

Bitlis İli Hizan İlçesinde Üretilen Ballarda Antibiyotik Kalıntılarının Belirlenmesi

¹Mehmet Ali KUTLU*, ¹Abdurrahman GÜL, ²Fethi Ahmet ÖZDEMİR, ³Ömer KILIÇ

¹Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bingöl.

²Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl.

³Bingöl Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Bingöl.

*Sorumlu yazar e- mail: kutlular@hotmail.com

Geliş Tarihi: 23.06.2017

Düzeltilme Geliş Tarihi: 29.09.2017

Kabul Tarihi: 29.09.2017

Özet

Bal sahip olduğu besin değeri ve sağlıklı bir gıda maddesi olması nedeniyle, insanlar tarafından tüketilen hayvansal kökenli bir besin maddesidir. Ülkemizde balda önemli kalıntı sağlayan kimyasalların başında Varrova zararlısı, Amerikan yavru çürüklüğü ve Avrupa Yavru çürüklüğüne karşı kullanılan kimyasallar gelmektedir. Bu hastalıklar ile mücadelede antibiyotiklerin kullanımı bal ve bal ürünlerinde kalıntı sorununa neden olmaktadır. Ballardaki antibiyotik kalıntıları insanlarda antibiyotik direnci ve alerjik reaksiyonlar gibi sorunlar oluşturmakta ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bu amaçla; Bitlis ili, Hizan ilçesi bal üreticileri birliği üyelerinin konakladıkları 20 farklı bölgedeki arılıklardan alınan süzme bal örneklerinde tetracycline grubu (oxytetracycline, chlorotetracycline, tetracycline, 4-epitetracycline, 4-epichlortetracycline, doxycycline) ve sülfanamid grubu (sulfadiazine, sulfathiazole, sulfadoxine, sulfameter, sulfabenzamide, sulfamethazine, sulfachlorpyridazine, sulfisoxazole, sulfamethoxazole, sulfadimethoxine) antibiyotiklerin kalıntıları LC/MS/MS yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda çalışılan bal örneklerinin hiç birinde antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: Bal, antibiyotik, kalıntı, tetracycline, sülfanamid, Bitlis-Hizan

Determination of Antibiotic Residues from Honey Produced in Hizan District, Bitlis Province

Abstract

Honey has the nutritional value and by reason of be a healthy food ingredient, is a valuable nutrient of animal origin consumed by humans. Diseases such as American foulbrood and European foulbrood sighted in honey bees cause great loss in bee colony. Antibiotics residues in the honey cause problem such as antibiotic resistance and allergic reactions in people who consume honey. In this study, the tetracycline group (oxytetracycline, chlorotetracycline, tetracycline, 4-epitetracycline, 4-epichlortetracycline, doxycycline) and the sulfanamide group (sulfadiazine, sulfathiazole, sulfadoxine, sulfameter, sulfabenzamide, sulfamethazine, sulfachlorpyridazine, sulfisoxazole, sulfamethoxazole, sulfadimethoxine) antibiotics residues were tried to be determined by LC/MS/MS method, honey samples taken from the filtered bees in the 20 different regions where the members of the association of honey producers in Hizan district were placed in Bitlis province. The maked analyses results in this study samples did not found antibiotics residues.

Key words: Honey, antibiotic, residue, tetracycline, sulfanamide, Bitlis-Hizan

Giriş

Ülkemizde 2016 yılı verilerine göre yaklaşık olarak 7.7 milyon arı kolonisi bulunmakta olup, bunlardan 105.727 ton bal üretilmektedir. Koloni

başına bal verimi ise yaklaşık olarak 13.73 kg olarak hesaplanmıştır (TÜİK, 2017). Türkiye koloni sayısı ve toplam bal üretimi bakımından arıcılıkta söz sahibi ülkeler arasında yer almaktadır. Fakat koloni

