

## Turunçgil Ballarında Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Belirlenmesi

İsra Toptancı<sup>1</sup>, Ali Bayrak<sup>2</sup><sup>1</sup>Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İstanbul Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, İstanbul  
<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi (Received): 14.09.2012, Kabul Tarihi (Accepted): 23.11.2012

E-posta Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [isratoptanci06@gmail.com](mailto:isratoptanci06@gmail.com) (İ. Toptancı)

☎ 0 212 663 39 61 📠 0 212 662 42 13

### ÖZET

Bu çalışmada, turunçgil (portakal+limon) ballarında belirlenen kalıntı pestisitler ve bunların düzeyleri tespit edilmiştir. Bu ballardaki pestisitlerin belirlenmesi için sıvı kromatografi-kütle spektrofotometresi (LC/MS/MS) kullanılmıştır. Örneklerin hazırlanmasında QuEChERS yöntemi kullanılmıştır. Yirmi bal örneğinde yapılan analizde karbendazim, klorpirifos, imazalil, metalaksil ve tiabendazol sırasıyla 7.84, 5.05, 10.96, 6.97 ve 12.11ng/g olarak belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bal, pestisit, QuEChERS, LC/MS/MS

### Determination of Pesticide Residue Levels in Citrus Honey

#### ABSTRACT

Several pesticides and their residue levels in citrus (orange and lemon) honey were determined in this study. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) was used for the determination of pesticide residues in honey samples. The QuEChERS method was used for sample preparation. In twenty honey samples, the levels of carbendazim, chlorpyrifos, imazalil, metalaxyl and thiabendazole were 7.84, 5.05, 10.96, 6.97 and 12.11ng/g, respectively.

**Key Words:** Honey, pesticide, QuEChERS, LC/MS/MS

#### GİRİŞ

Bal, bal arılarının bitki çiçeklerinde veya diğer canlı kısımlarında bulunan nektar bezlerinden salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı canlıların salgılarının bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanması ve vücutlarında kendine özgü maddelerle karıştırılarak bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir üründür. Balın rengi su beyazından koyu kahverengine kadar değişebilir. Bal akıcı, viskoz, kısmen veya tamamen kristalize olabilir, lezzet ve aroması bitkinin türüne göre değişir [1].

Dünya'da yaklaşık 56 milyon bal arısı kolonisi bulunmaktadır. Bu kolonilerinin %90'ı Avrupa, Afrika ve

Asya kıtalarında yer almaktadır. Arıcılık sektöründe ülkemiz, arı kolonileri bakımından dünyada 3. sırada, bal üretimi açısından 4. sırada yer almaktadır. Dünyada üretilen çam balının %92'si Türkiye'de üretilmektedir. Orijinine göre, arıların bitki çiçeklerindeki nektarlardan ürettikleri bal (ıhlamur balı, yonca balı, turunçgil balı, pamuk balı, üçgül balı, kekik balı, püren balı, akasya balı, funda balı gibi) çiçek balı; bitkilerin canlı kısımlarından veya bitki üzerinde yaşayan canlıların salgılarından ürettikleri bal (çam balı, meşe balı, köknar balı, yaprak balı gibi) ise salgı balı olarak isimlendirilir [1].

Hızla artan dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını karşılamak için tarımsal üretimi artırmak amacıyla, tarım ürünlerini zararlı böcekler, patojen organizmalar ve

yabancı otlardan korumak, kalitesini ve verimi artırmak için tarımsal mücadele yöntemlerine baş vurmak kaçınılmaz olmuştur. Fakat kullanılan kimyasal maddelerin ekolojik dengede yapmış oldukları hasar, sadece Türkiye’de değil, dünyada da çözümü aranan sorun haline gelmiştir. Yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılan ve çevre kirliliğine neden olan pestisitler, ekonomik bir şekilde üretilmeleri ve kullanım kolaylığı nedeniyle; ürünü, hastalıkların, böceklerin, yabancı otların ve diğer zararlıların olumsuz etkilerinden koruyarak verim ve kaliteyi sağlamayı amaçlayan tarımsal mücadelede çok önemli bir yer tutmaktadır [2].

