşılan nedeni olduğu belirtilmektedir (Demiröğen 2010).

Yüksek oranda pestisit kalıntısı içeren gıdalar ile beslenen insanlar ve çevredeki diğer canlılarda akut ve kronik zehirlenmeler görülebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, gıdalardaki pestisit kalıntılarının vücuda alımı ile ortaya çıkan kronik etkinin uzun vadede çeşitli akciğer hastalıkları, kanser, beyinde hasar, karaciğer ve böbreklerde nefrozlara sebep olduğu belirtilmiştir. Teratojen, mutajen ve alerjen etkisi olan pestisitler de mevcuttur (Çömelekoğlu vd. 2000, Soyöz ve Özçelik 2003, Hercegova vd. 2006). Pestisit kaynaklı akut zehirlenme etkilerinin temel belirtileri arasında mide bulantısı, kusma, baş dönmesi, zihin karışıklığı, diyare, zayıflık ve iştahsızlık en belirgin belirtilerdir (Soyel 2004). Pestisitlerin sağlık üzerine etkilerine göre sınıflandırılması çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2 Pestisitlerin sağlık üzerine etkilerine göre sınıflandırılması (Ayaz ve Yurttagül 2012)

| Sağlık Üzerine Etki | Pestisit |
|---------------------|---|
| Karsinojen etkili | Aldrin, Benomil, Captofol, Captan, Carbofuran, Clorotalonil, 2,4-D, Lindan, Tiram, Trifluralin, Zineb |
| Teratojen etkili | Aldrin, Benomil, Captofol, Captan, 2,4-D, Dinoseb, Diquat, Lindan, Maneb, MCPA, Paraquat, Propachlor, Tiram, Zineb |
| Mutajen etkili | Aldicarb, Aldrin, Aldrazin, Benomil, Captofol, Carbofuran, Clorfenvinfos, Cyanizin, Diclofluanid, Dimethoate, Disulfaton, Paraquat, Simazine, Tiram |
| Alerjen etkili | Benomil, Captofol, Captan, Clorotalonil, Lindan, Maneb, Paraquat, Propachlor, Tiram, Zineb |

ABD Çevre Koruma Dairesi, pestisitlerin sağlık üzerine etkilerinin pestisit çeşidine bağlı olduğunu belirtmiştir. Örneğin, organik fosforlu ve karbamatlı pestisitler sinir sistemini etkilerken diğerleri deri veya gözleri tahriş edebilir. Bazı pestisitler kanserojen etki gösterirken diğerlerinin vücutta hormon ya da endokrin sistemini (iç salgı bezleri) etkilediğini belirtmişlerdir (Anonymous 2009b). Örneğin, chlorpyrifos-ethyl, parathion-methyl, endosülfan insanlarda endokrin sistemini etkileyebilirken, methamidophos'un kromozomlar üzerinde etkisinin olabileceği de belirtilmektedir (Delen vd. 2005).

WHO pestisitleri, kaza ile temasları sonucunda insanlarda neden oldukları potansiyel risklere göre gruplayan bir sınıflandırma sistemi geliştirmiştir. Bu sistemde Sınıf 1a'ya giren pestisitler çok tehlikeli, Sınıf 1b'ye giren pestisitler tehlikeli, Sınıf 2'ye giren pestisitler orta düzeyde tehlikeli, Sınıf 3'e giren pestisitler hafif derecede tehlikeli ve Sınıf 4'e giren pestisitler ise normal kullanımları sonucunda muhtemel akut tehlike oluşturmayan ürünler olarak tanımlanmaktadır (Zacharia 2011). Çizelge 2.3'de pestisitlerin akut toksisite yönünden sınıflandırılması verilmiştir (Yıldız vd. 2005).

Çizelge 2.3 Pestisitlerin akut toksisite yönünden sınıflandırılması (sıçanda LD₅₀/kg) (Yıldız vd. 2005)

| Sınıf | Ağız | | Deri | |
|-------|--------|----------|----------|----------|
| | Katı* | Sıvı* | Katı* | Sıvı* |
| Ia | <5 | <20 | <10 | <40 |
| Ib | 5-50 | 20-200 | 10-100 | 40-400 |
| II | 50-500 | 200-2000 | 100-1000 | 400-4000 |
| III | >500 | >2000 | >1000 | >4000 |

* Katı ve sıvı terimi sınıflandırmaya tabi tutulan etkili maddenin fiziki halini ifade etmektedir

Pestisitler hedef organizmalarda farklı şekillerde etkili olmaktadır. Bu mekanizma çok kompleks olmakla birlikte, hedef organizmadaki toksisite biyokimyasal bir süreç sonunda ortaya çıkmaktadır. Kimyasal maddeler iki tipte toksik etki oluştururlar:

- Akut toksisite; tek bir dozda alındığında kısa sürede ortaya çıkan ve belirtileriyle tanımlanan etki

- Kronik toksisite; uzun bir süreçte, öldürücü doz altındaki tekrarlı alımlarda ortaya çıkan toksisite.

Akut toksisitenin ölçüsü LD₅₀ değeridir. Bu değer popülasyonda %50 oranında ölüm oluşturan doz olarak tanımlanabilmektedir. Düşük LD₅₀ değeri, o bileşiğin toksisitesinin yüksek olduğunu göstermektedir (Yıldız vd. 2005).

Pestisitlerin çevrede, ürünlerde, hayvanlarda ve insanlarda parçalanma ürünlerine dönüşebileceği de belirtilmektedir. Bu parçalanma ürünlerine metabolitler ya da pestisit türevleri de denilmektedir. Günümüzde bu dönüşüm ürünlerinin ana pestisitlerden daha toksik ve daha dirençli olduklarına ilişkin kaygılar da vardır (Vidal vd. 2009, Nieto vd. 2009). Bu kaygılar 91/414/EEC numaralı Avrupa Birliği direktifinde bitkilerde parçalanma ürünlerinin oluşma mekanizmasının tanımlanması, ilgili parçalanma ürününün çevresel etkisinin değerlendirilmesi, aynı zamanda da bu bileşiklerin rutin analizlerde belirlenmesinin gerekliliği şeklinde ifade edilmiştir. Ayrıca, birçok tarımsal üründe aldicarb, diuron, fipronil ve malathion gibi farklı pestisitlerin parçalanma ürünleri için de MRL değerleri belirlenmiştir (Vidal vd. 2009).

2.2 Pestisitlerin Giderimi

Pestisit kalıntıları çok düşük konsantrasyonlarda bile toksik ve kanserojenik (karsinojenik) etkiye sahiptirler. Bu nedenle ülkemizde dahil olmak üzere birçok ülkede pestisit yükünün azaltılması için sıkı düzenlemeler yapılmaktadır (Lafi ve Al-Qodah 2006). Pestisitlerin gideriminde kullanılan en önemli kaynak sudur. Suyun etkinliğini artırmak için farklı yöntemlerle kombine edilmiş uygulamalar da bulunmaktadır. Sulu çözeltilerde pestisitlerin uzaklaştırılması veya parçalanması amacıyla, klor ve klor dioksit uygulaması (Hwang vd. 2002a), fenton oksidasyonu (Wang ve Lemley 2002), elektrokimyasal oksidasyon (Arapoglou vd. 2003), UV (Benitez vd. 2002), TiO_2 katalitik uygulama (Kouloumbos vd. 2003), elektrokoagülasyon metodu (Abdal-Gawad vd. 2012), ozon (Wu vd. 2007a, 2007b) gibi bazı fizikokimyasal teknikler geliştirilmiştir. Bu proseslerde pestisitlerin kısmi eliminasyonu gerçekleştirilmiş ve pestisitlerin uzaklaştırılması veya degradasyonunun etkinliğinin uygulanan prosesin mekanizması yanında pestisit kimyasal yapısına da büyük ölçüde bağlı olduğu belirtilmiştir (Lafi ve Al-Qodah 2006).

Tarlada ürünler üzerindeki pestisitlerin degradasyonu biyolojik olarak (örneğin mikrobiyal aktivite) veya kimyasal olarak (örneğin oksidasyon, redüksiyon, hidroliz, fotoliz) meydana gelmektedir. Endüstride pestisitleri etkili bir şekilde degrade edebilmek için bu kimyasal proseslerden yararlanılmaktadır. Bir bileşiğin oksidasyonu ya oksidatif molekülün doğrudan bileşiğe etkisiyle ya da serbest radikallerin bileşik ile reaksiyonu ile gerçekleşmektedir (Karaca vd. 2012).

Günümüzde kimyasal kalıntıların azaltılması için kullanılan en yaygın metot sodyum hipoklorit veya potasyum permanganat ile yıkamadır. Ancak, bu teknik pahalı ve etkinliği sınırlıdır, ayrıca kimyasal kirliliğe yol açabilmektedir. Diğer bir oksidan olan ozon, üç oksijen atomu içerir, suda hızla parçalanır ve kısa yarılanma ömrüyle oldukça reaktif bir oksidandır. Gıda ve içecek endüstrisinde suyun dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılır. Ozon, suyun toksisitesini azaltabilmekte, aynı zamanda da alkali ve pH değerini kontrol edebilmektedir. Ozon, ayrıca, çeşitli organik bileşiklerle reaksiyona giren bulaşanları, kimyasal bağlarını parçalayarak okside etmek için etkili bir

uygulamadır. Ozon uygulaması gıdalardan pestisit kalıntılarının degradasyonunu da etkilemektedir (Whangchai vd. 2011).

Genellikle suyla yıkamayla gıda maddelerinin yüzeyindeki bazı pestisit kalıntıları uzaklaştırılabilmektedir. Ancak, zamanla pestisitler yıkama suyunda birikebilmekte ve sonuçta su ile yıkama etkili bir şekilde pestisit kalıntılarını azaltamamaktadır. Bununla beraber, ozonlu su ile yıkama uygulaması çözünürlük nedeniyle gıda maddelerindeki pestisitleri fiziksel olarak uzaklaştırmakta ve aynı zamanda yıkama suyundaki ozon nedeniyle pestisit konsantrasyonunu da oksidasyonla azaltmaktadır. Ayrıca, ozonlu su, gıda maddelerinin kabuklarından içlerine sızarak, kabuklarının iç tarafındaki pestisitlere de etki edebilmektedir (Ruan vd. 2004).

Oksidantların (örneğin ozon+hidrojen peroksit) veya UV radyasyon ile oksidantın (örneğin ozon+UV) beraber kullanılması ileri oksidasyon prosesleri olarak tanımlanmaktadır. Hidroksil, hidroperoksil ve süperoksit anyon gibi serbest radikaller bu reaksiyonlarda yer almaktadır. Hidroksil radikali seçici olmayan bir serbest ara üründür. Hidrojen bağlayarak veya çift bağlara elektrofilik olarak bağlanarak birçok organik bileşik ile kuvvetlice reaksiyona girebilmektedir. Serbest radikaller ayrıca moleküler oksijen ile reaksiyona girerek oksidatif degradasyon reaksiyonlarını başlatan peroksi radikallerinin oluşmasına neden olmaktadır (Karaca vd. 2012). Birçok oksidanın beraber kullanıldığı ileri oksidasyon prosesleri de (Advanced Oxidation Processes-AOPs) su ve gıda örneklerinden pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması için kullanılmaktadır. Bu teknolojiler organik kirlilikleri gidermek için güçlü okside edici ara ürünleri (OH radikalleri gibi) kullanarak organik kirliliklerin sadece parçalanmasını sağlamakla kalmayıp uygun koşullar sağlandığında tamamen mineralize olmalarını da sağlamaktadırlar. Bu teknolojilere örnek olarak ozon/hidrojen peroksit, UV/ozon, UV/hidrojen peroksit, ozon/elektron ışını uygulamaları verilebilir (Salama ve Osman 2013).

2.3 Pestisit Analizleri

İnsan ve çevre sağlığı açısından gıdalardaki pestisitlerin kalıntı düzeylerinin öngörülen limitlerin altında olmasının büyük önemi bulunmaktadır. Bu nedenle gıdalardaki pestisit kalıntı düzeylerinin duyarlı bir şekilde belirlenmesi gerekir. Pestisit analizleri diğer kalıntı analizleri ile karşılaştırıldığında bazı farklılıklar gösterirler. Bu farklılıklar şu şekilde sıralanabilir (Gonzalez-Rodriguez vd. 2008):

- (a) Aynı örnekte farklı polariteye, çözünlüğe, pKa ve konsantrasyon değerlerine sahip fazla sayıda analitin aynı zamanda belirlenme gerekliliği,
- (b) Analitlerin belirleneceği ürün gruplarının farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmaları
- (c) Sertifikalı referans maddelerinin (Certified Reference Materials, CRMs) bulunamaması
- (d) Analiz edilecek gıda örneklerinin içeriklerinin farklı olması (Yüksek su içeriği, yüksek asit içeriği, yüksek şeker içeriği, yüksek yağ içeriği vb. gibi)

Özellikle tahıllar ve kuru yem maddeleri gibi örnekler söz konusu olduğunda pestisit kalıntılarının analizleri nişasta, protein, yağ gibi analitle birlikte çözünen maddelerin varlığı nedeniyle oldukça zordur. Çünkü bu maddeler metot ve cihaz performansını olumsuz yönde etkilerler (Walorczyk 2007, 2008).

Gıda örneklerinde pestisit kalıntılarının belirlenmesindeki en uygun yaklaşım farklı örnek hazırlama metotlarını içeren kromatografik metotlardır (Hercegova vd. 2007). Genel olarak örnek hazırlama metotlarının sahip olması istenilen özellikler şöyle sıralanabilir

- (a) Tek bir yöntemle mümkün olan en yüksek miktarda pestisit izolasyonu yapılabilmelidir
- (b) Geri alma değerleri %100'e yakın olmalıdır
- (c) Seçiciliği arttırmak ve istenmeyen matriks etkisini ortadan kaldırmak için örnekten analitle birlikte izole edilen diğer bileşenlerin etkili şekilde uzaklaştırılması sağlanabilmelidir.

Ayrıca bu metotlarda en düşük miktarda örnek ve kimyasal kullanılması, uygulama aşamalarının çevreyle dost olması, kullanılan kimyasalların analizi yapan kişilere daha az zararlı olması, ucuz, fazla laboratuvar malzemesi gerektirmeyen ve hızlı bir metot olması istenmektedir (Pizzutti vd. 2009, Lopez-Feria vd. 2009).

Pestisit kalıntı analizleri rutin olarak çoklu kalıntı metotları olarak adlandırılan metotlarla yapılır. Farklı örnek hazırlama ve belirleme yöntemleri olmakla birlikte pestisit analizlerinde başlıca dört aşama bulunmaktadır. Bunlar; örnek homojenizasyonu, ekstraksiyon, temizleme (clean-up) ve kromatografik belirlemedir (Gonzalez-Rodriguez vd. 2008). Kromatografik belirlemede en yaygın kullanılan cihazlar GC (Gaz Kromatografisi), LC (Sıvı Kromatografisi) ve bu cihazların Kütle Spektrofotometresi (MS, Mass Spectrometry) ile birleştirilmiş formlarıdır. Böylece daha yüksek seçicilikte belirleme yapılabilmektedir.

Kütle spektrofotometresi çoklu kalıntı analizlerinde ve iz miktar tanımlamalarında oldukça yüksek seçicilik ve hassasiyete sahip bir tekniktir. Tam tarama (full scan) ve seçici iyon izleme (SIM, selective ion monitoring) spektrumları ile sonuçların hesaplanması ve doğrulanması yapılabilmektedir (Araoud vd. 2007, Cortes-Aguado vd. 2008). Birçok laboratuvar tarafından seçici iyon izleme modu tercih edilmektedir. Eğer, seçilen iyonlardan biri veya daha fazlası matriks girişimlerinden etkilenirse bu cihazla elde edilen tanımlama ve doğrulamaya olan güven azalır. Bu durumda üçlü kuadrupol veya iyon trap MS/MS cihazları kullanılması daha güvenilir sonuçlar vermektedir (Patel vd. 2005).

Pestisit analizlerinde en sık karşılaşılan problem, matriks etkisi olarak adlandırılan, gıda maddesinin yapısında bulunan bazı bileşiklerin etkili bir şekilde ekstraktan uzaklaştırılmaması nedeniyle analiz edilen pestisitlere ait sinyallerde meydana gelen değişimdir (Kruve vd. 2008, Tiryaki 2009). Matriks etkisi genellikle analiz edilen bileşiklerin dedektör sinyalinde artış ya da azalma, analitin kaybı, girişimin analit olarak tanımlanabilmesi gibi sorunlara neden olmaktadır (Hajslova ve Zrostlikova 2003). Matriks etkisinin söz konusu olup olmadığı çözücü içerisindeki analitin pikini ile aynı miktar analitin örnek ekstraktı içinde elde edilen pikinin karşılaştırılmasıyla belirlenebilir (Tiryaki 2009). Matriks etkisini azaltmak için çeşitli yaklaşımlar kullanılmaktadır. Kalibrasyon serilerinin matriks uyumlu hazırlanması, standart ekleme

yöntemi, GC analizlerinde analit koruyucuların kullanılması, ölçüm öncesi prosedüre herhangi bir aşamada izotop etiketli içsel standart eklenmesi bunlar arasında sayılabilir (Anonymous 2011a).

Belirli bir metodun amacına uygun olduğunu gösteren kanıt elde etmek üzere laboratuvar içinde metod validasyonu uygulanmalıdır. Metod validasyonu akreditasyon kurumlarının koyduğu bir şarttır ve rutin analizler sırasında metod performansının doğrulama işlemleriyle desteklenmesi ve genişletilmesi zorunludur (analitik kalite kontrol ve devamlı metod validasyonu). Belirli bir metod dahilinde uygulanan tüm aşamalar mümkünse doğrulanmalıdır. Metodun; kantitatif tayin limiti (LOQ), kesinlik, ortalama geri kazanım (gerçeklik veya sapma ölçümü olarak) ve hassasiyet için test edilmesi zorunludur. Bu, etkin bir şekilde, metodun doğruluğunun kontrolü için spike edilmiş geri kazanım deneylerinin gerçekleştirilmesi anlamına gelmektedir. Hem raporlama limitinde (metodun hassasiyetinin kontrol edilmesi için) hem de raporlama limitinin üzerindeki bir düzeyde, örneğin MRL’de, en az 5 tekrar (kesinliği kontrol etmek için) gerekmektedir. LOQ, metod performans kabul edilebilirlik kriterlerini karşılayan (her bir temsili ürün için ortalama geri kazanımlar %70-120 aralığında ve $RSD \leq \%20$ olmak üzere) en düşük doğrulanmış spike düzeyi olarak tanımlanmaktadır. Analiz metodunun performans kriterlerine uygun olduğunu gösteren başka yaklaşımlar da kullanılabilir; ancak, bunların aynı bilgi düzey ve kalitesini sağlamaları gerekmektedir. Kalıntı tanımında iki veya daha fazla sayıda analitin yer aldığı durumlarda metod mümkünse, kalıntı tanımında yer alan tüm analitler için doğrulanmalıdır (Anonymous 2011a).

2.4 Zeytin ve Zeytinyağı

2.4.1 Zeytin

Zeytin ağacı dünyada yetiştirilen en eski ağaçlardan birisidir ve birçok türü bulunmaktadır. En yaygın olanı *Olea europae*’dir. Zeytin ağacı 30° ve 40° enlem ve boylamlar arasında dağılmış, ılıman iklimden hoşlanan, kışın dayanabileceği en düşük sıcaklık -7°C olan, bu derecenin altında don zararı artan, yıllık en az 0,4 m yağış alması

gereken bir bitki türüdür (Kara 2011). Zeytin meyvesinin olgunlaşması birkaç ay sürer. Tadı ve kimyasal bileşimi ise yetiştiği bölgenin yüksekliği, nem oranı ve sıcaklığı gibi iklim koşullarına bağlıdır (Huang ve Sumpio 2008). Zeytin ağacında periyodisiteden dolayı zeytin üretimi yıllara göre inişli çıkışlı bir grafik izlemekte ve üretime bağlı olarak bir yıl düşük (yok yılı) bir yıl yüksek (var yılı) ürün alınmaktadır (Anonim 2013b). Ülkemizin, zeytinyağı üretim miktarı, IOC (Uluslararası Zeytin Konseyi-International Olive Council)'nin tahminine göre 2012/2013 sezonunda 410 bin tondur.

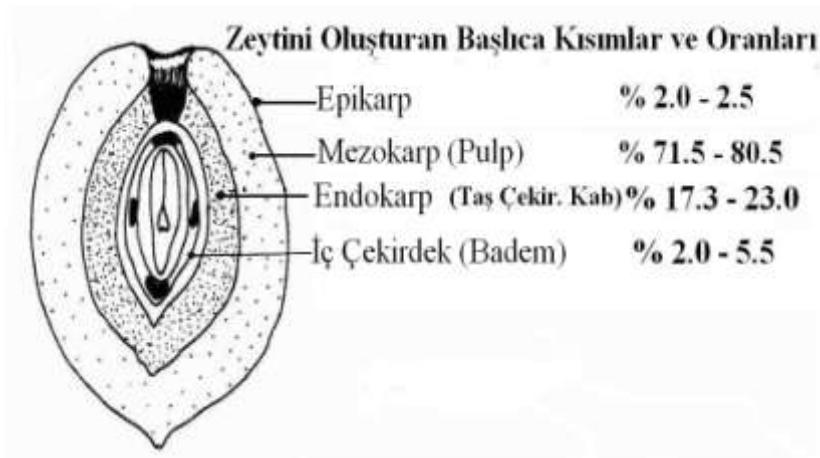
Zeytinin anavatanı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ni içine alan Yukarı Mezopotamya ve Güney Önasya'dır. Yayılışı iki yoldan olmuştur. Birincisi Mısır üzerinden Tunus ve Fas'a, diğeri ise Anadolu boyunca Ege adaları, Yunanistan, İtalya ve İspanya'yadır. Tarihte zeytinyağının beşiği olarak, Ayvalık ve Edremit civarı körfez bölgesi gösterilmektedir. Ülkemizde 5 bölgede zeytincilik yapılmaktadır. Bunlar önem sırasıyla Ege, Marmara, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Karadeniz bölgeleridir. Zeytin, zeytinyağı ve sofralık zeytin olarak işlenerek tüketilmektedir. Bu nedenle de zeytincilik sektörü tarıma dayalı sanayi kolu olarak sofralık zeytin ve zeytinyağı alt sektörlerine ayrılmaktadır (Duran 2006).

Marmara Bölgesi salamuralık zeytin üretiminin hakim olduğu bir yöredir. Ege bölgesi, Çanakkale'den Muğla'ya kadar uzanmaktadır. Bu bölgede yetiştirilen önemli iki çeşit olan Ayvalık ve Memecik yağlık olarak değerlendirilmektedir. Akdeniz bölgesi, yerli zeytin çeşitlerinin yanında Marmara ve Ege bölgesinin çeşitlerinin de yaygın olarak bulunduğu bir bölgedir. Mevcut çeşitlerin büyük bir kısmı yağlık olarak değerlendirilmektedir. Güneydoğu Anadolu bölgesi, yağ oranı yüksek Kilis yağlık ve Nizip yağlık çeşitleri bakımından zengindir. Karadeniz bölgesi, Artvin, Trabzon ve Samsun'da olmak üzere sınırlı bir miktar zeytinciliğin yapıldığı bir bölgedir. Özellikle Yusufeli-Artvin arasında yer alan Çoruh vadisi önemli düzeyde salamura zeytin üretiminin yapıldığı bir yöredir. Yörede mevcut Sati ve Butko çeşitleri salamura zeytinciliği için önemli gen kaynaklarıdır (Nas vd. 1992). Türkiye'de ekonomik açıdan önem arz eden yağlık zeytin çeşitlerinin bölgesel olarak genel dağılımı şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Türkiye’de ekonomik açıdan önem arz eden yağlık zeytin çeşitlerinin bölgesel olarak genel dağılımı (Öztürk vd. 2009)

Zeytin meyvesi perikarp (etli kısım) ve endokarp (çekirdek) kısımlarından oluşmuştur. Perikarp ise epikarp (zar) ve mezokarp (etli kısım) olmak üzere iki kısımdan oluşmuştur. Meyve ağırlığı Ekim ve Kasım ayına kadar çeşitli aşamalarda artar. Meyvede yağ birikimi Temmuz ayı sonlarından Ağustos ayı başlarına kadar olan dönemde başlamaktadır. Sonuç olarak yağ içeriği genellikle Ekim ayından Kasım ayına kadar artmaktadır. Sonbahar ve kış aylarında meyve rengi siyaha döner ve yağ oranı en yüksek seviyesine ulaşır. Yağ, ağırlıklı olarak (%96-98) perikarp tabakasında yoğunlaşmıştır (Boskou 2006). Bir zeytin meyvesini oluşturan başlıca kısımların oranları çeşide göre değişmekle birlikte, zeytin meyvesinin biyolojik yapısı ve meyveyi oluşturan başlıca kısımların oranları şekil 2.2’de verilen meyve kesitinde gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Zeytin meyvesinin biyolojik yünden yapısı ve başlıca kısımlarının oranları (Anonymous 1985)

Zeytinde bulunan ana antioksidan bileşenler karotenoidler, başta oleuropein ve hidroksitirosol olmak üzere polifenoller ve α -tokoferoldür. Zeytinde bulunan ana polifenol olan oleuropein toplam kuru ağırlığın %14'ünü oluşturmaktadır. Hidroksitirosol ise oleuropeinin yan ürünüdür. E vitamininin aktif formu olarak bilinen α -tokoferol oksidatif bozunmaya karşı dirençlidir. Zeytinyağında oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen günlük tüketimi antioksidan miktarını arttırarak serbest radikal ve lipid oksidasyonu zararlarına karşı vücudu korumaktadır (Huang ve Sumpio 2008).

Zeytin, kansere karşı etkili birçok maddenin yanı sıra A, D, E ve K vitaminleri de içermektedir. Sindirim bozuklukları, safra kesesi hastalıkları, özellikle bağırsak kanseri ve kalp hastalıklarında etkili olan zeytinden istenilen yararları alabilmek için mümkün olduğunca doğala yakın halde yemek, yağında ise rafine değil sızma olanını tercih etmek gerekmektedir. Zeytin, besleyici değerinin yüksek olmasından ötürü, yeterli ve dengeli beslenmede önemli bir yere sahiptir. Zeytinin besleyici değerinin yüksek oluşu, lif içermesi, lezzetli olması, protein oranı yüksek bir besin olmasının yanı sıra vücuda alınması zorunlu olan aminoasitleri (özellikle lösin, aspartik asit, glutamik asit), doymamış yağ asitleri, vitaminler ve temel elementleri içermiş olmasına bağlanmaktadır (Duran 2006).

2.4.2 Zeytinyağı

Zeytinyağı dünya üzerinde ülkemizin de yer aldığı Akdeniz kuşağına özgü zeytin ağacının meyvesinden çoğunlukla daha sonra herhangi bir işlem yapılmadan, yağın kalitesini değiştirmeyen ısıtma işlem koşullarında mekanik ve/veya fiziksel yöntemlerle üretilen doğal bir yağdır (Garcia-Reyes vd. 2007, Dıraman vd. 2009). Rafinasyon işlemine tabi tutulmaması, yapısında yer alan ve sağlık üzerine olumlu etki gösteren birçok bileşiğin yağın yapısında kalmasına ve zeytinyağının eşsiz aroma ve lezzetini oluşturan birçok bileşenin kaybının önlenmesine neden olmaktadır (Bayrak ve Kırılan 2008).

Zeytinyağı yaklaşık %98 oranında bulunan trigliseritlerle birlikte %2 oranında da fenolik maddeler, serbest yağ asitleri, steroller, hidrokarbonlar, alifatik ve triterpenik alkoller, uçucu bileşenler ve antioksidanlar gibi 230 ayrı minör bileşenden oluşan karmaşık bir karışımdır. Bu nedenle zeytinyağının bileşimini temel bileşenler ve diğer bileşenler olmak üzere iki bölümde incelemek mümkündür. Bunlardan temel bileşenler içerisinde yağ asitleri ve trigliseritler yer alırken diğer bileşenler kapsamında özellikle fenolik maddeler, steroller, fosfatitler ve pigmentler ile tat ve koku maddeleri sayılabilir. Ancak zeytinyağı söz konusu olduğunda, diğer bileşenler sınıfına dahil edilen ve miktarları temel bileşenlere kıyasla oldukça düşük olan bileşikler önem kazanmaktadır. Çünkü zeytinyağı doğal haliyle tüketilen tek yağdır ve elde edilmesi amacıyla uygulanan fiziksel işlemlerden sonra bile, söz konusu bileşiklerin büyük çoğunluğu yağın bünyesinde kalmaktadır. Diğer taraftan bu bileşiklerden birçoğunun yağdaki oransal değeri, zeytinyağlarının saflık kalitelerini doğrudan belirleyen özelliklerdir. Çünkü gerek uluslararası, gerekse ulusal düzenlemelerde, zeytinyağlarının saf ve belirli kalitede olması için, özellikle minör bileşenlerin belirli limitler arasında olması gerekmektedir (Kayahan ve Tekin 2006).

Zeytinyağı, Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde (Anonim 2010) natürel zeytinyağı (natürel sızma zeytinyağı, natürel birinci zeytinyağı, ham zeytinyağı/rafinaajlık), rafine zeytinyağı, riviera zeytinyağı ve çeşnili zeytinyağı olmak dört sınıfa ayrılmıştır. Tebliğde zeytinyağların tanımlamaları aşağıda verildiği gibi yapılmıştır:

Natürel sızma zeytinyağı: Doğrudan tüketime uygun, serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 0,8 gramdan fazla olmayan yağlar,

Natürel birinci zeytinyağı: Doğrudan tüketime uygun, serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 2,0 gramdan fazla olmayan yağlar,

Ham zeytinyağı/Rafinaajlık: Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 2,0 gramdan fazla olan veya duyusal ve karakteristik özellikleri bakımından doğrudan tüketime uygun olmayan, rafinasyon veya teknik amaçlı kullanıma uygun yağlar

Rafine zeytinyağı: Ham zeytinyağının doğal trigliserid yapısında değişikliğe yol açmayan metotlarla rafine edilmeleri sonucu elde edilen ve serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 0,3 gramdan fazla olmayan yağdır.

Riviera zeytinyağı: Rafine zeytinyağı ile doğrudan tüketime uygun natürel zeytinyağları karışımından oluşan ve serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 1,0 gramdan fazla olmayan yağdır.

Çeşnili zeytinyağı: Zeytinyağlarına değişik baharat, bitki, meyve ve sebzelerin ilave edilmesi ile elde edilen ve diğer özellikleri açısından bu Tebliğ kapsamında kendi kategorisindeki ürünlerin özelliklerini taşıyan yağdır.

Zeytinyağı, kardiyovasküler rahatsızlıklar, sinirsel bozukluklar, meme ve kolon kanseri gibi hastalıklara yakalanma riskini azaltırken, iyi kolestrole olumlu etkileri bulunmakta (Medeiros 2001, Gimeno vd. 2002, Cunha vd. 2010), hiperkolesterol ve damar sertliğini azaltmakta, buna bağlı olarak ortaya çıkan kalp krizi riskini düşürmektedir (Barrek vd. 2003). Ayrıca, naturel zeytinyağı sıcak ve soğuk tüketildiğinde mide asitliğini azaltarak gastrit veya ülserle karşı koruyucu bir rol oynamaktadır. Bağırsaklar tarafından en iyi emilen yağdır ve bağırsaklardan geçişi düzenleyici özelliği vardır. Safra taşı riskini azaltır ve taşların erimesine yardımcı olur. Kemik ve dişlerin gelişmesini, hücre ve dokuların yenilenmesini sağlar, yaşlanmayı geciktirir. Zeytinyağının sağlık üzerine olan olumlu etkisi de diğer yemeklik bitkisel yağlara göre taşıdığı yüksek düzeyde tekli doymamış yağ asitlerine ve antioksidan özelliklere sahip vitamin ve fenolik bileşenleri içermesinden kaynaklanmaktadır (Medeiros 2001, Barrek vd. 2003). Bütün bu etkenler dikkate alınarak, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından da 1 Kasım 2004 tarihinden itibaren, naturel zeytinyağının sağlığa yararlı etkisinin ambalajlara yazılmasına izin verilmiştir. Beslenme fiziolojisi açısından sağlıklı bir yağ kaynağı olarak taşıdığı önem ve üstün duyuşal nitelikleri, naturel zeytinyağına uluslararası ticarete de son derece artan bir talep ile ekonomik bakımdan büyük bir değer kazandırmıştır. Çağlar boyu Akdeniz insanların beslenmesinde – kısacası Akdeniz Diyeti'nin – tek bitkisel yağ kaynağını oluşturan ve sağlıklı beslenmenin simgesi olan naturel zeytinyağı, son yıllarda sağlık üzerine olan yararlı etkilerinin bilinirliğinin artmasından dolayı bugün artık dünyanın farklı mutfaklarında artarak yer almaktadır

(Cunha vd. 2007, Hernando vd. 2007, Öztürk vd. 2009). Bir başka deyişle, son yıllarda Akdeniz diyetine olan ilginin artması ve tüketicilerin daha az işlenmiş ürünleri tercih etme eğilimleri, Akdeniz ülkelerinde yaşamayan insanlarda da zeytinyağı tüketimini arttırmıştır. Kıymetli bir ürün olmasının yanında, Dünya’da üretim alanlarının da sınırlı olması nedeniyle, diğer yağlara göre fiyatı yüksektir. Ayrıca, zeytin meyvesinden elde edilen sızma zeytinyağı diğer yağlarla karşılaştırıldığı zaman daha az işlenmiş ürün olduğundan üreticilerine daha fazla para kazandırmaktadır (Cunha vd. 2007, Hernando vd. 2007).

Zeytinyağı tekli doymamış yağ asitlerince zengin bir yağdır. Tekli doymamış yağ asitlerinin LDL kolesterol üzerindeki etkileri nötral olmasına karşın, yüksek yoğunluklu lipoproteini artırıcı (HDL kolesterol, iyi kolesterol) etkisi vardır. Tekli doymamış yağ asitlerinin kalp damar hastalıkları risk faktörlerinin iyileştirilmesinde rol oynadığı için doymuş yağların tüketiminin azaltılması, tekli doymamış yağ asitlerinin tüketiminin artırılması gereklidir. Ancak, bu olumlu etkilerine rağmen tekli doymamış yağ asitleri miktarının toplam enerjinin %20’sini geçmemesi gerektiği de belirtilmektedir (Çakmakçı ve Kahyaoğlu 2012).

Akdeniz havzasında yer alan yedi ana üretici ülke; İspanya, İtalya, Yunanistan, Tunus, Türkiye, Suriye ve Fas dünya zeytinyağı üretiminin %90’ından fazlasını sağlamaktadır. Bu ülkelerden İspanya, İtalya, Yunanistan, Tunus ve Türkiye uluslararası zeytinyağı ticaretinde en etkili rollere sahiptirler (Dıraman vd. 2009). Dünyada zeytinyağı talebinin yıldan yıla yükselmesi bu ülkelerin zeytinyağı ticaretindeki önemini daha da artırmaktadır. Avrupa Birliği, zeytinyağı üretiminde kendi kendine yeter durumda olduğu kadar zeytinyağı ticaretinde de söz sahibidir. Etkili tanıtım kampanyaları ile birlikte, Avrupa Birliğinin ortak tarım politikası çerçevesinde sağladığı destekler üretici ülkelerin bu konuma gelmelerinde önemli katkıda bulunmuştur. Avrupa Birliği ülkeleri, topluluk içi ticaret hariç olmak üzere, dünya zeytinyağı ihracatının yarısından fazlasını gerçekleştirmektedir (Göksu 2008).

Türkiye’nin zeytinyağı ihracatı, yıldan yıla zeytin ve buna bağlı olarak zeytinyağı üretiminde meydana gelen dalgalanmalar sebebiyle keskin artış ve düşüşler

göstermektedir. İşleme teknolojisi, pazarlama politikaları ve rakiplerimizin zeytinyağı üretimindeki yükseliş ve düşüşler de ihracatımızı etkileyen diğer önemli unsurlardır. Çizelge 2.4’de ülkemizin 2009, 2010, 2011 ve 2012 yıllarındaki zeytinyağı ihracat miktarı ve değeri verilmiştir.

