



Özgün Araştırma/Original Article

QuEChERS -LC MS/MS Yönteminin Ballarda Bazı Pestisit Kalıntıları için Metot Validasyonu

Validation of QuEChERS Coupled with LC-MS/MS Method for the Determination of some Pesticide Residues in Honey

Mertin HAMZAOĞLU^{1*}, Sema DEMİR², Hakan TOSUNOĞLU³, Remziye ZENGİNGÖNÜL GÖKÇAY⁴, Altan DENİZ⁵

¹Kim. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE- ORCID ID- 0000-0002-5364-7559

²Gıda Yük.Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE- ORCID ID- 0000-0003-2610-7466

³Biyolog, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE- ORCID ID- 0000-0003-2163-657X

⁴Kimyager, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE- ORCID ID- 0000-0001- 6822-9045

⁵Zir. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE- ORCID ID- 0000-0003-4358-5822

*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author, mertin.hamzaoglu@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi:11.12.2020

Kabul Tarihi:02.02.2021

Özet

Amaç: Bal, bal arısı tarafından üretilen insanlık tarihinin bilinen en eski gıdalarından biridir. Ballarda pestisit kalıntısı problemi insan sağlığını tehdit etmesinin yanı sıra balın ihracat potansiyelini düşürerek ve arı kolonilerinde kayıplara yol açarak ekonomik zayıyata da sebep olmaktadır. Kovan içi uygulamalardan kaynaklanan direkt yolla ya da arıların nektar ve bal yapmakta kullandıkları bitkilerin ilaçlanması sonucunda dolaylı yolla balda pestisit kalıntıları bulunabilmektedir. Bu çalışmada SANTE/11813/2019 dokümanı esas alınarak bazı pestisitlerin LC-MS/MS tekniği kullanılarak analiz edilmesi ve validasyonunun yapılması hedeflenmiştir.

Materyal ve Yöntem: QuEChERS yönteminin AOAC 2007.01 versiyonu kullanılarak bal numunelerinde 70 adet pestisit kalıntı seviyesinin belirlenmesi LC-MS/MS çoklu kalıntı yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Her bir hedef pestisit kalıntısı için kalibrasyon eğrileri 2,5–100,0 µg/kg ($r^2 \geq 0.995$) arasında olacak şekilde oluşturulmuştur.

Bulgular: Tüm pestisitlerin LOQ değerleri, Avrupa Komisyonu (EC) tarafından belirlenen MRL değerlerinin altında, 10 µg/kg olarak belirlenmiştir. Seçilen 70 adet pestisit için ortalama geri kazanımlar SANTE 2019 kılavuzunda belirtilen %70-120 aralığına ve relatif standart sapma (%RSD \leq 20) ise %20 limitine uygun olarak bulunmuştur. Ayrıca tüm genişletilmiş ölçüm belirsizlikleri %50'nin altında hesaplanmıştır.

Sonuç: Sonuç olarak çalışılmış olan tüm pestisitler için yapılan validasyon çalışmaları SANTE/11813/2019 dokümanında belirtilen şartları sağlamıştır. Ballarda pestisit kalıntılarının analizinin yaygınlaşması tüketicilerin güvenli gıdaya ulaşılabilirliğinin sağlanması için oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Bal, Metot Validasyonu, Pestisit Kalıntısı, QuEChERS

Abstract

Objective: Honey, made by honey bee, is one of the oldest known food in human history. The problem of pesticide residue in honey not only threatens human health, but also causes economic losses by decreasing the export potential of honey and causing losses in bee colonies. Pesticide residues can be found in honey either directly arising from applications inside the hive or indirectly as a result of spraying the plants used by bees to make nectar and honey. In this study, it was aimed to analyze and validate some pesticides using LC MS/MS technique based on SANTE / 11813/2019 document.

Materials and Methods: Determination of 70 pesticide residue levels in honey samples using the AOAC 2007.01 version of the QuEChERS method was performed by the LC-MS / MS multiple residue

method. Calibration curves for each target pesticide residue were constructed in the range of 2,5 to 100,0 µg/kg ($r^2 \geq 0,995$).

Results: LOQ values of all pesticides were determined as 10,0 µg/kg, below the MRL determined by the European Commission (EC). The average recoveries for the selected 70 pesticides were between 70-120% and the calculated standard deviations (RSD) were determined as 20%. Expanded measurement uncertainties were also calculated below 50%.

Conclusion: As a result, the validation studies for all pesticides studied have met the conditions specified in the document SANTE/11813/2019. The widespread use of pesticide residue analysis in honey is very important to ensure consumers' access to safe food.