Arı kolonileri çevreden ihtiyaç duydukları, su ve polen nektar ve reçine maddelerini (propolis üretimi için) toplarlar. Bu maddeler insanlar tarafından tüketilen arı ürünlerine bulaşır. Bal, biyolojik karakterinden dolayı, çevre kirliliğini izlemede oldukça uygun bir belirteçtir [3-6]. Arı ürünleri pestisit, ağır metal ve diğer çevresel kirlilikleri belirlemede biyo-indikatör olarak kullanılmaktadır [7-10].

Ülkemizde ve dünyada pestisitlerden etkilenenlerin başında bal arıları gelmektedir. Pestisitlerin yoğun ve bilinçsiz kullanımları sonucunda her yıl binlerce kovan zarara uğramaktadır. Balda pestisit kalıntısı, doğrudan bal arılarının pestisit ile teması veya bal arısı kolonilerine büyük oranda zarar veren varroa hastalığına karşı pestisit kovanlara uygulanmasıyla olur. Dolaylı olarak ise tarım alanlarındaki çeşitli bitkilere uygulanan pestisitlerin çeşitli faktörler yardımıyla çevreye dağılması sonucu bitkilere ulaşması ve buradan da bal arıları tarafından kovana taşınarak bulaşmasıdır [11].

Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuca etkileri saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu nedenle 1960 yıllarda FAO ve WHO “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi”ni kurmuş ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapmış, bilimsel araştırma verilerine dayanarak gıdalarda bulunmasına izin verilen en yüksek kalıntı değerleri saptanmıştır [2]. Ballarda kalıntı olarak bulunmasına izin verilen ilaç ve kimyasal maddelerin tolerans sınırları Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği’nde belirtilmiştir. Buna göre ballarda bulunabilecek pestisit etken madde miktarının toplamı 0,01 mg/kg’ı geçmemelidir. Bu çalışmada turuncuğil ballarındaki kalıntıların kalitatif ve kantitatif analizi, sıvı kromatografi kütle spektrofotometresi (LC/MS/MS) ile gerçekleştirilmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Araştırma materyali, yaygın olarak arıcılık yapılan merkezlerden [Antalya’dan (merkez) 4, Alanya’dan 4, Aydın’dan (merkez) 3, Bozdoğan’dan (Aydın) 3, Adana’dan (merkez) 3 ve Kozan’dan (Adana) 3 numune] alınan ve hiçbir işlem görmemiş turuncuğil (portakal+limon) ballarıdır. Bal numuneleri cam

kavanozlara alınarak, analizlere kadar kapalı ve serin bir ortamda muhafaza edilmiştir.

### Yöntem

#### Ekstraksiyon

Pestisit analizi, AOAC Quechers 2007 diye bilinen yöntemle yapılmıştır. Bunun için 15 g bal  $\pm$  0.5 duyarlıkla 50 mL’lik santrifüj tüpüne tartılmıştır. Santrifüj tüpüne 6 g MgSO<sub>4</sub>, 1.5 g susuz sodyum sülfat, 1.5 g NaCl, bunların üzerine 15 mL asetonitril ilave edilmiştir, 1 dakika süre ile karıştırılmış ve 5000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan fazın üst kısmından 8 mL alınıp 15 mL’lik santrifüj tüpüne MgSO<sub>4</sub>, primer sekonder amin (PSA) ve C18 katılmıştır. 5000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildikten sonra üst fazdan küçük bir şişeye (viale) 1’er mL alınarak LC-MS/MS, enjekte edilmiştir [12].

#### LC/MS/MS Analizi

Pestisit analizinde Agilent marka 1260 model sıvı kromatografi cihazı 6460 triple, kuadropol MS/MS dedektörü ile kombine edilerek kullanılmıştır. Kullanılan tüm pestisit standartları ve kimyasal malzemeler analitik saflıktadır (Sigma Aldrich, ABD ve Merck, Darmstadt, Almanya). Pestisit standartları, stok standart mix olarak hazırlanmıştır. Çalışma standartları stok standarttan hazırlanmış ve -20°C’de muhafaza edilmiştir. Kalibrasyon standartları çalışma standartlarından hazırlanmıştır. Analizde kalibrasyon aralığı 5-80 ng/mL olarak belirlenmiştir.

