



T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
ULUSAL GIDA REFERANS LABORATUVARI

EĞİTİM NOTU
PESTİSİT ANALİZLERİ

Hazırlayan:

Dr.Özge ÇETİNKAYA AÇAR

T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
ULUSAL GIDA REFERANS LABORATUVARI
KALINTI/PESTİSİT BİRİMİ

Temmuz 2015

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	1
PESTİSİT NEDİR?	2
PESTİSİT KULLANIMININ TARİHÇESİ	2
PESTİSİT KULLANIMININ YARARLARI-ZARARLARI.....	3
PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI	5
PESTİSİT FORMÜLASYONLARI.....	6
GIDALARDA PESTİSİT KALINTI ANALİZLERİNİN TARİHÇESİ	7
GIDALARDA PESTİSİT KALINTI ANALİZ METOTLARI	10
PESTİSİT ANALİZLERİNDE VALİDASYON PROSEDÜRLERİ	22
PESTİSİTLERLE İLGİLİ YASAL MEVZUAT	22
KAYNAKLAR	31

PESTİSİT NEDİR?

Gıda maddelerinin üretimi, tüketimi, depolanmaları esnasında gıdalara zarar veren mikroorganizma ve zararlıları uzaklaştırmak veya yok etmek, bunlara ilave olarak bitkilerin büyümesini düzenlemek amacıyla da kullanılabilen, gıdalara veya doğrudan insan ve hayvanlara hastalık etmeni taşıyan halk sağlığı zararlılarını kontrol etmek amacıyla kullanılan, kimyasal ya da biyolojik ürünlerin tümüne pestisit adı verilmektedir.

PESTİSİT KULLANIMININ TARİHÇESİ

İsa'dan önce 1000 yıllarında Homer kükürt fumigasyonundan söz etmektedir. Democritus bitki küfünün (blight) önlenmesi için yapraklarını zeytin ekstreleri ile yağlamıştır. (İsa'dan önce 470). İsa'dan önce 200 yıllarında Cato üzüm bağlarında kükürt dumanını kullanmıştır. Romalılar sıçan savaşı için çöplere bitkisi (Helleborus) kullanmışlardır. Plinius Historia Naturalis kitabında (İS 23-77) buğday pasının önlenmesi için tahıl tohumlarına şarap uygulanmasını önermekteydi. Çinliler ağaçları böceklerden korunmak için karıncalardan yararlanmaktaydı ve 900'lü yıllarda bahçe böcekleriyle savaşmakta arsenik kullanmaktaydılar.

Pestisit olarak kullanılan ilk maddeler arsenik ve kükürttür. Daha sonra botanik kökenli maddeler, söz gelimi nikotin kullanılmaya başlanmıştır. Halen bazı bölgelerde çok yüksek riskli nikotin balık avlamak için de kullanılmaktadır. Nikotin 16. yy'da kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra krizantemden elde edilen pyrethrum 19. yy'dan itibaren kullanılmaya başlanmıştır. Colorado patates böceğine karşı ABD de Paris yeşili gibi bakır arsenik bileşikleri kullanılmıştır. Bu kullanım 1860'lı yıllara kadar uzanmaktadır. Daha sonra civa ve kurşun metal bileşikleri de kullanıma sokulmuştur.

II. Dünya savaşına kadar kimyasal kontrolde sınırlı bir kaç madde kullanılmıştır. Bunlar büyük oranda bakır ve civa tuzları, ve kükürdün fungusit olarak kullanılması, böceklere karşı ise arsenik, siyanür gibi genel zehirlerden yararlanılması biçimindeydi. Böceklere karşı savaşta pestisitlerin yaygın kullanımı 1940'lı yılların ortalarında başlamıştır. 1939 yılında İsviçreli kimyacı Paul Mueller, diklorodifenil trikloroetan'ın yani DDT'nin pestisit özelliklerini belirledi. 1942 yılında piyasaya çıkan DDT hızla yaygın kullanıma girmiş ve aynı yıl İtalya'da askeri birliklerdeki bir tifüs salgınında DDT kullanımı salgını kısa sürede ortadan kaldırmıştır. 1940 yılında benzen heksaklorür İngiltere de ve Fransa'da insektisit olarak kabul edilmiştir.

İkinci Dünya Savaşında yeni bir sinir gazı üzerinde çalışan alman bilim adamları organik fosforlu bir insektisit olan parathion'u bulmuşlar ve parathion 1943 yılında pazara sunulmuştur. Yine fenoksi herbisitlerin (2,4-D, ve 2,4,5-T) kullanımı 1940'lı yılların başlangıcında devreye girmiştir. II. Dünya savaşında botanik kökenli pestisitlerin ülkeye sağlanması güçleştiğinde ABD'de ve diğer ülkelerde organik kimyasallara yönelinmiştir (1). İlk pestisit yasası ABD de 1947 yılında çıkartılmış ve EPA (Environmental Protection Agency) 1970 de kurulmuştur.

PESTİSİT KULLANIMININ YARARLARI-ZARARLARI

Günümüzde hızla artan dünya nüfusunun en önemli problemlerinden biri beslenme problemidir. Hızlı nüfus artışına rağmen günümüzde tarım topraklarının kısıtlı olması sonucunda, birim alandan en yüksek yerimin alınması şart olarak ortaya çıkmaktadır. Öte yandan FAO verilerine göre mevcut dünya nüfusunun %40'ı yeterli seviyede beslenememekte, bunun sonucunda da açlık ve sefaletten dolayı her yıl binlerce kişi ölmektedir. Bugün tarımsal ilaçların kullanılmaması durumunda, bazı ürünlerde ortalama % 65 civarında kayıpların meydana gelebileceği tahmin edilmektedir. Örneğin, buğday üretiminde, yabancı ot, sürme, süne, kıvılcık gibi zararlılarla zirai mücadele yapılmadığı takdirde ürün kaybının değeri trilyonlarla ifade edilmektedir. Halbuki bu kayıp birkaç milyarlık ilaçlama masrafı ile asgari düzeye indirilebilmektedir (2). Yine FAO verilerine göre, bütün dünyada ürünün %20-40 ının böceklerle bağlı olarak yitirmekte ve bunun gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek olduğunu belirtilmektedir. Kayıplar hasat, kurutma, depolama, öğütme, pişirme dahil hemen her evrede söz konusu olmaktadır. Tahıl ve taneliler için ortalama kayıp %10; kök, bitki ve sebzeler için ise %20 olarak hesaplanmaktadır (1).

Tarımsal ilaçların kullanımı bir taraftan tarımsal üretimi artırırken diğer taraftan bilinçsiz ve hatalı kullanım sonucu doğrudan ya da dolaylı yollardan insan ve çevre sağlığı problemlerini de beraberinde getirirler. Pestisitler tavsiye edilen dozların üzerinde kullanıldıklarında, gereğinden fazla sayıda ilaçlama yapıldığında, gerekmediği halde birden fazla ilaç karıştırılarak kullanıldığında veya son ilaçlama ile hasat dönemi arasında bırakılması gereken süreye riayet edilmediği durumlarda gıda maddelerinde fazla miktarda kalıntı bırakabilirler. Yüksek dozda pestisit kalıntısı içeren gıdalarla beslenen insanlarda ve çevredeki diğer canlılarda akut veya kronik zehirlenmelere neden olabildikleri gibi, özellikle bazı ürünlerde aroma ve kalite değişimleri meydana getirebilirler (2).

Bilinçsiz ve gereksiz pestisit tüketiminin neden olduğu sorunlardan biri de zararlı organizmalarda görülen duyarlılık azalışı ve takiben dayanıklılık (direnç) sorunudur. Bir pestisite karşı organizmaların duyarlılığı azaldıkça, o pestisit etkinliği de düşmektedir. Üreticiler bu durumda kullandığı pestisit dozunu yükselterek aynı başarıyı yakalamaya çalışmaktadır. Bu durumda, dayanıklılık sorunu ortaya çıkmakta, daha fazla pestisit tüketilmekte, bir yandan ekonomik açıdan maliyet artmakta, bir yandan etkisizlik nedeniyle organizmaların neden olduğu ürün ve kalite kayıpları devam etmekte ve en önemlisi de insan sağlığı ve çevre kirliliği açısından sorun daha da derinleşmektedir (1).

Pestisitlerle ilgili ilk ciddi eleştiri biyolog Rachel Carson'un 1962 yılında yayımladığı "Silent Spring-Sessiz İlkbahar" kitabıyla ortaya çıkmış ve DDT ve klorlu hidrokarbonların çevredeki dayanıklılığı, insan ve hayvanların yağ dokularında birikimi, hedef olmayan veya olmaması gereken türler üzerindeki toksik etkisi ile ekolojik ve insan sağlığıyla ilgili yıkıcı etkileri dile getirilmiştir. Carson tarafından yazılan bu kitap sınırsız pestisit kullanımına ilk kez tüm boyutlarıyla dikkatleri çekerken özellikle DDT, dieldrin ve aldrinin etkilerini vurgulamıştır(1).

Dünya Sağlık Örgütü'nün yürüttüğü ve DDT'nin kullanıldığı sıtma eradikasyon programı 1965 tarihinden başlayarak 15 milyon yaşamı kurtarmıştır. Ancak, DDT ye karşı gruplar zaman içerisinde sıtma eradikasyon programının uygulandığı bölgelerde DDT'nin etkili olmadığını, buna karşı hızla direnç geliştiğini belirlemişlerdir. Üstelik DDT'nin sivrisineklerle beslenen birçok hayvan türünün de ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. Sözelimi ölü ve ölmekte olan sivrisinekleri yiyen kertenkeleler zehirlenmekte, daha önce kertenkeleleri yakalamaları çok güç olan kedilerin bunları yemeleri sonucu ise kediler de zehirlenmekte idi. Kedilerin azalmasına bağlı olarak sıçan sayısında artım meydana gelmişti ve bu kez rodentisitlerin yaygın kullanımı gerekli olmuştu. Zehirlenen fareleri yiyen baykuşlar etkilenmesiyle birlikte sorunun boyutu giderek büyümektedir. 1960'lı yıllarda başlayan diğer bilimsel araştırmalarda DDT'nin farelerde kanserojen olduğu belirlenmiş, 1971 yılında ABD de yasaklanmıştır. 1974-1984 yılları arasında İngiltere'de gönüllü olarak terk edilmesi yoluna gidilmiş, günümüzde tümüyle yasaklanmıştır.

Bütün bunlar pestisitlerle ilgili ikilemleri çok güzel ortaya koymaktadır. Bir yandan pestisitlerin sağladığı yararları, diğer yandan zararları savunanlar kuşkusuz haklı birçok gerekçeye sahiptiler. Pestisitlerin faydaları ve zararları arasında dengenin sağlanabilmesi için bu ürünlerin izin verilen limitler dahilinde, bilinçli ve doğru kullanımı son derece önemlidir.

PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI

Pestisitler; farklı özelliklerine göre çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulurlar.

- **Etkiledikleri canlı türlerine ve kullanım alanlarına göre sınıflandırma:**

Insektisitler: Böcekleri öldürenler

Rodendisitler: Kemiricileri öldürenler

Fungusitler: Mantarları öldürenler

Bakterisitler: Bakterileri öldürenler

Mitisitler: Keneleri öldürenler

Larvasitler: Larvaları öldürenler

Nematositler: Solucanları öldürenler

Akarisitler: Örümcekleri öldürenler

Mollusitler: Salyangozları öldürenler

Herbisitler: Yabancı otları öldürenler

- **Kimyasal yapılarına göre sınıflandırma**

Pestisitler kimyasal yapılarına göre çok çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Bununla birlikte, yaygın olarak bilinen dört temel pestisit grubu vardır:

Organik klorlu pestisitler

Organik klorlular; yapılarında, karbon, hidrojen ve klor atomları ihtiva eden bir gruptur. DDT, aldrin, dieldrin, heptachlor, endosulfan, lindane, endrin bu gruba örnek verilebilir. Genel olarak gaz kromatografisi ile analiz edilirler. Çevreye verdikleri zararlar nedeniyle bu grubun üyelerinin kullanımı yasaklanmaktadır. Temas ve solunum yolu ile etkilidirler.

Organik fosforlu pestisitler

Organik fosforlular; genel olarak trister yapısında olup fosforik asit türevleridirler, etken maddelerinin yapısında fosfor atomu bulunur. Chlorpyrifos, coumaphos, diazinon, dichlorvos, malathion, trichlorfon, parathion, mevinphos bu gruba örnek verilebilir. Bu grup içerisinde yüzden fazla sayıda etken madde vardır. Triester yapıda olduklarından, ester gruplarının özelliklerine göre bu gruba dahil olan pestisitlerin kimyasal yapıları oldukça farklılıklar gösterebilmektedir. Yapılarına bağlı olarak gaz kromatografisi ya da sıvı kromatografisi ile analiz edilebilirler. Temas, sindirim ve solunum yolu ile etkilerini gösterirler. Bu grup insektisitler, ergin, larva ve nimf dönemlerini kontrol ederler. Asetilkolinesteraz inhibitörüdürler.

Karbamatlı pestisitler

Karbamatlılar; karbamik asit esterleridirler. Aldicarb, carbaryl, carbofuran, methiocarb, methomyl, oxamyl, pirimicarb bu gruba örnek verilebilir. Yapısal özelliklerinden dolayı gaz kromatografisi ile analizleri zordur, genel olarak sıvı kromatografisi ile analiz edilirler. Asetilkolinesteraz inhibitörüdürler.

Piretroit grubu pestisitler

Piretroitler; chrysanthemum çiçeklerinden elde edilen doğal bileşikler olan piretrinlerin sentetik analoglarıdır. Piretrinlere oranla ışığa karşı duyarlılıkları oldukça azaltılmış, dayanıklılıkları artırılmış bileşiklerdir. Piretrinler ve piretroitler, genellikle sinerjistik etki yaratmak üzere birlikte kullanılırlar. Alpha-cypermethrin, cyfluthrin, bifenthrin, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, permethrin, fenvalerate piretroitlere örnek verilebilir. Hem sıvı hem gaz kromatografisi ile analiz edilebilmekle birlikte, analizlerinde yaygın olarak gaz kromatografisi kullanılır. Sinir hücrelerini bloke ederek zehirlilik etkisini gösterirler. Temas ve mide zehiri etkilidirler. Sıcak kanlılara karşı toksik etkisi çok düşüktür. Memeli vücudunda birikmeden dışarı atılır. Doğada kolayca parçalanabilirler.

PESTİSİT FORMÜLASYONLARI

Pestisitler saf halde ilaç olarak kullanılmazlar. Özel karışımlar halinde belirli preparatlar formuna getirilirler ve bu preparatlar doğrudan veya çoğunlukla seyreltilerek ilaç olarak uygulanırlar. Bir kimyasal ilaç içerisinde etkin madde, dolgu maddesi ve diğer maddeler dediğimiz 3 temel kısım vardır:

Etkin madde: İlaç içerisindeki öldürücü olan ana bileşen, pestisit etki gösteren kimyasal maddedir. Uygulanacak formülasyona göre farklı oranlarda bulunurlar.

Dolgu maddesi: İlaç içerisindeki etkin maddeyi taşımak amacıyla kullanılan, herhangi bir kimyasal bileşikle tepkimeye girmeyen kısımdır.

Diğer maddeler: İlaç içerisindeki pestisit etkinliğini ve dayanıklılığını artıran, bitkilere ve çevreye olumsuz etkilerini azaltan, kullanıcılarını uyaran ve ilacın uygulanmasını kolaylaştıran katkı maddeleridir.

Bir formülasyonun Dünya Sağlık Örgütü standartlarında imal edilmesi gerekmektedir. Bunun için WHO metodlarına göre kimyasal analizleri ve fiziksel analizleri yapılır.

