



**MUĞLA BÖLGESİNDE ÜRETİLEN BALLARDA
ANTİBİYOTİK KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

Hatice BAĞCI

**VETERİNER-FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

**Prof. Dr. Hidayet YAVUZ
Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR
Tez No: 2019-022**

2019 – AFYONKARAHİSAR

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MUĞLA BÖLGESİNDE ÜRETİLEN BALLARDA ANTİBİYOTİK
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

Hatice BAĞCI

**VETERİNER-FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hidayet YAVUZ

Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 18.SAĞ.BİL.18 proje numarası ile desteklenmiştir.

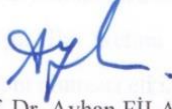
Tez No: 2019-022

2019-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
 çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Tezli Yüksek Lisans Dönem Projesi olarak kabul edilmiştir.

Savunma Tarihi: 17 / 06 / 2019



Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ
 Ankara Üniversitesi
 Jüri Başkanı



Prof. Dr. Hidayet YAVUZ
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Üye



Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR
 Karabük Üniversitesi
 Üye



Dr. Öğr. Üyesi Ruhi TÜRKMEN
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Üye



Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Üye

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Hatice BAĞCI'nın "Muğla Bölgesinde Üretilen Ballarda Antibiyotik Kalıntılarının Araştırılması" başlıklı tezi günü saat 'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Esma KOZAN
 Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Hayvansal gıdalar içerisinde önemli yeri olan bal, sağlık kaynağı olarak eski tarihten günümüze kadar kullanılmasına rağmen, gıda maddesi olarak çeşitli kimyasallarla kirlenerek halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır.

Bu tez çalışması, Muğla bölgesinde üretilen ve tüketime sunulan ballarda, insan sağlığı açısından olumsuz sonuçları bulunan tetrasiklin ve sülfametazin kalıntılarının tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır. Bal üretimi ve tüketiminde antibiyotik kalıntı sorununun bulunması insan sağlığını olumsuz etkilediği bilinmektedir.

Tez çalışmamda beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerini paylaşan, yardımlarını esirgemeyen danışman hocalarım Prof. Dr. Sayın Hidayet YAVUZ, Prof. Dr. Sayın Mehmet ÖZDEMİR'e, yüksek lisans eğitimimde bana katkı sağlayan saygıdeğer hocalarıma ve bu çalışmanın gerçekleşmesinde rol alan Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ve saygılarımı sunarım. Çalışmaya katılarak bal numunelerini paylaşan bal üreticilerine, balları temin etmemde yardımcı olan tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışması aşamalarında beni her zaman destekleyen, sabır gösteren sevgili eşim İsmail BAĞCI'ya ve kızlarıma çok teşekkür ederim.

Hatice BAĞCI

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER.....	vii
TABLolar.....	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Arıcılık	1
1.2. Bal Tanımı ve Önemi	2
1.3. Dünya’da ve Türkiye’de Bal Üretimi	4
1.4. Muğla İlinde Bal Üretimi	5
1.5. Balın Sınıflandırılması	6
1.6. Balın Bileşimi	7
1.7. Balın Ürün Özellikleri ve Diğer Özellikler	8
1.8. Balda İlaç Kalıntısı ve Yasal Düzenlemeler	9
1.8.1. Antibiyotikler	12
1.8.1.1. Tetrasiklinler.....	13
1.8.1.2.Sülfonamidler.....	14
1.9. Türkiye’de Antibiyotik Kullanımını Gerektiren Arı Hastalıkları.....	15
1.9.1. Amerikan Yavru Çürüklüğü	16
1.9.2. Avrupa Yavru Çürüklüğü.....	17
1.10. Arıcılıkta Kullanılan Antibiyotikler	17
1.11. Balda Antibiyotik Kalıntıları Limitleri ve Kalıntıların Sağlığa Etkileri	18
1.12. Balda Antibiyotik Kalıntıları ile İlgili Bazı Çalışmalar	21
1.13. Balda Antibiyotik Kalıntılarının Tespitinde Kullanılan Yöntemler	22
1.13.1. ELISA	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM	25
2.1. Gereçler.....	25
2.2. Yöntem	29

2.2.1. Sülfametazin (SM2) ELISA Kiti	30
2.2.1.1. Kitin Çalışma Prensibi (Numune Hazırlanması).....	30
2.2.1.2. Teknik Gereklilikler	31
2.2.1.3. Kit İçeriği	31
2.2.1.4. Solüsyon Ön Hazırlık Aşaması	32
2.2.1.5. Ekstraksiyon (Numunelerin Hazırlanması).....	32
2.2.1.6. Analiz İşlemi	33
2.2.2. Tetrasiklin ELISA Kiti	33
2.2.2.1. Teknik Gereklilikler	34
2.2.2.2. Kit İçeriği	34
2.2.2.3. Analiz İçin Tetrasiklin Standartlarının Hazırlanması	34
2.2.2.4. Kitin Çalışma Prensibi (Numune Hazırlanması).....	35
2.2.2.5. Analiz İşlemi	35
3. BULGULAR	37
4. TARTIŞMA	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	43
ÖZET.....	45
ABSTRACT	46
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ	53

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat Derece
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
g	Gram
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GC	Gaz Kromatografisi
kg	Kilogram
LC	Sıvı Kromatografisi
m-RNA	Messenger Ribonükleik Asit
meq/kg	Miliekivalent/Kilogram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
MKL	Maksimum Kalıntı Limiti
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
MS	Kütle Spektrometresi
ng	Nanogram
nm	Nanometre
ppb	Part Per Billion
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
UPLC	Ultra Basınçlı/Performans Sıvı Kromatografi
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER

Şekil 2. 1. Hassas Terazî	26
Şekil 2. 2. İnkübatör.....	26
Şekil 2. 3. Çoklu Vorteks	27
Şekil 2. 4. Soğutmalı Santrifüj.....	27
Şekil 2. 5. Mikropipet	28
Şekil 2. 6. Çoklu Evaporatör.....	28
Şekil 2. 7. ELISA Okuyucu.....	29



TABLolar

Tablo 1. 1. Türkiye Arıcılık Verileri (ton) (TUİK, 2018)	4
Tablo 1. 2. Muğla İli Arıcılık Verileri	5
Tablo 1. 3. Muğla İlçelerinde 2018 Yılına Ait Arıcılık Verileri.....	6
Tablo 1. 4. Hayvansal Gıdalarda/ Balda Bulunması Yasaklı Maddeler.....	19
Tablo 1. 5. Balda Antibiyotik Kalıntılarında Uygun Olmayan Sonuç Kararı Almak İçin Limit Değerler	21
Tablo 2. 1. ELISA Kit İçeriği	31
Tablo 3. 1. Bal Numunelerinde Tetrasiklin Antibiyotik Kalıntı Tespiti.....	37
Tablo 3. 2. Bal Numunelerinde Sülfametazin Antibiyotik Kalıntı Tespiti	37
Tablo 3. 3. Üreticilerden Alınan Örneklerle Ait Antibiyotik Kalıntı Değerleri (ppb)	38

1. GİRİŞ

1.1. Arıcılık

Bal, arılar tarafından farklı kaynaklardan yararlanılarak elde edilen ve dünyada birçok bölgede üretilen ortak bir besin maddesi olarak bilinmektedir. Arıcılık ürünleri içerisinde yer alan bal, gerek üretim gerekse de önemli bir girdi kaynağı olmakla beraber, üreticileri için de temel geçim kaynağı olmuştur (Günbey, 2009).

Arıcılık çok eski çağlardan beri insanlığın vazgeçemediği bir tarım koludur. Arıcılığın bir tarım kolu olarak görülmeğe başlanması, insanların ağaç kovuklarına yuva yapan arılara zarar vermeden bal almaları ve bir miktar balı da arılara bırakmaları ile başlamıştır. Arı ürünlerinin uzun yıllardır ilgi görmesinin nedeni içerdiği vitamin ve minerallerin insan sağlığı ve gelişimi üzerine olan etkisidir. Arı ürünleri içerisinde en çok bilinen ve tüketilen bal, insan beslenmesindeki faydalarının dışında, hastalıklardan koruyucu ve iyileştirici özelliklere de sahiptir. Balın kimyasal özelliklerine bağlı olan tedavi edici özellikleri arıların bulunduğu bölgedeki bitki çeşitliliğine göre değişiklik göstermektedir (Kabakçı, 2011; Lermi, 2010).

Eski Mısırlılar göz iltihaplarının tedavisinde, cerrahi pansumanlarda, Çinli ve Hintliler ise çiçek hastalığının yayılmasını önlemek için hasta vücudunu bal ile kaplıyorlardı. Ayrıca kulak, ağız ve boğaz hastalıklarının sağaltımında da kullanılıyordu. Ancak bal fazla ısıtılırsa mikrop öldürücü etkisi kaybolmaktadır. 60°C’de etkisini koruduğu ancak 100°C’de bir saat ısıtıldığında etkisinin tamamen ortadan kalktığı görülmektedir (Portakal, 2010).

Bal arısı, gıda ve farmakolojik değerler bakımından üstün olan bal, balmumu, arısütü, arı zehiri, propolis vb. türevlerini üretir. Ayrıca, bitkilerdeki tozlaşmayı sağlayarak, ürünlerin kaliteli ve üretim miktarının artmasına olanak sağlar (Bal, 2016). Arıların ürettiği bal ve türevleri toplumda birçok hastalığın iyileştirilmesi için yaygın bir şekilde uygulanmaktadır (Şahinler, 2000).

1.2. Bal Tanımı ve Önemi

Bitkilerdeki çiçek özü ya da bitkilerin canlı bölümlerinden yararlanarak, çeşitli böcek türlerinin (*Marchalina hellenica*) serbest bıraktığı ürünlerin bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından toplandığı ve bu arıların vücutlarında değiştirilerek petek gözlerinde depolandığı ve bu gözlerde olgunlaşıp oluşan bir üründür. Bu ürün (bal), insanların sağlığı ve beslenmesi açısından son derece önemlidir (Anonim, 1990; Anonim, 2000; Bucak, 2011).

Bal saf ve doğal olmalı ve hiçbir katkı maddesi veya kalıntı içermemelidir (TGK, 2012). Balın rengi, su beyazından koyu kahverengiye kadar değişiklik gösterebilir. Bal akıcı, viskoz, kısmen veya tamamen kristalize olabilir. Balın kaynağına ve bitkinin türüne göre balın tadı ve aroması değişir (Anonim, 2017).

Bal, insan sağlığı açısından önemli bir besin maddesi olmakla birlikte, enerji kaynağı olarak da kullanılmakta ve çeşitli hastalıkların sağaltımında tercih edilmektedir (Şahinler, 2000).

Yapılan bir çalışmada, bal mide ülserine neden olan *Helicobacter pylori*'yi baskılayarak ülser oluşumunu engellediği ve ülser hastalığının ilerlemesini önlediği belirtilmektedir (Kapucu, 2007). Sindirim sistemi üzerindeki iyileştirici etkisi çeşitli otoriterler tarafından günümüzde de kabul edilmektedir. Buna ek olarak yara ve yanıkların tedavisinde, cildi nemlendirme ve beslemesinde, çeşitli ilaçların etken maddelerinde kullanılmaktadır. Ayrıca, uykusuzluk, böbrek fonksiyonları, kardiyovasküler sistem, karaciğer rahatsızlıkları (Ajibola ve ark., 2012) ve vücut ısısının dengelenmesinde de balın yararlı etkileri olduğu ortaya konmaktadır. (Şahinler, 2000).

Yapılan bir çalışmada da balın antioksidan özelliğinden bahsedilmiş, diyabet, kanser ve damar tıkanıklığına karşı koruyucu özelliği olduğu belirtilmektedir (Kapucu, 2007).

Bir çalışmada da, ağız ve solunum yolu enfeksiyonunda balın antibakteriyel etkisinin bulunduğu ve ayrıca yara, yanık ve ülserin iyileşmesine katkıda bulunduğu belirtilmektedir (Polat, 2011).

Maksimum antibakteriyel etkiyi sağlamak amacıyla sıcak olmayan ve güneş görmeyen bir yerde saklanmalı ve taze olarak tüketilmesi önerilmektedir (Öztürk, 2012).

Sinir sistemi üzerinde de balın olumlu etkilere sahip olduğu gerginliğe, depresyona, baş ağrısına, uyku problemlerine iyi geldiği, sakinleştirici etkisinin bulunduğu belirtilmiştir (Kapucu, 2007).

Balın kanser ve tümör hücreleri üzerinde de olumlu etkilerinin olduğu, göz hastalıklarında korneal ödemlerde, topikal uygulamalarda ışın tedavisi ile tedavi başarısını arttırdığı, deri iltihaplarında, kozmetik sanayide, nekrotik dokularda ve ödemlerin iyileşmesinde, granülasyonda ve epitelizasyonda etkili olduğu bildirilmiştir (Bal, 2016).