Çizelge 2.4 Ülkelere göre zeytinyağı ihracatımız (Miktar:1000 Ton, Değer:1000 ABD Doları) (Anonim 2013b)

| Ülke | 2009 | | 2010 | | 2011 | | 2012 | |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|
| | Miktar | Değer | Miktar | Değer | Miktar | Değer | Miktar | Değer |
| S.Arabistan | 2,769 | 9,197 | 2,325 | 7,995 | 2,601 | 9,154 | 4,138 | 13,385 |
| Japonya | 2,014 | 7,646 | 2,433 | 9,422 | 1,978 | 7,767 | 2,026 | 7,305 |
| ABD | 8,208 | 25,087 | 3,879 | 12,042 | 1,379 | 5,081 | 5,936 | 17,047 |
| IRAK | 531 | 2,070 | 866 | 3,319 | 979 | 3,647 | 997 | 3,813 |
| BAE | 1,238 | 4,128 | 1,149 | 3,630 | 1,114 | 3,495 | 936 | 2,736 |
| İran | 356 | 1,127 | 223 | 833 | 673 | 3,055 | 882 | 2,611 |
| Almanya | 390 | 1,626 | 435 | 1,932 | 559 | 2,410 | 406 | 1,503 |
| Çin | 511 | 1,760 | 325 | 1,290 | 502 | 2,003 | 1,060 | 3,895 |
| G.Kore | 624 | 1,815 | 400 | 1,322 | 688 | 1,861 | 484 | 1,331 |
| Filipinler | 430 | 1,817 | 419 | 1,640 | 322 | 1,435 | 390 | 1,561 |
| Azerbaycan | 47 | 214 | 153 | 682 | 197 | 870 | 345 | 1,351 |
| Singapur | 229 | 818 | 198 | 723 | 205 | 822 | 177 | 585 |
| Norveç | 235 | 909 | 235 | 865 | 210 | 806 | 267 | 865 |
| Avusturalya | 1,077 | 3,660 | 852 | 2,905 | 224 | 740 | 435 | 1,302 |
| Kazakistan | 71 | 305 | 168 | 794 | 165 | 723 | 120 | 496 |
| Rusya | 513 | 1,851 | 298 | 1,316 | 156 | 667 | 122 | 486 |

2012/2013 sezonunda zeytinyağı üretim miktarı, UZK (Uluslararası Zeytin Konseyi-International Olive Council –IOC)’nın tahminine göre 195 bin ton olan Türkiye net zeytinyağı ihracatçısı ülkeler arasında bulunmaktadır. En fazla zeytinyağı ihracatı 2004/05 sezonunda 93 bin ton karşılığı 291 milyon dolar olarak gerçekleşmiştir. 2005/06 sezonunda ise üretimde yok yılı yaşanması nedeniyle ihracat düşüş

göstermesine rağmen, 206 milyon dolar ile yok sezonları arasındaki en büyük ihracat değerine ulaşıldığı görülmektedir. Takvim yılı olarak incelendiğinde ise ihracatın 2012 yılında 81 milyon dolar olduğu görülmektedir (Anonim 2013b).

Türkiye zeytinyağı üretiminde kendine yeterli konumda olması nedeniyle ithalatı yok denecek düzeydedir. Üretimin yetersiz olduğu hallerde ve ihraç pazarlarımızın kaybedilmemesine yönelik olarak arzda süreklilik sağlamak amacıyla Dahilde İşleme Rejimi (DİR) kapsamında izin verilen dönemlerde Yunanistan, İtalya, Mısır gibi ülkelerden ithalat yoluna gidilmiştir (Öztürk vd. 2009).

Zeytinyağının kalitesi doğrudan hammaddenin kalitesi ile ilgilidir. Hammaddede yüzey lekeleri, yara izleri, delikler veya haşerelerin neden olduğu diğer zararlar olmamalıdır (Cunha vd. 2010). Bu nedenle pestisit uygulaması ile parazitlerin ve hastalıkların kontrolü zeytin sayısının ve büyüklüğünün artmasında dolayısıyla da randımanın artmasında önemlidir. Özellikle böcek zararından kaynaklanan hasat ve üretim kayıplarını önlemek için birçok zirai kimyasallar zeytine uygulanmaktadır. Zeytin yetiştiriciliğinde en yaygın uygulanan kimyasallar insektisitler, herbisitler ve fungusitlerdir (Garcia-Reyes vd. 2007). Kullanılan bu pestisitlerin kalıntıları zeytinlerde ve dolayısıyla da zeytinyağlarında bulunabilmektedir. Bundan dolayı zeytin ve zeytinyağlarında bulunabilecek MRL'ler her bir ülkenin kendi mevzuatında ve Codex Alimentarius tarafından da uluslararası düzeyde oluşturulmuştur. Avrupa Birliğinde ise ayrı ayrı oluşturulmuş olan ulusal MRL'ler Avrupa Birliği içinde kullanılabilmesi için harmonize edilmektedir. Şu ana kadar 94 pestisit kalıntısının zeytinyağına işlenecek zeytinde ve 15 pestisit in sofralık zeytinde MRL değerleri belirlenmiştir (Cunha vd. 2010). Ülkemizde zeytin yetiştiriciliğinde kullanılan ve ruhsatlı olan pestisitler mücadele amaçlarına göre çizelge 2.5'de verilmiştir (Yücer 2010).

Çizelge 2.5 Zeytin yetiştiriciliğinde kullanılan başlıca pestisitler (Yücer 2010)

| Hedef pest | Kullanılan Pestisitler |
|---|--|
| Zeytin kabuklu biti (<i>Parlatoria oleae</i>) | Chlorpyrifos ethyl, Cyfluthrin, Methidathion, Omethoate |
| Zeytin kurdu (<i>Coenorhinus cribripennis</i>) | Dimethoate, Fenthion |
| Zeytin pamuklu biti (<i>Euphyllura olivina</i>) | Cyfluthrin, Dimethoate, Fenthion, Omethoate |
| Zeytin pamuklu koşnili (<i>Philippia oleae</i>) | Mineral yağ |
| Zeytin sineği (<i>Bactrocera oleae</i>) | Alpha cypermethrin, Azadirachtin, Beta- cyfluthrin, Cyfluthrin, Deltamethrin, Dimethoate, Fenthion, Lambda- cyhalothrin, Methidathion, Monocrotophos, Spinosad |
| Zeytin yara koşnili (<i>Polinia pollini</i>) | Mineral yağ |
| Zeytin çiçek sap sokanı (<i>Calocoris trivialis</i>) | Dimethoate Fenthion |
| Zeytin güvesi (<i>Prays oleae</i>) | Beta-cyfluthrin, Cyfluthrin, Deltamethrin, Dimethoate, Diflubenzuron, Fenthion, Lambda-cyhalothrin, Monocrotophos, Omethoate, Triflumuron |
| Zeytin kara koşnili (<i>Saissetia oleae</i>) | Beta cyfluthrin, Cyfluthrin, Deltamethrin, İmidacloprid, Lambda-cyhalothrin, Methidathion, Omethoate, Mineral yağ |
| Zeytin kırlangıç böceği (<i>Hysteropterum grylloides</i>) | Dimethoate, Fenthion |

Zeytinin yağa işlenmesi sırasında uygulanan işlem basamakları kısaca şöyledir; Zeytinlerin depolanması → Zeytinlerin temizlenmesi → Zeytinlerin kırılması → Zeytinlerin ezilmesi → Zeytin ezmesinden yağ çıkarılması → Zeytinyağının tortu ve

karasudan ayrılması (Gümüskesen 1993). Yağın diğer bileşen unsurlarından ayrılmasında presleme, santrifüj veya seçici filtrasyon (perkolasyon) kullanılır.

2.5 Ozon

Ozon, çok eskilerden beri bilinen bir bileşiktir. Son derece karakteristik bir kokusu vardır. Ozon ismi Yunanca "Ozein" (koku) kelimesinden, çok belirgin olan kokusuna istinaden türetilmiştir. Özellikle fırtınalardan sonra taze hava kokusu diye içimize çektiğimiz havada bu hissi yaratan, yıldırımlar sırasında meydana gelmiş olan ozondur. Ozonlama işlemi, yaklaşık yüz yıldır bilinen bir teknoloji olmasına rağmen önemi daha yeni anlaşılmaktadır. İlk olarak 1840'ta Schönbein tarafından keşfedilen ozon, 1903-1906 yılları arasında Amerika'da bitkiler için su arıtımı alanında kullanılmıştır. Bu zaman aralığı klorun ilk defa kullanım zamanına da denk gelmektedir. 1940'larda ozon, içme suyu arıtımında kullanılır hale gelmiştir. Ancak, bu yıllarda ozon üretimi hala zor ve pahalı bir yöntemdi. 1980'lere gelindiğinde ozon kullanımı, teknolojinin gelişmesiyle, daha da yayılmış ve kullanım alanları çoğalmıştır. Ozon artık havuzlarda, soğutma sistemlerinde, kaplıcalarda kullanılır hale gelmiştir (Anonim 2005a).

Avrupa'da gıda işleme ve suların dezenfeksiyonunda yıllardır kullanılan ozonun gıdalarda dezenfektan olarak kullanılması, bağımsız uzmanlardan oluşan juri tarafından 1997 yılında GRAS (Generally Recognised As Safe) olarak kabul edilmesiyle başlamıştır (Xu 1999). FDA'in 2001 yılındaki raporundan sonra da ozonlu dezenfeksiyon sistemleri hızla kabul görmüştür (Anonim 2013c).

2.5.1 Ozonun genel özellikleri

Ozon (O_3) oksijen molekülünü parçalayan yüksek enerji ile oluşur. Oksijen molekülünün (O_2) parçalanmasıyla oluşan oksijen atomu (O) hızlı bir şekilde ortamdaki diğer oksijen molekülü ile birleşerek oldukça reaktif olan ozonu oluşturur. Ozon doğada güneşin UV ışınları (185 nm dalga boylu) veya yıldırımlar vasıtasıyla meydana gelir. Ayrıca, fotokopi makinaları, lazer yazıcılar ve diğer elektrikli cihazlar gibi birçok yerde kullanılan cihazlarda ozon gazı oluşturmaktadır. Dünyanın etrafında koruyucu

kalkan olarak mevcuttur ve öldürücü radyasyon etkilerine karşı tüm canlıları korur (Suslow 2004) .

Ozon oda sıcaklığında renksizdir ve hızlı bir şekilde tekrar oksijene dönüşmektedir. Bu nedenle devamlı bir ozon üretiminin olması gerekir. Kendine has keskin bir kokusu vardır. Bu koku gök gürlemesinden sonra hissedilen taze hava kokusuna çok benzemektedir. Doğada çok düşük konsantrasyonlarda bulunur, 0,01-0,05 mg/kg düzeyinde bile hemen algılanabilir. Gaz formundaki yarılanma ömrü sıvı formundakine göre daha uzundur. Ozonun saf sudaki oksijene dönüşümü saf olmayan çözeltilerdekine göre daha yavaştır. -112°C’de ozon koyu mavi renkte bir sıvıya kondense olur. Eğer oksijen karışımına %20’den fazla ozon geçerse sıvı ozon kolaylıkla patlar. Patlama, elektriksel kıvılcıklar, sıcaklık ya da basınçtaki ani değişimlerle hissedilmektedir. Bununla beraber ozonun pratikte kullanımındaki patlamaları hemen hemen hiç söz konusu değildir (Guzel-Seydim vd. 2004a). Çizelge 2.6’da saf ozonun bazı özellikleri verilmiştir (Ekici vd. 2006).

Çizelge 2.6 Saf ozonun bazı özellikleri (Ekici vd. 2006)

| Özellik | |
|--|----------------|
| Formülü | O ₃ |
| Molekül Ağırlığı | 48 |
| Renk | Açık mavi |
| Koku | Kendisine has |
| Sudaki çözünürlüğü (O°C) (L ozon/L su) | 0,64 |
| Yoğunluk (g/L) | 2,144 |
| Kaynama noktası (°C) | -111,9±0,3 |
| Erime noktası (°C) | -192,5±0,4 |
| Kritik sıcaklık (°C) | -12,1 |
| Kritik basınç (atm) | 54,6 |

Ozon 2,07 mV’luk oksidasyon potansiyeline sahipken; hidrojen peroksit (H₂O₂), hipokloroz asit (HOCl), klor (Cl₂) ve klordioksitin (ClO₂) oksidasyon potansiyelleri sırasıyla 1,78, 1,49, 1,36 ve 1,27 mV’dur. Görüldüğü gibi ozonun oksidasyon

potansiyeli diğ er oksidan ajanların potansiyellerinden oldukça yüksektir (Karaca ve Velioğlu 2007). Yüksek enerjili bir molekül olan ozonun oda sıcaklığında yarılanma süresinin 20 dakika olduğu ve bu süre sonunda kalıntı bırakmadan oksijene parçalandığı belirtilmektedir (Xu 1999). Ozon özellikle yapılarında doymamış bağ veya fenolik halka içeren birçok organik bileş iği okside edebilmekte, işleme sularındaki kalıntı pestisit miktarının ve dayanıklı ürünlerdeki mikotoksinlerin azaltılmasında rol alabilmektedir (Smilanick vd. 1999).

Ozonun kendiliğinden parçalanma özelliğ i birçok serbest radikalın oluşmasına neden olmaktadır. Su ile reaksiyonunda oluşan en göze çarpan serbest radikal, hidroksil radikalidir (OH·). Hidroksil radikali, organik fosforlu pestisitleri parçalayabilen güçlü bir oksidandır. Organik fosforlu pestisitler, güçlü oksidasyon ortamlarında oldukça dayanıksızdırlar (Ruan vd. 2004).

Ozonun etkinliğ i çevresel faktörlere de bağ lıdır. Düşük sıcaklıkta sulu ortamda ozonun çözünlüğü yüksektir. Sıcaklıktaki artışla birlikte ozonun parçalanması hızlanmakta, dolayısıyla da etkinliğ i azalmaktadır. pH'daki azalma sulu ortamda ozonun stabilitesini artırmaktadır. Çözeltinin pH değerinin 10 civarında olması durumunda ozon ani olarak parçalanmaktadır. Havadaki nem oranı arttıkça ozonun etkinliğ i de artmaktadır (Kuşcu ve Pazır 2004).

Ozonun etkinliğ i ayrıca “ortamın ozon talebi” olarak adlandırılan başka bir faktöre de bağ lıdır. Ozon oldukça reaktif bir moleküldür ve neredeyse tüm organik ve inorganik bileşiklerle tepkimeye girebilmektedir. Kalan ozon terimi, ozonun hedef gıda ürününe uygulandıktan sonra belirlenebilen konsantrasyonu için kullanılır. Ozonun etkinliğ i uygulanan miktarına ve sonuçta ortamdaki kalıntı ozon miktarına bağ lıdır. Uygulama koşullarında ozonun stabil olmaması ve uygulamanın yapıldığı ortamda ozon talebi olan maddelerin bulunması kalan ozon miktarını etkiler. Saf su en az ozon talebi olan ortamdır. Sudaki safsızlıklar, örneğ in mineraller, ozonla etkileş ime girerler ve bunun sonucunda ozona talep artar (Karaca ve Velioğlu 2007). Saf suda 20 dakika sonra ozon aktivitesinin yarısından daha azı kalırken, musluk suyunda bu süre 2-3 dakikadır (Suslow 2004).

Ozonun toksik etkisi maruz kalınan konsantrasyon ve süreye göre değişmektedir. 0,1-1,0 mg/kg konsantrasyonunda ozona maruz kalındığında baş ağrısı, boğaz kuruluğu, solunum sisteminde tahribat ve gözlerde kızarıklık gibi semptomlar görülmektedir. 1,0-100 mg/kg konsantrasyonundaki ozona maruz kalınması durumunda yorgunluk hissi ve iştah kaybı, astım benzeri semptomlar olabilmektedir. Yüksek konsantrasyonlara kısa süreli maruz kalmalar ise boğaz tahribatına, kanama ve akciğerlerde tıkanıklığa neden olabilmektedir (Pascual vd. 2007).

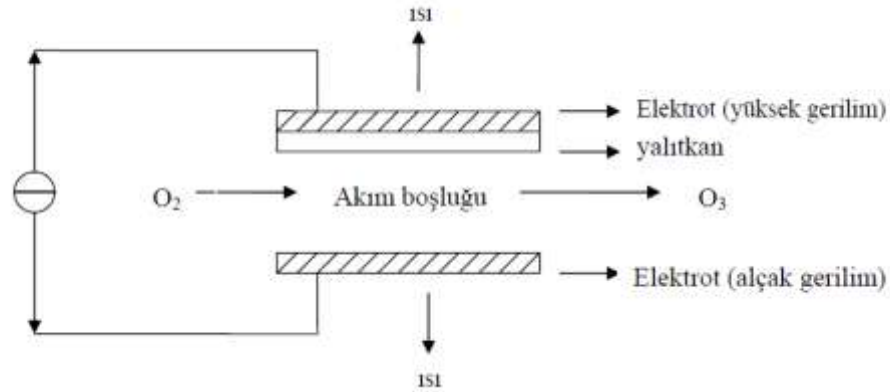
Ozon, düşük konsantrasyonlarda çok toksik olmamasına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda insanlar için ölümcül olabilmektedir. 0,65 mg/kg konsantrasyondaki ozona 1-2 saat maruz kalındıktan sonra köpeklerde hızlı nefes alıp vermeler görülmüştür. Bunun yanında 0,2 mg/kg konsantrasyonundaki ozona 4-6 hafta gibi uzun süre maruz kalan genç farelerde akciğerlerde şişkinlik görülmüştür. 0,2 mg/kg ve daha yüksek konsantrasyonlardaki ozonun, maruz kalma süresine bağlı olarak solunum sisteminde değişik oranlarda hasara neden olduğu belirtilmektedir (Guzel-Seydim vd. 2004a). Amerika'da, Federal İş Güvenliği ve Sağlığı İdaresi (OSHA-Occupational Safety and Health Administration) ozona maruz kalma eşik değer dozu olarak, devamlı maruz kalma durumunda 8 saat için 0,1 mg/kg ve 15 dakika için 0,3 mg/kg'lık değerler belirlemiştir. 1 mg/kg konsantrasyonundaki ozon keskin bir kokuya sahip olup gözler ve boğazı tahriş edici etki göstermektedir (Suslow 2004).

Sonuç olarak, ozon toksik bir gazdır, malzeme ve ekipman dezenfeksiyonunda kullanıldığında, uygulandığı ortamda mutlaka izlenmelidir. Günümüzde, çalışılan ortamdaki ozon düzeyini izlemek için birçok ozon sensörü bulunmaktadır. Bu sensörler genellikle 0,1-100 mg/kg (v/v) konsantrasyonlarını ölçen bir hücreye sahip UV analizörlerdir. Ozon konsantrasyonu 0,1 mg/kg'ın üzerine çıktığında hemen alarm verirler (Pascual vd. 2007).

2.5.2 Ticari ozon üretimi

Ozon kısa sürede yeniden oksijene dönüştüğünden depolanamaz ve bu nedenle kullanılacağı yerde üretilmelidir. Ticari olarak ozon, doğal yollardan oluşumundaki

mantıktan yola çıkılarak UV ışığı yardımıyla veya daha yaygın olarak “Korona Akım Metodu” olarak isimlendirilen yöntemle elde edilmektedir. Şekil 2.3’de gösterilen korona akım metodu ile ozon üretimi oksijen moleküllerinin (O_2) elektrik akımından geçirilmesi yolu ile olmaktadır. Oksijenin elektrik akımından geçirilmesi sırasında oksijen molekülü parçalanarak reaktif oksijen atomuna dönüşmektedir. Serbest oksijen atomları (O) moleküler oksijenle karşılaştığında son derece kararsız olan ozon molekülü (O_3) oluşmaktadır. Bu ozon hızlı bir şekilde tekrar moleküler oksijene (O_2) ve serbest oksijen atomlarına (O) dönüşmektedir. Daha sonra yeniden diğer serbest oksijen atomları ile birleşebileceği gibi, serbest oksijen atomları moleküler oksijene de dönüşebilmektedir. Bu moleküller ortamdaki diğer reaktiflerle de reaksiyona girebilmektedir. Bu nedenle ozon son derece reaktif bir bileşik olarak tanımlanmaktadır (Guzel-Seydim vd. 2004b). Eğer yüksek konsantrasyonlarda ozon üretimi amaçlanıyorsa korona akım metodu en çok kullanılan yöntemdir (Xu 1999).



Şekil 2.3 Korona akım metodu şeması (Ekici vd. 2006)

Korona akım metodunda biri yüksek akım diğeri alçak akım elektrotu olmak üzere iki adet elektrot bulunmaktadır. Bunlar seramik dielektrik alanı ve dar bir boşaltım aralığı ile ayrılmışlardır. Yeterli kinetik enerji olması durumunda elektrotlar oksijen molekülünü ayrıştırır ve her bir oksijen atomundan bir ozon molekülü oluşur. Jeneratörden hava geçirilmesi durumunda %1-3 ozon üretilebilirken, saf oksijen kullanılması durumunda bu değer %6’ya çıkmaktadır. Sonuç olarak, ozonun oluşma ve parçalanma hızı eşit olduğu için ozon konsantrasyonu belirli bir düzeyin üstüne çıkamaz (Guzel-Seydim vd. 2004a). Fotokimyasal ve elektrik deşarj metodu dışında ozon

kimyasal, termal, kemonükleer ve elektrolitik metotlar ile de üretilebilmektedir (Karaca ve Veliöğlu 2007).

2.5.3 Gıda sanayinde ozon uygulamaları

Ozon, gıda endüstrisinde et, tavuk, yumurta, balık, meyve, sebze ve kurutulmuş gıdalarda kontaminant mikrofloranın inaktivasyonunda, bazı tarımsal ürünlerden pestisit kalıntılarının eliminasyonunda ve mikotoksinlerin detoksifikasyonunda kullanılmaktadır. Ancak ozon gazının gıdalarda aşırı miktarlarda kullanımı durumunda gıda yüzeyindeki bazı bileşenler okside olmakta, bu da gıdada renk ve lezzet açısından bazı istenmeyen durumların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Kim vd. 1999).

Ozon yüksek biyosidal etkinliği, geniş antimikrobiyal spektrumu, sağlığa zararlı yan ürünlerinin olmaması, depolamaya gerek duyulmadan ihtiyaç olduğunda üretilebilir olması nedeniyle, temizleme ve dezenfeksiyon işlemlerinde klor ve diğer kimyasal dezenfektanlara alternatif bir uygulama olarak ilgi çekmektedir. Ozon ayrıca çevre dostu bir teknoloji sunmakta ve firmaların çevresel atık problemlerini azaltarak yasal zorunluluklara uymalarını kolaylaştırmaktadır. Ancak, ozonun bu avantajı genellikle birçok gıda firması tarafından göz ardı edilmektedir. Avrupa'da yeni yapılan çevre ile ilgili yasal düzenlemeler önümüzdeki yıllarda gıda endüstrisinde değişime neden olacak ve ozon kullanımına yönelik ilgiyi artıracaktır. Çünkü birçok gıda fabrikasındaki temizleme ve dezenfeksiyon işlemleri sonucunda oluşan atık maddeler, en önemli çevre problemlerinin (su ve enerji tüketimi, atık su vb.) başında gelmektedir (Pascual vd. 2007).

Ozonun gıdaların raf ömrünün uzatılması için kullanımı ilk olarak 1909 yılında Almanya'da depolara havalandırma amacıyla ozon jeneratörü yerleştirildikten sonra et yüzeyindeki mikroorganizma sayısında meydana gelen azalmanın fark edilmesinden sonra olmuştur ve ozon o zamandan bu yana birçok çalışmada kullanılmıştır. Ozonun oksitleme gücü klordan 1,5 kat daha fazladır ve ozon, klor ve diğer dezenfektanlara göre daha geniş spektrumdaki mikroorganizmalara karşı etkilidir. *Escherichia coli*, *Listeria* ve diğer gıda patojenlerini geleneksel dezenfektanlara göre daha hızlı öldürür ve

kimyasal bir kalıntı bırakmaz. Bu nedenle de gıda endüstrisinde iyi bir dezenfektan olarak görülmektedir (Xu 1999).

E. coli ATCC 11775'in marul, domates ve havuçlardan dezenfeksiyonu üzerine yapılan bir çalışmada, klor etkinliği (50, 100 ve 200 mg/kg), sitrik asit (%0,5, 1, 1,5), ultraviyole ışın (UV-C, 0,65 ve 1,6 mW/cm²) ve ozon (5 mg/kg) ile karşılaştırılmıştır. Uygulamaların süreleri 3 ile 60 dakika arasındadır. Dezenfeksiyondan sonra Hunter renk parametreleri, renk fonksiyonları (DE, hue, chroma), domates renk indeksi (TCI) ve beyazlık indeksi (WI) belirlenmiştir. Sonuçlar, incelenen konsantrasyonlarda sitrik asitin *E. coli*'nin inaktivasyonunda etkili olmadığını göstermiştir. UV-C ise mikroorganizma inaktivasyonunda pürüzsüz yüzeylerde daha etkili olmuş ve domates yüzeyinde mikroorganizma sayısında 2,7 log azalma sağlamıştır. Ozon ise sadece 3 dakikalık uygulama sonrasında domates yüzeyinde bakterileri 2,2 log azaltmıştır. Tüm uygulamalarda en düşük inaktivasyon gözenekli ve sert yüzeylerinden dolayı marul ve havuçta olmuştur. UV-C uygulaması, test edilen ürünlerde rengi en fazla etkilemiş, marulda kahverengileşmeye neden olurken, havuçların TCI ve WI değerlerini yükseltmiştir. Ozon uygulaması da marulların yeşilliğini etkilemiştir (Bermúdez-Aguirre ve Barbosa-Cánovas 2013).

Sebzelerin yüzeylerindeki mikroorganizma yükünün azaltılmasında en çok kullanılan yöntemler, dezenfektan çözeltilerine sebzelerin daldırılması veya bu çözeltilerle durulanmasıdır. Sebzelerin doymuş ozonlu su içine daldırılması veya durulanması işleminin zararlı yan ürünler ve kalıntılar oluşturmadığından hareketle çevre dostu bir yöntem olarak ozonun kullanılabileceği düşünülerek bir çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmada marul (*Lactuca sativa*) ve dolmalık biber (*Capsicum annuum*) örnekleri 20 mg/kg konsantrasyonundaki klorlu su içine daldırıldığında ilk 15 dakikada toplam mikroorganizma yükünde 1 log azalma olduğu bulunmuştur. Örnekler, daha önceden 0,5 mg/L konsantrasyonundaki ozon ile doyurulmuş suya daldırıldığında ise aynı sürede toplam mikroorganizma yükünde fazla bir azalma olmamış, sadece 0,5 log düzeyinde bir azalma meydana gelmiştir. Ancak, çalışma devamlı olarak 0,5 mg/L konsantrasyonunda ozon ile doyurulan su ile yapıldığında, mikroorganizma sayısında 15 dakika sonra 2 log, 30 dakika sonra ise 3,5 log azalma meydana gelmiştir. Çalışmada

düğüün ve pürüzsüz bir yüzeye sahip olan dolmalık biberlerde ozon uygulamasının daha etkin olduğu belirtilmiştir (Alexopoulos vd. 2013).

Gıda endüstrisinde yağlı kirliliklerin temizlenmesinde ozonun etkinliğinin araştırılması üzerinde yapılan bir çalışmada sulu ortamda domuz yağlarının ozonlanması sonucunda, yağ asitleri gibi yüzey aktif maddelerin olduğu, bu oluşan yüzey aktif maddelerin de temizleme performansını arttırdığı belirtilmiştir. Çalışmada test edilen 3 farklı yüzey aktif madde, kısa bir süre ozonlamadan sonra yüzey aktiflik özelliklerini koruyabilmişlerdir. Alkali koşullarda bile ozon, bu yüzey aktif maddelerin temizleme kapasitelerini önemli oranda etkilememiştir. Gıdaların kontaminasyonuna neden olan enzimler ise ozonlu su ile durulandıktan sonra hemen deaktive olmuşlardır (Jurado-Alameda vd. 2012)

Son yıllarda, ozonlama yöntemi gıdalardan aflatoksinlerin detoksifikasyonu için kullanılmıştır. Ozonun, aflatoksinin furan halkasındaki 8, 9 atomları arasındaki çift bağ ile reaksiyona girerek birincil aktif ürünlerine, birincil aktif ürünlerin de aralarında yeniden düzenlenerek aldehitler, ketonlar ve organik asitler gibi türevlerine dönüştüğü belirlenmiştir. Aflatoksinle kontamine olmuş tarımsal ürünlerden aflatoksinlerin uzaklaştırılmasında ozon gazının etkisini belirlemek için birçok araştırma yapılmıştır. İnan vd. (2007), ülkemizin önemli tarımsal ürünlerinden biri olan ve ihracatımızda önemli bir payı olan kırmızıbiberden (*C. annuum*) aflatoksinin detoksifikasyonu için ozonun yüksek oksidasyon gücünü incelemişlerdir. Bu amaçla biber örneklerini farklı konsantrasyon (16, 33, 66 mg/L) ve farklı sürelerde (7,5, 15, 30, 60 dakika) ozonlama işlemine tabi tutmuşlardır. Pul ve doğranmış kırmızıbiberlerde aflatoksin B₁ miktarının, 60 dakika süre ile 33 mg/L ve 66 mg/L ozona maruz bırakıldıktan sonra %80 ve %93 oranlarında azaldığını, renk kalitesinde ise önemli bir değişiklik meydana gelmediğini belirtmişlerdir.

Karaca ve Velioglu (2009), model sistemde birçok metal iyonlarının varlığında patulin degradasyonu üzerine ozonlama işleminin etkinliğini araştırmışlardır. Patulinin başlangıç konsantrasyonu 250 µg/L ve deney sonucunda ortamdaki kalıntı ozon konsantrasyonunun 0,17±0,01 mg/L civarında olduğu belirlenen çalışma sonucunda

patulinin ozona karşı zayıf bir direnç gösterdiğini çünkü sadece 1 dakika ozonlama işleminden sonra bile patulinin %98'inin okside olduğunu belirlemişlerdir. Patulinin degradasyon hızının ortamda kalsiyum, alüminyum, bakır ve çinko iyonlarının varlığından etkilenmediğini, degradasyon hızının bu iyonların varlığı ve yokluğunda hemen hemen aynı olduğunu saptamışlardır. Bununla beraber, ortamdaki manganez konsantrasyonunun 0'dan 3 mg/L'ye çıkmasıyla beraber patulinin degradasyon oranının %98'den %37'ye düştüğünü, ortamda 0,5 mg/L konsantrasyonunda demir olduğu zaman ise degradasyon oranının sadece %8,5 düzeyinde gerçekleştiğini ve dolayısıyla manganez ve demirin patulinin ozon ile detoksifikasyonunu önemli oranda azalttığını belirtmişlerdir. Ortama etilendiamintetraasetik asit ve sodyum polifosfat gibi kelat oluşturarak metal iyonlarının etkisini azaltan maddeler eklendiğinde ise demirin bu maddeler tarafından kelatlanarak patulinin ozon ile degradasyon hızını artırdığını, test edilen hiçbir maddenin manganezi kelatlamada etkili olmadığını belirlemişlerdir.

Yapılan bir araştırmada, gaz ozon ve sulu ozonun, kurutulmuş incirlerin mikrobiyal florası ve aflatoksin B₁'in degradasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Kurutulmuş incirler 13,8 mg/L gaz ozona ve 1,7 mg/L sulu ozona 7,5, 15, 30 dakika süreyle maruz bırakıldıktan sonra aerobic mezofilik bakteri, *E. coli*, koliform, maya ve küf sayıları belirlenmiştir. Ozon uygulamalarından önce ve sonra kurutulmuş incirlerdeki küfler izole edilerek tanımlanmışlardır. Her iki ozon uygulamasında da aerobik mezofilik bakteriler tam olarak inaktive edilemezken *E.coli* 7,5 dakika, koliform ve mayalar 7,5 ve 15 dakika sulu ozonlamadan sonra tamamen yok edilmişlerdir. Küflerin inaktivasyonu için 15 dakika ozon uygulaması yeterli bulunmuştur. Aflatoksin oluşmasına neden olan *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* kurutulmuş incirlerden izole edilmiştir. Yapay olarak aflatoksin B₁ ile kontamine edilmiş kurutulmuş incirler 30, 60 ve 180 dakika gaz ve sulu ozonlama uygulamalarına tabi tutulmuşlardır. Her iki uygulamada da süre uzadıkça aflatoksin B₁'in degradasyonu hızlanmıştır. Sonuçlar, gaz ozonlamanın sulu ozonlamaya göre aflatoksin B₁'in degradasyonunda daha etkili olduğunu, bununla beraber sulu ozonlamanın ise mikrobiyal floranın azalmasında daha etkili olduğunu göstermiştir (Zorlugenç vd. 2008).

Ozon, özellikle sularda pestisit kalıntılarının azaltılması amacıyla halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, ozonla sulu çözeltilerde; deltamethrin, lambda-cyhalotrin, triadimenol (Lafi ve Al-Qodah 2006), diazinon, methyl parathion, parathion (Wu vd. 2009), mancozeb ve ethylenethiourea (ETU) (Hwang vd. 2001a, Hwang vd. 2003), carbaryl (Rajeswari ve Kanmani 2009), malathion (Ruan vd. 2004), phorate (Ku ve Lin 2002), atrazine (Ma ve Graham 2000), carbofuran (Benitez vd. 2002), cypermethrin ve chlorpyrifos (Salama ve Osman 2013) kolayca degradasyona uğratılabilmektedir.

Sanayide zeytinyağı üretimi prosesinde ozon kullanımı proses sırasında zeytin değirmeninden elde edilen atık sulardan fenolik maddelerin uzaklaştırılmasında kullanılmıştır. 15 dakika ve 40 dakika ozonlama sonunda ise fenolik madde miktarında sırasıyla %65 ve %85 azalma olduğu belirlenmiştir (Chedeville vd. 2009). Yeşil sofralık zeytinlerin salamura çözeltileri ozonlama işlemine tabi tutulmuştur. Segovia- Bravo vd. (2007), yaptıkları çalışmada 24 ve 72 saat ozonlama işleminin sofralık yeşil zeytinlerin fenolik madde miktarlarında azalmaya neden olurken, bu işlemin şeker içeriğini etkilemediğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada, yine sofralık yeşil zeytinlerin fermantasyon salamuralarından fenolik maddelerin uzaklaştırılması için gerekli olan ozon konsantrasyonunun asidik (pH 4.0) koşullarda 15 mg/L ve bazik (pH 10.0) koşullarda 7 mg/L olduğu ve bu salamuraların filtre edildikten sonra bire bir oranında seyreltilerek tekrar kullanılabilceği belirtilmiştir (Segovia-Bravo vd. 2008). Zeytinyağlarının ozonlanması sonucunda yağ asitleri zincirlerinin doymamışlık oranının ozonlama süresi uzadıkça azaldığı belirtilmiştir (Sadowska vd. 2008).

2.5.4 Gıda maddelerinden pestisit kalıntılarının ozon uygulaması ile uzaklaştırılması

Pestisit kalıntılarının gıda maddelerinden eliminasyonu amacıyla da ozonlama işlemi uygulanmaktadır. Özellikle, ozonlu musluk suyu ile yıkama işleminin sebzelerden pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasında oldukça etkili olduğu belirtilmektedir (Ahmed vd. 2011).

Çeşitli yıkama uygulamalarıyla, farklı tarımsal ürünlerdeki pestisit düzeylerinde önemli ölçüde azalmalar sağlandığı görülmüştür (Chavarri vd. 2005, Zhang vd. 2007). Son yıllarda gıdalarda mikrobiyel inaktivasyon amacıyla sıklıkla denenen ozonun, pestisit giderimi konusunda da verdiği sonuçlar umut vaat etmektedir. Ozonlu suyla gerçekleştirilen yıkama veya daldırma uygulamaları çeşitli ürünlerdeki diazinon, parathion, methyl-parathion, cypermethrin, azinphos-methyl, captan, formetanate hydrochloric acid, mancozeb ve ethylene-thiourea kalıntılarını önemli ölçüde azaltmıştır (Ong vd. 1996, Hwang vd. 2001b, Wu vd. 2007a, Wu vd. 2007b). Suda çözülmüş ozon uygulamalarına oranla gaz ozon uygulamaları ile pestisit giderimi çalışmaları son derece az sayıdadır. Metzger vd. (2007) vakslanmış portakalların ozon atmosferinde (0,18–0,20 mg/kg) 35 gün depolanmasının ardından imazalil, malathion ve chlorpyrifos düzeyinin kontrol örneklerine göre daha düşük çıktığını belirlemiştir. Hangi metotla olursa olsun pestisit kalıntılarının gideriminde kilit nokta, degradasyon ürünlerinin niteliği ve toksik özellikleridir.