Keywords: Honey, Method Validation, Pesticide Residue, QuEChERS

1.Giriş

Türk Gıda Kodeksi 2020/7 sayılı Bal Tebliği'nde, bal "bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının ve bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının, bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendin özgü maddelerle bir araya getirerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petek içinde depolayarak olgunlaştırdığı doğal olarak kristallenebilen doğal ürün" olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2012). Ülkemizde arıcılık, oldukça yaygın olarak yapılan ve bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de giderek gelişen bir sektördür (Sorkun ve ark. 2008). Türkiye, 2019 yılında 109.330 ton bal üretimi ile Çin'in ardından dünyanın en fazla bal üretimine sahip 2. ülkesi konumundadır (Anonim 2017). Birçok bölgede arıcılık ve bal üretimi yapılmaktadır. Arıcılık faaliyetlerinin çıktısı olarak üretilen bal, arı sütü, polen ve propolis gibi ticari ürünler hem iç piyasada hem dış piyasada pazar bulabilmekte ve ülke ekonomisine önemli faydalar sağlamaktadır (Kolankaya ve ark. 2002). Arı hastalık ve zararlıları, koloni popülasyon gelişimini engelleyen, verimliliği azaltan, ürün kaybı yaşanmasına neden olan bir etken olarak bilinmektedir (Kumova 2001).

Bal içerdiği vitaminler, flavanoidler ve fenolik bileşiklerle önemli bir besin maddesidir ve aynı zamanda geçmişten günümüze tıpta ilaç olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında bal antibiyotikler, pestisitler ve ağır metaller gibi toksik maddeleri de yapısında bulundurabilir (Lopez ve ark. 2008). Son zamanlarda yapılan farklı çalışmalar, pestisitlerin, ağır metallerin, radyoaktif maddelerin balda birikim yaptıklarını göstermektedir. Bu kimyasallar insan faaliyetleri sonucunda çevreye salınmakta ve doğada uzun süre kalabilmektedir.

Pestisitler, ağır metaller ve diğer kirleticiler besin zincirinde biyolojik olarak birikebilir ve insan sağlığına zarar verebilir (Ali ve ark. 2019). Türkiye'de farklı bölgelerden temin edilmiş ballarda farklı gruptan pestisit kalıntı miktarlarının tayini için kullanılan başlıca yöntem gaz kromatografisidir (Erdoğan 2007, Das ve Kaya 2009, Yavuz ve ark. 2010). Bunun yanında sıvı kromatografi sistemlerinin kullanıldığı bir çok çalışma vardır (Koç ve ark. 2008, Çobanoğlu ve Tüze 2008). Bu yöntem bal örneklerinde pestisit analizleri için önceki çalışmalarda oldukça yoğun kullanılmıştır (Flores ve ark. 2017, Barganska ve ark. 2018).

Tarım alanlarında zararlı organizmalara karşı uygulanan pestisitler havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır (Tiryaki ve Temur 2010). Bir pestisitinin çevredeki hareketlerini; onun kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi, uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir. Özellikle yağda çözünebilen pestisitler baldan peteğe geçebilmekte ve bir sonraki yıl aynı peteğin kullanılması ile tekrar bala bulaşabilmektedir (Harizanis ve ark. 2008). Pestisitler kısaca çevre kirliliği olarak özetlenen olumsuzluklarının yanı sıra, özellikle gıdalarda bıraktıkları kalıntılar sonucu insan sağlığını tehdit etmektedir. Bal bu kalıntı problemlerinden etkilenebilen önemli bir gıda olarak bilinmektedir (Öğüt 2008).

Arı ve bal ürünlerinin sağlıklı, doğal ve temiz imajı vardır. Ancak üretildiği yerlerin birçoğu maalesef kirlenmiş çevredir. Günümüzde kirleticilerin en önemlisi olarak pestisitler ile karşılaşmaktayız. Pestisitlerin, yaygın kullanımı ve çevreye direnci yüzünden bala da bulaşma ihtimali oldukça yüksektir. Arıcılık faaliyetlerinde doğrudan bulaşmanın yanında,

çevresel kaynaklardan doğrudan yada dolaylı olarak da bulaşmalar olabilmektedir. Pestisit kalıntılarının hücresel bozulmaya ve genetik mutasyona ilaveten çeşitli kitlesel sağlık problemlerine yol açtığı bildirilmiştir (Shendy ve ark. 2016). Pestisit kullanımının oldukça fazla olması ise tarımsal zararlı organizmaların zararını minimize etmek, verimliliği arttırmak ve masrafların azaltılması nedenlerinden kaynaklanmaktadır. Ancak pestisitlerin yanlış ve sürekli kullanımı su, hava, toprak ve bitkilerin kirlenmesine sebep olmakta daha da ileri giderek faydalı böceklerin (arılar) yok olmasına, farklı zararlıların ortaya çıkmasına ve zararlı popülasyonunun direnç kazanmasına sebep olmaktadır (Oliviera ve ark. 2016). Pestisitlerin insan sağlığı üzerinde birçok olumsuz etkileri vardır. Bu kapsamda Moosbeckhofer ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada ilk uygulamadan on sene sonra analiz edilen bal ve bal mumunda pestisit kalıntılarını tespit etmeleri açısından oldukça dikkat çekicidir. Aynı zamanda bu kirlenmeler balın ekonomik değerini aşağıya çekmekte ve ihracat yolunun zarar görmesine neden olmaktadır.