Bal, yüksek enerji ve karbonhidrat içeren bir madde olması, aroması, tadı ve diğer üstün özelliklerinden dolayı, insanlar tarafından enerji ve besin kaynağı olarak bilinen ve tüketilen arı ürünüdür (Ulusoy, 2012).

Apiterapi, arı ve arı ürünlerinin bazı hastalıkların sağaltımında destekleyici ve tamamlayıcı olarak kullanımı, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği 27/10/2014 tarih ve 29158 sayılı Resmi gazetede yayımlanarak yürürlüğe girmiş, Türkiye’de resmi olarak uygulanmaya başlanmıştır. Bal, polen, arı sütü, arı zehiri ve propolis ürünleri, Apiterapi tedavisinde kullanılmaktadır (Öztürk ve Selçuk, 2016). Son yıllarda dünyada arı ürünleriyle tedavi, önemli bir gelişme göstermiştir.

Apiterapi tedavisinde özellikle bal kullanımı yurtdışında önemli bir yer tutarken, Türkiye’de özellikle beslenme amacıyla daha çok tercih edilmektedir. Yurtdışında

faaliyet gösteren apiterapi merkezleri, solunum ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında balın kullanımını tercih etmekte, ayrıca cilt bakımı için hazırlanan kremlerin yapımında kullanılmaktadır (Seğmenoğlu ve Baydan, 2012).

1.3. Dünya’da ve Türkiye’de Bal Üretimi

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2018 verilerine göre, Türkiye’de bal üretimi bir önceki yıla göre %5,7 azalarak 107 bin 920 ton olarak gerçekleştirilmiştir (TÜİK, 2018).

2017 yılında Dünya bal üretiminde Çin’den sonra ikinci sırada yer alan Türkiye, ihracatta 22. sırada yer almaktadır. Bu durumun sebebi; bal maliyetinin yüksek olması ve bundan dolayı Türkiye’nin uluslararası piyasada rekabet şansını azaltmasıdır. Son yedi yıllık dönem dikkate alındığında, en yüksek ithalat miktarı 2014 yılında 12 ton (Tablo 1.1.) olarak gerçekleşmiştir (Burucu, 2017).

Tablo 1. 1. Türkiye Arıcılık Verileri (ton) (TÜİK, 2018)

	2014	2015	2016	2017	2018	Değişim
Kovan Sayısı (1000 adet)	7083	7748	7900	7991	7904	% -1,1
Verim (kg/kovan)²	14,62	13,96	13,38	14,32	13,65	% -4,7
Bal Üretim	103525	108128	105727	114471	107920	% -5,7
İşletme Sayısı (adet)	81108	83475	84047	83210	81830	% -1,6
İthalat	11,95	0,09	1,02	0,27	0	% -73,6
İhracat	4969	7192	3623	6448	5912	% -8,3

Ülkemizde bal üretimine iller bazında bakıldığında sırasıyla; Muğla, Ordu, Aydın, Adana, Sivas, Antalya, Mersin, İzmir, Balıkesir, Trabzon, Erzurum, Giresun, Bingöl, Bitlis, Kars ve Diyarbakır’da olduğu belirtilmektedir (Kabakçı, 2011).

1.4. Muğla İlinde Bal Üretimi

Muğla ilinde başlıca arıcılık ürünü çam balı olup, Türkiye üretiminin yaklaşık olarak %75-80'lik kısmını karşılamaktadır. Bu özelliğinin yanı sıra Muğla İli, kışların ılıman geçmesi nedeniyle ülke arıcılarına yıl boyu sınırsız floral kaynak sunmaktadır. Bu zengin floral kaynaklardan dolayı, arıcılar kolonilerini geliştirme imkânı bulmaktadır. Bunun dışında, bölge arıcılığı için, narenciye ve badem türlerinden oluşan geniş bitki florasının olması büyük önem arz etmektedir. Bir başka zenginlik kaynağı ise; günlük (sığıla) ağacıdır (Anonim, 2017). Tablo 1.2.'de Muğla ili sınırlarında yer alan son 5 yıla ait kovan sayıları, bal üretim değerleri ve işletme sayıları verilmiştir (TUIK, 2018).

Tablo 1. 2. Muğla İli Arıcılık Verileri

	2014	2015	2016	2017	2018	Değişim
Kovan Sayısı (1000 adet)	827	995	983	958	933	% -2,6
Bal Üretim	15282	15206	15875	15900	14777	% -7,1
İşletme Sayısı (adet)	4435	4947	4833	5080	4710	% -7,3

Tablo 1.3'de Muğla ili ve ilçelerinde 2018 yılına ait kovan sayıları, bal üretim değerleri ve işletme sayıları verilmiştir (TUIK, 2018).

Tablo 1.3 dikkate alındığında Muğla ilinde kovan sayısının en çok olduğu ilçeler Milas, Marmaris ve Köyceğiz ilçeleridir. Bu ilçelerde bulunan toplam kovan sayısı, Muğla ili sınırları içerisinde yer alan tüm kovanların %51'ini oluşturmaktadır. İlçeler içerisinde en az sayıda kovan ise Kavaklıdere ilçesi olarak görülmektedir.

Tablo 1. 3. Muğla İlçelerinde 2018 Yılına Ait Arıcılık Verileri

	Kovan Sayısı	Bal Üretim (Ton)	İşletme Sayısı (adet)
Bodrum	24250	486	240
Dalaman	54300	820	176
Datça	30740	399,62	125
Fethiye	36646	622,982	424
Kavaklıdere	5650	67	68
Köyceğiz	149455	2540	592
Marmaris	157000	2000	700
Menteşe	71939	1480	330
Milas	165000	2754	749
Ortaca	24486	367,29	145
Seydikemer	42858	350	314
Ula	107000	1449,952	479
Yatağan	63831	1440,23	368
TOPLAM	933155	14777,07	4710

1.5. Balın Sınıflandırılması

Bal, kaynağına göre ya da üretim ve pazarlama şekline göre sınıflandırılır. Elde edildiği kaynak dikkate alındığında bal, çiçek ve salgı balı olarak 2 sınıfa ayrılır. Üretim ve pazarlama yöntemine göre ise süzme bal ve petekli bal olarak sınıflandırılmaktadır (Bucak, 2011).

Dünyada üretilen balların sınıflandırılması birçok kriter ve parametreye göre yapılmaktadır. Türkiye’de üretilen ballar kaynağı, üretim ve pazarlama şekli, rengi ve nem içeriği baz alınarak değerlendirilir (Günbey, 2009).

Ülkemizde bölge ve flora kaynaklarına göre; Karadeniz Bölgesinde kestane-ıhlamur-ormangülü balları; Batı Anadolu Bölgesinde kestane-ıhlamur balları; Ege, Çukurova, Güneydoğu Bölgesinde pamuk balı; Muğla ve Aydın İllerinde çam balı; Akdeniz Bölgesinde narenciye balı; Anadolu, Doğu Anadolu Bölgelerinde yayla balı;

Trakya Bölgesinde ayçiçeği balı üretilmektedir. Özellikle Muğla, Aydın, Ordu, Mersin, Adana ve diğer illerimizde arıcılık faaliyetleri oldukça önemlidir. Kovan başına bal üretiminin yüksek olduğu illerde, kovan sayısının da fazla olduğu görülmektedir (Özcan, 2009).

Çiçek balı, değişik bitkilerden bal arılarının topladıkları nektarlarla yaptıkları bal türüdür. Ayçiçek, narenciye, pamuk, üçgül, akasya, fiğ, geven vb. ballar çiçek balı türünde bilinen ballardır. Basra (*Marchelina hellenica*) olarak bilinen ve bitkiler üzerinde yaşayan eş kanatlı böceklerin bitkilerin üzerine bıraktığı salgılar, bal arıları tarafından toplanarak vücutlarında değişime uğratıp salgı balını oluştururlar. Balın içeriği, arıların tercih ettikleri bitkilerin türüne, iklim koşullarına, arının cinsine ve yaşı gibi çeşitli etkenlere göre değişiklik göstermektedir. Bundan dolayı üretilen ballar, farklı özellikler taşımaktadır (Ölmez, 2009).

1.6. Balın Bileşimi

Literatüre göre balın bileşimi, üretimin yapıldığı bölgedeki bitki çeşitlerine ve üretimin olduğu yıla göre değişmektedir. Bal; karbonhidratlar, amino asitler, mineral maddeler, bazı tat ve aroma maddeleri, enzimler ve vitaminlerden oluşan bir gıda maddesidir. Yapılan araştırmalarda, baldaki su miktarının değişiklik gösterdiği ve normal bir şekilde olgunlaşmış ballarda su miktarının %17,2 olduğu belirtilmiştir (Kabakçı, 2011).

Birçok etkene bağlı olarak balın kimyasal yapısında farklılık bulunmaktadır. Nektar ve salgının doğal bileşimi, iklim şartları ve arının bal yapma özelliği önemli etkenlerdir (Kabakçı, 2011).

Kimyasal açıdan balın yaklaşık %80'ni farklı şeker gruplarından (%35 glukoz, %40 fruktoz, %5 sukroz), %17'si ise sudan meydana gelmektedir. Diğer %3'lük kısım, enzimler başta olmak üzere, glukonik asit, amino asitler, lakton, fenol bileşikleri, mineraller ve çeşitli vitaminler gibi 180 civarında farklı maddeden oluşmaktadır. Ayrıca bal, demir, potasyum, kalsiyum, bakır, fosfor, magnezyum, silisyum,

alüminyum, nikel, krom ve kobalt gibi değerli mineraller de barındırmaktadır (Karadal ve Yıldırım, 2012).

Balın temel bileşimini karbonhidratlar oluşturmaktadır. Karbonhidratların %85-95'ini glukoz ve früktoz oluşturmaktadır. Bunun dışında maltoz, sakaroz, melezitoz, isomaltoz, ve laktoz gibi şekerler de bulunmaktadır (Gül, 2008). Başta glukoz ve fruktoz monosakkaritleri olmak üzere balda 25 adet oligosakkarit (mono-, di-tri ve tetrasakkaritler) bulunmaktadır. TSE'ye göre balda sakkaroz oranı %5'in altında olmalıdır (Çavrar, 2009).

1.7. Balın Ürün Özellikleri ve Diğer Özellikler

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Bal Tebliği'nde, bala ait bazı özellikler aşağıda belirtilmektedir (Anonim, 2005).

1) Bala gıda katkı maddeleri de dâhil olmak üzere dışarıdan hiçbir madde katılamaz. Bala, doğal bileşiminde bulunmayan organik ve/veya inorganik maddeler katılamaz.

2) Yabancı organik veya inorganik maddelerin ayrılması sırasında kaçınılmaz olan kayıplar dışında baldan polen veya diğer bala özgü bileşenler uzaklaştırılmaz.

3) İnsan sağlığını tehdit eden hiçbir patojen mikroorganizma, parazit ve/veya parazit yumurtası bulunamaz.

4) *Clostridium botulinum* bulunamaz.

5) Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Şeker Tebliği'nde yer alan şekerleri içeremez.

6) Balın tadı ve aroması, balın kaynağına ve üretildiği bitkinin türüne bağlı olarak değişmekle birlikte, bal kendine özgü koku ve tada sahip olmalıdır.

7) Balın rengi su beyazından koyu amber renge kadar değişebilir. Salgı balının rengi pfund skalaya göre en az 60 olmalıdır.

8) Petekli ballarda, peteğin en az % 80'i sırlanmış olması gerekmektedir (Anonim, 2005).

Balın yapısında 181'in üzerinde madde bulunmaktadır. Bu maddeler başlıca fruktoz (% 38) ve glukozdan (% 31) oluşmakta, mineral, protein, serbest aminoasit, enzim ve vitaminleri içermektedir (Polat, 2011).

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği; Bal Tebliği'ne göre, çiçek ve salgı balında nemin % 20'den fazla olamayacağı bildirilmiştir (Anonim, 2005). Balda nem oranı normalde % 16–21 arasında değişmektedir. Fakat nem miktarı arttıkça hem balın kalitesi düşmekte hem de balın fermente olma riski artmaktadır (Gül, 2008).

Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (2012) kaliteli bir baldaki serbest asitlik miktarının 50 meq/kg'dan fazla olmaması ve bala hiçbir katkı maddesinin katılmaması gerektiğini bildirmektedir (TGK, 2012).

1.8. Balda İlaç Kalıntısı ve Yasal Düzenlemeler

Gün geçtikçe gıdalarda kalıntı sorununun varlığı neticesinde yasalarla insan sağlığına olumsuz etkilerini önleyen çalışmalar artmaktadır. Avrupa Birliği İlaç Değerlendirme ve Danışma Merkezi (EMA) oluşturulmuştur. Bu merkeze bağlı olan Veteriner İlaç Ürünleri Komitesi (CVMP) bünyesinde Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL) belirlenmiştir (Uludağ, 2008).