Pestisit formülasyonları çeşitli fiziksel formlarda hazırlanabilir: emülsiyon konsantre (EC), ıslanabilir toz (WP), su-yağ emülsiyonu (EW) vb.

Halk sağlığı amacıyla kullanılacak bir pestisitın ideal nitelikleri şoye sıralanabilir:

1. Hedef canlıya spesifik olarak toksik olmalıdır.
2. İnsanlara zarar vermemelidir.
3. Ucuz olmalıdır.
4. Kolay uygulanabilmelidir.
5. Kolayca toksik olmayan maddelere dönüşebilmelidir
6. Yanıcı olmamalıdır.
7. Korozyif olmamalıdır.
9. Patlayıcı olmamalıdır.
10. Boyayıcı etkisi olmamalıdır.

GIDALARDA PESTİSİT KALINTI ANALİZLERİNİN TARİHÇESİ

Pestisit kalıntı analizlerinin zorluğu; çok farklı fiziko-kimyasal özelliklere sahip yüzlerce aktif maddenin, farklı matrislerde, aynı anda analiz edilmesi gerekliliğinden ileri gelir. Bu sebeple; güvenilir, sağlam, hızlı, hassas ve maliyeti düşük metotların geliştirilmesi son derece önemlidir.

1960'lı yılların sonlarında gaz kromatografisi (GC) tekniğinin geliştirilmesi ve dolgulu kolonların çoklu kalıntı analizlerinde kullanılabileceğinin ortaya çıkması ile, bu teknik pestisit kalıntı analizlerinde hemen kullanım alanı bulmuştur. Daha sonraki yıllarda, yüksek ayırma gücüne sahip kapiler kolonlar ile hassas ve seçici dedektörlerin geliştirilmesi, tek bir seferde analiz edilebilen aktif madde sayısının oldukça artmasını sağlamış ve bu gelişmeler kapiler GC tekniğini pestisit kalıntı analizlerinde en sık kullanılan teknik haline getirmiştir.

Diğer taraftan, GC ile analiz edilmeye uygun yapıda olmayan; polar, uçuculuğu düşük ve/veya ısıya karşı duyarlı pestisitlerin analizlerinde yaşanan problemler; 1980'lerde uygun bir UV ya da floresans dedektörle birleştirilen ters faz sıvı kromatografisinin (RPLC) pestisit analizlerine girmesi ile birlikte aşılmış ve sıvı kromatografisi (LC), özellikle polar pestisitlerin belirlenmesinde GC'ne tamamlayıcı bir teknik olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte, zaman içerisinde hem dedektör hem de kolon materyali teknolojilerindeki gelişmeler LC analiz alanının oldukça genişlemesini sağlamıştır.

Kütle spektrometresi (MS) ile birleştirilen LC cihazları (LC/MS) zaman içerisinde pestisit analizlerinde en yaygın kullanılan analitik cihazlar haline gelmiştir. MS teknolojisindeki gelişmelerin hız kazanmasıyla, sıralı MS sistemleri (MS/MS) geliştirilmiştir. Farklı yapılardaki

pestisitlerin aynı anda analiz edilmesini sağlayan çeşitli sıralı MS sistemleri olmakla birlikte, triple quadropole (TQ) ve ion-trap sistemleri en yaygın kullanıma sahip olan sistemlerdir. Henüz pestisit analizlerinde yaygın kullanım alanı bulmasa da, TOF (Time of Flight) sistemleri sağladıkları yüksek hassasiyet ile dikkat çekmektedir.

Kromatografi ve spektrometri alanlarındaki gelişmeler, pestisit analizlerinde zaman içerisinde, aynı anda analiz edilebilecek pestisit sayısının gittikçe artmasını, farklı yapılarıdaki pestisitlerin bir arada analiz edilebilmesini ve tespit limitlerinin oldukça düşük seviyelere inmesini sağlamıştır (3).

Gıdalarda pestisit analizlerinin yıllar içerisindeki gelişimi Şekil 1’de daha detaylı verilmektedir.

Özge ÇETİNKAYA ACAR, Sevilay KIRIŞ, Fazıl DİLER
Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı, Kalıntı/Pestisit Birimi

1940'lı yıllar

İlk pestisit analizleri

Pestisit analizlerinin zorluğu, çok farklı fiziko-kimyasal özelliklere sahip yüzlerce aktif maddenin; farklı matrislerde, aynı anda analiz edilmesi gerekliliğinden ileri gelir.

İlk pestisit kalıntı analizleri kolorimetrik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Örneğin, 1944 yılında türevlendirme ile mavi renk oluşturulması ve bu mavi rengin kolorimetrik olarak belirlenmesi temeline dayandırılarak sebzelerde DDT analizi gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde farklı pestisit analizleri de yapılmıştır. Ancak bu şekilde, birden fazla pestisit analizi yapılması mümkün değildir.



İnce tabaka kromatografisi (TLC)



Gaz kromatografisi

Çoklu kalıntı analizlerine ilk geçiş 1950'li yıllarda ince tabaka kromatografisi (TLC) ile gerçekleştirilmiştir. Bu teknik ile 20 kadar pestisit bir saatten daha kısa sürede analiz edilmesi mümkün olmuştur. O yıllarda TLC tekniği pestisit analizlerinde en yaygın kullanılan teknik olmuştur. Takip eden yıllarda dolgu kolonların kullanıldığı gaz kromatografisi (GC) tekniği alternatif teknik olarak öne çıkmaya başlamış ve 1950'li yıllardan 1960'lı yılların ortasına kadar geçen zamanda çeşitli seçici dedektörlerin (alev fotometrik dedektör (FPD), azot-fosfor dedektör (NPD), elektron yakalama dedektörü (ECD), halojen spesifik dedektör (XSD)) geliştirilmesi, GC tekniğini pestisit analizlerinde en yaygın kullanılan teknik haline getirmiştir.

1950-1960'lı yıllar

Çoklu kalıntı analizlerine geçiş

1960'lı yılların ikinci yarısı-1970'li yıllar

Kapiler GC yılları

Takip eden dönemlerde, yüksek ayırma gücüne sahip kapiler kolonların geliştirilmesi GC tekniğinde devrim yaratmış ve tekniğin çoklu kalıntı analizlerindeki etkinliği ve başarısı son derece artmıştır.

	Dolgu kolon	Kapiler kolon
Uzunluk, m	0.5-5	5-100
İç çap, mm	2-4	0.1-0.7
Akış hızı, ml/dak	10-60	0.5-15
Kolon basıncı, psig	10-40	3-40
Teorik plaka sayısı	4.000	250.000
Kapasite	10 µg/pik	100 ng/pik
Film kalınlığı, µm	1-10	0.1-0.8

Bu önemli özellikleri ve hem performans hem maliyet açısından uygun olması nedeniyle kapiler GC tekniği, 1960'lı yılların sonlarında pestisit analizlerinde en etkin ve en yaygın kullanılan teknik haline gelmiştir.

Kullanılan pestisitlerin % 60'dan fazlasının yapıları itibarıyla GC ile analize uygun olması, GC tekniğini her zaman için pestisit analizlerinde vazgeçilmez kılmaktadır.



Sıvı kromatografisi



Gaz kromatografisi/ kütle spektrometresi (GC/MS)

Zaman içerisinde yeni geliştirilen ürünler ile birlikte kullanılan pestisit çeşitleri ve kullanım şekilleri farklılaşmaya başlamış ve modern pestisitler olarak adlandırılan ve daha düşük uygulama miktarları gerektiren pestisitlerin kullanımı oldukça artmıştır. Bu pestisitlerin birçoğu oldukça polar yapıda, uçuculuğu düşük ve/veya ısıya karşı duyarlı olduklarından GC ile analiz edilmeye uygun değildirler. Bu noktada, türevlendirme aşaması içeren gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) metodları bu tür pestisitlerin analizlerinde öne çıkmaya başlamıştır. GC/MS teknolojisi 1970'li yılların sonunda ticari anlamda üretilmeye başlanırsa da, pestisit analizlerinde yaygın kullanımı 1990'lı yılları bulmuştur.

Diğer taraftan, polar pestisitlerin birçoğunun herhangi bir türevlendirme yapılmadan sıvı kromatografisi (LC) ile analizinin mümkün olması, 1980'lerde UV ya da floresans dedektör ile birlikte kullanılan LC tekniğinin pestisit analizlerine girmesini ve polar pestisitlerin belirlenmesinde GC tekniğine tamamlayıcı bir teknik olarak kullanılmaya başlamasını sağlamıştır.

1980'li yıllar

LC yılları

1990'lı yıllar

MS yılları

1990'lı yıllarda kütle spektrometresi (MS) tekniğinin analizlerde kullanımının yaygınlaşması ile pestisit analizlerinde önemli gelişmeler sağlanmıştır. Etkili bir ayırma, tanımlama ve miktarsal sonuç sağlamanın yanısıra, aynı zamanda doğrulama da sağlaması MS tekniğinin kullanıma oranını oldukça artmıştır. Moleküle özgü iyonları tespit etme (SIM modu) temeline dayanarak çalışan bu teknikte, tespit limitleri 10 ppb seviyelerine kadar inmiş ve GC/MS ve LC/MS sistemleri yaygınlaşarak rutin kalıntı izleme programlarında kullanılmaya başlamıştır.



Sıvı kromatografisi/ kütle spektrometresi /kütle spektrometresi(LC/MS/MS)

MS teknolojisindeki gelişmeler sonucu sıralı MS sistemlerinin geliştirilmesi ile seçicilik ve hassasiyet daha da artırılmıştır. Moleküle özgü ana iyon ve parçalanma iyonlarını belirleme temeline dayanarak çalışan bu teknikte, tespit limitleri 1 ppb seviyelerine kadar inmiştir. LC/MS/MS tekniğinin kullanılmaya başlaması ile, daha önce rutin izleme programlarına alınamayan polar pestisitlerin birçoğunun kapsama dahil edilmesi mümkün olmuştur.

Çeşitli sıralı MS sistemleri olmakla birlikte, triple quadrupole (TQ) ve ion-trap sistemleri en yaygın kullanıma sahip olan sistemlerdir.

2000'li yıllar

Sıralı MS yılları

2003

QuEChERS

QuEChERS Metodu

- Hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam, güvenli (**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged, **S**afe) ekstraksiyon metodu olan QuEchERS pestisit analizlerinde devrim yaratmıştır.
- Steven J. Lehotay ve Michelangelo Anastassiades tarafından geliştirilmiştir.
- 2003 yılında yayınlanan orijinal metodun ardından iki farklı versiyonu daha (AOAC Official Method 2007.01 ve EN Method 15662) yayınlanmıştır.



QuEChERS ekstraksiyonu

- O zamana kadar Avrupa'da en yaygın kullanılan metoda göre:
 - % 95 solvent tasarrufu
 - % 95 sarf malzeme maliyeti tasarrufu
 - % 90 zaman tasarrufu sağlamıştır.

- Yüksek sayıda pestisit ekstraksiyonunu mümkün kılmaktadır.
- Çok farklı matrislerde kullanılabilir.
- Ekstraktların hem GC/MS/MS hem LC/MS/MS sistemlerine uygun olması nedeniyle yüksek seçicilik ve hassasiyet sağlamaktadır.
- Metodun modifikasyonlara karşı esnek ve sağlam olması farklı koşullarda uygulanabilirliğini artırmaktadır.

Günümüz

- Yeni teknolojilerin kazandırdıkları sayesinde tek bir örnekte 350-400 pestisit analizi mümkündür.
- QuEchERS metodu sayesinde ekstraksiyon ve temizleme işlemi oldukça hızlı ve az çözücü kullanarak gerçekleştirilebilmekte ve oldukça yüksek sayıda pestisit ekstraksiyonu mümkün olmaktadır.

- Tespit limitleri 1 ppb seviyelerine kadar inmiştir.
- Analiz süreleri oldukça kısalmıştır (~10-50 dak).
- Geliştirilen yeni teknoloji cihazlar artık uygun maliyetlerle üretilebildiğinden, bu cihazlar birçok laboratuvarı yer almaya başlamıştır.
- Henüz pestisit analizlerinde yaygın kullanım alanı bulmamakla birlikte, time of flight (TOF) sistemleri sağladıkları yüksek hassasiyet ile dikkat çekmektedir.

GIDALARDA PESTİSİT KALINTI ANALİZ METOTLARI

Pestisit analizleri çok farklı fiziko-kimyasal özelliklere sahip yüzlerce aktif maddenin, farklı matrislerde, aynı anda analiz edildiği tekli/çoklu kalıntı analizleridir.

Birimimiz tarafından 2010 yılında hazırlanarak UGRL Dergisi'nin birinci sayısında yayınlanan ve pestisit analizlerine ilişkin genel bilgileri içeren makale aşağıda verilmektedir (4):

Pestisit Analizlerine Genel Bakış

General Prospect To Pesticide Analysis

Dr. Özge Çetinkaya Açar*

Özge Metin

Ayşe Avcı

Fazıl Diler

Sevilay Kırış

Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı

Kalıntı Analizleri Bölümü, Pestisit Analizleri Birimi

ÖZET

Tüketici açısından neden oldukları potansiyel sağlık riskleri nedeniyle, gıda maddelerinde pestisit ve pestisit metabolitleri kalıntılarının analiz edilmesi ve miktarlarının tespit edilen maksimum kalıntı limitlerinin (MRL) altında olması oldukça önem taşımaktadır. Pestisit analizlerinde mümkün olan en çok sayıda maddeyi bir arada analiz etmek üzere çoklu kalıntı analiz metotları (MRM) geliştirilmiştir. Pestisit analizlerinde kullanılmak üzere geliştirilmiş çok farklı metotlar bulunmakla birlikte, genel olarak pestisit analiz yöntemlerinde dört temel aşama söz konusudur. Bunlardan ilk aşama örneğin hazırlanması olup, matrisin katı ya da sıvı olmasına göre örneğe çeşitli ön işlemler (parçalama, çalkalama, kanştırma vb.) uygulanır. İkinci aşama ekstraksiyon aşamasıdır ve bu aşamada pestisit kalıntılarının örnek yapısından ayrılarak toplanmasını sağlamak üzere çeşitli yöntemler uygulanır. Kullanılacak ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinde analitlerin sudaki çözünürlükleri, polariteleri, örnekteki yağ miktarı önem taşımaktadır. Ekstraksiyon aşamasını takiben, ekstrakt içerisinde kalan ve analiz sonuçlarını ve analizin yapılacağı cihazı olumsuz etkileyen büyük moleküllü bileşiklerin uzaklaştırılması amacıyla çeşitli temizleme (clean-up) yöntemleri uygulanır. Pestisit kalıntı analizlerinde en sık kullanılan yöntemler gaz kromatografisi (GC) ve sıvı kromatografisi (LC) yöntemleridir. Bunlarla birlikte, kütle spektrometresi (MS) ile birleştirilmiş gaz ya da sıvı kromatografisi cihazlarının kullanıldığı metotlar (GC/MS, GC/MS/MS, LC/MS, LC/MS/MS) yüksek hassasiyet ve seçicilikleri nedeniyle pestisit kalıntı analizlerinde en yaygın kullanılan metotlar olarak öne çıkmaktadır. Pestisit kalıntı analizlerinde en sık karşılaşılan sorun matris etkisidir. Matris etkisini ortadan kaldırmak üzere öne sürülen birçok yöntem bulunmakla birlikte, en yaygın kullanım alanı bulan yaklaşım matris ile birleştirilmiş kalibrasyon standartları kullanılmasıdır.