2. Materyal ve Yöntem

Bal örneklerindeki pestisit kalıntı analizi için QuEChERS yöntemi (Lehotay ve ark. 2005) kullanılmış ve örnekler Shimadzu 8040 LC-MS/MS cihazına enjekte edilerek kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda seçilmiş 70 adet pestisit etken maddesi için Geri Kazanım, Doğrusallık, Keskinlik (Tekrarlanabilirlik, Tekrar üretilebilirlik) değerleri belirlenmiş ve her bir etken madde için ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır (Anonymous 2007).

2.1. Standartlar ve kimyasallar

Pestisit referans standartları Dr Ehrenstorfer (Augsburg, Almanya) ve Sigma-Aldrich'ten (Seelze, Almanya) temin edilmiştir. Asetonitril (MeCN), metanol (MeOH), sodyum asetat (NaOAc) ve asetik asit Merck'ten (Darmstadt, Almanya), Magnezyum sülfat susuz (anh. MgSO₄), Primer sekonder amin (PSA) Agilent'tan (Santa Clara, CA, USA) temin edilmiştir. Her bir pestisit stok standart çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlar 10 ppm stok olacak şekilde karışım standart hazırlanmıştır. Kalibrasyon için asetonitril içinde farklı noktalara seyreltilerek kullanılmıştır.

2.2. Cihaz ve Gereçler

Bal matrislerindeki pestisitlerin ölçümü için Shimadzu LCMS-8040 üçlü dört kutuplu kütle spektrometresine (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) bağlı Shimadzu HPLC kullanılmıştır. Kromatografik ayırma, bir C₁₈ (4 mmx3 mm) koruma kolonuna (Phenomenex, Torrance, CA) bağlanmış Synergi Fusion-RP HPLC kolon (50 mm x 2,0 mm i.d., 2,5- µm partikül boyutu) ile 40°C'de yapılmıştır. Akış hızı 0,40 mL/dk olarak ayarlanmış ve 5 µL enjeksiyon hacmi kullanılmıştır. Mobil faz olarak su (A) içinde 5 mM AF ve metanol (B) içinde 5 mM AF gradyan programı şöyledir:

0–2,5 dakika (dk), %0–90 B;

2,5–4,0 dk, %90–90 B;

4,0–4,1 dk, %90–5 B;

4,1–6,0 dk, %5,0–5,0 B.

Analizler, kantitatif ölçüm için çoklu reaksiyon izleme (MRM) kullanılarak ESI pozitif ve negatif iyon modunda gerçekleştirilmiştir. Kütle spektrometresi parametreleri şu şekildedir:

Nebülize edici gaz akışı 3,0 L/dk

Kurutma gazı akışı 15 L/dk;

Arayüz voltajı 3,5 kv;

Dedektör voltajı, 1.68 kv;

DL sıcaklığı, 250°C

Isı bloğu sıcaklığı, 400°C.

Her bir pestisit için hesaplama ve doğrulama iyonları belirlenmiştir (Polat ve Tiryaki 2020).