Veteriner medikal ürünlerinin piyasaya çıkarılmalarına izin verilmeden önce, (Avrupa Birliği 2377/90 sayılı yönetmelik) toksikolojik çalışmalarla Maksimum Kalıntı Limitlerinin belirlenmesini zorunlu hale getirilmiştir (Uludağ, 2008).

Maksimum kalıntı limitleri (MKL) belirlenmiş olan maddelere yönelik dikkate alınacak kalıntı seviyeleri Türk Gıda Kodeksinde belirlenmiştir. Eğer bir veteriner ilacı için MKL belirtilmemiş ise gıda maddelerinde bu ilaç kalıntısının bulunmaması gerekmektedir (GKGM, 2018).

- Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği (RG: 07.03.2017/30000)

- Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği (RG: 25.11.2016/29899)

- Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği (RG: 29.12.2011/28157)

Türkiye’de üretilen ballar, dünya piyasasında önemli gelişmeler göstermekle beraber bazı olumsuzluklarla da karşılaşmaktadır. Bu olumsuzlukların en önemlisi, balda veteriner ilaç kalıntılarına rastlanmasıdır. Bal arılarındaki çeşitli hastalıkların önlenmesine yönelik, arıcılar tarafından bilinçsizce kullanılan farklı ilaçların, bal numunelerinde kalıntı yarattığı bilinmektedir (Sunay, 2006).

Kalıntı; çevreden kontaminasyon yolu ile veya ilaç uygulanmış hayvanlardan elde edilen gıdalardaki farmakolojik özelliğe sahip etkin maddenin kendisi, parçalanma ürünleri ya da metabolizma ürünleri olarak ifade edilmektedir (Gül, 2008).

Veteriner hizmetleri, bitki sağlığı, gıda ve yem kanununa göre kalıntı; bitki koruma ürünü kullanımı sonucu, bitki, bitkisel ürünler ile yenilebilir hayvansal ürünlerin içinde, üzerinde veya çevrede bulunan, metabolitler ile yıkılma veya reaksiyon sonucunda oluşan ürünler dahil bir ve birden fazla maddeyi veya hayvansal ürünlere geçerek insan sağlığı üzerinde olumsuz etki yaratma ihtimali bulunan farmakolojik etkili maddeler ve bunların metabolitleri veya diğer maddelerini ifade eder (Anonim, 2010).

Başta bal olmak üzere tüm arı ürünlerinin insanlara faydalı olabilmesi için hiçbir kalıntı ve yabancı madde içermemesi gerekir. Arı hastalıklarını önlemek amacıyla uygulanan ilaçlar, bal ve arı ürünlerinde kalıntıya neden olur. Sağaltım amacıyla kullanılan ilaçlar, arılar tarafından bal özü, çiçek tozları vb. besinler ile kovana getirilerek dolaylı olarak arı ürünlerinde kalıntılara neden olmaktadır (Kortel, 2015).

Ballarda rastlanan ilaç kalıntılarının en önemli iki nedeni bulunmaktadır. Bunlardan ilki; arı hastalıklarıyla mücadelede kovanlara ilaç uygulanmasıdır. İkinci nedeni ise, tarımsal ilaçlardır. Arılar bu ilaçları bitki özlerinden emer ve kovana taşırlar. Tarımsal mücadelede kullanılan pestisitler arılar için de zehirlidir, fakat kullanılan miktarın düşük olması nedeniyle arılar ölmez ama balda kalıntı oluşturur (Seğmenoğlu ve Baydan, 2012).

Arı yetiştiricilerinin bugüne kadar kullandıkları ilaç ve benzeri maddeler, antibiyotikler, parazit ilaçları, vitaminler, mantar ilaçları ve parafinlerdir. Bal ve arı ürünlerinin değerli ve faydalı olmasında önemli unsur bu maddeleri içermemesinden kaynaklanır. Bal ve tüm arı ürünlerinin olabildiğince doğal olması ve herhangi bir madde içermemesi, bu ürünlerin yararlı ve değerli olmalarını sağlar. Bundan dolayı bütün ilaçların belirli şartlar altında kullanılması arıcılığı destekleyerek, tüketimde bazı problemlerin ortaya çıkmasını önleyecektir (Uludağ, 2008).

Bal ve ürünlerinde rastlanan kalıntıların temel nedeni antibiyotikler (bal ve arı sütündeki kalıntılar), bal mumu ve arı reçinesinde ise lipofilik akarasitlerdir (Şenyuva ve Sincer, 2016).

Arı üreticileri bilinçsizce, yanlış zaman ve dozda bu ilaçları kullandıklarında kalıntı sorunu oluşmakta ve bu kalıntılar insan sağlığına zarar verdikleri için dış ülke pazarlamasında iadelere neden olmaktadır. Bu ballar ülkemiz iç pazarında tüketime sunulmaktadır. Diğer önemli bir konu, Türkiye’de yeterli denetimlerin yapılmamasından dolayı, insan sağlığına zarar verebilecek birçok tatlı madde bal görünümü verilerek piyasada tüketiciye sunulmaktadır (Tolon ve Altan, 1999).

1.8.1. Antibiyotikler

Antibakteriyeller, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde, ayrıca besin değeri olan çiftlik hayvanlarının büyümelerini hızlandırmak ve yüksek verim sağlamak amacıyla yoğun olarak kullanılmaktadırlar. β -laktam, kloramfenikol, tetrasiklinler, makrolidler, spektinomisin, linkozamid, nitrofuran, sülfonamid, nitroimidazol, trimethoprim, polimiksin, kinolon ve makrosiklik türevi ilaçlar bahsedilen nedenler ile en çok tercih edilen ilaçlardır. Hayvan yetiştiriciliğinde bu ilaçların bilinçsizce ve yasal olmayan kullanımları neticesinde insanlar tarafından tüketilen et, süt, yumurta, bal ve hayvanların yenilebilir diğer dokularında kalıntılara rastlanmaktadır (Yıbar ve Soyutemiz, 2013).

Antibiyotikler, hayvanların kaslarında, iç organlarında (özellikler böbrek ve karaciğer gibi) ve diğer organlarında birikerek süt, yumurta ve bal gibi hayvansal besinlere de geçebilmektedir (Yıbar ve Soyutemiz, 2013).

Yapılan araştırmalarda arıcılıkta gentamisin, eritromisin, penisilin, tetrasiklin, streptomisin, ofloksasin ve sülfonamidlerin de profesyonel olmayan şekilde kullanıldığı bildirilmektedir. Bu antibiyotik kalıntıları balın kalitesini düşürerek insan sağlığı üzerinde toksik, akut ve kronik etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Zai ve ark. 2013).

Bugün yaygın olarak bilinen bal arısı hastalıkları yavru çürüklüğü ve nosema hastalığıdır. Bunlardan korunmak için farklı yöntemler olmasına rağmen kimyasal yöntemler kullanılır. Streptomisin, tetrasiklinler veya sülfonamidler gibi kloramfenikol de Amerikan yavru çürüklüğünün tedavisinde kullanılmaktadır (Toptancı, 2013).

Maksimum Kalıntı Limiti bir gıda maddesinde, ilaçlardan kaynaklanan bulunabilecek en yüksek kalıntı konsantrasyonudur (mg/kg). MKL değerleri dünya standardı olarak kabul edilir. Avrupa Birliği, onaylanmış bazı anti-Varroa ilaçlarının dışındaki hiçbir ilacın arıcılıkta kullanımına izin vermemektedir (Toptancı, 2013).

Eğer bir ilacın belirlenmiş MKL değeri yoksa, bu ilaç kalıntısının balda ya da petekte var olmaması gerekmektedir. MKL değerleri belirtilmemiş ilaçların kalıntı limitleri 0,01 mg/kg sınırını geçmemelidir (Toptancı, 2013).

Yapılan yayınlarda, kırsal kesimde ve dağlık (yüksek) bölgelerde üretilen balın, kentsel yerlerde üretilen bala göre daha az kontamine olduğu belirtilmiştir. Bunun nedeninin egzoz gazları, toz ve havada uçuşan partiküller olduğu söylenmiştir (Toptancı, 2013).

1.8.1.1. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler, streptomyces türü bazı mantar kültürlerinden elde edilen geniş spektrumlu ve veteriner hekimlik alanında birçok hastalığın tedavisinde en fazla kullanılan antibiyotik gruplarından birisidir (Türksever, 2017).

Geniş spektrumlu oldukça sık kullanılan antibiyotiklerdir. Gram (-) ve gram (+) bakterilerden başka brusella, riketsiya, mikoplazmalar, klamidy ve bazı protozalara da etki gösterirler. Başlıca tetrasiklinler, oksitetrasiklin, metilensiklin, tetrasiklin, doksisisiklin ve minosiklin'dir (Dökmeci ve Dökmeci, 2016).

Tetrasiklinler bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe etmek suretiyle bakteristatik etki oluştururlar. Tetrasiklinler oral, parenteral, meme içi ve deri yoluyla uygulanabilmektedir. Tek mideli hayvanlar, buzağı, dana, kuzu, oğlak ve kanatlılara ağız yoluyla verilebilirler (Türksever, 2017).

Tüm tetrasiklinler uygulandıktan sonra karaciğerde birikir ve çözünürlüğü daha yüksek olan glukuronid konjugatlarına dönüştürülürler. Tetrasiklinlerin çoğu, karaciğerde konsantre olup safra ile atılırlarsa da itrahları esas olarak böbrek yoluyla olur. Bu grup antibiyotiklerin çoğunluğu, oral ya da intravenöz uygulamayı takip eden 24 saat içinde büyük oranda (% 20-60) idrar yolu ile vücuttan atılmaktadır (Türksever, 2017).

Tetrasiklinlerin görülen yan etkileri, sindirim bozuklukları, sarılık, böbrek bozuklukları, kemik ve dişlerde kararır, fotosensitizasyon, cilt reaksiyonları, hepatotoksisite ve süperenfeksiyondur (Dökmeci ve Dökmeci, 2016).

1.8.1.2.Sülfonamidler

Sülfonamidler, yapılarında benzen halkası, amin grubu ve sülfonamid grubu bulunduran antibakteriyel ilaçlardır. Beşeri hekimlikte ve veteriner hekimlikte sıkça tercih edilmektedir. Sülfonamidler, penisilinlerin tedavide kullanılmasına başlanmasına kadar bakteriyel enfeksiyonlarda sistematik kullanılabilen ilk kemoterapötik ilaçlardır. Kullanım alanlarının geniş olması sebebiyle hayvan ürünlerindeki sülfonamid kalıntıları, alerjik özelliklerinden dolayı potansiyel sağlık risklerine neden olmakta ve günümüzde kalıntı tespitlerinde ilk sırada yer almaktadır (Örer, 2018).

Sülfonamidler, bakterilerin üremelerini durdurarak (bakteriyostatik) etkilerini gösterirler. Bakteri gelişmesi ve çoğalması için gerekli olan paraaminobenzoik asit (PABA) ile yarışmaya girerek bakterilerin üremelerini durdurur. PABA bakteri hücrelerinde folik asit yapımında gerekli olan bir maddedir (Dökmeci ve Dökmeci, 2016).

Sülfonamidler, sindirim sisteminden kolayca emilirler ve çoğunlukla böbrekler yoluyla aktif olarak atılırlar. Sülfonamidler gram (-) bakterilere, pseudomonas ve toksoplazmalara oldukça etkilidirler (Dökmeci ve Dökmeci, 2016).

Sülfonamidler genellikle sarı-beyaz renkli, tatları acı, kristalize toz halindedirler. Serbest asit formları suda dağılmaz, etanol ve asetonda kısmen dağılır. Bu bileşiklerin sodyum tuzlarının sudaki çözünürlükleri ise yüksektir. Safrada ve serumdaki çözünürlükleri iyidir (Örer, 2018).

Sülfonamidler genellikle güvenli maddelerdir, ama kullanılırken akut ve kronik nitelikte birçok istenmeyen ve zehirli etkiyle karşılaşılır. Bunların başlıcaları; mide

irkitisi, tükürük salgısında artış, bulantı, sürgün, kas güçsüzlüğü, idrar yollarında kristalleşme, idrar yapamama, akut hemolitik anemi, akuyuvar sayısında azalma, vitamin K eksikliği, yumurta kabuğunun şekillenmesinde bozulma, ürtiker, aşırı duyarlılık tepkimeleri (deri ve mukozalarda dökülme, ilaç hastalığı, ilaç ateşi, karaciğerde hücre ölümü gibi)'dir (Örer, 2018).