Anahtar kelimeler: Pestisit, MRL, pestisit analizleri, ekstraksiyon, matris etkisi

* Sorumlu yazar : acar@ugif.gov.tr



ABSTRACT

Due to the possible health risks, analysis of residues of pesticides and their metabolites in foods and ensuring their amounts to be below maximum residue limits (MRL) is very important. Multiresidue methods (MRM) were developed in order to analyze maximum amount of pesticides together. Although there are many different methods developed for pesticide analysis, generally pesticide analysis methods were composed of four main steps. The first step is sample preparation and some pretreatments (blending, stirring, mixing etc.) are applied according to the physical state of sample. Second step is extraction and some methods are used in order to extract the pesticide residues from the matrix. The solubilities and polarities of the pesticide residues and the amount of fat in the sample is important to decide the suitable extraction method. After the extraction step, various clean-up procedures are applied for separation of the impurities from the extract, in order to ensure the certainty of the results of analysis and to protect the equipment. The most common methods used in pesticide analysis are gas chromatography (GC) and liquid chromatography (LC). Additionally, the methods in which gas or liquid chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS, GC/MS/MS, LC/MS, LC/MS/MS) became the most common methods in pesticide residue analysis with their high precision and selectivity. The most common problem encountered in pesticide residue analysis is matrix effect. Despite there are many suggested methods to overcome the matrix effect, the most commonly applied method is to use matrix-matched calibration standards.

Keywords: Pesticide, MRL, pesticide analysis, extraction, matrix effect

GİRİŞ

Pestisit, zirai mücadele uygulamalarında kullanılan her türlü kimyasal maddeyi ifade etmektedir. Günümüzde pestisit ya da pestisit metaboliti (parçalanma ya da dönüşüm ürünü) olarak tanımlanmış 500'ün üzerinde madde bulunmaktadır. Pestisitler çok farklı özelliklerine göre sınıflandırmaya tabi tutulmakla birlikte, en yaygın kullanılan sınıflandırmalar, moleküler yapılarında bulunan fonksiyonel gruplara (inorganik, organik klorflular, organik fosforflular, karbamatlar, organik azotlular, organik kükürtlüler gibi) ya da hedef zararlılara (insektisitler, fungusitler, herbisitler, akarisitler gibi) göre yapılan sınıflandırmalardır.

Pestisitler, çeşitli zararlıların gelişimini engelleyerek ve hastalıkların önüne geçerek tarımsal verimliliği artırmak amacıyla tarımsal ürünlere uygulanan maddelerdir. Ancak diğer taraftan, tüketici açısından ortaya koydukları potansiyel sağlık riskleri nedeniyle kullanım miktarlarının mümkün olan en düşük seviyede tutulması ve son üründeki kalıntı miktarlarının belirli seviyelerin altında olması gerekmektedir (Araoud ve ark., 2007).

İkinci Dünya Savaşı'nın ardından ortaya çıkan gıda ihtiyacını karşılamak üzere tarımda pestisit kullanımının yaygınlaşması ile birlikte, gıda ürünleri, toprak ve suda bu kimyasalların ve metabolitlerinin kalıntılarının ortaya çıkması sorunu baş göstermiş ve bu kalıntı miktarlarının kontrolüne yönelik yasal düzenlemeler hazırlanmaya başlanmıştır (Ahmed, 2001, Krueve ve ark., 2008, SANCO, 2004). İyi tarım uygulamaları ve kabul

edilebilir günlük alım miktarı değerleri temel alınarak belirlenen en yüksek pestisit kalıntı limiti 'Maksimum Kalıntı Limiti (MRL, Maximum Residue Level)' olarak adlandırılmaktadır. Ülkemizde pestisitlerin MRL değerlerine yönelik yasal düzenlemeler, 396/2005/EC sayılı Avrupa Birliği Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü'nün ilgili hükümleri dikkate alınarak Avrupa Birliği'ne uyum çerçevesinde hazırlanan 'Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Bulunmasına İzin Verilen Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği'nde yer almaktadır.

PESTİSİT ANALİZLERİ

Pestisit analizlerinde analiz edilecek numunelerin alınma şekli, nakliyesi, işlenmesi ve depolanması analiz sonuçlarını etkilemektedir. Bu nedenle numuneler 2002/63/EC Direktifine ve 'Gıda Maddelerinde Pestisit Kalıntılarının Resmi Kontrolü İçin Numune Alma Metodları Tebliği'ne (2006/51) göre alınmalıdır. Ayrıca numunelerdeki pestisit kalıntılarının, 'Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntı Analizine Yönelik Metod Validasyonu ve Kalite Kontrol Prosedürü'ne (SANCO/10684/2009) göre analiz edilmesi gerekmektedir.

Pestisit analizleri genel olarak dört temel aşamada gerçekleştirilir: (1) Örnek (matris) hazırlama, (2) Ekstraksiyon, (3) Temizleme (clean-up) ve (4) Analiz

1.ÖRNEK HAZIRLAMA

Pestisit analizlerinde, matrisin yapısına bağlı olarak çeşitli ön işlemler uygulanmaktadır. Analiz yapılacak gıda maddesi katı madde ise (meyve sebze gibi), tüm örneği temsil edecek büyüklükte örnek tartılarak



homojenize edilir. Homojenizasyon işlemi oldukça önem taşımaktadır ve örnek yapısına bağlı olarak bir mikser, parçalayıcı, çalkalayıcı, karıştırıcı ya da sonikatör kullanılarak gerçekleştirilebilir. Isıya duyarlı pestisitlerin bozulmasını önlemek amacıyla bu aşamada kuru buz veya sıvı azot kullanılabilir. Sıvı örnekler için (süt gibi) parçalama işlemine gerek kalmamakta birlikte, mikser, çalkalayıcı, karıştırıcı kullanılarak örnek homojenliğinin sağlanması gerekmektedir.

2.EKSTRAKSİYON

Pestisit analizlerinde kullanılacak ekstraksiyon yöntemi belirleyen en önemli parametre, analitin polaritesi ve pestisitlerin sudaki çözünürlükleridir. Diğer taraftan, çalışılan matriksin yapısı, özellikle de yağ içeriği, izolasyon, temizleme ve analizde uygulanacak metotun belirlenmesi açısından son derece önem taşımaktadır. Yapısında % 2'den fazla yağ içeren örnekler yağlı örnek olarak kabul edilmektedir (Ahmed, 2001). Yağsız örnekler için ise içerdikleri su miktarı uygulanacak ekstraksiyon yönteminin belirlenmesinde önem taşımaktadır.

Çoklu kalıntı analizlerinde karşılaşılan en önemli problem, analiz edilecek maddelerin polarite aralığı genişledikçe matriksden kaynaklanan bulaşanların da artmasıdır. Tüm matriks çeşitlerinden bütün pestisitleri ekstrakte edebilecek tek bir metot bulunmamaktadır (Lehotay, 1997, Ahmed, 2001). Çoklu analizlerinde kullanılacak metotun geliştirilmesinde, mümkün olan en az matriks bulaşanına sebep olacak şekilde mümkün olan en fazla sayıda pestisit kalıntısını analiz etmeye

olanak sağlayan polarite aralığının ne olması gerektiği ve bu seçiciliğin sağlanabilmesi için geri kazanım oranlarından ne kadar fedakarlık yapılabileceği noktaları önem taşımaktadır.

Meyve ve sebzeler ile tahıl örnekleri genellikle tek bir organik bir çözücü, çözücü karışımları, su ya da pH değeri ayarlanmış su ile karıştırılarak ekstrakte edilir (Ahmed, 2001, Lehotay, 1997). En sık kullanılan organik çözücüler asetonytril, metanol, aseton ve etil asetatır. Sıvı örnekler, gerekirse su ile seyreltilerek doğrudan ekstrakte edilirler. Hayvansal kaynaklı örneklerde analiz edilecek pestisitler genellikle yağda birikirler. Bu tip örneklerin ekstraksiyonunda ilk aşama yağın matriksden uzaklaştırılmasıdır. Uzaklaştırılan yağ daha sonra uygun bir çözücüde tekrar çözündürülerek analitlerden uzaklaştırılır.

Pestisit kalıntılarının ekstraksiyonunda matriks yapısına ve analiz edilecek bileşiklere bağlı olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Soxhlet ekstraksiyonu (SOX), sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE, liquid-liquid extraction), katı faz ekstraksiyonu (SPE, solid phase extraction), katı faz mikro-ekstraksiyonu (SPME, solid phase micro-extracton), matriks-katı faz dağılımı (MSPD, matrix-solid phase dispersion), süperkritik sıvı ekstraksiyonu (SFE, supercritical fluid extraction), hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE, accelerated solvent extraction), mikrodalga ekstraksiyonu (MAE, microwave-assisted extraction) kullanılan başlıca yöntemlerdir (Tsipi ve ark., 1999, Lambropoulou ve Alba-

Tablo 1: Pestisit Kalıntı Analizlerinde kullanılan Ekstraksiyon ve Temizleme (Clean-up) Teknikleri ve Uygulandıları Temel Matriksler, Kapsamları, Avantaj ve Sınırlamaları (Ahmed,2001)

Teknik	Ekstraksiyon	Temizleme	Temel matriks, kapsam, avantaj, sınırlamalar
LLE	+	+	İşlenmiş gıdalar, sıvılar, mahsuller, bitkisel ürünler
SPE -Kartuş -GCB	+	(+)	İşlenmiş gıdalar, sıvılar, mahsuller, Emülsiyon olmaz, az miktarda organik çözücü harcanır, otomatize edilebilir
SPME	+	(+)	İşlenmiş gıdalar, sıvılar, mahsuller. Organik solvent kullanılmaza, otomatize edilebilir
MSPD	+	+	Bitkisel ürünler, işlenmiş gıdalar, sıvılar, yemler. Emülsiyon olmaz
SFE	+	+	Tahıllar, bitkisel ürünler. Ekolojik olarak toksik olmayan akışkan (CO2) kullanılır. Ekstraksiyon miktarları küçüktür, kullanımı pahalıdır.
ASE	+	(+)	İşlenmiş gıdalar, mahsuller, bitkisel ürünler. Az miktarda çözücü kullanılır, otomatize edilebilir.
MAE	+	(+)	İşlenmiş gıdalar, mahsuller, bitkisel ürünler
GPC	(+)	+	Fazla miktarda yağ içeren matrikslerde uygundur. Otomatize edilebilir.

+ = Ana etki (+) = İkincil etki



nis, 2007, Barriada-Pereira ve ark., 2003, Adou ve ark., 2001, Beyer ve Biziuk, 2008, Ahmed, 2001).

Pestisit kalıntı analizlerinde kullanılan ekstraksiyon ve temizleme (clean-up) teknikleri ve uygulandıkları temel matrisler, kapsamı, avantaj ve sınırlamaları Tablo 1'de verilmektedir.

3. TEMİZLEME (CLEAN-UP)

Hangi ekstraksiyon yöntemi kullanılırsa kullanılsın örnek ekstraktı içerisinde lipidler, proteinler, karbonhidratlar, pigmentler gibi yüksek molekül ağırlıklı bileşikler kalmaktadır ve hem doğru analiz yapılabilmesi ve düşük tespit limitlerine ulaşılabilmesi, hem de analiz yapılan cihazın korunmasının sağlanması için bu bileşiklerin ortamdan uzaklaştırılması gerekir (Ahmed, 2001, Beyer ve Biziuk, 2008). Bu amaçla ekstraksiyon sonrasında ekstraktın saflaştırılması amacıyla temizleme (clean-up) işlemleri uygulanır. En sık kullanılan temizleme yöntemleri sabunlaştırma, jel kromatografi (GPC, gel-permeation chromatography), adsorpsiyon kromatografisi (aluminyum, silikajel ya da florosil), sıvı-sıvı ayırması (LLE, liquid-liquid partitioning), asit uygulaması, buhar destilasyonu ya da düşük sıcaklıkta çöktürmedir ve bu yöntemler tek başına ya da bir arada kullanılabilir (Ahmed, 2001, Araoud ve ark., 2007, Beyer ve Biziuk, 2008).

4. ANALİZ

Pestisit analizlerinde zaman, kimyasal ve sarf malzeme ve masrafların azaltılması açısından mümkün olan en çok sayıda maddeyi bir arada analiz etmek önem taşımaktadır. Bu amaca yönelik olarak çoklu kalıntı analiz metodları (MRM, Multiresidue Methods) geliştirilmektedir (Lehotay, 1997). Analiz edilen maddelerin polarite, çözünürlük, uçuculuk gibi özelliklerinin farklı olması nedeniyle bir arada ekstrakte ve analiz edilmeleri zor olduğundan çoklu kalıntı analiz metodlarının geliştirilmesi oldukça zordur (Araoud ve ark., 2007).

Pestisit kalıntı analizlerinde kullanılmak üzere çok sayıda analitik metod geliştirilmiştir. Pestisit kalıntı analizleri, elektron yakalama dedektörü ((ECD, electron-capture dedector), azot-fosfor dedektörü (NPD, nitrogen-phosphorus dedector), alev fotometrik dedektör (FPD, flame photometric detector) gibi farklı dedektörler içeren gaz kromatografisi (GC, gas chromatography) ve diyot dizini dedektör (DAD, diode array dedector), floresans dedektör (FD, fluorescence dedector) gibi dedektörler içeren sıvı kromatografisi (LC, liquid chromatography) cihazları ile gerçekleştirilebilmektedir (Lopez ve ark., 1998, Dömötörova ve Matisova, 2008, Adou ve ark., 2001). Bunların dışında, kütle spektrometresi (MS, mass spectrometry) ile birleştiril-

miş gaz ya da sıvı kromatografisi cihazlarının kullanıldığı metodlar (GC/MS, GC/MS/MS, LC/MS, LC/MS/MS), yüksek hassasiyet ve seçicilikleri nedeniyle pestisit kalıntı analizlerinde en yaygın kullanılan metodlar olarak öne çıkmaktadır (MartinezVidal, 2002, Huskova ve ark., 2009, Zrostikova ve ark., 2003). Uçucu olmayan ve ısıya duyarlı pestisitlerin GC ile analizleri zor olduğundan, bu tip pestisit kalıntılarının analizinde LC kullanılmaktadır (Kruve ve ark., 2008, Araoud ve ark., 2009).

Gıda maddelerinde çoklu pestisit kalıntı analizlerinde en sık karşılaşılan problem matris etkisidir (Schenck ve Lehotay., 2000, Kruve ve ark., 2008, Tiryaki, 2009). Matris etkisi, gıda maddesinin yapısından kaynaklanan bileşikler nedeniyle analiz edilen pestisit kalıntılarında ait sinyallerde değişim meydana gelmesidir. Matris etkisinin gerçek mekanizması bilinmemekle birlikte, uçucu olmayan bileşenlerden ya da yüksek yüzey aktivitesine sahip bileşiklerden ileri geldiği ortaya konmuştur. Matris etkisi ayrıca analiz edilen bileşiğin kimyasal yapısı ile de yakından ilgilidir. Polar bileşiklerin iyonlaşma verimlerinin, daha az polar bileşiklere oranla matristen kaynaklanan bileşiklerden daha fazla etkilendiği belirlenmiştir (Kruve ve ark., 2008). Bununla birlikte, kullanılan iyonlaşma kaynağı (APCI, Atmospheric Pressure Chemical Ionization ya da ESI, Electrospray Ionization), iyonlaşma modu ya da akış hızı gibi analiz parametrelerinin de matris etkisinin derecesini etkilediği bilinmektedir. Matristen ileri gelen bileşiklerden kaynaklanan girişim genellikle analiz edilen bileşiklere ait piklerin şeklinin bozulmasına sebep olur. Matris etkisinin söz konusu olup olmadığı, çözücü içerisindeki analitin piki ile aynı miktar analitin örnek ekstraktı içinde elde edilen piki karşılaştırılması ile tespit edilebilir (Tiryaki, 2009).