Ozonlama ile organik bileşikler tamamen mineralize edilemezler. Daha düşük molekül ağırlığındaki ara ürünlere dönüşürler. Bununla beraber, organik fosforlu pestisitlere ozon uygulanmasından sonra fosforik asit, fosfat, karbonat, nitrat ve sülfat gibi inorganik bileşiklerin oluştuğu belirlenmiştir (Wu vd. 2009). Organik fosforlu pestisitlere ozon uygulanması sonrasında, ortamdaki reaktif hidroksil serbest radikalleri $-P=S$ bağına $-P=O$ (okson türevi) bağına dönüştürerek aktif maddelerinin yapılarının değişmesine neden olurlar (Whangchai vd 2011). Organik fosforlu pestisitlerin toksik hale gelmeleri için metabolik aktivasyon ile oksonlara dönüşmeleri, yani yapılarındaki $P=S$ grubunun $P=O$ grubuna dönüşmesi gerekir. Çünkü, yalnızca yapısında $P=O$ grubu bulunan organik fosforlu bileşikler asetilkolinesterazı baskılayabilmektedir (Demirögen 2010).

Wu vd. (2007a ve 2007b), methyl parathion, parathion, diazinon ve cypermethrinin şalgam (*Brassica rapa*) yüzeyinden uzaklaştırılmasında düşük miktarda çözünen ozon konsantrasyonundaki (1,4 ve 2,0 mg/L) sulu çözeltinin etkinliğini incelemiştir. Sıcaklığın ve sürenin proses üzerine etkisini gözlemlemek amacıyla da ozonlu suyla yıkama işlemlerini iki farklı sıcaklık (14 ve 24°C) ve sürede (15 ve 30 dakika)

gerçekleştirmişlerdir. Pestisitlerin uzaklaştırma etkinliğinin çözünen ozon konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlı olduğunu, ozonun inceledikleri pestisitler arasında en fazla cypermethrinin uzaklaştırılmasında etkili olduğunu saptamışlardır.

Başka bir çalışmada farklı yıkama işlemlerinin taze ve işlenmiş elmalardan mancozeb ve ETU (Ethylenethiourea)'nun uzaklaştırılması üzerine etkisi belirlenmiştir. 3 mg/kg ozon ve 500 mg/kg klor konsantrasyonlarındaki yıkamaların en etkili uygulamalar olduğu belirtilmiştir (Hwang vd. 2002b). Klor, klordioksit, ozon ve hidrojen peroksiasetik asit uygulamalarının taze elmalardan mancozeb ve ETU'nun uzaklaştırılmasındaki etkinliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise taze elmalar 1 ve 10 mg/kg düzeyinde mancozeb ile ilaçlanmıştır. Mancozeb kalıntılarının ozon uygulaması ile %56-97 arasında azaldığı, 1 ve 3 mg/kg ozon uygulaması ile de ETU'nun tamamen uzaklaştırıldığı belirtilmiştir (Hwang vd. 2001b). Zeytin ve zeytinyağlarında pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması için yapılan herhangi bir çalışmaya tarafımızca rastlanmamıştır.

Sofralık üzüm bağlarında, bağ küfünü önlemek için sıklıkla kullanılan bazı fungusit kalıntılarının miktarları belirli bir süre soğuk hava deposunda ve 0,3 µl/L konsantrasyonunda ozonla zenginleştirilmiş soğuk hava deposunda bekletilerek izlenmiştir. Çalışmada üzüm taneleri boscalid, iprodione, fenhexamid, cyprodinil ve pyrimethanil içeren çözeltilerle spreyleneş, karışımın kuruması için 24 saat beklendikten sonra plastik konteynırlarda polistren kutularda paketlenmişlerdir. Kutular ozon ve ortam havasında (2°C, %95 RH) 36 gün bekletilmiştir. 12 gün sonunda pestisit analizleri yapılmıştır. Ortam havasında bekletilen örneklerde boscalid, iprodione, fenhexamid, ve pyrimethanil kalıntılarının miktarı azalırken cyprodinilin kalıntı miktarı 36 gün sonunda önemli bir düşüş göstermemiştir. Ozon atmosferinde depolama ise özellikle fenhexamid, cyprodinil, ve pyrimethanil miktarını azaltırken boscalid ve iprodione miktarında aynı etkiyi göstermemiştir. Depolama süresi sonunda, fenhexamid, cyprodinil ve pyrimethanilin ozon atmosferindeki azalma hızları, normal hava atmosferindeki azalma hızının sırasıyla 1,6, 2,8 ve 3,6 katı düzeyinde olmuştur. Yapısal benzerliklerine rağmen ozon atmosferinde pyrimethanil, cyprodinile göre daha çabuk

azalmıştır. Fenhexamid ise hem hava hem de ozon atmosferinde diğer fungusitlere göre daha hızlı parçalanmıştır (Karaca vd. 2012).

Liçi (*Litchi chinensis* Sonn.) meyvesinde, chlorpyrifos kalıntısının azaltılmasında ozonun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada meyveler 10 mg/L konsantrasyonundaki chlorpyrifos çözeltisine daldırılarak 10 dakika bekletilmiştir. Daha sonra ilaçlanmış meyveler 80, 160, 200 ve 240 mg/L konsantrasyonlarındaki ozon gazına maruz bırakılarak; 2,2, 2,4, 3,3 ve 3,4 mg/L konsantrasyonlarında ozon içeren suya daldırılarak 10, 20, 30 ve 60 dakika ozona tabi tutulmuşlardır. Hem ozon gazı hem de ozon içeren suyun pestisit uzaklaştırılmasında etkili olduğu, en fazla etkinin her iki uygulamada da 60 dakika maruz kalma sonucunda elde edildiği belirtilmiştir. Meyveler 25°C'de 6 gün bekletildiğinde her iki uygulama ağırlık azalması, toplam çözünebilir katı madde miktarı, titre edilebilir asitlik değerlerinde önemli bir farklılık yaratmamıştır. Bununla birlikte, ozon içeren suda bekletilerek yapılan uygulama, gaz ozonlamaya göre meyvelerin yenilebilirlik özelliğinin olumsuz etkilenmesine neden olmuştur (Whangchai vd. 2011).

Azinphos-methyl, captan ve formetanate hydrochloride pestisitlerinin çözültiden ve taze ve işlenmiş meyvelerden uzaklaştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada klorlu ve ozonlu suyun etkisi karşılaştırılmıştır. Her üç pestisit model çözülti sistemde klor ve ozon uygulaması sonucunda %50-70 oranında azalmıştır. Captan ve formethanate hydrochloride, pH 7 ve 10,7'de, 50 ve 500 mg/L klor çözeltisinde hızlı bir şekilde bozunmuşlardır. Ozon uygulaması da pestisitlerin degradasyonunda etkili bulunmuştur. Genel olarak, pestisitlerin degradasyonu yüksek pH ve sıcaklıkta hızlanmıştır. Elma ve işlenmiş ürünlerden pestisitlerin uzaklaştırılmasında her iki uygulama da etkili olmakla birlikte en fazla azalma 500 mg/L konsantrasyondaki klorlu su uygulaması sonucunda görülmüştür. 0,25 mg/L konsantrasyonundaki ozon uygulaması ise, konsantrasyonun, ozonun sudaki stabilitesinin düşük olması ve yıkama suyunun organik madde içeriğinin fazla olması nedenleriyle fazla etkili olamamıştır (Ong vd. 1996).

Sebzelerden pestisit kalıntılarının ozon uygulaması ile uzaklaştırılması amacıyla geliştirilen yeni bir makine, kapalı temizleme bölmesi, ozon jeneratörü, su devir daim

pompası ve oksidasyon-redüksiyon potansiyelli (ORP) elektrottan oluşmaktadır. Çalışmada sebze olarak Çin beyaz lahanası, pestisit olarak ise permethrin, chlorfluazuron ve chlorothalonil kullanılmıştır. Pompa devir daimiyle 15 dakikalık bir temizleme işleminden sonra chlorfluazuron %51, chlorothalonil ise %53 oranında azalmıştır. Ozon üretim hızı 250 mg/saat olduğunda, chlorfluazuron %60, chlorothalonil ise %55 oranında azalarak sadece pompa devir daimine göre %2-9 arasında daha fazla azalma sağlanmıştır. Ozon üretim hızı 500 mg/saat olduğunda ise, chlorfluazuron %75, chlorothalonil ise %77 oranında azalarak sadece pompa devir daimine göre %24 oranında daha fazla azalma sağlanmıştır. Permethrin ise başlangıç konsantrasyon değeri bilinmediğinden çalışmada değerlendirilememiştir. Ozon uygulamasından sonra, incelenen tüm pestisitlerin sebzedeki kalıntı miktarları, bu pestisitler için standartlarda belirlenmiş maksimum kalıntı limitlerini karşılayacak düzeye inmiştir (Chen vd. 2013).

Sebzelerden fenitrothion kalıntısının uzaklaştırılmasında iki farklı ozon mikrobaloncuk (OMB) jeneratörünün etkinliğinin karşılaştırılması için yapılan bir çalışmada örnek olarak marul, domates ve çilek kullanılmıştır. Kullanılan jeneratörlerden biri basınç azaltma tipli (decompression type), diğeri ise gaz-su sirkülasyon (gas-water circulation) tipli jeneratörlerdir. Basınç azaltma tipli jeneratörde, aşırı doygunluk durumunun oluşması için yeterli miktardaki gaz, 3-4 atmosfer basınçta suda çözündürülmektedir. Bu durumda, aşırı doygun gaz stabil değildir ve sudan büyük miktarda hava baloncukları oluşturarak ayrılır. Gaz-su sirkülasyon tipli jeneratörde ise gaz, su girdabı içine verilir, girdap kırılarak oluşan gaz baloncuklarının daha küçük baloncuklara parçalanması sağlanır. Çalışmada fenitrothion içeren marul, domates ve çilek örnekleri, her iki jeneratörle ayrı ayrı elde edilmiş, başlangıç ozon mikrobaloncuk konsantrasyonunun 2 mg/kg olduğu çözeltilerde 0, 5 ve 10 dakika bekletilmişlerdir. Çalışma sonucunda sebze yüzeylerinden fenitrothion kalıntılarının uzaklaştırılmasında, daha fazla miktarda küçük ozon mikrobaloncukların (OMB) kolayca sebzeye nüfuz edebilmesinden dolayı, basınç azaltma tipli (decompression type) jeneratörün daha etkili olduğu belirlenmiştir (Ikeura vd. 2011).

Limon, portakal ve greyfurt meyvelerinden chlorpyrifos ethyl, tetradifon ve chlorothalonil kalıntılarının ozon uygulaması ile uzaklaştırılması için yapılan çalışmada

30 L musluk suyu reaktöre konularak suyun sıcaklığı 10°C'ye ayarlanmıştır. Ozon konsantrasyonu istenilen düzeye gelince (4, 6 ve 10 mg/kg) 1 kg örnek ozonlu suya daldırılarak 5 dakika ozonlama uygulamasına devam edilmiştir. Süre sonunda ozonlama uygulaması durdurulmuş ve örnekler güneş altında kurutulmuştur. Aynı işlemler 20 ve 40°C'de de yapılmıştır. Portakal örneğinin yüzeyinde absorbe edilen chlorothalonil kalıntıları 5 dakika ozonlama sonrasında tamamen uzaklaştırılmıştır. Chlorpyrifos ethyl ve tetradifon'da ise en fazla uzaklaşma %98,6 ve %94,2 oranında olmak üzere sırasıyla limon ve greyfurt örneklerinde olmuştur. Portakal ve greyfurt örneklerine nüfuz eden chlorothalonil ve chlorpyrifos ethyl kalıntıları 5 dakika ozon uygulaması sonrasında tamamen uzaklaştırılmışlardır. Uygulanan ozon miktarının artırılması uzaklaştırılan pestisit yüzdesini önemli derecede etkilemezken, ozonlama sıcaklığının yükseltilmesi negatif etki göstermiştir. Çalışmada, örneklerin musluk suyu ile yıkanmasının, pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasında ozon uygulaması kadar etkili olmadığı da belirtilmiştir (Kusvuran vd. 2012).

Bal arılarının çeşitli nedenlerle pestisitlere maruz kalabilmeleri nedeniyle bir çalışmada (James vd. 2013), bal petekleri ve boş bal arısı kovanlarından pestisitlerin uzaklaştırılmasında ozonun etkisi incelenmiştir. Dayanıklı pestisitler, kovanda yıllarca kalabilmekte ve muhtemelen de arılara zarar vermektedirler. Bal peteği, balın ekstraksiyonu için kovandan uzaklaştırılır ve bal ayrıldıktan sonra tekrar yerine yerleştirilir. Petekler tekrar kullanılıncaya kadar geçen süreçte petekten pestisitlerin uzaklaştırılması için fumigasyon yapılabilir. Çalışmada, 10-12 saat süreyle $\geq 920 \text{ mg O}_3/\text{m}^3$ konsantrasyonundaki ozon gazının cam yüzeyde coumophos kalıntılarını %93-100 ve tau-fluvalinate'yi ise %75-98 oranında azalttığı belirlenmiştir. Ozonun bal mumlarından pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasında fazla etkili olmadığı, yeni üretilmiş peteklerden (3 yıl içinde üretilmiş petekler) kalıntılarının uzaklaştırılmasında ise eski peteklere (arıcılar tarafından 10 yıldan uzun süre kullanılan) göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ozon petekte dimethylphenyl formamide, chlorpyrifos, ve fenpyroximate bulaşlarını önemli oranda azaltmıştır. Petek, ozon ile muamele edilince hoş olmayan bir koku oluşmuş, fakat bu uçucu bileşiklerin arılara ve insanlara zararlı olmayan düz zincirli aldehit ve karboksilik asitler oldukları belirlenmiştir. Ozonun kovanlardan pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasında yararlı olabileceği, ancak mumsu

yapılar içine daha iyi nüfuz edebilmesi için bir mekanizma bulunabilirse daha etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

O₃/UV/TiO₂ uygulamasının taze çay yaprakları ve sudan cypermethrin, malathion ve dichlorovos pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması üzerindeki etkisinin ve mekanizmasının belirlenmesi için bir çalışma yapılmıştır. Sonuçlar, pestisitlerin sudan O₃/UV/TiO₂ uygulaması ile uzaklaştırılmasının pH'dan etkilendiğini göstermiştir. Malathion ve dichlorovos alkali koşullarda, cypermethrin ise asidik ve nötr koşullarda hemen hemen %100'e yakın oranlarda sudan uzaklaştırılmışlardır. Bununla birlikte, çay yapraklarındaki pestisit kalıntılarının azalma hızı pH'dan etkilenmemiştir. Çay yapraklarından cypermethrin ve malathion kalıntıları O₃/UV/TiO₂ uygulaması ile sırasıyla %80 ve %70 oranlarında azalarak sadece su ile yıkama uygulamasından daha fazla oranlarda azalmışlardır. Bununla beraber, dichlorovos sadece su ile yıkama uygulaması ile hemen hemen %100 oranında azalmıştır. Bu durumun muhtemelen dichlorvosun sudaki çözünürlüğünün yüksek olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Bulunan sonuçlardan O₃/UV/TiO₂ uygulamasının sadece su ile yıkama uygulamasına göre suda çözünemeyen pestisitlerin (örneğin cypermethrin) uzaklaştırılmasında daha etkili olduğu belirlenmiştir (Li vd. 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Zeytin ve zeytinyağı örnekleri

Çalışmada Aralık 2011’de Aydın ili Çine ilçesinden temin edilen organik Memecik çeşidi yağlık zeytin örnekleri kullanılmıştır. Temin edilen zeytinlerin başlangıçta ele alınan pestisitlerden herhangi birini içerip içermediğini görebilmek amacıyla örnekler analiz edilmiştir. Örneklerin söz konusu pestisitlerden hiç birini içermediği belirlenmiş ve diğer çalışmalara geçilmiştir.

Zeytin örnekleri yapılacak olan ilaçlama işleminin etkinliğini artırmak için musluk suyu ile yıkanıp toz, toprak, sap, dal parçaları vb. yabancı maddelerden arındırılıp bir bez üzerinde kurutulduktan sonra belirlenen pestisit gruplarıyla ayrı ayrı ilaçlanmıştır.

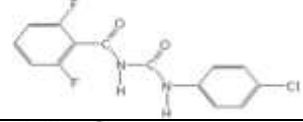
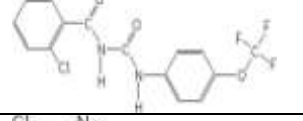
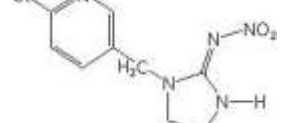
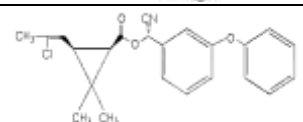
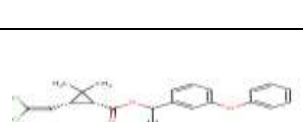
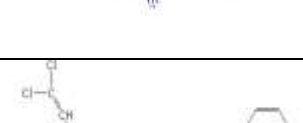
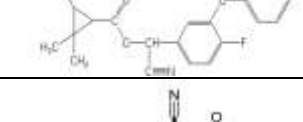
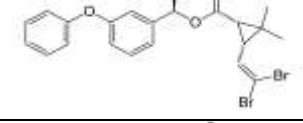
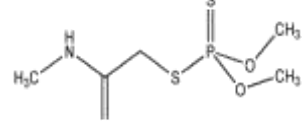
Zeytinyağı örnekleri ise belirlenen pestisit gruplarıyla ayrı ayrı ilaçlanan zeytin örneklerinin, su ve ozonlu su ile yıkanmasının ardından Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü pilot tesisinde zeytinyağına işlenmesi ile elde edilmiştir. Bu işlemler Yöntem bölümünde detaylı olarak açıklanmıştır.

3.1.2 Kimyasallar

Çalışmada kullanılan standart maddeler, saflık düzeyleri ve üretici firmaları çizelge 3.1’de, bazı fizikokimyasal özellikleri ise EK 1’de verilmiştir.

Her bir pestisitinin stok standart çözeltileri 1000 µg/mL konsantrasyonda, karışım çözeltileri ise 20 µg/mL konsantrasyonda olacak şekilde asetonitrilde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan standart maddelere ilişkin bazı bilgiler

| Aktif madde | Kaynağı | Safılık (%) | Açık formülü | Analiz yöntemi |
|--------------------|---|-------------|--|-----------------------------|
| Diflubenzuron | ChemService (ABD) | 98,0 |  | LC-MS/MS |
| Triflumuron | Sigma-Aldrich (Almanya), | 99,0 |  | LC-MS/MS |
| İmidacloprid | Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) | 99,0 |  | LC-MS/MS |
| Lambda-cyhalothrin | Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) | 98,0 |  | GC-ECD GC-MS |
| Alpha-cypermethrin | Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) | 97,5 |  | GC-ECD GC-MS |
| Beta-cyfluthrin | Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) | 99,0 |  | GC-ECD GC-MS |
| Deltamethrin | Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) | 99,5 |  | LC-MS/MS GC-ECD GC-MS |
| Dimethoate | Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) | 98,5 |  | LC-MS/MS |
| Chlorpyrifos | Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) | 98,5 |  | LC-MS/MS GC-ECD GC-MS |

Kullanılan diğer kimyasallar ve özellikleri şu şekildedir. Asetonitril (Sigma-Aldrich 34851), metanol (Sigma-Aldrich 34885), susuz magnezyum sũlfat ($MgSO_4$, Sigma-Aldrich M7506), sodyum klorũr (NaCl, Merck 1.06404), primer sekonder amin (PSA, Agilent Technologies 5982-5753), C18 (Agilent Technologies 12213012), grafitize edilmiş karbon siyahı (GCB, Supelco 57210-U) kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Zeytin örneklerinin ilaçlanmasında kullanılacak pestisitlerin, ilaçlama konsantrasyonunun ve spreylene solũsyon miktarının belirlenmesi

Zeytin örneklerinin ilaçlanmasında kullanılacak pestisitlerin belirlenmesi için Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ankara Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü'nden uzmanlarla görüşmeler yapılmıştır. Uzmanların yönlendirmesiyle Ruhsatlı Tarım İlaçları 2010 (Yücer 2010) kitabından zeytin yetiştiriciliğinde çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılan pestisitler belirlenmiş ve bu pestisitlerden 2011 yılı içinde yasaklı pestisitler grubuna alınanlar çıkarılmıştır. Daha sonra pestisitler çizelge 3.2'deki gibi 3 farklı şekilde gruplandırılmıştır.

Zeytin örneklerinin ilaçlanmasında uygulanacak konsantrasyonun belirlenmesi için Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Bulunmasına İzin Verilen Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliğinden (Anonim 2009c), belirlenen pestisitlerin MRL (Maksimum Kalıntı Limitleri) değerleri bulunmuş ve bu değerler çizelge 3.2'de verilmiştir. İlaçlama konsantrasyonu olarak da tüm MRL değerlerini kapsayan bir konsantrasyon olduğu için 5 mg/L'lik konsantrasyonun kullanılmasına karar verilmiştir.

İlaçlamada kullanılacak solũsyon miktarını belirlemek için 1 kg zeytin sũzgeç (şekil 3.1) üzerine birbirlerine değmeyecek şekilde konulup üzerlerine alttan iyice damlayacak şekilde su pũskürtũlmüřtür. Bu şekilde 1 kg zeytin için yaklaşık 100 ml su gerektiği hesaplanmıştır. Dolayısıyla ilaçlanacak olan 15 kg zeytinin 1,5 L, 5 mg/L'lik solũsyon ile ilaçlanması gerektiği hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2 Zeytin örneklerinin ilaçlanmasında kullanılan 3 farklı pestisit grubundaki pestisitler ve MRL değerleri

| Grup Adı | Pestisit Adı | Pestisit Sınıfı | Zararlı Sınıfı | MRL (mg/kg) |
|----------------|--------------------|------------------|-------------------------|-------------|
| 1. GRUP | Diflubenzuron | Benzoylurea | İnsektisit | 0,05 |
| | Triflumuron | Benzoylurea | İnsektisit | 0,2 |
| | İmidacloprid | Neonikotinoid | İnsektisit | 0,5 |
| 2. GRUP | Lambda-cyhalothrin | Pyrethroid | İnsektisit | 1 |
| | Alpha-cypermethrin | Pyrethroid | İnsektisit | 0,05 |
| | Beta-cyfluthrin | Pyrethroid | İnsektisit | 0,02 |
| | Deltamethrin | Pyrethroid | İnsektisit | 1 |
| 3. GRUP | Dimethoate | Organik fosforlu | Akarasit, İnsektisit | 2 |
| | Chlorpyrifos | Organik fosforlu | İnsektisit | 0,05 |

3.2.2 Zeytinlerin ilaçlanması

Her bir grup için 15 kg yıkanıp kurutulmuş zeytin püskürtme yöntemiyle (Karaca vd. 2012) 1,5 L, 5 mg/L'lik solüsyon ile ilaçlanmıştır. Tüm örnekler ilaçlandıktan sonra 1 gece (yaklaşık 15 saat) oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Wu vd. 2007a). Şekil 3.1'de zeytin örneklerinin ilaçlanmasında kullanılan düzenek gösterilmiştir.

İlaçlamada asetonitrilde hazırlanmış 1000 mg/L'lik stok solüsyonlarının 5 mg/L'ye suyla seyreltilmesi ile hazırlanan çözeltiler kullanılmıştır (Wu vd. 2007a). (İlaçlamada örneğin 3'lü karışım (1. grup) kullanılmışsa sulu çözeltide her bir pestisit konsantrasyonu 5 mg/L'dir.)



Şekil 3.1 Zeytinlerin ilaçlanmasında kullanılan düzenek

Her bir deneme grubu için temin edilen 15 kg zeytin, 1'er kg'lık 15 eşit parçaya bölünmüş ve çizelge 3.3'de gösterilen uygulamalar yapılmıştır. 1 kg zeytin örgülü çelik sepet içerisine konulduktan sonra içerisinde 2,5 L musluk suyu bulunan 15°C'ye ayarlanmış soğutmalı su banyosuna (Polyscience, Niles, IL, ABD) konularak yıkama işlemleri gerçekleştirilmiştir. İlaçlamanın etkinliğini test etmek üzere ise 3'er paralelli kontrol örnekleri hiç bir işlem yapılmadan analiz edilmiş ve zeytinyağına işlenmiştir. Tüm bu işlemler her pestisit grubu için ayrı ayrı yapılmış, toplamda ise 45 kg zeytin ilaçlanmıştır.

Çizelge 3.3 Zeytin örneklerine yapılan uygulamalar

| İşlem | Tekerrür | Kullanılan zeytin miktarı (kg) |
|--------------------------------------|----------|--------------------------------|
| Kontrol | 1 | 1 |
| | 2 | 1 |
| | 3 | 1 |
| 2 dakika ozonlu su ile yıkama | 1 | 1 |
| | 2 | 1 |
| | 3 | 1 |
| 5 dakika ozonlu su ile yıkama | 1 | 1 |
| | 2 | 1 |
| | 3 | 1 |
| 2 dakika su ile yıkama | 1 | 1 |
| | 2 | 1 |
| | 3 | 1 |
| 5 dakika su ile yıkama | 1 | 1 |
| | 2 | 1 |
| | 3 | 1 |
| Toplam: | | 15 |

3.2.3 Zeytinleri ozonlu su ile yıkanması ve yıkama sürelerinin belirlenmesi

Uygulamalarda kullanılan ozon gazı elimizde mevcut bulunan yüksek kapasiteli (20g/saat) jeneratörde (Opal OG 20, Ankara) üretilmiş ve bir debi ölçer (Riteflow flow-meter, 150 mm, size 2, Bel-Art Products Pequannock, NJ, ABD) kullanılarak dozu 600mL/dak'ya ayarlanmıştır. (Kullanılan ozon jeneratörü şekil 3.2'de görülmektedir). Ozon, suya Hwang vd. (2001a)'de belirtildiği gibi bubbling (doğrudan gazlama) şeklinde verilmiştir. (Ozonlama işlemi şekil 3.3'de gösterilmiştir). Gaz dağıtıcı olarak paslanmaz çelik filtre (Fisher Scientific Solvent Inlet Filter, 10 µm gözenek çaplı) kullanılmıştır. Ozonla yıkama işlemlerinde süre sonunda reaksiyon durdurucu olarak suda hazırlanmış 5,2 g/L konsantrasyondaki Difco Neutralizing Buffer (Cat. Nr. 236210, Becton, Dickinson and Sparks, MD, ABD)'dan 1 mL eklenmiştir. Süre sonunda sudaki kalıntı ozon miktarı Palintest cihazı ile hesaplanmış ve 5 dakika sonunda 0,38 mg/L O₃, 2 dakika sonunda ise 0,36 mg/L O₃ olarak bulunmuştur. Su ile

yapılan yıkama işleminde ise tüm koşullar aynı tutulmuş, ancak ozon gazı çıkışının çalkalama etkisini elimine 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. Şekil 3.4'de yıkama işleminde kullanılan örgülü çelik sepet ve su banyosu verilmiştir.



Şekil 3.2 Ozon jeneratörü



Şekil 3.3 Ozon gazının suya verilışı

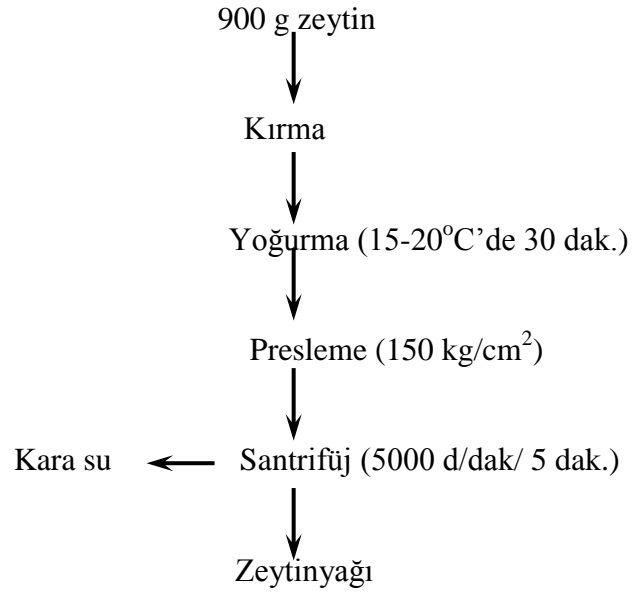


Şekil 3.4 Yıkama işleminde kullanılan örgülü çelik sepet ve su banyosu

Ozonlu su ile iki farklı yıkama süresinin tespiti için ön denemeler yapılmıştır. Ön denemelerde 1, 2, 5, 10 ve 20 dakika süreleri denenmiştir. Süre uzadıkça pestisit konsantrasyonunun fazla azalmadığı tespit edilmiştir. Örneğin, diflubenzuron 41,31 ng/g'den, 1 dakika sonunda 25,70 ng/g'ye, 2 dakika sonunda 20,43 ng/g'ye, 5 dakika sonunda 16,44 ng/g'ye, 10 dakika sonunda 20,14 ng/g'ye ve 20 dakika sonunda 23,47 ng/g'ye düşmüştür. Süre uzadıkça pestisit konsantrasyonunun fazla azalmadığı ve zeytinyağına işleme prosesinde işletmelerde kısa süreli yıkama işlemi uygulandığından çalışmalarda 2 ve 5 dakika ozonlama sürelerinin kullanılmasına karar verilmiştir.

3.2.4 Zeytinyağının elde edilmesi

Su ve ozonlu su ile yıkama işlemlerinden sonra tüm örnekler Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde bulunan pilot tesiste zeytinyağına işlenmiştir. Zeytinyağına işleme prosesi şekil 3.5' deki gibi yapılmıştır. Zeytinyağına işleme sırasında kullanılan kırıcı, yoğurucu ve pres resimleri EK 2'de verilmiştir.



Şekil 3.5 Zeytinyağına işleme prosesi

Bu şekilde 50-70 g arasında zeytinyağı elde edilmiştir. Elde edilen yağdan 10 g'ı pestisit analizleri için ayrılmış, diğer kısım ise zeytinyağı kalite analizleri için amber renkli viallerde tepe boşluğuna azot gazı verildikten sonra kapakları kapatılıp oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.2.5 Pestisit tayini

3.2.5.1 Zeytin örneklerinden pestisitlerin ekstraksiyonu

Çalışmada, Cunha vd. (2007) tarafından önerilen yönteme göre zeytin örneklerinde pestisitlerin analizi yapılmıştır. Zeytin örnekleri blendorda çekirdekleri ile beraber iyice parçalanıp homojenize edildikten sonra 15 g homojenize edilmiş örnek 50 mL'lik

santrifüj tüpüne tartılmıştır. Üzerine 15 mL asetonitril eklenip tüpün ağzı kapatılıp elle iyice çalkaladıktan sonra 6 g susuz MgSO₄ ve 1,5 g NaCl eklenip tüp tekrar 1 dakika el ile kuvvetlice çalkalanmış ve 3000 d/dak hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 2 mL alınıp içinde 300 mg susuz MgSO₄, 100 mg PSA, 100 mg C18, 15 mg GCB olan 15 mL'lik santrifüj tüpüne eklendikten sonra ekstrakt 20 saniye vortekslenip 3000 d/dak hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz 25 mm çapında 0,45 µm'lik teflon şırınga ucu filtrelerden süzöldükten sonra GC analizlerinde doğrudan, LC analizlerinde ise mobil faz ile 1/5 oranında seyreltildikten sonra analiz edilmiştir.

Geri alma çalışmalarında ise burada anlatılanlardan farklı olarak, 15 g homojenize edilmiş örnek 50 mL'lik santrifüj tüpüne tartıldıktan sonra hesaplanan miktardaki pestisit karışımı örneğe eklenmiştir. Daha sonra üzerine 15 mL asetonitril eklenerek yukarıda belirtilen işlemlerin aynısı yapılmıştır.

Cihaz yazılımları kullanılarak elde edilen kalibrasyon kurvelerinden zeytin örneklerindeki pestisit kalıntısı miktarı hesaplanmıştır. Tüm örneklerin ekstraksiyonları ikişer paralelli yapılmış olup cihaz okumaları üçer enjeksiyonlu seriler halinde yapılmıştır. Çalışmalarda GC'de miktar belirlemeler GC-ECD ile, pestisitlerin doğrulamaları ise GC-MS ile yapılmıştır.

3.2.5.2 Zeytinyağı örneklerinden pestisitlerin ekstraksiyonu

Çalışmada, Tekli Kalıntı Metotları için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı olan CVUA-Stuttgart'ın internet sitesinde yayımlanmış olduğu Türkçe çevirisiyle "Bitkisel yağlar için QuEChERS metodun değiştirilmesi (su içermeyen yağlı matrisler)" başlıklı metot (Anonymous 2011d) ile zeytinyağı örneklerinin ekstraksiyonları yapılmıştır. Zeytinyağı örneğinden 50 mL'lik santrifüj tüpüne 3 g tartılmıştır. Üzerine 10 mL asetonitril eklendikten sonra tüpün ağzı kapatılıp 1 dakika el ile kuvvetlice çalkalanmıştır. 3000 d/dak hızda 5 dakika santrifüj edildikten sonra üst fazdan alınan 4 mL ekstrakt, içinde 100 mg PSA ve 100 mg C18 olan 15 mL'lik santrifüj tüpüne eklenip 20 dakika vortekslenip 3000 d/dak hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 1 mL ekstrakt alınıp üzerine 10 µL %5 formik asit içeren asetonitril çözeltisi

eklenmiştir. Asitlendirilmiş ekstrakt GC analizlerinde doğrudan, LC analizlerinde ise mobil faz ile 1/5 oranında seyreltildikten sonra analizlerde kullanılmıştır.

Geri alma çalışmalarında ise burada anlatılanlardan farklı olarak, 3 g örnek 50 mL'lik santrifüj tüpüne tartıldıktan sonra hesaplanan miktardaki pestisit karışımı örneğe eklenmiştir. Daha sonra üzerine 10 mL asetoneitril eklenerek yukarıda belirtilen işlemlerin aynısı yapılmıştır.

Cihaz yazılımları kullanılarak elde edilen kalibrasyon kurvelerinden zeytinyağı örneklerindeki pestisit kalıntısı miktarı hesaplanmıştır. Tüm örneklerin ekstraksiyonları ikişer paralelli yapılmış olup cihaz okumaları üçer enjeksiyonlu seriler halinde yapılmıştır. Çalışmalarda GC'de miktar belirlemeler GC-ECD ile, pestisitlerin doğrulamaları ise GC-MS ile yapılmıştır.

3.2.5.3 GC-ECD koşulları

Pestisit tayininde ECD (Electron Capture Detector) dedektör donanımlı Agilent marka 7890A serisi gaz kromatografi cihazı kullanılmıştır. Analizlerde HP-5MS (30 m uzunluğunda, 0,25 mm çapında, film kalınlığı 0,25µm) kapiler kolonu kullanılmıştır.

Analiz parametreleri şu şekildedir:

Enjeksiyon modu : Splitless

Enjeksiyon hacmi : 1 µL

Enjeksiyon sıcaklığı : 250°C

Dedektör sıcaklığı : 300°C

Taşıyıcı gaz : Sabit akışta (1 mL/dak) helyum

Fırın sıcaklık programı: 60°C (0 dak.), 15°C/dak. ile 100°C (0 dak.), 5°C/dak. ile 200°C (0 dak.), 3°C/dak. ile 270°C (10 dak.), Toplam analiz süresi: 56 dakika.

3.2.5.4 GC-MS koşulları

Pestisit tayininde Agilent marka 5975C serisi MS (Mass Spektrometer) dedektör donanımlı 7890A serisi gaz kromatografi cihazı elektron iyonizasyon (EI) modunda kullanılmıştır. Analizlerde Bölüm 3.2.5.3’de belirtilen kapiler kolonu kullanılmıştır.