1.9. Türkiye’de Antibiyotik Kullanımını Gerektiren Arı Hastalıkları

Bal arılarında da diğer canlılarda olduğu gibi enfeksiyöz ve paraziter hastalıklar görülmektedir. Arılarda görülen yavru hastalıklarından Avrupa yavru çürüklüğü, Amerikan yavru çürüklüğü, kireç hastalığı, taş hastalığı, ergin arılarda görülen hastalıklar nosema, kronik ve akut arı felci, trake akarı vb, kovanların sönmesine ve hastalıkların yayılmasına neden olan varroa gibi arı zararlıları da kolonilerin zayıflamasına, verimlerinin azalmasına neden olmaktadır (Portakal, 2010).

Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından arı hastalık ve zararlılarına yönelik kullanılacak ilaçlar ruhsatlandırılmaktadır. Dünya genelinde yapılan çalışmaların sonucunda bazı ilaçların (özellikle antibiyotikler) tercih edilmeleri kalıntıya neden olduklarından sınırlandırılmıştır. Özellikle Amerikan yavru çürüklüğü, Avrupa yavru çürüklüğü ve sepsis için daha önce kullanımına izin verilmiş olan eritromisin tedavide kullanımı yasaklanmıştır. Bal arılarında bakterilerden dolayı oluşan Avrupa yavru çürüklüğü, Amerikan yavru çürüklüğü, sepsis hastalıkları için kullanımına izin verilmiş ilaç etkin maddesi olmadığından ruhsatlı hazırda bir ilaç bulunmamaktadır. *Varroa jacobsoni* (Arı canavarı), *Acarapis woodi* (Trakea akarı), *Meloe variegatus* (Yakı böceği), *Senotainia tricuspsis*, bal arıları için önemli olan parazitlerdir. Arıcılıkta önemli olan bal arısı zararlıları ise; büyük balmumu güvesi, küçük bal mumu güvesi, arı biti ve ölubaş kelebeği'dir. Arılardaki bu parazitlere karşı ruhsatlandırılmış ilaç etkin maddeleri amitraz, flumetrin, kaumafos, formik asit ve timoldur. Arı hastalıklarının önüne geçmek için, özellikle uzman ve eğitimli kişiler tarafından kontrollerin ve hastalık tanılarının yapılması gerekmektedir. Hastalık tanısı laboratuvarlarda arıcılar tarafından gönderilen örnekler incelenerek konulmalıdır (Anonim, 2017b).

Avrupa Birliği (AB) standartlarına uygun şekilde Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından varroa paraziti ve Amerikan yavru çürüklüğü hastalığı ihbarı zorunlu hastalıklar listesine dâhil edilmiştir (Portakal, 2010).

Arı yetiştiriciliğinde uygun olmayan bakım ve beslenme sonucunda arı hastalıkları görölmektedir. Sağlıklı arı yetiştirmek ve üretim sağlamak için doğru bakım ve beslenme, düzenli seleksiyon, hastalıklara karşı önlemlerin alınması ve profilaktik ilaçların kullanılmasıyla sağlanabilir. Varroa hastalığına yönelik kaumafos, malatyon, flumetrin, fluvalinat gibi insektisidler kullanılmaktadır. Kullanılan insektisitlerin belirlenen Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL) çeşitlilik göstermektedir (Uludağ, 2008).

İlaç kalıntı arınma süresi bal için “GÜN” olarak belirtilir. Tedavi süresince ve son ilaç kullanımından sonra 30 gün içerisinde üretilen ballar insan tüketimine sunulmamalıdır. İlaçlar, arılar bal üretimine başlamadan en az 32 gün öncesine kadar ve bal üretimi boyunca da kullanılmamalıdır. İlaç uygulamasının yapıldığı kovanlardan elde edilen balların insanların tüketimine izin verilmemesi gerekir. Arılar bal üretmeye (tutmaya) başladıktan ve sonrasında bal hasadı yapıłana kadar ilaç kullanılmamalıdır (Anonim, 2017c).

1.9.1. Amerikan Yavru Çürüklüğü

Amerikan yavru çürüklüğü (American Foulbrood Disease) etkeni, *paenibacillus larvae*’dır. Bu hastalık bal arısı larvalarında olan ve larvaların ölüp kokuşmasına neden olan bulaşıcı bir yavru hastalığıdır. Sporlu bir bakteri olan *paenibacillus larvae*, sporlar ana petekte 45 yıl, kovanda 33 yıl, toprakta ise 60 yıl yaşamını devam ettirebilmektedir. Hastalık belirtilerine bakıldığında, hastalıklı larvanın renginin önce beyazdan sarıya, daha sonra kahverengiye dönuştüğü, kapalı yavrulu gözlerin içbükey ve içe çökük olduğu, bazı kapalı yavrulu gözlerin üzerinde toplu iğne başı büyüklüğünde deliklerin olduğu, üzeri delik gözlerle kibrit çöpü batırılıp yavru kalıntısı çekildiğinde, kalıntının 4-10 cm uzadığı, kovan kapağı açıldığında tutkal kokusu benzeri koku hissedildiği görölmektedir (Bal, 2016).

1.9.2. Avrupa Yavru Çürüklüğü

Avrupa Yavru Çürüklüğü (Europea Foulbrood Disease) etkeni, spor oluşturmeyan *Melisococcus pluton* (*Streptococcus pluton*) isimli bakteridir. Hastalık belirtilerine bakıldığında, yavrulu alanların düzensiz ve dağınık olduğu, hastalıklı larvaların sarımtırak renk aldığı, daha sonra kahverengiye dönüştüğü, ölü larvanın bazen petek gözde bazen dik, bazen de erimiş şekilde gözün dibine yapışık olduğu belirtilmektedir (Bal, 2016).

Hastalığa karşı alınacak önlemlere bakıldığında, kovani değiştirmek, hasta barındırmayan güçlü kolonilerden ballı ve yavrulu çerçeve takviye etmek, şuruplama yapmak vb. gibi koloniyi kuvvetlendirici yöntemler tercih edilir. Hastalık belirlendiğinde hastalıklı petekleri imha etmek ilk öncelikli yapılması gereken işlemdir (Bal, 2016).

1.10. Arıcılıkta Kullanılan Antibiyotikler

Arıcılıkta ilaç; bal arılarını hastalıklardan korumak, infeksiyonları tedavi etmek, direnci kuvvetlendirilmek, fizyolojik dengeyi sağlamak, strese bağlı olumsuzlukları engellemek, üretim hatalarının giderilmesini sağlamak ve verimi arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (Uludağ, 2008). Arılar üzerinde kullanılmak için antibiyotik içeren ruhsatlı veteriner ilaçları bulunmamaktadır. Eritromisinin arılar üzerinde kullanımı ise 2007 yılında yasaklanmıştır (Kortel, 2015).

Bal ve arı ürünlerinin insan sağlığı açısından faydalı ve besleyici olabilmesi için kesinlikle yabancı madde ve kalıntı barındırmaması gerekir. Arı ürünlerindeki kirlenme nedeni, parazit, bakteri ve mantar hastalıklarıyla mücadelede kullanılan ilaçların arılar tarafından bal özü, çiçek tozları vb. besinler ile kovanlarına taşımalarından dolayı meydana gelmektedir (Kortel, 2015).

Arıcılıkta, bakteriyel yavru hastalıkları gibi enfeksiyonların sağaltımında nispeten yüksek dozlarda ya da büyümeyi hızlandırma amaçlı olarak daha düşük dozlarda antibiyotikler tercih edilmektedir (Bal, 2016).

Türkiye’de yaygın olarak görülen bakteriyel arı hastalıklarında tetrasiklinler, sülfonamidler, streptomisinlerin kullanıldığı ve üretilen ballarda sıklıkla kalıntılarına rastlandığı görülmektedir (Özgenç, 2008). Arıcılıkta antibiyotik kullanımının sonucunda tüketici olan insanlarda akut ve kronik toksisitenin yanı sıra bakteriyel rezistans gelişimine de neden olduğu bildirilmektedir (Özkan ve ark., 2015).

Veteriner hekim ve tıp doktorlarınca genellikle gram negatif bakterilerden kaynaklanan enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan streptomisin, aminoglikozid türevi bir antibiyotiktir. Streptomisin, yanlış polipeptit sentezi gerçekleştirmesine neden olur; çünkü DNA yapımında etkin olan m-RNA’yı bozarak yanlış aminoasit seçimini sağlar (Özkan ve ark., 2015).

1.11. Balda Antibiyotik Kalıntıları Limitleri ve Kalıntıların Sağlığa Etkileri

Gıdalarda antibiyotik düzeyleri belirlenerek gıdalarla birlikte alınan etken maddelerin halk sağlığı için risk oluşturmaları önlenmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle Maksimum Kalıntı Limiti (MKL) değerleri belirlenerek bazı antibiyotikler kullanımdan kaldırılmıştır (Bal, 2016).

Arıcılıkta geniş antibiyotik kullanımı bal kalitesini azaltarak kalıntı birikimine yol açar ve pazarlamayı daha fazla zorlaştırır (Mahmoudi, 2016).

Bal ve diğer arı ürünlerinin insan sağlığına faydalı olabilmesi; pestisitler, antibiyotikler veya kirleticilerle en az kontaminasyonla izlenebilir kaynaklardan hijyenik koşullar altında üretilmesiyle sağlanabilir (Polat, 2011).

Balın literatürde antimikrobiyal, antioksidan ve anti-ülser aktivitelere sahip olduğu belirtilmekte, ayrıca dünya arıcılığında ilaç kullanımı ve beraberinde getirdiği kalıntı sorunuyla da ilgili çok sayıda da yayın bulunmaktadır (Polat, 2011).

Hayvansal gıdalarda/ balda bulunması yasaklı maddeler Tablo 1.4'te belirtilmektedir (TGK, 2017).

Tablo 1. 4. Hayvansal Gıdalarda/ Balda Bulunması Yasaklı Maddeler

Farmakolojik Aktif Madde	Maksimum Kalıntı Limiti
Aristolochia spp. ve bunların preparatları	MKL oluşturulamaz.
Dapson	MKL oluşturulamaz.
Dimetridazol	MKL oluşturulamaz.
Kloramfenikol	MKL oluşturulamaz.
Klorpromazin	MKL oluşturulamaz.
Kolşisin	MKL oluşturulamaz.
Metronidazol	MKL oluşturulamaz.
Nitrofuranlar (furazolidone dahil)	MKL oluşturulamaz.
Ronidazol	MKL oluşturulamaz.

Antibiyotik kalıntılarının insan sağlığı açısından olumsuz etkileri, allerjik reaksiyonlar, karsinojenik etki ve antibakteriyel direnç gelişimi bulunmaktadır. Allerjik etki, birçok ilaçta görülmesine rağmen özellikle penisilin ve kloramfenikol için daha fazla önemlidir. Kloramfenikolün kemik iliğinde aplastik anemi riski oluşturduğu belirtilmektedir. Türkiye’de kloramfenikolün besin değeri olan hayvanlarda kullanımı yasaklanmıştır (Bal, 2016).

Arıcıların son yıllarda bilinçsizce kullandıkları ilaçlar, bal ve türevlerinde kalıntı bırakmakta ve besinlerin kirlenme olasılığını arttırmaktadır. Bu kirlenme nedeni ile alerjiler, intoksikasyonlar, hormonal ve psikolojik etkiler, hücresel ve doğumsal değişiklikler, dirençli suşların ortaya çıkmasına, böylelikle ilaçların tedavi edici etkilerinin azalmasına ve hatta anafoksi gibi ölümcül derecede sağlığı tehdit eden çeşitli tabloların gelişmesine neden olmaktadır (Uludağ, 2008; Gül,2008).

Karsinojenik etkileri nedeniyle ABD, Avrupa Birliği ülkeleri ve Türkiye’de bazı nitrofuran (furazolidon, nitrofurazon), imidazol (dimetridazol, ronidazol, metronidazol) grubu antibiyotikler ile kloramfenikolün ve sülfonamidin (sülfadimidin) gıda değeri olan hayvanlarda kullanılması yasaklanarak MKL belirlenmemiştir (Bal, 2016).

Balın kaynağını ve güvenliğini bilmeden balın insanlar tarafından tüketilmesi sorunlara neden olabilir. Balın kökeni, bileşimi ve kirletici maddelerden arındırılmış olduğu konusunda net bir açıklama yapmak için etiketlenmelidir. Analiz edilmemiş balların bebeklerde kullanımı uygun olmamakla birlikte yaralara uygulanmamalı ve tıbbi amaçlar için de kullanımı tavsiye edilmemelidir (Al-waili ve ark. 2012)

Balda kalıntı olarak yaygın olarak bulunan antibiyotikler, sülfonamidler (sülfatiazol, sülfamerazin, sülfametazin, sülfamethaksazol, sülfadiazin, sülfanilamid, sülfametoksipiridazin, sülfadoksin, sülfadimidin), aminoglikozidler, (streptomisin, dihidrostreptomisin), fenikoller (kloramfenikol), makrolitler (tilozin, eritromisin), beta-laktamlar (penisilinler) dır (Tablo 1.5.) (Bal, 2016).