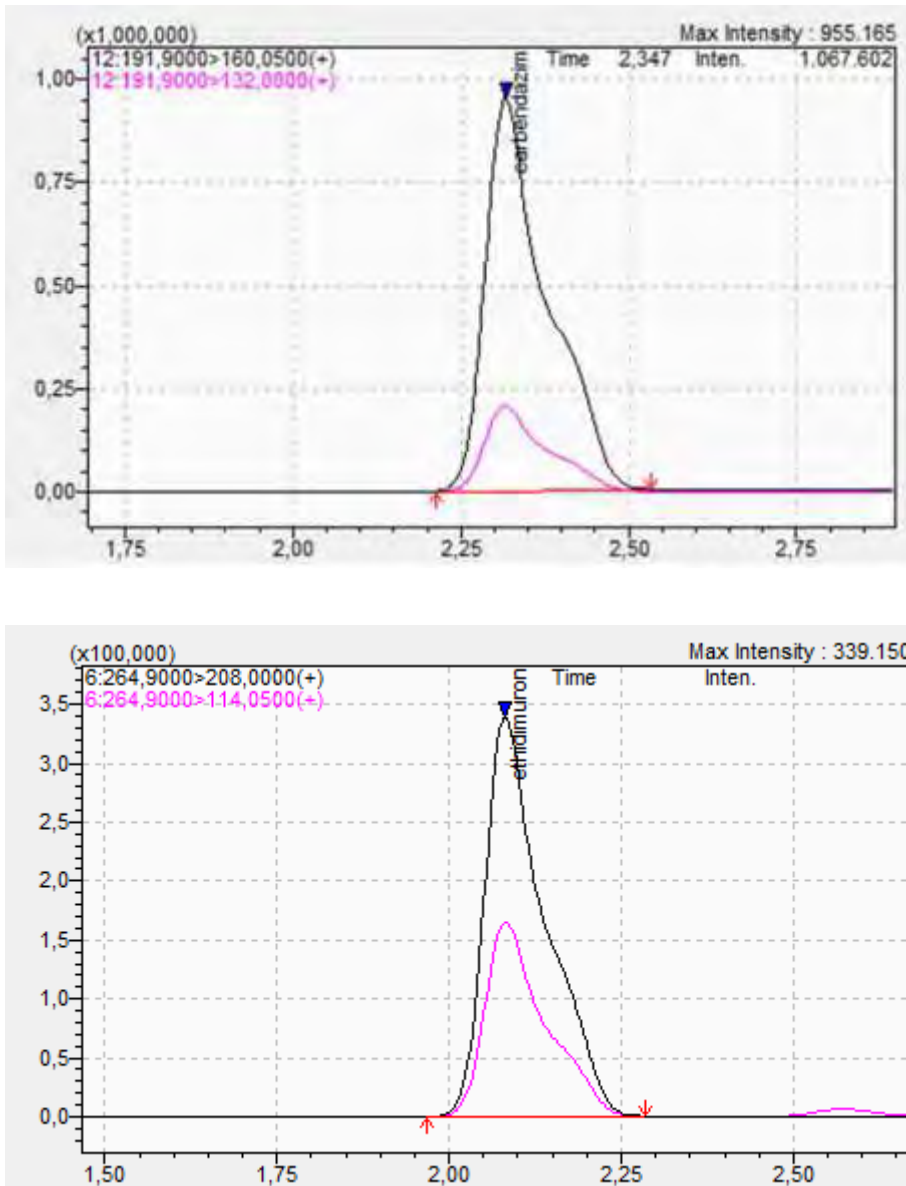
2.3 Pestisit Analizi

Pestisit analizi, AOAC Resmi Metodu 2007.01'e (Lehotay ve ark. 2005) göre yapılmıştır. Ölçüm limiti (LOQ) belirlenmesi için metot performans kabul kriterlerini (%70-120 geri kazanım, ≤%20 RSD) karşılayan en düşük konsantrasyon tespit edilmiştir. Buna göre 10 ppb konsantrasyonlarda spike yapılarak geri kazanım çalışmaları yapılmış, geri kazanımın %70-120 aralığında olduğu, RSD değerinin %20'nin altında olduğu en düşük konsantrasyon ölçüm limiti (LOQ) olarak belirlenmiştir (Anonim 2021).

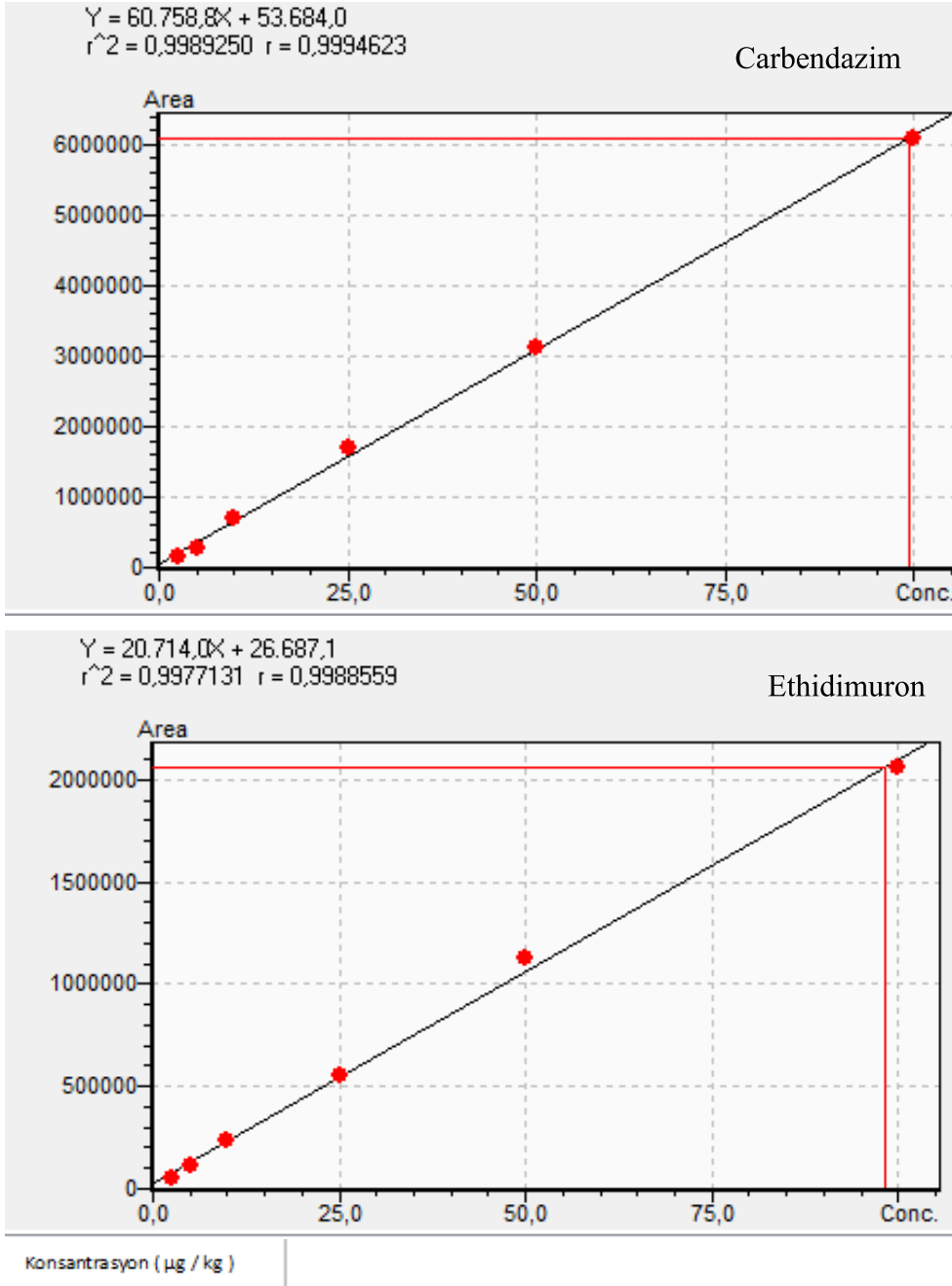
30 adet bal numunesinin her birinin temsili bir kısmı (7,5 g) 50 mL'lik bir santrifüj tüpü içinde tartılmıştır. Su (7,5 mL) ilave edilmiş ve tüp kuvvetlice çalkalanmıştır. Ekstraksiyon çözücüsü, %1 asetik asit içeren 15 mL asetonitril solüsyonu tüpe ilave edilmiş ve tekrar 1 dakika çalkalanmıştır. 6 g MgSO₄ ve