Analiz parametreleri şu şekildedir:

| | |
|-------------------------|--|
| İyon kaynağı sıcaklığı | : 230°C |
| Enjeksiyon modu | : Splitless |
| Enjeksiyon hacmi | : 1 µL |
| Enjeksiyon sıcaklığı | : 250°C |
| Taşıyıcı gaz | : Sabit basınçta (17,78 psi) Helyum |
| Fırın sıcaklık programı | : 70°C (2 dak.), 25°C/dak. ile 150°C (0 dak.), 3°C/dak. ile 200°C (0 dak.), 8°C/dak. ile 280°C (10 dak.), Toplam analiz süresi: 41,867 dakikadır |

GC-MS cihazında tanımlamalar SIM (selective ion monitoring) modunda yapılmıştır. Çalışmada analiz edilen her bir pestisit SIM parametreleri çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4 Pestisitlerin SIM parametreleri

| Pestisit (ve izomerleri) | RT (dak.) | Tanımlama İyonları (m/z) | | | |
|--------------------------|--------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| | | Q1 | Q2 | Q3 | Q4 |
| Lambda-cyhalothrin(-1) | 30,522 | 181 | 197 | 208 | 141 |
| Lambda-cyhalothrin(-2) | 30,810 | 181 | 197 | 208 | 141 |
| Alpha-cypermethrin(-1) | 33,227 | 163 | 181 | 165 | 77 |
| Alpha-cypermethrin(-2) | 33,516 | 163 | 181 | 165 | 77 |
| Beta_cyfluthrin(-1) | 32,709 | 163 | 206 | 77 | 165 |
| Beta_cyfluthrin(-2) | 32,860 | 163 | 206 | 77 | 165 |
| Beta_cyfluthrin(-3) | 32,998 | 163 | 206 | 77 | 165 |
| Beta_cyfluthrin(-4) | 33,053 | 163 | 206 | 77 | 165 |
| Chlorpyrifos | 19,503 | 97 | 199 | 197 | 314 |
| Deltamethrin(-1) | 35,042 | 253 | 251 | 77 | 181 |
| Deltamethrin(-2) | 35,392 | 253 | 251 | 77 | 181 |

3.2.5.5 LC-MS/MS koşulları

Pestisit tayininde Waters marka TQD ACQUITY UPLC Core model sistemi elektro sprey iyonizasyon (ESI) modunda kullanılmıştır. Analizlerde Acquity UPLC BEH C18 (100 mm uzunluğunda, 2,1 mm çapında, partikül büyüklüğü 1,7 µm) kolonu kullanılmış olup analiz parametreleri şu şekildedir:

| | |
|---------------------------|---|
| Kolon sıcaklığı | : 50°C |
| Oto-örnekleyici sıcaklığı | : 10°C |
| Enjeksiyon hacmi | : 20 µL |
| Akış hızı | : 0,45 mL/dak. |
| Mobil faz A | : 2 mM amonyum formatlı %10 MeOH-%90 Su |

Mobil faz B : 2 mM amonyum formatlı %95 MeOH-%5 Su
Dereceli elüsyon programı şu şekildedir: %100 A-%0 B (0-0,5 dak.), %100 A-%0 B (0,5-10 dak.), %0 A-%100 B (10-12,5 dak.), %0 A-%100 B (12,5-12,6 dak.), %100 A-%0 B (12,6-15 dak).

İyon Kaynağı Sıcaklığı : 130°C
Kurutma gazı sıcaklığı : 400°C
Kurutma gazı (Azot) : 900L/saat
Cone gazı (Azot) : 50 L/saat
Parçalama gazı (Argon) : 0,28 mL/dakika

Tanımlamalar MRM (multiple reaction monitoring) modunda yapılmıştır. Çalışmada analiz edilen her bir pestisit için optimize edilen cone ve collision (parçalama) enerjileri çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.5 LC-MS/MS cihazında analiz edilen pestisitlerin MRM parametreleri

| Pestisit | Ana iyon (m/z) | Parçalanma İyonu 1 (m/z) | Parçalanma İyonu 2 (m/z) | Cone (V) | Parçalanma Enerjisi 1 (V) | Parçalanma Enerjisi 2 (V) |
|----------------------|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Dimethoate | 230,05 | 125,05 | 199,05 | 22 | 22 | 10 |
| Chlorpyrifos | 352,00 | 97,00 | 200,00 | 27 | 31 | 20 |
| Diflubenzuron (ESI-) | 309,10 | 156,10 | 289,18 | 26 | 11 | 8 |
| Triflumuron (ESI-) | 357,05 | 85,05 | 154,05 | 30 | 41 | 12 |
| İmidacloprid | 256,10 | 175,10 | 209,10 | 25 | 18 | 16 |
| Deltamethrin | 523,10 | 280,80 | 505,90 | 24 | 16 | 11 |

3.2.6 Bazı metot performans kriterlerinin belirlenmesi çalışmaları

Performans kriterlerinin belirlenmesi için yapılacak çalışmalarda kullanılmak üzere belirlenen pestisitlerden 2 ayrı karışım hazırlanmış olup 1. karışım sıvı kromatografi kullanılarak iyi analiz edilebilen pestisitleri, 2. karışım ise gaz kromatografisi kullanılarak iyi analiz edilebilen pestisitleri içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bu karışımlarda bulunan pestisitler şunlardır:

- I. Karışımı oluşturan pestisitler: Dimethoate, Chlorpyrifos, Diflubenzuron, Triflumuron, İmidacloprid, Deltamethrin
- II. Karışımı oluşturan pestisitler: Lambda-cyhalothrin, Alpha-cypermethrin, Beta-cyfluthrin, Deltamethrin, Chlorpyrifos

Buradan anlaşılacağı üzere metot performans kriterlerinin belirlenmesi çalışmalarında deltamethrin ve chlorpyrifos her iki kromatografi tekniği kullanılarak analiz edilmiştir.

Bazı metot performans kriterlerinin belirlenmesi için zeytin ve zeytinyağı örneklerinde biri raporlama limiti diğeri de daha yüksek düzeyde olmak üzere iki farklı konsantrasyonda (20 ve 50 ng/g) 5 tekrarlı geri alma çalışmaları yapılmıştır.

3.2.6.1 Kalibrasyon kurvesi

Kalibrasyon kurvelerinin değerlendirilmesinde doğrusallık (r^2) göz önünde bulundurulmuştur. GC-ECD cihazında 5 noktalı (10, 25, 50, 100 ve 200 ng/g), LC-MS/MS cihazında ise 7 noktalı (2, 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 ng/g) kalibrasyon eğrileri cihazların yazılımı kullanılarak çizdirilmiştir. Kalibrasyon serileri matriks etkisini elimine etmek için matriks uyumlu hazırlanmıştır.

3.2.6.2 Tayin limiti (LOQ)

Tayin limitinin belirlenmesinde geri alma çalışmalarındaki metot performans kabul edilebilirlik kriterlerini karşılayan (%RSD: \leq %20 ve % geri alma: %70-120) en düşük konsantrasyon olan 20 ng/g'lık çalışmalar değerlendirilmiştir (Anonymous 2011a).

3.2.6.3 Gerçeklik ve tekrarlanabilirlik

Gerçeklik (% geri alma) ve tekrarlanabilirlik (%RSD) verileri tanık (kör) zeytin ve zeytinyağı örneklerinin iki farklı konsantrasyonda (20 ve 50 ng/g) ve her bir konsantrasyon için ayrı ayrı 5 tekrarlı (n=5) kuvvetlendirilmiş (spiked) geri alma çalışmalarından elde edilmiştir. % geri alma ve %RSD değerleri hesaplanırken 1. ve 2. denklemden verilen eşitlikler kullanılmıştır.

1. Denklem $\% \text{ Geri alma} = [(C_1 - C_2) / C_3] * 100$ (Anonymous 1998)

C_1 : kuvvetlendirilmiş örnekte ölçülen konsantrasyon

C_2 : kuvvetlendirilmemiş örnekte ölçülen konsantrasyon

C_3 : kuvvetlendirme konsantrasyonu

2. Denklem $\% \text{ RSD} = (s / \bar{x}) * 100$ (Anonymous 2005)

RSD: Relatif standart sapma

s : Standart sapma

\bar{x} : ortalama

3.2.6.4 Seçicilik/Spesifiklik

Çalışmada, içinde analiz edilecek pestisitlerin olmadığı kör numuneler kullanılmış ve tüm sonuçlar kütle spektrometresi kullanılarak doğrulanmıştır.

3.2.7 Zeytinyağı kalite analizleri

Ozonlama işleminin zeytinyağının kalitesi üzerinde yaptığı değişiklikleri incelemek için tüm örneklerde peroksit değeri, serbest yağ asitliği tayini, UV bölgede özgül soğurma değeri ve yağ asitleri kompozisyonu analizleri yapılmıştır.

3.2.7.1 Peroksit değeri tayini

Peroksit değeri, AOCS Official Method Cd8-53'e (Anonymous 1989) göre belirlenmiştir. Örneklerden yaklaşık 2 g 250 mL'lik erlenlere duyarlı bir şekilde tartılmış, üzerine 25 mL asetik asit: kloroform karışımı (3:2 v/v) ilave edilerek kloroform ile yağın çözünmesi, asetik asit ile de reaksiyon ortamının uygun hale

getirilmesi sağlanmıştır. Sonra 1 mL aşırı doygun potasyum iyodur (KI) çözeltisi ilave edilerek, sürekli ve hızlı bir şekilde 1 dakika süresince karıştırılmıştır. Bu süre sonunda bekletilmeksizin 75 mL destile su ilave edilerek reaksiyon bitirilmiştir. İndikatör olarak %1'lik nişasta çözeltisinden 3-4 damla ilave edilerek 0,002 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Renk açılınca titrasyon durdurulmuştur. Peroksit değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Peroksit değeri (meq O}_2\text{/kg yağ)} = (S/M) \cdot 2$$

Burada,

S: Titrasyonda harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin mL'si

M: Tartılan örnek miktarı (g)

3.2.7.2 Serbest yağ asitliği tayini

Yüzde serbest yağ asitliği tayini, AOCS Official Method Ca 5a-40'a (Anonymous 1989) göre yapılmıştır. Bu amaçla 3 g kadar yağ örneği bir erlene duyarlı bir şekilde tartılmış ve 75 mL %95'lik etil alkolde çözündürülmüştür. Belirteç olarak 3-4 damla fenolfitalein damlatılarak 0,01 N KOH çözeltisi ile 30 saniye kalıcı bir pembe renk oluncaya kadar titre edilmiştir. Örneklerin % serbest yağ asitliği aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Serbest yağ asitliği (\%, oleik asit cinsinden)} = (V \times N \times 28.2) / M$$

Burada,

N: KOH çözeltisinin normalitesi

V: Titrasyonda harcanan KOH çözeltisinin mL'si

M: Tartılan örnek miktarı (g)

28.2: 282 (Oleik asidin molekül ağırlığı) x 100 / 1000 dır.

3.2.7.3 UV bölgede özgül soğurma değeri

Özgül soğurma değeri analizi, AOCS Official Method Ch5-91'a (Anonymous 1989) göre yapılmıştır. Konjuge dien (K_{232}) değerinin hesaplanması için yağ örneğinden

yaklaşık 0.03 g tartılarak hekzan ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. 232 nm dalga boyunda absorbans okumaları yapılmış ve okunan değerlerin 0,2 ile 0,8 arasında olmasına dikkat edilmiştir. 0,2 absorbans değerinden düşük bir absorbans gözlenmişse daha fazla örnek alınmasına, 0,8 absorbans değerinden fazla bir okuma yapılmışsa örneğin seyreltilmesine gidilmiştir. K_{232} değerinin hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$K_{232} = E_{232}/c.s$$

Burada,

K_{232} = 232 nm'de özgül soğurma değeri

E_{232} = 232 nm'de okunan absorbans değeri

c = Çözeltinin konsantrasyonu (g/100 mL)

s = Küvetin ışık yolu (cm)

Konjuge trien (K_{270}) değeri için yağ örneğinden yaklaşık 0,3 g tartılarak ve hekzan ile çözülerek 10 mL'ye tamamlanmış ve 270 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur. 270 nm dalga boyu için K değeri hesaplanmıştır.

K_{270} değeri aşağıdaki genel formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$K_{270} = E_{270}/c.s$$

Burada,

K_{270} = 270 nm'de özgül soğurma değeri

E_{270} = 270 nm'de okunan absorbans değeri

c = Çözeltinin konsantrasyonu (g/100 mL)

s = Küvetin ışık yolu (cm)

3.2.7.4 Yağ asitleri kompozisyonu tayini

Yağ asitleri kompozisyonu analizi AOCS Official Method Ce 1h-05'e (Anonymous 1989) göre yapılmıştır. Yağ örneklerinden cam bir tüpe 1 damla konulup üzerine 10 mL heptan ve 2 N metanolde potasyum hidroksit çözeltisinden 0,5 mL eklendikten sonra tüpün kapağı kapatılıp karışım bulanıklaşmaya kadar kuvvetlice çalkalanmıştır.

Karışım bulanıklaştığı anda çalkalama durdurulup tüp dik konumda 30 dakika bekletilmiştir (Üst fazın bulanıklaşması türevlendirmeyi gösterir). 30 dakika sonunda üst kısımdan 1 mL cihaz vialine alınıp GC-FID’de okumaları yapılmıştır.

GC-FID Çalışma Koşulları:

Kolon : DB23 (60 m*0,25 mm; Film 0,2µm)

Enjeksiyon sıcaklığı : 250°C

Enjeksiyon Hacmi : 1µl

Enjeksiyon modu : Split

Split oranı : 20:1

Split akışı : 20 mL/dak

Purge akışı : 50 mL/dak

Purge süresi : 1 dak

Toplam akış : 54 mL/dak

Fırın Programı : 50°C 1 dak.

25°C/dak. 175°C

4°C/dak. 230°C 5 dak.

Dedektör Sıcaklığı : 280°C

Dedektör Gazları : Hidrojen: 40 mL/dak.

Hava: 450 mL/dak.

Helyum make-up gas: 30 mL/dak.

3.2.8 İstatistikî analiz

İstatistiksel analizler SPSS 16.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler arasında anlamlı bir fark olup olmadığının belirlenebilmesi için varyans analizi (One-way-ANOVA) gerçekleştirilmiştir. Farklılığın derecesini belirlemek için Duncan testi uygulanmıştır. Bu analizlerde %95 güven seviyesi ($P<0,05$) dikkate alınmıştır. Parametreler arasındaki korelasyonun belirlenebilmesi için Pearson korelasyon testi uygulanmıştır. Korelasyon analizinde %95 ve %99 güven seviyeleri ($P<0,05$; $P<0,01$) dikkate alınmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Pestisit Kalıntısı Analiz Metotlarının Metot Performans Kriterlerine İlişkin Bulgular

Zeytin ve zeytinyağı örneklerinde pestisit kalıntılarının analizleri için kullanılan metotların metot performans kriterlerinin belirlenmesinde doğrusallık, gerçeklik (% geri kazanım), tekrarlanabilirlik, seçicilik ve tespit limiti parametreleri göz önünde bulundurulmuştur.

4.1.1 Doğrusallık

Doğrusallık, zeytin ve zeytinyağı örneklerinin matriks uyumlu hazırlanan standart pestisit çözeltileri ile belirlenmiştir. Doğrusallığın belirlenmesi için kalibrasyon serisi solvent içerisinde değil, matriks etkisinin elimine edilebilmesi amacıyla doğrudan zeytin veya zeytinyağından elde edilen enjeksiyona hazır ekstrakt içerisinde hazırlanmıştır. Doğrusallık kriteri olarak belirleme katsayı değerinin $\geq 0,95$ olması kabul edilmiştir (EURL-FV 2013). Uygulanan metotların doğrusallığının belirlenebilmesi için hazırlanan kalibrasyon kurvelerine ilişkin bilgiler çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1’deki verilerden de görüleceği gibi zeytin ve zeytinyağı örneklerinden farklı metotlarla ekstrakte edilerek analiz edilen pestisit aktif maddelerinin hemen hemen hepsinin kalibrasyon eğrilerine ilişkin belirleme katsayısı (r^2) değerleri 0,99’dan yüksektir. Diflubenzuron zeytin örneklerinde, triflumuron ise hem zeytin hem de zeytinyağı örneklerinde 0,99’dan daha düşük bir belirleme katsayısı göstermiştir. En düşük belirleme katsayısı değeri 0,979 ile zeytin örneklerinde analiz edilen diflubenzuron aktif maddesinde gözlenmiştir.

Çizelge 4.1 Zeytin ve zeytinyağı örneklerinin kalibrasyon kurvesine ilişkin bilgiler

| Pestisit | Cihaz | Kalibrasyon Aralığı (ng/g) | Belirleme katsayısı (r ²) | |
|--------------------|----------|----------------------------|---------------------------------------|------------|
| | | | Zeytin | Zeytinyağı |
| Diflubenzuron | | 2-200 | 0,979 | 0,991 |
| Triflumuron | | 2-200 | 0,985 | 0,987 |
| Dimethoate | | 2-200 | 0,998 | 0,999 |
| İmidacloprid | LC-MS/MS | 2-200 | 0,998 | 0,997 |
| Chlorpyrifos | | 2-200 | 0,997 | 0,998 |
| Deltamethrin | | 2-200 | 0,999 | 0,998 |
| Lambda-cyhalothrin | | 10-200 | 0,999 | 0,999 |
| Beta-cyfluthrin | | 10-200 | 0,999 | 0,999 |
| Alpha-cypermethrin | GC-ECD | 10-200 | 0,999 | 0,999 |
| Chlorpyrifos | | 10-200 | 0,999 | 0,999 |
| Deltamethrin | | 10-200 | 0,999 | 0,999 |

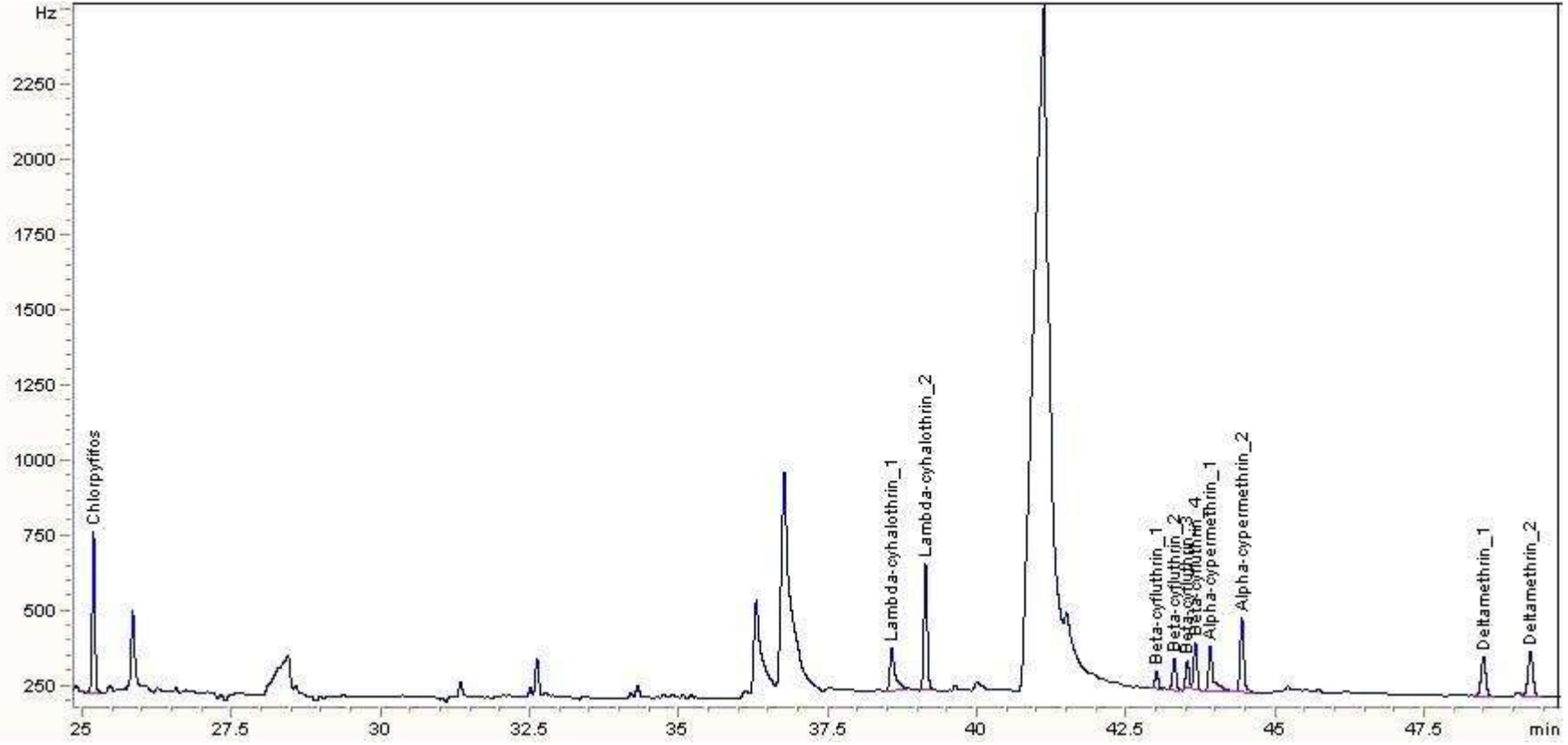
Pestisit aktif maddelerinin farklı matrislerden ekstraksiyonunda farklı metotlar uygulanmış ve uygulanan metotlar valide edilmiştir. Li vd. (2007) soya yağından 28 adet pestisit, Hernando vd. (2007) zeytinyağından 100 adet pestisit, Walorczyk (2008) buğday ve yemlerden 140 adet pestisit ve 4 adet pestisit parçalanma ürününün aynı anda analiz edilebilmesi için metot geliştirmişler ve geliştirdikleri metotları valide etmişlerdir. Validasyon çalışmalarında doğrusallık parametresini de kontrol etmişlerdir. Her üç metotta da kalibrasyon kurveleri matris etkisini elimine etmek için matris uyumlu hazırlanmış ve her bir aktif maddenin belirleme katsayısı değerleri kalibrasyon kurvelerinin çizildiği aralıklarda hesaplanmıştır. Hesaplanan belirleme katsayısı değeri 0,99 ve üzerinde olduğunda iyi bir doğrusallık olduğunu belirtmişlerdir. Walorczyk (2008), analiz edilen bileşiklerin %96'sının belirleme katsayısının 0,99'dan yüksek olduğunu, chlorpyrifos, fipronil, HCB, metconazole ve permethrin bileşiklerinde ise daha düşük değerler elde edilmekle birlikte en düşük değer 0,98 olduğunu belirtmiştir. Çalışmalarımızda en düşük belirleme katsayısı değerini 0,979 ile zeytin örneklerinde analiz edilen diflubenzuron aktif maddesi vermiştir. Bu değer 0,98 değerine oldukça yakın bir değerdir. Bakılan tüm pestisit aktif maddelerinin belirleme katsayısı $\geq 0,95$

olduğu için çalışmalarımızda kullandığımız metotlar ile iyi doğrusallık değerleri elde edilmiştir.

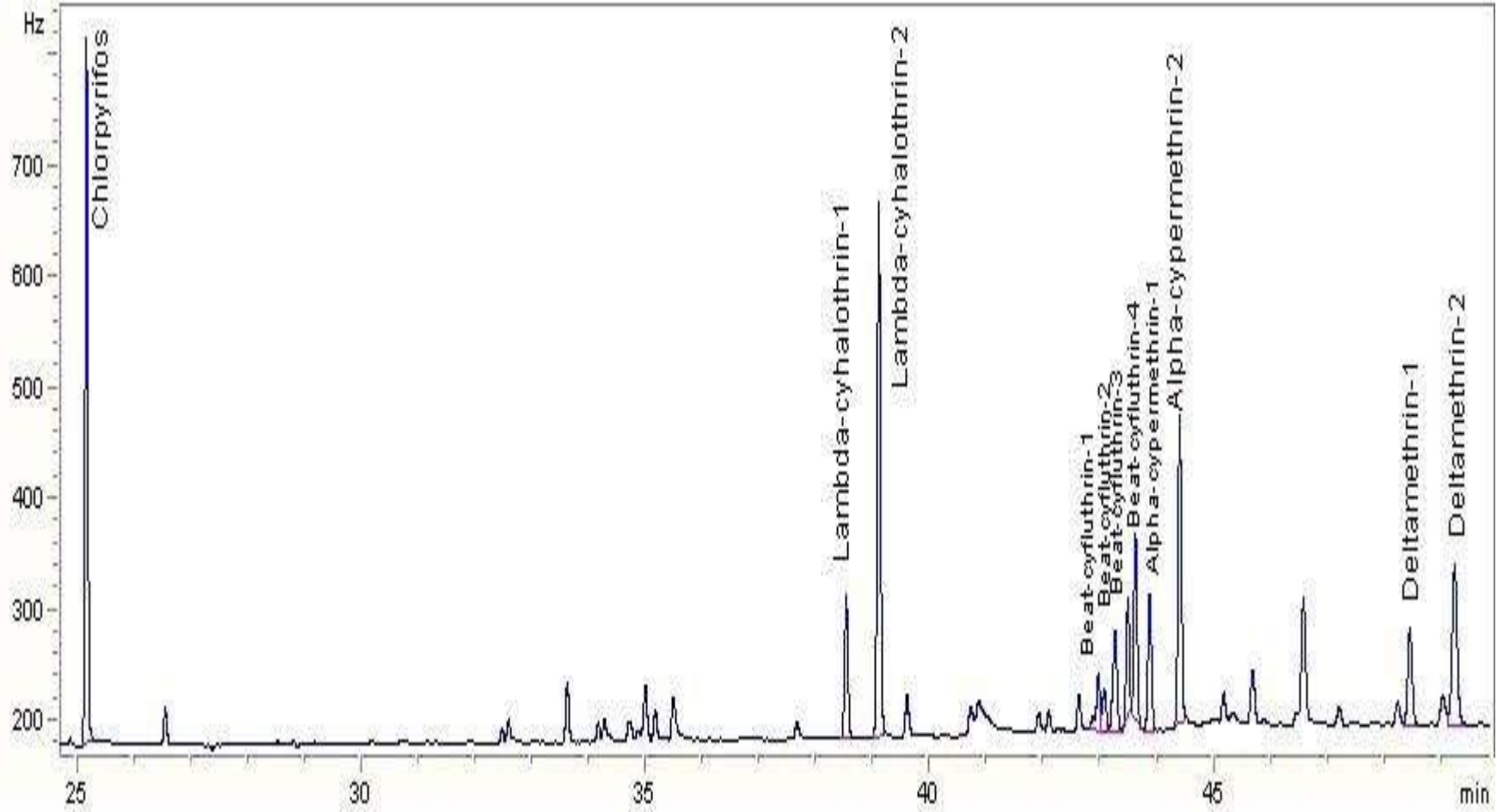
4.1.2 Gerçeklik ve tekrarlanabilirlik

Gerçeklik ve tekrarlanabilirlik, kr zeytin ve zeytinyağı örneklerinin iki farklı konsantrasyonda ve her bir konsantrasyon için ayrı ayrı 5 tekrarlı kuvvetlendirilmiş (spiked) alışmaları ile test edilmiştir. Uygulanan metotların doğruluğunun belirlenebilmesi için hesaplanan geri alma (%) ve tekrarlanabilirlik (%RSDr) değerleri zeytin örnekleri için izelge 4.2’de, zeytinyağı örnekleri için ise izelge 4.3’de verilmiştir.

SANCO/12495/2011 dokümanında metot performans kabul edilebilir değerlerinin geri alma değerleri için %70-120 arasında, RSDr tekrarlanabilirlik değerleri için ise \leq %20 olması gerektiği, bununla birlikte %60-140 genişletilmiş aralığın rutin çoklu kalıntı analizleri için kullanılabilceği belirtilmektedir. Buna göre belirlenen pestisitlerin zeytin ve zeytinyağı örneklerinde 20 ve 50 ng/g konsantrasyonlarında elde edilen sonuçlarının SANCO/12495/2011 dokümanının kriterlerini sağladıkları izelge 4.2-4.3’deki verilerden görülmektedir. İkinci karışımda bulunan pestisitlerin geri alma çalışmalarında GC-ECD’de elde edilen kromatogramları zeytin örnekleri için Şekil 4.1’de, zeytinyağı örnekleri için Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1 İkinci karışımda bulunan pestisitlerin zeytin örneklerindeki kromatogramları



Şekil 4.2 İkinci karışımında bulunan pestisitlerin zeytinyağı örneklerindeki kromatogramları

Çizelge 4.2 Zeytin çalışmalarının gün içi geri alma ve tekrarlanabilirlik değerleri

| Pestisit | Cihaz | Konsantrasyon (ng/g) | Geri alma (%) | Tekrarlanabilirlik (% RSDr) |
|--------------------|----------|-------------------------|------------------|--------------------------------|
| Diflubenzuron | LC-MS/MS | 20 | 97,51 | 2,87 |
| | | 50 | 89,21 | 7,07 |
| Triflumuron | | 20 | 99,64 | 8,09 |
| | | 50 | 99,46 | 5,13 |
| Dimethoate | | 20 | 87,85 | 12,77 |
| | | 50 | 81,33 | 5,50 |
| İmidacloprid | | 20 | 80,29 | 12,84 |
| | | 50 | 75,08 | 7,89 |
| Chlorpyrifos | | 20 | 89,72 | 10,87 |
| | | 50 | 66,78 | 6,20 |
| Deltamethrin | 20 | 78,71 | 5,28 | |
| | 50 | 74,43 | 10,72 | |
| Lambda-cyhalothrin | GC-ECD | 20 | 61,15 | 2,54 |
| | | 50 | 71,01 | 6,76 |
| Beta-cyfluthrin | | 20 | 109,04 | 5,24 |
| | | 50 | 112,69 | 2,72 |
| Alpha-cypermethrin | | 20 | 106,17 | 4,11 |
| | | 50 | 97,11 | 1,92 |
| Chlorpyrifos | | 20 | 98,20 | 5,00 |
| | | 50 | 106,74 | 6,58 |
| Deltamethrin | | 20 | 102,21 | 4,39 |
| | | 50 | 109,45 | 4,44 |

Çizelge 4.3 Zeytinyağı çalışmalarının gün içi geri alma ve tekrarlanabilirlik değerleri

| Pestisit | Cihaz | Konsantrasyon (ng/g) | Geri alma (%) | Tekrarlanabilirlik (% RSDr) |
|------------------------|----------|-------------------------|------------------|--------------------------------|
| Diflubenzuron | LC-MS/MS | 20 | 88,39 | 4,32 |
| | | 50 | 106,40 | 1,90 |
| Triflumuron | | 20 | 78,00 | 4,87 |
| | | 50 | 91,72 | 6,51 |
| Dimethoate | | 20 | 61,27 | 2,72 |
| | | 50 | 65,60 | 2,37 |
| İmidacloprid | | 20 | 77,79 | 4,44 |
| | | 50 | 69,82 | 2,68 |
| Chlorpyrifos | | 20 | 77,19 | 6,11 |
| | | 50 | 61,99 | 2,34 |
| Deltamethrin | 20 | 96,79 | 2,30 | |
| | 50 | 88,44 | 4,82 | |
| Lambda- cyhalothrin | GC-ECD | 20 | 79,80 | 5,31 |
| | | 50 | 77,45 | 4,67 |
| Beta-cyfluthrin | | 20 | 110,89 | 2,79 |
| | | 50 | 146,32 | 2,04 |
| Alpha- cypermethrin | | 20 | 89,53 | 12,04 |
| | | 50 | 94,42 | 5,10 |
| Chlorpyrifos | | 20 | 108,25 | 18,33 |
| | | 50 | 103,91 | 6,74 |
| Deltamethrin | | 20 | 95,17 | 15,15 |
| | | 50 | 90,83 | 7,73 |

Gerçeklik, deney sonuçlarının büyük bir serisinden elde edilen ortalama değer ile kabul edilen bir referans değer arasındaki yakınlık derecesidir. Gerçeklik ölçümü genellikle “toplam sistematik hata (bias)” cinsinden ifade edilir. Gerçeklik kontrolü, referans materyal kullanılarak ya da alternatif bir metot kullanılarak yapılabilir. SANCO/12495/2011 dokümanı geri kazanım değerleri üzerinden gerçeklik kontrolü

öngörmektedir (Açar vd. 2013). Çalışmalarda SANCO/12495/2011 dokümanına uygun olarak iki farklı konsantrasyonda (20 ve 50 ng/g) ve her bir konsantrasyon için ayrı ayrı 5 tekrarlı (n=5) kuvvetlendirilmiş (spiked) geri alma çalışmalarından elde edilen sonuçlarla gerçeklik kontrolü yapılmıştır.

Tekrarlanabilirlik (repeatability); bağımsız deney sonuçlarının, kısa zaman aralıkları içinde, aynı donanım kullanılarak, aynı deneyi yapan kişi tarafından, aynı laboratuvarında, eş değer deney maddeleri üzerinde aynı metot ile elde edildiği şartlar (tekrarlanabilirlik şartları) altındaki kesinliktir (Anonim 2000). SANCO/12495/2011 dokümanına göre, tekrarlanabilirlik kontrolleri RSDr değerleri üzerinden yapılmaktadır ve ilgili RSDr değerlerinin \leq %20 koşuluna uygunluğu kontrol edilmelidir. Çalışmalarda SANCO/12495/2011 dokümanına uygun olarak iki farklı konsantrasyonda (20 ve 50 ng/g) ve her bir konsantrasyon için ayrı ayrı 5 tekrarlı (n=5) kuvvetlendirilmiş (spiked) çalışmalarından elde edilen sonuçlarla tekrarlanabilirlik kontrolü yapılmıştır.

Fernandez Moreno vd. (2006), avokado gibi yağlı meyvelerden 65 pestisit kalıntısının düşük-basınç gaz kromatografisi-sıralı kütle spektrometresi ile analiz edilebilmesi için geliştirdikleri çoklu kalıntı yöntemini valide etmişlerdir. Ekstraksiyon metodunun geri alma ve kesinlik çalışmaları için kör avokado örneklerini, 2 farklı konsantrasyonda (12 ve 50 µg/kg) kuvvetlendirmişler ve her bir konsantrasyon için 5 tekrarlı çalışma yapmışlardır. Validasyon kriteri olarak da her bir kuvvetlendirme seviyesindeki ortalama geri kazanım değerinin %70-110 arasında olması gerektiğini kabul etmişlerdir. Çalışmada analiz ettikleri tüm pestisitlerde, kesinlik değerleri %19'un altında olan kabul edilebilir geri kazanım değerleri elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Cajka vd. (2012) yeşil ve siyah çaydan 135 adet pestisit kalıntısının gaz kromatografisi-sıralı kütle spektrometresi ile daha etkili analiz edilebilmesi için geliştirdikleri yöntemi valide etmişlerdir. Siyah ve yeşil çaydan pestisit kalıntılarının ekstraksiyonunu QuEChERS bazlı ekstraksiyon ile gerçekleştirdikten sonra temizleme tekniği olarak kendi geliştirdikleri sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) tekniğini kullanmışlardır. Siyah ve yeşil çay örneklerini 3 farklı konsantrasyonda (0,01, 0,1 ve 1 mg/kg) kuvvetlendirmişler ve her bir konsantrasyonda 6 tekrarlı çalışma yapmışlardır. Analiz

ettikleri pestisitlerin çoğunda (125 adet) RSDr değerleri \leq %20 olmak üzere ortalama geri kazanım değerlerini %70-120 arasında bulmuşlardır. Geliştirdikleri metodun, her üç kuvvetlendirme düzeyindeki metot performans kriterlerinin SANCO/12495/2011 dokümanının kriterlerini sağladığını belirtmişlerdir.

4.1.3 Tayin limiti (LOQ)

Tayin limiti, geri alma çalışmalarındaki metot performans kabul edilebilirlik kriterlerini karşılayan (% RSD: \leq % 20 ve % geri alma: %70-120) en düşük konsantrasyon olan 20 ng/g'lık çalışmalar ile test edilmiştir. Uygulanan metotların tayin limitinin tespit edilmesi için 20 ng/g konsantrasyonunda kuvvetlendirilen çalışmalardan hesaplanan geri alma (%) ve tekrarlanabilirlik (%RSDr) değerleri zeytin örnekleri için çizelge 4.2'de, zeytinyağı örnekleri için ise çizelge 4.3'de verilmiştir.