Tablo 1. 5. Balda Antibiyotik Kalıntılarında Uygun Olmayan Sonuç Kararı Almak İçin Limit Değerler

Antibiyotik	Limit (ppb, ng/g)
Sülfonamidler	-
Sülfadiazin	4
Sülfadimetoksin	3
Sülfakuinoksalin	-
Sülfametazin	5
Sülfametoksazol	8
Sülfatiazol	4
Sülfisoksazol	-
Sülfapiridin	-
Sülfamerazin	3
Sülfametoksipiridazin	-
Sülfakloropiridazin	-
Sülfadoksin	-
Trimetoprim	-
Kinolonlar	-
Seftiofur	-
Tiamfenikol	-
Streptomisin	20
Tilozin	10
Tetrasiklin	5.6

-: Kalıntı izleme planında yer almamaktadır.

MKL belirtilmemiştir (WEB Ulusal Kalıntı İzleme Planı, 2017).

1.12. Balda Antibiyotik Kalıntıları ile İlgili Bazı Çalışmalar

Balda antibiyotik kalıntılarına genellikle ‘Amerikan Yavru Çürüklüğü’ veya ‘Avrupa Yavru Çürüklüğü’ gibi hastalıkların tedavilerinde kullanılan antibiyotikler nedeniyle rastlanmaktadır (Bal, 2016).

Özkan ve ark. (2015)’nın ELISA yöntemiyle yaptığı, Ardahan İlinde üretilen ballarda antibiyotik kalıntı düzeylerinin araştırılması çalışmasında numunelerin %68’inde streptomisin ve %94’ünde sülfonamid kalıntısı tespit edilmiştir.

Bal (2016)'ın biyoçip dizi teknolojisi yöntemiyle yaptığı tez çalışmasındaki sonuçlara göre 90 örnek için belirlenen antibiyotik kalıntı oranları sülfonamid grubu %76,66, kinolonlar %2,22, seftiofur %4,44, streptomisin %4,44 ve tetrasiklin %16,66'dır.

Uludağ (2008)'ın HPLC yöntemiyle yaptığı çalışmada Ege bölgesinden topladığı 103 bal numunesinde %23 sülfonamid kalıntısı tespit etmiştir. Pozitif bulunan örneklerin %68'inin sülfametazin, %12'sinin sülfamerazin, %20'sinin sülfametoksazol kalıntıları olduğu saptanmıştır. Sonuçlara bakıldığında arıcılıkta bilinçsizce veya yasal olmayan şekilde sülfonamid kullanımının yaygın olduğu görülmektedir.

Ülkemizde Ulusal Kalıntı İzleme Planı çerçevesinde 2018 yılında yapılan çalışmada 510 bal analiz edilerek, 75 bal numunesinde tetrasiklin, 72 bal numunesinde ise sülfonamidlere rastlanılmıştır (GKGM,2018).

Saridaki-Papakonstadinou ve ark. (2006) Yunanistan'da yapmış oldukları çalışmada HPLC yöntemi kullanılarak yapılan analizde 251 bal örneğinin %29'unda tetrasiklin kalıntı değerlerini 0,018-0,055 mg/kg olarak tespit etmişlerdir.

Reybroeck'un (2018) Belçika'da yaptığı Charm II yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada 72 bal örneğinin %4,2'sinde sülfametazin kalıntısı sonucu bildirilmiştir.

Baggio, A. ve arkadaşlarının (2004) yaptığı, İtalya'da incelenen bal örneklerinde ise, örneklerin %2-7'sinde sülfonamid, tetrasiklin veya tilozin kalıntısı bulunduğu bildirmişlerdir (Baggio, A. ve ark., 2004).

1.13. Balda Antibiyotik Kalıntılarının Tespitinde Kullanılan Yöntemler

Literatürde balda antibiyotik kalıntılarının ölçümüne dair değişik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerin bir kısmı antibiyotik kalıntılarının sadece varlığını

tespit etmek için kullanılan kaba yöntemler olup (ince tabaka kromatografisi, charm II testi gibi) ikinci bir doğrulamaya ihtiyaç duyulan yöntemlerken, diğer kısmı da özellikle kombine olarak kullanılanları, hem antibiyotiklerin varlığını tespit eden hem de kesin olarak miktarını veren hassas yöntemlerdir (LC/MS, HPLC–MS, LC MS/MS gibi). (Yıbar ve Soyutemiz, 2013). Bu yöntemlerin kullanılmasını Avrupa komisyonu da (2002/657/EC) desteklemektedir (Bargańska ve ark., 2011).

Kullanılan yöntemlerin büyük çoğunluğu (ITK, LC, GC, HPLC, UPLC gibi) kromatografik esasa dayanır. Çeşitli moleküllerin ayrılması, saflaştırılması ve miktar tayininde kromatografi tekniği kullanılır. Kromatografide iki faz bulunmaktadır. Bunlardan biri hareketli faz (sıvı veya gaz) ve diğeri sabit/durağan fazdır (katı veya sıvı). Kromatografide yapılan ayırımın esası, mobil faz eşliğinde verilen örneğin sabit faz içinde, sabit fazla girdiği etkileşimlere bağlı olarak kolondan farklı zamanlarda çıkmalarına dayanır. Dakika olarak ölçülen bu sonuç, çıkış zamanı veya alıkonma zamanı (retention time, RT) olarak ifade edilir (Yıbar ve Soyutemiz, 2013).

Balda antibiyotik kalıntı tespitinde kullanılan yöntemler şunlardır:

- İnce Tabaka Kromatografisi
- Gaz Kromatografisi
- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
- Kütle Spektrometresi
- Ultraviyole Moleküler Absorpsiyon Spektrofotometresi
- Charm II Testi
- ELISA

1.13.1. ELISA

Hayvansal ürünlerde kalıntı izlemesinin etkin bir şekilde yapılması için tarama analizlerinin kullanımı zorunludur ve bu konu yaygın olan uygulama ELISA ile yapılan uygulamadır. Bu teknoloji, hedef moleküle özel geliştirilmiş antikorların kullanılmasından dolayı yüksek spesifiteye sahiptir ve son derece hassas olmasıyla karakterizedir. ELISA uygulamasında, spesifiteden dolayı hem analiz sonuçlarının

güvenilirliği yüksek, hem de kolay numune hazırlama prosedürleri içermelerinden dolayı kısa sürede çok sayıda numunenin farklı ilaç kalıntıları için analizini mümkün kılmaktadır (Şenyuva ve Gilbert, 2015).

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) analizi kalitatif bir yöntem olup, antibody (antijen-antikor) reaksiyonunun ortaya çıkmasını ve bunun sonucunda reaksiyonun enzim-substrat ile görünür hale getirilerek spektrofotometrede okunarak değerleri tespit edilir. Oluşturulan absorpsiyon; numune içinde bakılan maddelerle ters orantılı bir şekilde yapılmaktadır. ELISA metodunun birçok avantajı bulunmaktadır. Bunlar; kullanımının basit olması, sonuca 2-2,5 saat gibi kısa bir sürede ulaşılması, özgüllüğünün ve hassasiyetinin yüksek olması, tüm kitlerde fazla sayıda örnek ile çalışma imkânının bulunmasıdır (Tekgül, 2012).

Bal üretimi ve tüketiminde antibiyotik kalıntı sorununun bulunması insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Araştırma sonuçları değerlendirilerek bal üreticilerinin insan sağlığı açısından kaliteli ve sağlıklı bal üretimi konusunda farkındalık sağlanacaktır. Bu çalışma, Muğla bölgesinde üretilen ve tüketime sunulan ballarda, insan sağlığı açısından olumsuz etkileri bulunan tetrasiklin ve sülfametazin antibiyotik kalıntılarının ELISA yöntemi kullanılarak tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

Hassas terazi (Sartorius) (Şekil 2.1.)

İnkübatör (su banyosu) (Memmert) (Şekil 2.2.)

Çoklu vorteks (Heidolph) (Şekil 2.3.)

Soğutmalı santrifüj (Sigma 3-16 KL) (Şekil 2.4.)

Mikropipetler 20-200 µl (tek kanallı) (Eppendorf) / 100-1000 µl (tek kanallı) (Eppendorf) / 30-300 µl (çok kanallı) (Socorex sivilis) (Şekil 2.5.)

Çoklu evaporatör (Azotlu uçurucu, Caliper) (Şekil 2.6.)

ELISA okuyucu (450 nm) (Bio-Tek Marka ELx808) (Şekil 2.7.)



Şekil 2. 1. Hassas Terazî



Şekil 2. 2. İnkübatör (su banyosu)



Şekil 2. 3. Çoklu Vorteks



Şekil 2. 4. Soğutmalı Santrifüj



Şekil 2. 5. Mikropipet



Şekil 2. 6. Çoklu Evaporatör



Şekil 2. 7. ELISA okuyucu

2.1.1. Kimyasallar

HCl (Hidroklorik asit) %37 (Sigma Aldrich SZBB1370V)

NaOH (Sodyum hidroksit) (Sigma Aldrich SZBB3480V)

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Disodyum hidrojen fosfat dodeka hidrat) (Merck K23355373)

$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Sitrik asit Monohidrat) (Sigma Aldrich 82060)

Etil Asetat (Sigma Aldrich SZBD077SV)

2.1.2. Cam Malzemeler

100 ml'lik balon joje

1 l'lik balon joje

Mezür 100 ml-500 ml

Beher 50 ml-100 ml-250 ml

2.2. Yöntem

Çalışmada Muğla ili Merkez (Menteşe), Ula, Milas, Yatağan, Seydikemer, Fethiye, Datça, Marmaris, Dalaman, Ortaca, Bodrum, Köyceğiz ilçeleri olmak üzere her

ilçeden toplam 7’şer adet bal örneği alınarak toplam 84 adet bal numunesi üreticilerden toplanmıştır. Kavaklıdere ilçesinden yeterli bal numune sayısına ulaşamadığı için araştırmaya dâhil edilememiştir. Bal numuneleri 2017 Kasım ayında toplanmaya başlanarak 2018 Ağustos ayına kadar devam etmiştir. Üreticilere gerekli açıklamalar yapılmış, bilgileri gizli tutularak araştırmaya katılmaya kabul eden üreticilerden numuneler toplanmıştır. Toplanan bal numuneleri temiz şeffaf cam kavanozlarda, karanlık, ışıktan uzak, nemden korunarak oda ısısında analizler yapılınca kadar bekletilmiştir.

Tetrasiklin ELISA kiti (Immunolab GmbH Germany, Enzyme Immunoassay for the Quantitative Determination of Tetracyclines in Food, Cat.-No.: TCY-E01, Versiyon: March 31st ,2017) ve Sulfametazine (SM2) ELISA kiti (Shenzhen Lvshiyuan Biotechnology Co., Ltd, Versiyon: 2016-01, Catalog No. LSY-10010) kullanılarak balda antibiyotik kalıntı varlığı ELISA yöntemiyle çalışılmıştır.

2.2.1. Sülfametazin (SM2) ELISA Kiti

Marka: Shenzhen Lvshiyuan Biotechnology Co., Ltd, Versiyon: 2016-01, Catalog No. LSY-10010

2.2.1.1. Kitin Çalışma Prensibi (Numune Hazırlanması)

Bu test kiti, Sülfametazin kalıntısının tespiti için dolaylı rekabetçi enzim immünolojik testine dayanmaktadır. Bağlama antijenleri, mikro oyuk şeritleri üzerinde önceden kaplanmıştır. Örnekteki sülfametazin ve mikro kuyucuk şeritleri üzerinde önceden kaplanmış kuplaj antijenleri, anti-sülfametazin antikorları için rekabet eder. Enzim konjugatının eklenmesinden sonra, TMB substratı renklendirme için eklenir. ELISA kullanılarak sülfametazin kiti 460/630 nm’de, tetrasiklin kiti 450/620 nm’de absorbansı ölçülerek bulundu.

Numunenin optik yoğunluk değeri, numunedeki sülfametazin ile negatif bir korelasyona sahiptir. Bu değer standart eğri ile karşılaştırıldı ve daha sonra sülfametazin konsantrasyonu elde edildi.

2.2.1.2. Teknik Gereklilikler

Hassasiyet = 1 ppb

İnkübasyon sıcaklığı: 25 °C

İnkübasyon zamanı: 30 dk.-15 dk.