1,5 g sodyum asetat içeren QuEChERS AOAC ekstraksiyon kiti eklenmiş, tüp tekrar 1 dakika çalkalanmış ve 5000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Üst katmanın 8 mL'lik bir kısmı clean-up (istenmeyen co-extractive'lerin ekstrakttan uzaklaştırılması) için 400 mg PSA, 400 mg C₁₈ ve 1200 mg MgSO₄ içeren 15 mL'lik bir d-SPE tüpüne aktarılmıştır. Tüp 30 saniye elle karıştırılmış ve tekrar santrifüjlenmiştir (5000 rpm, 1 dakika). Süpernatant kısmı, bir PVDF şırınga filtresi (0,22 µm) kullanılarak filtre edilmiştir. Son olarak, 0,475 µL su (10,53 mM AF içeren) ve

0,025 µL asetonitril, enstrümantal analizden önce 500 µL numune ile vial içerisinde karıştırılıp cihaza verilmiştir. Fortifikasyon örneklerinin analizinden geri alım ve RSD değerleri hesaplanmıştır (Polat ve Tiryaki 2019). Şekil 1'de Carbendazim (m/z 160,05 ve 132) ve Ethidimuron (m/z 208 ve 114,05) product iyonlarına ait LC-MS/MS kromatogramları verilmiştir. Bu etken maddelerin kalibrasyon eğrileri ise Şekil 2'de verildiği gibidir.



Şekil 1. Carbendazim (m/z 160,05 ve 132) ve Ethidimuron (m/z 208 ve 114,05) etken maddelerinin product iyonlarının LC-MS/MS kromatogramları



Şekil 2. Carbendazimin ve Ethidimuron etken maddelerinin kalibrasyon eğrisi (2,5-5-10-25-50-100 $\mu\text{g} / \text{kg}$). x eksenini alanı y eksenini ise konsantrasyonu $\mu\text{g}/\text{kg}$ ifade etmektedir.

3. Bulgular ve Tartışma

Validasyon/Verifikasyonu yapılan pestisitlerin hepsi için raporlama limiti konsantrasyonu 0,010 mg/kg olarak belirlenmiştir. Doğrusallık çalışmaları neticesinde tüm pestisitler için çalışma aralığı 2,5-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak belirlenmiştir. UGRL (Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı) tarafından yayınlanan rehber göre belirsizlik hesaplamasında belirsizlik

kaynakları olarak tekrarüretilebilirlik ve gerçeklik belirsizliği kullanılmaktadır (Anonim 2021). Tekrarüretilebilirlik %RSD değerleri 6,85-17,63 arasında bulunmuştur. %RSD değerlerinin uygunluğunun değerlendirilmesi ilgili dökümana göre yapılmıştır (Anonim 2019). Ölçüm belirsizliği değerleri %27,46-48,95 arasında bulunmuş ve SANTE dökümanına uygun olarak bütün etken

maddeler için belirsizlik değeri %50 olarak kabul edilmiştir (Çizelge 1 ve 2).