Matris etkisinin dikkate alınmasını sağlamak üzere benimsenen bazı yaklaşımlar vardır. Bu amaçla önerilen yaklaşımlardan biri standart ekleme metodudur; ancak bu yöntem enjeksiyon sayısının artırılmasını gerekli kılmaktadır. Matris etkisi genellikle bileşik yapısına bağlı olduğundan, çoklu pestisit analizlerinde iç standart kullanımı yaygın değildir. Bu amaçla kullanılacak ideal bir iç standart izotopik olarak işaretlenmiş standart olabilir ancak bu tip standartlar mevcut değildir ya da son derece pahalıdır (Kruve ve ark., 2008, Kirchner ve ark., 2008). Bununla birlikte, izotopik olarak işaretlenmiş standartların da matris etkisine sebep olabileceği bildirilmiştir (Liang et al., 2003). Matris etkisini ortadan kaldırmak üzere SANCO tarafından önerilen yöntem, matris ile birleştirilmiş kalibrasyon stan-



dartları kullanılmasıdır. Muhtemel tüm matrisler için ayrı ayrı standart çözeltilerin hazırlanması gerçekçi bir yaklaşım olmadığından, bir grup matrisi temsil edecek matrisler kullanılmaktadır. Tüm bu yaklaşımlar, matris etkisinin ortadan kaldırılmasını değil hesaba katılmasını sağlamaktadır. Matris etkisini en aza indirmenin yolu örnek hazırlama tekniklerinin modifiye edilmesi ya da kromatografik analiz koşullarının değiştirilmesi ile mümkün olabilmektedir (Kruve ve ark., 2008).

Kruve ve ark. (2008), en düşük matris etkisi ve en yüksek geri kazanım değerlerini veren metodu belirlemek üzere, çeşitli meyve ve sebze örneklerinde üç farklı metotla (Luke metodu (AOAC 985.22), QuEChERS metodu (AOAC 2007.01) ve matris-katı faz dağılım metodu (MSPD, Matrix Solid Phase Dispersion)) 14 adet pestisit kalıntısını LC/MS de analiz etmişlerdir. Genel olarak Luke ve QuEChERS metotları tüm sonuçlarda iyi ve yeterli bulunmuştur. En düşük matris etkisine sebep olan metot Luke metodu olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, QuEChERS metodunda geri kazanım değerleri oldukça yüksek olduğundan tercih edilmektedir. MSPD metodunda ise matris etkisi düşük fakat geri kazanım değerleri kabul edilemez düzeyde düşük olarak tespit edilmiştir. Çalışmada metot validasyonunda matris etkisi ve geri kazanım değerlerinin birlikte değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır (Kruve ve ark., 2008).

SONUÇ

Zirai mücadele uygulamalarında kullanılan ve potansiyel sağlık riskleri taşıması nedeniyle gıda maddelerindeki kalıntı miktarlarının belirlenen Maksimum Kalıntı Limitlerinin (MRL) altında olması gereken pestisitlerin analizlerinde, matrisin yapısına ve analiz edilecek pestisitlerin polaritesi ve sudaki çözünürlüklerine bağlı olarak çok çeşitli metotlar kullanılabilir. Bu metotlarda uygulanan işlemler, genel olarak örnek (matris) hazırlama, ekstraksiyon, temizleme (clean-up) ve analiz aşamalarından oluşmaktadır. Pestisit kalıntı analizlerinde en önemli nokta, analiz edilecek matris ve pestisit çeşidine göre uygulanabilecek en uygun metodu seçilmesidir.

KAYNAKLAR

- Adou K., Bontoyan W.R., Sweeney P.J. 2001. Multiresidue method for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by accelerated solvent extraction and capillary gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (9): 4153-4160.
- Ahmed F.E. 2001. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. *Trends In Analytical Chemistry*, 20(11): 649-660.

Araoud M., Douki W., Rhim A., Najjar M. F., 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(2): 179-187.

Barriada-Pereira M., Concha-Grana E., Gonzalez-Castro M.J., Muniategui-Lorenzo S., Lopez-Mahia P., Prada-Rodriguez D., Fernandez-Fernandez E. 2003. Microwave-assisted extraction versus Soxhlet extraction in the analysis of 21 organochlorine pesticides in plants. *Journal of Chromatography A*, 1008: 115-122.

Beyer A., Biziuk M. 2008. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. *Food Chemistry*, 108: 669-680.

Dömötörova M., Matisova, E. 2008. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis. *Journal of Chromatography A*, 1207: 1-16.

Huskova R., Matisova E., Hrouzkova S., Svorc L. 2009. Analysis of pesticide residues by fast gas chromatography in combination with negative chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216: 6326-6334.

Kirchner M., et al., 2008. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis using analyte protectants. *Journal of Chromatography A*, 1186: 271-280.

Kruve A., Künnapas A., Herodes K., Leito I. 2008. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1187: 58-66.

Lambropoulou D.A., Albanis T.A. 2007. Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70: 195-228.

Lehotay S.J. 1997. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods. *Journal of Chromatography A*, 785: 289-312.

Liang H.R., Foltz R.L., Meng M., Benneth P. 2003. Ionization enhancement in atmospheric pressure chemical ionization and suppression in electrospray ionization between target drugs and stable-isotope-labeled internal standards in quantitative liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 17(24): 2815-2821.

Lopez F.J., Beltran, J., Forcada, M., Hernandez, F. 1998. Comparison of simplified methods for pesticide residue analysis Use of large-volume injection in capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 823: 25-33.

MartinezVidal J.L., Arrebola, F.J., Mateu-Sanchez M. 2002. Application to routine analysis of a method to determine multiclass pesticide residues in fresh vegetables by gas chromatography/ tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16: 1106-1115.

SANCO. 2004. SANCO/825/00 rev.7, 17/03/2004. Guidance document on residue analytical methods.

Tinya O. 2009. Pestisit kalıntı analizlerinde örnek matrisi sorunu ve çözüm yolları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 25 (1-2): 456-478.

Tsipi D., Triantafyllou M., Hiskia A. 1999. Determination of organochlorine pesticide in honey, applying solid phase extraction with RP-C18 material. *Analyst*, 124: 473-475.

Zrostikova J., Hajsova J., Kovalczuk T., Stepan R. Poustka J. 2003. Determination of seventeen polar/thermolabile pesticides in apples and apricots by liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 86: 612-22.

- **QuEChERS Metodu**

Pestisit analizlerinde en yaygın kullanıma sahip olan ekstraksiyon metodu “QuEChERS” (**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged, **S**afe) metodudur.

Orijinal metot 2003 yılında Anastassiades ve ark. tarafından yayınlanmış ve meyve ve sebzelerde farklı yapıdaki yüksek sayıda pestisit farklı matrislerde analiz edilmelerine olanak sağlayan hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli ekstraksiyon metodu olarak tanımlanmıştır (5). Metodun oldukça geniş bir analitik kapsama sahip olması ve hem GC, hem LC’de analiz edilmeye uygun bir ekstraksiyon metodu olması; GC/MS ve GC/MS(/MS) tekniklerinin sağladığı seçicilik ve hassasiyet avantajları ile birleşince, QuEChERS metodu pestisit analizleri yapan dünya çapındaki birçok laboratuvar tarafından kabul görüp uygulanmaya başlanmıştır.

Orijinal QuEChERS metodu ile sınırlı sayıda GC uyumlu pestisit analiz edilebilmesine rağmen metodun bu orijinal versiyonu düzinelerce farklı ürün grubunda yüzlerce pestisit analizinde kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda, yapılan ileri çalışmalarda metodun bu versiyonunda bazı pestisitlerin daha düşük stabilite gösterdiği ve/veya geri kazanım verimlerinin pH’ya bağımlı olduğu ortaya konmuştur. QuEChERS yaklaşımını ortaya koyan ekip tarafından, ekstraksiyon sırasında pH’nın 3-5 seviyelerinde tutulmasının, pH’ya duyarlı bazı pestisitler için (örn: pymetrozine, imazalil, thiabendazole) matris yapısından bağımsız olarak kabul edilebilir geri kazanım (> % 70) elde edilebilmesi için en uygun dengeyi sağladığı ortaya konmuştur. Bu noktada, orijinal metodu ortaya koyan ekibin iki üyesi, Anastassiades ve Lehotay, farklı modifikasyonlar üzerinde çalışmaya yönelmişler ve Lehotay ve ark. nispeten kuvvetli asetat tamponlama koşulları kullanarak metodu modifiye ederken (6); Anastassiades ve ark. daha zayıf sitrat tamponlama koşullarını tercih etmişlerdir (7). Metodun bu her iki versiyonu da oldukça fazla sayıda laboratuvar çalışmasında kullanılmış, farklı matrislerde, farklı miktarlarda zenginleştirme yapılmış yüzlerce pestisit üzerinde ve GC-MS ve LC-MS/MS sistemlerinde sayısız çalışma yapılmış ve her iki versiyon da metodların kabul edilebilirliği için bağımsız bilimsel standard kuruluşları tarafından ortaya konan istatistiksel kriterleri başarıyla yerine getirmiştir.

Sonuç olarak Lehotay ve ark. ortaya koyduğu asetat tamponlama versiyonu “AOAC Official Method 2007.01”; Anastassiades ve ark. ortaya koyduğu sitrat tamponlama versiyonu ise

“European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662” olarak kabul edilmiştir. Şekil 2’de metodun tüm versiyonları bir arada gösterilmektedir. Bu her iki versiyon da günümüzde rutin çoklu pestisit analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2 . QuEChERS Metodunun versiyonları

QuEChERS yaklaşımı oldukça esnek bir yaklaşımdır ve laboratuvar koşullarında mevcut analitik teknik ve cihaz, üzerinde çalışılan analitin özellikleri, matriks yapısı gibi faktörlere göre üzerinde modifikasyonlar yapılabilmektedir.



METHOD VALIDATION AND MEASUREMENT UNCERTAINTY ESTIMATION OF PESTICIDE RESIDUES IN TOMATOES USING QuEChERS EXTRACTION METHOD BY GC-MS/MS

KIRIS S., ACAR O.C., DILER F.

National Food Reference Laboratory, Department of Pesticide Analysis, Ankara, Turkey, phone:+90 312 3274181, email:ugrl@ugrl.gov.tr



INTRODUCTION

In this study, a multiresidue method for the determination of 112 pesticides in tomatoes by GC-MS/MS was validated according to SANCO/12495/2011 document at two concentration levels of 10 and 50 ng/g. The validation of the analytical method was performed by the following parameters: linearity, accuracy (trueness and precision), limit of quantification. All analyses were carried out using the same blank sample of tomatoes. The buffered method of QuEChERS (AOAC 2007.01) was used for pesticide extraction.

ANALYTICAL PROCEDURE

Weigh 15 g homogenised sample into 50 ml centrifuge tube
Add 15 ml 1% Hac in MeCN
Shake vigorously
Add 6 g MgSO ₄ and 1.5 g NaAC
Shake vigorously
Centrifuge at 3000 rpm for 5 min
Take 2 ml aliquot into 15 ml centrifuge tube containing 300 mg MgSO ₄ +100 mg PSA
Vortex for 30 sec
Centrifuge at 3000 rpm for 5 min
Filter through 0.45µm filter to GC vial
GC-MS/MS

INSTRUMENTAL CONDITIONS

GC-MS/MS Agilent 7000B	
Column	HP 5MS UI (30mx250µmx0.25µm)
Injection Mode	Pulsed Splitless
Injection Temperature	70°C for 0.01 min
Program	then 700°C/min to 280°C for 0 min
Injection Volume	2 µl
Oven Program	70°C for 2 min then 40°C/min to 150°C for 0 min then 9°C/min to 200°C for 0 min then 24°C/min to 280°C for 10 min
Run time	22.889 min
Post Run	5 min (300°C)
Carrier Gas	Helium
Ionization Mode	EI+
Source Temperature	300°C
Transfer Line Temp.	280°C
Quad. 1 Temperature	150°C
Quad. 2 Temperature	150°C
He Quench Gas	2.25 mL/min
N ₂ Collision Gas	1.5 mL/min



GC-MS/MS (Agilent 7000B)

RESULT AND DISCUSSION

LINEARITY : Linearity was determined by matrix matched calibration within the range of 5-200 ng/g. Three injections were made at each of the 6 concentration levels. Almost all pesticides had good linearity ($R^2 \geq 0.99$), with residuals below 20%.

LOQ : The validated level of 10 ng/g was accepted as the LOQ, since it was the lowest validated spike level meeting the method performance acceptability criteria (mean recoveries in the range 70-120%, with an RSDr \leq 20%).

TRUENESS : Recovery studies were performed at two concentration levels of 10 and 50 ng/g by three analyst and each with five replicates. All recovery values were in range 70-120%.

PRECISION : The precision of the method was evaluated in terms of repeatability and within-laboratory reproducibility. Recovery studies were performed at two concentration levels of 10 and 50 ng/g during a period of two months with three analysts. Relative standard deviations (RSDr and RSDwR) lower than 20% for all pesticides. RSDr varied from 3.35% (flucythrinate) to 9.87% (endosulfan_alpha); RSDwR varied from 8,32% (endosulfan sulfate) to 17.24% (coumaphos).

MEASUREMENT UNCERTAINTY : The measurement uncertainty expressed as expanded uncertainty and a coverage factor of 2 was applied to calculate the expanded uncertainty at a confidence level of 95%. The expanded uncertainty results for all pesticides within the scope were below 50%; varying between 22.51% (bromuconazole) and 43.96% (ofurace).

References

AOAC Official Method 2007.01. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate. SANCO/12495/2011. Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed.