Tespit Limiti: 1 ppb (1 µg/kg)

2.2.1.3. Kit İçeriği

Tablo 2. 1. ELISA Kit İçeriği

1	Mikro oyuk şeritleri	8 Kuyucuklu 12 gözlü şerit (96 kuyucuklu şerit)	
2	6 adet 1 ml standart solüsyonları ve konsantrasyonları (ppb= µg/kg)	*0 ppb *3 ppb *27 ppb	*1 ppb *9 ppb *81 ppb
3	Enzim konjugat	7 ml	Kırmızı kapak
4	Antikor çalışma solüsyonu	7 ml	Mavi kapak
5	Substrat A	7 ml	Beyaz kapak
6	Substrat B	7 ml	Siyah kapak
7	Stop solüsyonu	7 ml	Sarı kapak
8	20 X Konsantre yıkama çözeltisi	40 ml	Beyaz kapak
9	20 X Konsantre seyreltme çözeltisi	50 ml	Şeffaf kapak

2.2.1.4. Solüsyon Ön Hazırlık Aşaması

1. 0,5 M (Molar) HCl : 4,3 ml HCl alınarak, 100 ml balon jodede çizgiye kadar son hacim 100 ml'ye ultra saf su ile tamamlandı.
2. 0,2 M NaOH sıvı 0,8 g NaOH katı tartılarak ultra saf su ile çözündürülüp son hacim 100 ml'ye ultra saf su ile tamamlandı.
3. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 19,85 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 9,3 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ tartılır ultra saf su ile çözündürülüp son hacim 1 l'ye tamamlandı.
4. Seyreltme solüsyonu hazırlama: 20 X'lik konsantre seyreltme solüsyonundan 1:19 oranında kullanılacak miktar kadar hazırlandı.
5. Yıkama çözeltisi hazırlama: 20 X'lik konsantre yıkama solüsyonundan 1:19 oranında kullanılacak miktar kadar hazırlandı.

2.2.1.5. Ekstraksiyon (Numunelerin Hazırlanması)

1. 1 g $\pm 0,05$ g bal numunesi 50 ml'lik santrifüj tüpüne tartılarak 30 dk. 37 °C de inkübe edildi.
2. 2,5 ml 0,2 M NaOH ve 3 ml $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ilave edildi ve 4 ml etil asetat eklenerek 2 dk. vortekslendi. Ardından 10 dk. 15 °C de 4000 r/min numuneler santrifüj edildi.
3. Santrifüj edilen numunelerde üst organik fazdan alınarak temiz cam test tüplerine aktarıldı ve 50-60 °C (çalışılan 55°C) nitrojen gazı altında tamamı kuryana kadar uçuruldu. Sonrasında 0,5 ml seyreltme solüsyonu eklenerek çözüldü 30 sn. karıştırıldı, 50 µl alınarak ELISA işlemine başlandı.

4. Analize başlamadan önce kullanılacak kit içeriği ve kimyasalları oda sıcaklığında 30 dk. bekletildi. Her bir kimyasal kullanılmadan önce çalkalandı.

2.2.1.6. Analiz İşlemi

1. Kuyucuklara öncelikle 50 µl standartlardan sırasıyla eklendi.

Sırasıyla; Std 1 0
 Std 2 1
 Std 3 3
 Std 4 9
 Std 5 27
 Std 6 81 eklendi.

2. 50 µl standartlardan sonra numuneler sırasıyla kuyucuklara pipetlendi. Ardından 50 µl enzim konjugat ve 50 µl antikor çalışma solüsyonu kuyucuklara eklenerek hafifçe çalkalandı ve üzerine membran tabakası kaplanarak 30 dk. 25 °C de inkübe edildi.

3. İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 250 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Ardından iyice kurutuldu.

4. Yıkama işlemi sonrasında 50 µl substrat A ve 50 µl substrat B kuyucuklara eklendi. Karanlık bir ortamda 15 dk. 25 °C de inkübe edildi. 15 dk.nın ardından 50 µl stop solüsyonu eklendi. Hafifçe çalkalandı ve 5 dk. içerisinde 460/630 nm'de spektrofotometrik okuma yapıldı.

2.2.2. Tetrasiklin ELISA Kiti

İmmunolab GmbH Germany, Enzyme Immunoassay for the Quantitative Determination of Tetracyclines in Food, Cat.-No.: TCY-E01, Versiyon: March 31st, 2017

Immunolab Tetrasiklin ELISA, oldukça hassas bir algılama sistemini temsil eder ve özellikle et, süt, süt tozu, peynir ve baldaki tetrasiklin kalıntılarının hızlı bir şekilde miktarını belirleyebilmektedir.

2.2.2.1. Teknik Gereklilikler

Hassasiyet = 0,024 ng/ml

İnkübasyon zamanı: 80 dk.

2.2.2.2. Kit İçeriği

1. Mikro oyuk şeritler, 8 kuyucuklu 12 gözlü stripler

2. Tetrasiklin standartları;

Std 1 0 ppb

Std 2 0,04 ppb

Std 3 0,1 ppb

Std 4 0,4 ppb

Std 5 1 ppb

Std 6 4 ppb

2.2.2.3. Analiz İçin Tetrasiklin Standartlarının Hazırlanması

1. 100 X'lik konsantre tetrasiklin analiz için standartların hazırlanması; 20 µL her bir standartta temiz tüplere alınarak 1980 µL ekstrasyon ve numune seyrelme çözeltisinden eklendi. 4 ° C'de saklanan seyreltilmiş standartlar en az 12 saat boyunca stabil tutuldu.

2. Liyofilize konjugat (Tetrasiklin-peroksidaz) 2,5 mL analiz için konjugat hazırlanması. 2,5 mL distile su konjugat kabına eklenerek 5 dakika çalkalandı.

3. Substrat solüsyonu (TMB): 15 ml

4. Stop solüsyonu (0,5 M H₂ SO₄): 15 ml

5. Ekstrasyon ve numune seyreltme çözeltisi (Tris): 10 X konsantre (hazırlarken 1:09 oranında seyreltme yapılarak distile suyla seyreltildi.)

6. Yıkama solüsyonu (PBS-Tween 20): 10 X konsantre 1:9 oranında seyreltilerek hazırlandı.

2.2.2.4. Kitin Çalışma Prensibi (Numune Hazırlanması)

1. 1 g homojenize numune 50 ml'lik santrifüj tüplerine tartıldı. Üzerine 10 ml seyreltilmiş ekstrasyon ve numune hazırlama solüsyonu eklenerek çalkalandı. Sonra 40 °C de 10 dk. su banyosunda (Şekil 2.2.) inkübe edildi.

2. Ardından 2000 g 15 dk. numuneler santrifüj edildi ve santrifüj sonrasında 4 °C'ye soğutuldu.

3. Temiz test tüplerine 100 µl santrifüj sonrası ekstrattan alınarak üzerine 400 µl seyreltilmiş ekstrasyon ve numune seyreltme solüsyonundan eklendi. Her bir kuyucuk için 100 µl (dilüsyon faktörü 50) alınarak ELISA işlemine başlandı.

2.2.2.5. Analiz İşlemi

1. Kuyucuklara 100 µl seyreltilmiş standartlar ve numuneler eklendi.

2. 50 µl çözölmüş tetrasiklin peroksidaz konjugattan kuyucuklara eklendi. 60 dk. oda sıcaklığında inkübe edildi.

3. Kuyucuklar 3 kez 300 µl seyreltilmiş yıkama solüsyonuyla yıkanarak ardından iyice kurutuldu.
4. 100 µl substrat solüsyonu kuyucuklara eklenerek karanlık bir ortamda 20 dk. oda ısısında bekletildi.
5. 20 dk. sonra 100 µl stop solüsyonu kuyucuklara eklenerek 30 dk. içinde 450/620 nm’de spektrofotometrik okuma yapıldı.



3. BULGULAR

Muğla ili bal üreticilerinden toplanan 84 adet bal numunesi ELISA yöntemi kullanılarak tetrasiklin ve sülfametazin kalıntı tespiti için analiz edilmiştir. Analiz sonunda standartlara karşı okunan absorban değerleri eşleştirilmiştir. MKL değeri belirtilmeyen veteriner ilaçları 0,01 mg/kg'ı (10 ppb) geçmemelidir.

Tetrasiklin antibiyotik 0,024 ng/ml hassasiyette kalıntı varlığı pozitif kabul edilen sonuçlar Tablo 3.1. 'de görülmektedir. Sülfametazin antibiyotik 1 ppb hassasiyette kalıntı varlığı pozitif kabul edilen sonuçlar Tablo 3.2.'de görülmektedir. Tetrasiklin antibiyotik, örneklerin %58,3'ünde pozitif bulunmuş, %41,7'si negatif bulunarak antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır. Sülfametazin, örneklerin % 100'ünde pozitif varlığı tespit edilmiştir.

Tablo 3. 1. Bal Numunelerinde Tetrasiklin Antibiyotik Kalıntı Tespiti

	Pozitif Numune	
Konsantrasyon (ppb)	n	%
T.E.D.B.	35	41,7
< 10	49	58,3
≥10	-	-
Toplam	84	100,0

T.E.D.B: Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmadı

Tablo 3.1. incelendiğinde tetrasiklin antibiyotik kalıntısı 35 örnekte tespit edilebilir düzeyde bulunmadığı, 49 (%58,3) örneğin ise pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3. 2. Bal Numunelerinde Sülfametazin Antibiyotik Kalıntı Tespiti

	Pozitif Numune Sayısı	
Konsantrasyon (ppb)	n	%
< 10	67	79,8
≥10	17	20,2
Toplam	84	100,0

Tablo 3.2. incelendiğinde sülfametazin antibiyotik kalıntısının 84 (%100) örnekte pozitif olduğu tespit edilmiştir. Avrupa Birliği MKL belirtilmemiş antibiyotik kalıntılarının 10 ppb değerini geçmemesini belirtmesine rağmen 17 örneğin (%20,2) bu değerin üstünde olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3. 3. Üreticilerden Alınan Örneklere Ait Antibiyotik Kalıntı Değerleri (ppb)

BÖLGE	Sülfametazin		Tetrasiklin	
	Minimum	Maksimum	Minimum	Maksimum
Milas (n:7)	3,3	>81,0	T.E.D.B	0,064
Fethiye (n:7)	3,0	11,4	T.E.D.B	<0,04
Seydikemer (n:7)	3,6	>81,0	T.E.D.B	0,391
Yatağan (n:7)	<1,0	3,8	T.E.D.B	<0,04
Datça (n:7)	2,6	4,3	T.E.D.B	0,059
Dalaman (n:7)	2,5	>81,0	T.E.D.B	0,041
Bodrum (n:7)	2,7	9,1	T.E.D.B	T.E.D.B
Marmaris (n:7)	2,1	>81,0	T.E.D.B	<0,04
Menteşe (n:7)	3,1	>81,0	T.E.D.B	<0,04
Ortaca (n:7)	3,0	>81,0	T.E.D.B	<0,04
Ula (n:7)	2,9	>81,0	<0,04	<0,04
Köyceğiz (n:7)	3,0	17,6	<0,04	0,101

T.E.D.B: Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunamadı

Tablo 3.3. incelendiğinde sülfametazin antibiyotik kalıntısı minimum < 1,0 ppb değerinde Yatağan ilçesinde tespit edilirken, maksimum >81,0 ppb değerinde Milas, Seydikemer, Dalaman, Marmaris, Menteşe, Ortaca, Ula ilçelerinde tespit edilmiştir.

Tetrasiklin antibiyotik kalıntısı minimum Milas, Fethiye, Seydikemer, Yatağan, Datça, Dalaman, Bodrum, Marmaris, Menteşe, Ortaca ilçelerinde tespit edilebilir düzeyde bulunamamış, maksimum 0,391 ppb değerinde Seydikemer ilçesinde tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Arı ürünleri içerdiği vitamin ve mineraller nedeniyle insan sağlığı ve gelişimi üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Bal ve türevleri insan sağlığı üzerinde beslenmenin yanı sıra profilaktik ve tedavi edici gibi birçok faydalı etkileri bulunmaktadır. Balın kimyasal özelliklerine bağlı olan tedavi edici özellikleri arıların bulunduğu bölgedeki bitki çeşitliliğine göre değişiklik göstermektedir (Kabakçı, 2011; Lermi, 2010).

Türkiye genelinde bal üretimine iller bazında bakıldığında; Muğla ilinin ilk sıralarda yer aldığı belirtilmektedir (Kabakçı, 2011). Muğla ilinde en çok görülen arıcılık ürünü çam balıdır ve Türkiye’de çam balı üretiminin yaklaşık %75-80’lik bölümünü oluşturmaktadır. Bu özelliğinin yanı sıra Muğla İli, kışların ılıman geçmesi nedeniyle ülke arıcılarına yıl boyu sınırsız floral kaynak sunmaktadır. Bu zengin floral kaynaklardan dolayı, arıcılar kolonilerini geliştirme imkânı bulmaktadır. Ayrıca bölge arıcılık için, narenciye ve badem türlerinden oluşan geniş bitki çeşitliliğine sahiptir. Bir başka zenginlik kaynağı ise günlük (sığıla) ağacıdır (Anonim, 2017).