Muku ve ark. (2019), Doğu Akdeniz bölgesinin Adana, Hatay ve Mersin illerinin her birinden temin edilen 10'ar adet çiçek balı örneklerinde pestisit ve naftalin içerikleri belirlemiştir. Bal örneklerinde pestisit taraması, QuEChERS yöntemiyle ekstraksiyon, ardından LC/MS/MS cihazıyla tespit etmişlerdir. LC/MS/MS cihazıyla toplam 102 adet pestisit etken maddesi valide etmişlerdir. Bal örneklerinin tamamında belirlenme sınırının (LOD) üstünde bir pestisite rastlamamışlardır.

Toptancı ve Bayrak (2012) yaptıkları çalışmada, turunçgil (portakal, limon) ballarında belirlenen kalıntı pestisitler ve bunların düzeylerini tespit etmişlerdir. Bu ballardaki pestisitlerin belirlenmesi için sıvı kromatografi-kütle spektrofotometresi LC/MS/MS ve örneklerin hazırlanmasında QuEChERS yöntemi kullanmışlardır. Yirmi bal örneğinde yapılan analizde carbendazim, chlorpyrifos, imazalil, metalaxil ve tiabendazol'i sırasıyla 7,84; 5,05; 10,96; 6,97 ve 12,11 ng/g olarak belirlemiştir.

Pinho ve ark. (2010), 11 adet bal örneğinde chlorpyrifos, deltamethrin ve cypermethrin analizi yapmışlardır. Deneysel çalışmada bulunan dedeksiyon limitlerini, diklorvos için 0,014 µg/g; cypermethrin için 0,016 µg/g; deltamethrin için 0,016 µg/g olarak vermişler ve 2 örnekte chlorpyrifos tespit etmişlerdir (0,10 µg/g).

Rissato ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada, balda farklı gruptan 32 adet pestisit kalıntısı analizi yapmışlardır. Çalışmalarında bulunan dedeksiyon limitleri, dichlorvos için 0,006 mg/kg; cypermethrin için 0,008 mg/kg; chlorpyrifos için 0,002 mg/kg ve diazinon için ise 0,005 mg/kg olarak verilmiştir. Bileşiklere ait geri kazanım değerlerini ise dichlorvos için %97; cypermethrin için %93; chlorpyrifos için %98 ve diazinon için ise %94 olarak belirtmişlerdir. Örneklerde chlorpyrifos 0,0031 mg/kg; diazinon 0,0019 mg/kg; dichlorvos 0,008 mg/kg; malathion 0,148 mg/kg olarak tespit etmişlerdir.

Çizelge 1. Doğrusal aralığı 2,5-100 µg/kg ve Raporlama limiti 0.010 mg/kg olan çalışılan tüm pestisitlerin validasyon parametre değerleri

No	Pestisit	Geri Kazanım (%)	Tekrarüretilebilirlik (%RSD)	Belirsizlik (%)
1	Florasulam	85,52	11,04	37,90
2	Oxamyl	84,91	9,12	36,70
3	Pymetrozine	90,20	6,85	32,10
4	Clothianidin	93,95	12,36	41,02
5	Thiamethoxam	98,18	12,39	41,19
6	Tribenuron methyl	89,79	13,27	41,84
7	Oxycarboxin	103,15	9,81	32,18
8	Imidacloprid	86,48	10,64	34,02
9	Ethidimuron	92,70	8,42	33,62
10	Vamidathion	90,09	7,13	27,46
11	Methiocarb sulfone	88,82	9,19	32,46
12	Dioxacarb	93,77	11,21	33,65
13	Acetamiprid	90,48	10,26	32,93
14	Carbendazim	93,34	10,96	34,94
15	Thiabendazole	99,46	13,08	45,05
16	Thiacloprid	99,72	10,13	31,37
17	Rabenzazole	85,17	14,42	46,17
18	Tralkoxydim	95,69	16,73	46,93
19	Carbofuran	92,37	15,28	44,20
20	Ofurace	88,26	16,38	48,00
21	Propoxur	95,17	14,06	45,47
22	Bendiocarb	93,55	13,43	39,61

Çizelge 2. Doğrusal aralığı 2,5-100 µg/kg ve Raporlama limiti 0.010 mg/kg olan çalışılan tüm pestisitlerin validasyon parametre değerleri