SANCO/12495/2011 dokümanında tayin limiti (LOQ); metot performans kabul edilebilirlik kriterlerini (RSD \leq %20 olmak üzere %70-120 aralığında her temsili ürün için ortalama geri kazanımlar) karşılayan en düşük doğrulanmış kuvvetlendirme düzeyi olarak tanımlanmaktadır. Buna göre, gittikçe azalan konsantrasyonlarda spike yapılarak geri kazanım çalışmaları yapılmalı, geri kazanımın %70-120 aralığında olduğu, RSD değerinin %20'nin altında olduğu en düşük konsantrasyon tayin limiti (LOQ) olarak belirlenmelidir (Açar vd. 2013). Çizelge 4.2-4.3'deki verilerden de görülebileceği gibi zeytin çalışmalarında lambda-cyhalothrin'in, zeytinyağı çalışmalarında ise dimethoate'in geri alma oranları %70'in altında bulunmuştur. Ancak, Pizzutti vd. (2009), soya tohumlarında 169 pestisit LC-MS/MS cihazı ile metot validasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, çoklu kalıntı metotlarında %70 değerinin altındaki geri alma değerlerinin iyi bir kesinlik değeri sağladıkları sürece (RSD \leq %20) kabul edilebilir olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarımızdaki en düşük kuvvetlendirme düzeyi olan 20 ng/g bu kriterleri sağladığı için zeytin ve zeytinyağında kullandığımız metotların tayin limiti olarak bu değer belirlenmiştir.

Tayin limitinin belirlenmesi için deneysel yöntemlerde kullanılan genel yaklaşım ise belli bir sayıda kör örneğin analiz edilerek analitik geri zeminin (background) ölçülmesi

ve bu değerlerin standart sapmasının 10 veya 20 gibi bir faktör ile çarpılmasıyla bulunan değerin tayin limiti olarak belirlenmesidir. Tayin limiti olarak belirlenen değer, daha sonra yakın ya da aynı miktarda hazırlanmış belli sayıda örnek analizi ile kontrol edilmelidir (Söğüt ve Kayalı 2005). Bu genel yöntem, hesaplanan tayin limitlerinde daha sonra mutlaka belirlenen konsantrasyonda geri kazanım çalışmalarının yapılması gerekliliğini ortaya koymakta ve validasyon çalışmalarına ayrı bir iş yükü getirmektedir. Bu nedenle, çalışmalarda SANCO/12495/2011 dokümanı rehber alınarak, metot performans kabul edilebilirlik kriterlerini ($RSD \leq \%20$ olmak üzere $\%70-120$ aralığında her temsili ürün için ortalama geri kazanımlar) karşılayan en düşük doğrulanmış kuvvetlendirme düzeyi tayin limiti olarak belirlenmiştir.

Walorczyk (2008), gaz kromatografisi sıralı kuadropol kütle spektrometre cihazı ile hayvan yemlerinde ve tahıllarda pestisitlerin belirlenmesi için, Garrido Frenich vd. (2008) ise 50 adet pestisit kalıntısının meyve ve sebzelerden ultra performans sıvı kromatografisi sıralı kütle spektrometresi ile analiz edilebilmesi için geliştirdikleri çoklu kalıntı metotlarının metot performans kriterlerini belirlerken tayin limiti (LOQ) değerini validasyon parametrelerinin ($RSD \leq \%20$ olmak üzere ortalama geri kazanım $\%70-120$) sağlandığı en düşük kuvvetlendirme seviyesi olarak belirlemişlerdir.

4.1.4 Seçicilik/Spesifiklik

Zeytin ve zeytinyağı örneklerinde uygulanan metotların metot performans kriterleri belirlenirken seçicilik/spesifiklik kontrolü için içinde analiz edilecek pestisitlerin olmadığı kör numuneler kullanılmış ve tüm sonuçlar kütle spektrometresi kullanılarak doğrulanmıştır.

Seçicilik/Spesifiklik, genel olarak, analitik metodun analiti örnekte bulunan diğer maddelerden ayırt etme yeteneği olarak tanımlanabilir (Açar vd. 2013). Örnek matrisinde bulunması gereken bileşenlerin yanında analiz edilecek maddelerin doğru ve özgün belirlenebilmesi, analitik yöntemlerin seçimliliğini belirler (Söğüt ve Kayalı 2005). SANCO/12495/2011 dokümanında seçicilik/spesifiklik; (gerekli durumlarda seçici ekstraksiyon, temizleme, türevlendirme ya da ayırma ile desteklenen) dedektörün analiti

etkili bir şekilde tanımlayacak sinyali sağlama yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Dokümanda, seçicilik/spesifiklik kontrolü için, cihazdan ya da kullanılan materyal ya da solventlerden gelen girişimlerin tespit edilmesini sağlayan reaktif blank (örnek içermeyen) ile kontrol örneklerinin response değerlerinin karşılaştırılması önerilmektedir. En çok karşılaşılan girişimlerin, örneğin yapısından gelen doğal bileşenlerin neden olduğu girişimler olduğu da belirtilmektedir. Eğer girişim, analizi yapılan analit ile üst üste pik veriyorsa, farklı bir temizleme (clean-up) uygulanması ya da farklı bir cihazda analiz edilmesi gerekebileceği belirtilmektedir.

Kromatografide örnek kromatogramı içindeki pikin tek mi yoksa birden çok bileşiğe mi ait olduğunu saptamak zor bir konudur. Bu nedenle analizci örnekte kaç bileşik olduğunu ya da saf olmayan piklerin ayırt edilmesi işlemlerinin kullanılıp kullanılmadığını bilmelidir. Saf olmayan pikler için eskiden mobil faz bileşimi ya da kolon gibi kromatografik parametreler düzenlenerek çözüm aranırken günümüzde anında (on-line) etkileşimli spektroskopik dedektörlerin uygulandığı kromatografik cihazlar kullanılmaktadır (Huber 2007).

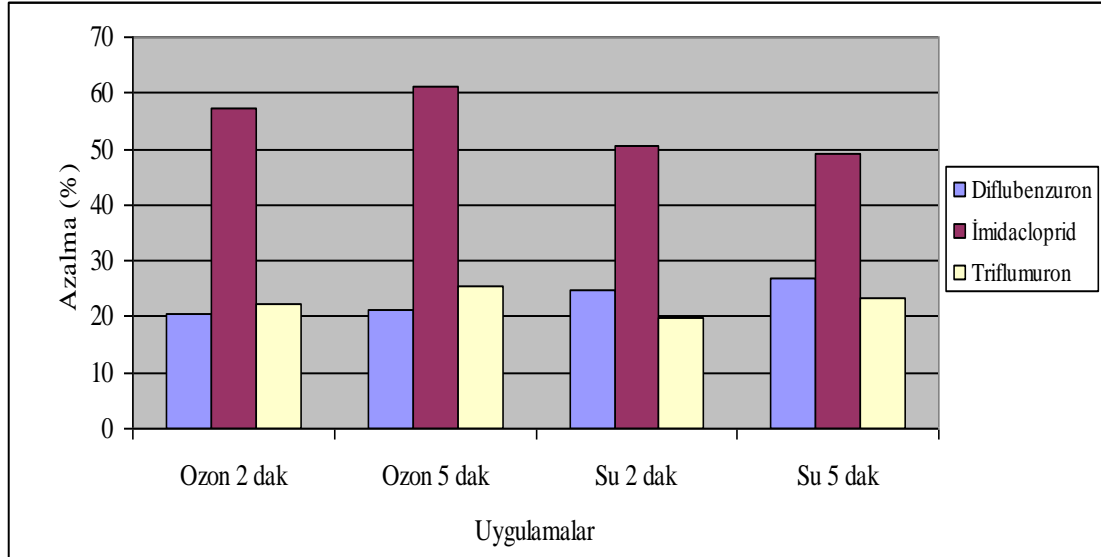
Bu nedenle uygulanan metotların seçicilik/spesifiklik parametrelerinin kontrolü için içinde analiz edilecek pestisitlerin olmadığı kör numuneler kullanılmış ve tüm sonuçlar kütle spektrometresi kullanılarak doğrulanmıştır.

4.2 Ozonlu Su ve Su ile Yıkama Uygulamalarının Zeytin Örneklerinden Pestisit Kalıntılarının Uzaklaştırılması Üzerine Etkisi

4.2.1 Birinci grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamaların pestisit düzeylerine etkisi

Birinci grupta benzoylurea grubundan iki (diflubenzuron ve triflumuron) ve neonikotinoid grubundan bir (imidacloprid) olmak üzere 3 aktif madde karışım halinde bulunmaktadır. Birinci grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamalar sonucunda örneklerde kalan pestisit miktarları (ng/g), azalma oranları (%) ve Duncan testi sonuçları çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4'den görüleceği gibi 2 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında sırasıyla diflubenzuron %20,4 ve %24,9 oranında, triflumuron ise %22,3 ve %19,9 oranında azalarak birbirlerine yakın düzeyde bir azalma eğilimi göstermişlerdir. Bu oran imidaclopridde ise sırasıyla %57,4 ve %50,5 olarak gerçekleşmiştir. İmidacloprid; diflubenzuron ve triflumurona göre 2 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında daha fazla oranda azalmıştır. Yine aynı şekilde 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında sırasıyla diflubenzuron %21,2 ve %26,8 oranında, triflumuron ise %25,4 ve %23,3 oranında azalarak birbirlerine yakın düzeyde bir azalma eğilimi göstermişlerdir. Bu oran imidaclopridde %61,2 ve %49,1 olarak gerçekleşmiştir. İmidacloprid; diflubenzuron ve triflumuron aktif maddelerine göre 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında daha fazla azalmıştır. En fazla azalmalar diflubenzuronda 5 dakika su ile yıkama, triflumuron ve imidaclopridde ise 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonrasında elde edilmiştir. Birinci grup zeytin örneklerinde en fazla azalma 5 dakika ozonlu su ile yıkama sonrasında %61,2 oranında olmak üzere imidacloprid aktif maddesinde elde edilmiştir. 2 ve 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında birinci grup zeytin örneklerinde belirlenen pestisit düzeylerinin değişimi şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3 Birinci grup zeytin örneklerinde uygulamalar sonrasındaki pestisit miktarlarının değişimi

Çizelge 4.4 Zeytin örneklerinde yapılan uygulamalar sonucu kalan pestisit düzeyleri (ng/g) ve bunun oransal azalmaları (%) (n=3)

| Çalışma Grubu | Aktif Madde | Kontrol | Ozon 2 dak | | Ozon 5 dak | | Su 2 dak | | Su 5 dak | |
|---------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| | | Kalan | Kalan | Azalma | Kalan | Azalma | Kalan | Azalma | Kalan | Azalma |
| 1 | Diflubenzuron | 401,8 ^a ±39,81 | 320,0 ^b ±23,44 | 20,4 ^a ±1,32 | 316,6 ^b ±16,97 | 21,2 ^a ±1,15 | 301,7 ^b ±5,47 | 24,9 ^a ±9,91 | 294,2 ^b ±19,46 | 26,8 ^a ±1,14 |
| | İmidacloprid | 123,4 ^a ±9,32 | 52,6 ^c ±2,86 | 57,4 ^a ±3,21 | 47,8 ^c ±1,35 | 61,2 ^a ±3,66 | 61,1 ^b ±8,60 | 50,5 ^a ±7,99 | 62,8 ^b ±7,92 | 49,1 ^a ±9,86 |
| | Triflumuron | 401,3 ^a ±46,44 | 311,8 ^b ±40,18 | 22,3 ^a ±1,85 | 299,2 ^b ±25,77 | 25,4 ^a ±1,38 | 321,6 ^b ±14,15 | 19,9 ^a ±6,18 | 307,7 ^b ±18,98 | 23,3 ^a ±1,30 |
| 2 | Lambda-cyhalothrin | 320,7 ^a ±7,64 | 287,3 ^a ±3,34 | 10,4 ^b ±6,67 | 165,3 ^b ±1,68 | 48,4 ^a ±6,54 | 177,5 ^b ±1,49 | 44,7 ^a ±3,38 | 170,8 ^b ±1,95 | 46,7 ^a ±4,13 |
| | Beta-cyfluthrin | 381,4 ^a ±2,17 | 262,7 ^b ±3,75 | 31,1 ^b ±1,60 | 188,2 ^c ±1,41 | 50,6 ^a ±4,44 | 242,3 ^b ±3,15 | 36,5 ^b ±5,88 | 241,0 ^b ±4,54 | 36,8 ^b ±5,76 |
| | Alpha-cypermethrin | 331,0 ^a ±3,55 | 328,2 ^a ±3,66 | 0,9 ^b ±9,16 | 147,4 ^c ±4,11 | 55,5 ^a ±6,77 | 220,2 ^b ±1,82 | 33,5 ^a ±1,60 | 212,3 ^b ±2,25 | 35,9 ^a ±1,80 |
| | Deltamethrin | 367,2 ^a ±22,20 | 329,2 ^a ±41,48 | 10,4 ^b ±4,36 | 175,5 ^b ±16,86 | 52,2 ^a ±8,02 | 187,3 ^b ±23,52 | 49,0 ^a ±6,44 | 184,8 ^b ±3,40 | 49,7 ^a ±4,23 |
| 3 | Chlorpyrifos | 342,9 ^a ±15,37 | 279,9 ^b ±20,77 | 18,4 ^b ±8,29 | 212,7 ^c ±17,44 | 38,0 ^a ±3,15 | 305,5 ^b ±31,19 | 10,9 ^b ±6,86 | 277,5 ^b ±11,53 | 19,1 ^b ±2,06 |
| | Dimethoate | 126,6 ^a ±25,28 | 77,9 ^c ±6,39 | 38,5 ^a ±1,07 | 61,5 ^c ±1,89 | 51,4 ^a ±8,38 | 92,7 ^b ±12,11 | 26,8 ^b ±1,40 | 67,0 ^c ±2,32 | 47,1 ^a ±1,25 |

^{a,b,c} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

Diflubenzuron, triflumuron ve imidaclopridde yapılan yıkama işlemleri (ozonlu veya ozonsuz) pestisitlerin gideriminde kontrole göre fark oluşturmaktadır ($P < 0,05$). Ancak, diflubenzuron ve triflumuronda uygulamada su veya ozonlu su kullanımı ve yapılan işlemin süresi pestisit gideriminde bir farka yol açmadığı halde ($P > 0,05$), imidaclopridde ozonlu su ile yıkamada giderim oranı artmış ($P < 0,05$), burada da uygulama süresinin etkisi görülememiştir.

EK 1'den görüleceği üzere diflubenzuron ve triflumuron aktif maddelerinin sudaki çözünürlükleri imidaclopride göre çok düşüktür. Diflubenzuron ve triflumuron aktif maddelerinin pK_{ow} değerleri ≥ 3 olduğundan yağda çözünebilir, imidacloprid ise pK_{ow} değeri < 3 olduğundan suda çözünebilir maddelerdir (Lippold 2011). Örneklerimizde, sudaki çözünürlüğü daha yüksek olan imidacloprid bu nedenle yıkama uygulamaları sonucunda daha fazla oranda azalmıştır. Sudaki çözünürlük değerleri birbirlerine yakın olan diflubenzuron ve triflumuron aktif maddelerinde, yıkama uygulamaları hemen hemen aynı oranda azalma sağlayabilmiştir. Ayrıca, diflubenzuron ve triflumuronun oksidasyona duyarlı kısımları, örneğin fenil halkası, alkali zinciri ve çift bağlar, bileşikleri bir nedenle ozon oksidasyonundan korumuştur. Benzer bir durumu, Karaca vd. (2012) sofralık üzümlerden fungusid kalıntılarının gaz ozonlama ile giderilmesi için yaptıkları çalışmalarında gözlemlemişlerdir. Çalışmalarında üzüm tanelerini, boscalid, iprodione, fenhexamid, cyprodinil ve pyrimethanil karışımını içeren çözeltiyle spreyleyip, 24 saat havada kuruttuktan sonra polistren kutular içinde plastik kaplara yerleştirdikten sonra 36 gün boyunca ozon ve normal hava atmosferinde ($2^{\circ}C$, RH %95) depolamışlardır. Boscalid, iprodione, fenhexamid, pyrimethanil havada depolamada azalırken, cyprodinil miktarı depolama süresince fazla değişmemiştir. Ozon atmosferinde depolama ise fenhexamid, cyprodinil ve pyrimethanil degradasyonunu önemli derecede hızlandırırken, boscalid ve iprodionda aynı etkiyi göstermemiştir. Araştırmacılar, boscalidin ozona direncinin yapısındaki aromatik ve heteroaromatik zincirlerin stabilitesinden kaynaklandığını, iprodionda ise bileşiğin oksidasyona duyarlı kısımlarının, örneğin fenil halkası, alkali zinciri ve çift bağların, bir nedenle bileşiği ozon oksidasyonundan koruduğunu belirtmişlerdir.

Diflubenzuronun foto degradasyonunun oldukça yavaş olduğu ($DT_{50}=80$ gün kuzey enlem günışığında) ve bileşimin hidrolize karşı oldukça dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Anonymous 2007). Avrupa Birliği Gıda Güvenliği Otoritesi EFSA ise triflumuronun toprakta fotolize karşı, pH 5 ve 7'de de hidrolize karşı dayanıklı olduğunu belirtmiştir (Anonymous 2011b). İmidacloprid ise hidrolize karşı dayanıklı iken ($25^{\circ}C$, pH 7'de yarılanma ömrü > 30 gün), sudaki foto degradasyonu ($24^{\circ}C$, pH 7'de yarılanma ömrü < 1 saat) oldukça hızlıdır (Spomer vd. 2009). İmidacloprid'in gün ışığında sudaki degradasyonunun hızlı olmasını sağlayan özelliğinin, sulu ozon uygulaması sonrasında örneklerden daha fazla miktarda uzaklaşmasına neden olduğu düşünülmektedir.

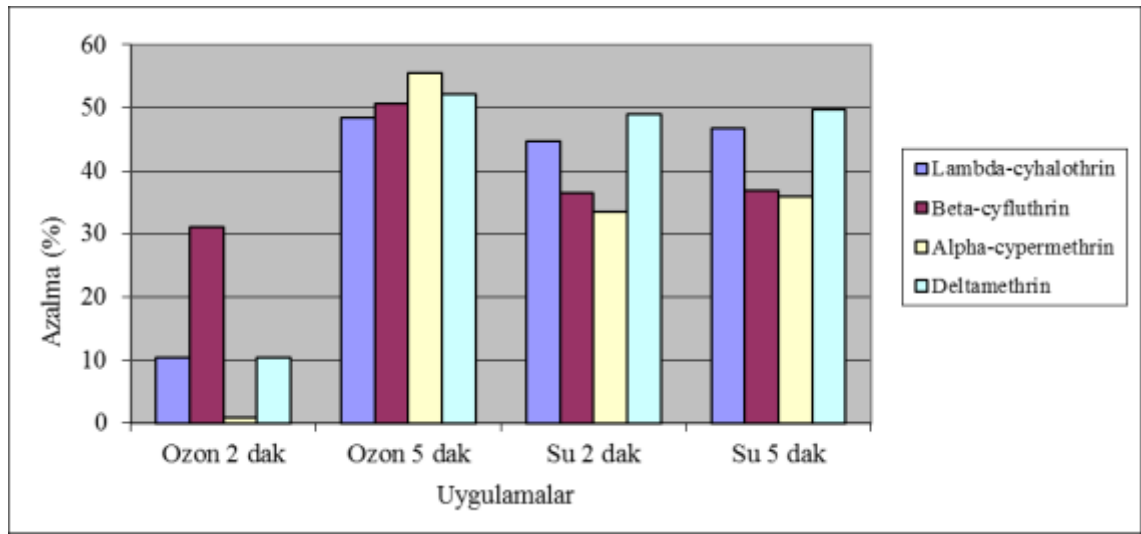
4.2.2 İkinci grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamaların pestisit düzeylerine etkisi

İkinci grupta pyrethroid grubundan 4 aktif madde (lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin, beta-cyfluthrin ve deltamethrin) karışım halinde bulunmaktadır. İkinci grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamalar sonucunda örneklerde kalan pestisit miktarları (ng/g), azalma oranları (%) ve Duncan testi sonuçları çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4'den de görüleceği gibi 2 dakika ozonlu su ve su ile yıkama sonrasında sırasıyla lambda-cyhalothrin %10,4 ve %44,7 oranında, beta-cyfluthrin %31,1 ve %36,5 oranında, alpha-cypermethrin %0,9 ve %33,5 oranında ve deltamethrin ise %10,4 ve %49,0 oranında azalmıştır. İkinci gruptaki tüm pestisitlerde, 2 dakika yıkama uygulamaları sonrasında en fazla azalma 2 dakika su ile yıkama uygulaması sonrasında gerçekleşmiştir. İncelenen bileşikler arasında ise en fazla azalma %49 ile deltamethrinde olmuştur. Alpha-cypermethrin 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması sonrasında hemen hemen hiç azalmamıştır. 2 dakika uygulamaları sonrasında azalma oranlarında en fazla fark alpha-cypermethrinde, en az fark ise beta-cyfluthrin'de olmuştur. 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında lambda-cyhalothrin %48,4 ve %46,7 oranında, beta-cyfluthrin %50,6 ve %38,6 oranında, alpha-cypermethrin %55,5 ve %35,9 ve deltamethrin ise %52,2 ve %49,7 oranında azalmıştır. İkinci gruptaki tüm pestisitlerde, 5 dakika yıkama uygulamaları

sonrasında en fazla azalma 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması sonrasında gerçekleşmiştir. Lambda-cyhalothrin ve deltamethrin, 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında hemen hemen aynı oranda azalmıştır. İkinci grup zeytin örneklerinde en fazla azalma 5 dakika ozonlu su ile yıkama sonrasında %55,5 oranında olmak üzere alpha-cypermethrin aktif maddesinde elde edilmiştir.

2 ve 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında ikinci grup zeytin örneklerinde belirlenen pestisit düzeylerinin değişimi şekil 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.4 İkinci grup zeytin örneklerinde uygulamalar sonrasındaki pestisit miktarlarının değişimi

Duncan sonuçlarına göre beta-cyfluthrinde su ve ozonlu su ile yıkama uygulamaları kontrol örneğine göre fark yaratmıştır ($P < 0,05$). Bu fark 2 ve 5 dakika su ile yıkama ve 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamalarında istatistiki olarak aynı gruba girecek şekilde gerçekleşirken 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması ile en fazla istatistiki fark elde edilmiştir. Lambda-cyhalothrin ve deltamethrinde ise 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması kontrol örneğine göre istatistiki bir fark oluşturmamıştır ($P > 0,05$). 2 ve 5 dakika su ile yıkama ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamalarındaki azalma kontrol örneğine göre bir fark yaratmakla birlikte bu üç uygulama arasında bir fark gözlenmemiştir. Alpha-cypermethrinde ise 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması kontrol örneğine göre istatistiki bir fark oluşturmamıştır ($P > 0,05$). 2 ve 5 dakika su ile yıkama ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamalarındaki azalma kontrol örneğine

göre bir fark yaratırken en fazla fark 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasında olmuştur.

EK 1'den görüleceği gibi ikinci gruptaki aktif maddelerin hepsinin pKow değerleri ≥ 3 olduğundan yağda çözünebilen bileşiklerdir (Lippold 2011), dolayısıyla sudaki çözünürlükleri düşüktür. Buna rağmen, 5 dakika su ile yıkama uygulamalarından sonra en düşük azalma %35,9 azalmayla alpha-cypermethrin'de görülmüştür. Alpha-cypermethrin 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasından sonra %55,5 oranında azalmıştır. Benzer bir sonuç Chen vd. (2013) tarafından ozon uygulaması ile sebzelerden pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması için yaptıkları bir çalışmada gözlemlenmiştir. Çalışmalarında Çin beyaz lahanalarında işlem yapılmadan önceki permethrin konsantrasyonunu 3,98 mg/kg olarak belirlemişlerdir. Daha sonra lahanaları parçalara ayırıp 15 dakika suda beklettiklerinde konsantrasyon 2,65 mg/kg'a, 15 dakika ozon ile muamele sonrasında ise 1,92 mg/kg'a düşmüştür. 15 dakika suda bekletme sonrasında %33,5'lük, ozonlama sonrasında ise %51,8'lik bir azalma elde edilmiştir. Ozonlama ile geleneksel suda bekletme yöntemine göre %18,3 oranında fazla azalma elde etmişlerdir. Permethrin'in sudaki çözünürlüğü 0,006 mg/L (20°C, pH 7) ve pKow değeri ise 6,1 (20°C)'dir (Anonymous 2013).

Birçok gıda örneğinden ozon uygulaması ile pestisit kalıntılarının uzaklaştırılması için çalışmalar yapılmış ve farklı ozonlama sürelerinin etkisi incelenmiştir. Azinphos-methyl, captan, formetanate hydrochloride'in taze elmalardan uzaklaştırılmasında 15 dakika (Ong vd. 1996); methyl parathion, parathion, diazinon ve cypermethrinin şalgam (*Brassica rapa*) yüzeyinden uzaklaştırılmasında 15 ve 30 dakika (Wu vd. 2007a); cypermethrin, malathion, dichlorvosun çay yapraklarından uzaklaştırılmasında 10, 20 ve 30 dakika (Li vd. 2012); permethrin, chlorfluazuron, chlorothalonilin çin beyaz lahanasından uzaklaştırılmasında 15 dakika (Chen vd 2013); mancozeb, ethylenethioureanın elmadan uzaklaştırılmasında 3 ve 30 dakika (Hwang vd. 2001b); chlorpyrifos ethyl, tetradifon, chlorothalonilin turunçgillerden uzaklaştırılmasında 5 dakika (Kusvuran vd. 2012); chlorpyrifos'un taze liçi meyvesinden uzaklaştırılmasında 10, 20, 30 ve 60 dakika (Whangchai vd. 2011); fenitrothionun marul, domates ve çilekten uzaklaştırılmasında 5 ve 10 dakikalık (Ikeura vd. 2011) ozonlu su ile yıkama

sürelerinin etkisi incelenmiştir. Çalışmalarda genellikle en kısa süre olarak 5 dakika seçilmiş, 1 ve 2 dakika gibi daha kısa sürelerin pestisit kalıntısına etkisine bakılmamıştır. Bu çalışmaların bulguları tezimizin farklı yerlerinde değerlendirilmiştir.

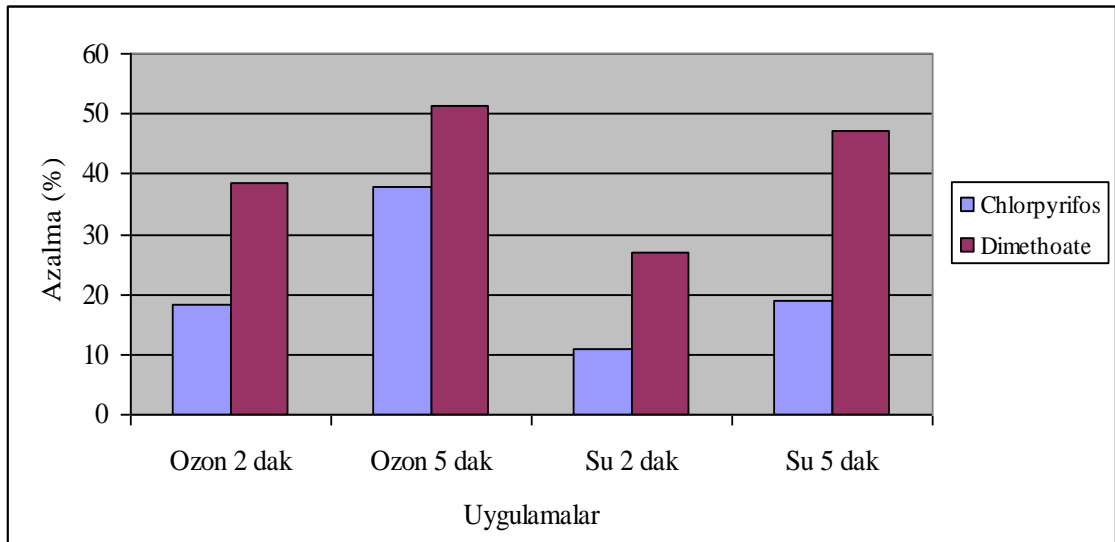
İkinci gruptaki zeytin örneklerinde, lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin, deltamethrin aktif maddelerinin 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması sonrasındaki konsantrasyonları kontrol örnekleriyle aynı kalacak şekilde değişim gösterdiğinden konsantrasyonlarında hemen hemen hiç azalma olmamıştır. Beta-cyfluthrin ise %31,1 oranında azalmıştır. Bu durum, ozon etkinliğinin “ortamın ozon talebi” olarak adlandırılan bir faktöre bağlı olması ile açıklanabilir. Ozon çok reaktif bir moleküldür ve neredeyse tüm organik ve inorganik bileşiklerle tepkimeye girer. Ozonun etkinliği uygulanan miktarına ve daha fazla oranda ortamdaki kalıntı ozon miktarına bağlıdır. Uygulama koşullarında ozonun stabil olmaması ve muamelenin yapıldığı ortamda ozon talebi olan maddelerin bulunması kalan ozon miktarını etkiler. Saf su en az ozon talebi olan ortamdır. Sudaki safsızlıklar, örneğin mineraller ozonla etkileşime girerler ve bunun sonucunda ozona talep artar (Karaca ve Velioğlu 2007). Saf suda 20 dakika sonra ozon aktivitesinin yarısından daha azı kalırken, musluk suyunda bu süre 2-3 dakikadır (Suslow 2004). Bu çalışmamızda uygulamalar sırasında musluk suyu kullanılması nedeniyle 2 dakikalık uygulama sonrasında ozon aktivitesi oldukça azalmıştır. Bunun sonucu olarak da yapısında aromatik halkasında elektronegatifliği oldukça yüksek olan flor içeren beta-cyfluthrinde beklenen düzeyde azalma olmuş, diğerlerinde azalma sınırlı kalmıştır.

4.2.3 Üçüncü grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamaların pestisit düzeylerine etkisi

Üçüncü grupta organik fosforlu grubundan 2 aktif madde (chlorpyrifos ve dimethoate) karışım halinde bulunmaktadır. Üçüncü grup zeytin örneklerinde yapılan uygulamalar sonucunda örneklerde kalan pestisit miktarları (ng/g), azalma oranları (%) ve Duncan testi sonuçları çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4’den de görüleceği gibi 2 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında chlorpyrifos %18,4 ve %10,9 oranında, dimethoate ise %38,5 ve %26,8

oranında azalmışlardır. Dimethoate, chlorpyrifosa göre 2 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında daha fazla oranda azalmıştır. Yine aynı şekilde 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında chlorpyrifos %38,0 ve %19,1 oranında, dimethoate ise %51,4 ve %47,1 oranında azalmışlardır. Dimethoate, chlorpyrifosa göre 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında daha fazla oranda azalmıştır. En fazla azalmalar her iki aktif maddede de 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonrasında elde edilmiştir. Üçüncü grup zeytin örneklerinde en fazla azalma 5 dakika ozonlu su ile yıkama sonrasında %51,4 oranında olmak üzere dimethoate aktif maddesinde elde edilmiştir. 2 ve 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonrasında üçüncü grup zeytin örneklerinde belirlenen pestisit düzeylerinin değişimi şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5 Üçüncü grup zeytin örneklerinde uygulamalar sonrasındaki pestisit miktarlarının değişimi

Duncan sonuçlarına göre dimethoatede su ve ozonlu su ile yıkama uygulamaları kontrol örneğine göre fark yaratmıştır ($P < 0,05$). Bu fark 2 ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama ve 5 dakika su ile yıkama uygulamalarında, 2 dakika su ile yıkama uygulamasına göre daha fazla gözlenmiştir. Su ile yıkama uygulamasında süre uzadıkça azalma oranı artarken ($P < 0,05$), ozonlu su ile yıkama uygulamasında süre uzadıkça azalma oranında farklılık gözlenmemiştir ($P > 0,05$). Chlorpyrifosda da yine su ve ozonlu su ile yıkama uygulamaları kontrol örneğine göre fark yaratmıştır ($P < 0,05$). Bu fark 2 ve 5 dakika su

ile yıkama ve 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamalarında istatistiki olarak aynı gruba girecek şekilde gerçekleşirken 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması ile en fazla istatistiki fark görülmüştür.

EK 1'den görüleceği üzere dimethoatenin sudaki çözünürlüğü chlorpyrifosa göre oldukça fazladır. Chlorpyrifos, pK_{ow} değeri ≥ 3 olduğundan yağda çözünebilen, dimethoate ise pK_{ow} değeri < 3 olduğundan suda çözünebilen maddelerdir (Lippold 2011). Bu çalışmada incelenen örneklerde, sudaki çözünürlüğü daha yüksek olan dimethoate bu nedenle 2 ve 5 dakika su ile yıkama uygulamaları sonucunda daha fazla oranda azalmıştır. Uygulama süresi uzadıkça azalma oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0,05$). Sudaki çözünürlüğü daha düşük olan chlorpyrifosda ise uygulama süresi uzadıkça azalma oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($P > 0,05$).

2 ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamalarından sonra yağdaki çözünürlüğü daha yüksek olan chlorpyrifosda uygulama süresi uzadıkça azalma oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ($P < 0,05$), yağdaki çözünürlüğü düşük olan dimethoatede ise fark istatistiksel olarak anlamsız ($P > 0,05$) olacak şekilde değişim göstermiştir. Yağdaki çözünürlüğü daha yüksek olan organik fosforlu bileşikte, ozonun oksidasyon özelliği uygulama süresi uzadıkça artmıştır.

Ozon, uygulandığı ortamda hızlı bir şekilde oksijene parçalanarak toksik kalıntı bırakmadığı için çevre dostudur. Ozon, büyük oranı hidroksil serbest radikali olmak üzere birçok serbest radikal üreterek parçalanır (Tiwari vd. 2009). Kuvvetli bir oksidant olan ozon, 2 ve 5 dakika ozon uygulamalarında muhtemelen chlorpyrifos ve dimethoatenin yapılarını bozarak etki etmiştir. Muhtemelen de, yapıdaki bozunmayı keto grubuna birleşerek sağlamıştır. Keto grubuna birleşmeyi ise reaktif bileşenler yapmıştır. Ozon uygulamaları sonrasında, ortamdaki reaktif hidroksil serbest radikalleri $-P=S$ bağına $\rightarrow -P=O$ (okson türevi) bağına dönüştürerek chlorpyrifos ve dimethoate aktif maddelerinin yapılarını değiştirmiştir (Whangchai vd 2011).

Çalışmamızda bu pestisitlerin okson türevlerinin tanımlaması ve miktarsal analizleri yapılmamıştır. Birçok organik fosforlu pestisitlerin yapısında fosfora çift bağlı sülfür atomu vardır. Toksik hale gelmeleri için metabolik aktivasyon ile oksonlara dönüşmeleri, yani yapılarındaki P=S grubunun P=O grubuna dönüşmesi gerekir. Çünkü yalnızca yapısında P=O grubu bulunan organik fosforlu bileşikler asetilkolinesterazı baskılayabilir (Demirögen 2010).

Pestisitlerin okson türevlerinin toksik etkilerinin olup olmadığı konusunda bazı görüş ayrılıkları bulunmaktadır. Wu vd. (2007a), methyl parathion, parathion, diazinon ve cypermethrinin şalgam (*Brassica rapa*) yüzeyinden uzaklaştırılmasında düşük miktarda çözünen ozon konsantrasyonundaki (1.4 ve 2.0 mg/L) sulu çözeltinin etkinliğini inceledikleri araştırmalarında, parathion ve diazinonun yan ürünü olan paraoxon ve diazoxonun iz miktarında oluştuğunu ve ozonlama prosesinde stabil olmadıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca, diazinonun oksidasyon yan ürününün oldukça güvenli olduğuna, diazinonun oksidasyon ara ürünlerine maruz kalan balıklarda hiçbir toksik etki ve biyobirikmenin bulunamadığına değinmişlerdir.

Normal atmosferik ortamda oksijene maruz kalınmasıyla da toksik ara ürünlerin oluşabileceği ileri sürülmektedir. Ozon ve diğer oksidantlar, toksik ara ürünlerin tamamen parçalanması ve sonuçta CO₂ oluşması için mineralizasyon prosesini hızlandırabilirler. Ayrıca, sıçan karaciğer hücrelerinde, parathion, methyl-parathion ve diazinon gibi bazı pestisitler, hücreler arasında düşük moleküllü bileşiklerin değiş tokuşunu sağlayan GJIC (GJIC-Gap junction intercellular communication) mekanizmasının inhibisyonuna 50-350 mg/L konsantrasyon aralığında neden olurken; aynı deneme koşullarında, oksonlar (paraoxon, methyl-paraoxon ve diazoxon) ve organik fosforuların diğer ozonizasyon yan ürün karışımlarının, test edilen hiçbir konsantrasyonda GJIC mekanizmasını etkilemediği belirlenmiştir (Wu vd. 2007c).