VALIDATION PARAMETERS AND MEASUREMENT UNCERTAINTY

Pesticides	Recovery (%)	RSDr (%)	RSDwR (%)	Measurement Uncertainty (%)
Acetochlor	86,87	7,79	11,74	30,14
Acrinathrin	100,26	9,01	12,91	35,29
Aldrin	90,20	4,76	14,03	30,76
Bifentanol	91,55	4,45	9,02	23,43
Bromfenvinphos	85,16	8,48	14,69	37,99
Bromophos	95,33	7,46	12,67	31,43
Bromophos-ethyl	93,64	7,12	11,45	28,80
Bromopropylate	96,70	7,21	10,14	30,64
Bromuconazole	105,17	4,30	9,07	22,51
Butylate	90,57	4,18	12,88	28,55
Cadusafos	98,80	6,65	13,47	31,22
Chlorpyrifos	85,53	9,28	14,74	36,41
Chlorbentionat	88,74	5,56	12,62	30,68
Chlorbufam	85,26	5,05	13,73	30,38
Chlordane_cis	100,52	5,68	10,69	25,92
Chlordane_trans	96,42	6,73	9,92	25,40
Chlorfenapyr	96,17	8,91	11,53	31,27
Chlorfenprop-methyl	87,21	4,91	15,93	34,37
Chlorfensfen	98,34	6,09	13,76	31,28
Chlorpyrifos	85,53	7,16	11,67	28,95
Chlorothal-dimethyl	93,39	6,79	11,91	28,22
Cinidion-ethyl	91,34	6,08	13,64	32,58
Coumaphos	93,64	9,47	17,24	40,83
Cyanofenphos	96,93	6,52	11,85	29,14
Cyhalothrin_lamda	97,25	8,72	11,79	30,45
Cypermethrin	93,72	4,37	15,63	34,47
DDD_o,p'	94,11	5,61	8,96	22,55
DDD_p,p'	103,21	5,06	10,73	25,37
DDE_o,p'	95,15	5,63	11,96	27,47
DDE_p,p'	94,84	5,67	10,08	25,58
DDT_o,p'	108,53	5,14	13,20	30,17
DDT_p,p'	105,25	5,26	13,41	30,88
Demeton_S	101,78	5,56	14,35	32,46
Demeton_S-methyl	86,77	6,48	13,78	31,55
Dichlorobenzophenone_p,p'	84,89	6,02	13,29	31,50
Diclofop-methyl	98,06	7,29	11,94	29,37
Dieldrin	97,51	7,63	12,64	30,33
Diniconazole	98,47	6,75	13,49	33,08
Dioxabenzofos	87,97	5,93	14,06	31,17
Diphenylamine	81,16	3,62	14,19	30,02
Disulfoton	90,45	6,18	11,04	26,26
Disulfoton sulfone	91,81	6,73	14,42	33,41
Ditalimfos	93,89	7,03	14,03	32,05
Endosulfan_alpha	93,39	9,87	11,15	31,05
Endosulfan_beta	99,85	7,37	10,95	27,88
Endosulfan-sulfate	98,40	7,80	8,32	23,85
Endrin	104,04	6,47	11,22	27,28
Endrin ketone	102,05	7,65	11,68	30,87
EPTC	88,63	4,05	10,50	23,43
Etaconazole	98,74	5,81	12,32	29,42
Ethoprophos	95,09	6,84	11,94	29,05
Etoxazole	98,46	7,24	9,99	26,18
Fenamiphos	96,38	6,20	13,52	33,10
Fenarimol	102,82	5,49	10,89	25,14
Fenchlorphos	88,82	7,88	12,45	30,23
Fenpropathrin	101,06	5,77	10,30	26,75
Fenson	96,08	5,92	11,77	27,34
Fenthion	93,79	8,27	11,34	29,06
Flamprop-methyl	96,89	6,71	9,91	25,74
Flucythrinate	90,31	3,35	11,17	25,34
Flusilazole	99,12	6,25	11,47	30,49
HCH_alpha	85,96	4,94	11,40	25,07
HCH_beta	95,39	5,55	11,94	27,40
HCH_delta	98,90	7,70	13,52	32,82
Heptachlor	103,33	7,05	11,97	28,83
Heptachlor endo-epoxide (iso. A)	98,90	6,85	11,61	28,13
Heptachlor exo-epoxide (iso. B)	95,90	6,41	12,97	29,90
Heptenophos	81,41	9,66	14,54	35,52
Hexachlorobenzene	82,58	4,21	10,73	24,37
Hexaconazole	94,77	7,13	12,55	30,52
Iprofenfos	86,13	7,74	14,51	34,11
Isodrin	91,64	5,70	9,05	23,02
Isofenphos	92,36	6,77	8,71	23,36
Kresoxim-methyl	94,59	7,23	11,06	28,01
Lindane (HCH_gamma)	94,94	6,91	9,90	24,72
Mefenpyr-diethyl	102,18	6,60	9,98	26,72
Mepaniprim	90,62	6,55	13,34	30,30
Mirex	94,84	6,74	10,05	26,64
Nuarmol	98,59	5,74	9,92	25,72
Ofurace	98,79	8,76	15,75	43,96
Oxyfluorfen	91,88	5,04	14,73	32,80
Parathion-ethyl	84,26	7,32	13,53	33,62
Parathion-methyl	82,30	7,32	14,73	34,02
Pentachloroaniline	94,02	6,61	10,28	25,65
Pentanochlor	91,04	6,63	12,28	29,22
Pethoxamid	102,36	5,65	13,51	30,04
Phenthoate	89,60	9,29	12,56	32,07
Phthalimide (felpet)	78,18	4,38	16,64	34,66
Piperonyl butoxide	88,67	6,84	11,86	29,08
Procymidone	94,98	5,92	11,90	27,38
Propanil	79,81	5,26	11,52	26,66
Propargite	103,64	6,51	12,84	31,25
Prothiofos	99,60	6,57	11,03	27,68
Pyrimethanil	87,42	7,64	12,58	30,84
Quinalphos	99,13	7,24	12,58	30,03
Quinoxifen	82,09	6,08	13,94	31,80
Quintozene	77,23	6,50	15,32	34,56
Resmethrine	100,06	6,71	11,34	27,94
Sulprofos	98,66	6,97	11,60	27,81
Tebufenpyrad	98,00	6,09	11,03	27,14
Tecnazene	75,80	4,66	16,00	33,60
Tefluthrin_cis	88,93	5,24	11,17	26,40
Terbufos	98,88	7,46	10,30	26,24
Tetraconazole	96,01	6,05	8,82	23,63
Tetradifon	96,97	6,37	12,70	29,94
Tetramethrin	105,37	6,17	12,37	29,10
Tetrasul	88,77	5,92	12,68	29,20
Thiobencarb	85,30	5,76	13,36	29,82
Thiometon	86,02	6,37	12,65	28,75
Tolclofos-methyl	89,05	7,05	11,76	28,09
Trifluralin	82,91	7,24	16,17	36,51
Vinclozolin	91,62	5,74	10,33	24,43

- **HS-GC/MS ile Balda Naftalin Analizi**

**HEADSPACE-GAZ KROMATOĞRAFİSİ/KÜTLE SPEKTROMETRİSİ
(HS-GC/MS) YÖNTEMİ İLE BALDA NAFTALİN ANALİZİ – METOT
OPTİMİZASYONU VE VALİDASYONU**

Özge Çetinkaya Açar^{*a}, Sevilay Kırış^{*}, Fazıl Diler^{*}, Ayşe Avcı^{*}

Bu çalışmada bal örneklerinde naftalin analizinde uygulanmak üzere HS-GC/MS metodu geliştirilerek validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Öne sürülen HS-GC/MS metodunun hassasiyeti oldukça yüksek bulunmuştur. Metot 2-100 ng g⁻¹ aralığında doğrusaldır (r=0.9996). Tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) sırasıyla 0.4 ve 2 ng g⁻¹ olarak saptanmıştır. Doğruluk; hem aynı gün hem de farklı günlerde yapılan denemelerde elde edilen ortalama geri alma (% R) verileri kullanılarak değerlendirilmiş ve tüm değerler % 100.8 ve %119.5 arasında bulunmuştur. Kesinlik, tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik olarak, yüzde relatif standart sapma (% RSD) verileri ile ifade edilmiş ve tüm değerler % 4.9'un altında bulunmuştur.

Metodun uygulanabilirliğinin analiz edilmesi amacıyla ülkenin farklı yerlerinden toplanmış, farklı bitkisel kaynağa sahip 22 bal örneği analiz edilmiştir. Sonuçlar, metodun balda naftalin analizinde başarıyla uygulanabileceğini göstermiştir. Örneklerden sadece bir tanesinde maksimum kalıntı limiti (MRL) olan 10 ng g⁻¹ değerinin üzerinde naftalin tespit edilmiştir. Analiz sonuçları balda naftalin kalıntısı probleminin Türkiye'de artık önemli bir problem olmaktan çıktığını göstermektedir.

Öne sürülen HS-GC/MS metodunun, birçok laboratuvarında bulunan headspace cihazı ile kombine edilmiş gaz kromatografisi/ kütle spektrometrisi dışında herhangi bir özel cihaz gerektirmemesi ve karmaşık örnek hazırlama prosedürleri içermemesi, metodu özellikle rutin analiz yapan laboratuvarlar için oldukça pratik kılmaktadır. Metodun ayrıca farklı gıda örneklerinde farklı uçucu kalıntıların analizinde de kullanılma potansiyeli yüksektir.

* Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı, Kalıntı Bölümü, Pestisit Birimi
FSM Bulvarı Tarım Kampüsü No:70 Yenimahalle/Ankara
^a Dr.Özge Çetinkaya Açar e-mail:oacar@ugrl.gov.tr

BALMUMU VE TEMEL PETEKTE PESTİSİT KALINTILARI VE ANALİZ YÖNTEMLERİ

Özge Çetinkaya Açar^a, Sevilay Kırış^{*}, Fazıl Diler^{*}, Ayşe Avcı^{*}

Bu çalışmada balmumu ve temel petek örneklerinde rastlanan pestisit kalıntıları ve bunların analizlerinde kullanılan yöntemler değerlendirilmektedir.

Bal mumu genç işçi arıların karın halkalarındaki mum salgı bezleri tarafından salgılanan bir arı ürünüdür. Temel petek ise, saf balmumundan özel makineler ile üretilen ve yüzeyinde işçi arı gözü altıgenler bulunan standart levhadır. Balmumu ve temel petekte pestisit kalıntıları iki kaynaktan ileri gelmektedir. Birincisi ve en önemlisi, doğrudan arı kovanlarına uygulanan ve özellikle *Varroa destructor* adı verilen arı akarının yol açtığı hastalığa karşı kullanılan akarisit etkili tarım ilaçları ile *Galleria mellonella* adı verilen balmumu güvesine karşı kullanılan insektisit etkili tarım ilaçları; ikincisi ise, tarımsal alanlarda uygulanan pestisitlerin arılar ya da çevresel faktörler vasıtasıyla taşınması ya da kullanılan endüstriyel kimyasalların neden olduğu çevre kirliliğinin arı kovanlarını etkilemesi ile ortaya çıkan dolaylı yolla bulaşır. Kalıntı içeren temel petek, başta bal olmak üzere tüm arıcılık ürünleri için önemli bir bulaş kaynağıdır. Temel petek üretiminde toplanan balmumlarının eritilip preslenerek yeniden kullanılması ile bu kalıntıların yeni peteklere de taşınması, bu ürünlerde pestisit kalıntısı takibini zorunlu kılmaktadır.

Balmumu; hidrokarbonlar, serbest yağ asitleri, monoesterler, diesterler, triesterler, hidroksi monoesterler, hidroksil poliestерler, yağ asidi poliestерleri ve daha birçok tanımlanamayan bileşik içeren oldukça karmaşık yapıya sahiptir. Bu nedenle de analizi oldukça zordur. Genel olarak ekstraksiyon aşamasını takiben uygulanan temizleme (clean-up) işleminin ardından kromatografik yöntemlerle analiz edilirler. Ekstraksiyon aşamasında farklı çözücüler (hekzan, metanol, etanol, asetonitril vb. veya bunların karışımları) kullanılmakla birlikte, ekstraktın birkaç defa dondurulup santrifüjlenmesi ile yapıdaki büyük moleküllü bileşiklerin uzaklaştırılması en çok kabul gören uygulamadır. Ekstraksiyonu takiben farklı kolonlar kullanılarak katı faz ekstraksiyonu ile temizleme ve saflaştırma gerçekleştirilmektedir. C-18 ve florisil kolonlar en çok tercih edilenlerdir. Bunun dışında buhar destilasyonu ya da Purge&Trap sistemlerinin kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur. Ekstraksiyon ve saflaştırmanın ardından kromatografik yöntemlerle analiz yapılmaktadır. Sıvı kromatografisinin kullanıldığı az sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte analizlerde kullanılan temel yöntem elektron yakalama dedektörünün kullanıldığı gaz kromatografisi yöntemidir (GC-ECD). Bunun dışında gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC/MS) yöntemi de sıklıkla kullanılmaktadır.

^a Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı, Kalıntı Bölümü, Pestisit Birimi

FSM Bulvarı Tarım Kampüsü No:70 Yenimahalle/Ankara

^{*} Dr.Özge Çetinkaya Açar e-mail:oacar@ugr1.gov.tr

BALDA NAFTALİN KALINTISI VARIĞI

Balda naftalin kalıntısı varlığının en önemli sebebi, arıcılardan balımların "balımlama güveni"ne (Güvenli meşoneli) karşı korumak üzere naftalin kullanılmasıdır. Temel petek üretiminde eski balımların eritilerek yeniden kullanılıyor olması, naftalin kalıntısının temel petek aracıları ile bile taşınmasına sebep olmaktadır. Naftalinin sağlık üzerine olumsuz etkileri göz önüne alındığında, kullanımının sınırlandırılması gerekmektedir.

BALDA NAFTALİN KALINTISINA İLİŞKİN YASAL DÜZENLEMELER

Naftalin için herhangi bir Maksimum Kalıntı Limiti (MRL) tanımlanmamıştır. Ancak, 356/2005/EC nolu Avrupa Birliği düzenlemesine göre, MRL belirlenmemiş maddeler için MRL değeri 10 ng g^{-1} olarak kabul edilmektedir. Bu çerçevede, Ülkemizde Avrupa Birliği'ne uyum çalışmaları çerçevesinde 2005 yılında revize edilen 2005/40 nolu Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde balda naftalin kalıntısı miktarı 10 ng g^{-1} ile sınırlandırılmıştır.

METOT OPTİMİZASYONU

ÖRNEK HAZIRLAMA

1 g bal
+ 5 ml su
+ 5 ml HS cam vial

Vortex (30 s)

HS-GC/MS

HS-GC/MS KOŞULLARI

Sistem:
HS: Agilent 61888
GC: Agilent 7890A
MS: Agilent 5975C

GC Koşulları:
Kolon: HP-5MS (30 m, 0,25 mm i.d., 0,25 µm film kalınlığı)
Kolon sıcaklık programı: 50 °C (2 dak bekleme), 10° C dak⁻¹ hızla 250 °C (toplam süre 22 dak)

Post run: 270 °C / 1 dak
Enjeksiyon sıcaklığı: 250 °C
Taayıcı gaz / akış hızı : Helyum/ 1,3 ml dak⁻¹ (sabit)
Mod: Split (split oranı: 33,3:1)

MS Koşulları:
Arayıcı sıcaklığı: 230 °C
İyon kaynağı sıcaklığı: 230 °C
Quadropole sıcaklığı: 150 °C
İyonlaştırma: EI +70 eV
Miktar analiz: SIM modu, m/z 128 (naftalin), m/z 136 naftalin-d8 (İS)

HS Koşulları:
Ekstraksiyon T/te: 80 °C / 45 dak
Enjekte edilen buhar hacmi : 1 ml
Transfer hattı sıcaklığı: 90 °C

SANCO/10684/2009 GEREKLİLİKLERİ

Naftalin doğrulama iyonları: m/z 127, 128, 129
Miktar analiz iyonu (en yüksek pik alanına sahip iyon): m/z 128
Tüm doğrulama iyonları için, kalibrasyon standardı ile aynı alıkonma süresi, pik şekli ve pik alanı oranı elde edilmiştir (Şekil 1).

Doğrulama iyonlarının relatif yoğunlukları: m/z 127/128 = $12.0 \pm 0.2 \%$
m/z 129/128 = $10.6 \pm 0.2 \%$

Relatif yoğunluğu 10-20 % arasında olan iyonlar için maksimum izin verilen tolerans $\pm 10\%$ 'dir.
Relatif yoğunluk değerleri, tolerans limiti dahilinde kalibrasyon standardı ile uyum göstermektedir.

Naftalin alıkonma süresi: 9.71 dak
Naftalin-d8 alıkonma süresi: 9.67 dak
Relatif alıkonma süresi, GC için 0.5 % toleransla kalibrasyon çözeltisi ile uyum göstermelidir.
Relatif alıkonma süresi, tolerans limiti dahilinde kalibrasyon standardı ile uyum göstermektedir (Şekil 2).

METOT VALİDASYONU

Speziflik	20 adet blank bal analizinde naftalin ve naftalin-d8 ile girişim yapan pik gözlemlenmemiştir.
Doğrusalılık	Metot $2-100 \text{ ng g}^{-1}$ konsantrasyon analizinde doğrusaldır. Internal standart kullanılarak, 6 farklı konsantrasyonda 3 paralel ile çözülen kalibrasyon grafiğinin doğrusal regresyon denklemi: $y = 1.22 x$, $r^2 = 0.999$ (y: naftalin pik alanı/naftalin-d8 pik alanı, x: naftalin konsantrasyonu/naftalin-d8 konsantrasyonu) (Şekil 3).
Tespit limiti (LOD)	0.4 ng g^{-1}
Tayin limiti (LOQ)	2.0 ng g^{-1}
Matris etkisi	$2-100 \text{ ng g}^{-1}$ konsantrasyon analizinde naftalin hem suda hem metrikote hazırlanarak analiz edilmiş ve pik alanları karşılaştırılmıştır. Ortalamalar arası fark, t-testi ile kontrol edilmiş ve önemsiz bulunmuştur ($\alpha=0.05$).
Doğruluk ve Keskinlik	Blank bal örneklerine, LOQ, MRL ve MRL'in 2 katı konsantrasyonda olacak şekilde ($2, 10, 20 \text{ ng g}^{-1}$) naftalin ilavesi edilerek, 10 tekrar şeklinde analiz edilmiştir.