No	Pestisit	Geri Kazanım (%)	Tekrarüretilebilirlik (%RSD)	Belirsizlik (%)
23	Carbaryl	97,33	14,82	48,47
24	Carboxin	84,30	11,18	47,84
25	Ethiofencarb	96,26	14,63	48,39
26	Desmedipham	78,45	10,06	48,95
27	Fensulfothion	90,72	13,20	43,92
28	Metobromuron	95,42	13,30	45,16
29	Pirimicarb	102,66	12,38	46,09
30	Propazine	95,91	13,20	37,21
31	Spiroxamine	88,43	15,34	45,01
32	Lenacil	88,19	15,41	45,39
33	Metazachlor	83,44	13,02	44,61
34	Metalaxyl	91,38	17,83	41,58
35	Phenmedipham	87,83	13,68	48,66
36	Azoxystrobin	86,34	13,31	44,17
37	Diethofencarb	85,37	13,86	47,85
38	Furalaxyl	97,69	16,71	47,22
39	Fenobucarb	98,59	15,49	46,18
40	Dimethenamide	99,31	15,64	40,31
41	Promecarb	97,77	16,18	48,86
42	Paclbutrazol	83,93	12,48	48,78
43	Pyrifenox	93,48	13,78	42,05
44	Fluopicolide	99,42	10,58	36,78
45	Fluquinconazole	97,35	16,08	48,31
46	Iprovalicarb	93,11	14,54	43,87
47	Terbumeton	96,30	12,57	43,30
48	Methoxyfenozide	89,05	14,45	43,67
49	Mepronil	95,25	13,73	40,93
50	Metolachlor	99,72	15,59	48,35
51	Napropamide	96,30	15,22	47,80
52	Pencyuron	96,41	14,19	41,99
53	Phoxim	93,42	17,10	48,29
54	Flusilazole	88,56	14,91	44,76
55	Buprimate	94,33	12,82	41,00
56	Isofenphos	96,47	15,69	48,37
57	Metconazole	94,58	17,07	47,71
58	Benalaxyl	93,54	15,58	46,24
59	Prochloraz	94,94	14,81	46,74
60	Dioxathion	94,48	10,71	33,39
61	Fluazifop p-butyl	100,25	13,62	39,02
62	Triflumizole	95,77	15,44	46,93
63	Pyriproxyfen	91,99	13,92	43,20
64	Flufenoxuron	86,59	14,28	47,79
65	Fenazaquin	102,96	10,74	35,39
66	Propargite	96,69	14,03	41,94
67	Etozazole	96,17	12,38	43,27
68	Fenpyroximate	91,53	11,00	34,87
69	Fenpropimorph	102,57	11,44	36,85
70	Metaflumizone	92,94	14,44	46,82

SANTE/11813/2019 dökümanına göre gerçeklik ya da doğruluk kontrolü geri kazanım değerleri üzerinden yapılmaktadır. Geri kazanım değerlerinin sonuçları %70-120 aralığında kabul görmektedir.

Validasyon/Verifikasyonu yapılan pestisitlerin hepsi için raporlama ve tayin limitleri konsantrasyonu 10 µg/kg (ppb) olarak belirlenmiştir. Doğrusallık çalışmaları neticesinde tüm pestisitler için çalışma aralığı

2,5-100 µg/kg olarak belirlenmiştir. Çalışılan tüm pestisitler için R² değerleri 0,995 ile 0,999 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım değerleri %78,45 ile %103,15 aralığında bulunmuştur.

Sonuç olarak çalışılmış olan tüm pestisitler için yapılan validasyon çalışmaları SANTE/11813/2019 dokümanında belirtilen şartları sağlamıştır. Ayrıca literatürde verilen değerlerle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Ballarda pestisit kalıntılarının analizinin

yaygınlaşması tüketicilerin güvenli gıdaya ulaşılabilirliğinin sağlanması için oldukça önemlidir. Bunun yanında analizin uluslararası metotlara göre gerçekleştirilip yapılacak olan çalışmalarla ballardaki kalıntı düzeyinin ortaya konması ve özellikle son yıllarda yaşanan büyük koloni kayıplarının nedenlerinin araştırılması konusunda gerçekleştirilecek çalışmalara sağlayacağı katkı nedeniyle sürdürülebilir arıcılık açısından da önem arz etmektedir (Anonim 2019).

4.Kaynaklar

Ali, H., Khan, E. and Ilahi, I. 2019. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 1-14.

Anonymous, 2007. AOAC Official Method, Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate, 2007.01.

Anonim, 2012, Tük Gıda Kodeksi, Bal Tebliği (2012/58). Başbakanlık Basımevi, Ankara.

Anonymous, 2017 FAOSTAT. Tonnes Tonnes. FAO, 2019 CA4657EN/1/05.19 .<http://www.fao.org/3/ca4657en/ca4657en.pdf> (Erişim Tarihi: 28.01.2021)

Anonim, 2019. Avrupa Komisyonu Sağlık ve Gıda Güvenliği Genel Müdürlüğü, Gıda ve Yemde Pestisit Kalıntıları ve Analizleri İçin Analitik Kalite Kontrol ve Metot Validasyonu Prosedürleri Rehber Dokümanı (SANTE/11813/2019), 2019.

Anonim 2021. Pestisit validasyon prosedürleri rehber dokümanı gıda ve yemde pestisit kalıntıları analizi için analitik kalite kontrol ve metot validasyonu prosedürleri. (Web page: https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Kont/Pestisit_El_Kitabi.pdf) (Erişim Tarihi: 28.01.2021).

Barganska, Z., Konieczka, P. and, Namiesnik, J., 2018. Comparison of two Methods for the Determination of Selected Pesticides in Honey and Honeybee Samples. *Molecules*, 23:2582.