4.2.4 Yapılan uygulamaların zeytin örneklerindeki pestisit düzeylerine etkisine ilişkin genel değerlendirme

Genel olarak lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin ve deltamethrin pestisitlerinde 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması hariç su ile yıkama ve ozonlu su ile yıkama,

test edilen tüm pestisitlerde kontrol örneğine göre önemli oranda pestisit kalıntılarının zeytinlerden uzaklaşmasını sağlamıştır ($P < 0,05$). Lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin ve deltamethrin aktif maddelerinde ise uygulama sırasında kullanılan musluk suyunda safsızlıkların fazla olmasından dolayı ortamın ozon talebi artmış, ozon etkinliğini ilk dakikalarda gösterememiştir.

Bununla birlikte, ozonlu su ile yıkama uygulamalarında genel olarak, uygulama süreleri uzadıkça pestisit kalıntılarının azalma oranları da artmıştır ($P < 0,05$). Birinci grupta analiz edilen diflubenzuron, triflumuron, imidacloprid aktif maddelerinde ve üçüncü grupta analiz edilen dimethoatede ise ozonlu su ile yıkama uygulamalarında süre uzadıkça pestisit kalıntılarının azalma oranları fazla değişmemiştir ($P > 0,05$). Bu bileşiklerde ozon etkinliğini ilk 2 dakikada göstermiş süre uzadıkça ozonun etkinliği artmamıştır.

Su ile yıkama uygulamalarında ise, dimethote hariç olmak üzere, uygulama süresi arttıkça pestisit kalıntılarının azalma oranları sabit kalmıştır. İncelenen tüm aktif maddelerden sudaki çözünürlüğü en yüksek olanı dimethoatedir ($39800 \text{ mg/L } 25^\circ\text{C}$, pH 7) ve su ile yıkama süresi uzadıkça zeytin örneklerinden suya geçen miktarı da artmıştır.

Uygulamalar sonrasında incelenen pestisitlerin hangi uygulamalar sonucunda en fazla oranda azaldığı çizelge 4.5’de özetlenerek verilmiştir.

Musluk suyu ve ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonrasında, uygulamalar arasında fark yaratacak şekilde en fazla azalma oranları, 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasında chlorpyrifos, beta-cyfluthrin, alpha-cypermethrin ve imidacloprid pestisitlerinde gerçekleşmiştir. İmidaclopridde ise azalma oranı en fazla 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasında gerçekleşmekle birlikte, azalma oranı istatistiksel olarak 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması ile aynı grupta kalmıştır. Yani, imidaclopridde ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları arasında istatistiksel bir farklılık meydana gelirken ($P < 0,05$), ozonlu su ile yıkama uygulamasında uygulama süreleri arasında istatistiksel bir fark meydana gelmemiştir ($P > 0,05$).

Çizelge 4.5 İncelenen aktif maddelerde en fazla azalmanın görüldüğü uygulamalar

| Pestisit | Uygulama | Azalma oranı (%) | Uygulamalar arasındaki farklılık* |
|--------------------|----------------------------|-------------------------|--|
| Diflubenzuron | 5 dak su ile yıkama | 26,8 | $P > 0,05$ |
| İmidacloprid | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 61,2 | $P < 0,05$ |
| Triflumuron | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 25,4 | $P > 0,05$ |
| Chlorpyrifos | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 38,0 | $P < 0,05$ |
| Dimethoate | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 51,4 | $P > 0,05$ |
| Lambda-cyhalothrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 48,4 | $P > 0,05$ |
| Beta-cyfluthrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 50,6 | $P < 0,05$ |
| Alpha-cypermethrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 55,5 | $P < 0,05$ |
| Deltamethrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 52,2 | $P > 0,05$ |

* Kıyaslama, çizelgede belirtilen uygulamanın diğer üç uygulama ile karşılaştırılması sonucunu göstermektedir.

Chlorpyrifos, beta-cyfluthrin ve alpha-cypermethrinde 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması pestisit kalıntılarının önemli derecede zeytinlerden uzaklaşmasını sağlamakla birlikte zeytin örneklerinde kalan pestisit kalıntı miktarları, bu pestisitler için Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'nde (Anonim 2011) verilen MRL değerlerinden daha yüksek konsantrasyonda kalmıştır. Zeytin örneklerinde incelenen pestisitlerin en fazla oranda azaldıkları uygulamalar, uygulama sonrası kalan konsantrasyon, kontrol örneklerindeki konsantrasyonları ve MRL değerleri çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Pestisitlerin kontrol ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması sonucundaki zeytin örneklerindeki konsantrasyonları ve MRL değerleri (ng/g)

| Pestisit | Uygulama | Başlangıç (ng/g) | Kalan (ng/g) | MRL (ng/g) |
|--------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Diflubenzuron | 5 dak su ile yıkama | 401,8 | 294,2 | 50 |
| İmidacloprid | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 123,4 | 47,8 | 500 |
| Triflumuron | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 401,3 | 299,2 | 200 |
| Chlorpyrifos | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 342,9 | 212,7 | 50 |
| Dimethoate | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 126,6 | 61,5 | 2000 |
| Lambda-cyhalothrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 320,7 | 165,3 | 1000 |
| Beta-cyfluthrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 381,4 | 188,2 | 20 |
| Alpha-cypermethrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 331,0 | 147,4 | 50 |
| Deltamethrin | 5 dak ozonlu su ile yıkama | 367,2 | 175,5 | 1000 |

Çizelge 4.6'da görüleceği üzere yapılan uygulamalar pestisit miktarını çoğu zaman önemli düzeyde azaltmıştır. Musluk suyu ve ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonrasında, uygulamalar arasında fark yaratacak şekilde en fazla azalma oranları, 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasında chlorpyrifos, beta-cyfluthrin, alpha-cypermethrin pestisitlerinde gerçekleşmekle birlikte zeytin örneklerinde kalan miktarları bu pestisitler için ülkemizde belirlenmiş miktarların üzerinde kalmıştır. Bunun nedeninin, zeytin örneklerinin yağ oranının yüksek olması, kalın bir yüzeye sahip olması ve başlangıç konsantrasyonlarının yüksek olması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Başlangıç konsantrasyonlarının yüksek olması, ilaçlama sonrası zeytinlerde ne kadar pestisit kalacağını bilinmemesi nedeniyle başlangıç çözelti konsantrasyonumuzun tüm pestisitler için 5 mg/kg seçilmesinden kaynaklanmıştır. Nitekim örneklerimizin işlem öncesi pestisit düzeyi MRL'nin iki katı bile olsaydı, parçalanmanın düzeyi doğrudan ozonla etkileşime giren madde miktarı ile doğrudan bağlantılı olduğundan, parçalanmanın az olduğu sürelerdeki düzey muhtemelen çok daha yüksek olacaktı ve zeytinlerin önemli bir bölümü yıkama sonucu tüketime uygun hale gelecekti (Çalışmamızda bazı pestisitlerin başlangıçtaki düzeyi MRL'nin çok çok üzerindedir). Çalışmamızda, daha etkili bir uzaklaştırma ozon uygulaması ile

pestisitlerin uzaklaştırılmasında ozon miktarı, uygulama süresi ve sıcaklığı etkili olduğundan, bu parametreler optimize edilerek de sağlanabilirdi (Wu vd. 2007a).

Pestisit kalıntılarının ozon uygulaması ile gıda örneklerinden uzaklaştırılmasının etkinliğinin pestisitlerin ve gıda örneklerinin yapısal özelliklerine bağlı olduğu belirtilmiştir (Kusvuran vd. 2012, Wu vd. 2007b). Pestisitlerin kimyasal özellikleri, gıda örneklerinden uzaklaştırılmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Pestisitlerin reaktivitelerinin, kimyasalların en yüksek tam dolu moleküler orbitallerinin enerjileri ile tahmin edilebileceği belirtilmektedir (Anonymous 2001, Wu vd. 2007b, 2009). Gıda örneklerinin doğal mumsu yapıları (Wu vd. 2007b), yüzeylerinin kalınlıkları ve pürüzlülüğü (Ikeura vd. 2011) gibi özellikleri de pestisitlerinin uzaklaştırılma etkinliğini etkilemektedir.

Ikeura vd. (2011), çeri domateslerinden fenitrothion kalıntılarının düşük oranda uzaklaşmasının en muhtemel nedeninin çözünen ozon ve hidroksil radikallerinin çeri domateslerinin kalın perikarp tabakasından içeri sızarak sarkokarpa ulaşamayıp, perikarp ile temas edince inaktive olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, ozon uygulamasıyla, çileklerden daha fazla oranda fenitrothion kalıntısının uzaklaşmasının nedeninin çileklerin, çeri domateslerine göre daha pürüzlü bir yüzeye sahip olmasından kaynaklandığını düşünmüşlerdir. Pürüzlü bir yüzeye sahip olmaları çileklerin daha geniş bir yüzey alanına sahip olmasını, dolayısıyla ozon ile etkili bir şekilde etkileşime girerek sarkokarptaki fenitrothion kalıntılarını ozonun uzaklaştırabildiğini belirtmişlerdir.

Wu vd. (2007a ve 2007b), methyl parathion, parathion, diazinon ve cypermethrinin şalgam (*Brassica rapa*) yüzeyinden uzaklaştırılmasında düşük miktarda çözünen ozon konsantrasyonundaki (1,4 ve 2,0 mg/L) sulu çözeltinin etkinliğini incelemişlerdir. Sıcaklığın ve sürenin proses üzerine etkisini gözlemlemek amacıyla da ozonlu suyla yıkama işlemlerini iki farklı sıcaklık (14 ve 24°C) ve sürede (15 ve 30 dakika) gerçekleştirmişlerdir. Pestisitlerin uzaklaştırma etkinliğinin çözünen ozon konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bununla beraber, Kusvuran vd. (2012) ise limon, portakal ve greyfurt meyvelerinden chlorpyrifos ethyl,

tetradifon ve chlorothalonil pestisit kalıntılarının sulu ozon uygulaması ile uzaklaştırılması için yaptıkları çalışmalarında ise uygulanan ozon miktarının artırılmasının uzaklaştırılan pestisit yüzdesini önemli derecede etkilemezken, ozonlama sıcaklığının yükseltilmesinin negatif etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda musluk suyu ve ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonrasında, uygulamalar arasında fark yaratacak şekilde en fazla azalma oranları, 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasında chlorpyrifos (%38,0), beta-cyfluthrin (%50,6) ve alphacypermethrinde (%55,5) belirlenmiştir. Benzer bir sonucu Wu vd. (2007a) methylparathion, parathion, diazinon ve cypermethrinin sebze (*Brassica rapa*) yüzeyinden ozonlu su ile uzaklaştırılması için yaptıkları çalışmalarında bulmuşlardır. Ozonun inceledikleri bu 4 pestisit arasından en fazla cypermethrini uzaklaştırmada (> %60) etkili olduğunu belirtmişlerdir. Cypermethrin, sentetik pyrethroid grubu bir pestisittir. Birçok sentetik pyrethroidler, genellikle siklopropan halkasında çoklu asimetrik karbon atomları bulunması nedeniyle birkaç stereoizomerden oluşmaktadır (Spurlock ve Lee 2008). Çalışmamızda incelenen aktif maddeler arasında azalma oranının en fazla alphacypermethrinde gözlenmesi, ozonun kimyasal yapısında stereoizomer olan bileşiklere daha fazla etkili olduğunu göstermektedir.

4.3 Ozonlu Su ve Su ile Yıkama Uygulamalarının Pestisit Kalıntılarının Zeytinyağına Geçiş Düzeylerine Etkisine İlişkin Bulgular

Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'nde (Anonim 2011) işleme faktörü “işlenmiş ürünlerdeki pestisit kalıntı miktarının o işleme tabi tutulacak ürünlerdeki kalıntı miktarına oranı” şeklinde tanımlanmaktadır. İşleme faktörünün 1'den büyük olması proses sırasında kalıntı miktarının arttığını, 1'den küçük çıkması ise proses sırasında kalıntı miktarının azaldığını göstermektedir (Jiang vd. 2013).

Uygulamalar sonrasında zeytinyağı örneklerinde incelenen pestisitlerin hesaplanan işleme faktörleri çizelge 4.7-4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Kontrol örneklerinin işleme faktörleri (n=3)

| Aktif Madde | Zeytin (ng/g) | Zeytinyağı (ng/g) | İşleme faktörü |
|--------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Diflubenzuron | 401,8±39,81 | 768,9±67,80 | 1,9±0,04 |
| İmidaloprid | 123,4±9,32 | < 20 | - |
| Triflumuron | 401,3±46,44 | 913,2±21,84 | 2,3±0,25 |
| Lambda-cyhalothrin | 320,7±13,23 | 569,1±57,22 | 1,8±0,24 |
| Beta-cyfluthrin | 381,4±37,54 | 467,0±48,14 | 1,2±0,10 |
| Alpha-cypermethrin | 331,0±61,54 | 454,1±14,74 | 1,4±0,22 |
| Deltamethrin | 367,2±38,44 | 448,2±28,42 | 1,2±0,14 |
| Chlorpyrifos | 342,9±15,38 | 541,4±17,00 | 1,6±0,12 |
| Dimethoate | 126,6±25,28 | 96,1±1,42 | 0,8±0,16 |

Çizelge 4.8 Ozonlu su ile 2 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)

| Aktif Madde | Zeytin (ng/g) | Zeytinyağı (ng/g) | İşleme faktörü |
|--------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Diflubenzuron | 320,0±23,44 | 767,6±55,5 | 2,4±0,23 |
| İmidaloprid | 52,6±2,86 | < 20 | - |
| Triflumuron | 311,8±40,18 | 973,5±47,02 | 3,2±0,46 |
| Lambda-cyhalothrin | 287,3±33,44 | 592,4±19,11 | 2,1±0,25 |
| Beta-cyfluthrin | 262,7±38,51 | 496,2±10,77 | 1,9±0,27 |
| Alpha-cypermethrin | 328,2±36,64 | 536,2±4,43 | 1,6±0,19 |
| Deltamethrin | 329,2±41,48 | 516,6±27,35 | 1,6±0,27 |
| Chlorpyrifos | 280,0±20,77 | 653,4±26,16 | 2,4±0,25 |
| Dimethoate | 77,9±6,39 | 90,3±5,32 | 1,2±0,15 |

Çizelge 4.9 Ozonlu su ile 5 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)

| Aktif Madde | Zeytin (ng/g) | Zeytinyağı (ng/g) | İşleme faktörü |
|--------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Diflubenzuron | 316,6±16,97 | 563,8±36,61 | 1,8±0,22 |
| İmidaloprid | 47,8±1,35 | < 20 | - |
| Triflumuron | 299,2±25,77 | 760,7±51,93 | 2,6±0,39 |
| Lambda-cyhalothrin | 165,3±16,81 | 273,5±6,36 | 1,7±0,21 |
| Beta-cyfluthrin | 188,2±14,09 | 302,0±27,60 | 1,6±0,10 |
| Alpha-cypermethrin | 147,4±4,11 | 226,6±28,55 | 1,5±0,15 |
| Deltamethrin | 175,5±16,86 | 290,3±5,94 | 1,7±0,16 |
| Chlorpyrifos | 212,7±17,44 | 467,3±53,31 | 2,2±0,07 |
| Dimethoate | 61,5±1,89 | 70,1±9,58 | 1,1±0,17 |

Çizelge 4.10 Su ile 2 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)

| Aktif Madde | Zeytin (ng/g) | Zeytinyağı (ng/g) | İşleme faktörü |
|--------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Diflubenzuron | 301,7±5,47 | 634,3±29,44 | 2,1±0,09 |
| İmidaloprid | 61,1±8,60 | < 20 | - |
| Triflumuron | 321,6±14,15 | 823,7±17,97 | 2,6±0,10 |
| Lambda-cyhalothrin | 177,5±14,86 | 347,7±10,74 | 2,0±0,11 |
| Beta-cyfluthrin | 242,3±3,15 | 353,4±8,07 | 1,5±0,05 |
| Alpha-cypermethrin | 220,2±18,19 | 305,9±13,97 | 1,4±0,17 |
| Deltamethrin | 187,3±23,53 | 323,4±19,30 | 1,8±0,33 |
| Chlorpyrifos | 305,5±31,19 | 497,4±4,11 | 1,6±0,16 |
| Dimethoate | 92,7±12,11 | 96,2±4,52 | 1,0±0,18 |

Çizelge 4.11 Su ile 5 dakika yıkamanın işleme faktörüne etkisi (n=3)

| Aktif Madde | Zeytin (ng/g) | Zeytinyağı (ng/g) | İşleme faktörü |
|--------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Diflubenzuron | 294,2±19,46 | 615,3±25,97 | 2,1±0,05 |
| İmidaloprid | 62,8±7,92 | < 20 | - |
| Triflumuron | 307,7±18,98 | 781,4±34,76 | 2,5±0,13 |
| Lambda-cyhalothrin | 170,8±19,51 | 260,5±6,43 | 1,5±0,13 |
| Beta-cyfluthrin | 241,0±4,54 | 330,9±9,21 | 1,4±0,03 |
| Alpha-cypermethrin | 212,3±22,56 | 280,5±7,92 | 1,3±0,18 |
| Deltamethrin | 184,8±3,40 | 295,2±10,17 | 1,6±0,03 |
| Chlorpyrifos | 277,5±11,53 | 508,0±29,25 | 1,8±0,09 |
| Dimethoate | 67,0±2,32 | 86,4±3,97 | 1,3±0,10 |

Uygulamalar sonucunda kontrol grubundaki dimethoate hariç olmak üzere incelenen tüm aktif maddelerde işleme faktörü 1'den büyük bulunmuştur. Yani zeytinyağına işleme prosesi sırasında yağa geçen aktif maddelerin miktarları zeytindekine göre artmıştır. Bunun nedeni elde edilen yağ miktarının oransal olarak az olmasıdır. Tüm uygulamalar sonucunda dimethoate en az oranda zeytinyağında konsantre olurken triflumuron en fazla oranda zeytinyağında konsantre olmuştur. İmidacloprid ise zeytinyağına geçmemiştir. pKow değeri > 3 olan pestisitlerin yağda konsantre oldukları kabul edilmektedir. pKow değerleri sırasıyla 0,57 ve 0,704 olan imidacloprid ve dimethoate yağda çözünmedikleri için proses sonrasında fazla oranda yağa geçmemişlerdir. İmidacloprid'de zeytinyağına geçen miktar bu aktif için belirlenmiş olan tayin limiti değerinin altında kalmıştır. pKow değeri > 3 olan diğer aktifler ise yağda toplandığından proses sonrasında yağa geçmişlerdir.

İncelenen tüm maddelerde hesaplanan işleme faktörleri bu bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri (yağ ve suda çözünübilirlikleri) göz önüne alındığında beklenen değerlerin altında bulunmuştur. Örneğin, JMPR dokümanında (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues) cypermethrin için zeytinde işleme prosesi çalışmaları değerlendirilmiş ve cypermethrinin sızma ve rafine zeytinyağlarında konsantre olduğu

belirlenmiştir. İşleme faktörü olarak sızma zeytinyağlarında 7,5, rafine zeytinyağlarında 8.2 değerlerinin yasal uygulamalarda kullanılması önerilmiştir (Anonymous 2011c).

Amvrazi ve Albanis (2008), zeytinyağına işleme prosesinde su eklemenin azinphos methyl, chlorpyrifos, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, diazinon, dimethoate, endosulfan ve fenthion aktif maddelerinin işleme faktörlerine etkisini incelemiştir. Zeytinyağına işleme sırasında su eklenmeden, 100 g zeytine 37,5 ve 70 mL su eklenerek yapılan çalışmada su eklenmesinin dimethoate, alpha-endosulfan, diazinon ve chlorpyrifosun işleme faktörlerini azaltırken, fenthion, azinphos methyl, beta-endosulfan, lambda-cyhalothrin ve deltamethrinde işleme faktörlerini etkilememiştir. Azinphos methyl, beta-endosulfan, lambda-cyhalothrin ve deltamethrinde proses sırasında su eklenmesi işleme faktörlerini önemli derecede etkilenmemekle birlikte 100 g zeytine 70 mL su eklenen proses, su eklenmeyen prosese göre daha fazla oranda yağ elde edilmesine neden olduğundan, bu uygulamada daha fazla oranda yağda çözünen pestisitler yağa geçmiştir. Diazinon ve chlorpyrifos aktif maddelerinde işleme faktörleri değerlerinde gözlenen farklılığın 100 g zeytine 70 mL su eklenen proseste daha fazla yağ elde edilmesinden kaynaklandığını belirtilmiştir. Tarafımızdan yapılan çalışmalarda, zeytinyağına işleme sırasında su eklenmediği için yağ verimi az olmuştur (800-900 g zeytinden 50-70 g arasında yağ elde edilmiştir). Yağın büyük bölümü, dolayısıyla da fazla oranda yağda çözünen pestisitler zeytin küspesinde kalmıştır.

Sızma zeytinyağlarının yıkama, kırma, yoğurma (30°C'nin altında 30-90 dakika), presleme veya santrifüj işlemlerini içeren prostesten sonra teorik işleme faktörlerinin zeytin çeşidine (yağ ve su içeriğine) ve santrifüjde kullanılan tekniğe bağlı olarak 4-6 arasında değişim gösterdiği belirtilmektedir. Acephate, dimethoate, methamidophos, omethoate ve phosphamidon gibi suda çözünen pestisitler yağın zeytinden ekstraksiyonu sırasında sulu faza geçerek çok az oranda yağa geçmektedirler (örneğin dimethoate %6,3-8,8). Azinphos methyl, buprofezin, chlorpyrifos, fenthion, deltamethrin, diazinon, endosulfan, quinalphos, lambda-cyhalothrin, methidathion, parathion methyl gibi sudaki çözünürlükleri az olan pestisitler ise pestisitlerin yoğurma işlemi sırasında buharlaşma, hidroliz gibi reaksiyonlara stabiliteyi, Kow değerleri ve ekstraksiyon prosesinin verimliliğine bağlı olarak 2-7 arasında değişen işleme faktörleri

ile yağda konsantre olmuşlardır (Amvrazi ve Albanis 2008, Cabras vd. 1997, 2000, Ferreira ve Tainha 2006).

Bir çalışmada zeytinyağına işleme sırasında mevcut bulunan fenthion oranının %5'i oranında fenthion sulfoxide olduğu ve bunun su ekleme oranı ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber, endosulfan sülfat oluşumunun su ekleme ile bağlantılı olmadığı vurgulanmıştır (Amvrazi ve Albanis 2008). Çalışmamızda, pestisitlerin parçalanma ürünleri analiz edilmediği için zeytinyağına işleme prosesi sonrasında incelenen aktif maddelerin okson türevlerinin oluşup oluşmadığının değerlendirilmesi yapılamamıştır.

İşleme faktörleri değerlerinin beklenen değerlerin altında bulunması, aktif maddelerin yapılarında zeytin küspesiyle etkileşime girebilecek klor gibi yapıların olması veya çalışılan konsantrasyonların düşük olmasıyla ilişkilendirilebilir (Amvrazi ve Albanis 2008). Ayrıca, pilot tesiste zeytinyağına işleme prosesi sırasında özellikle yoğurma ve presleme işlemleri incelenen aktif maddelerin belirli oranda degradasyonuna yol açarak daha düşük miktarda aktif maddenin zeytinyağına geçmesine neden olduğu düşünülmektedir. Özellikle yoğurma işlemi sırasında, fazla miktarda hava ile temasın pestisitlerin oksidasyonuna neden olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

2 ve 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonucunda çalışmada incelenen tüm aktif maddelerinin işleme faktörleri değerleri, kontrol örneklerine göre istatistiksel olarak incelenmiştir. Bulgular çizelge 4.12'de verilmiştir.

Yapılan 2 ve 5 dakikalık su ile yıkama uygulamaları sonucunda, dimethoate 5 dakika su ile yıkama uygulaması hariç olmak üzere, işleme faktörü değerleri kontrol örneklerine göre istatistiksel farklılık oluşturmayacak şekilde değişim göstermiştir ($P > 0,05$). 2 ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonucunda ise, chlorpyrifos, dimethoate ve beta-cyfluthrin aktif maddelerinde işleme faktörü değerleri kontrol örneğine göre istatistiksel farklılık oluşturacak şekilde değişim göstermiştir ($P < 0,05$). Bununla birlikte, diflubenzuron ve triflumuron aktif maddelerinde, sadece 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması kontrol örneğine göre farklılık oluşturmuştur ($P < 0,05$).

Çizelge 4.12 Uygulamalar sonucu belirlenen işleme faktörü değerleri (n=3)

| Aktif madde | Uygulama | | | | |
|--------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Kontrol | Ozon | | Su | |
| | | 2 dak | 5 dak | 2 dak | 5 dak |
| Diflubenzuron | 1,9 ^{bc} ±0,04 | 2,4 ^a ±0,23 | 1,8 ^c ±0,22 | 2,1 ^b ±0,09 | 2,1 ^b ±0,05 |
| İmidacloprid | - | - | - | - | - |
| Triflumuron | 2,3 ^b ±0,25 | 3,2 ^a ±0,46 | 2,6 ^b ±0,39 | 2,6 ^b ±0,10 | 2,5 ^b ±0,13 |
| Lambda-cyhalothrin | 1,8 ^{abc} ±0,24 | 2,1 ^a ±0,25 | 1,7 ^{bc} ±0,21 | 2,0 ^{ab} ±0,11 | 1,5 ^c ±0,13 |
| Beta-cyfluthrin | 1,2 ^c ±0,10 | 1,9 ^a ±0,27 | 1,6 ^b ±0,10 | 1,5 ^{bc} ±0,05 | 1,4 ^{bc} ±0,03 |
| Alpha-cypermethrin | 1,4 ^a ±0,22 | 1,6 ^a ±0,19 | 1,5 ^a ±0,15 | 1,4 ^a ±0,17 | 1,3 ^a ±0,18 |
| Deltamethrin | 1,2 ^a ±0,14 | 1,6 ^a ±0,27 | 1,7 ^a ±0,16 | 1,8 ^a ±0,33 | 1,6 ^a ±0,03 |
| Chlorpyrifos | 1,6 ^b ±0,12 | 2,4 ^a ±0,25 | 2,2 ^a ±0,07 | 1,6 ^b ±0,16 | 1,8 ^b ±0,09 |
| Dimethoate | 0,8 ^b ±0,16 | 1,2 ^a ±0,15 | 1,1 ^a ±0,17 | 1,0 ^{ab} ±0,18 | 1,3 ^a ±0,10 |

^{a,b,c} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

Uygulamalar sonucunda zeytin örneklerinden zeytinyağına geçen (%) pestisit kalıntı oranları çizelge 4.13 'de verilmiştir. Zeytinyağına geçen % pestisit miktarı işleme faktörünün % yağ verimi ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır. % yağ verimi ise elde edilen yağ miktarının proses edilen zeytin miktarına bölünüp, çıkan sonucun 100 ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır (Amvrazi ve Albanis 2008). Hesaplamalar denklem 1 ve 2'de verilmiştir.

Denklem 1: geçen pestisit (%) = işleme faktörü (F) x yağ verimi (%)

Denklem 2: yağ verimi (%) = elde edilen yağ miktarı (kg)/proses edilen zeytin miktarı (kg) x 100

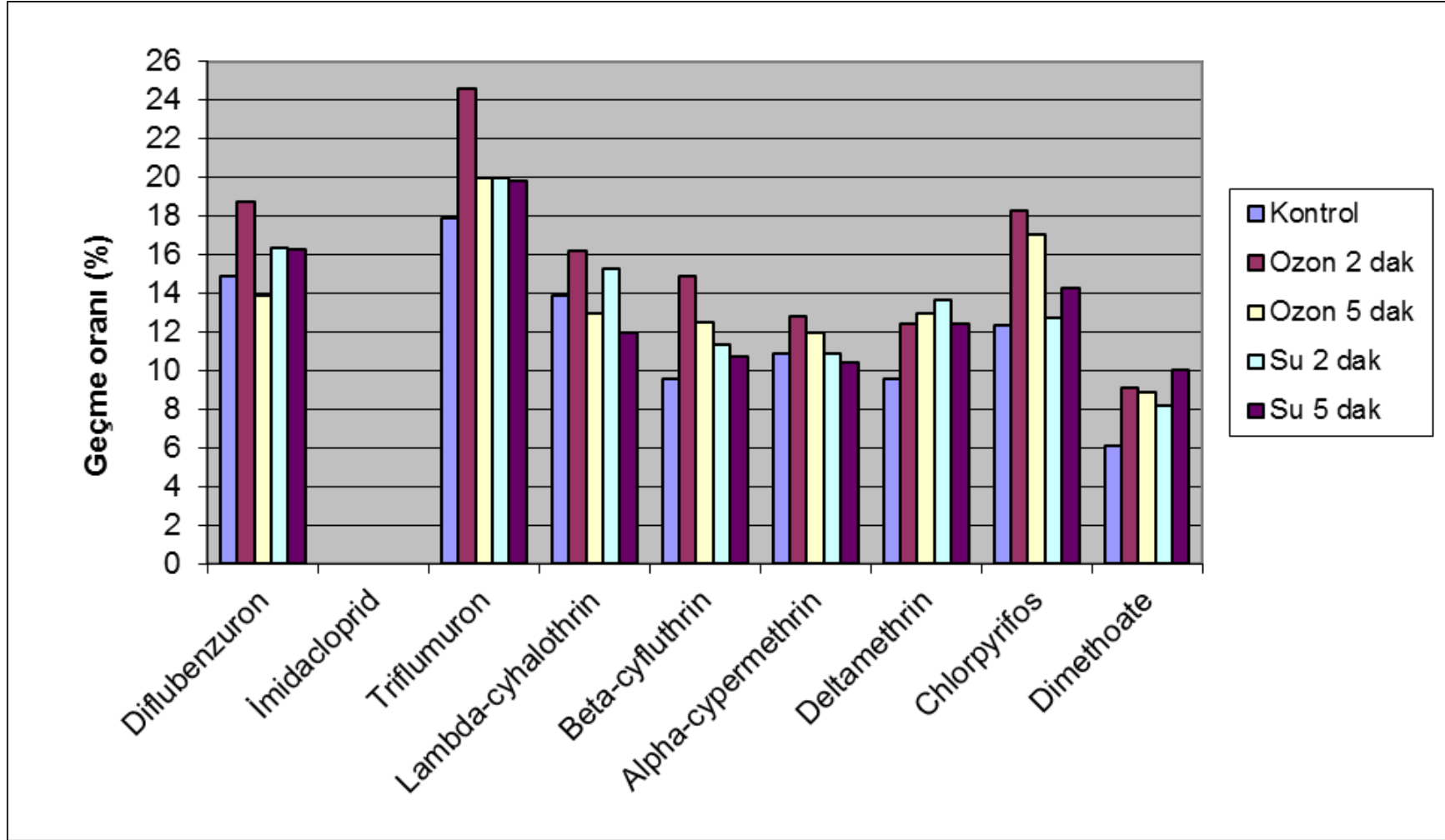
Çizelge 4.13 Zeytinyağına geçen pestisit kalıntı oranları (%)

| Aktif Madde | Uygulama | | | | |
|--------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Ozon | | Su | |
| | | 2 dak | 5 dak | 2 dak | 5 dak |
| Diflubenzuron | 14,9 ^{bc} ±0,30 | 18,7 ^a ±1,81 | 13,9 ^c ±1,69 | 16,4 ^b ±0,69 | 16,3 ^b ±0,38 |
| İmidacloprid | - | - | - | - | - |
| Triflumuron | 17,8 ^b ±1,96 | 24,6 ^a ±3,54 | 19,9 ^b ±3,04 | 19,9 ^b ±0,77 | 19,8 ^b ±1,00 |
| Lambda-cyhalothrin | 13,8 ^{abc} ±1,89 | 16,2 ^a ±1,97 | 13,0 ^{bc} ±1,61 | 15,3 ^{ab} ±0,89 | 11,9 ^c ±1,02 |
| Beta-cyfluthrin | 9,5 ^c ±0,77 | 14,9 ^a ±2,11 | 12,5 ^b ±0,76 | 11,4 ^{bc} ±0,40 | 10,7 ^{bc} ±0,22 |
| Alpha-cypermethrin | 10,9 ^a ±1,74 | 12,8 ^a ±1,45 | 11,9 ^a ±1,18 | 10,9 ^a ±1,29 | 10,4 ^a ±1,42 |
| Deltamethrin | 9,5 ^a ±1,07 | 12,38 ^a ±2,09 | 12,9 ^a ±1,27 | 13,6 ^a ±2,57 | 12,4 ^a ±0,24 |
| Chlorpyrifos | 12,3 ^b ±0,92 | 18,2 ^a ±1,93 | 17,1 ^a ±0,55 | 12,8 ^b ±1,26 | 14,2 ^b ±0,69 |
| Dimethoate | 6,1 ^b ±1,24 | 9,1 ^a ±1,15 | 8,9 ^a ±1,32 | 8,2 ^{ab} ±1,38 | 10,0 ^a ±0,80 |

^{a,b,c} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

Çizelge 4.13'den görüleceği gibi sadece imidacloprid proses sırasında zeytinyağına geçmemiştir. En fazla geçiş 2 dakika ozonlu su ile yıkama sonucunda zeytinyağına işlenen triflumuron örneklerinde %24,6 oranında gerçekleşmiştir. 2 ve 5 dakika su ile yıkama uygulamaları sonucunda, dimethoate aktif maddesindeki 5 dakika su ile yıkama uygulaması hariç olmak üzere, zeytinyağına geçme oranları kontrol örneklerine göre istatistiksel farklılık oluşturmamıştır ($P > 0,05$). 2 ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonucunda ise, chlorpyrifos, dimethoate ve beta-cyfluthrinde zeytinyağına geçme oranları kontrol örneğine göre istatistiksel farklılık oluşturmuştur ($P < 0,05$). Bununla birlikte, diflubenzuron ve triflumuron aktif maddelerinde, sadece 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması kontrol örneğine göre farklılık oluşturmuştur ($P < 0,05$).

Su ve ozonlu su ile 2 ve 5 dakikalık yıkama uygulamaları sonrasında zeytinyağına geçen pestisit düzeyleri Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6 Yıkama uygulamalarının zeytinyağına geçen pestisit miktarına etkisi

4.4 Su ve Ozonlu Su ile Yıkama Uygulamalarının Zeytinyağının Kalite Parametrelerine Etkisi

4.4.1 Su ve ozonlu su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının peroksit değerine etkisi

Çizelge 4.14’de her 3 grupta uygulamalar sonucunda elde edilen peroksit değerleri ve Duncan testi sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.14 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların peroksit değerine etkisi (meq O₂/kg yağ) (n=3)

| Peroksit Değeri | Uygulama | | | | |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Ozon | | Su | |
| | | 2 dak | 5 dak | 2 dak | 5 dak |
| 1. Grup | 6,34 ^c ±0,31 | 8,39 ^a ±0,39 | 8,84 ^a ±0,41 | 6,42 ^c ±0,34 | 7,42 ^b ±0,02 |
| 2. Grup | 5,70 ^{cd} ±0,73 | 7,50 ^{ab} ±0,33 | 8,50 ^a ±1,13 | 6,15 ^{cd} ±0,44 | 6,48 ^{bc} ±0,35 |
| 3. Grup | 6,79 ^c ±0,07 | 9,58 ^a ±0,27 | 9,78 ^a ±0,77 | 6,89 ^c ±0,07 | 8,29 ^b ±0,42 |

^{a,b,c,d} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

Uygulamalar sonucunda peroksit değeri, özellikle 2 ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması sonucunda kontrol örneklerine göre fark (P<0,05) yaratacak şekilde yükselmiştir. 5 dakika su ile yıkama uygulaması ise 1. ve 3. grup örneklerinde peroksit değerini kontrol örneğine göre fark yaratacak şekilde yükseltmiştir (P<0,05).