Konsantrasyon (ng g^{-1})	Doğruluk (% R, ortalamas SD)*		Keskinlik (% RSD)*	
	Aynı gün	Farklı gün	Aynı gün (Tekrarlanabilirlik)	Farklı gün (Tekrar üretilebilirlik)
2	119.5 ± 5.8	116.7 ± 5.6	4.9	3.5
10	101.6 ± 3.4	100.8 ± 4.8	3.4	3.4
20	107.4 ± 3.4	107.8 ± 4.6	3.2	3.0

*n=10, R: geri kazanım, SD: standart sapma, RSD: relatif standart sapma

Ortalama %R ve % RSD değerleri, SANCO/10684/2009'da belirtilen limitlere (%R 70-120, % RSD <20) uygunluk göstermektedir.

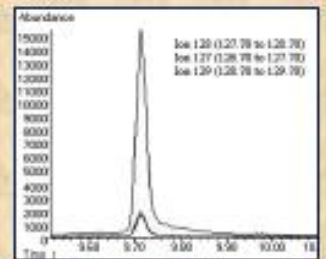
METOT UYGULAMASI

Metodun uygulanabilirliğinin analiz edilmesi amacıyla Ülkemizde farklı yerlerinden toplanan, farklı bittisel kaynağa sahip 22 bal örneği analiz edilmiş ve öngörülen metodun balda naftalin kalıntısı analizinde başarıyla uygulanabildiği görülmüştür.

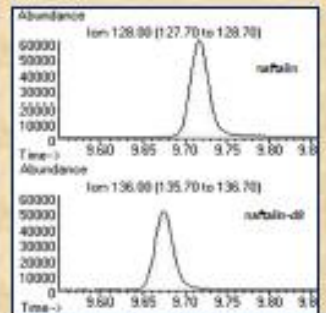
REFERANSLAR

Watanabe K., Hasegawa K., Yamaguchi I., Nozawa H., Takaba M., Suzuki O., 2006, Simple isotopic dilution headspace-GC-MS analysis of naphthalene and p-dichlorobenzene in whole blood and urine, Analytical Sciences 25, 1301-1305.

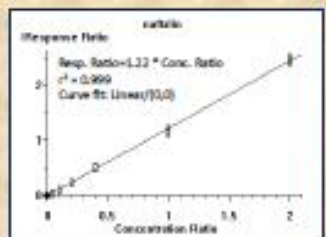
SANCO/10684/2009. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, updated 12 January 2010.



Şekil 1. Naftalin doğrulama iyonları kromatogramları



Şekil 2. Naftalin ve Naftalin-d8 için SIM kromatogramları



Şekil 3. Naftalin kalibrasyon grafiği (balda hazırlanmıştır)

Özge CETİNKAYA AÇAR, Sevilya KIRIŞ, Fazıl DİLER, Ayşe AVCI
Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı, Kalıntı Bölümü-Pestisit Birimi

BALMUMU

Balmumu, üçü anının 12-18 günlük yaş dönemlerinde abdominal segmentlerindeki mum salgı bezlerinden salgılanan bir maddedir. Saf balmumu beyaz renklidir. Selgilediği anda beyaz olmasına rağmen, daha sonra koyulaşarak sarıya veya kahverengiye döner. Sarı renge polen kaynaklı karotenoid pigmentleri neden olur. Anlar bu maddeyi petek gübreleri örnek üzere kullanılır.

BALMUMUNUN BİLEŞİMİ

Balmumu, yapısında monoesterler (% 35), diesterler (%12), hidrokarbonlar (% 34), serbest yağ asitleri (% 12), hidroksipolimerler (% 8), hidroksimonoesterler (% 4), triesterler (% 3), asit polimerler (% 1), serbest alkoller (% 1) ve bazı tanımlanmayan bileşikler (%6) içeren bir maddedir.

BALMUMU KULLANIM ALANLARI

Balmumun en yaygın kullanıldığı alan temel petek üretimidir. Bal süzümü petekler ve eski balmumları toplama eritilerek yeni petek üretiminde kullanılır. Bunun yanısıra balmumu, kozmetik ve ilaç sanayinde, mum yapımında, boya ve vernik üretiminde de kullanılmaktadır.

TEMEL PETEK

Temel petek, saf balmumundan özel makinelerle üretilen, yüzeyinde üçü anın gözü basık altınlar bulunan standart levhadır. Kovan içine yerleştirilen temel petek, ana anın döşü yumurta bırakmasını ve anların mum örnekle geçirecekleri zamana bal yapmaya ayrılmaları sağlar, anların gelişigüzel petek örnek kovan içi düzeni bozmasını engeller.

BALMUMUNDA PESTİSİT KALINTILARI

KAYNAKLARI

Tarım çalışmalarında, balmumunda yüksek oranda pestisit kalıntısı bulunduğunu ortaya koymaktadır. Balmumunda pestisit kalıntısı varlığının iki temel kaynağı vardır: öncelikle kullanılan pestisitler (özellikle akarisitler) ve çevresel kaynaklar.

Ancaklı kaynaklı pestisit kalıntılar

* Varroa destructor (Varroa destructor) karşı kullanılan akarisitler
fluvialinate , coumaphos, bromopropylate, amitraz, chlorfenvinphos, flumethrin, tetradifon, cymiazole, chloridimeform, acrinathrin

* Balmumu güvesine (Galleria mellonella) karşı kullanılan pestisitler
naftalin , p-dichlorobenzene , 1,2-dibromothane

* Ascoptheria (Ascopthera apis) karşı kullanılan pestisitler
benomyl , carbendazim

Çevresel kaynaklı pestisit kalıntılar

fluvialinate , coumaphos , endosulfan , chlorpyrifos , azinphos-methyl , cyfluthrin , parathion-methyl , DDE , bromofenofos , deltamethrin , lindane , benomyl , carbendazim , cypermethrin , procymidone , fenitrothion , malathion

BALMUMUNDA PESTİSİT KALINTILARI

VARLIĞININ ÖNEMİ

Balmumu, bulguların ve kalıntıların yüksek oranda yapısında tutma kapasitesine sahiptir. Özellikle sık kullanılan sentetik lipofilik akarisitler balmumunda biriktirmeye ve kalıntıları uzun süre yapıda kalmaktadır. Eski balmumlarının eritilerek yenilerinin üretilmesi sırasında uygulanan sil işlemler, yapıda bulunan pestisit kalıntıları miktarında (amitraz, chloridimeform gibi stabil olmayanlar hariç) önemli bir düşme sağlamamaktadır. Balmumunda yapılan uzun süreli çalışmalar göstermiştir ki; belirli bir akaritin kullanmaya başlamasını takiben eski balmumlarının geri dönüşümü ile üretilen balmumlarında o akarit kalıntısı hemen ortaya çıkarılır, akaritin kullanımına son verilmesi halinde kalıntının ortadan kalkması oldukça uzun zaman almaktadır. Bunun yanısıra balmumu, ancak sadece ilaç ve kozmetik sanayinde de önemli miktarlarda kullanıldığından, balmumunda pestisit kalıntısı varlığı bu sektörler için de oldukça ciddi bir problemdir.

REFERANSLAR

- Bernal LL, del Nopal M.J., Toribio L, Jiménez LL, Atienza L. 1997. High-performance liquid chromatographic determination of benomyl and carbendazim residues in apiarian samples. Journal of Chromatography A 787:129-136.
- Bogdanov S, Kitchensonn V, Indorf A. 1998. Acaricide residues in some bee products. Journal of Apicultural Research 37(2): 57-62.
- Bogdanov S, Kitchensonn V, Bittler U. 2003. Determination of acaricide residues in beeswax: Collaborative study. Apistica 36:235-245.
- Bogdanov S, Kitchensonn V, Sella K, Pfeiffer H, Ray T, Fouz B, Wenz R, Nocer J. 2004. Residues of para-dichlorobenzene in honey and beeswax. Journal of Apicultural Research 43(1):14-16.
- Chazrat M.R., Faucon L.F. 2007. Pesticide residues in beeswax samples collected from honey bee colonies (Apis mellifera L.) in France. Pest Management Science 63:1100-1106.
- Korta E, Bekkali A, Serrano L.A., Gallo B, Vicente F, Bogdanov S. 2003. Determination of amitraz and other acaricide residues in beeswax. Analytica Chimica Acta 475:97-103.
- Jiménez LL, Bernal LL, Nopal M.J., Añiso C. 2004. Liquid-liquid extraction followed by solid-phase extraction for the determination of lipophilic pesticides in beeswax by gas chromatography-electron capture detection and matrix-matched calibration. Journal of Chromatography A 1048:89-97.
- Jiménez LL, Bernal LL, Nopal M.J., Martín MT. 2005. Residues of organic contaminants in beeswax. European Journal of Lipid Science and Technology 107:896-903.

BALMUMU VE TEMEL PETEKTE PESTİSİT KALINTILARI ANALİZ YÖNTEMLERİ



Analitler	Ön işlemler	Ekstraksiyon	Temizleme	Analiz	Referans
Benomyl, carbendazim	—	- Metanol ekstraksiyonu (2 kademe) - Kurutma - Kalıntı metanolde çözüme ve filtre	—	HPLC	Bernal ve ark. (1997)
Amitraz kalıntılar, bromopropylate, chloridimeform, cymiazole, chlorfenvinphos	—	- Metanol ekstraksiyonu - Ultrasonik banyo / Santrifüj - Süpermatant , derin dondurucu - Santrifüj / Süpermatant + tampon	SPE-C18	GC/MS	Korta ve ark. (2003)
Bromopropylate, fluvialinate, coumaphos, flumethrin	—	- Hekzan ekstraksiyonu - Ultrasonik banyo /Derin dondurucu - Santrifüj / Süpermatant , derin dondurucu - Santrifüj / Süpermatant, oda sıcaklığı	SPE-Floristil	GC-ECD	Bogdanov ve ark. (2003)
Para-dichlorobenzene	—	- Etanol ekstraksiyonu - Ultrasonik banyo /Santrifüj - Süpermatant , derin dondurucu - Santrifüj / Süpermatant	SPE-C18	GC-FID	Bogdanov ve ark. (2004)
Lindane, chlorpyrifos, p-chlorfenvinphos, endosulfan A and B, 4,4'-DDE, 4,4'-DDE, acrinathrin, bromopropylate, tetradifon, coumaphos, fluvialinate	Balmumu-su karışımı kaynatma. Safuzukları kazyoya ile ayırma	- Hekzan ekstraksiyonu - Asetonitril lavajı ve çalkalama - Faz ayırma için metanol lavajı - Asetonitril fazını toplama	SPE- ODS - polimerik karışımlar	GC-ECD	Jiménez ve ark.(2004)
Chloridimeform, chlorfenvinphos, lindane, bromopropylate, coumaphos, tetradifon, acrinathrin, fluvialinate, 4,4'-DDE, 4,4'-DDE, PCB 153, PCB 180, chlorpyrifos, endosulfan	Balmumu-su karışımı kaynatma. Safuzukları kazyoya ile ayırma	- Hekzan ekstraksiyonu - Asetonitril lavajı ve çalkalama - Faz ayırma için metanol lavajı - Asetonitril fazı/uyurma - Kalıntıyı asetonde çözüme ve filtre	—	GC/MS	Jiménez ve ark.(2005)
Azinphos-methyl, chlorpyrifos, coumaphos, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, endosulfan, fenitrothion, fenitron, lindane, malathion, methidathion, mevinphos, parathion, parathion-methyl, tau-fluvialinate, procymidone, vinclozolin	—	- Hekzan ekstraksiyonu - Ultrasonik banyo /Derin dondurucu - Santrifüj / Süpermatantı uçurma - Hekzan ve heksanasetonitril lavajı - Çalkalama ve faz ayırma - Asetonitril faz(2 kademe)	SPE-C18	GC/MS /MS	Chazrat and Faucon (2007)

SPE:Katı Faz Ekstraksiyonu; GC:Gaz Kromatografisi; ECD:Elektron Yakalama Dedektörü; FID:Alev İyonlaştırma Dedektörü; HPLC:Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi; DAD: Diode Array Dedektörü; ODS: Octadecylsilane; MS:Kütle Spektrometrisi; PCB:Polychlorinated biphenyl

ALTERNATİF BALMUMU KORUMA YÖNTEMLERİ

- * En iyi balmumu kalitesinin sağlanması için, öncelikle sentetik kimyasal kullanımının sınırlandırılması gerektirir. Özellikle akarit kullanıma alternatif olarak doğal bileşiklerin (formik asit, laktik asit, oksalik asit gibi organik asitler ya da esansiyel yağlar gibi) kullanılması son yıllarda en fazla dikkat çelen yöntemdir.
- * Bunun dışında, bazı basit fiziksel ya da kimyasal önlemlerle balmumunu güveye karşı korumak mümkündür. İyi havalandırılmış depolarda soğukta depolama (<15°C); balmumunun 50°C'de yaklaşık bir saat ısıtılması; muhafazada küçürt, asetik asit, formik asit gibi toksik olmayan bileşiklerin kullanılması balmumu güvesine karşı uygulanabilecek alternatif yöntemlerdir.
- * Çevresel kaynaklı pestisitlerin bulguların önlenmesinde ise; pestisit uygulamalarının çiçeklenme zamanında ya da en azından anların döşüğü zamanlarında yapılması ve an kovalarının pestisit uygulaması yapışın zıval alanlardan en az 3 km uzağı yerleştirilmesi koruyucu önlem olarak uygulanabilecek yöntemlerdir.

PESTİSİT ANALİZLERİNDE VALİDASYON PROSEDÜRLERİ

Pestisit analizleri yapan laboratuvarlar için SANCO/12571/2013 nolu “Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntı Analizlerinde Analitik Kalite Kontrol ve Validasyon Prosedürleri Rehberi” (Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed) (8) temel rehber niteliğindedir. Bu doküman, Avrupa Birliği dahilindeki ülkelerde resmi gıda ve yem analizleri yapan laboratuvarlar için metot validasyonu ve analitik kalite kontrol (AQC) gerekliliklerini açıklamaktadır ve TS EN ISO/EIC 17025 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar” (General requirements for the competence of testing and calibration laboratories) standardına uyumlu ve tamamlayıcıdır.

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından SANCO/12571/2013 dokümanı Türkçeye çevrilmiş ve “Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntısı Analizlerinin Analitik Kalite Kontrol ve Validasyon Prosedürleri için Rehber Doküman” adı altında bakanlık web sitesi üzerinden yayınlanmıştır.

UGRL Pestisit Birimi tarafından, Türkiye çapında pestisit kalıntısı analizi yapan laboratuvarların, validasyon çalışmaları ve ölçüm belirsizliği hesaplamalarında farklı yöntemler kullanmalarından kaynaklanan sıkıntıların ortadan kaldırılması ve validasyon ve ölçüm belirsizliği hesaplarının ortaklaştırılmasının sağlanması amacıyla “Pestisit Analizleri İçin Metot Validasyonu Ve Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması Açıklamalı Uygulama Rehberi” hazırlanarak yine bakanlık web sitesi üzerinden kullanıma açılmıştır. Rehberle birlikte, rehberde açıklanan ölçüm belirsizliği hesaplamalarını kullanarak otomatik olarak hesap yapan ve laboratuvarların kendi sonuçlarını girebilecekleri Excel dosyaları da oluşturulmuş ve kullanıma sunulmuştur.