Balın insan sağlığına yararlı bilinmekle birlikte tüm dünyada balın üretimi sırasında farklı antibiyotiklerle kontaminasyona uğradığı belirtilmektedir. Arı yetiştiriciliğinde arı hastalıklarında antibakteriyel ilaçlarla mücadele yasaklanmasına rağmen halen günümüzde bilinçsizce devam edilmektedir (Güneş ve ark., 2009).

84 bal örneği toplanan bu çalışmada; tetrasiklin antibiyotik, örneklerin %58,3’ünde (n:49) pozitif bulunmuş, %41,7’si (n:35) negatif bulunarak antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır. Sülfametazin antibiyotik ise örneklerin %100’ünde (n:84) pozitif varlığı tespit edilmiştir. Avrupa Birliği’nde yetiştiricilikte uygulanan veteriner ilaçlarının kalıntı kontrolüne ilişkin yönetmelik çıkarılmış, Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından da uygulanmaya başlanmıştır. MKL belirtilmemiş antibiyotik ilaç kalıntılarının insan sağlığı açısından 0,01 mg/kg (10 ppb) değerini aşmaması gerektiği belirtilmiştir. Tetrasiklin kalıntılarının bu değeri aşmadığı, sülfametazin kalıntılarının 17 örnekte (%20,2) aştığı tespit edilmiştir.

Özkan ve ark. (2015)'nın Ardahan İlinde ELISA yöntemiyle yaptıkları çalışmada, örneklerin %68 oranında streptomisin ve %94 oranında sülfonamid kalıntısı barındırdığı saptanmıştır. Bal (2016)'ın biyoçip dizi teknolojisi yöntemiyle yaptığı tez çalışmasındaki sonuçlara göre 90 örnek için belirlenen antibiyotik kalıntı oranları sülfonamid grubu %76,66, kinolonlar %2,22, seftiofur %4,44, streptomisin %4,44 ve tetrasiklin %16,66'dır. Benzer bir çalışmada, Uludağ (2008)'ın Ege bölgesinden topladığı 103 bal örneğinde HPLC yöntemiyle yaptığı analiz sonucunda %23 oranında sülfonamid kalıntısı tespit edilmiştir. Pozitif bulunan numunelerin %68'inde sülfametazin, %12'sinde sülfamerazin, %20'side sülfametoksazol kalıntılarına rastlanmıştır. Bu çalışmada ise; 84 bal örneğinde tetrasiklin antibiyotik, örneklerin %58,3'ünde (n:49) pozitif bulunmuş, sülfametazin antibiyotik ise örneklerin %100'ünde (n:84) pozitif varlığı tespit edilmiştir. Bakıldığında arı yetiştiriciliğinde bilinçsizce ya da yasal olmayan şekilde sülfonamid ve tetrasiklin uygulamalarının yapıldığı görülmektedir. Yapılan bu çalışma sonuçlarını literatür destekler niteliktedir.

Ülkemizde Ulusal Kalıntı İzleme Planı çerçevesinde 2018 yılında yapılan çalışmada 510 bal analiz edilerek, 75 bal numunesinde tetrasiklin, 72 bal numunesinde ise sülfonamidlere rastlanılmıştır (GKGM,2018).

Saridaki-Papakonstadinou ve ark. 2006 yılında Yunanistan'da yapmış oldukları çalışmada HPLC yöntemi kullanılarak yapılan analizde 251 bal örneğinin %29'unda tetrasiklin kalıntı değerlerini 0,018-0,055 mg/kg olarak tespit etmişlerdir.

Reybroeck'un 2018 yılında Belçika'da Charm II yöntemi kullanarak yaptığı çalışmada 72 bal örneğinin %4,2'sinde sülfametazin kalıntısı pozitif olarak bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada, sülfametazin kalıntısı minimum <1,0 değerinde Yatağan ilçesinde tespit edilirken, maksimum >81,0 değerinde Milas, Seydikemer, Dalaman, Marmaris, Menteşe, Ortaca, Ula ilçelerinde tespit edilmiştir.

Baggio ve arkadaşlarının 2004 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmada, incelenen bal örneklerinde, örneklerin %2 – 7'sinde sülfonamid, tetrasiklin veya tilozin kalıntısı

bulunduğunu bildirmişlerdir (Baggio ve ark., 2004). Çalışmamızda, tetrasiklin antibiyotik kalıntısı minimum Milas, Fethiye, Seydikemer, Yatağan, Datça, Dalaman, Bodrum, Marmaris, Menteşe, Ortaca ilçelerinde tespit edilebilir düzeyde bulunamamış, maksimum 0,391 değerinde Seydikemer ilçesinde tespit edilmiştir. Fethiye ilçesinde Sülfametazin antibiyotik kalıntısı için 3 bal örneğinin, Seydikemer’de ise 5, Milas ilçesinde 2, Dalaman’da 3, Menteşe’de 3, Marmaris’te 1, Ortaca’da 4, Ula’da 1, Köyceğiz’de 2 örneğin Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından ulusal kalıntı izleme planında belirlenen 5 ppb olan kalıntı limit değerinin üstünde olduğu bulunmuştur. Yasal olarak izin verilmemesine rağmen arı hastalıklarıyla mücadelede ülkemizde ve yurt dışında da yetiştiricilerin halen tetrasiklin ve sülfametazin antibiyotiklerini kullandıklarını sonuçlara bakarak söyleyebiliriz.

Güneş ve ark. tarafından 2009 yılında Güney Marmara Bölgesi’nden 50 farklı kovandan toplanan çeşitli balları oksitetrasiklin ve sülfonamid türevleri yönünden LC-MS/MS ile analiz etmişler ve herhangi bir kalıntıya rastlamamışlardır. Ege bölgesi Muğla ilinde yapılan bu çalışmada 84 örnekte tetrasiklin ve sülfametazin kalıntılarının pozitif varlığına rastlanması sonucuna bakılarak bölgelere göre antibakteriyel kullanımının farklılık gösterdiği söylenebilir.

Erdoğdu ve arkadaşlarının 2011 yılında HPLC tekniği kullanarak yaptıkları çalışmada, 536 bal numunesinin 2’sinde sülfanilamid, 1’inde sülfadiazin, 108’inde sülfametazin, 9’unda sülfametaksazol, 6’sında sülfadimetoksinin varlığına rastlamışlardır. Yapılan bu çalışmada da 84 örnekte sülfametazin kalıntısının pozitif çıkması yapılan çalışmaları desteklediği ve sülfametazinin arı hastalıklarında bilinçsizce yoğun olarak kullanıldıkları söylenebilir.

Uludağ R.’nin 2008 yılında Ege bölgesindeki 6 farklı il için yaptığı 56 bal örneğinin %23,2’sinde sülfanamid kalıntı değerleri 8,3-9901 ng/g olarak tespit etmiştir. Mahmoudi ve arkadaşlarının 2011 yılında farklı mevsimlerde topladıkları 135 bal örneğinin 20’sinde sülfonamid (%14,81) ve 19’unda tetrasiklin kalıntıları

(%14,07) tespit edilmiştir. Bu çalışmada, sülfametazin kalıntısının %100'ünün pozitif çıkması düşündürücü ve insan sağlığı açısından oldukça risklidir.

Galarini ve ark. 2015 yılında LC-MS/MS yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada, farklı bitkisel kökenli 74 bal örneğinin analizini yaparak dokuz balda (%12) eser miktarda sülfonamid kalıntısına rastlamışlardır. Bulunan seviyelerin halk sağlığı açısından endişe oluşturmadığını ifade etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise sülfametazin kalıntısının %100 pozitif çıkması halk sağlığını riske atmaktadır. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından arı hastalıklarıyla mücadelede antibakteriyel ilaçlar ruhsatlandırılmamasına rağmen bu ilaçların kalıntılarına halen rastlanıldığı görülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Muğla ili merkez ve 12 ilçesinden 7 farklı üreticilerden toplanan toplam 84 adet bal örneğinde tetrasiklin ve sülfametazin kalıntı varlığı araştırılmıştır. Antibiyotik kalıntı analizi ELISA test kitleriyle yapılmıştır. ELISA test sonuçlarına göre incelenen örneklerde; tetrasiklin antibiyotik, örneklerin %58,3'ünde (n:49) pozitif bulunmuş, %41,7'si (n:35) negatif bulunarak antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır. Sülfametazin antibiyotik ise örneklerin %100'ünde (n:84) pozitif varlığı tespit edilmiştir. Tetrasiklin antibiyotiğin 35 örnekte negatif bulunması insan sağlığı açısından sevindirici olmasına rağmen sülfametazin kalıntısının 84 örnekte pozitif çıkması insan ve toplum sağlığını riske atmaktadır.

Hayvanlarda kullanılan antibakteriyeller dirençli suşların gelişmesine neden olarak, insanlarda enfeksiyon hastalıklarında kullanılan antibiyotiklerin etkilerini büyük oranda azaltmakta, uzun süre maruz kalınması sonucunda alerjiler, intoksikasyonlar, hormonal ve psikolojik etkiler, hücresel ve doğumsal değişiklikler, dirençli suşların ortaya çıkmasına, böylelikle ilaçların tedavi edici etkilerinin azalmasına ve hatta anafeksi gibi ölümcül derecede sağlığı tehdit eden çeşitli tabloların gelişmesine neden olmaktadır Bu sebeple arı hastalıklarında tetrasiklin ve sülfametazin kullanımı yasaklanmış, Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından ulusal kalıntı izleme planında tespit limit değerleri belirtilmiştir.

Çalışmanın bulguları, yapılan bilimsel çalışmalarla da karşılaştırıldığında paralellik ve benzerlik gösterdiği görülmektedir. Bu demektir ki yasal olmamasına rağmen bu antibiyotik türevleri halen arı hastalıklarıyla mücadelede bilinçsizce kullanılmaktadır. Tetrasiklin sonuçları olumlu görülmesine rağmen sülfametazin sonuçları toplum sağlığı açısından riskli olarak değerlendirilmiştir. ELISA testinin kalıntı yönünden sadece tarama yapması nedeniyle, elde edilen sonuçların daha hassas ileri tekniklerle kontrol edilmesi gerekmektedir.

Hayvansal besinlerde tespit edilen MKL değerinin üzerinde bulunan antibiyotik kalıntıları besin güvenliği ve halk sağlığı yönünden ortaya çıkabilecek birçok zarara neden olabileceğinden, bal ve türevlerinin belirli aralıklarla analiz edilerek kalıntı yönünden izlenmesi gerekmektedir. Bal kalitesi ve güvenliği tüketicilerin temel kaygılarıdır. Kalıntı varlığı arıcılık sektörünün gelişmesine mani olmakta ve ihracatında maddi kayıplara neden olmaktadır. Balda veya yan ürünlerinde olası kalıntıların bulunması, bu ürünlerin güvenliğinin sıkı bir şekilde yapılmasını ve üretim, pazarlama ve kullanımlarının kontrolünü gerektirir. Arı yetiştiricilerine arı hastalıklarıyla mücadelede etkili yollar açıklanmalı, eğitimler verilmeli, insan ve toplum sağlığına olumsuzlukları anlatılarak bilinç geliştirilmelidir. Ara ara bal örneklerinin kalıntı yönünden analizleri yapılarak değerlendirilmeli, üretim ve satışlar denetlenmeli ve toplum sağlığı korunarak ülke ekonomisine ve refahına katkı sağlanmalıdır. Arı hastalıklarıyla mücadelede antibakteriyellerin yasaklı olması nedeniyle bitkisel tedavi yöntemleri araştırılarak arı yetiştiricilerine yöntemler anlatılmalıdır.

ÖZET

Muğla Bölgesinde Üretilen Ballarda Antibiyotik Kalıntılarının Araştırılması

Arı yetiştiriciliğinde sağaltım sağlamak, verim artırmak, kolonilerde hastalıkları önlemek amacıyla kullanılan antibiyotikler arı ürünlerinde kalıntılarının varlığına neden olmaktadır. Kalıntı bulunan gıdaların insanlar tarafından tüketilmesi antibiyotiklere karşı direnç gelişmesine, zehirlenmelere ve teratojenik, mutajenik, karsinojenik etkilere neden olabilmektedir. Bu çalışma, Muğla bölgesinde üretilen ve tüketime sunulan ballarda, insan sağlığı açısından olumsuz sonuçları bulunan tetrasiklin ve sülfametazin kalıntılarının tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır. Muğla merkez ve 12 ilçesinden 7'şer adet olmak üzere toplanan 84 adet bal numunesi ELISA test kitleriyle analiz edilmiştir. ELISA test sonuçlarına göre incelenen örneklerde; tetrasiklin antibiyotik, örneklerin %58,3'ünde (n:49) pozitif bulunmuş, %41,7'si (n:35) negatif bulunarak antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır. Sülfametazin ise örneklerin %100'ünde (n:84) pozitif varlığı tespit edilmiştir. ELISA testinin kalıntı yönünden sadece tarama yapması nedeniyle, elde edilen sonuçların daha hassas ileri tekniklerle kontrol edilmesi gerekmektedir. Çalışmanın bulguları, yapılan bilimsel çalışmalarla da karşılaştırıldığında paralellik ve benzerlik gösterdiği görülmektedir. Bu demektir ki yasal olmamasına rağmen bu antibiyotik türevleri halen arı hastalıklarıyla mücadelede bilinçsizce kullanılmaktadır. Arı yetiştiricilerine arı hastalıklarıyla mücadelede etkili yollar açıklanmalı, eğitimler verilmeli, insan ve toplum sağlığına olumsuzlukları anlatılarak bilinç geliştirilmelidir.