Hareketli faz, iki çözücü sisteminden oluşmaktadır [A, su:amonyum format:formik asit (98.5+1+0.5 v/v); B:metanol (100 v/v)]. Çalışmada gradiyent elüsyon yöntemi uygulanmış olup, ayırım 3.0x100 mm, film kalınlığı 2.7 µm olan kolonda (Agilent Poroshell 120 SB-C18) gerçekleştirilmiştir. Gradyent elüsyon koşulları şöyledir: 0-0.2 min, %20 B, 1.5-6 min, %70 B, 6-7.6 min, %95 B ve 7.6-11 min, %20 B. Akış hızı 0.6 mL/min, enjeksiyon hacmi 5 µL’dir. Analiz boyunca kolon sıcaklığı 35°C’de sabit tutulmuştur. Kütle spektrofotometresi parametreleri: gaz sıcaklığı 325°C; nebulizer gaz 45 psi; sheath gaz sıcaklığı 400°C; kapiler voltaj 4000 V; kuadropol sıcaklığı 100°C’dur.

#### BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada 20 adet narenciye bal örneğinde özellikle narenciye üretiminde sıkça kullanılan 13 adet pestisit analizi yapılmıştır. Pestisit bileşenlerinin alıkonma zamanları (t<sub>R</sub>), tayin limit değerleri (LOD), ölçüm limit değerleri (LOQ), geri kazanım değerleri (GK), kalibrasyon grafiklerine ait korelasyon katsayısı değerleri (R<sup>2</sup>), iyon geçişleri ve ait oldukları sınıflar Tablo 1’de verilmiştir.

Yapılan analizde narenciye ballarında karbendazim 7.84 ng/g, klorpirifos 5.05 ng/g, imazalil 10.96 ng/g, metalaksil 6.97 ng/g ve tiabendazol 12.11 ng/g olarak belirlenmiştir. Aynı ballarda karbaril, koumafos, boskalit, piriprosifen, diazinon, diklorvos, haloksifop ve

metidation tespit edilememiştir. Kalibrasyon grafiklerine ait korelasyon katsayıları 0.996-0.999 olarak bulunmuştur. LOD değerleri 5.02-6.99 ng/g, LOQ

değerleri ise 6.38-9.03 ng/g aralığında belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Pestisit bileşenlerine ait alıkonma süreleri, LOD, LOQ, geri kazanım değerleri, korelasyon katsayıları, iyon geçişleri ve sınıfları

Bileşenler	t <sub>R</sub> (dakika)	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	GK (%)	R <sup>2</sup>	İyon geçişi	Sınıfı
Karbaril	3.23	6.82	8.22	81±0.3	0.998	202.1 -> 145.1	Akarisit
Karbendazim	2.47	6.25	7.10	103±0.6	0.997	192.1 -> 160.1	Fungusit
Klorpirifos	9.53	6.99	8.03	98±0.4	0.999	313.8 -> 258.0	İnsektisit
Koumafos	4.73	5.87	7.13	100±0.2	0.999	363.1 -> 227.1	İnsektisit
Boskalit	3.84	5.60	8.90	98±0.2	0.998	343.1 -> 307.1	Fungusit
Piriprosifen	5.70	6.00	7.56	105±0.8	0.998	322.2 -> 96.1	İnsektisit
Diazinon	5.77	5.83	6.38	110±0.3	0.997	305.0 -> 169.0	İnsektisit
Diklorvos	2.68	6.81	9.03	90±0.5	0.999	109.0 -> 79.0	Akarisit
Haloksifop	5.35	5.29	8.13	92±0.1	0.998	362.1 -> 91.1	Herbisit
İmazalil	3.42	5.10	8.02	113±0.5	0.999	297.1 -> 41.2	Fungusit
Metalaksil	3.56	5.50	7.30	103±0.7	0.996	280.2 -> 220.2	Fungusit
Metidation	3.59	5.02	6.97	98±0.5	0.998	303.0 -> 145.0	Akarisit
Tiabendazol	2.73	5.07	7.12	102±0.6	0.999	202.2 -> 175.1	Fungusit