Ozonun jeneratörle üretimi sırasında oksijenin elektrik akımından geçirilmesi sırasında, oksijen molekülü parçalanarak reaktif oksijen atomuna dönüşmektedir. Serbest oksijen atomları (O[·]) moleküler oksijen ile karşılaştığında son derece kararsız olan ozon molekülü (O₃) oluşmaktadır. Ozon hızlı bir şekilde moleküler oksijene (O₂) ve serbest oksijen atomlarına (O[·]) dönüşmektedir. Daha sonra yeniden diğer serbest oksijen atomları ile birleşebileceği gibi, serbest oksijen atomları moleküler oksijene de dönüşebilmektedir. Bu moleküller ortamdaki diğer reaktiflerle de reaksiyona girebilmektedir (Ekici vd. 2006). Çalışmamızda ozon uygulamaları sırasında da diğer uygulamalara göre ortamda daha fazla oksijen molekülü bulunduğu için bu

uygulamalardan sonra elde edilen yağlar daha fazla oksijen ile karşılaşarak daha fazla okside olmuş ve bunun sonucunda diğer uygulamalara göre yüksek peroksit değerine ulaşmışlardır.

Peroksit değeri zeytinyağında kaliteyi belirleyen önemli parametrelerden biridir ve yağlarda bulunan etkin oksijen miktarının ölçüsüdür. 1000 g yağda bulunan peroksit formundaki oksijenin milieşdeğer-gram olarak miktarıdır ya da potasyum iyodürü iyodür iyonuna yükseltgeyen aktif oksijenin miliekivalent gramı şeklinde tanımlanabilir. Yağdaki peroksit miktarı yağın bozulma derecesi ve daha ne kadar depolanabileceği konusunda fikir vermektedir. Bu nedenle bir yağ örneğinde ilk yapılması gereken analizdir. Peroksit değeri yüksek çıkan yağlarda, özgül absorbans analizi de yapılırsa K_{232} değerinin yüksek çıktığı görülür (Tsimidou 2006, Anonim 2013d). Tarafımızdan yapılan uygulamalar sonucunda en yüksek peroksit değeri 9,780 meq O_2 /kg yağ ile 3. grup örneklerinde 5 dakika ozonlu su ile yıkama sonucunda görülmüştür. TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde (Anonim 2010) Naturel Sızma Zeytinyağı için bulunmasına izin verilen maksimum peroksit değeri 20'dir. Buna göre tüm gruplarda yapılan uygulamalar sonucunda elde edilen peroksit değerleri TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine uygun bulunmuştur.

4.4.2 Ozonlu su ve su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının serbest yağ asitliği değerine etkisi

Çizelge 4.15'de her 3 grupta uygulamalar sonucunda elde edilen serbest yağ asitliği değerleri ve Duncan testi sonuçları verilmiştir.

Serbest yağ asitliği değerinde, 3. grup örnekleri ve 1. grup 5 dakika ozonlu su ile yıkanan örneklerde kontrol örneğine göre farka neden olmuştur ($P<0,05$). Bu durumun asitlik artışına yol açan lipazın bulunduğu karasuyun zeytinyağında az miktarda da olsa kalmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Çizelge 4.15 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların serbest yağ asitliği değerlerine etkisi (% oleik asit cinsinden) (n=3)

| Serbest yağ asitliği | Uygulama | | | | |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Ozon | | Su | |
| | | 2 dak | 5 dak | 2 dak | 5 dak |
| 1. Grup | 0,75 ^{bc} ±0,02 | 0,73 ^{bc} ±0,00 | 0,80 ^a ±0,03 | 0,71 ^c ±0,03 | 0,76 ^{ab} ±0,00 |
| 2. Grup | 0,74 ^{ab} ±0,04 | 0,72 ^{ab} ±0,03 | 0,77 ^a ±0,04 | 0,72 ^{ab} ±0,01 | 0,69 ^b ±0,02 |
| 3. Grup | 0,68 ^a ±0,01 | 0,64 ^b ±0,03 | 0,60 ^c ±0,02 | 0,61 ^{bc} ±0,01 | 0,59 ^c ±0,02 |

^{a,b,c} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

Serbest yağ asitleri trigliseridler olduğu zaman normal olarak yağda bulunmaktadır. Zeytin meyvesinin doğal yapısında bulunan lipaz enziminin etkisiyle trigiseridlerden serbest asitler ayrılmakta (lipoliz) ve asitlik değeri giderek otamdaki su ve sıcaklığın da etkisiyle yükselmektedir. Yani, lipaz enzimi sayesinde yağın asitliğinden sorumlu olan serbest yağ asitleri oluşmaktadır. Serbest yağ asitliği yağın stabilitesi ve acılaşmaya karşı duyarlılığını göstermektedir ve aynı zamanda, zeytinyağlarının farklı kategorilerini sınıflandırmada kullanılan temel kriterdir. Bununla birlikte serbest yağ asitliği değerinin zeytinyağının kalitesinin değerlendirilmesinde en iyi kriter olarak değerlendirilmemesi gerektiği bildirilmektedir. Asitlik değeri oldukça yüksek olan bir yağ iyi bir aromaya sahip olabilirken, düşük olan bir yağ ise iyi bir tat ve aromaya sahip olmayabilir (Yıldırım 2009). TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde (Anonim 2010) Naturel Sızma Zeytinyağı için bulunmasına izin verilen maksimum serbest asitlik değeri $\leq 0,8$ 'dir. Yani tüm gruplarda yapılan uygulamalar sonucunda elde edilen serbest asitlik değerleri TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine uygundur.

4.4.3 Ozonlu su ve su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının UV bölgede özgül soğurma değerine etkisi

Çizelge 4.16'da her 3 grupta uygulamalar sonucunda elde edilen 232 nm'deki özgül soğurma değerleri değerleri ve Duncan testi sonuçları, çizelge 4.17'de ise 270 nm'deki özgül soğurma değerleri değerleri ve Duncan testi sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.16 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların K_{232} değerine etkisi (n=3)

| K_{232} | Uygulama | | | | |
|----------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Ozon | | Su | |
| | | 2 dak | 5 dak | 2 dak | 5 dak |
| 1. Grup | 2,24 ^a ±0,19 | 2,44 ^a ±0,11 | 2,48 ^a ±0,08 | 2,35 ^a ±0,12 | 2,42 ^a ±0,19 |
| 2. Grup | 1,85 ^d 0,11 | 2,21 ^{ab} ±0,02 | 2,25 ^a ±0,06 | 2,05 ^{bc} ±0,12 | 2,14 ^{ab} ±0,04 |
| 3. Grup | 2,10 ^c ±0,16 | 2,43 ^b ±0,05 | 2,71 ^a ±0,05 | 2,28 ^{bc} ±0,09 | 2,38 ^b ±0,15 |

^{a,b,c,d} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

Çizelge 4.17 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların K_{270} değerine etkisi (n=3)

| K_{270} | Uygulama | | | | |
|----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Kontrol | Ozon | | Su | |
| | | 2 dak | 5 dak | 2 dak | 5 dak |
| 1. Grup | 0,154 ^a ±0,01 | 0,166 ^a ±0,00 | 0,147 ^a 0,01 | 0,146 ^a ±0,01 | 0,160 ^a ±0,01 |
| 2. Grup | 0,140 ^a ±0,00 | 0,130 ^{ab} ±0,01 | 0,142 ^a ±0,01 | 0,131 ^{ab} ±0,01 | 0,113 ^b ±0,00 |
| 3. Grup | 0,141 ^{ab} ±0,00 | 0,163 ^a ±0,00 | 0,148 ^{ab} ±0,01 | 0,130 ^b ±0,02 | 0,150 ^{ab} ±0,00 |

^{a,b} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

Uygulamalar sonucunda, K_{232} değerleri tüm gruplarda (1. grup örnekleri hariç) kontrol örneklerine göre fark ($P<0,05$) yaratacak şekilde yükselmiştir. En yüksek K_{232} değerleri 2 ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama sonucunda bulunmuştur. Peroksit değerinde de olduğu gibi ozon uygulamaları sırasında diğer uygulamalara göre ortamda daha fazla aktif oksijen molekülü bulunduğu için bu uygulamalardan sonra elde edilen yağlar daha fazla oksijen ile reaksiyona girmiş ve sonuçta diğer uygulamalara göre yüksek K_{232} değeri ortaya çıkmıştır.

K_{270} değerlerinde ise tüm gruplarda kontrol örneği değerine göre fark ($P> 0,05$) gözlenmemiştir (2. grup 5 dakika su ile yıkama uygulaması hariç). Yani oksidasyonun

ikincil ürünleri (keton grubu iki çift bağ ile konjuge olmuş karbonilik bileşikler) oluşmaya başlamamıştır.

Ultraviyole ışıkta özgül soğurma, zeytinyağlarının kalitelerinin belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve yağın oksidasyon derecesini gösteren bir parametredir. Yağın oksidasyonu bir veya daha fazla çift bağ içeren bileşiklerde meydana gelir (Anonim 2013d). Özgül absorbans ölçümünün yapılmasında yararlanılan metot, konjuge dien bileşiklerin 232 nm, konjuge trien ürünlerinin ise 270 nm dalga boyundaki ışığı absorbe etmesi prensibine dayanmaktadır. Söz konusu ürünler ya oksidasyonla veya rafinasyon işlemleri sırasında ve özellikle ağartma ve deodorizasyon aşamasında oluşabilmektedir (Kiritsakis vd. 2002).

TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde (Anonim 2010) Naturel Sızma Zeytinyağı için bulunmasına izin verilen maksimum K_{232} değeri $\leq 2,5$ 'dir. Yani 3. gruptaki 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması hariç diğer tüm gruplarda, yapılan uygulamalar sonucunda elde edilen K_{232} değerleri TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine uygundur. Aynı tebliğde izin verilen maksimum K_{270} değeri ise $\leq 0,22$ 'dir. Buna göre tüm gruplarda yapılan uygulamalar sonucunda elde edilen K_{270} değerleri TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine uygundur.

4.4.4 Su ve ozonlu su ile yıkama uygulamalarının zeytinyağının yağ asitleri kompozisyonuna etkisi

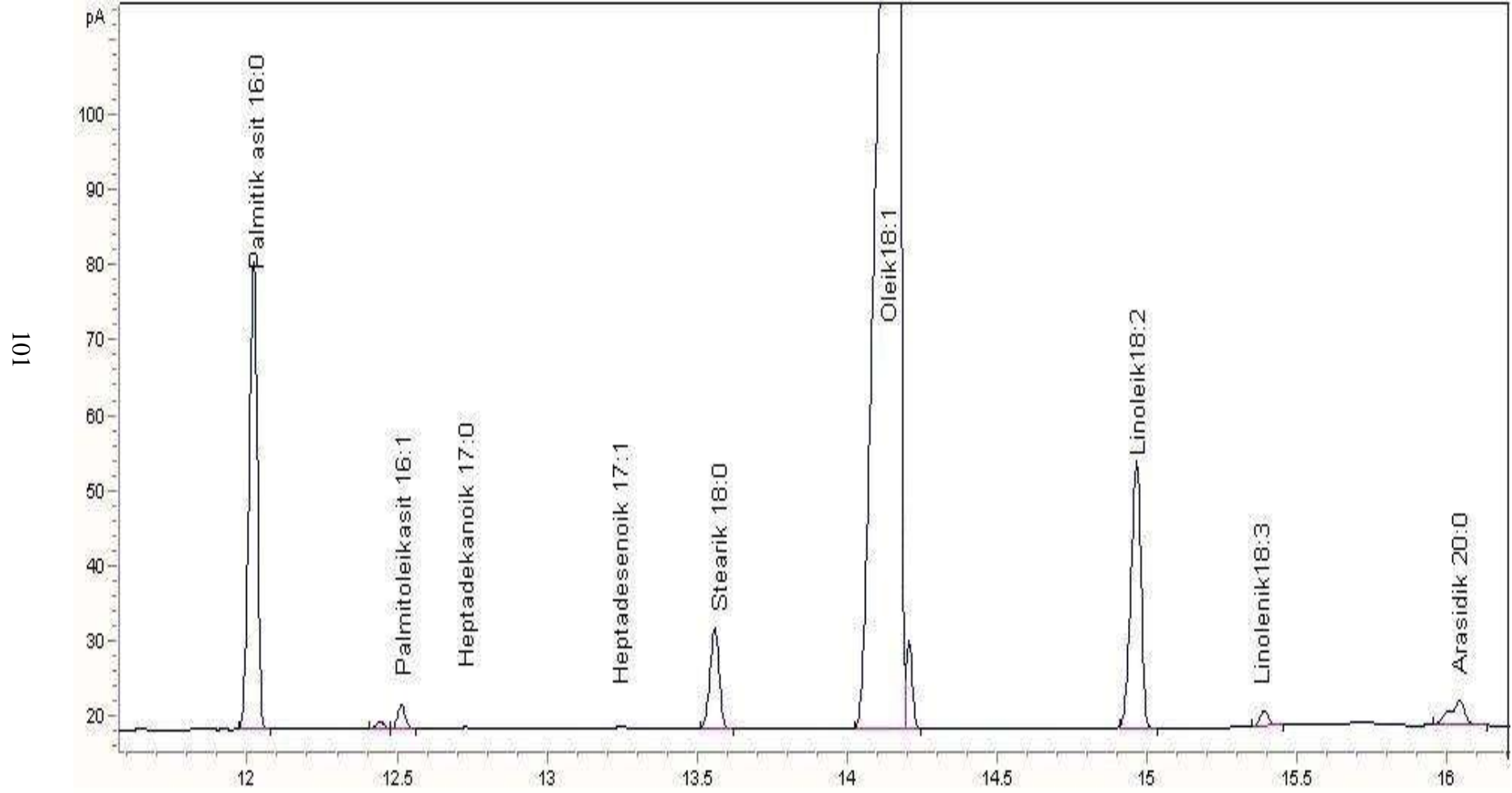
Su ve ozonlu su ile yıkanan zeytinlerden elde edilen yağların örnek bir kromatogramı şekil 4.7'de verilmiştir.

Tüm örneklerdeki yağ asitleri kompozisyonu şekil 4.7'de verilen örnek kromatogramdaki gibi dağılım göstermiş olup uygulamalar sonucunda yeni bir yağ asidi oluşumu gözlenmemiştir. Ayrıca, kontrol örnekleri, 2 ve 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonucunda, yağ asitleri miktarında çoklu doymamış yağ asitleri (oleik, linoleik, linolenik asit) de dahil olmak üzere belirgin bir azalma veya artma tespit edilmemiştir. Yağ asitleri sonuçlarının Duncan sonuçlarına bakılacak olursa (Çizelge 4.18), genel olarak tüm gruplarda, 2 ve 5 dakika su ve ozonlu su ile yıkama

uygulamaları kontrol örneklerine göre istatistiki bir fark oluşturmamıştır ($P > 0,05$). Sadece 1. Grup örneklerinin stearik asit miktarı, 2 ve 5 dakika ozonlu su ve su ile yıkama uygulamaları sonucunda, kontrol örneğine göre bir fark yaratacak şekilde azalmıştır ($P < 0,05$).

Yağ asitleri kompozisyonu zeytinyağının sadece kalitesinin belirlenmesinde değil aynı zamanda sınıflandırılmasında ve karakterizasyonunda (orijin belirlemede) kullanılmaktadır. Yağ asitleri kompozisyonu yağın oksidasyonunu etkileyen bir parametredir. Yapısında fazla oranda doymamış yağ asidi bulunan yağlar daha az oranda doymamış yağ asidi bulunan yağlara göre daha hızlı okside olurlar (Yıldırım 2009). TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde (Anonim 2010) Natürel Sızma Zeytinyağı için bulunmasına izin verilen max. % yağ asitleri miktarları belirlenmiştir. Uygulamalar sonucunda belirlenen yağ asitleri oranları TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.18'de her 3 grupta uygulamalar sonucunda elde edilen yağ asitliği miktarları ve Duncan testi sonuçları verilmiştir.



Şekil 4.7 Yağ asitleri kompozisyonuna ilişkin örnek kromatogram

Çizelge 4.18 Zeytinyağı örneklerinde yapılan uygulamaların yağ asitleri kompozisyonuna etkisi (%) (n=3)

| Yağ Asidi | Uygulama | | | | |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Ozon | | Su | |
| | | 2 dak | 5 dak | 2 dak | 5 dak |
| Palmitik | | | | | |
| 1. Grup | 11,0 ^a ±0,06 | 11,1 ^a ±0,10 | 11,0 ^a ±0,06 | 11,1 ^a ±0,06 | 11,0 ^a ±0,06 |
| 2. Grup | 10,9 ^{bc} ±0,06 | 10,9 ^c ±0,06 | 11,0 ^b ±0,00 | 11,1 ^a ±0,00 | 11,0 ^b ±0,06 |
| 3. Grup | 11,0 ^a ±0,06 | 10,9 ^a ±0,00 | 10,9 ^a ±0,00 | 10,9 ^a ±0,06 | 10,9 ^a ±0,00 |
| Palmitoleik | | | | | |
| 1. Grup | 0,52 ^b ±0,01 | 0,53 ^{ab} ±0,01 | 0,52 ^b ±0,00 | 0,53 ^{ab} ±0,01 | 0,52 ^b ±0,00 |
| 2. Grup | 0,51 ^b ±0,01 | 0,51 ^b ±0,01 | 0,51 ^b ±0,00 | 0,51 ^b ±0,01 | 0,51 ^b ±0,00 |
| 3. Grup | 0,54 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,54 ^a ±0,00 | 0,53 ^a ±0,01 |
| Heptadekanoik | | | | | |
| 1. Grup | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 |
| 2. Grup | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 |
| 3. Grup | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 | 0,04 ^a ±0,00 |
| Heptadesenoik | | | | | |
| 1. Grup | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 |
| 2. Grup | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 |
| 3. Grup | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 | 0,06 ^a ±0,00 |
| Stearik | | | | | |
| 1. Grup | 2,61 ^{ab} ±0,01 | 2,57 ^c ±0,01 | 2,59 ^{bc} ±0,01 | 2,58 ^c ±0,02 | 2,58 ^c ±0,01 |
| 2. Grup | 2,63 ^b ±0,03 | 2,61 ^b ±0,01 | 2,61 ^b ±0,02 | 2,78 ^a ±0,01 | 2,64 ^b ±0,07 |
| 3. Grup | 2,79 ^a ±0,03 | 2,81 ^a ±0,01 | 2,79 ^a ±0,02 | 2,79 ^a ±0,02 | 2,80 ^a ±0,03 |
| Oleik | | | | | |
| 1. Grup | 77,0 ^a ±0,10 | 76,8 ^a ±0,21 | 76,9 ^a ±0,10 | 76,9 ^a ±0,15 | 76,9 ^a ±0,15 |
| 2. Grup | 77,1 ^{ab} ±0,17 | 77,3 ^a ±0,15 | 77,1 ^b ±0,06 | 76,9 ^{bc} ±0,06 | 77,0 ^b ±0,17 |
| 3. Grup | 76,5 ^b ±0,10 | 76,6 ^{ab} ±0,06 | 76,5 ^b ±0,00 | 76,5 ^b ±0,06 | 76,6 ^{ab} ±0,11 |
| Linoleik | | | | | |
| 1. Grup | 7,72 ^a ±0,06 | 7,88 ^a ±0,10 | 7,79 ^a ±0,07 | 7,83 ^a ±0,09 | 7,78 ^a ±0,11 |
| 2. Grup | 7,64 ^{ab} ±0,10 | 7,53 ^b ±0,09 | 7,67 ^a ±0,02 | 7,63 ^{ab} ±0,05 | 7,70 ^a ±0,04 |
| 3. Grup | 8,12 ^a ±0,10 | 8,06 ^a ±0,03 | 8,12 ^a ±0,02 | 8,07 ^a ±0,04 | 8,05 ^a ±0,07 |
| Linolenik | | | | | |
| 1. Grup | 0,38 ^a ±0,02 | 0,39 ^a ±0,01 | 0,40 ^a ±0,01 | 0,39 ^a ±0,00 | 0,39 ^a ±0,01 |
| 2. Grup | 0,41 ^a ±0,01 | 0,40 ^a ±0,00 | 0,40 ^a ±0,00 | 0,40 ^a ±0,01 | 0,40 ^a ±0,00 |
| 3. Grup | 0,39 ^a ±0,00 | 0,39 ^a ±0,01 | 0,39 ^a ±0,00 | 0,39 ^a ±0,01 | 0,39 ^a ±0,00 |
| Araşidik | | | | | |
| 1. Grup | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 |
| 2. Grup | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 |
| 3. Grup | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 | 0,53 ^a ±0,01 |

^{a,b,c} Aynı satırdaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, farklı yapıdaki bazı pestisitler ile ilaçlanan zeytin örneklerinden pestisit kalıntılarının uzaklaştırılmasında ozonlu su ile yıkama uygulamasının etkinliği, zeytinyağının önemli kalite parametrelerine etkisi ve bu kalıntıların proses sonrasında zeytinyağına geçme oranları incelenmiştir. Ozonlu su ile yıkama uygulaması ile elde edilen sonuçlar, musluk suyu ile yıkama uygulamasından elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Ayrıca zeytin ve zeytinyağı örneklerinde pestisit analizlerinde uygulanan metotların bazı metot performans kriterleri belirlenmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

(1) Çalışmada zeytin ve zeytinyağı örneklerinden pestisit kalıntılarının ekstraksiyonunda farklı metotlar uygulanmış ve her iki metodun ayrı ayrı bazı metot performans kriterleri belirlenmiştir. Her iki metotta da incelenen tüm pestisitler için test edilen kriterler; doğrusalılık (belirleme katsayı değeri $\geq 0,95$), gerçeklik (geri kazanım %70-120), tekrarlanabilirlik (%RSD: ≤ 20), seçicilik (kütle spektrometresi ve kör örnek kullanımı), tespit limiti (%RSD: ≤ 20 ve % geri alma: %70-120 olan en düşük konsantrasyon) bu kriterler için belirlenen değerlere uygun bulunarak uygulanan metotların geçerliliği doğrulanmıştır.

(2) Su ile yıkama ve ozonlu su ile yıkama, test edilen tüm pestisitlerde kontrol örneğine göre önemli oranda pestisit kalıntılarının zeytinlerden uzaklaşmasını sağlamıştır (Lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin ve deltamethrinde 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması hariç). Lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin ve deltamethrinde ise kullanılan musluk suyunda safsızlıkların fazla olmasından dolayı ortamın ozon talebi artmış; ozon, etkinliğini ilk dakikalarda gösterememiştir.

(3) Ozonlu su ile yıkama uygulamalarında genel olarak, uygulama süresi uzadıkça pestisit kalıntıları daha fazla azalmıştır. Birinci grupta incelenen diflubenzuron, triflumuron, imidaclopridde ve üçüncü grupta analiz edilen dimethoatede ise ozonlu su ile yıkama uygulamalarında süre uzadıkça pestisit kalıntılarının azalma oranları fazla

değişmemiştir. Bu bileşiklerde ozon etkinliğini ilk 2 dakikada göstermiş süre uzadıkça ozonun etkinliği artmamıştır.

(4) Su ile yıkama uygulamalarında ise uygulama süresinin artışının pestisit giderimine etkisi olmamıştır (dimethoate hariç). İncelenen tüm aktif maddeler arasında sudaki çözünürlüğü en yüksek olanı dimethoatedir (39800 mg/L, 25°C, pH 7) ve su ile yıkama süresi uzadıkça zeytin örneklerindeki miktarı azalmıştır.

(5) Musluk suyu ve ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonrasında, uygulamalar arasında fark yaratacak şekilde en fazla azalma, 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamasında chlorpyrifos, beta-cyfluthrin, alpha-cypermethrin ve imidaclopridde gerçekleşmiştir. İmidaclopridde 5 dakika ozonlu su ile yıkama işleminin giderime etkisi en fazla olmakla birlikte istatistiki olarak 2 dakikalık uygulama ile farksız bulunmuştur. Dolayısıyla ozon etkinliğinin pestisit giderimindeki etkisinin pestisit sınıfına göre değil tek tek pestisit bazında incelenmesi gerektiği söylenebilir.

(6) Chlorpyrifos, beta-cyfluthrin ve alpha-cypermethrinde 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması pestisit kalıntılarının zeytinlerden önemli derecede uzaklaşmasını sağlamakla birlikte zeytin örneklerinde kalan pestisit kalıntı miktarları, bu pestisitler için Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'nde (Anonim 2011) verilen MRL değerlerinden daha yüksek konsantrasyonda kalmıştır. Bunun nedeninin, zeytin örneklerinin kalın ve mumsu bir yüzeye sahip olması (İkeura vd. 2011), yağ oranının yüksek olması ve başlangıç konsantrasyonlarının yüksek olması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

(7) Uygulamalar sonucunda incelenen tüm aktif maddelerde işleme faktörü 1'den büyük bulunmuştur (kontrol grubundaki dimethoate hariç). Yani zeytinyağına işleme prosesi sırasında yağa geçen aktif maddelerin miktarları zeytindekine göre artmıştır.

(8) Yapılan 2 ve 5 dakikalık su ile yıkama uygulamaları sonucunda işleme faktörü değerleri kontrol örneklerine göre istatistiksel farklılık oluşturmayacak şekilde değişim göstermiştir ($P > 0,05$) (dimethoate 5 dakika su ile yıkama uygulaması hariç).

(9) 2 ve 5 dakika ozonlu su ile yıkama uygulamaları sonucunda ise, chlorpyrifos, dimethoate ve beta-cyfluthrin aktif maddelerinde işleme faktörü değerleri kontrol örneğine göre istatistiksel farklılık oluşturacak şekilde değişim göstermiştir. Bununla birlikte, diflubenzuron ve triflumuron aktif maddelerinde, sadece 2 dakika ozonlu su ile yıkama uygulaması kontrol örneğine göre farklılık oluşturmuştur.

(10) Uygulamalar sonucunda zeytinyağı örneklerinde belirlenen peroksit değerleri, serbest yağ asitliği değerleri, UV bölgede özgül soğurma değerleri (K_{270}) ve yağ asitleri kompozisyonu oranları TGK Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğine uygun bulunmuştur. Bu durum ozon uygulamasının ele alınan kriterler açısından herhangi bir olumsuzluk yaratmadığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Abdal-Gawad, A.A., Baraka, A.M., Omran, K.A. and Mokhtar, M.M. 2012. Removal of some pesticides from the simulated waste water by electrocoagulation method using iron electrodes. *International Journal of Electrochemical Science*, 7, 6654-6665.
- Açar, Ç.Ö, Kırış, S., Diler, F. and Avcı, A. 2013. Pestisit analizleri için metot validasyonu ve ölçüm belirsizliği hesaplanması açıklamalı uygulama rehberi. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvar Müdürlüğü, 55 s., Ankara.
- Ahmad, R., Salem, N.M. and Estaitieh, H. 2010. Occurrence of organochlorine pesticide residues in eggs, chicken and meat in Jordan. *Chemosphere*, 78, 667-671.
- Ahmed, F.E. 2001. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. *Trends in Analytical Chemistry*, 20, 649-661.
- Ahmed A., Randhawa, M.A., Yusuf, M.J. and Khalid, N. 2011. Effect of processing on pesticide residues in food crops - A review. *Journal of Agricultural Research*, 49 (3), 379-390.
- Alexopoulos, A., Plessas, S., Ceciu, S., Lazar, V., Mantzourani, I., Voidarou, C., Stavropoulou, E. and Bezirtzoglou, E. 2013. Evaluation of ozone efficacy on the reduction of microbial population of fresh cut lettuce (*Lactuca sativa*) and green bell pepper (*Capsicum annuum*). *Food Control*, 30, 491-496.
- Amvrazi, E.G. and Albanis, T.A. 2008. Multiclass pesticide determination in olives and their processing factors in olive oil: Comparison of different olive oil extraction systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5700-5709.
- Anonim. 2000. TS 5822-1 (ISO 5725-1) "Ölçme Metotlarının ve Sonuçlarının Doğruluğu (Gerçeklik ve Kesinlik)-Bölüm 1 Genel Prensipler ve Tarifler (Accuracy (trueness and precision) of measurements methods and results – Part 1: General principles and definitions). 20 s., Ankara.
- Anonim. 2005a. Ozontek ozon ve oksijen sistemleri Genel Bilgiler. <http://www.ozontek.com.tr/index.php/genelbilgiler>. Erişim tarihi: 17.03.2013.
- Anonim. 2005b. Zirai mücadele ilaçları üretimi yapılan işyerlerinde iş sağlığı ve güvenliği proje denetimi değerlendirme raporu. T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Teftiş Kurulu Başkanlığı. İş Teftiş Kurulu Yayın No: 4. 76s., Ankara
- Anonim. 2009c. Gıda Maddelerinde Bulunmasına İzin Verilen Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği. Tebliğ No: 2009/62, Ankara.

- Anonim. 2010. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği. Tebliğ No: 2010/35. <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2010-35.html>. Erişim tarihi: 17.04.2013.
- Anonim. 2011. Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/kodeks_yonetmelik/pestisit_maksimum_kalinti_limitleri_yonetmelik.html. Erişim Tarihi: 24.09.2013.
- Anonim. 2013a. Bitki Sağlığı Hizmetleri Bitki Koruma Ürünleri. <http://www.tarim.gov.tr/Sayfalar///Icerikler.aspx?rid=120&NodeValue=120&KonuId=115&zGroup=0&ListName=Icerikler>. Erişim tarihi: 23.09.2013.
- Anonim. 2013b. Zeytinyağı. T.C. Ekonomi Bakanlığı İhracat Genel Müdürlüğü Tarım Ürünleri Daire Başkanlığı Sektör Raporları. 7 s., Ankara.
- Anonim. 2013c. Genozon ozon kullanım alanları. <http://www.genozon.com/tr/kullanim-alanlari/gida-isletmelerinde-sanitasyon.html>. Erişim tarihi: 23.03.2013.
- Anonim. 2013d. Zeytinyağı Kalite Kontrol Kriterleri <http://food.ege.edu.tr/files/zeytinyagikalitekontrolkriterleri.pdf>. Erişim tarihi: 26.09.2013.
- Anonim. 2014. Bitki Sağlığı Hizmetleri Bitki Koruma Ürünleri. <http://www.tarim.gov.tr/GKGM/Sayfalar/BirimDetay.aspx?OgeId=24&Liste=SolMenu>. Erişim tarihi: 25.04.2014.
- Anonymous. 1985. Olive by-products for animal feed. FAO Animal production and health paper 43. <http://www.fao.org/docrep/003/x6545e/X6545E00.htm#TOC>. Erişim tarihi: 23.09.2013.
- Anonymous. 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Fourth Edition, Methods: Cd8-53, Ca 5a-40, Ch5-91, Ce 1h-05.
- Anonymous. 1998. EURACHEM Guide. The Fitness for purpose of analytical methods, A laboratory guide to method validation and related topics. 61 pp.
- Anonymous. 2001. The incorporation of water treatment effects on pesticide removal and transformation in food quality protection act (FQPA). Office of Pesticide Programs, United States Environmental Protection Agency (USEPA), 50 pp., Washington, D.C.
- Anonymous. 2005. NMKL Procedure No.4. Estimation and expression of measurement uncertainty in chemical analysis. <http://www.nmkl.org/>. Erişim tarihi 09.12.2012).
- Anonymous. 2007. Diflubenzuron product-type 18 insecticide. Competent authority report, Document 1, Swedish Chemical Agency, 46 pp., Sweden.

- Anonymous. 2009a. EU Pesticide database. 2009. Web sitesi. http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm. Erişim tarihi: 02.05.2010.
- Anonymous. 2009b. US EPA Pesticides: health and Safety. Web sitesi. <http://www.epa.gov/pesticides/health/human.htm#healtheffects>. Erişim tarihi: 02.05.2010.
- Anonymous. 2011a. SANCO/12495. Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. Implemented by 01/01/2012.
- Anonymous. 2011b. Conclusion of the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance triflumuron. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. EFSA Journal, 9(1): 1491, 81 pp.
- Anonymous. 2011c. Reasoned opinion Modification of the existing MRLs for cypermethrin in various crops. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. EFSA Journal, 9(6): 2280, 30 pp.
- Anonymous. 2011d. Variation of QuEChERS-Method for Vegetable Oil Samples (fatty matrix without water). <http://quechers.cvua-stuttgart.de/pdf/q-oil.pdf>. Erişim tarihi: 01.09.2011.
- Anonymous. 2013. EURL DataPool. <http://www.eurl-pesticides-datapool.eu/default.aspx?ziel=asp/en/stoff.aspx>. Erişim tarihi: 23.08.2013
- Arapoglu, D., Vlyssides, A., Israilides, C., Zorpas, A. and Karlis, P. 2003. Detoxification of methyl-parathion pesticide in aqueous solutions by electrochemical oxidation. Journal of Hazardous Materials, B98, 191-199.
- Aroud, M., Douki, W., Rhim, A., Najjar, M.F. and Gazzah, N. 2007. Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Environmental Science and Health Part B, 42, 179-187.
- Ayaz, A. ve Yurttagül, M. 2012. Besinlerdeki toksik öğeler-II. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727. İkinci Basım. 40 s., Ankara.
- Bayrak, A. ve Kırılan, M. 2008. Sızma Zeytinyağı Kalite Faktörleri. Hasad Yayıncılık, 80 s., İstanbul.
- Barrek, S., Paisse, O. and Loustalot, M.F.G., 2003. Determination of residual pesticides in olive oil by GC-MS and HPLC-MS after extraction by size-exclusion chromatography. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 376, 355-359.
- Benitez, F.J., Acero, J.L. and Real, F.J. 2002. Degradation of carbofuran by using ozone, UV radiation and advanced oxidation processes. Journal of Hazardous Materials, B89, 51-65.

- Bermúdez-Aguirre, D. and Barbosa-Cánovas, G.V. 2013. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. *Food Control*, 29, 82-90.
- Beyer, A. and Biziuk, M. 2008. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. *Food Chemistry*, 108, 669-680.
- Bidari, A., Ganjali, M.R., Norouzi, P., Hosseini, M.R.M. and Assadi, Y. 2011. Sample preparation method for the analysis of some organophosphorus pesticides residues in tomato by ultrasound-assisted solvent extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction. *Food Chemistry*, 126, 1840-1844.
- Boskou, D. 2006. *Olive oil chemistry and technology*. AOCS Press, 253 pp., USA.
- Cabras, P., Angioni, A., Garau, V.L., Melis, M., Piris, F.M., Karim, M. and Minelli, E.V. 1997. Persistence of insecticide residues in olives and olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2244-2247.
- Cabras, P. and Angioni, A. 2000. Pesticide residues in grapes, wine, and their processing products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 967-973.
- Cajka, T., Sandy, C., Bachanova, V., Drabova, L., Kalachova, K., Pulkrabova, J. and Hajslova, J. 2012. Streamlining sample preparation and gas chromatography–tandem mass spectrometry analysis of multiple pesticide residues in tea. *Analytica Chimica Acta*, 743, 51– 60.
- Chedeville, O., Debacq, M. and Porte, C. 2009. Removal of phenolic compounds present in olive mill wastewaters by ozonation. *Desalination*, 249, 865-869.
- Chen, J.Y., Lin, Y.J. and Kuo, W.C. 2013. Pesticide residue removal from vegetables by ozonation. *Journal of Food Engineering*, 114, 404–411.
- Chavarri, M.J., Herrera, A. and Arino, A. 2005. The decrease in pesticides in fruits and vegetables during commercial processing. *International Journal of Food Science and Technology*, 40(2), 205-211.
- Cortes-Aquado, S., Sanchez-Morito, N., Arrebola, F.J., Frenich, A.G. and Vidal, J.L.M. 2008. Fast screening of pesticide residues in fruit juice by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, 107, 1314-1325.
- Cunha, S.C., Lehotay, S.J., Mastovska, K., Fernandes, J.O., Beatriz, M. and Oliveira, P.P., 2010. Sample preparation approaches for the analysis of pesticide residues in olives and olive oils. In *olives and olive oil in health and disease prevention*, Preedy, V.R. and Watson, R.R. (eds), Elsevier Inc., pp 653-666, USA.