başına bal verimi ve bal dış ticareti bakımından aynı performansı sergileyememektedir. Dünyanın koloni başına bal verimi ortalaması 24 kg koloni iken Türkiye’de bu değer 14–17 kg koloni civarındadır (Kekeçoğlu, 2012). Bitlis ili Hizan ilçesinde 63.000 arı kolonisi bulunmakta olup 750.000 kg bal üretilmekte, koloni ortalaması ise 8.4 kg olarak gerçekleşmektedir. Hizan ilçesindeki arıcılığın Bitlis arıcılığına katkısı koloni başında % 54.40 iken bal üretiminde ki katkısı ise %52.48 olarak belirlenmiştir (Bitlis G.T.H.M, 2015).

Günümüzde gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkan en büyük sorunlardan birisi yeterli ve dengeli bir beslenmenin olmamasıdır. Hızla artan dünya nüfusu da bu sorunun boyutlarını giderek artırmaktadır. Tarım otoriteleri hızla gelişen bu soruna karşı hayvansal ve bitkisel üretimi artırmak için farklı çözüm yolları aramaktadır. Bu çözüm yollarından biriside, hayvansal üretimin kollarından olan arıcılığın geliştirilmesidir. Arıcılığın yapıldığı alanlarda bal üretiminin yanı sıra, bal mumu, polen, arı zehiri ve polinasyon hizmetleri gibi birçok yan üründe elde edilmektedir (Kutlu, 1998). Arıcılık ürünlerinin önemli çıktılarında olan bal, diğer arıcılık ürünlerine oranla daha yüksek miktarda üretilmektedir (Sunay, 2006). Bal gerek tadı gerekse besleyici özellikleri nedeniyle insanlar tarafından tercih edilen doğal ve sağlıklı bir ürün olup içerisinde vitaminler, mineraller, karbonhidratlar, enzimler, proteinler ve aminoasitler bulunmaktadır (Krell, 1996; Zai ve ark., 2013). Ülkemizde beslenme amaçlı kullanımı yanında, tedavi amaçlı kullanımının çok az olmasına karşılık, yurtdışında apiterapi alanında kullanılan ürünler içerisinde de bal önemini korumaktadır. Yurtdışındaki apiterapi merkezlerinde bal cilt güzelliği için hazırlanan kremlerin yapımında, sindirim ve solunum sistemi rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (Korkmaz, 2001).

Bal doğal çevrede üretilen bir ürün olması nedeniyle çevresel kirlenmelerle ya da arıcılık faaliyetleri esnasında çeşitli kimyasalların etkisine maruz kalabilmektedir (Johnson ve Jadon, 2010). Arılarda antibiyotikler *Paenibacillus larvae*, *Melissococcus pluton* (Bacillus larvae) tarafından oluşturulan Amerikan ve Avrupa yavru çürüklüğü hastalıklarında kullanılmaktadır (Bogdanov, 2006; Galarini ve ark., 2015). Günümüzde bal dış satımının en önemli sorunu antibiyotik kalıntılarıdır. Avrupa Birliği ülkeleri antibiyotikle tedaviye izin vermese de bazı Avrupa ülkelerinde antibiyotik kullanımı devam etmektedir. Çoğu Avrupa ülkesinde antibiyotikler için Maksimum Kalıntı Limit (MRL) düzeyi belirlenmemekle birlikte İsviçre, İngiltere, Belçika gibi ülkelerde ‘aksiyon limiti’ olarak 0.01-0.05 mg/kg düzeylerindeki

antibiyotik gruplarının kalıntısına izin verilmektedir (Bogdanov, 2006; Korkmaz, 2015). Avrupa Birliği (AB), onaylanmış birtakım antivarroa ilaçlarının dışındaki hiç bir ilacın arıcılıkta kullanımına izin vermemektedir. Dolayısıyla AB’de lisanslı olan bu ilaçların dışındaki hiçbir ilaç için belirlenmiş MRL yoktur ve kalıntılarının balda ve diğer arıcılık ürünlerinde bulunmasına müsaade edilmemektedir.

Avrupa Birliği’ne bal ihracatı yapan ülkelerin, MRL belirtilmemiş ilaçların kalıntıları için, günümüz teknolojisinde genel kabul edilen tespit limiti olan 10 mg/kg (ppb) sınırına uymaları önerilmektedir (Şener, 2006). Arıcılıkta antibiyotik kullanımıyla oluşan kalıntı nihai tüketici olan insanlarda akut ve kronik toksisitenin yanı sıra bakteriyel rezistans gelişimine de neden olmaktadır (Şener, 2006; Zai ve ark 2013; Galarini ve ark 2015). Sulfonamidler, bakteri hücresinde folik asit sentezinde para-aminobenzoik asidin yerini alarak bakteriyostatik etki oluştururlar (Şener, 2006). Streptomisin, genellikle gram negatif bakterilerden kaynaklı enfeksiyonların sağaltımında veteriner ve beşeri hekimlikçe yaygın bir şekilde kullanılan aminoglikozid antibiyotiktir (Granja ve ark., 2009). Ayrıca streptomisin ribozomların birikimini engelleyerek polipeptitlerin proteine polimerizasyonunu inhibe eder (Şener, 2006; Granja ve ark., 2009). Bal arıları, Amerikan ve Avrupa yavru çürüklüğü hastalığının tedavisi yapılabilmektedir. Avrupa birliği müktesabatına göre diğer hayvansal gıdalarda 200 µg/kg’a kadar rezidü limiti belirlenmişse de ballarda bulunmasına izin verilmemektedir (Seğmenoğlu ve Baydan 2012).

Bu çalışmanın amacı, geleneksel bal üretiminin yapıldığı Bitlis iline bağlı Hizan ilçesinin 20 farklı bölgesinden alınan bal örnekleri içerisinde antibiyotik kalıntıları tespit etmektir.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada Bitlis ili, Hizan ilçesi bal üreticileri birliği üyelerinin konakladıkları 20 farklı bölgedeki arılıklardan temin edilen süzme bal örnekleri kullanılmıştır.

Santrifüj tüpüne tartılarak aktarılan 15 g ± 0.5 duyarlıkla bala 6 g MgSO₄, 1.5 g susuz sodyum sülfat, 1.5 g NaCl, ile 15 ml asetronitril ilave edilerek 1 dakika süre ile karıştırılmış ve 4192 x g’da 1 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan fazın üst kısmından 8 ml alınıp 15 ml’lik santrifüj tüpüne MgSO₄, primer sekonder amin (PSA) ve C18 katılmıştır. 4192 x g’da 1 dakika santrifüj edildikten sonra üst fazdan 1’er ml küçük bir şişeye (viale) alınarak antibiyotik analizleri için LC/MS/MS’e enjekte edilmiştir (Reybroeck, 2003). Analizlerde

LC-MS/MS cihazı için kalibrasyon aralığı 5-80 ng/ml olarak belirlenmiştir.

Sıvı kromatografi-kütle spektrofotometre ile çalışma şartları (LC/MS/MS)

Parametre	Değer
Gaz sıcaklığı (°C)	325
Gaz akışı (litre/dakika)	10
Nebulizer (psi)	45
Sheath gaz sıcaklığı (°C)	400
Sheath gaz akışı (litre/dakika)	11
Kapillary voltaj (V)	4000
Nozzle voltaj (V)	0
MS1 kuadropol sıcaklığı (°C)	100
MS2 kuadropol sıcaklığı (°C)	100

Analizlerde Poroshell 120 SB-C18 (3.0x100 mm, film kalınlığı 2.7 µm) kolon kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Bal örneklerinin toplandığı köylerin açık koordinatları ve yükseklikleri Tablo 1 ve Tablo 2' de gösterilmiş olup, ballardaki Sülfanamid grubu (sulfadiazine, sulfathiazole, sulfadoxine, sulfameter, sulfabenzamide, sulfamethazine, sulfachlorpyridazine, sulfisoxazole,

sulfamethoxazole, sulfadimethoxine) ve Terracyline grubuna ait antibiyotik (oxytetracycline, chlorotetracycline, tetracycline, 4-epitetracycline, 4-epichlortetracycline, doxycycline) kalıntılarının bulunup bulunmadığı araştırılmıştır (Tablo 1 ve Tablo 2).

Tablo 1. Bal örneklerinin alındığı köylerin açık koordinatları, yükseklikleri ve tetracycline grubu (oxytetracycline, chlorotetracycline, tetracycline, 4-epitetracycline, 4-epichlortetracycline, doxycycline) antibiyotiklerin bulunma miktarı

Örnek No	Bölge (Köy)	Koordinat	Rakım	Sonuç
1	Koçyiğit Köyü	N:3812823 E:04221016	1753	Negatif
2	Koçyiğit Köyü	N:3812823 E:04220877	1763	
3	Atlı Köyü	N:3812818 E:04220964	1764	
4	Hecter Dağı	N:3812819 E:04220964	1765	
5	Panur Dağı	N:3812821 E:04220955	1767	
6	Koçyiğit Köyü	N:3812820 E:04220955	1766	
7	Panur Yaylası	N:3812819 E:04220869	1779	
8	Panur Yaylası	N:3812773 E:04220763	1794	
9	Ballı Köyü	N:3812852 E:04220509	1870	
10	Hecter Dağı	N:3812852 E:04220456	1789	
11	Yukarı Ayvacık	N:3813214 E:04220069	2019	
12	Gayda Köyü	N:3813393 E:04224824	1489	
13	Keklik Köyü	N:3813401 E:04224798	1483	
14	Kopsuyu Köyü	N:3813789 E:04224798	1485	
15	Altınoluk Köyü	N:3813415 E:04224547	1497	
16	Gökçimen Köyü	N:3813397 E:04224345	1509	
17	Akdik Köyü	N:3813690 E:04222756	1798	
18	Harmandüven Köyü	N:3813824 E:04222710	1901	
19	Erencik Köyü	N:3813861 E:04224712	1926	
20	Ekinli Köyü	N:3813789 E:04222731	1869	

Çalışma sonucundan elde edilen verilere göre; çalışılan bal örneklerinde Sülfanamid grubu (sulfadiazine, sulfathiazole, sulfadoxine, sulfameter, sulfabenzamide, sulfamethazine, sulfachlorpyridazine, sulfisoxazole,

sulfamethoxazole, sulfadimethoxine) ve tetracycline grubu (oxytetracycline, chlorotetracycline, tetracycline, 4-epitetracycline, 4-epichlortetracycline, doxycycline) antibiyotik kalıntılarının rastlanmamıştır.

Tablo 2. Bal örneklerinin alındığı köylerin açık koordinatları, yükseklikleri ve Sülfanamid grubu (sulfadiazine, sulfathiazole, sulfadoxine, sulfameter, sulfabenzamide, sulfamethazine, sulfachlorpyridazine, sulfisoxazole, sulfamethoxazole, sulfadimethoxine) antibiyotiklerin bulunma miktarı

Örnek No	Bölge(Köy)	Koordinat	Rakım	Sonuç
1	Koçyiğit Köyü	N:3812823 E:04221016	1753	
2	Koçyiğit Köyü	N:3812823 E:04220877	1763	
3	Atlı Köyü	N:3812818 E:04220964	1764	
4	Hecter Dağı	N:3812819 E:04220964	1765	
5	Panur dağı	N:3812821 E:04220955	1767	
6	Koçyiğit köyü	N:3812820 E:04220955	1766	
7	Panur Yaylası	N:3812819 E:04220869	1779	
8	Panur Yaylası	N:3812773 E:04220763	1794	
9	Ballı Köyü	N:3812852 E:04220509	1870	
10	Hecter Dağı	N:3812852 E:04220456	1789	Negatif
11	Yukarı Ayvacık	N:3813214 E:04220069	2019	
12	Gayda Köyü	N:3813393 E:04224824	1489	
13	Keklik Köyü	N:3813401 E:04224798	1483	
14	Kopsuyu Köyü	N:3813789 E:04224798	1485	
15	Altinoluk Köyü	N:3813415 E:04224547	1497	
16	Gökçimen Köyü	N:3813397 E:04224345	1509	
17	Akdik Köyü	N:3813690 E:04222756	1798	
18	Harmandüven Köyü	N:3813824 E:04222710	1901	
19	Erencik Köyü	N:3813861 E:04224712	1926	
20	Ekinli Köyü	N:3813789 E:04222731	1869	

Sonuç ve Öneriler

Türkiye nektarlı bitkilerce zengin bir floraya sahiptir. Bu nedenle arıcılığa çok uygun bir ülkedir. Bal önemli bir arıcılık ürünü olup arıcılık ürünleri ihracatına söz konusu olan tek üründür. 2014 yılında 19 milyon dolarlık bal ihraç eden Türkiye dünya sıralamasında 26. sırada yer almıştır (Anonim, 2015). Ülkemizde farklı bölgelerde, ballarda antibiyotik kalıntısı ile ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan biri Güney Marmara Bölgesindeki arı hastalıkları ve zararlıları ile ilgili olarak yapılan bir anket çalışmasıdır. Bu çalışmada üreticilerin %44'ü en az bir ilacı, %26'sı birden fazla ilacı aynı anda olmak üzere kek ya da şuruba ilave ederek kullanmışlardır. İlaç kullananların %42'si eritromycin, %28'i vitamin, %24'ü fumagillin, %14'ü oksitetrasiklin, %4'ü mikostatin, %2'si fluvalinat ve %2'si amitraz'ı kışık besine ilave ettiklerini belirtmişlerdir (Aydın ve ark., 2003). Çalışma bulgularımız bahsedilen çalışma bulguları ile karşılaştırıldığında, çalışmamızda kullandığımız bal örneklerinde antibiyotik kalıntılarının belirlenmemiş olması, bu çalışmada kullanılan balların doğal ve hiçbir şekilde antibiyotik ile arıların muamele edilmediğini göstermekte olup, çalışmada kullanılan balların antibiyotik kalıntısının olmaması yönü ile üstün olduğunu göstermektedir.

Reybroeck (2003), Belçika'da üretilen ve ithal edilen bal örneklerinde sırasıyla 15 ppb streptomycin, 10 ppb sulfamethin, 10 ppb penisilin,

0.1 ppb kloramfenikol antibiyotik kalıntısını saptadığını, ithal edilen bal örneklerinde, Belçika'da üretilen bal örneklerinden daha fazla bulunduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada kullanılan 20 farklı bal örneğinin hiç birinde antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır. Buradan şu sonuca ulaşılabilir, bu bölgede üretilen ballar Belçika'da üretilen ballardan antibiyotik kalıntılarının bulunması açısından daha kaliteli ve daha doğaldır.

Posyniak ve ark. (2003), balda sulfanamit kalıntısı ve kontrolü hakkında analitik yöntemler denediklerini belirtmişlerdir. Bal örneklerinde sulfocetamid seviyesinin 0.1 ppb; bunun da 0.2 ppb sulfathiozal ve sulfomethizin olduğunu saptadıklarını bildirmişlerdir. Oysaki bu çalışmada kullanılan 20 farklı bal örneğinin hiç birinde sulfathiozal ve sulfomethizin antibiyotiklerinin kalıntısına rastlanmamıştır. Weigel ve ark. (2005), kemoterapide sık kullanılan antibiyotiklerin kalıntılarının ballarda bulunduğunu, Forti ve ark. (2005), ise İtalya ballarında kloramfenikol miktarının 0.30-0.60 ppb arasında olduğunu tespit etmiştir. İspanyadaki ballar ile ilgili yapılan bir çalışmada Bonvehi ve Gutierrez, (2008) ballardaki kloramfenikol miktarının 0.3 ppb den az olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada kullandığımız bal örneklerinde antibiyotik kalıntılarının bulunmaması bu çalışmada kullanılan balların ne derece kaliteli olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, balda antibiyotik kalıntılarının tespitine yönelik yapılan çalışma sayısı arttıkça

arıcılık ile ilgili bilgileri artacak, insanlar daha çok bilinçlenecektir. Böylece daha kaliteli ve güvenilir ürün elde edilmesine katkı sağlamış olacaktır.

Kaynaklar

- Anonim, 2015. Bitlis İl Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, 2015.
- Anonim, 2015. Türkiye Arı Yetiştiricileri Merkez Birliği Verileri 2015.
- Anonim, 2015. (www.disticaret.biz.tr) bal-ihracati-ve-ithalati.html.
- Aydın, L., Çakmak., Güleğen, E., Korkut, M. 2003. Güney Marmara bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları anket sonuçları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 1: 35-40.
- Bogdanov, St. 2006. Contaminants of Bee Products. *Apidologie* 37: 1-18.
- Bonvehi, S., Gutiérrez, A. 2008. Residues of antibiotics and sulfonamides in honeys from Basque Country (NE Spain). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 63-72.
- Forti, A.F., Campana, G., Simonella, A., Multari, M., Scortichini, G. 2005. Determination of chloramphenicol in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.*, 529: 257-263.
- Johnson S., Jadon N. 2010. Antibiotic residues in roney. Centre For Science and Environment and Pollution Monitoring Laboratory, India.
- Galarini, R., Saluti, G., Giusepponi, D., Rossi, R., Moretti, S. 2015. Multiclass determination of 27 antibiotics in honey. *Food Control*, 48: 12-24.
- Granja, R.H.M.M., Nino, A.M.M., Zucchetti, R.A.M., Nino, R.E.M., Patel, R., Salerno, A.G. 2009. Determination of streptomycin residues in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 637: 64-67.
- Kekeçoğlu, M. 2012. Türkiye'de Arıcılık, Sorunları ve Çözüm Önerileri. Zeytinburnu Tıbbi Bitkiler Bahçesi Geleneksel Tıp Festivali. İstanbul.
- Korkmaz, A. 2001. Ülkemiz Ballarında Kalıntı Sorunu ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi. Türkiye 2. Ekolojik Tarım Sempozyumu. Bildiri ve Poster Özetleri Kitabı. 14- 16 Kasım 2001, Antalya.
- Korkmaz, A. 2015. Anlaşılabilir Arıcılık, Giresun.
- Krell, R. 1996. Value-Added Products from Beekeeping. FAO. Rome.
- Kutlu, M.A. 1998. Arıcılık Yerinin Seçimi ve Düzenlenmesi. *Teknik Arıcılık*. 60: 24-25.
- Posyniak, A., Zmudzki, J., Niedzielska, J., Sniegocki, T., Grzebalska, A. 2003. Sulfonamide residues in honey. Control and development of analytical procedure. *Apiacta*, 38: 249-256.
- Reybroeck, W. 2003. Residues of antibiotics and sulphonamides in honey on the Belgian market. *Apiacta*, Vol: 38: 23-30.
- Seğmenoğlu, M.S., Baydan, E. 2012. Ballarda rastlanabilen ilaç kalıntıları ve bulaşanlar. Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi, 2: 24-28.
- Sunay, A.E. 2006. Balda antibiyotik kalıntısı sorunu. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 4: 143-148
- Şener, S. 2006. Veteriner Farmakoloji. 1. Baskı., 59-60, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- Weigel, S., Gatermann, R., Harder, W. 2005. Screening of honey for residues of antibiotics by an optical biosensor. *Apiacta*, 40: 63-69.
- TÜİK, 2017. Türkiye İstatistik Yıllığı, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Yayınları. Ankara.
- Zai, IUM., 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: 683-687.