Tablo 2. Ballarda saptanan pestisit bileşenleri ve miktarları

Bileşenler	Kalıntı miktarı (ng/g)
Karbaril	te
Karbendazim	7.84±0.94
Klorpirifos	5.05±0.53
Koumafos	te
Boskalit	te
Piriprosifen	te
Diazinon	te
Diklorvos	te
Haloksifop	te
İmazalil	10.96±0.57
Metalaksil	6.97±0.42
Metidation	te
Tiabendazol	12.11±0.66

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak belirtilmiştir, te:Tespit edilemedi

Kolankaya ve ark. [13] Sakarya Akçakoca'da ölmüş arılar üzerinde yaptıkları bir çalışmada karbamat grubundan karbaril ve karbosülfan tespit etmişlerdir. Rissato ve ark. [7] yaptıkları çalışmada ölçüm limitlerini, imazalil için 15 ng/g; klorpirifos için 9 ng/g; diazinon için 10 ng/g; diklorvos için 14 ng/g ve metidation için 10 ng/g olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada elde edilen geri kazanım değerleri ise imazalil için %82; klorpirifos için %112; diazinon için %90; diklorvos için %84 ve metidation için %80 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada balda klorpirifos miktarını 10-15 ng/g olarak belirlemişlerdir. Tablo 2'de görüldüğü gibi, elde ettiğimiz veriler belirtilen bu değerler ile uyumludur.

Ünal ve ark. [14] Marmara Bölgesi'nde şüpheli arı ölümleri nedenini araştırmak için yaptıkları çalışmada iki numunede diazinon, bir numunede klorpirifos, altı numunede karbaril, bir numunede endosulfan ve bir numunede sipermetrin tespit etmişlerdir. Wiest ve ark. [15] analiz ettikleri bal örneklerinin %64'ünde karbendazim miktarını 88 ng/g ve %2'sinde diazinon miktarını 14 ng/g olarak saptamışlardır. Kujawski ve ark.

[16] 40 bal örneğinde pestisit analizi yapmışlardır. Yapılan çalışmada metalaksil miktarını 0-0.34 ng/g; imazalil miktarını 0.91-4.98 ng/g ve klorpirifos miktarını 0.26-0.50 ng/g olarak belirlenmiştir. Canbay ve ark. [17] Isparta'da yapılan bir çalışmada kovan ballarında klorpirifosu 0.024 ng/g ve diazinon 0.021 ng/g olarak tespit etmişlerdir.

Pestisitler tarımda kullanıldığı gibi, çevremizdeki zararlılarla mücadelede resmi ve özel kuruluşlar tarafından da kullanılmaktadır. Bitkilere uygulanmasından sonra arılar tarafından temasla alınması, nektar ve kovana taşınması olasılığı yüksektir. Ayrıca, yerleşim yerlerinde veya yakınlarında yapılan bazı uygulamalarda (kene ve sivrisinek mücadelesi gibi) organik fosforlu, klorlu ve karbamat grubu bileşikler veya preitrit grubu bileşikler kombine edilerek kullanılabilir. Bu ilaçların uygulandığı alanlarda bu pestisitlerle temas eden arılarda zehirlenmeye neden olabilir ve böylece bu pestisitler numunelerde tespit edilebilir [14].

## SONUÇ

Pestisitler insan ve hayvanlar için, bireysel ve toplu halde, akut subakut ve kronik nitelikli zehirlenmeler ile mutajenik, karsinojenik etki tehlikesi taşırlar. Ayrıca çevre ve gıda kirlenmesine yol açabilirler. Bir tarım ülkesi olan ülkemizde hemen hemen tüm tarımsal ürünlerde kullanılan pestisitlere bağlı olarak gıda kirliliği gün geçtikçe artmaktadır. Ballar diğer tarımsal ürünlerden farklı olarak daha denetimsiz koşullarda üretilip pazarlandıkları için bu sorun daha yoğun bir şekilde kendini göstermektedir. Yapılan bu çalışmada bal örneklerinde tespit edilen pestisitlerin özellikle meyve (turunçgil) ve sebze üretiminde yaygın olarak kullanılan pestisitler olduğu görülmüştür. Örneklerde tespit edilen pestisitlerden imazalil ve tiabendazol miktarı Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen limitin (10 ng/g) üstünde tespit edilmiştir. Sonuç olarak balların pestisit ve ilaç gibi diğer kalıntılardan korunması için öncelikle

engelleyici tedbirlerin alınması, kültür bitkilerine uygulanan çeşitli ilaçların sıkı bir şekilde denetim ve kontrolü yapılmalıdır. Ayrıca üreticilerin kalıntılarının tehlikesi ve önlenmesi konusunda mutlaka eğitilmeleri gerekmektedir.