Anahtar kelimeler: Bal, ELISA, Muğla, sülfametazin, tetrasiklin

ABSTRACT

Examination of Antibiotic Residues in Honey Produced in Mugla Region

Antibiotics used in bee breeding to provide treatment, increase efficiency and prevent diseases in colonies lead to the presence of residues in bee products. Consumption of foods with those residues may give rise to resistance to antibiotics, poisoning and teratogenic, mutagenic, carcinogenic effects. This study was carried out within the scope of Mugla region to identify any presence of antibiotic residues of tetracycline and sulfamethazine which have negative consequences for human health. 84 samples collected from central Mugla and its 12 districts were analyzed via ELISA test kits. According to the ELISA test results, the existence of the residues of tetracycline was identified positive in 49 of the samples (58,3 %) and 35 of them (41,7 %) were examined as negative. Sulfamethazine was found present in all of the samples. Nevertheless, as the ELISA test only scans for residues, the results obtained from this study had better to be controlled and revisited with more precise advanced techniques. When the findings of the present study are compared with the previous scientific studies, it is seen that they have parallelism and similarity. This indicates that these antibiotic derivatives are still used unconsciously in the fight against bee diseases even if it is not legal. Effective ways to combat bee diseases should be explained to bee growers and trainings should be given on the negative effects of excessive and illegal use of antibiotics on human and community health.

Key words: Honey, ELISA, Mugla region, sulfamethazine, tetracycline

KAYNAKLAR

- AJIBOLA, A., CHAMUNORWA, J.P., ERLWANGER, K.H. (2012). Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition & metabolism*, **9(1)**: 61.
- AL-WAILI, N., SALOM, K., AL-GHAMDI, A., ANSARI, M. J. (2012). Antibiotic, pesticide, and microbial contaminants of honey: human health hazards. *The Scientific World Journal*, 2012.
- ANONİM (1990). TSE 3036 Bal standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara, 20.
- ANONİM (2000). Bal tebliği. Türk Gıda Kodeksi (Tebliğ No: 2000/39). Ankara.
- ANONİM (2005). Bal tebliği. Türk Gıda Kodeksi (Tebliğ No: 2005/49). Ankara.
- ANONİM (2010). Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu. 13.06.2010 tarih ve 27610 Sayılı Resmi Gazete.
- ANONİM (2017). Muğla'da arıcılık. Erişim: <https://www.maybir.org.tr/muglada-aricilik>, Erişim Tarihi: 28.02.2019.
- ANONİM (2017b); Erişim Adres: http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Bal_Analizleri1.pdf, Erişim Tarih: 18.01.2017.
- ANONİM (2017c); Erişim Adres: <http://www.tuik.gov.tr/> Hayvansal Üretim İstatistikleri, Şubat 2018. Erişim Tarihi: 27.02.2019.
- BAGGIO, A., GALLINA, A., BENETTI, C., DAINESE, N., MANZINELLO, C., PIRO, R., MUTINELLI F. (2004). Antibacterial residues in Italian and imported honey, in: Milani N, Bernardinelli I. (Eds.), First European Conference of Apidology, Udine, Italy, 147.
- BAL, A. (2016). Ballarda antibiyotik kalıntıları. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üni. Veteriner Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri.

- BARGAŃSKA, Ź., NAMIEŚNIK, J., & ŚLEBIODA, M. (2011). Determination of antibiotic residues in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(7), 1035-1041.
- BUCAK, S. (2011). Hatay ilinde üretilen salgı, okalıptüs, çiçek ve maydanoz ballarının antioksidan, antimikrobiyal, yağ asidi ve kalıntı analizleri. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üni. Kimya Ana Bilim Dalı, Hatay.
- BURUCU, V., BAL, H. S. G. (2017). Türkiye’de arıcılığın mevcut durumu ve bal üretim öngörüsü. *Tarım Ekonomisi Araştırmaları Dergisi*, 3(1): 28-37.
- ÇAVRAR, S. (2009). Balların kalitesinin belirlenmesinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerin irdelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üni. Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
- DÖKMECİ, İ., DÖKMECİ, H. (2016). Farmakoloji. İstanbul Tıp Kitabevi, 2. Baskı.
- ERDOĞDU, A.T., COŞKUN, Y., GÜVEN, S.İ. (2011). Tüketime sunulan ballarda sülfonamid türevi antibiyotiklerin kalıntılarının belirlenmesi. *Bornova Vet. Bil. Dergisi*, 33 (47): 37-44,
- GALARINI, R., SALUTI, G., GIUSEPPONI, D., ROSSI, R., MORETTI, S. (2015). Multiclass determination of 27 antibiotics in honey. *Food Control*, 48: 12-24.
- GKGM (2018). Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ulusal Kalıntı İzleme Planı, Türkiye.
- GÜL, A. (2008). Türkiye’de üretilen bazı balların yapısal özelliklerinin gıda güvenliği bakımından araştırılması. Mustafa Kemal Üni. Zootekni Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Hatay.
- GÜNEŞ, M. E., GÜNEŞ, E. CIBIK, R. (2009). Oxytetracycline and sulphonamide residues analysis of honey samples from Southern Marmara Region in Turkey. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 15(2): 163-167.

- GÜNBEY, B. (2009). Yayla balı ile salgı balının yapısal özellikleri. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, **2**: 26-29.
- KABAKÇI, D. (2011). Erzurum piyasasında bal pazarlama sorunları ve bal tüketim alışkanlıkları. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- KAPUCU, H. K. (2007). Bal örneklerinde karbosulfan kalıntısının ve bozunma ürünlerinin tayini için yöntem geliştirilmesi. Marmara Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
- KARADAL, F., YILDIRIM, Y. (2012). Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **9(3)**: 197-209.
- KORTEK, A. (2015). Erzurum ilinde satılan ballarda önemli bazı ilaç kalıntılarının analizi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üni. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- LERMİ, U. (2010). Bartın yöresi bal arısı (*Apis mellifera* L.) zararlıları ve hastalıkları. Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üni. Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, Bartın.
- MAHMOUDI, R., NORIAN, R., PAJOHI-ALAMOTI, M. (2016). Antibiotic residues in Iranian honey by Elisa. *International journal of food properties*, **17(10)**: 2367–2373.
- ÖLMEZ, Ç. (2009). Türkiye’de üretilen farklı çiçek ve salgı bal çeşitlerinin bazı kalitatif ve besinsel özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üni. Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Konya.
- ÖRER, A.A. (2018). Burdur ve civarında yetişen sığır etlerinde bazı antibiyotik kalıntıları. Yüksek Lisans Tezi, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Farmakoloji Ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Burdur.
- ÖZCAN, İ. (2009). Tarımsal üretim ve geliştirme genel müdürlüğü arıcılık faaliyetleri. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, **2**: 35-38.

- ÖZGENÇ, S. (2008). Chromatographic determination of sulfonamides in milk and honey. Dokuz Eylül Uni. Graduate School Of Natural And Applied Sciences, İzmir.
- ÖZKAN, O., EŞSİZ, D., YAZICI, K., ERDAĞ, D. (2015). Ardahan ilinde üretilen ballarda antibiyotik kalıntı düzeylerinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **10(2)**: 88–92.
- ÖZTÜRK, O. (2012). Arı ürünlerinin sağlık üzerine etkileri. Sunum. İstanbul Üni. Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul.
- ÖZTÜRK, O. , SELÇUK, M . (2016). Birinci basamakta apiterapi. *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*, **10 (3)**.
- POLAT, İ. (2011). Güney marmara bölgesinde üretilen bazı balların antimikrobiyal, antioksidan aktivitelerinin, pestisit ve antibiyotik kalıntılarının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.
- PORTAKAL, P. (2010). Varroa Jacobsoni ile doğal enfeste balarısı kolonilerinde koumafos etken maddesi içeren farklı farmasötik şekillerin etkinliği ve baldaki kalıntılarının araştırılması. Ankara Üniv. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Ankara.
- REYBROECK, W. (2018). Residues of antibiotics and chemotherapeutics in honey. *Journal of Apicultural Research*, **57(1)**: 97-112.
- SARIDAKI-PAPAKONSTADINOÜ, M. , ANDREDAKIS, S., BURRIEL, A., TSACHEV, I. (2006). Determination of tetracycline residues in Greek honey. *Trakia Journal of Sciences*, **4(1)**: 33-36.
- SEĞMENÖĞLU, M. S., BAYDAN, E. (2012). Ballarda rastlanabilen ilaç kalıntıları ve bulaşanlar. *Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi*, **2(1)**: 24-28.
- SUNAY, A. E. (2006). Balda antibiyotik kalıntısı sorunu. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **6(4)**, 143–148.

- ŞAHİNLER, N. (2000). Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi . *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* , 5(1-2), 139-148.
- ŞENYUVA, H., GİLBERT, J. (2015). Hayvansal gıda maddelerinde veteriner ilaç kalıntılarının taranması. Food Life International Ltd. Edip Sincer, Sincer Dış Ticaret. Erişim: <http://docplayer.biz.tr/3173220-Hayvansal-gida-maddelerinde-veteriner-ilackalintilarinin-taranmasi.html>. Erişim tarihi: 26.06.2015.
- ŞENYUVA, H., SİNCER, E. (2016). Hayvansal gıda maddelerinde veteriner ilaç kalıntılarının taranması. Makale, Veteriner.com. Erişim Tarihi: 18.01.2017.
- TEKGÜL, Y. (2012). Aydın ilinde satışa sunulan broiler etlerinde bazı antibiyotik kalıntılarının varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Aydın.
- TGK (2012). Türk Gıda Kodeksi. Türk Gıda Kodeksi-Bal Tebliği. Resmi Gazete No:28366, Ankara.
- TGK (2017). Türk Gıda Kodeksi. Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete No: 30000
- TOLON, B., ALTAN, Ö. (1999). Arı ürünlerinin dış alım-satımında yaşanan sorun ve çözüm önerileri. Uluslararası Hayvancılık'99 Kongresi. 21-24 Eylül 1999. İzmir: 596-601.
- TOPTANCI, İ. (2013). Çiçek ve salgı ballarında polisiklik aromatik hidrokarbon (Pah), pestisit ve antibiyotik kalıntılarının GC/MS ve LC/MS/MS ile belirlenmesi. Ankara Üni. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.
- TUİK (2018). Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr>]. Erişim Tarihi: 29.02.2019

- TÜRKSEVER, M.(2017). Van ilinde satışa sunulan etlerde tetrasiklin grubu antibiyotiklerin varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Van.
- ULUDAĞ, R. (2008). Ege bölgesinde tüketime sunulan ballarda sülfonamid kalıntılarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üni. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- ULUSOY, E.(2012). Bal ve Apiterapi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **12(3)**: 89-97.
- YIBAR, A., SOYUTEMİZ, E. (2013). Gıda değeri olan hayvanlarda antibiyotik kullanımı ve muhtemel kalıntı etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, **8(1)**: 97–104.
- ZAI, I. U. M., REHMAN, K., HUSSAIN, A., & SHAFQATULLAH, A. (2013). Detection and quantification of antibiotics residues in honey samples by chromatographic techniques. *Middle-East Journal of Scientific Research*, **14 (5)**: 683-687.

ÖZGEÇMİŞ

28/06/1978 yılında İzmir ili Tire ilçesinde doğdum. İlk, orta ve Lise eğitimimi İzmir'in Tire ilçesinde bitirdim. 1995 yılında Muğla Üniversitesi Hemşirelik bölümünü kazanarak, 1999 yılında mezun oldum. 2000-2002 yılları arasında İzmir Özel Ege Sağlık Hastanesinde klinik hemşiresi olarak çalıştım. 2002 Eylül ayında Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fethiye Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde Öğretim Görevlisi olarak çalışmaya başladım ve halen bu görevde devam etmekteyim. 2016-2017 Eğitim öğretim yılı güz yarıyılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Evli ve 2 çocuk annesiyim.