PESTİSİTLERLE İLGİLİ YASAL MEVZUAT

Gıdalarda pestisit kalıntılarının resmi kontrolleri için bakanlık görevlileri tarafından “Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Pestisit Kalıntılarının Resmi Kontrolü için Numune Alma Metotları Tebliği”nde açıklanan hususlar doğrultusunda numuneler alınır. Bu tebliğ esasları doğrultusunda hazırlanan laboratuvar numuneleri analiz edilmek üzere laboratuvarlara gönderilir.

Laboratuvarlarda numuneler analiz edildikten sonra raporlanır. Gıdalarda tespit edilen pestisit kalıntı miktarlarının uygunluğu “Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği” esaslarına ve ilgili eklerine göre değerlendirilir. Yönetmelik eklerinde

her bir aktif maddenin her bir ürün için tanımlanmış maksimum kalıntı limitleri (MRL) yer almaktadır.

“Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Pestisit Kalıntılarının Resmi Kontrolü için Numune Alma Metotları Tebliği” ve “Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği” aşağıda verilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliğinin eklerine web üzerinden ulaşılabilir.

TÜRK GIDA KODEKSİ GIDALARDA PESTİSİT KALINTILARININ RESMÎ KONTROLÜ İÇİN NUMUNE ALMA METOTLARI TEBLİĞİ

(TEBLİĞ NO: 2011/34)

Amaç

MADDE 1 – (1) Bu Tebliğin amacı gıdalarda bulunan pestisit kalıntılarının resmi kontrolü için gıdalardan numune alma metotlarını belirlemektir.

Kapsam

MADDE 2 – (1) Bu Tebliğ, gıdalarda bulunan pestisit kalıntılarının resmi kontrolleri için numune alma metodunu ve resmi kontrollerde kullanılan analiz metotları için numune hazırlanmasını ve kriterlerini kapsar. Canlı hayvan ve diğer hayvan ürünleri ile ilgili numune stratejilerini, numune miktarlarını ve numune alma sıklığını kapsamaz.

Dayanak

MADDE 3 – (1) Bu Tebliğ, 16/11/1997 tarihli ve 23172 sayılı (1. Mükerrer) Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği’ne göre hazırlanmıştır.

Tanımlar

MADDE 4 – (1) Bu Tebliğde geçen;

a) Analitik kısım: Kalıntı konsantrasyonunun doğru olarak ölçülmesini sağlayacak miktarda, analitik numunedan alınan temsili miktardaki kısmı,

b) Analitik numune: Numune alma hatası en az olacak şekilde analitik kısımları elde etmek amacı ile analiz edilecek ürüne ait kısmın ayrılarak; karıştırma, öğütme, parçalama ve diğer işlemleri takiben analiz için laboratuvar numunesinden hazırlanan numuneyi,

c) Bakanlık: Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığını,

ç) Birincil numune/İnkremental numune: Partinin bir yerinden alınan bir veya daha fazla birimi

d) Birim: Birincil numunenin tümünü veya bir kısmını oluşturmak üzere çekilecek olan, bir parti içerisindeki en küçük bağımsız kısmı,

e) Laboratuvar numunesi: Paçal numuneyi temsil edebilecek miktardaki numunenin laboratuvara gönderilen veya laboratuvar tarafından kabul edilen miktarını,

f) MRL: Maksimum kalıntı limitlerini,

g) Numune alma aleti: Birimi; paçal materyalden, ambalajın içinden veya et ve kanatlı etinde birincil numune için fazla olan parçayı ayırmak amacıyla kullanılan kepçe, taşıyıcı, bıçak ve benzeri araç ve gereçler ile laboratuvar numunesinin paçal numunedan hazırlanmasında veya analitik kısmın analitik numunedan hazırlanmasında numune kapları da dahil olmak üzere kullanılan araçları,

ğ) Numune büyüklüğü: Numuneyi oluşturan birim sayısı veya miktarını,

h) Paçal numune: Et ve kanatlı eti dışındaki ürünler için, partiden alınmış olan birincil numunelerin birleştirilmesi ve çok iyi karıştırılması ile elde edilen numunedir. Et ve kanatlı eti için ise, tek bir birincil numune paçal numune olarak kabul edilir.

ı) Parti: Bir seferde teslim edilen veya üretilen ve numuneyi alan kontrol görevlisi tarafından orijin, üretici, çeşit, ambalajlayıcı, ambalaj tipi, işaretleme, yükleyici gibi özelliklerinin aynı olduğu bilinen veya öngörülen gıdanın miktarını,

i) Şahit numune: İtirazlı durumlar için, paçal numunedan ayrılan numuneyi,

j) Şüpheli parti: Herhangi bir nedenle maksimum kalıntı limitlerini aşacak düzeyde pestisit kalıntısı içerdiğinden şüphelenilen partiyi,

ifade eder.

Genel hükümler

MADDE 5 – (1) Numune alma:

- a) Numune, kontrol görevlisi tarafından alınır ve usulüne uygun olarak laboratuvara gönderilir.
- b) Analiz sonucunu etkileyeceğinden, numune alma işleminin tüm aşamalarında, numunelerin kontaminasyonu ve zarar görmesini engelleyecek önlemler alınmalıdır.
- c) Alınan numunenin partiyi tam olarak temsil ettiğinden emin olunmalıdır.

(2) Birincil numunelerin toplanması:

Partiden alınması gereken minimum birincil numune sayısı EK – 1'e, kırmızı et ve kanatlı eti partisinin şüpheli olması durumunda alınması gereken minimum birincil numune sayısı ise EK – 2'ye uygun olmalıdır. Her bir birincil numune, mümkün olduğunca partinin rastgele kısımlarından alınmalıdır. Birincil numuneler, partiden laboratuvar numunesi oluşturulmasını sağlayacak miktarda alınmalıdır.

(3) Paçal numunenin hazırlanması:

a) Paçal numunenin hazırlanmasında kırmızı et ve kanatlı eti için uygulanacak işlem EK – 3'e uygun olmalıdır. Her bir birincil numune ayrı bir paçal numune olarak değerlendirilmelidir. Bitkisel ürünler, yumurtalar ve süt ürünlerinden numune alma işlemleri EK – 4 ve EK – 5'e uygun olmalıdır. Paçal numuneyi oluşturacak birincil numuneler birleştirilmeli ve mümkünse iyice karıştırılmalıdır.

b) Paçal numuneyi oluşturmak amacıyla karıştırma ve birleştirme işleminin yapılmasının mümkün olmadığı veya paçal numunenin alt birimlerinin karıştırılması sırasında birimlerin zarar görmesinin kalıntı miktarını etkilediği veya büyük birimlerin tek bir homojen kalıntı dağılımı sağlayacak kadar karıştırılmadığı durumlarda; birincil numunenin alınışı ile aynı anda, rastgele biçimde laboratuvar paralel numuneleri alınmalıdır. Bu durumda, analiz sonuçlarının ortalaması alınarak geçerli analiz sonucu belirlenmelidir.

(4) Laboratuvar numunesinin hazırlanması:

Laboratuvar numunesinin hazırlanmasında, paçal numune, laboratuvar numunesi için gereken miktardan daha fazla ise, temsil eden miktarı sağlayacak şekilde bölünür. Bölme işlemi uygun boyutlarda küçültülerek veya dörde bölünerek yapılır. Ancak bu aşamada taze bitki ürünleri veya bütün yumurtalar kesilmemeli veya kırılmamalıdır. Gerek görülürse, bu aşamada laboratuvar paralel numuneleri hazırlanmalıdır. Laboratuvar numuneleri için gereken minimum miktarlar EK – 3, EK – 4 ve EK – 5'e uygun olmalıdır.

(5) Numune kaydının tutulması:

Numune alan kişi, partinin orijini ve yapısını, sahibini, tedarikçisini veya taşıyıcısını; numunenin alınma tarih ve yerini ve gerekli diğer bilgileri kaydetmek zorundadır. Önerilen numune alma metodundan yapılan her sapma kaydedilir. Her bir numuneye bu kaydın imzalı bir kopyası iliştilirilmeli, bir kopyası da numuneyi alan kişi tarafından saklanır. Numune alma kaydının bir nüshası, mal sahibi veya temsilcisine verilir.

(6) Numunenin laboratuvara gönderilmesi:

Numune kapları, kontaminasyonu ve numunenin zarar görmesini önleyecek ve sızıntı yapmayacak, numune ile etkileşmeyecek nitelikte olmalıdır. Resmi kontroller için alınan her numune alındığı yerde mühürlenir. Kap sıkıca kapatılır, güvenli bir biçimde etiketlenir ve numune alma kaydı da kaba iliştilir. Numune, laboratuvara mümkün olan en kısa sürede ulaştırılır. Nakil sırasında bozulma önlenmelidir. Taze numuneler serin ortamda tutulmalı, dondurulmuş numunelerin dondurulmuş halleri muhafaza edilmelidir. Kanatlı eti ve kırmızı et numunelerinin bozulma olmadan laboratuvara ulaştırılması sağlanamıyorsa, laboratuvara gönderilmeden önce dondurulur.

(7) Analitik numunenin hazırlanması:

Laboratuvar numunesinin laboratuvara ulaşma tarihi ve miktarı numune alma formuna kayıt edilir. Bu aşamadan sonra analitik numune en kısa sürede hazırlanır. Sert çekirdekli meyvelerin çekirdeklerinde olduğu gibi analize alınmayacak kısımlar ayrılmalı, ancak ayrılmış bu parçaların ağırlıkları da hesaplamalarda mutlaka dikkate alınmalıdır.

(8) Analitik kısmın hazırlanması ve depolanması:

Analitik kısımların hazırlanmasında, temsili analitik kısımların alınabilmesi için analitik numune öğütülmeli ve iyice karıştırılmalıdır. Analitik kısmın miktarı, analitik metoda ve numunenin hazırlanma şekline göre belirlenmelidir. Öğütme ve karıştırma metotlarının kaydı tutulmalı ve bu metotlar, analitik numunede bulunan kalıntı miktarında değişikliğe yol açmamalıdır. Gerekli durumlarda olumsuzlukları en aza indirmek amacıyla analitik numune özel koşullarda (örneğin sıfırın altında sıcaklıklarda) işleme tabii tutulmalıdır. Uygulanacak işlem kalıntı miktarını etkileyecekse ve pratik alternatif bir metot yok ise, analitik kısım bütün birimlerden veya birimlerden alınmış parçalardan oluşabilir. Bu nedenle analitik kısım birkaç birim veya parçadan oluşuyorsa, bu kısım analitik numuneyi tam temsil edemeyeceğinden, yeterli miktarda paralel numune de analize alınmalı ve ortalama değerdeki belirsizlik gösterilmelidir. Analitik kısımlar analizden önce depolanacaksa, depolama metodu ve süresi kalıntı sonucunu etkilemeyecek biçimde seçilmelidir.

Açıklayıcı hükümler

MADDE 6 – (1) Parti:

a) Yüklemenin farklı üreticilerden geldiği tanımlanabilen birden fazla partiden oluştuğu durumlarda her bir parti ayrı değerlendirilmelidir.

b) Büyük hacimli yüklemelerde her bir partinin miktarı ya da sınırı açıkça tespit edilemiyorsa, bir seri vagon, kamyon, tekne ve benzeri ayrı bir parti olarak değerlendirilebilir.

c) Bir yükleme bir veya daha fazla partiden oluşabilir.

ç) Bir parti sınıflandırma veya imalat işlemleri için karıştırılabilir.

(2) Birincil numune:

a) Birincil numunenin alındığı yer partiden rastgele seçilir. Ancak bu fiziksel olarak mümkün değilse partinin ulaşılabilen kısımlarından rastgele alınır. Birincil numune için alınması gereken birim sayısı, laboratuvar numunesi için gereken minimum sayı ve miktar olarak belirlenir.

b) Birincil numuneler yükleme veya boşaltma sırasında alınıyorsa, numune alma yeri ve zamanı belirlenir.

c) Bitki, yumurta ve süt ürünlerinde bir partiden birden fazla birincil numune alındığında, her bir birincil numune paçal numuneye yaklaşık aynı miktarlarda katılır.

ç) Birincil numunelerin toplanması ve paçal numunelerin hazırlanması sırasında;

1 - Birimlerin büyük birimler halinde olması ve karıştırma işleminin paçal numunenin temsil edilebilirliğini artırmadığı durumlarda,

2 - Yumurta ve yumuşak meyve gibi karıştırıldığında numunenin zarar göreceği ve kalıntı miktarının etkileneyeceği durumlarda,

3 - Karıştırma ve birleştirme işleminin yapılmasının mümkün olmadığı durumda veya paçal numunenin alt birimlerinin karıştırılması sırasında birimlerin zarar görmesi durumunda, birincil numunenin alınışı ile aynı anda, rastgele biçimde laboratuvar paralel numuneleri alınır. Bu durumda analiz sonucunu, geçerli analiz sonuçlarının ortalaması belirler.

d) Kırmızı et ve kanatlı eti partisinde EK – 3'de yer alan alt birimler belirtilmediği sürece birincil numuneyi oluşturmak amacıyla birimler bölünemez ve parçalanamaz.

(3) Paçal numune:

a) Paçal numune, birincil numunelerin karıştırılması ile elde edilir.

b) Paçal numune; bitkisel ürünler, yumurta ve süt ürünlerinde 1 den 10'a kadar birincil numuneden, kırmızı et ve kanatlı etinde tek birincil numuneden oluşur.

c) Birincil numuneler paçal numuneden tüm laboratuvar numunelerinin alınmasını sağlayacak miktarda olmalıdır.

(4) Birim: Ürün gruplarına göre birimler aşağıdaki şekilde oluşturulabilir:

a) Çok küçük olanlar hariç olmak üzere taze meyve ve sebzelerde, her bir tam meyve, sebze veya bunların doğal salkımlarıdır.

b) Birimler numune alma aleti kullanılıyor ise, materyale zarar vermeden oluşturulur.

c) Büyük hayvanlarda hayvanın parçaları veya organları belirtilen kısmı veya organın tümü veya bir kısmı birimi oluşturur. Organ kısımları, birimi oluşturmak için kesilebilir.

ç) Küçük hayvanlarda, her bir hayvanın tamamı veya bir parçası veya organı birimi oluşturabilir. Kalıntı miktarının etkilenmemesi amacıyla bu aşamada alınacak birimlerinin hayvanın diğer organları ve numune alma araçları ile etkileşimi olmamalıdır.

d) Yumurtalar, taze sebze ve meyveler analitik numune oluşturma aşamasına kadar kesilmemeli ve kırılmamalıdır.

e) Tüm ürünlerin ambalajlanmış materyallerinde farklı paketlerin en küçüğü, birim olarak alınır. En küçük paketin çok büyük olması halinde numune, paçal olarak alınır. En küçük paketin çok küçük olduğu durumlarda paketlerin içinde bulunduğu ambalaj, birim olarak kabul edilir.

f) Birincil numune olamayacak kadar büyük hacimli paketlerde ve paçal materyalde birimler numune alma aleti ile oluşturulur.

(5) Laboratuvar Numunesi:

a) Laboratuvar numunesi paçal numunenin bir bölümü veya tamamı olabilir.

b) Kırmızı et ve kanatlı eti partisinde laboratuvar numunesi için EK – 3'de yer alan alt birimler belirtilmediği sürece; laboratuvar numunelerini oluşturmak amacıyla birimler bölünemez ve parçalanamaz.

c) Gerek görüldüğü takdirde, laboratuvar paralel numuneleri hazırlanır.