#### KAYNAKLAR

- [1] Anonim, 2002. Bal Standardı (TS 3036). Türk Standartları Enstitüsü. Ankara, Türkiye.
- [2] Yeter, O., 2007. Bal Örneklerinde Acetamiprid Kalıntısının ve Bozunma Ürününün Tayini için Yöntem Geliştirilmesi. Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, 146s.
- [3] Kevan, P. G., 1999. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species activity and diversity. *Agriculture Ecosystem Environment* 74: 373-93.
- [4] Porrini, C., Sabatini, A. G., Girotti, S., Ghini, S., Medrzycki, P., Grillenzoni, F., 2003. Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. *APIACTA* 38:63-70.
- [5] Perugini, M., Di Serafino, G., Giacomelli, A., Medrzycki, P., Sabatini, AG., Persano Oddo, L., Marinelli, E., Amorena, M., 2009. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in bees (*Apis mellifera*) and honey in urban areas and wildlife reserves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:7440-7444.
- [6] Lambert, O., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., Larhantec, M., Delbac, F., Pouliquen, H., 2012. Bees, honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination. *Environmental Pollution* 170:254-259.
- [7] Rissato, S., Galhiane S., Almeida, V., Gerenutti, M., Apon, B., 2007. Multiresidue determination of pesticides in honey samples by gas chromatography-mass spectrometry and application in environmental contamination. *Food Chemistry* 101:1719-1726.
- [8] Balayiannis, G., Balayiannis, P., 2008. Bee honey as an environmental bioindicator of pesticides' occurrence in six agricultural areas of Greece. *Environmental Contamination and Toxicology* 55(3):462-470.
- [9] Leita, L., Muhlbachova, S., Cesco, R., Barbattini, C., 1996. Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination. *Environmental Monit. Assess.* 43:1-9.
- [10] Ponikvar, M., Snajder, J., Sedej, B., 2005. Honey as a bioindicator for environmental pollution with SO<sub>2</sub>. *Apidologie* 36:403-409.
- [11] Rial-Otero, R., Gaspar, M., Moura, I., Capelo, L., 2007. Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview. *Journal of Chromatography* 71(2): 503-514.
- [12] Anastassiades, M., Mastovska, K., Lehotay, S., 2003. QuEChERS-A new sample preparation technique for multiresidue analysis of pesticides in foods and agricultural samples. *Journal of Chromatography A* 1015(1-2):163-184.
- [13] Wiest, L., Bulete, A., Giroud, B., Fratta, C., Amic, S., Lambert, O., Pouliquen, H., Arnaudguilhem, C., 2011. Multi-residue analysis of 80 environmental contaminants in honeys, honeybees and pollens by one extraction procedure followed by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1218:5743-5756.
- [14] Kolankaya, D., Erkmen, B., Sorkun, K., Kocak, O., 2002. Pesticide residues in honeybees and some honeybee products in Turkey. *Pesticides* 17:73-84.
- [15] Ünal, H., Oruç, H., Sezgin, A., Kabil, E., 2010. Türkiye'de, 2006-2010 yılları arasında bal arılarında görülen ölümler sonrasında tespit edilen pestisitler. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 10(4):119-125.
- [16] Kujawski, W., Namiesnik, J., 2011. Levels of 13 multi-class pesticide residues in Polish honeys determined by LC-ESI-MS/MS. *Food Control* 22: 914-919.
- [17] Canbay, H., Ögüt, S., Yilmazer, M., Küçüköner, E., 2012. Seçilen bazı pestisitlerin bal örneklerinde analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 16(1):1-5.