Çobanoğlu, S. and Tüze, Ş. 2008. Determination of Amitraz (Varroaset) Residue in Honey by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Tarım Bilimleri Dergisi*, 14, 169-174.

Erdoğan, Ö. 2007. Levels of Selected Pesticides in Honey Samples from Kahramanmaraş, Turkey. *Food Control*, 18, 866-871.

Flores, C., Rsales, V., Ramirez, O., Loza, L. and Ugalde, J., 2017. Agricultural Pesticide Residues in Honey and Wax Combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. *Journal of Apicultural Research*, 56:667-679.

Harizanis, P.C., Alissandrakis, E., Tarantilis, P.A. and Polissiou, M., 2008. Solid-Phase Microextraction/Gas-Chromatographic/Mass Spectrometric Analysis of p -dichlorobenzene and Naphthalene in Honey. *Food Additives and Contaminants* 25:1272-1277.

Koç F., Yigit, Y., Das, Y.K., Gürel, Y. and Yaralı, C., 2008. Determination of Aldicarb, Propoxur, Carbofuran, Carbaryl and Methiocarb Residues in Honey by HPLC with Post-column Derivatization and Fluorescence Detection after Elution from a Florisil Column. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16, 39-45.

Kolankaya, D., Sorkun, K., Özkrım, A. ve Erkmen, B. 2002. Adapazarı-Karasu'da Fındık Zararlısına Karşı Kullanılan İnektisitlerin Bal Arılarına Etkisi. *Mellifera* 2, 30-31.

Kumova, U., 2001. Varroa jacobsoni Kontrolünde Ülkemizde Kullanılan Bazı İlaçların Etkinliğinin Araştırılması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 597-602.

Lehotay, S. J., Maštovská, K. and Lightfield, A. R., 2005. Use of Buffering and other means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. *Journal of AOAC Inter.* 88(2):615-629.

Lopez, M.I., Pettis, J.S., Smith, I.B. and Chu, P.S., 2008. Multiclass Determination and Confirmation of Antibiotic Residues in Honey using LC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 56:1553-1559.

Moosbeckhofer, R., Wallner, K., Pechhacker, H., Luh, M. and Womastek, R., 1995. Residue Level in Honey, Wax and Propolis After Ten Years of Varroa Treatment in Austria. *The XXXIVth International Apicultural Congress.* 15-19 August 1995. Lausanne, Switzerland.

Muku, C., Güçlü, G. ve Selli S., 2019. Doğu Akdeniz Bölgesi Ballarının Pestisit ve Naftalin Kalıntılarının LC/MS/MS ve HS-SPME GC/MS Teknikleriyle Belirlenmesi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 142-148.

Oliviera, R., Queiroz, S., Luz, C., Prto, R. and Rath, S., 2016. Bee Polen as a Bioindicator of Environmental Pesticide Contamination. *Chemosphere*, 163:525-53.

Pinho, P.P., Neves, A.A., de Queiroz, R.M.E.L. and Silvério, F.O. 2010. Optimization of the Liquid-Liquid Extraction Method and Low Temperature Purification (LLE-LTP) for Pesticide Residue Analysis in Honey Samples by Gas Chromatography. *Food Control*, 21, 1307-1311.

Polat, B. and Tiryaki, O., 2019. Determination of some Pesticide Residues in Conventional-Grown and IPM-Grown Tomato by using QuEChERS Method. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 54(2), 112-117.

Polat, B. and Tiryaki, O., 2020. Assessing Washing Methods for Reduction of Pesticide Residues in *Capia* Pepper with LC-MS/MS. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(1), 1-10.

Rissato, S.R., Galhanea, M.S, Knollb, F.R.N. and Aponc, B.M., 2004. Supercritical Fluid Extraction for Pesticide Multi-residue Analysis in Honey: Determination by Gas Chromatography with Electron-Capture and mass Spectrometry Detection. *Journal of Chromatography A*, 1048, 153-159.

Shendy, A., Ghobashy, M., Mhammed, M., Alla, S. and Ltfy, H., 2016. Simultaneous Determination of 200 Pesticide Residues in Honey using Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry in Conjunction with Stream Lined Quantification Approach. *Journal of Chromatography A*, 1427:143-160.

Sorkun, K., Yılmaz, B., Özkırım, A., Özkök, A., Gençay, Ö. ve Bölükbaşı, D.N., 2008 Yaşam için Arılar. *Türkiye Arı Yetiştiricileri Merkez Birliği*, Ankara, p. 135

Tiryaki, O. and Temur, C., 2010. The fate of pesticide in the environment. *J. Biol. Environ. Sci*, 4(10), 29-38.

Toptancı, İ. ve Bayrak, A., 2012. Turunçgil Ballarında Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Belirlenmesi Akademik Gıda, 10 (3), 22-25. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/issue/55821/764684>. (Erişim Tarihi: 28.01.2021)