- Cunha, S.C., Lehotay, S.J., Mastovska, K., Fernandes, J.O., Beatriz, M. and Oliveira, P.P., 2007. Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for the analysis of pesticide residues in olives. *Journal of Separation Science*, 30, 620-632
- Çakmakçı, S. ve Kahyaoglu, D. 2012. Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(2), 133-137.
- Çömelekoğlu, Ü., Mazmancı, B. ve Arpacı, A. 2000. Pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde karaciğer fonksiyonlarının incelenmesi. *Turkish Journal of Biology*, 24, 461-466.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A. 2005. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre*. 21 s., Ankara.
- Demiröğen, B. 2010. Organofosfatlı-pestisit-zehirlenmeleri ve serum paraoksonaz 1 (Pon1) enziminin organofosfat metabolizmasındaki rolü. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(2), 97-112.
- Dıraman, H., Çam, M. ve Özder, Y., 2009. Yabancı ülke kökenli natürel zeytinyağlarının yağ asitleri ve triaçilgliserol bileşenlerine göre kemometrik sınıflandırılması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4, 2, 22-34.
- Dömötörova, M. and Matisova, E. 2008. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis. *Journal of Chromatography A*, 1207, 1-16.
- Duran, M. 2006. Zeytin/Zeytiyağı Sektör Raporu. İstanbul Ticaret Odası Dış Ticaret Uygulama Servisi. 32 s. <http://www.ito.org.tr/Dokuman/Sektor/1-106.pdf>. Erişim tarihi 14.01.2014
- Ekici, L., Sağdıç, O. ve Kesmen, Z. 2006. Gıda endüstrisinde alternative bir dezenfektan: Ozon. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 47-57.
- Erdoğan 2010. Samsun’da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri. *Alinteri*, 19(B), 28-35.
- EURL-FV 2013. Validation data of five selected pesticides using QuEChERS by liquid chromatography tandem mass spectrometry. www.eurl-pesticides.eu. Erişim tarihi: 10.12.2013
- Fenol, J., Hellin, P., Martinez, C.M., Miguel, M. and Flores, P. 2007. Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Food Chemistry*, 105, 711-719.
- Fernandez-Alba, A.R. and Garcia-Reyes, J.F. 2008. Large-scale multi-residue methods for pesticides and their degradation products in food by advanced LC-MS. *Trends in Analytical Chemistry*, 27, 973-990.

- Fernandez Moreno, J.L., Arrebola Liebanas, F.J., Garrido Frenich, A. and Martinez Vidal, J.L. 2006. Evaluation of different sample sample treatments for determining pesticide residues in fat vegetable matrices like avocado by low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1111, 97-105.
- Ferreira, J.R. and Tainha, A.M. 2006. Organophosphorus insecticide residues in olives and olive oil. *Pesticide Science*, 14(2), 167-172.
- Frenich, A.G., Bolanos, P.P. and Vidal, J.L.M. 2007. Multiresidue analysis of pesticides in animal liver by gas chromatography using triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1153, 194-202.
- Garcia-Reyes, J.F., Ferrer, C., Gomez-Ramos, M.J., Molina-Diaz, A. and Fernandez-Alba, A.R. 2007. Determination of pesticide residues in olive oil and olives. *Trends in Analytical Chemistry*, 26, 239-251.
- Garrido Frenich, A., Martinez Vidal, J.L., Pastor-Montoro, E. and Romero-Gonzalez, R. 2008. High-throughput determination of pesticide residues in food commodities by use of ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390, 947–959
- Gimeno, E., Fito, M., Lamuela-Raventós, R.M., Castellote, A. I., Covas, M. and Farre, M. 2002. Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, 114–120.
- Gonzalez-Rodriguez, R.M., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B. and Simal-Gandara, J. 2008. Determination of 23 pesticide residues in leafy vegetable using gas chromatography-ion trap mass spectrometry and analyte protectants. *Journal of Chromatography A*, 1196-1197, 100-109
- Göksu, Ç. 2008. Zeytinyağı. T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüt Merkezi (İGEME). 8 s. (<http://www.tgdf.org.tr/turkce/tgdfraporlari/igmzeytinyagi.pdf>). Erişim tarihi: 14.01.2014.
- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. and Seydim, A.C. 2004a. Use of ozone in the food industry. *Lebensmittel-Wissenschaft&Technology*, 37, 453-460.
- Guzel-Seydim, Z., Bever, P.I. and Greene, A.K. 2004b. Efficiency of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology*, 21, 475-479.
- Gümüşkesen, A.S. 1993. Yağ teknolojisi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çoğaltma Yayın No:94, 67 s., Bornova-İzmir.

- Hajlova, J. and Zrostlikova, J. 2003. Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *Journal of Chromatography A*, 1000, 181-197.
- Hercegova, A., Dömötörova, M., Kruzlicova, D. and Matisova, E. 2006. Comparison of sample preparation methods combined with fast gas chromatography- mass spectrometry for ultratrace analysis of pesticide residues in baby food. *Journal of Separation Science*, 29, 1102-1109.
- Hercegova, A., Dömötörova, M. and Matisova, E. 2007. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *Journal of Chromatography A*, 1153(1-2), 54-73.
- Hernando, M.D., Ferrer, C., Ulaszewska, M., Garcia-Reyes, J.F., Molina-Diaz, A. and Fernandez-Alba, A.R. 2007. Application of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with a quadrupole/linear ion trap instrument for the analysis of pesticide residues in olive oil. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 1815-1831.
- Huang, C.L. and Sumpio, B.E. 2008. Olive oil, the mediterranean diet, and cardiovascular health. *American College and Surgeons*, 207(3), 407-416.
- Huber, L. 2007. Validation and qualification in analytical laboratories. Informa Healthcare USA, Inc. Second edition, 303 pages, New York.
- Hwang, E.S., Cash, J.N. and Zabik, M.J. 2001a. Ozone and hydrogen peroxyacetic acid treatment to reduce or remove EBDCs and ETU residues in a solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5689-5694.
- Hwang, E.S., Cash, J.N. and Zabik, M.J. 2001b. Postharvest treatments for the reduction of mancozeb in fresh apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 3127-3132.
- Hwang E.S., Cash, J.N. and Zabik, M.J. 2002a. Chlorine and chlorine dioxide treatment to reduce or remove EBDCs and ETU residues in a solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4734-4742.
- Hwang, E.S., Cash, J.N. and Zabik, M.J. 2002b. Degradation of mancozeb and ethylenethiourea in apples due to postharvest treatments and processing. *Food Chemistry and Toxicology*, 67, 9, 3295-3300.
- Hwang, E.S., Cash, J.N. and Zabik, M.J. 2003. Determination of degradation products and pathways of mancozeb and ethylenethiourea (ETU) in solutions due to ozone and chlorine dioxide treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1341-1346.

- Ikeura, H., Kobayashi, F. and Tamaki, M. 2011. Removal of residual pesticide, fenitrothion, in vegetables by using ozone microbubbles generated by different methods. *Journal of Food Engineering*, 103, 345–349
- İnan, F., Pala, M. and Doymaz, I. 2007. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research*, 43, 425-429.
- James, R.R., Ellis, J.D. and Duell, A. 2013. The potential for using ozone to decrease pesticide residues in honey bee comb. *Agricultural Science*, 1(1), 01-16.
- Jiang, Y., Shibamoto, T., Li, Y. and Pan, C. 2013. Effect of household and commercial processing on acetamiprid, azoxystrobin and methidathion residues during crude rapeseed oil production. *Food Additives and Contaminants, Part A*, 30(7), 1279-1286.
- Jurado-Alameda, E., Garcia-Roman, W. Altmajer-Vaz, D. and Jimenez-Perez, J.L. 2012. Assessment of the use of ozone for cleaning fatty soils in the food industry. *Journal of Food Engineering*, 110, 44-52.
- Kara, H. H. 2011. Farklı hasat dönemlerinde ve günün belli saatlerinde toplanan zeytin çeşitlerinden elde edilen yağların uçucu aroma bileşikleri değişiminin araştırılması. Doktora tezi (basılmamış), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. 218 s., Ankara.
- Karaca, H. and Velioglu, Y.S. 2007. Ozone applications in fruits and vegetables processing. *Food Reviews International*, 23, 91-106.
- Karaca, H. and Velioglu, Y.S. 2009. Effects of some metals and chelating agents on patulin degradation by ozone. *Ozone: Science & Engineering*, 31, 224-231.
- Karaca, H., Walse, S. S. and Smilanick, J.L. 2012. Effect of continuous 0.3 µL/L gaseous ozone exposure on fungicide residues on table grape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 64, 154-159.
- Karakaya, M. ve Boyraz, N. 1992. Gıda kirlenmesinde pestisitler ve korunma yolları. *Ekoloji Dergisi*, 4, 11-15.
- Kayahan, M. ve Tekin, A. 2006. Zeytinyağı Üretim Teknolojisi. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar serisi: 11, 198s, Ankara.
- Kim, J.G., Yousef, A.E. and Dave, S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *Journal of Food Protection*, 62(9), 1071-87.
- Kiritsakis, A., Kanavouras, A. and Kiritsakis, K. 2002. Chemical analysis, quality control and packaging issues of olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 628–638.

- Kouloumbos, V.N., Tsipi, D.F., Hiskia, A.E., Nikolic, D. and Bremen, R.B. 2003. Identification of photocatalytic degradation products of diazinon in TiO₂ aqueous suspensions using GC/MS/MS and LC/MS with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *American Society for Mass Spectrometry*, 14, 803-817.
- Kruve, A., Künnapas, A., Herodes, K. and Leito, I. 2008. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography- mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1187, 58-66.
- Ku, Y. and Lin, H. 2002. Decomposition of phorate in aqueous solution by photolytic ozonation. *Water Research*, 36, 4155-4159.
- Kusvuran, E., Yildirim, D., Mavruk, F. and Ceyhan, M. 2012. Removal of chlorpyrifos ethyl, tetradifon and chlorothalonil pesticide residues from citrus by using ozone. *Journal of Hazardous Materials*, 241-242, 287-300.
- Kuşcu, A. ve Pazır, F. 2004. Gıda endüstrisinde ozon uygulamaları. *Gıda* 29(2), 123-129.
- Lafi, W.K. and Al-Qodah, Z. 2006. Combined advanced oxidation and biological treatment processes for the removal of pesticides from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*, B137, 489-497.
- Lambropoulou, D.A. and Albanis, T.A. 2007. Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70, 195-228.
- Li, L., Yanjun, X., Canping, P., Zhiqiang, Z., Shuren, J. and Fengmao, L. 2007. Simplified pesticide multiresidue analysis of soybean oil by low-temperature cleanup and dispersive solid-phase extraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 90(5), 1387-1394.
- Li, L., Minnan, X., Yongmei, L., Yingqian, H., Gilbert, Y.S.C. and Tiangang, L. 2012. Degradation of cypermethrin, malathion and dichlorovos in water and on tea leaves with O₃/UV/TiO₂ treatment. *Food Control*, 28, 374-379.
- Lippold, R. 2011. Pesticide residues: European legislation. EURL (European Union Reference Laboratory) Pesticides in food of animal origin and commodities with high fat content. <http://www.inti.gob.ar/lacteos/pdf/SeminarioPesticidas16-05-11/RalfLippoldPesticideLegislation.pdf>. Erişim tarihi: 10.08.2013.
- Lopez-Feria, S., Cardenas, S. and Valcarcel, M. 2009. One step carbon nanotubes-based solid –phase extraction for the gas chromatographic-mass spectrometric multiclass pesticide control in virgin olive oils. *Journal of Chromatography A*. 1216, 7346-7350.

- Ma, J. and Graham, N.J.D. 2000. Degradation of atrazine by manganese-catalysed ozonation-influence of radical scavengers. *Water Research*, 34(15), 3822-3828.
- Metzger, C., Barnes, J.D., Singleton, I. and 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, 29-31 October, Valencia, Spain.
- Medeiros, M.D. 2001. Olive oil and health benefits, In *The handbook of nutraceuticals and functional foods*. R.E.C. Wildman (eds), CRC Press, 306 p., Boca Raton, Florida.
- Nas, S., Gökalp, H.Y. ve Ünsal, M. 1992. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi yayımları No: 723, Ziraat Fakültesi No: 312, Ders Kitapları Serisi No: 64, 220 s., Erzurum.
- Nguyen, T.D., Lee, M.H. and Lee, G.H. 2010. Rapid determination of 95 pesticides in soybean oil using liquid-liquid extraction followed by centrifugation, freezing and dispersive solid phase extraction as cleanup steps and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Microchemical Journal*, 95, 113-119.
- Nieto, L.M., Hodaifa, G. and Casanova, M.S. 2009. Elimination of pesticides residues from virgin olive oil by ultraviolet light: Preliminary results. *Journal of Hazardous Materials*, 168, 555-559.
- Ong, K. C., Cash, J.N., Zabik, M.J., Siddiq, M. and Jones, A.L. 1996. Chlorine and ozone washes for pesticide removal from apples and processed apple sauce. *Food Chemistry*, 55(2), 153-160.
- Öztürk, F., Yalçın, M. ve Dıraman, H. 2009. Türkiye zeytinyağı ekonomisine genel bir bakış. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(2), 35-51.
- Pascual, A., Llorca, I. and Canut, A. 2007. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 29-35.
- Patel, K., Fussell, R.J., Hetmanski, M., Goodall, D.M. and Keely, B.J. 2005. Evaluation of gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry for the determination of organochlorine pesticides in fats and oils. *Journal of Chromatography A*, 1068, 289-296.
- Pizzutti, I.R., Kok, A., Hiemstra, M., Wickert, C. and Prestes, O.D. 2009. Method validation and comparison of acetonitril and acetone extraction for the analysis of 169 pesticides in soya grain by liquid chromatography- tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, 4539-4552.
- Rajeswari, R. and Kanmani, S. 2009 A study on synergistic effects of photocatalytic ozonation for carbaryl degradation. *Desalination*, 242, 277-285.

- Rodrigues, F.M., Mesquita, P.R.R., Oliveira, L.S., Oliveira, F.S., Filho, A.M.F., Pereira, P.A. and Andrade, J.B. 2011. Development of a headspace solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry method for determination of organophosphorus pesticide residues in cow milk. *Microchemical Journal*, 98, 56-61.
- Romero-Gonzalez, R., Frenich, A.G. and Vidal, J.L.M. 2008. Multiresidue method for fast determination of pesticides in fruit juices by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*, 76, 211-225.
- Ruan, R., Liu, Z., Deng, S., Lin, X., Yu, F., Li, Y. and Chen, P.L. 2004. Removal of pesticides residues in produce with ozonated water wash. CIGR International Conference, pp. 1-6, Beijing, China.
- Sadowska, J., Johansson, B., Johannessen, E., Friman, R., Broniarz-Press, L. and Rosenholm, J.B. 2008. Characterization of ozonated vegetables oils by spectroscopic and chromatographic methods. *Chemistry and Physics of Lipids*, 151, 85-91.
- Salama, A.K. and Osman, K.A. 2013. Remediation of pesticide-polluted water using ozonation as a safe method. *Global Journal of Human Social Science (B)*, 13(2), 10-18.
- Segovia Bravo, K.A., Arroya Lopez, F.N., Garcia Garcia P., Duran Quintana, M.C. and Garrido Fernandez, A. 2007. Treatment of green table olive solutions with ozone. Effects on their polyphenol content and on *Lactobacillus pentosus* and *Saccharomyces cerevisiae* growth. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 60-68.
- Segovia-Bravo, K.A., Garcia-Garcia, P., Arroyo-Lopez, F.N., Lopez-Lopez, A. and Garrido- Fernandez, A. 2008. Ozonation process for the regeneration and recycling of Spanish green table olive fermentation brines. *European Food Research and Technology*, 227, 463-472.
- Smilanick, J.L., Crisosto, C. and MLikota, F. 1999. Postharvest use of ozone on fresh fruits. *Perishables Handling Quarterly*, 99, 10-14.
- Soyel, N. 2004. Pestisitler-1. *Cypro Gurme Dergisi*, 22, 3.
- Soyöz, M. ve Özçelik, N. 2003. Ziraî mücadelede kullanılan pestisitlerin sitogenetik etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10, 6-9.
- Söğüt, Ö. ve Kayalı, A. 2005. Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, 34 (1) 41-57.
- Spomer, N.A., Husen, T.J. and Kamble, S.T. 2009. Stability of imidacloprid (Premise 75) in a tank-mixed aqueous solution when stored in shade or sunlight. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82, 116-119.

- Spurlock, F. and Lee, M. 2008. Synthetic pyrethroid use patterns, properties and environmental effects. In: Synthetic Pyrethroids. Gan, J., Spurlock, F., Dendley, P., Weston D.P. (eds), Vol 991-ACS Symposium Series. American Chemical Society, pp 3-25, Washington.
- Suslow, T.V. 2004. Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops. University of California Publication 8133, pp 1-8, California.
- Tiryaki, O. 2009. Pestisit kalıntı analizlerinde örnek matrisi sorunu ve çözüm yolları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 25(1-2), 456-478.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S. 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(2), 154-169.
- Tsimidou, M.Z. 2006. Olive oil quality. In Olive Oil: Chemistry and Technology, 2nd ed., Boskou, D. (ed), AOCS Press, pp 93-111, Illinois.
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Muthukumarappan, K. and Cullen, P.J. 2009. Anthocyanin and colour degradation in ozone treated blackberry juice. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10, 70-75.
- Vidal, J.L.M., Plaza-Bolanos, P., Romero-Gonzalez, R. and Frenich, A.G. 2009. Determination of pesticide transformation products: A review of extraction and detection methods. Journal of Chromatography A, 1219, 6767-6788.
- Walorczyk, S. 2007. Development of a multi-residue screening method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography –triple quadrupole tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1165, 200-212.
- Walorczyk, S. 2008. Development of a multi-residue method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry II. Improvement and extension to new analytes. Journal of Chromatography A, 1208, 202-214.
- Wang, Q. and Lemley, A.T. 2002. Oxidation of diazinon by anodic Fenton treatment. Water Research, 36, 3237-3244.
- Whangchai, K., Uthaibutra, J., Phiyalinmat, S. Pengphol, S. and Nomura, N. 2011. Effect of ozone treatment on the reduction of chlorpyrifos residues in fresh lychee fruits. Ozone: Science & Engineering, 33, 232-235.
- Wilson, C. and Tisdell, C. 2001. Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. Ecological Economics, 39, 449-462.
- Wu, J., Lan, C. and Chan, G.Y.S. 2009. Organophosphorus pesticide ozonation and formation of oxon intermediates. Chemosphere, 76, 1308-1314.

- Wu, J., Luan, T., Lan, C., Lo, T.W.H. and Chan, G.Y.S. 2007a. Removal of residual pesticides on vegetables using ozonated water. *Food Control*, 18, 466-472.
- Wu, J., Luan T., Lan C., Lo WH. and Chan G.Y.S. 2007b. Efficacy evaluation of low-concentration of ozonated water in removal of residual diazinon, parathion, methyl-parathion and cypermethrin on vegetable. *Journal of Food Engineering*, 79, 803-809.
- Wu, J., Lin, L., Luan, T., Gilbert, Y.S.C. and Lan, C. 2007c. Effects of organophosphorous pesticides and their ozonation byproducts on gap junctional intercellular communication in rat liver cell line. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2057-2063.
- Xu, L. 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. *Food Technology*, 53(10), 58-62.
- Yıldırım, G. 2009. Effects of storage time on olive oil quality. Thesis of Master of Science, (unpublished), İzmir Institute of Technology, Food Engineering, 177 p., İzmir.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., Kaya, Ü. ve Ünal, G., 2005. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları. VI. Teknik Tarım Kongresi, 22 s., Ankara.
- Yücer, M. M. 2010. Ruhsatlı tarım ilaçları. Hasad Yayıncılık, 248 s., İstanbul.
- Zacharia, J. T. 2011. Identity, physical and chemical properties of pesticides. In *Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis*, Stoytcheva, M. (ed.), InTech, pp 1-19, Shanghai.
- Zorlugenç, B., Kıroğlu Zorlugenç, F., Öztekin, S. and Evliya, I.B. 2008. The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3593-3597.
- Zhang, Z.Y., Liu, X.J. and Hong, X.Y. 2007. Effects of home preparation on pesticide residues in cabbage. *Food Control*, 18, 1484-1487.

EKLER

| | |
|---|-----|
| EK 1 Çalışmada kullanılan aktif maddelerin bazı fizikokimyasal özellikleri..... | 120 |
| EK 2 Zeytinyağı işleme sırasında kullanılan kırıcı, yoğurucu ve pres..... | 121 |
| EK 3 Birinci grup pestisitler için örnek kromatogram (imidacloprid)..... | 123 |
| EK 4 İkinci grup pestisitler için örnek kromatogram (alpha-cypermethrin)..... | 124 |
| EK 5 Üçüncü grup pestisitler için örnek kromatogram (chlorpyrifos)..... | 125 |

EK 1 Çalışmada kullanılan aktif maddelerin bazı fizikokimyasal özellikleri
(Anonymous 2013)

| Aktif madde | Molekül ağırlığı | Suda çözünürlük (mg/L) | Oktanöl-su ayrılım katsayısı (pKow) | Buhar basıncı (Pa) |
|--------------------|------------------|-------------------------|-------------------------------------|--------------------|
| Diflubenzuron | 310,7 | 0,08 (25°C, pH7) | 3,89 (22°C, pH 3) | 1,2E-07 (25°C) |
| Triflumuron | 358,7 | 0,04 (20°C) | 4,9 (22°C) | 2E-07 (20°C) |
| İmidacloprid | 255,7 | 613 (20°C, pH 5,5) | 0,57 (21°C) | 4E-10 (20°C) |
| Lambda-cyhalothrin | 449,9 | 0,005 (20°C, pH 6,5) | 7 (20°C) | 2E-07 (20°C) |
| Beta-cyfluthrin | 434,3 | 0,0012 (20°C) | 5,9 (22°C) | 8,5E-08 (20°C) |
| Alpha-cypermethrin | 416,3 | 0,004 (20°C, pH 7) | 5,5 (20°C) | 3,4E-07 (25°C) |
| Deltamethrin | 505,2 | 0,0002 < (25°C) | 4,6 (25°C) | 1,24E-08 (25°C) |
| Chlorpyrifos | 350,6 | 1,05 (20°C) | 4,7 (20°C, pH nötr) | 0,00143 (20°C) |
| Dimethoate | 229,3 | 39800 (25°C, pH 7) | 0,704 (pH 7) | 0,00025 (25°C) |

EK 2 Zeytinyağı işleme sırasında kullanılan kırıcı, yoğurucu ve pres



Zeytin kırıcı



Zeytin yoğurucu

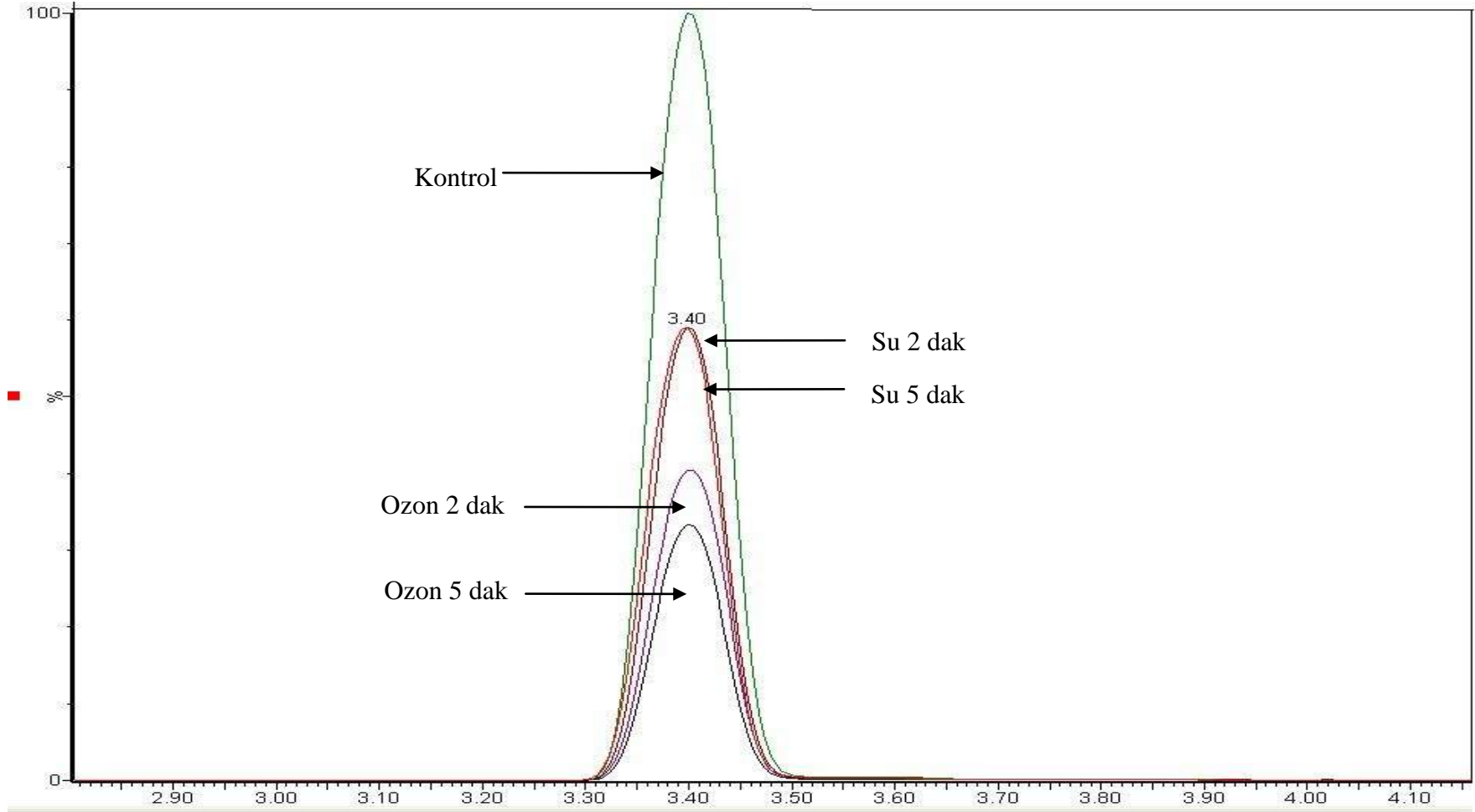
EK 2 Zeytinyağı işleme sırasında kullanılan kırıcı, yoğurucu ve pres (devam)



Pres

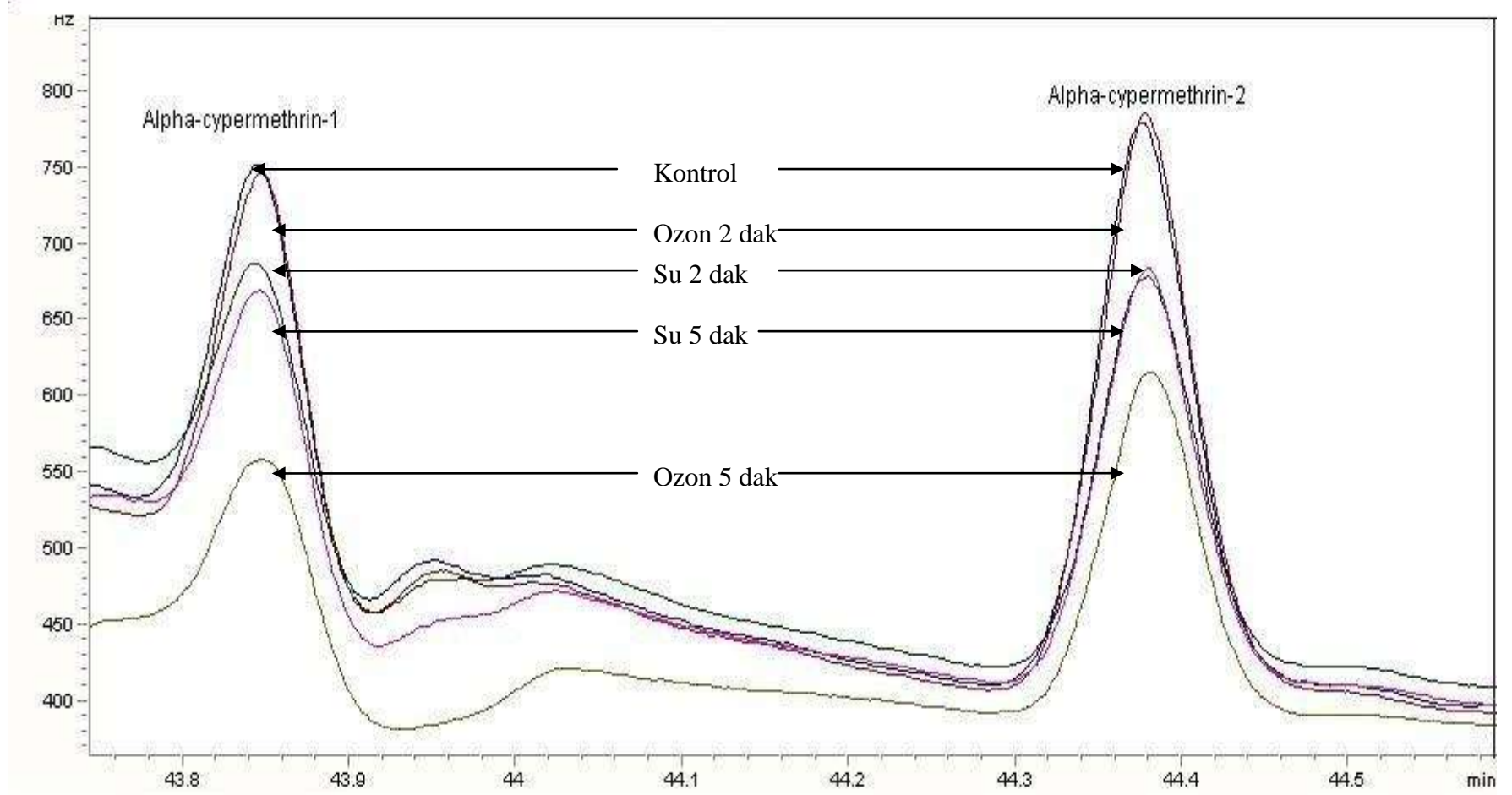
EK 3 Birinci grup pestisitler için örnek kromatogram (imidacloprid)

123



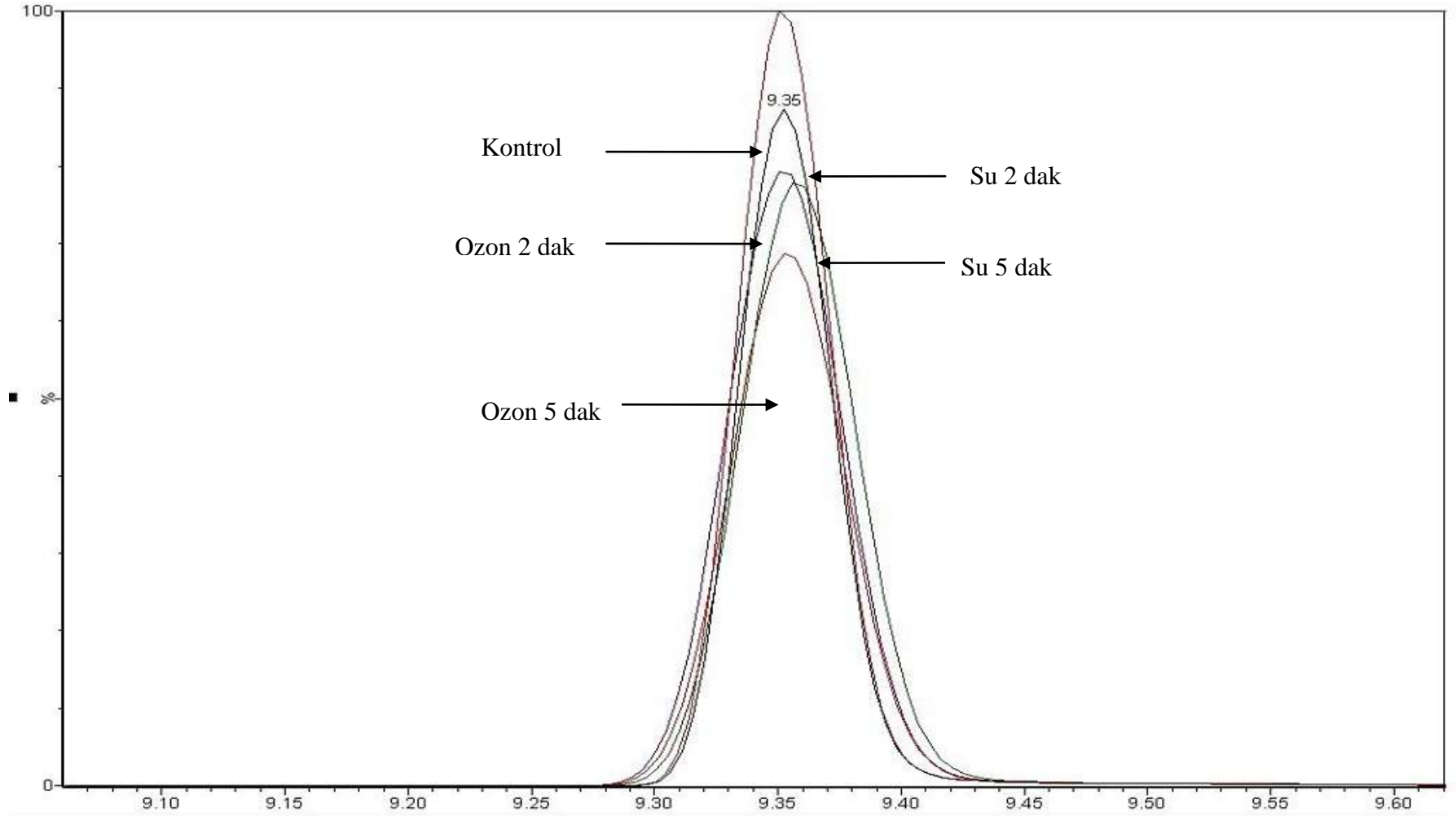
EK 4 İkinci grup pestisitler için örnek kromatogram (alpha-cypermethrin)

124



EK 5 Üçüncü grup pestisitler için örnek kromatogram (chlorpyrifos)

125



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sevilay KIRIŞ

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 22.01.1976

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Cumhuriyet Lisesi (1990-1993)

Lisans : Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda
Mühendisliği Bölümü (1993-1998)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda
Mühendisliği Anabilim Dalı (1999-2002)

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

Ulusal Gıda Referans Laboratuvar Müdürlüğü (2008-)

Ankara Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü (2006-2008)

Ordu İl Tarım Müdürlüğü (2004-2006)

Aysan Bisküvileri (1999-2003)

Hakemli Dergiler

Kırış, S. ve Velioğlu, Y. S. 2013. Zeytin ve zeytinyağı örneklerinde pestisit kalıntılarının belirlenmesi için bir metot çalışması. Gıda, 38 (3), 151-158.

Kırış, S., and Velioğlu, S. 2011. Matrix effect and most used methods in pesticide residue analysis. Ugrl Dergisi (Journal of NFRL), 2 (4), 13-20.

Çetinkaya Açar, Ö., Kırış, S. Diler, F. and Avcı, A. 2011. Extraction and analysis of pesticide residues in beeswax. Ugrl Dergisi (Journal of NFRL), 2 (3), 9-18.

Çetinkaya Açar, Ö., Avcı, A., Kırış, S., Metin, Ö. ve Diler F. 2010. Pestisit analizlerine genel bakış. Ugrl Dergisi (Journal of NFRL), 1 (1), 37-41.

Kırış, S. ve Velioğlu, V. 2001. Hiperbesleyici gıdalar. Bilim ve Teknik Dergisi, 401,56-57.

Ulusal Kongre Sunum

Çetinkaya Açar, Ö., Kırış, S., Diler, F. ve Avcı, A. 2011. Headspace-gaz kromatografisi/ kütle spektrometrisi (HS-GC/MS) yöntemi ile balda naftalin analizi- metot optimizasyonu ve validasyonu. 7.Gıda Mühendisliği Kongresi Bildiriler Kitabı, s. 96. 24-26 Kasım, Ankara.

Çetinkaya Açar, Ö., Kırış, S., Diler, F. ve Avcı, A. 2011. Balmumu ve temel petekte pestisit kalıntıları ve analiz yöntemleri. 7.Gıda Mühendisliği Kongresi Bildiriler Kitabı, s. 215. 24-26 Kasım, Ankara.

Uluslararası Kongre Sunum

Kırış, S. Çetinkaya Açar, Ö. and Diler, F. 2013. Method validation and measurement uncertainty estimation of pesticide residues in tomatoes using QUECHERS extraction method by GC-MS/MS. 8th MGPR International Symposium of Pesticides in Food and The Environment in Mediterranean Countries Books of Abstract, p. 75. September, 12-14, Ürgüp, Nevşehir.