ç) Birincil numunelerin alınışı ile aynı anda, ayrı laboratuvar numuneleri hazırlanması gerekiyorsa; paçal numune, laboratuvar numunelerinin toplamıdır.

(6) Analitik Numune:

Analitik numunenin hazırlanması, maksimum kalıntı limitlerinin belirlenmesinde kullanılan işlemi yansımalıdır. Bu durumda analiz edilecek ürün, normal olarak tüketilmeyen kısımları da içerebilir.

(7) Numune Alma Aleti:

Numune alma ve numune hazırlamanın gerekli aşamalarında numune alma araçları kullanılmalıdır.

(8) Şahit numune:

Şahit numune, homojenize edilmiş paçal numuneden ayrılır. Şahit numuneye ilişkin hükümler Bakanlıkça belirlenir.

(9) Sonuçların Yorumlanması:

a) Analitik sonuçlar $x \pm U$ olarak raporlanır. Burada x analitik sonucu, U ise genişletilmiş ölçüm belirsizliğini ifade eder. Analitik sonucun yasal limitlere uygunluk değerlendirmesi, analiz sonucundan ölçüm belirsizliğinin çıkarılmasıyla elde edilen sonuca göre yapılır.

b) Ölçüm belirsizliği hesaba katılarak elde edilen laboratuvar numunesi analiz sonucu, maksimum limitlere uyuyorsa kabul edilir.

c) Ölçüm belirsizliği hesaba katılarak elde edilen laboratuvar numunesi analiz sonucu, maksimum limitleri aşıyorsa reddedilir.

Avrupa Birliği'ne uyum

MADDE 7 – (1) Bu Tebliğ, 2002/63/EC sayılı Bitkisel ve Hayvansal Gıdalarda Pestisit Kalıntılarının Resmi Kontrolü İçin Numune Alma Metotları Komisyon Direktifi dikkate alınarak Avrupa Birliği'ne uyum çerçevesinde hazırlanmıştır.

Yürürlükten kaldırılan mevzuat

MADDE 8 – (1) Bu Tebliğin yayımı tarihinden itibaren, 2/12/2006 tarihli ve 26364 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan 2006/51 Tebliğ no'lu Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Pestisit Kalıntılarının Resmi Kontrolü İçin Numune Alma Metotları Tebliği yürürlükten kaldırılmıştır.

Yürürlük

MADDE 9 – (1) Bu Tebliğ yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

Yürütme

MADDE 10 – (1) Bu Tebliğ hükümlerini Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanı yürütür.

YÖNETMELİK

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığında:

**TÜRK GIDA KODEKSİ PESTİSİTLERİN MAKSİMUM
KALINTI LİMİTLERİ YÖNETMELİĞİ****BİRİNCİ BÖLÜM****Amaç, Kapsam, Dayanak ve Tanımlar****Amaç**

MADDE 1 – (1) Bu Yönetmeliğin amacı; tüketicinin yüksek seviyede korunmasını sağlamak üzere bitkisel ve hayvansal gıdalarda bulunmasına izin verilen pestisitlerin maksimum kalıntı limitlerinin uygulama usul ve esaslarını belirlemektir.

Kapsam

MADDE 2 – (1) Bu Yönetmelik, pestisitlerin taze, işlenmemiş, işlenmiş veya kompozit bitkisel ve hayvansal gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limitlerini ve bu limitlerin uygulama esaslarını kapsar.

(2) Bu Yönetmelik, gıda dışında üretilen ürünleri, bitki çoğaltım materyallerini, aktif maddelerin ilgili mevzuat çerçevesinde onaylanması sırasındaki testlerini kapsamaz.

Dayanak

MADDE 3 – (1) Bu Yönetmelik,

- a) 11/6/2010 tarihli ve 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununun 21 inci, 22 nci, 23 üncü, 24 üncü, 31 inci, 32 nci ve 34 üncü maddelerine dayanılarak,
- b) 396/2005/EC sayılı Bitkisel ve Hayvansal Gıdalardaki Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Hakkında Avrupa Birliği Konsey Tüzüğü'nün ilgili hükümlerine paralel olarak hazırlanmıştır.

Tanımlar

MADDE 4 – (1) 5996 sayılı Kanunun 3 üncü maddesindeki tanımlara ilave olarak ikinci fıkrada yer alan tanımlar da geçerlidir.

(2) Bu Yönetmelikte geçen;

- a) Aktif madde: Hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlar ile diğer etmenler üzerine asıl biyolojik etkiyi yapan maddeyi,
 - b) Bakanlık: Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığını,
 - c) İşleme faktörü: İşlenmiş üründeki pestisit kalıntısının o işleme tabi tutulacak üründeki kalıntı miktarına oranını,
 - ç) İyi tarım uygulamaları (GAP-Good Agricultural Practice): Uygulamanın yapıldığı iklim bölgesinde, ruhsatlı bitki koruma ürünlerinin; gıdaların üretimi, taşınması, dağıtımı ve işlenmesi aşamalarında zirai mücadele prensiplerine uygun olarak güvenli kullanımı, beklenen etkinin oluşmasını sağlayacak şekilde, minimum miktarda kullanılmasının ve böylece oluşacak MRL değerlerinin minimum düzeyde olmasının sağlanmasını,
 - d) Kabul edilebilir günlük alım miktarı (ADI-Acceptable Daily Intake): Toplumdaki çocuk veya doğmamış bebekler gibi hassas grupları da dikkate alarak, değerlendirme sırasındaki mevcut bilgiler ışığında tüketiciye fark edilebilir herhangi bir sağlık riski teşkil etmeyen, bir bireyin vücut ağırlığı esas alınarak tüm yaşamı boyunca gıdalarla günlük olarak alabileceği madde miktarını,
 - e) Maksimum kalıntı limiti (MRL-Maximum Residue Level): İyi tarım uygulamaları ve ADI değerleri temel alınarak belirlenen en yüksek pestisit kalıntı limitini,
 - f) Pestisit: Zirai mücadele uygulamalarında kullanılan her türlü kimyasal maddeyi,
 - g) Pestisit kalıntısı: Ek-1'de belirtilen ürünlerde zirai mücadele amaçlı kullanılan aktif maddeler, bunların metabolitleri veya parçalanma veya reaksiyon ürünlerini,
 - ğ) Tespit limiti (LOD-Limit of Determination): Analitik olarak geçerli kılınmış metotlarla tespit edilen en düşük limiti,
- ifade eder.

İKİNCİ BÖLÜM**Maksimum Kalıntı Limitleri ve Uygulama Esasları****Maksimum kalıntı limitleri**

MADDE 5 – (1) Pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri ve bu limitlerin uygulanacağı ürünlere

ilişkin ekler ile bu eklerin açıklamaları aşağıda yer almaktadır.

a) Bu Yönetmelikte yer alan bitkisel ve hayvansal ürünlere ait gruplar ve tanımlamalar ek-1'de yer almaktadır.

b) Ürünlere ait kod numaraları, MRL'nin uygulanacağı ürün grupları, bu gruplarda yer alan ürünler, ürünlerin bilimsel adları, benzer ürünler ve ürünlerin MRL değerlendirmesine tabi tutulacak kısımları ek-1'de tanımlanmıştır.

c) Bu Yönetmelik kapsamındaki pestisitlere ait MRL'ler ek-2 ve ek-3'te yer almaktadır.

ç) Türkiye'de, 25/3/2011 tarihli ve 27885 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Bitki Koruma Ürünlerinin Ruhsatlandırılması Hakkında Yönetmelik hükümlerine göre ruhsatlandırılmış olan pestisitlerin kabul edilebilir maksimum kalıntı limitleri ile mezkûr Yönetmeliğin 7 nci maddesi gereği geçici olarak en fazla iki yıl süre ile geçerli olmak üzere tavsiyesi uygun görülen pestisitlerin kabul edilebilir maksimum kalıntı limitleri ek-2'de yer almaktadır.

d) Ek-3, Avrupa Birliği'nin ilgili mevzuatında yer alan ürün gruplarındaki pestisitler için maksimum kalıntı limitlerine ait listeyi içerir.

e) Ek-3, üç bölümden oluşmaktadır:

1) Bölüm 1, Avrupa Birliği tarafından değerlendirilmesi tamamlanmış olan pestisitlerin ürün veya ürün gruplarındaki maksimum kalıntı limitleri listesini,

2) İki alt bölümden oluşan Bölüm 2'nin; Bölüm 2A'sı Avrupa Birliği tarafından değerlendirmesi devam eden pestisitlerin ürün veya ürün gruplarındaki maksimum kalıntı limitlerine ait geçici listeyi, Bölüm 2B'si, Avrupa Birliği tarafından değerlendirmesi devam eden pestisitlerin Bölüm 1'de yer almayan ürün veya ürün gruplarındaki maksimum kalıntı limitlerine ait geçici listeyi,

3) Bölüm 3, MRL belirlenmesine ihtiyaç duyulmayan pestisitlere ait listeyi, içerir.

f) Türkiye'de kullanımı sonlandırılmış olan yasaklı pestisitler ek-4'te yer almaktadır.

g) Farklı ürün grupları için değerlendirilmesi tamamlanmış bazı pestisitlere ait tespit limitleri (LOD) ek-5'te yer almaktadır.

Uygulama esasları

MADDE 6 – (1) Pestisitlerin maksimum kalıntı limitlerine ilişkin uygulama esasları aşağıda yer almaktadır.

a) Ek-2'de yer alan pestisitler sadece mezkûr ekte belirlenen ürün veya ürün grupları için geçerlidir.

b) EK-2'de bulunmayan ancak Yönetmeliğin yayımı tarihinden sonra Bakanlıkça ruhsatlandırılan veya geçici tavsiyesi verilen aktif maddelerin resmi kontroller sonucunda tespit edilmesi halinde, o ürün için Bakanlıkça onay aşamasında belirlenmiş MRL değerine göre işlem yapılır.

c) Türkiye'de üretilen bitkisel ürünlerde ek-2'de yer alan maksimum kalıntı limitleri, hayvansal ürünlerde ise sadece ek-2'deki pestisitler için ek-3'de yer alan maksimum kalıntı limitleri kullanılır. Ek-2 ve ek-3'de yer almayan pestisit ve ürünler için MRL değeri olarak, ek-5'te verilen LOD değeri, ek-5'te LOD değeri bulunmayan pestisitler için ise 0,01mg/kg kabul edilir.

ç) İthal edilen bitkisel ve hayvansal ürünlerde ek-3, ek-3'te yer almayan pestisit ve ürünler için ek-2 dikkate alınır. Ek-2 ve ek-3'de yer almayan pestisit ve ürünler için MRL değeri olarak, ek-5'te verilen LOD değeri, ek-5'te LOD değeri bulunmayan pestisitler için ise 0,01mg/kg kabul edilir.

d) Ek-1'de tanımlanan ürünler, ek-3 Bölüm 3 hariç olmak üzere bu maddenin (c) ve (ç) bentlerine aykırı olması durumunda piyasaya arz edilemez.

e) Bu Yönetmelikte belirtilen MRL'leri karşılamayan pestisit kalıntı değerine sahip taze, işlenmemiş, işlenmiş veya kompozit bir ürün, MRL'leri düşürülmek üzere, kendisiyle aynı veya diğer ürünlerle karıştırılarak veya işlenerek piyasaya arz edilemez.

f) Bu Yönetmelik, bebek formülleri, devam formülleri ve bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ile ilgili mevzuat hükümleri saklı kalacak şekilde uygulanır.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

İşleme Faktörü

İşleme faktörünün belirlenmesi ve uygulanması ile ilgili esaslar

MADDE 7 – (1) Ek-1'de yer alan ürünlerin işlenmesiyle elde edilen ürünlerin MRL'leri değerlendirilirken, uluslararası kabul görmüş metotlara göre yapılmış çalışmalar sonucunda belirlenmiş işleme faktörleri kullanılır.

(2) İşleme faktörü, işleme teknolojisine bağlı olarak her bir aktif madde için ayrı olarak belirlenir.

(3) İyi tarım uygulamaları (GAP) sonucunda elde edilen ürünlerdeki pestisit kalıntısı, LOD'ye eşit ise işleme teknolojisine tabi tutulan ürün için işleme faktörü 1 olup, bu ürünlerde işlenmemiş ürünler için belirlenen MRL değerleri geçerlidir.

(4) Birinci ve üçüncü fıkralarda belirtilen haller dışında; işleme faktörünün belirlenmesine gerek duyulduğunda Bakanlıkça aşağıdaki esaslar dikkate alınır.

- a) İşlenmiş ürünün beslenmedeki önemi ve tüketim miktarı.
- b) İşleme teknolojisine tabi tutulacak ürünlerdeki kalıntı miktarı.
- c) Aktif maddenin veya ilgili metabolitlerinin fiziko-kimyasal özellikleri.
- ç) Ürünün işlenmesi sonucunda toksik metabolitlerin oluşma ihtimali.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM **Çeşitli ve Son Hükümler**

Numune alma ve analiz metotları

MADDE 8 – (1) Bu Yönetmelik kapsamında, kontrol amacıyla numune alma işlemi, gıdalarda pestisit kalıntılarının resmî kontrolü için numune alma metotları ilgili mevzuata göre, analizi ise uluslararası kabul görmüş analiz metotlarına göre yapılır.

İdari yaptırımlar

MADDE 9 – (1) Bu Yönetmeliğe aykırı davranışlar hakkında 5996 sayılı Kanunun ilgili maddelerine göre idari yaptırım uygulanır.

Yürürlükten kaldırılan mevzuat

MADDE 10 – (1) 29/12/2011 tarihli ve 28157 sayılı 3 üncü mükerrer Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği yürürlükten kaldırılmıştır.

Geçiş hükümleri

GEÇİCİ MADDE 1 – (1) Bu Yönetmeliğin yayımı tarihinden önce faaliyet gösteren gıda işletmecileri, 1/10/2014 tarihine kadar bu Yönetmelik hükümlerine uyum sağlarlar. Bu tarihe kadar 29/12/2011 tarihli ve 28157 sayılı 3 üncü mükerrer Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği hükümlerinin uygulanmasına devam olunur.

Yürürlük

MADDE 11 – (1) Bu Yönetmelik yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

Yürütme

MADDE 12 – (1) Bu Yönetmelik hükümlerini Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanı yürütür.

KAYNAKLAR

- (1) Çağatay Güler, Zakir Çobanoğlu, “Pestisitler”, Çevre Sağlığı Temel Kaynak dizisi No:52, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, 1997
- (2) Mustafa Karakaya, Nuh Boyraz, “Gıda Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları”, Çevre Dergisi
- (3) Özge Çetinkaya Açar, Sevilay Kırış, Fazıl Diler, “Gelişen Analiz Tekniklerinin Pestisit Analizlerine Yansıması:Nereden Nereye?”, 1.Bitki Koruma Ürünleri ve Makineleri Kongresi, 2-5 Nisan 2013, Antalya
- (4) Özge Çetinkaya Açar, Ayşe Avcı, Sevilay Kırış, Özge Metin, Fazıl Diler, “Pestisit Analizlerine Genel Bakış”, UGRL dergisi Cilt:1 Sayı:1, sayfa 37-41, Haziran 2010.
- (5) M. Anastassiades, S.J. Lehotay, D. Stajnbaher, F.J. Schenck, J. AOAC Int. 86 (2003) 412.
- (6) S.J. Lehotay, K. Mastovská, A.R. Lightfield, J. AOAC Int. 88 (2005), 615–629 &60A.
- (7) M. Anastassiades, E. Scherbaum, B. Tas, delen, D. Stajnbaher, in: H. Ohkawa, H. Miyagawa, P.W. Lee (Eds.), Crop Protection, Public Health, Environmental Safety, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007, p. 439.
- (8) SANCO/12571/2013 Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed