



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE’NİN ÇEŞİTLİ BÖLGELERİNDEN TEMİN EDİLEN BAL
ÖRNEKLERİNDE NAFTALİN ARANMASI VE MİKTAR TAYİNİ**

Uzm. Ecz. DİREN BEYOĞLU
DOKTORA TEZİ

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Gülden Z. OMURTAG

İSTANBUL - 2006

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iii
TEŞEKKÜR	v
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Naftalinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	5
4.2. Naftalinin Kullanım Alanları	5
4.3. Naftalinin Absorbsiyonu ve Dağılımı	6
4.4. Naftalinin Metabolizması	6
4.5. Naftalinin Eliminasyonu	9
4.6. Naftalinin Toksik Etkileri	10
4.6.1. Akut ve Subakut Toksikite	12
4.6.2. Subkronik ve Kronik Toksikite	15
4.6.3. Naftalin ve Reprodüktif Toksikite	16
4.6.4. Naftalinin Karsinojenik Etkileri	16
4.6.5. Naftalinin Neden Olduğu Lipid Peroksidasyonu ve Oksidan Hasar	17
4.7. Naftalinin Tayininde Kullanılan Kimyasal Yöntemler	18
4.8 Balın Tarihçesi ve Tanımı	20
4.8.1. Balın Yapısı	23
4.8.2. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bal Tebliği'ne Göre Balda Bulunması Gereken Özellikler	25
4.8.3 Balda Yapılan Analizler	27
4.8.4 Balda Rastlanan Kirlilikler	30
4.8.4.1. Kimyasal Kirlilikler	30
4.8.4.2. Mikrobiyolojik Kirlilikler	35
4.9. Balın İnsan Sağlığı Açısından Kullanım Alanları	36
4.9.1 Balın Deri ve Mukoza Üzerine Etkileri	36
4.9.2 Balın Göz Üzerine Etkileri	37
4.9.3 Balın Antibakteriyel Etkileri	38
4.9.4 Balın Antioksidan Etkileri	39
4.9.5 Balın Diğer Tıbbi Etkileri	40
5. GEREÇ VE YÖNTEM	43
5.1. Gereç	43
5.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	43
5.1.2. Çözeltiler	43
5.1.3. Alet ve Malzemeler	43
5. 2. Yöntem	44
6. BULGULAR	46
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	51
8. KAYNAKLAR	55
9. ÖZGEÇMİŞ	77

KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AFB: American foulbrood, Amerikan yavru çürüklüğü

BPA: Bisfenol A

BPF: Bisfenol F

BPF: Brown pigment formation, Kahverengi Pigment Oluşumu

CAP-G: Kloramfenikol-glukroniti

CAP: Kloramfenikol

DAD: Diode array detector, diode dizi detektör

EC: European Community, Avrupa Birliği

ELISA: Enzym linked immunosorbent assay

EPA: Environmental Protection Agency, Çevre Koruma Birliği

MRPL: Minimum istenilen performans değeri

EU: European Union, Avrupa Birliği

FAO: Food and Agricultural Organization, Gıda ve Tarım Örgütü

G6PH: Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz

GC: Gaz kromatografisi

GSH: Glutatyon

HCB: Hekzaklorobenzen

HCH: Hekzaklorosikloheksan

HMF: 5-hidroksimetil-2-furaldehit

IARC: International Agency for Research on Cancer, Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü

IHC: International Honey Commission, Uluslar arası Bal Komisyonu

i.p: İntraperitoneal

i.v: İntravenöz

MRS: Man Ragose Sharp besiyeri

MS: Kütle Spektrometresi

DİE: Devlet İstatistik Enstitüsü

PAH: Polisiklik aromatik hidrokarbon

STP: Streptomisin

TGK: Türk Gıda Kodeksi

WHO: World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü

YBSK: HPLC, High pressure liquid chromatography, Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Gůlden Zehra Omurtag' a, çalışmam esnasında ilgi, yardım ve desteklerini gördüğüm çok değerli hocam Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Türkan Yurdun'a, Sayın Öğr. Gör. Nuray Yůktař'a Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerine ve daima yanımda olan sevgili aileme teőekkürü bir borç bilirim.

SAĞ-040/230804 No'lu proje kapsamında bu araştırmayı destekleyen Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

1. ÖZET

Türkiye çok zengin bir bitki örtüsü ve farklı iklim kuşaklarına sahip olup arıcılığın yaygın olarak yapıldığı bir ülkedir. Pestlerle mücadelede kullanılan pestisitlerin arıcılar tarafından yanlış ve bilinçsiz bir şekilde uygulanması sonucu bal ve balmumunda kalıntı bıraktığı bilinmektedir. Kovandan güveleri uzaklaştırmak amacıyla yapılan naftalin uygulama işlemi sonucu bal naftalinle kontamine olur. Naftalin, uçucu özellikte bir hidrokarbon olup genellikle güvelere karşı ve tuvalet deodorantları olarak, lubrikant ve boya üretiminde kullanılmaktadır. Naftalinin oral, inhalasyon ve dermal yollarla absorpsiyonu insanlarda sistemik toksik etkilere yol açmaktadır. Akciğerler ve gözler toksik açıdan en çok etkilenen organlardır. Bunların dışında diğer dokulardan, karaciğer, beyin ve böbrekte de toksik etkiler görülmektedir.

Çalışmamızda, marketlerden ve pazarlardan temin edilmiş bal örneklerinde naftalin, diode dizi detektörlü (DAD) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) ile tayin edildi. Bu çalışmada 100 tane bal örneğinde naftalin analizi yapıldı. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin edilmiş toplam 100 örneğin 53 tanesi marketlerden, 47 tanesi pazarlardan satın alındı. Naftalin şüpheli bir bal örneği gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz edildi ve naftalin olduğu doğrulandı. Ülkemiz beslenmesinde çok önemli bir yer tutan ve yurt dışına giderek artan miktarlarda ihraç edilen ballar, aynı zamanda ekonomimiz açısından da önemlidir. Bu nedenle besinlerin tüm besin zinciri boyunca geçirdiği aşamalarda, naftalinle ve diğer kalıntılarla kontaminasyonun önlenmesi, hijyen bakımından kontrol ve analizlerinin yapılması gerekmektedir. Beslenmeyle ilgili yapılacak kalıntı çalışmaları sağlıklı bir toplum kazanmak ve sağlıklı nesillerin yetişmesi bakımından büyük önem taşır.

Anahtar kelimeler: Naftalin, YBSK, bal, Türkiye

2. SUMMARY

DETERMINATION OF NAPHTHALENE CONCENTRATION BY HPLC IN HONEY SPECIMENS PROVIDED FROM VARIOUS REGIONS OF TURKEY

Turkey having a wealthy flora with different climate conditions, beekeeping is widely spread all over the country. Due to wrong and/or unconscious pesticide treatments against pests generally causes residues in honey and beeswax. Treatment of naphthalene to beeswax is preferred for removing the moths from the beehive and as a result of it, honey is contaminated with naphthalene. Naphthalene, a volatile aromatic hydrocarbon, is widely used in mothballs and toilet bowl deodorants, in the production of dyes and lubricants. Naphthalene absorption by oral, inhalation and dermal contact causes systemic toxic effects for human. The lungs and eyes appear to be most susceptible to toxicity, although toxic effects can be demonstrated in other tissues, such as the liver, brain and kidney.

In our study, naphthalene was detected in honey specimens which are provided from various regions of Turkey using high pressure liquid chromatography (HPLC) with diode array detector (DAD). In this study, naphthalene analysis was carried out in 100 honey specimens. Out of 100 specimens 53 of them were purchased from markets and 47 of them were from street bazaars existing in various regions of Turkey. Naphthalene-suspicious one honey specimen was analysed and confirmed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Honey has an important role in our food chain and in our country's economy. Therefore, foodstuffs are needed to be hygienic controlled and analyzed during food process and prevent the contamination of naphthalene and other residues. All residue analyses for the entire food chain have a lot of importance for healthy people and healthy generation.

Key words: Naphthalene, HPLC, honey, Turkey

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Yurdumuz çok zengin bir bitki örtüsü, farklı iklim kuşakları ve uygun bir ekolojik yapıya sahip olması bakımından arıcılığın gelişmesine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Bal arısı ve arıcılık kırsal nüfusun geleneksel üretim araçlarından biridir. Türkiye dünyadaki mevcut ballı bitki türlerinin 3/4'üne sahip olup, hem koloni varlığı hem de bal üretimi açısından dünyada önemli bir konumdadır (1, <http://www.zmo.org>, 15.11.2005). Başta bal olmak üzere, tüm arı ürünlerinin insanlara faydalı olabilmesi için hiçbir yabancı madde ve kalıntı içermemesi gerekmektedir. Arı hastalıklarında, pestlerle mücadelede, ilaç ve pestisit uygulamalarının, arıcıların yanlış uygulamalarının ve kötü niyetle kullanılan kimyasal maddelerin, bal ve balmumunda kalıntı bıraktığı bildirilmektedir (1, 2).

Bala yabancı madde karışması önemli ekonomik etkiler ve arzu edilmeyen beslenme ve organoleptik sonuçlara yol açması bakımından ciddi bir problemdir (3). Balmumuna naftalin katılması, arıcıların ürünlerini zararlı böceklerden korumak için arı kovanlarında naftalin kullanmasının bal ihracatını olumsuz yönde etkilediği vurgulanmıştır. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın Resmi Gazete'de ilk kez yayınlanan 22.10.2000 tarih ve 24208 sayılı Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde değişiklik yapılmış olup 26.7.2003 tarih ve 25180 sayılı şekline göre balda naftalin bulunmamasına yönelik madde yer almıştır. Türkiye'de 1999 yılından bu yana Avrupa'ya ihraç edilen ballarda naftalin kalıntısı nedeniyle iade sorunu yaşanmasından sonra gerek sağlık gerekse ekonomik açıdan problem teşkil etmesinden dolayı konu ciddi olarak gündeme gelmiştir. Tarım Bakanlığı Arıcılık Şubesi'nin Mayıs 2003'te yayınladığı raporda yer alan uyarılar arasında, bal gibi değerli bir besin maddesinin ilaç kalıntısı bulaştırılarak zararlı hale dönüştürülmemesi gerektiği bildirilmiştir. İthalatçı ülkelerin ballarımızda yaptığı testler sonucunda standartların üzerinde şeker, insan sağlığına zararlı karsinogen ilaç veya naftalin gibi toksik madde tespit edilmiş ve bu yüzden bazı ballar ülkemize iade edilmiştir (2, 4). Naftalin, uçucu özellikte bir hidrokarbon olup güvelere karşı ve tuvalet deodorantları olarak, lubrikant ve boya üretiminde kullanılmaktadır. Endüstride çalışan işçilerde naftaline mesleki maruziyetler rapor edilmiştir (5, 6). Çoğunlukla maruziyet düşük dozda kronik inhalasyon, dermal temas veya besin zinciri yolu ile alım şeklinde

gerçekleşmektedir. Akciğerler ve gözler toksik açıdan en çok etkilenen organlardır. Bunların dışında diğer dokular, karaciğer, beyin ve böbrekte biyokimyasal açıdan toksik etkilere maruz kalmıştır (7). EPA (Environmental Protection Agency, Çevre Koruma Birliği) naftalini insan karsinojeni olarak C grubuna dahil etmiştir (8). Çevre kirliliği ve mesleki açıdan tehlikeli maddelerle ilişkili olarak sularda ve kızarmış ekmek örneklerinde yapılan çalışmalarda naftalinin tespit edildiği bildirilmektedir (9, 10). Naftalinin de içinde yer aldığı polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) mutajenik ve karsinojenik ajanlar olarak bilinmektedir (11).

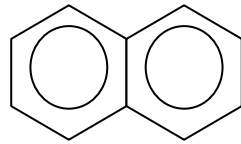
WHO (World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü), FAO (Food and Agricultural Organization, Gıda Tarım Örgütü), Avrupa Birliği'nin ilgili komisyonları, ABD'deki FDA (Food and Drug Administration, Besin ve İlaç İdaresi) gibi kuruluşlar, yaptıkları çalışmalarla, tüketici sağlığının korunması da dahil, ilaç kalıntılarının yol açabilecekleri ekonomik ve sosyal yönlü olumsuzlukların önlenmesi için çalışmakta, diğer ülkelerle birlikteliğin sağlanması için çaba sarf etmektedirler (1). FAO'nun 2003 istatistiklerine göre, 2001'de dünya bal üretimi 1.264.000 tondur. Bu üretimin yaklaşık %25'i uluslararası ticarete katılmaktadır (12). Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE)'nden alınan verilere göre 2005 yılına ait ülkemizden ihraç edilen bal miktarı yaklaşık 2120 ton ve tutarı yaklaşık 6.5 milyon dolar olup ihracatta ilk beşi sırasıyla Almanya, Fransa, Suudi Arabistan, ABD ve İngiltere almaktadır. Ülkemize ithal edilen bal miktarı ise yaklaşık 148 ton ve tutarı yaklaşık 521 bin dolar olup ithalatta ilk sıralarda Almanya, Belçika, ABD ve Avusturya yer almaktadır. DİE'nin 2004 yılı verilerine göre ülkemizdeki kovan sayısı yaklaşık 4 milyon 400 bin olup bal üretimi yaklaşık 74 bin ton olarak bildirilmiştir (13).

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki market ve semt pazarlarından sağlanan bal örneklerinin naftalin düzeylerini araştırmak ve ortaya çıkacak sonuçlara göre sorunun çözümü için önerilerde bulunmaktır. Bunun için de toplanan örneklerde naftalin miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK=HPLC, High Pressure Liquid Chromatography) kullanılmıştır. Naftalinin özellikle insan sağlığı üzerine zararlı etkilerinden korunmak için balların naftalin açısından analize tabi tutulması gerekmektedir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Naftalinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Naftalin (CAS 91-20-3) doğal olarak bulunduğu petrol ya da kömür katranının distilasyonu ve fraksiyonu ile üretilen, kimyasal formülü $C_{10}H_8$ ve molekül ağırlığı 128.17 olan bisiklik bir aromatik hidrokarbon olup kimyasal yapısı Şekil 4.1'de verilmiştir. Saf naftalin beyazdır ve oda sıcaklığında katıdır. Suda çözünmez, 1 g'ı 13 ml etanol ya da metanolde, 3.5 ml benzen ya da toluende, 8 ml zeytinyağı ya da neftyağında, 2 ml kloroform ya da karbon tetraklorürde, 1.2 ml karbon disülfürde çözünür. Eterde, hidronaftalinlerde, doymuş ve uçucu yağlarda çok iyi çözünür. Oda sıcaklığında uçucu olup, erime noktası üzerindeki sıcaklıklarda süblimleşir. Erime noktası $80.2^{\circ} C$ 'dir (14). Naftalin, yarı-uçucu poliaromatik hidrokarbonlardan olup petrol ürünlerinde ve onların ikincil ürünlerinde (yakıt yağları, ısıtma yağları) bulunmaktadır (15). EPA (Environmental Protection Agency, Çevre Koruma Birliği) tarafından naftalin insan karsinojeni olarak C grubuna dahil edilmiş olup ayrıca IARC (International Agency for Research on Cancer, Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü) monograflarında da yer almıştır (8, 16).



Şekil 4.1. Naftalinin kimyasal yapısı

4.2. Naftalinin Kullanım Alanları

Ticari ve endüstriyel uygulamalarda ve evlerde geniş bir kullanım alanı olan naftalin, ftalik anhidrit ve antranilik asitlerin, naftollerin, naftil-aminlerin, sülfonik asitin, sentetik resinlerin ve hidronaftalenlerin ara sentezinde kullanılmaktadır. Ftalik anhidrit; ftalik plastizerlerin, reçinelerin, boyaların ve böcek kovucuların üretiminde, antrakinon, indigo, salisilik asit ve 1-naftil-N-metilkarbammat insektisitlerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Naftalin, antiseptiklerin bileşiminde hayvan

yaralarının yıkanmasında ve kümes hayvanlarında biti kontrol altına almak amacıyla dışardan uygulanmaktadır (6, 17-21).

4.3. Naftalinin Absorbsiyonu ve Dağılımı

Naftaline maruziyet çoğunlukla düşük dozda kronik inhalasyon, dermal temas veya besin zinciri yolu ile alım şeklinde gerçekleşmektedir. Akciğerler ve gözler toksik açıdan en çok etkilenen organlardır. Bunların dışında diğer dokular, karaciğer, beyin ve böbrekte biyokimyasal açıdan toksik etkilere maruz kalmıştır. Naftalinin oral, inhalasyon ve dermal yollarla absorpsiyonu insanlarda sistemik toksik etkilere yol açmaktadır (7). Naftalinin gıda içinde alımı yerine yağdaki çözeltisinde ya da suyla alımında oral absorpsiyonu artar (22). Absorbe edilen naftalin ve/veya metabolitlerinin tüm vücuda kan yoluyla dağıldığı bildirilmiştir. İnsanlardaki doku dağılımı ile ilgili veri çok sınırlıdır. Oral ve i.p. hayvan çalışmaları naftalinin farklı dokulara dağıldığını göstermiştir. 31 gün boyunca radyoaktif işaretli naftalin dozları verilen domuzlarda, akciğerde 0.15, karaciğerde 0.11, kalpte 0.11, böbrekte 0.09, dalakta 0.09, yağda 0.03 radyoaktivite tespit edilmiştir (birimler % doz/g doku 10^{-3} 'dür). Domuzlarda adipöz dokudaki naftalin miktarı zamanla değişir. 0.123 mg/kg tek doz uygulamadan 24 saat sonra adipöz doku en yüksek konsantrasyona sahip dokudur. Tavuklar için böbrekte 2.40, akciğerde 1.24, karaciğerde 0.74, dalakta 0.71, kalpte 0.44, yağda 0.37 radyoaktivite ve inekte ise karaciğerde 0.006, kalpte 0.004, dalakta 0.004, akciğerde 0.003, böbrekte 0.002 ve yağda 0.001 radyoaktivite tespit edilmiştir (21). Farede radyoaktif işaretli naftalinin i.p. enjeksiyonu radyoaktivitenin doku makromoleküllerine kovalent bağlanması ile sonuçlanmaktadır. Enjeksiyondan 2-4 saat sonra maksimuma erişen düzeyler için, en yüksek bağlanma akciğerde, karaciğerde ve böbrekte olmuştur (23, 24).

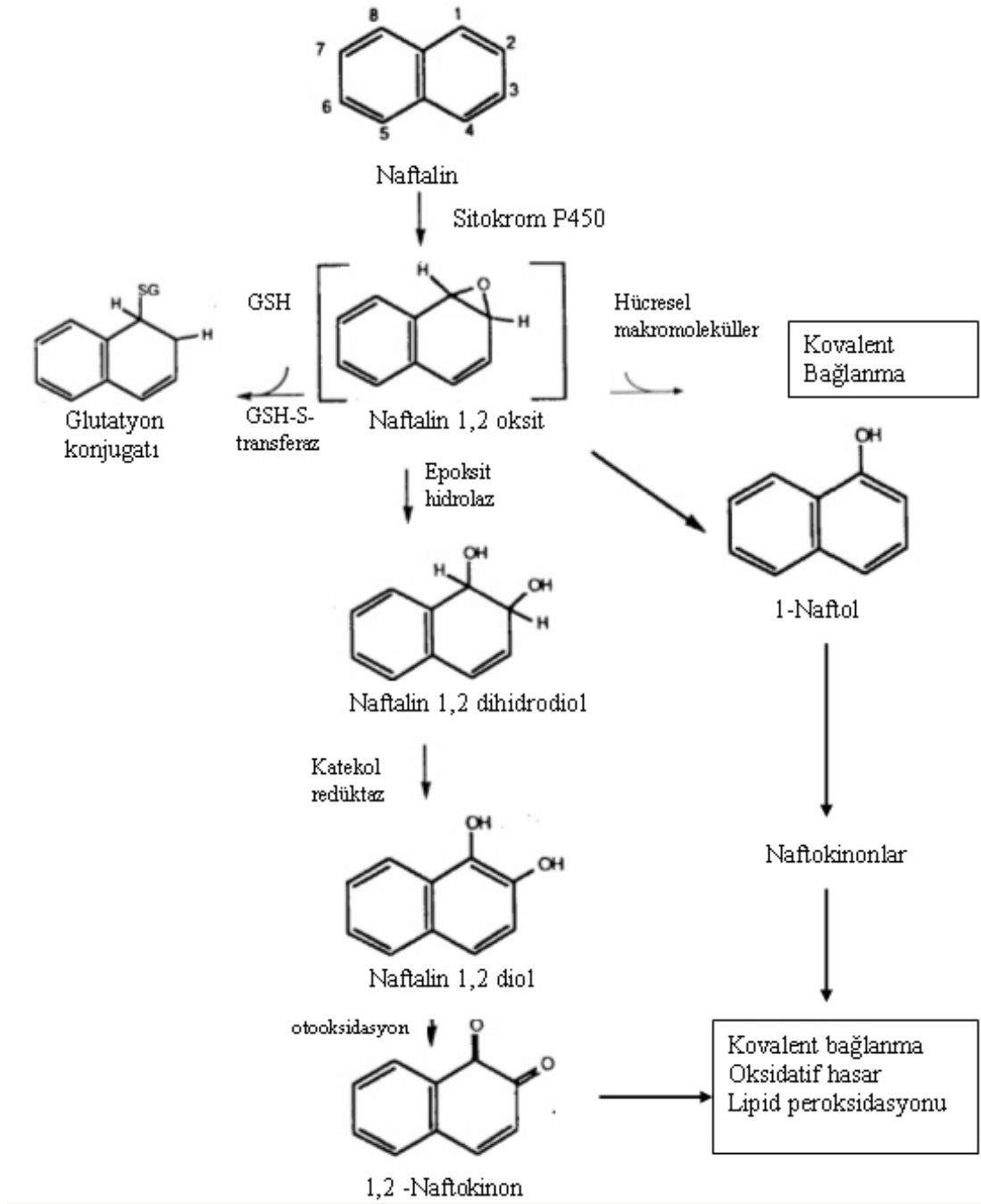
4.4. Naftalinin Metabolizması

Naftalinin neden olduğu toksik belirtiler naftalinin hidroksillenmiş ürünleri olan 1-naftol, 2-naftol ve 1,2-dihidroksinaftalin'e dönüşmesi ya da 1,2- ve 1,4 naftokinonlara dönüşmesi ile ortaya çıkmaktadır (6, 25). Domuzlar, tavuklar ve inekler üzerinde yapılan bir araştırmada 31 günlük oral naftalin maruziyeti sonrasında

akciğer, karaciğer, böbrek, kalp ve dalakta yüksek konsantrasyonlarda naftalin ya da metabolitleri bulunmuş olup ayrıca ineklerin sütünde ve tavuk yumurtalarının sarılarında da saptanmıştır (23, 26).

Naftalinin memelilerdeki metabolik yolu birinci basamakta sitokrom P-450 monooksijenaz sistemi tarafından 2-naftalin 1,2-oksit enantiyomerlerinin oluşumu şeklindedir. Bu ara bileşikler ayrıca epoksit hidrolaz ile dihidrodiollere metabolize olurlar, nonenzimatik düzenleme ile de 1-naftol'e dönüşürler. Bunlar "makromoleküllere kovalent bağ ile bağlanırlar veya glutasyon S-transferaz ile glutasyon konjugatlarını oluştururlar (5).

Naftalinin memeli sistemlerindeki *in vivo* ve *in vitro* metabolizması kapsamlı olarak çalışılmıştır (27-32). İnsan karaciğer mikrozomlarında oluşan ana stabil metabolitin 1-naftol ve naftalin-1,2-dihidrodiol olduğu gösterilmiştir (33). Naftalin metabolizmasının ilk basamağı oksidatifdir ve mikrozomda P-450 monooksijenazlar ile katalize edilerek elektrofilik bir epoksit ara ürünü olan 1,2-naftalin oksit meydana gelmektedir. 1,2-naftalin oksit'in ilk izolasyonu Jerina ve ark. (34) tarafından yapılmıştır. Memeli organlarında en fazla sitokrom P-450 aktivitesi genelde karaciğerde olmasına rağmen naftalinin diğer organlarda da metabolize olduğu gösterilmiştir (27, 28, 31). Naftoller ayrıca enzimatik olarak epoksit hidrolaz ile trans-1,2-dihidro-dihidroksinaftalin'e de hidrate olabilirler. Naftalin-1,2-dihidrodiol, katekol redüktaz tarafından 1,2-naftalindiol'e dönüşebilir. 1,2-naftalindiol de 1,2-naftakinon ve hidrojen peroksida okside olur ve/veya 1,2-naftalindiol, 1,4-naftalindiol'e dönüşerek 1,4-naftakinon meydana gelir. Son naftakinon aynı zamanda 1-naftol'den de meydana gelebilir. 1-naftol, 1,2-naftakinon ve 1,4-naftakinon metabolitlerinin mononükleer lökositlere direkt olarak toksik etkili olduğu ve glutasyonu kontrol seviyelerinin %1'i kadar tükettiği bildirilmiştir. Her iki kinonun da insan lenfositlerine genotoksik olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık naftalinin primer metaboliti olan 1,2-epoksit'in sitotoksik ve genotoksik olmadığı ve glutasyonu tüketmediği bildirilmiştir. Bu verilere dayandırılarak naftalin sitotoksitesi naftalin-1,2-epoksit'den oluşanların yerine 1-naftol'den oluşan kinonlarla ilişkilendirilmiştir (21, 35). Bir çalışmada farelerde ve sıçanlarda i.v. ve inhalasyon yolu ile uygulanan naftalinin farmakokinetiği fizyolojik olarak incelenmiştir. Naftalinin naftalin okside



öncelikle metabolize olduğu organlar karaciğer ve akciğerdir. Tek başına ana bileşiğin dokulardaki dozimetrisi bu kimyasal bileşiğin neden dışı farelerin akciğerinde karsinojenik etkide olup sıçan akciğerinde olmadığını açıklayamamaktadır. Fakat sonuçlar akciğer üzerine toksik etkiden hangi metabolitlerin sorumlu olduğunu göstermektedir (5). Naftalinin metabolizması Şekil 4.2.'de gösterilmiştir (28).

Naftalin, EPA tarafından öncelikli kirletici maddeler grubunda listelenmiş çevresel bir kontaminanttır. Yakın zamanda yapılan çalışmalar murine Clara hücre sitotoksikantı naftalinden metabolize olan reaktif metabolitlerin glutasyonu tükettiğini veya yeterli miktarda glutasyonun yokluğunda doku makromoleküllerine kovalent bağla bağlandığını göstermektedir (6).

4.5. Naftalinin Eliminasyonu

Absorbe edilen naftalinin çoğu, metabolitleri şeklinde idrarla elimine edilir ve az bir miktarda feçeste bulunur (21). Radyoaktif olarak işaretlenmiş naftalinin sıçanlara oral olarak uygulanmasını takiben, 24 saat içinde %77-93 radyoaktivite idrarda ve %6-7 feçeste bulunmuştur (23, 36). 1-Naftol, glukronil transferaz aracılığıyla glukronik asit ile konjugasyona tabi tutulur; glukronid konjugatı, naftalinin önemli bir üriner metabolitidir. Radyoaktif işaretlenmiş naftalinin uygulanması sonrasında kemirgenlerde üriner radyoaktivitenin %12'sinin glukronid konjugatı olduğu bildirilmiştir (37). 1-naftol, naftokinonlara da metabolize olabilir. Naftokinonların hücrel makromoleküllere kovalent olarak bağlandığı ve oksidan hasar meydana getirdiği ve potansiyel olarak sitotoksikite oluşturabileceği bildirilmiştir (27, 28, 31, 32). 18 aylık bir bebeğin idrarında naftalinin ağızdan alımından yaklaşık 9 gün sonra alfa-naftol, beta-naftol, 1,2-naftakinon ve 1,4-naftakinon bulunmuş fakat naftalin bulunmamıştır. 1,4-naftakinon haricindeki bu metabolitler, maruziyeti takiben 13. gün hala saptanabilmiş fakat 17. gün saptanmamıştır (38). Epoksit bir kez oluştuğunda, naftollerin (1-naftol baskın olmak üzere) oluşmasını spontan olarak yeniden düzenleyebilir ve sonra konjugatları oluşturmak için enzimatik reaksiyonlar yoluyla glukronik asit ya da sulfirik asitle konjuge olur. Epoksitler enzimatik olarak (glutasyon-S-transferaz) glutasyon ile

konjuge olabilirler, sonuçta glutamil ya da glisin artıkları kaybıyla tiyoeterler olarak bilinen çeşitli sistein konjugat türevlerini oluştururlar. Naftalin glutatyon konjugatları idrar ve safradan itrah edilmeden önce premerkaptürik asit ve merkaptürik asitlere katabolize olmaktadır (21). Fare ve sıçanlarda premerkaptürik asit ve merkaptürik asitlerin idrar yolu ile itrahi başlıca atılım yoludur (37, 39). Bununla beraber oral naftalin uygulanmış rhesus maymunlarının ve şempanzelerin idrarında tiyoeter itrahi olmamıştır, bu durum insan olmayan primatlarda önemli miktarda glutatyon konjugasyonu meydana gelmediğini göstermektedir (40). 500 mg naftalini oral olarak alan bir insanın idrarında ‘eser’ miktarda merkaptürik asit saptanmıştır (41). Glutatyon konjugatlarının oluşumundaki belirgin farkın primatlarda naftalin epoksit oluşunun kemirgenlere göre azalan oranlarına (örn. azalmış sitokrom P-450 oksijenaz aktivitesi) ya da naftalin dihidrodiol oluşumunun artan hızına (örn. artmış epoksit hidrolaz aktivitesi) bağlı olabileceği bildirilmiştir (40). Naftalinin ağızdan alınımından 4 gün sonra hastaların idrarında naftol saptandığı; 5. günde de giderek azalan miktarlarda bulunduğu ve daha sonra ise hiç bulunmadığı bildirilmiştir (42).

4.6. Naftalinin Toksik Etkileri

Naftalinin işçi sağlığı ve iş güvenliği yönünden havadaki sınır değeri 10 ppm (50 mg/m³)’dir (43, 44). Naftalin maruziyetinin insanlarda ve deney hayvanlarında bronşiyal hasar (7, 24, 45), katarakt (7, 46, 47), hemolitik anemi (24, 42, 46, 48), letarji ve kanser (21) gelişimi ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Naftalinin et diyetine karıştırılmış oral alınımı takiben köpeklerde hemolitik anemi geliştiği rapor edilmiştir (42). Yenilebilir yengece (*Scylla serrata*) naftalin uygulanması sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında test örneklerindeki toplam protein, DNA ve RNA, serbest şeker, glikojen, proteine bağlı şekerler, nötral yağlar, glikolipid ve fosfolipidlerin düzeyinde kapsamlı bir azalma tespit edilmiştir. Benzer bir biçimde hepatopankreas ve yumurtalıktaki işaretli enzimlerin tümünde azalma gözlenmiştir. Diğer taraftan hemolenfteki işaretli enzimlerin aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir (15). Çalışmalar doz, uygulama yolu ve türlere bağlı olarak naftalinin toksik etkilerinin ortaya çıkabileceğini göstermiştir (7).

• Naftalinin Göz Üzerine Toksik Etkileri

Naftalinin retinotoksik etkisi, naftalin buharının sistemik absorpsiyonu sonucunda katarakta neden olmaktadır. Tavşanların naftalini oral olarak 1 g/kg/gün alması sonucunda lentiküler değişimler, lensin periferal kısmında şişkinlikler (kabartılar) gözlenmektedir. 2 hafta içinde lensin tamamında katarakt oluşumu gerçekleşmektedir. 2 haftanın sonunda epitelyumda hücre kopyalanması, nükleer dejenerasyon, normal ve anormal mitozisler görülmektedir. Hayvanda naftalinin neden olduğu katarakt evreleri insandaki yaşlılık katarakt gelişimine benzemektedir. Koenzimler, enzimler ve 1,2-naftokinon'lar arasındaki reaksiyonlar lensteki potansiyel oksidasyon/redüksiyon olaylarında değişmelere ve anormal metabolik reaksiyonlara neden olmaktadır. Tek başına veya kombinasyon şeklinde hücrede zarar ve sonucunda katarakt oluşumu gözlenmektedir (49). Naftalin göze dışarıdan direkt kontamine olduğunda küçük çapta rahatsızlık meydana getirmektedir. Ciddi intraoküler etkiler sistemik uygulanma sonucunda gerçekleşmektedir. Genel olarak antiseptik ve antelmentik etkisinden ötürü uygulanmaktadır. Sistemik olarak inhalasyon, sindirim yoluyla veya deriden absorbe olma şeklinde zehirlenmede; mide bulantısı, kusma, akut hemolize bağlı hematüri, hemolitik anemi, karaciğer hasarı, konvülsiyon ve koma meydana gelmektedir. Naftalinin metabolizması ve metabolitlerinin göz üzerindeki toksisitesi tavşanlarda çalışılmıştır. Tavşanda enzimatik ve oksidasyon yoluyla 1,2-naftokinon'ların oluştuğu ve bunların katarakttan sorumlu metabolit olduğu gösterilmiştir. Naftalinin kendi veya metabolik ürünleri kan akımı yoluyla gözü aşır, lense etki etmekte ve böylece onun bütünlük ve saydamlığına engel olmaktadır. Gözde 1,2-dihidroksi naftalinin toksikasyonu ile meydana gelen naftakinon, lensin birçok içeriğine etki etmekte ve dejeneratif değişmelere yol açmaktadır. Aynı zamanda naftakinon aqueous ve vitreous humors da askorbik asidin oksidasyonunu katalizler, sonuçta şeffaf olmayan vitreous oluşumunun gözlenmesine neden olmaktadır (50). Bir çalışmada sıçanlarda naftalinin neden olduğu katarakt modeli geliştirilmiştir (51). Naftalin maruziyeti sonucunda insanlarda ve köpeklerde anemi, farelerde karaciğer dokularında ciddi nekrozlara sebep olmaktadır. Naftalin tavşan, fare ve sıçanların okuler lenslerinde katarakt oluşumuna neden olmaktadır (52).

Tavşanların midelerine tüp takmak yoluyla naftalin (1g/kg) verilmiş ve yapılan *in vivo* çalışmada yarıdan fazla tavşanın retinasında dejenerasyon ve lenslerinde donuk lekeler oluştuğu görülmüştür. Göz dokusundan alınan parçalar incelendiğinde göz içi sıvısının ve lenslerin yanması ve rengin koyulaşması, retinada kristallerin oluşması, göz içi sıvısındaki askorbik asit konsantrasyonunun azalması gibi durumlar tespit edilmiştir. Naftalin intestinal enfeksiyonda tedavi amaçlı kullanılmıştır ve bu medikal kullanıma bağlı olarak bir adet katarakt oluşumu vakası tespit edilmiştir. Naftalin 4 g/kg dozda tavşanlara verilmiş 12-14 saat sonra lenslerinde oluşan kabarıklık ölçülmüş, lens epitelyumunda histolojik açıdan normal olmayan oluşumlar gözlemlenmiştir. Naftalinin enzimatiksel olarak 1,2-dihidroksinaftalin'e dönüşmesiyle bağlantılı olarak gözde oluşan değişmelerden bu ajanın sorumlu olduğu belirtilmiştir. Lenslerde koyulaşma ile intraoküler sıvıda sarı renk oluşumu sıklıkla rapor edilmektedir. Havadan maruziyetle birlikte gözde oluşan diseksiyon süresince bu renk artan bir şekilde görülmektedir (53). Naftalinin neden olduğu katarakt, yaşlılık kataraktına benzerliğinden dolayı yaygın bir şekilde araştırılmaktadır. Boya ve kimya fabrikalarında çalışanlarda naftalinin neden olduğu katarakt tanımlanmıştır. 3-metilkolantren veya β -naftaflavon ile birlikte günlük oral dozlarda uygulanan asetaminofen veya naftalinin (60-120 mg/kg/gün) C57BL/6N sıçanlarında katarakta neden olduğu aynı uygulamanın DBA/2N sıçanlarında katarakta neden olmadığı saptanmıştır. Kataraktojenik etkinin sadece naftalinden değil aynı zamanda naftalen-1,2-dihidrodiol'den oluşan 1,2- naftokinon'dan ileri geldiği iddia edilmiştir. Naftalinin, fenol ve reaktif arenoksitinin glukronit, sülfat ve GSH ile konjugasyon yaptığı bilinmektedir (54).

4.6.1. Akut ve Subakut Toksikite

► İnsan

Naftalin içeren güve kovucuların birçok insanda yan etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Kazaen ya da oral alımı sonrasında en çok gözlenen yan etki hemoglobinin ve hematokrit değerlerinde azalma, retikülosit sayısında azalma, Heinz cisimciklerinin varlığı ve serum bilirubin değerlerinde artma ile ilişkilendirilen akut hemolitik anemidir (24, 42, 46, 48, 55). Naftalin, Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)

eksikliği olanlarda fatal hemolize neden olmaktadır. Naftalin zehirlenmesinde hematolojik, renal ve nörolojik sistemler çoğunlukla etkilenmektedir. G6PD eksikliği olan 83 yaşındaki bayanın intihar amaçlı naftalini oral yoldan almasıyla ilgili bir vakada ciddi hemolitik anemi ve akut oligurik renal yetmezlik gelişmiştir. Oral alımdan 24 saat içinde naftalinin en potent türevi olan α -naftol hemoliz meydana getirmektedir. G6PD eksikliği olanlar naftalin metabolitlerinin hemolitik etkilerine daha hassastırlar; akut intravasküler hemoliz 3 gün içerisinde gerçekleşmektedir. Oligurik renal yetmezlikten dolayı dehidrasyon ve hemoglobinüri gelişmektedir. Nörolojik komplikasyonlardan dolayı serebral anoksi 3-4 gün içerisinde oluşmaktadır. Naftalin ile intihara teşebbüs vakasında mikroanjiopatik hemolitik anemi, akut renal yetmezlik, koma ve takibinde etkili bir tedavi uygulanmasına rağmen sekizinci gün ölümlerle sonuçlanmıştır (56). Naftalinden meydana gelen ölümlerin çoğunun oral yolla alım sonucu olduğu bildirilmiştir (57, 58). 5 g naftalini oral yoldan alan bir yetişkinde ise bilateral katarakt ve körlük bildirilmiştir (21, 59). G6PD enzimi eksikliğine sahip bireylerde naftalin maruziyeti sonrası özellikle hemolitik anemi oluşabilir. G6PD, okside glutatyonun indirgenmesi için gerekli NADPH'yi sağlanması bakımından önem taşır:



G6PD eksikliğinde, yukarıda belirtilen ikinci reaksiyon normal hızda oluşamayacağından yeterli miktarda NADPH sağlanamayacaktır (60). Naftaline akut oral maruziyet sonrası diğer oluşan etkilerin; gastrointestinal bozukluklar (bulantı, kusma, karın ağrısı ve diyare), renal etkiler (artmış kreatinin ve kan üre azotu, hematüri, tübüler nekroz ve renal yetmezlik), nörolojik etkiler (konfüzyon (14, 23), letarji, baş dönmesi, kas seğirmesi, konvülsiyonlar, serebral ödem ve koma), hepatik etkiler (sarılık, hepatomegali, yükselen serum enzim düzeyleri) ve oküler etkiler (sınırlı görsel alan, optik atrofi ve bilateral katarakt) olduğu bildirilmiştir (23). 4 g naftalini oral yolla alan 12 yaşındaki bir erkekte 20 saat sonra hematüri, anemi, huzursuzluk ve karaciğerde büyüme bildirilmiştir (61). Naftalin ile muamele edilmiş

materyalin yakınında bulunarak inhalasyon yolu ile naftaline maruz kalmış 21 küçük çocuk arasında akut hemolitik anemi rapor edilmiştir (62). Güve kovucuyu kaza sonucu oral olarak almış 17 yaşındaki bir erkekte gastrointestinal kanama, hematüri ve koma, beş gün sonrada ölüm meydana geldiği rapor edilmiştir. G6PD eksikliği bulunan 10 çocuktan 8'inde kernikterus tespit edilmiş, iki çocuk ölmüştür (58). 30 adet güve kovucuyu oral olarak almış 30 yaşındaki bir kadında da 5 gün sonra ölüm bildirilmiştir (57). Evlerinde, güve kovucu olarak kullanılan naftaline maruz kalan kişilerde bulantı, kusma, abdominal ağrı ve anemi rapor edilmiştir. Olayın meydana gelmesinden sonra test edilen evde havadaki naftalin konsantrasyonunun 20 ppb ($105 \mu\text{g}/\text{m}^3$) olduğu bildirilmiştir (63). Bir çocuğun yaklaşık 5 g naftalini alımından 1 saat sonra ölmesi üzerine yapılan otopside, kandaki naftalin değeri 0.55 ppm (mg/l) olarak bulunmuş, konjestiyon, ödem, akciğerlerde hemoraji, karaciğerin histopatolojisi sonucunda polimorfonükleer lökositlerde ve lenfositlerde infiltrasyon gösterilmiştir (64). 40 yaşın altındaki 9 erkekte 5'inde iş yerinde naftalin buharına maruziyet sonucu katarakt oluştuğu bildirilmiştir (53).

Naftalini ağız yolundan alan bir kişi 6 saat içinde hastaneye yetiştirilmişse gastrik boşaltmanın (kusturma ya da gastrik lavaj) yararlı olabileceği bildirilmektedir. Daha sonra aktif kömür uygulaması yapılır. 2-3 gün süreyle süt ve yağlı yiyecekler verilmemelidir. Methemoglobinemi şekillenmişse metilen mavisi (G6PD yetersizliği olanlar hariç) ile tedavi edilir. Daha sonra semptomatik tedavi yapılır. Koma durumunda entübasyon ve yapay solunuma başvurulur. Konvülsiyonlara karşı çabuk etkili barbitüratlar ya da benzodiazepinler uygulanır (43).

► Hayvan

Erkek ve dişi sıçanlar için oral LD_{50} değerlerinin sırasıyla 2200 ve 2400 mg/kg (65), erkek ve dişi fareler için ise sırasıyla 533 ve 710 mg/kg (66) olduğu bildirilmiştir. Naftalinin et diyetine karıştırılmış oral alımını takiben köpeklerde hemolitik anemi geliştiği rapor edilmiştir (42). Oral dozda 50 mg/kg naftalin sıçanlarda Clara hücresi üzerinde toksik etkiler oluşturmuştur (5). 200 mg/kg dozda i.p. olarak naftalin uygulanmış farelerde 24 saat sonra öncelikle siliyer olmayan bronşiyal Clara hücreleri üzerinde, ikinci olarak da bronşiyal siliyer hücrelerde

pulmoner hasar tespit edildiği bildirilmiştir (45). Daha yüksek dozların böbreğin proksimal tübül hücrelerinde hasara neden olduğu ve sıçanların farelere oranla organ hasarına karşı daha dayanıklı olduğu rapor edilmiştir (7).

4.6.2. Subkronik ve Kronik Toksikite

► İnsan

Naftalin cilt, göz mukozası ve hava yolları için iritandır. Perkütan ve solunum yollarından iyi absorbe olur. Cilde temaslarda ve/veya uzun süreli inhalasyonlarda sistemik zehirlenmeler ve optik nevrit oluşabilmektedir (43). Naftalin-izopropil alkol karışımının tekrarlanan oral alımında 50 vakada zehirlenme bildirilmiştir (67). Boya üretim yerinde çalışan, beş yıla kadar naftalin dumanına ya da tozuna maruz kalmış 21 işçiden 8'inin gözlerinde katarakt ve minik opasite olduğu bildirilmiştir (68). İşi dolayısıyla naftaline maruz kalmış 44 yaşındaki bir erkekte katarakt ve retinal hemoraji, bir çalışma arkadaşında ise koryoretinit geliştiği bildirilmiştir (21, 69). Uzun süre naftaline maruz kalınması sonucunda baş ağrısı, bulantı, ortoerjik ve alerjik dermatoz, göz ve solunum yolu iritasyonu, optik nevrit ve katarakt oluşabildiği bildirilmektedir (43).

► Hayvan

Bir subkronik oral toksisite çalışmasında, 10 erkek ve 10 dişi F344 sıçanlara 0, 25, 50, 100, 200 ya da 400 mg/kg, 5 gün/hafta dozlarında 13 hafta boyunca mısır yağı içinde naftalin gavaj yoluyla verilmiştir. 400 mg/kg dozunda uygulama yapılan iki erkek sıçan son hafta ölmüş ve her iki cinsiyetten sıçanlarda da diyare, letarji, kamburlaşma ve tüylerinde sertleşme bildirilmiştir. 200 mg/kg doz uygulanan erkek sıçanların ve 100 mg/kg doz uygulanan dişi sıçanların vücut ağırlıklarında %10'dan fazla azalma gözlemlendiği, 200 mg/kg doza tabi tutulan 2/10 erkek sıçanın böbreğinde fokal kortikal lenfositik infiltrasyon ve fokal tübüler dejenerasyon ayrıca 400 mg/kg doza tabi tutulan 1/10 erkek sıçanın böbreğinde difüze renal dejenerasyon bildirilmiştir (23, 70). Naftalinin oral olarak subkronik alımı sonrasında tavşan, sıçan ve farelerde katarakt meydana geldiği rapor edilmiştir (21). 102 gün süresince sıçanlarda yapılan bir çalışmada naftalinin neden olduğu katarakt modeli

geliştirilmiştir (71). Bununla beraber naftalinin metabolitleri olan 1-naftol, 1,2-naftakinon ve 1,4-naftakinonun naftalinden daha fazla kataraktojenik olduğu gösterilmiştir (28, 71). Sütten yeni kesilen ve cinsiyetleri henüz belli olmayan 5 sığana da iki ay boyunca diyetinde %2 naftalin verilmesi sonucu hafif katarakt gelişimi rapor edilmiştir (23, 72). 6 adet erkek kahverengi-Norveç sığanına ve 6 adet erkek Sprague-Dawley sığanına 6 hafta boyunca hergün likid parafin içinde 1 g/kg dozunda naftalinin gavaj yoluyla verilmesiyle tüm sığanlarda katarakt geliştiği ve gelişme hızının soylara göre farklı olduğu rapor edilmiştir (73). 3-28 gün boyunca her gün 1 g/kg dozunda oral olarak naftalin verilen tavşanlarda katarakt oluştuğu bildirilmiştir (53, 74, 75). Naftalinin mineral yağı içinde 1 g/kg dozunda 28 güne kadar gavajı ile pigmentli sığanlarda ve albino sığanlarda lens opasifikasyonu ve 4 haftaya kadar soy ayrımı olmaksızın katarakt oluşumu rapor edilmiştir (31).

4.6.3. Naftalin ve Reprodüktif Toksikite

Naftalinin son trimesterde hamile kadınlar tarafından kaza sonucu oral ve/veya inhalasyon ile alınması bebeklerde hemolitik anemiye neden olmuştur (23, 76). Naftalinin plasental bariyeri geçtiği ve fetüs üzerinde toksik etki oluşturduğu bildirilmiştir (43).

4.6.4. Naftalinin Karsinojenik Etkileri

İşleri dolayısıyla naftaline inhalasyon yolu ile maruz kalmış işçilerde larenks karsinomları veya pilor ve çekum neoplazmaları geliştiği bildirilmiştir (22, 77-79). Buna rağmen bu çalışmanın, kontrollü olmamasından, maruziyet seviyeleri belli olmamasından ve kişilerin diğer karsinojenleri de içeren bir kompleks karışıma maruz kalmalarından dolayı yeterli görülmediği bildirilmiştir. Naftalin, EPA tarafından muhtemel insan karsinojeni olarak C grubuna dahil edilmiştir (77, 78). 2001 Ocak ayında Ulusal Toksikoloji Programı (National Toxicology Program) tarafından yayınlanan 2000 yılında yapılmış bir çalışma olan naftalin üzerine iki-senelik rodent kimyasal güvenlik testi çalışmasında, insanlarda ana maruziyet yolu olan inhalasyon ile naftaline maruz kalan erkek ve dişi sığanlarda naftalinin kansere neden olduğuna ilişkin açık kanıt bulunduğu rapor edilmiştir; 49 erkek ve 49 dişi sığandan oluşan

gruplar 0, 10, 30, ya da 60 ppm konsantrasyonlarında naftaline 6 sa/gün, 5 gün/hafta, 105 hafta inhalasyon yolu ile maruz kalmışlardır (17).

4.6.5. Naftalinin Neden Olduğu Lipid Peroksidasyonu ve Oksidan Hasar

Naftalinin toksik etki mekanizmasının, reaktif oksijen türleri üretimi ve oksidan hasarı da kapsadığı ve bu durumun zaman ve doza bağlı olarak farelerin bazı dokularına açıkça zarar verdiği bildirilmiştir (71). Naftalinin toksisitesinin, P-450 sitokromlarındaki faz I metabolizması ile oluşan serbest oksijen radikallerin üretimi ve metaboliti 1,2 naftakinonun reaksiyonu ile meydana gelen oksidan hasara bağlı olduğu bildirilmiştir (28, 80-82). Birçok çalışmada, naftalin toksisitesinin, süperoksit ve hidroksil radikali gibi aktif oksijen türlerinin oluşması, GSH azalması, lipid peroksidasyonu (39, 83, 84) ve DNA fragmentasyonu gibi değişikliklerle kanıtlanan oksidan hasar ile meydana çıkabileceği bildirilmiştir (7, 18, 19, 24, 48). Naftalinin kinon metabolitlerinin lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir (19). Naftalinin albino sıçan karaciğerindeki lipid peroksidasyonunda artmaya ve karaciğer ağırlığında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (83, 85). 1 g/kg/vüc.ağ. günlük dozunda naftalin uygulanan Wistar sıçanlarda ilk uygulamadan 4 gün sonra serum lipid peroksit düzeyinin yükseldiği ve 7. gün maksimum düzeye eriştiği bildirilmiştir. Bu durumun karaciğerdeki lipid peroksidasyonuna bağlı olabileceği rapor edilmiştir. Naftalin uygulanmış sıçanların lenslerinde glutatyon miktarının 4. gün azaldığı bildirilmiştir. Sonuçlar albino sıçanlarda lipid peroksitlerinin artarak katarakt gelişiminde rol oynayabileceğini göstermiştir (18, 83). i.p. olarak naftalin uygulanmış farelerin akciğerlerindeki lipid peroksidasyonlarında bir değişiklik gözlenmediği de bildirilmiştir (45). Naftalinin sitolitik akut hepatite neden olabileceği ve lipid peroksidasyonun hepatik nekroz oluşmasında rol oynayabileceği bildirilmiştir (43). 200 mg/kg dozda i.p. olarak naftalin uygulanmış farelerde 24 saat sonra pulmoner hasar (öncelikle siliyer olmayan bronşiyal Clara hücreleri üzerinde, ikinci olarak bronşiyal siliyer hücrelerde) tespit edildiği bildirilmiştir (45).

Sıçanın karaciğer ve beyin dokularında bulunan naftalinin toksisitesinde *p53* tümör suprese edici genin rolü üzerine çalışmalar yapılmıştır. Çalışmada *p53*-eksikliği olan sıçanlara verilen naftalinin, C57BL/6Ntac sıçanlara göre karaciğer lipid

peroksidasyonunun 1.3-1.8 kat daha fazla ve beyindeki lipid peroksidasyonunun ise 1.4-1.9 kat daha fazla artmasına neden olduğu bildirilmiştir (86). 200-600 mg/kg dozda i.p. olarak naftalin uygulanmış farelerde doza bağımlı olarak bronşiyal bölgede (Clara hücrelerinde) anormallikler tespit edilmiştir. 100mg/kg dozda i.p. uygulama yapıldığında ise pulmoner hasar tespit edilmemiştir (87).

4.7. Naftalinin Tayininde Kullanılan Kimyasal Yöntemler

Çeşitli ortamlarda naftalinin tayininde kullanılan kimyasal yöntemler kromatografik yöntemler olup, ballarda naftalin aranmasında GC-MS (8, 12, 88) ve YBSK (89) yöntemleri kullanılmaktadır.

Tablo 4.1. Naftalinin Maruziyet Limitleri

Ülke, yıl	İş yeri veya emisyon kaynağı	Limit Değer
Arjantin, 1991	NR	50 mg/m ³ (TWA; MPC) 75 mg/m ³ (TWA; MPC)
Bulgaristan, 1985	NR	20 mg/m ³ (MPC)
Kanada, 1991	NR	50 mg/m ³ (TWA; TLV) 75 mg/m ³ (STEL; TLV)
Almanya, 1993	NR	50 mg/m ³ (MAC)
Macaristan, 1985	NR	20 mg/m ³ (TWA; MAC) 100 mg/m ³ (STEL; MAC)
İtalya, 1991	NR	50 µg/m ³
Meksika, 1991	NR	50 mg/m ³ (TWA; MXL) 75 mg/m ³ (STEL; MXL)
Polonya, 1985	NR	20 mg/m ³ (TWA; MPC)
Romanya, 1985	NR	30 mg/m ³ (TWA; MPC) 40 mg/m ³ (MPC)
İsviçre, 1991	NR; deri yoluyla absorpsiyon	0.2 mg/m ³ (TWA; HLV) 0.6 mg/m ³ (STEL; HLV)
Amerika, 1993	NR	52 mg/m ³ (TWA) 79 mg/m ³ (STEL)
İngiltere, 1992	NR	50 mg/m ³ (TWA; OES) 70 mg/m ³ (STEL; OES)

TWA: Zaman ağırlıklı ortalama, STEL: Kısa süreli maruziyet limiti, MPC: Maksimum izin verilen konsantrasyon, MXL: Maksimum limit, MAC: Maksimum müsaade edilen konsantrasyon, HLV: Hijyenik limit değeri, OES: Mesleki maruziyet standardı, NR: Rapor edilemedi.

Naftalinin de içinde yer aldığı PAH'lar toksik bileşiklerdir. Karsinojenik etkilerinden dolayı EC (European Community, Avrupa Topluluğu) ve EPA'nın öncelikli kirleticiler listesinde yer alırlar. Bu bileşiklerin atmosferde, suda,

sedimentlerde bulunduğu bilinmektedir. Su, sediment ve hava partikülleri gibi çevresel örneklerde PAH'ların varlığı geniş ölçüde çalışılmıştır. Ayrıca besinlerde; havada bulunan PAH çöküntü partiküllerinin bitkilerin yüzeyine konması ve üretimde kızartma, duman, tütsüleme veya kurutma aşaması sonucunda oluşan kirlilikler olarak bulunmaktadır. Kahve yapımındaki örneklerde PAH'ların tespiti ters faz YBSK yöntemi ile yapılmıştır (90). PAH'lar 2 veya daha fazla benzen halkasının birleşmesinden oluşan organik bileşikler olup karsinojenik veya mutajenik özellikleri ile bilinen çevredeki yaygın kirleticilerdendir. Bu bileşikler çevrede doğal kaynaklarda organik maddelerin tam yanmamasıyla, trafikte ve yakılan yakıtlarda, fosil içeren yakıtların yanması, fabrika atıkları olarak bulunmaktadır. Ballar PAH'larla orman yangınları, biçilmiş ekinlerin köklü saplarının yakılması, arı kovanlarının endüstriyel sitelerin yakınında olması veya arıcıların yanlış uygulamaları sonucu kontamine olurlar. GC-MS ile yapılan çalışmada atmosferde PAH'ların buhar fazında veya partikül olarak uzak mesafelere giderek ve burada bulunan ürünler, sebzeler ve meyvelerde depolanabildikleri gösterilmiştir (8). Naftalinin maruziyet limitleri Tablo 4.1'de sunulmuştur (87).

Akarsu sularında naftalin, klorobenzen ve bifeniller atmosferde pek çok endüstriyel yöntemin ürünü olarak oluşan önemli kirleticilerdir. YBSK yöntemi ile tespit edilebilmektedir (10). EPA tarafından öncelikli kirleticiler listesinde bulunan 16 tane PAH'ın tespiti YBSK-floresans ve UV detektör ile çalışılmıştır (91).

4.8. Balın Tarihçesi ve Tanımı

Arıcılığın tarihçesi insanların mağara hayatı yaşadığı on binlerce yıl öncesine kadar gitmektedir. M.Ö. 7000 yıllarına ait mağaralara çizilen resimler, çok eski tarihlere ait arı fosilleri ve benzeri tarihi kalıntılar bu görüşü doğrulamaktadır. İlk insanlar doğal olarak ağaç kovukları ve kaya oyuklarına yuvalanan oğulları öldürerek ballarından yararlanmışlardır. Taş devrinden itibaren; önce mantar ve ağaç kütükleri sonra da toprak ve kilden yapılmış kaplar kovan olarak kullanılmış ve zamanla bugün kullanılan kovanlar geliştirilmiştir. Gerçek arıcılık, insanların ağaç kovukları içinde yuvalanan arıları öldürmeden bir miktar bal almaları ve bir miktar balı da arılara bırakmaları ile başlamıştır. Bununla birlikte M.Ö. 1300 yıllarına ait olduğu sanılan ve Hititler devrinden kalma Boğazköy'deki taş yazıtlarda arılardan bahsedilmesi arıcılığın Anadolu'da da çok eski tarihlere dayandığını göstermektedir (<http://www.tarimkredi.org.tr>, 07.03.2006). Arıcılık Mısır'da başlayıp Mezopotamya, Anadolu ve Avrupa'ya yayılmıştır. 17. yy'da ise göçmenlerle Yeni Dünya ülkelerine taşınmıştır (<http://www.zmo.org.tr>, 15.11.2005). Balın önceki dönemlerde, Asur, Mısır, Yunanistan ve Çin'de gut hastalığının tedavisinde ve yaraların iyileştirilmesinde kullanıldığı bildirilmiştir (92). Arıcılık dünyanın en yaygın tarımsal etkinliklerinden biridir. 1997 yılı verilerine göre dünyada 52 milyon bal arısı kolonisi bulunmaktadır. Kıtalara göre arı varlığı ve bal üretimi Tablo 4.2'de verilmiştir (<http://www.zmo.org.tr>, 15.11.2005).

Tablo 4.2. Kıtalarda arı varlığı ve bal üretimi

Kıta	Koloni sayısı	Bal üretimi, ton
Asya	13.494.790	386.517
Avrupa	12.771.620	279.871
Afrika	15.861.000	142.794
Amerika	9.192.000	284.748
Avustralya	350.000	25.925

Arıcılık, Anadolu'nun en eski ve en yaygın yapılan üretim etkinliklerinden biridir. Arı gen merkezlerinden sayılan Türkiye, 4.2 milyon koloni varlığı, 67 bin ton

bal ve 3500 ton balmumu üretimi ve 11.0 milyon dolar değerinde arıcılık ürünü dışsatımı ile sayılı ülkeler arasındadır. Arıcılık, bitkisel üretimin kaçınılmaz girdisi olup, toplumların bal, polen, arı sütü gibi sağlık ürünleri talebini karşılamada ve kırsal kalkınma programlarında iş alanı ve gelir kaynağı yaratmada önemli bir araç olarak ele alınmaktadır (<http://www.zmo.org.tr>, 15.11.2005).

• Deli Bal

Deli bal ile zehirlenme M.Ö. 401 yılından beri bilinmektedir. Bu olay, on binlerin kaçıışı diye bilinen Pers ordusu önünde yenilgiye uğrayan İyonların, Trabzon civarında buldukları stok halindeki balları yemeleri sonucu görülen zehirlenme olayı olarak tarihe geçmiştir. Yurdumuzun Bolu ve çevresinde *Rhododendron ponticum*; Trabzon ve çevresinde *Rhododendron flavum* ile *Rhododendron ponticum*; Rize ve çevresinde *Rhododendron caucasicum* türleri bulunmaktadır. Ayrıca Amerika, Brezilya, Afrika ve Asya da deli bal denilen ballar ile zehirlenme vakaları bildirilmiştir. Zehirli bala zehirlilik özelliği veren bitkinin polen tozlarıdır. *Rhododendron* (Andromeda) ismi verilen bu bitkinin polen tozları Andromedotoksin denilen toksik maddeyi içermektedir. Toksinleri birer glikozit olan erikolin ve andromedotoksin'dir. Arılar bitkilere ait polen tozlarını bal yapmak amacı ile taşımaları halinde bu toksik madde bala geçmektedir (93). Deli bal intoksikasyonunun neden olduğu ender karşılaşılan atrioventiküler blokajın meydana geldiği bir vakada; 56 yaşında erkek hastada kahvaltıda Doğu Karadeniz dağlarından temin edilen balın tüketilmesine bağlı olarak bradikardi ve hipotansiyon gelişmiştir. Tam olarak atrioventiküler değerlendirme 38/dak. olarak elektrokardiyografya gösterilmiştir. Granayatoksininin kontamine olduğu deli bal Türkiye'de Karadeniz bölgesinin dağlarında, aynı zamanda Japonya, Nepal, Brezilya, Kuzey Amerika ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde büyüyen *Rhododendron ponticum*'un nektarından üretilmektedir. Granayatoksinler hücre membranındaki kalsiyum kanallarına bağlanırlar pozitif inotropik etkiden sorumlu membran sodyum permeabilitesini artırır (94). Türkiye'nin arı ve balla ilgili 1950-2000 yılları arasındaki verileri Tablo 4.3.'de gösterilmiştir (1). Tablo 4.3. incelendiğinde koloni sayısı ve bal

üretimini sürekli arttırdığı; koloni bal veriminin ortalama 14-16 kg arasında değiştiği sonucu ortaya çıkmaktadır.

Tablo 4.3. Türkiye’de 1950-2000 yılları arasında kovan sayısı, bal üretimi ve koloni bal verimi

Yıl	Kovan sayısı		Bal üretimi, ton	Koloni bal verimi, kg/koloni
	Eski tip	Yeni tip		
1950	972.631	56.500	5 200	5.05
1960	1.302.000	185.400	9 690	6.51
1970	1.253.568	567.394	14 889	8.17
1980	893.260	1.332.217	25.170	11.30
1990	293.948	2.989.510	51.286	15.61
2000	199.609	4.067.514	61.091	14.31

Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre;

Madde 5

- **Bal;** bal arılarının, çiçek nektarlarını, bitkilerin veya bitkilerin üzerinde yaşayan bazı canlıların salgılarını topladıktan sonra, kendine özgü maddelerle karıştırarak değişikliğe uğratıp, bal peteklerine depoladıkları tatlı maddeye denmektedir.

Bal orijinine göre;

- **Çiçek balı;** arıların bitki çiçeklerindeki nektarlardan ürettikleri balı,
- **Salgı balı;** arıların bitkilerin canlı kısımlarından veya bitki üzerinde yaşayan canlıların salgıladıklarından ürettikleri balı,

Piyasaya sunulmuş şekline göre;

- **Petekli bal;** petek içinde piyasaya sunulan balı,
- **Doğal petekli bal;** tamamıyla arılar tarafından üretilen doğal peteği içinde tüketime sunulan balı,
- **Temel petekli bal;** gerçek balmumundan çeşitli metotlarla, iki tarafı preslenerek hazırlanmış, sterilize edilmiş, işçi ve erkek arı petek hücrelerinin temelini teşkil eden ince levha şeklindeki peteği içinde piyasaya sunulan balı,

- **Süzme bal;** ortam sıcaklığı 35° C'ı geçemeyecek biçimde petekli balın santrifuj metodu veya dinlendirilerek süzülmesi ile elde edilen balı,
- **Kristalize süzme bal;** kristalizasyon metodlarının herhangi birine tabi tutularak veya balın kristalleşmesi için herhangi bir işleme tabi tutulmaksızın tamamen veya kısmen şekerleşmiş, krema ve fondan kıvamındaki balı,
- **Pres bal;** petekli balın basınç altında ortam sıcaklığı 45° C'ı geçemeyecek biçimde sızdırılması ile elde edilen balı,
- **Fırıncılık balı veya Sanayi balı;** kendine ait doğal koku ve tada sahip olmayan, fermantasyona başlamış, ısıtılmış, HMF miktarı, diastaz sayısı, 6. maddenin 1. bendindeki şartlara uymayan direkt olarak insan tüketimine sunulmayan balı ifade etmektedir.
- **İnvert şeker;** herhangi bir hidroliz işlemine tabi tutulmadan hesaplanabilen, çoğunluğu fruktoz olup, fruktoz ve glikozdan oluşan monosakkaridleri,
- **Diastaz sayısı;** 100 g balda bulunan amilaz enzimlerinin, 38-40° C'de, 1 saat içerisinde ve deney koşullarında önceden saptanan bitiş noktasına kadar parçaladığı nişasta miktarını,
- **Çerçeve;** arıların doğrudan petek yaptığı veya içine temel peteklerin yerleştirildiği malzemeyi,
- **Filtre bal;** baldan organik ve anorganik maddelerin filtrasyon metodu ile ayrıştırıldığı ve filtrasyon uygulaması gereği, balın içerdiği polen miktarının belirgin şekilde baldan ayrıldığı balı ifade etmektedir (94).

4.8.1. Balın Yapısı

Kimyasal bileşimi bakımından bal fruktozu fazla olan koyu bir invert şeker olup içinde az miktarda sakkaroz, dekstrin, azotlu maddeler, enzimler, anorganik, kokulu ve boyar maddeler bulunmaktadır. Bal, ortalama olarak yapısında %17-20 su, %70-80 invert şeker, %2.3-2.7 protein, %0.1-0.2 organik asit, %0.1-0.35 anorganik maddeler ve %5'e kadar varan sakkaroz içermektedir. Bazı kozalaklı çiçeklerin balında yüksek miktarda dekstrin, %5-10 sakkaroz, %0.4-1 anorganik maddeler bulunabilmektedir. Balda bulunan başlıca karbonhidratlar, fruktoz (%32-49), glukoz

(%22-44), maltoz (%2-12), sukroz (%0.5-3) ve floral kaynağa bağılı eser miktarda diğere şekerler olarak bildirilmiştir (96-98). Balın asidik yapısının (pH: 3.3-4.9) tartarik asit, formik asit, suksinik asit, oksalik asit, asetik asit, sitrik asit, fumarik asit, glukonik asit, α -ketoglutarik asit, laktik asit, maleik asit, malik asit, pruvik asit ve piroglutamik asitten kaynaklandığı bildirilmektedir (98-100). Balda fruktoz/glikoz oranının karakteristik olarak 0.76-1.86 arasında olduğu bildirilmektedir (3). Balda mono ve di sakkaritlerin oranı %80-85 (a/a), su oranı yaklaşık %15-20 (a/a) ve diğere organik ve inorganik iyonlarda az miktarda bulunmaktadır (101). Bal, biyolojik yönden aktif olan; kafeik asit, kafeik asit fenetil ester ve flavonoid glikonlarını içermektedir (102). Balın karbonhidrat fraksiyonun benzoik asit, sinnamik asit ve flavonoidlerin fenolik türevlerini içerdigi bildirilmiştir (103). Olgunlaşmış balda iki ana bakteri grubu *Gluconobacter* ve *Lactobacillus* olarak sınıflandırılmıştır. Üçüncü bakteriyel grupta *Zymomonas* adıyla bilinmektedir ve pek çok tipte maya sıklıkla izole edilmektedir. Doğal bal ve sentetik şurubun her ikisinde de bakteriyel populasyon balın olgunlaşma sürecinde azalmaktadır. *Gluconobacter* ve *Lactobacillus*'un minimum nem yükselmesinde (~ %18) ortaya çıktığı bildirilmektedir. Henüz depolanmış ballarda *Lactobacillus* bulunduğu ve nem azalması durumunda yok olduğu bildirilmektedir (104). Bir çalışmada Avustralya kökenli 9 adet Eucalyptus balının yapısında bulunan fenolik asitlerin; gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, o-kumarik, ellagik asit ve trans, trans-absisik asit olduğu bildirilmiştir (105). Bir balın fitokimyasal içeriğinin o balın kalitesini tespitite önemli rol oynadığı ve bu durumun botaniksel/floral orijini ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (106). Hindistan'ın kuzey bölgelerinde 6 farklı türe ait bal örneklerinin içerdikleri minerallere dayalı çalışmada potasyum, sodyum, kalsiyum, demir, çinko, bakır mineralleri saptanmıştır. *Trifolium* balları en yüksek nem oranını ve en düşük spesifik ağırlığı göstermesine karşılık, citrus balları da toplam asidite ve serbest asit oranında en yüksek değeri göstermiştir (107). Ökolyptus, gül, portakal ve funda gibi 4 farklı botaniksel orijine sahip 74 adet bal örneğinde 22 adet serbest amino asit analizi yapılmıştır (108). Balda bulunan malik, maleik, sitrik, suksinik ve fumarik asit gibi organik asitler izole edilmiştir (109, 110). Bir çalışmada Kanada adalarında farklı tipte üretilen 116 adet bal örneğinde, Fe, Cu, Zn, Mg, Ca, Sr, Na, rubidyum ve Li metalleri saptanmıştır (111). Türkiye'de üretilen 171 adet bal

örneğinde palinolojik analizler yapılarak polen sayısının doğal ve yapay balların ayrılmasında önemli bir faktör olduğu saptanmıştır (112). Bir çalışmada Sloven orijinli ballarda minör ve iz elementlerin (K, Cl, S, P, Ca, Mn, Rb, Cu, Fe, Ni, Cr, Br, Ti, Pb, Sr, As) tespiti yapılmış olup element içeriği bakımından en yüksek düzeyin orman ballarında, en düşük düzeyin ise akasya ballarında bulunduğu tespit edilmiştir (113). Venezuela'da 24 yavru arının yuvasından bal örnekleri toplanmıştır. Fenolik ekstraktları içindeki flavonoid bileşikler analiz edilmiştir ve balın botaniksel orijini ile ilişkilendirilmiştir (114). Unifloral balların karakterizasyonu (*Eucalyptus sp.*, *Citrus sp.*, *Lythrum sp.*, *Umbelliferae*) ile ilgili yapılan çalışmada metil antranilat ve kafeinin, portakal balında bulunan karakteristik maddeler oldukları ayrıca akasya ballarında da fruktoz düzeyinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (115). Bir çalışmada farklı botanik ve coğrafi orijinlerden elde edilen uçucu bileşiklere sahip bal örneklerinin bitkisel orijinlerin varlığını gösterdiği bildirilmiştir (116). Bal ve arı polenlerinde bulunan amino asitlerin analizi yapılmıştır. Baldaki toplam proteinlerin %0.1, serbest amino asitlerin %0.3 oranında bulunduğu bildirilmiştir. Kestane ağacı, çoban püskülü, meşe, funda ağaçlarından sağlanan 40 adet balın serbest amino asit profili incelenmiş olup α -aminoapidik asit ve homoserin içerdikleri bildirilmiştir (117). Bir çalışmada balda 20 adet flavonoid aglikonun analizi yapılmıştır (118). Ballarda bulunan karbonhidratların çoğunlukla mono- ve diheksöz yapısında olduğu bildirilmiştir (119-121). Farklı floral orijine ait bal örnekleri ile yapılan çalışmada 26 adet fenolik bileşiğin balların botaniksel orijinler ile ilişkileri araştırılmıştır. Örneğin kekik balının içerdiği rosmarinik asit ile karakterize edildiği bildirilmiştir (122).

4.8.2. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bal Tebliği'ne Göre Balda Bulunması Gereken Özellikler

Madde 6

İnsan tüketiminde kullanılacak bal, sağlıklı arı kovanlarından elde edilmiş olması, doğal yapısında bulunan organik ve inorganik maddeler dışında herhangi bir yabancı madde, parazit, arı, arı parçaları ve yavru arı içermemesi gerekmektedir.

İnsan sağlığını tehdit eden hiç bir patojen mikroorganizmanın ve nişastanın bulunmaması gerektiği bildirilmiştir. Tadı ve aroması, balın menşesine ve üretildikleri

bitkinin türüne bağlı olarak değişmekle birlikte, bal kendine ait doğal koku ve tada sahip olması gerektiği, yabancı koku ve tat içermediği bildirilmiştir.

Bala herhangi bir madde katılamayacağı ve yapısında bulunan herhangi bir maddenin uzaklaştırılmayacağı da yer almaktadır. Balın rengi su beyazından koyu amber rengine kadar değişebilir. Çam balının rengi pfund skalaya göre minimum 60 olmalıdır.

İnvert şeker miktarı; çiçek balında %65 oranından, salgı balında %60 oranından az olamaz. Balda rutubet miktarı %20'den fazla olamaz. Sakkaroz miktarı çiçek balında %5, salgı balında %10 oranından fazla olamaz. Suda çözünmeyen madde miktarı balda %0.1, pres balında ise %0.5 oranından fazla olamaz. Balda asitlik miktarı 50 meq/kg'dan, fırıncılık veya sanayi ballarında ise 80 meq/kg'dan fazla olamaz. Mineral madde-kül miktarı çiçek balında %0.6'yı, salgı balında ise %1.2'yi geçemez. Balda 5-hidroksimetil-2-furaldehit (HMF) miktarı 40 mg/kg'dan fazla olamaz. Temel petek levhalarının kalınlığı 3 mm'den fazla olamaz. Balda diastaz sayısı 8'den az olamaz. Ancak narenciye balı gibi yapısında doğal olarak düşük miktarda enzim içeren ve doğal olarak HMF miktarı 15 mg/kg'dan fazla olmayan balda diastaz sayısı 3'den az olamaz. Bal ticari glikoz içeremez. Temel petekte balmumunun yapısında bulunmayan, parafin, serezin, iç yağı, reçine, oksalik asit gibi organik maddeler ile ağartıcı maddeler gibi inorganik maddeler bulunamaz. Balın şeker protein oranını ölçen C13 analizi sonucu -1'den düşük olmalıdır. **Balda naftalin bulunamaz.** Bal, doğal enzimlerine zarar verecek veya inaktive edecek şekilde ısıtılamaz. Balın doğal olan asiditesi yapay yollarla değiştirilemez. Etiketinde orijin aldığı, bitki, bölge veya coğrafya belirtilen ballara filtre bal ilave edilemez. Eğer bir bal, bir çiçek veya bitkiden orijin alan bir bal ise ve bu orijin aldığı bitki veya çiçeğe ait organoleptik, fiziksel, kimyasal ve mikroskopik özellikleri belirgin taşıyorsa bu bala orijin aldığı çiçek veya bitkinin “ay çiçeği balı, ıhlamur balı” gibi çiçek veya bitkinin adı verilebilir. Çiçek ballarında fruktoz ve glikoz şekerlerinin yalnız başlarına veya toplamı 100 g'da 60 g'dan fazla olamaz bu miktar salgı ballarında ve/veya salgı ballarının çiçek balları ile karışımında 100 g'da 45 g'dan az olamaz. Bala üretildiği bölgenin; bölgesel, coğrafi veya topografik adı, bal bu bölgenin florasına ait özellikleri belirgin şekilde taşıdığı sürece verilebilir. “Kocayemiş- *Artubus unedo*”, “Çan otu-*Erica*”, “İhlamur- *Tilia spp.*”, “ Süpürge

çalı- *Calluna vulgaris*”, “Okyanus mersini- *Leptospermum*”, “Çay ağacı- *Melaleuca spp.*”, ökaliptus hariç salgı balı, kestane balı ve/veya bunların karışımında en az 0.8 mS/cm’dir. Bu balların haricindeki ballarda ve bu balların karışımında ise elektrik iletkenliği en fazla 0.8 mS/cm’dir.

Bunların dışında bala hiçbir katkı maddesi katılamaz. Balda insan sağlığı için tehlikeli olacak miktarda ağır metal bulunamaz. Balda bulunabilecek maksimum pestisit kalıntı miktarları EK-1 şeklinde Bal Tebliği’nde verilmiştir (95).

4.8.3. Balda Yapılan Analizler

Balda fiziksel, kimyasal ve mikroskobik kontrol yöntemleri uygulanmaktadır. Bunları sırası ile ele alacak olursak;

• Balda Yapılan Fiziksel Analizler

Balda yapılan fiziksel analizler arasında balın rengi, kokusu, lezzeti, kıvamı ve gözle görülebilen yabancı madde tayininin yer aldığı bildirilmektedir. Balın kokusu elde edildiği bölge ve çiçeklere göre değişiklik göstermektedir. Taze balın renginin açık sarı, lezzetinin ise hafif yakıcı ve tatlı olduğu, genç petek ballarının kıvamının sulu olduğu bildirilmiştir (123, 124).

• Balda Yapılan Kimyasal Analizler

Balda yapılan kimyasal analizler arasında, su miktar tayini, kül tayini, asitlik tayini, diastaz sayısı tayini, hidroksimetil furfural tayini, renk geliştirme ve fotometrik tayin, invert şeker tayini, sakkaroz tayini, ticari glikoz tayini, suda çözünmeyen katı madde tayini, balda dekstrin aranması, protein çökeltisi tayini bulunmaktadır (123-125).

• Balda Yapılan Mikroskobik Kontrol

Suda çözüldürülen bal örneği santrifüj edilir, dipteki tortu mikroskopta incelenir. Polen tanecikleri balın doğal olduğunu, nişasta taneleri katkılı olduğunu göstermektedir (124).

• Balda Patojen Mikroorganizma Tayini

Balda patojen mikroorganizma tayini *Escherichia coli* ve *Salmonella* aranması ile maya ve küf sayımı yapılmasını içermektedir (125).

Balda yapılan analizlerle ilgili çalışmalar incelendiğinde; bazı balların renksiz ve şeffaf (Örn. *Robinia pseudoacacia*) olduğu; diğerlerinin ise kristalizasyondan sonra beyaz (*Rosmarinus off*, *Citrus sp.*) olup birçok multifloral balların amber renginde, ya da siyaha yakın koyulukta olduğu bildirilmektedir. Floral nektarda karotenler, ksantofiller ve flavonlar balın rengini veren maddeler olarak bildirilmiştir. Aynı zamanda toprağın içerdiği mineraller bitkinin nektarına geçerler, tirozin ve triptofan içerirler, bunların açık renk ballarda bulunmadıkları bildirilmiştir (126). Farklı botanik orijinlere ait bal varyetelerinin aromalarının analizi için yeni bir teknik geliştirilmiştir (127). Bal ABD tarım birimi tarafından sıvı, kristalize veya kısmen kristalize; su beyazı, ekstra beyaz, beyaz, ekstra parlak amber, parlak amber, amber ve koyu amber olarak 7 renk kategorisine ayrılmıştır (128). 8 adet bal örneğinin nem içeriği, pH ve amilaz aktivitesi çalışılmıştır (129). Balın içerdiği su miktarı ve su aktivitesi (a_w) mikrobiyal gelişmeyi etkilemektedir. İki farklı Arjantin kökenli bal örneğinin 25° C'deki su aktivitesi ile % nem oranı arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir (130). Balda kül içeriğinin analizine dayanan çalışmalar yapıldığı bildirilmiştir (131-134). Bir çalışmada Venezuela orijinli balların diastaz aktivitesi, nem içeriği, kül tayini, asiditesi, pH'ı, HMF düzeyi, nitrojen ve karbonhidrat oluşumları analiz edilmiştir (132). Besinler termal uygulama süresince bazı kimyasal değişimlere uğrarlar. Bunlardan biri nonenzimatik kahverengileşmeden sorumlu Maillard reaksiyonu olarak bilinen ve şekerlerin serbest amino asitlerle kondenzasyonu ile çeşitli kahverengi pigmentlerin oluşumuna neden olan reaksiyondur. Isıtma işlemi veya depoda bekletme süresi balın kalitesine etki etmektedir. Artan sıcaklık uygulamasına bağlı balda Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumu gerçekleşmekte ve oluşan kahverengileşme tüketiciler tarafından arzu edilmemektedir (135). Balda bulunan aldehitlerden HMF ve 2-furaldehit'in konsantrasyonu analiz edilmiştir. 15 adet bal örneğinde HMF'nin minimum ve maksimum değerleri sırasıyla 0.1 mg/kg'dan az ve 41 mg/kg olarak, 2-furaldehit'in maksimum değeri de 0.5 mg/kg olarak bulunmuştur. Belirli aldehitlerin oluşumu kalitenin bozulması, sıcaklığın artması, mikrobiyal fermantasyon ve lezzetin bozulması şeklinde kendini göstermektedir (136). HMF konsantrasyonunun; depolama zamanı indikatörü ve/veya karbonhidrat içeren besinlerin ısıya bağlı olarak

suistimalini ölçmek için kullanılan yardımcı gösterge olduğu bildirilmiştir. HMF'nin ısıyla bozunması sonucu oluşan 5,5'-oksi-dimetilen-bis(2-furaldehit)'in tanımlanmasına yönelik yapılan çalışmada bal örnekleri 100-220° C'lik ısıda 15 dak. etüvde bırakılmıştır. HMF'nin 210° C'de tamamen bozunduğu bildirilmiştir (137). 39 adet Fas balının fizikokimyasal özellikleri incelenmiş, içerdiği su, pH, asidite, HMF, diastaz aktivite, elektriksel iletkenlik, mineral ve şeker içeriği ile renk analizleri yapılmıştır (115). Cezayir'de ballarda yapılan bir çalışmada yoğunluk, nem, dinamik viskozite, pH, spesifik rotasyon, elektriksel iletkenlik, kül, şeker, protein, prolin ve fenolik bileşikler içeren, mikroskopik ve fizikokimyasal özelliklere dayanan analizler yapılmıştır (134). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin bazı bölümlerinden temin edilen 30 bal örneğinde invert şeker, sükroz, HMF, diastaz aktivitesi, serbest asit, lakton, pH, kül, prolin ve nem tayinleri yapılmıştır Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki balların kül içeriği genellikle düşük ve bazılarında ise yüksek mineral içeriği tespit edilmiştir (138). Türkiye'nin çeşitli il ve ilçelerinden toplanan 227 adet bal örneğinin elektriksel iletkenliği, asitlik tayini, diastaz sayısı, fruktoz, glikoz, fruktoz/glikoz, sakkaroz, HMF, kül, potasyum, sodyum, K/Na oranı, pH, prolin ve nem analizleri yapılmıştır. Doğal salgı ballarının yapay salgı ballarından ayrılmasında HMF ve sakkaroz dışındaki tüm faktörlerin ayırıcı olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir (133). 1999-2001 yılları arasında farklı bölgelerden toplanan 30 adet bal örneğinin pH, asidite, su, kül, net absorbans, toplam polifenoller ile glikoz, fruktoz, melezitoz ve erloz analizleri yapılmıştır (139). Hatay yöresinden toplanan 50 adet bal örneğinde asitlik, pH, HMF, nem, kül, protein, diastaz sayısı ve sakkaroz tayinine yönelik çalışma yapılmıştır (140). HMF ölçümü balın kalitesini değerlendirmede kullanılmaktadır. Genellikle taze balda bulunmaz depolama ve koşullara bağlı olarak bal içeriğinde artış göstermektedir. Avrupa Birliği (EU Direktif 110/2001) balda olması gereken HMF limitini 40 mg/kg; tropikal sıcaklığa sahip ülkelerden veya bölgelerden gelen bal için 80 mg/kg, düşük enzimatik düzeye sahip ballar içinde 15 mg/kg olarak belirlemiştir (141). Flavonoid yapıların araştırılması, polen dağılımı, aromatik bileşikler balın botaniksel ve coğrafi orijini hakkında bilgi vermektedir (142). Geleneksel olarak melissopalinoloji olarakta bilinen teknikte polen analizi başarıyla uygulanmaktadır (143). Süpermarket ve bağımsız üreticilerinden temin edilen 47 adet balda polen analiz yapılmıştır (144). Ülkemizde yapılan bir diğer

çalışmada ise 1983 ve 1985 yılları arasında 11 kişide görülen zehirlenme vakasından sorumlu deli bal örnekleri üzerinde ışık mikroskobu ile polenlerin üç gözlü olduğu tespit edilmiştir ve ince tabaka kromatografisinden yararlanılarak *Rhododendron* yapraklarının ekstresi ve normal bal örnekleri ile karşılaştırılması yapılmıştır (145). Ege, Marmara, Akdeniz ve Karadeniz Bölgeleri'nden toplanmış ballarda yapılan polen analizinde 12 unifloral, 62 multifloral bal tespit edilmiştir. 18'i tür düzeyinde ve 67'si cins düzeyinde olmak üzere 85 farklı taksona ait polen teşhis edilmiştir (146). Ayrıca balların mikroskobik polen analizleri yapılarak dominant nektar kaynağı bitkiler belirlenmeye çalışılmıştır (133). Türkiye'de Ankara ve Trabzon'dan temin edilen ballardaki polen tozlarıyla, Bolu, Trabzon ve Rize'den temin edilen *Rhododendron* bitki türlerinin polen tozlarının mikroskobik olarak tespiti yapılmıştır (147).

4.8.4. Balda Rastlanan Kirlilikler

Balda rastlanılan kirlilikleri kimyasal ve mikrobiyolojik kirlilikler olarak 2 gruba ayırabiliriz.

4.8.4.1. Kimyasal Kirlilikler

Kimyasal kirlilikleri, pestisit kalıntıları, ilaç kalıntıları, ağır metal kalıntıları ve diğer kalıntılar olarak gruplandırabiliriz.

• Pestisit Kalıntıları

Ballarda, çiçeklenmiş tarla ürünlerinde, meyva ve sebzelerde veya arı yuvalarında bulunan *Varroa jacobsoni* adlı paraziti kontrol altına almak için kullanılan 26 adet pestisit tespit edilmiştir (148). 2000-2001 yıllarında Sakarya-Akarsu'da karbaril ve karbofuran uygulanması arıların trajik ölümüne neden olmuştur. Farklı laboratuvarlarda yapılan bal analizlerinde pestisit kalıntıları tespit edilmiştir. En önemli kalıntı problemi arı parazitlerine karşı kullanılan insektisitlerle ilişkili olarak yaşanmaktadır. Buna rağmen pestisitlerin uygun doz ve doğru zamanda uygulandıkları zaman balda kalıntılara rastlanmamaktadır (149). Bir çalışmada balda atrazin ve simiazin herbisitleri analiz edilmiştir (150). Çeşitli ticari ballarda

(ökaliptus, lavanta, portakal, biberiye ve multifloral) organoklorlu, organofosforlu bileşikler, piretroidler ve diğer akarisitler olmak üzere 15 adet pestisit analizi yapılmıştır. Çok sayıda akarisit (amitraz, bromopropilat, koumafos ve fluvalinat) *Varroa jacobsoni* parazitinin yol açtığı ciddi zararı önlemek ve kontrol altına almak için kullanılmaktadır (151). Bal örneklerinde nitrobenzen ve petrol kalıntılarının analizi çalışılmıştır. Bu maddeler bal arılarına infekte olan “akarin” adındaki parazit özelliğindeki keneleri kontrol altına almak için “Frow karışımı” şeklinde kovanlara uygulanmaktadır. Amitraz ile fumigasyon da bir diğer uygulama olarak rapor edilmiştir. İngiltere’de marketlerden toplanan 49 adet bal örneğinde nitrobenzen, toluen, *o*-ksilen, etilbenzen ve naftalin aranmıştır. 2 adet örneğin toluen içerdiği, *o*-ksilen, etilbenzen ve naftalin içermediği tespit edilmiştir (12). Balda, diflubenzuron metabolitleri, 4-klorofenil üre ve 4-kloroanilin analiz edilmiştir (152). Farklı botanik orijinlere sahip 15 adet ticari balda 6 farklı organofosforlu insektisit (klorpirifosmetil, diazinon, fonofos, phenthoate, fosalon, pirimofos-etil) analizi yapılmıştır (153). 173 adet İsviçre balı ve 287 adet ithal edilen bal örneğinde para-diklorobenzen (PDCB) kalıntısının aranmasına yönelik yapılan çalışmada İsviçre kökenli balların ortalama %30’unun PDCB içerdiği ve bunların %13’ünün İsviçre’nin tolerans değeri olan 10 µg/kg’ı aştığı bildirilmiştir (1534). Bir çalışmada bal örneklerinde bulunan organoklorlu, organofosforlu ve piretroid gibi farklı pestisitlerin tespiti yapılmıştır (155). Balda akarisit kalıntılarının araştırılması ile ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (156, 157). 2001 ve 2002 yılları arasında Portekiz ve İspanya’daki marketlerden toplanan 49 adet bal örneğinde 9 adet organoklorlu pestisit analizi yapılmış ve 14 adet bal örneğinde HCB (heksakloro benzen) ve/veya HCH (heksaklorosikloheksan) izomerleri bulunduğu tespit edilmiştir (118). Rotenon, *Varroa jacobsoni* parazite karşı bal arıları kolonilerini korumada kullanılmaktadır. Bir çalışmada arı kovanlarına bir ay süreyle terapötik dozu uygulanmış olan rotenonun bu kovanlardan elde edilen bal örneklerinde 0.2 mg/kg’ın altında kalıntı bıraktığı rapor edilmiştir (158). Fluvalinat (D-izomer) sentetik bir piretroid olup bal arılarındaki *Varroa destructor* parazitini kontrol altına almak ve varroatozisi önlemek amacıyla dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Balda ve balmumunda bulunan fluvalinat kalıntıları farklı uygulama yöntemleri ve mevsimler gözönünde bulundurularak araştırılmıştır (159). Çeşitli ticari ballarda bulunan (lavanta, portakal,

göl, ökalıptus gibi) 15 adet pestisit (organoklorlu ve organofosforlu inseksititler, piretroidler ve diğer akarisitler) kalıntısı analiz edilmiştir (151). Balda organoklorlu pestisitler, poliklorlubifeniller ve organofosforlu pestisitlerin analizleri yapılmıştır (160, 161). Bir çalışmada 1988-1991 yılları arasında 221 adet bal örneği kullanılarak akarisit kalıntıları araştırılmıştır (162). Oksalik asit ile muamele edilmiş ve edilmemiş arı kolonilerindeki ballarda, oksalik asit içeriğinin araştırılması üzerine çalışma yapılmıştır. Oksalik asit *Varroa destructor* ektoparazitine karşı kullanılmaktadır. *Varroa destructor*'ü kontrol altına almak amacıyla hazırlanan oksalik asit çözeltilerinin birbirini takip eden yıllar boyunca ballarda uygulanması sonucunda bal içeriğinde bulunan oksalik asit düzeyinde çok belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Karşılaştırmak amacıyla aynı mekanlarda oksalik asit uygulanmamış kolonilerdeki bal örnekleri kullanılmıştır. Oksalik asit ile muamele edilmiş ballardaki oksalik asit miktarı 5-68 mg/kg, uygulanmamış kolonilerde ise 5-65 mg/kg'dır (163). Bir çalışmada doğal bir pestisit olan benzil asetat'a balda rastlandığı bildirilmiştir (164).

• İlaç Kalıntıları

Paenibacillus larvae ssp. Larvae adı verilen spor oluşturan bakteri bal arılarında AFB hastalığına neden olmaktadır (165, 166). 1940'larda Amerika'da AFB hastalığının kontrol altına alınmasında sodyum sulfatiazol kullanılmış fakat kısa bir süre sonra yasaklanmıştır. Çünkü uygulamadan aylar sonra bile balda ilaç kalıntıları tespit edilmiştir. Analitik yöntemler yardımı ile antibiyotik olarak kullanılan ilaçlardan linkomisin ve tylosin kalıntılarının bal örneklerinde tespiti ve miktar tayini yapılmıştır (166, 167). Streptomisin (STP), tetrasiklinler veya sülfonamidler gibi kloramfenikol'de (CAP) arılara infekte olmuş bakteriyel hastalıklardan olan Amerikan yavru çürüklüğü'nün tedavisinde kullanılmaktadır. Arılar hasat mevsimi boyunca bu antibakteriyel ajanlarla muamele edilirlerse ballarında bu maddelerin kalıntılarına rastlanmaktadır. Arjantin, Avustralya, Küba, Tayland, Çin gibi farklı coğrafî ülkelerden temin edilen ballarda yapılan çalışmada Çin'den temin edilen ballarda düşük düzeylerde CAP kalıntılarının varlığı saptanmıştır ve CAP içeriği oranı bu örneklerde 0.1-75 µg/kg arasında bulunmuştur (168). CAP'ın ABD, Kanada, Avustralya ve Avrupa Birliği üyesi pek çok ülkede ürünlerinden yararlanılacak hayvanlara uygulanması yasaklanmıştır (128). Yapılan bir çalışmada balda CAP

0.223 µg/kg olarak tespit edilmiştir (169). Kanada, Japonya, Çin ve Avrupa Birliği ülkelerinden gelen bal örneklerinde CAP analizi yapılmıştır (128). Balda CAP'ın tespiti için yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (170, 171). Balda bulunan CAP'ın analizi için ELISA testi de uygulanmıştır (172). Balda CAP ve sıçan karaciğer fraksiyonunda CAP-G (glukroniti) kromatografik yöntemlerle analiz edilmiştir (173). Lokal marketlerden toplanan 50 adet bal örneğinde tespit edilen sulfanilamid konsantrasyonları 3-227 µg/kg değerleri arasında bulunmuştur. 4 adet bal örneğinde sulfanilamid'in izin verilen maksimum kalıntı değeri olan 50 µg/kg'ın üstündeki değerlerde tespit edildiği bildirilmiştir. Sulfanilamid'in analiz edildiği 15 adet bal örneğinde asulam konsantrasyonları da 1-200 µg/kg değerleri arasında bulunmuştur. Ayrıca farklı mevsimlerde farklı arıcalar tarafından toplanan örneklerdeki asulam ve sulfanilamid değerleri karşılaştırılmış ve sonuç olarak asulam'ın ağustosta uygulanması sınırlandırılırsa baldaki kontaminasyon probleminin muhtemelen çözüme ulaşacağı bildirilmiştir (174). Bir çalışmada ticari ballarda sulfatiazol'ün analizi için yöntem geliştirilmiştir (175). Balda STP ve dihidrostreptomisin'nin analizi yapılmıştır. Hollanda'daki marketlerden temin edilen %26'sı yabancı orijinli olan 186 adet bal örneğinde dihidrostreptomisin türevleri analiz edilmiştir (176). Sulfatiazoller bal arılarında meydana gelen bazı hastalıklarda kullanılmaktadır (177). Balda bulunan sulfonamidlerin analizi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (178, 179). 64 adet ticari bal örneğinin %42'sinin STP kalıntısını içerdiği tespit edilmiştir (180). Balda ve şekerli şurupta 34° C ile 4° C'de 9 ay boyunca 6 adet antibiyotik'in stabilitesi test edilmiştir. Sonuçlar 4° C'de daha stabil olduklarını göstermektedir. Penisilin en az stabil, STP'de en stabil olan bileşik olarak tespit edilmiştir (181). Karışık biyolojik matrikse sahip olan bal örneğinde bulunabilen antibiyotik ve antibakteriyel maddelerin tanımlanmasına yönelik çalışma yapılmıştır (182). Balda tetrasiklin, klortetrasiklin, oksitetrasiklin analizi yapılmıştır (183). Bir çalışmada balda bulunan tetrasiklinlerin analizi için yöntem geliştirilmiştir (184). 300 adet bal örneğinde 20 adet antibiyotik'in (sulfonamidler, tetrasiklinler ve flumekuinerler) analizi yapılmıştır. American foulbrood diye bilinen (*Bacillus larvae*) arılara enfekte olarak hastalık meydana getiren bakterilere karşı sulfatiazol'ün kullanıldığı bildirilmiştir. 1974'ten bu yana ise İsviçre'de bu antibiyotikler ile Amerikan veya Avrupa foulbrood'a (*Streptococcus pluton*) karşı koruyucu ve tedavi edici bir uygulamaya izin

verilmemiştir (185). Bir çalışmada baldaki tetrasiklin kalıntıları analiz edilmiştir. 1990'larda Avrupa Birliği Komisyonu hayvansal orijinli besin maddelerinde veteriner ilaçlarının bulunması gereken maksimum kalıntı değerleriyle ilgili işlemleri belirlemiş olmalarına rağmen arı ürünleri için böyle bir düzenlemenin yapılmadığı bildirilmiştir (186). Ballarda fumagillin tespiti için çalışma yapılmıştır. Bal sanayiinde fumagillin, arıları kışın *Nosema apis* adındaki mikrosporidan protozodan korumak için kullanılmıştır (187).

• Ağır Metal Kalıntıları

Baldaki ağır metaller sadece kalite kontrol açısından değil çevresel indikatör olarak kullanılmaları bakımından önem taşımaktadır. İspanya'nın farklı yerlerinden alınmış bal örneklerinde Cd(II), Zn(II) ve Pb(II)'nin tespiti için çalışılmıştır. Bal, toprak, bitki ve hava kirliliğindeki etmenlerle karakterize olur. Ballarda bulunan ağır metalleri değerlendirirken metallerin toksisitesi ve arı ürünlerinin muhtemel çevresel kirlilik içermesi bakımından önemi dikkate alınmalıdır (101). Arı kovanları endüstri bölgelerine yakın yerlerde lokalize olduklarında havadan aldıkları kirlilikten ötürü balın içerdiği mineral maddelerin anlamlı ölçüde değiştiği bildirilmiştir. Ballarda yapılan bir çalışmada Cd konsantrasyonunun 8.7-122.1 ng/g değerleri arasında olduğu bildirilmiştir (188). Bir çalışmada balda Pb, Cd, Cu, Cr, Co, Ni, Mn ve Zn toksik metallerinin analizi için yöntem geliştirilmiştir (96). 30 adet bal örneğinde yapılan Pb analizinde, Pb konsantrasyonu 1.71-75.0 ng/g olarak bulunmuştur. İtalya'da üretilen ballarda Pb konsantrasyonu 3.2-186 ng/g arasında, Türkiye'de üretilen ballarda 32.9-55.2 ng/g arasında, Polonya'da ise 250-700 µg/g arasında olduğu rapor edilmiştir (189). İspanya'da üretilen 15 adet bal örneğinde Cd tespiti yapılmıştır. Analiz örneklerinde tespit edilen en yüksek Cd konsantrasyonu 4.3 ng/g olarak verilmiştir (190). Kayseri ve yöresinden toplanan bal örneklerinde Cd, Pb, Ni, Zn ve Cu içeriklerinin tespitine yönelik yapılan çalışmada bal örneklerindeki ağır metal konsantrasyonunun kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu sonucuna varılmıştır (191). İç Anadolu Bölgesi'nden toplanan 15 adet farklı bal örneğinde Pb, Cd, Fe, Cu, Mn ve Zn analizi yapılmıştır (192). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin bazı bölümlerinden temin edilen 30 adet bal örneğinde ise Na, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn ve Co içeriğinin analizi yapılmıştır (138).

• Diğer Kalıntılar

Ballara epoksi-resin bileşiklerinin paketlemeden, çeşitli maddelerden ve ithal ürünlerden bulaştığı bildirilmektedir. Bisfenol A (BPA) ve bisfenol F (BPF)'yi balda tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada cam ve plastik taşıyıcı içinde bulunan bal örneklerinde tespit edilen BPA sırasıyla, %14.5 ve %16.4 değerlerinde bulunmuş olup, bal örneklerinde BPF tespit edilmemiştir. İthal balda en yüksek BPA değeri 33.3 ng/g olarak bulunmuştur Bu sonuçlar BPA'nın besinlere taşıma sistemleri aracılığı ile geçtiğini göstermektedir (193). 1996 yılında Hollanda-Almanya sınırında şüpheli bal örneklerine yapılan mikroskopik ve kimyasal incelemeler sonucunda *Psilocybe cubensis* adı ile bilinen mantar yapısına ve *Psilocybe* cinsine ait tipik sporlar tespit edilmiştir (194). Bir çalışmada Çernobil kazasını takiben 12 yıl boyunca bal arılarının yapmış olduğu 39 adet farklı çiçek balında cesium-137 ve potasyum-40 düzeyleri belirlenmiştir (97). Sanguinarine ve chelerythrine *Macleaya cordata* bitkisinin polen ve nektarında olup arılar tarafından ballara geçmektedir. Bu maddeler balın doğal tadını bozmakta, kalitesini azaltmakta ve tüketici sağlığı açısından potansiyel risk oluşturmaktadır (195). Ticari bal örneklerinde ¹³C/¹²C oranı kullanılarak içinde yabancı madde olup olmadığı güvenilirliğinin tespiti için çalışılmıştır. Brezilya orijinli 40 adet, Arjantin, Kanada ve Amerika orijinli 8 adet bal örneğinin güvenilirliği üzerine çalışılmıştır. Brezilya kökenli 6 adet bal örneğinin ve onun protein fraksiyonu arasındaki stabil C izotop oranında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (196).

4.8.4.2. Mikrobiyolojik Kirlilikler

Toplam 48 adet bal örneğinde *Clostridium botulinum* sporları analiz edilmiştir. Ankara'daki marketlerden temin edilen örneklerin %12.5'unda *C. botulinum* pozitif olarak bulunmuştur. 1978'de yapılan bir çalışmada örneklerin %8'inde, 1979'da yapılan bir çalışmada örneklerin %10'unda *Clostridium botulinum* kontaminasyonu tespit edilmiştir. 2001'de ise örneklerin %13'ünde pozitif sonuç rapor edilmiştir. FDA ve CDC (Centers for Disease Control and Prevention) 1 yaşından küçük çocuklarda bal tüketimini tavsiye etmemektedirler (197).

4.9. Balın İnsan Sağlığı Açısından Kullanım Alanları

4.9.1. Balın Deri ve Mukoza Üzerine Etkileri

Balın pityriasis versicolor, tinea corporis ve tinea faciei'nin tedavisinde topikal olarak kullanılması üzerine pilot çalışmalar yapılmıştır. Pityriasis versicolor, tinea corporis, tinea faciei ve tinea cruris hastalıklarına sahip 37 hastada klinik değerlendirmelerin ardından bal, zeytinyağı ve balmumundan oluşan bal karışımı (1:1:1, h/h/h) lezyonların üzerine günde 3 defa ve maksimum 4 hafta süreyle uygulanmıştır. Klinik cevaplar pityriasis versicolor (%86), tinea cruris (%79), tinea corporis (%75) şeklinde bildirilmiştir. Balın bakteri, maya, mantar ve virüsler üzerine inhibitör etkisi bulunduğu, topikal bal uygulanmasının bakteriyel enfeksiyonları yok etmede, yara iyileşmesini hızlandırmada ve deri hücreleri tarafından sitokin yapımında etkili olduğu bildirilmiştir (198). Seborrheic dermatit, kronik ateşli bir rahatsızlık olup kafa derisi, nazolabiyal kıvrımlarda, kulaklar, kaşlar ve göğüs gibi yağca zengin olan deri alanlarında meydana gelmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Seborrheic dermatitin tedavisinde *Malassezia* türlerinden elde edilen *Melaleuca* yağı, bal ve sinamik asitin antifungal aktivitesinden yararlanılmaktadır (199). Bal ve silversülfadiazin'in kontakt yanıklarında beraber kullanımının tek başlarına kullanımlarına nazaran hızlı reepitalizyon sağladığı, inflamasyonu azalttığı ve dokulardaki granülasyonu arttırdığı bildirilmiştir (200). Bal, balmumu ve zeytinyağının (1:1:1, h/h/h) karışımının çocuk bezi dermatiti, psoriasis ve ekzema tedavisinde faydalı olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır. İnsandan izole edilen *Candida albicans* ve *Staphylococcus aureus* gelişmesi üzerine bu maddelerin ve karışımın etkileri araştırılmıştır. Zeytinyağı, balmumu ve balın doğal ürünler olup flavonoidler, antioksidanlar ve antibakteriyel etkili maddeleri içerdikleri ve bunların topikal uygulandığında deri hücreleri tarafından sitokinlerin stimülasyonuna neden oldukları bildirilmiştir. Bal karışımının bakteriyel enfeksiyon ve/veya enflamatuvar mikoze bağlı deri hastalıklarının tedavisinde kortikosteroid veya antibiyotik kombinasyonu olmadan kullanımı önerilmektedir (201). Radyasyonun neden olduğu mukoza iltihabına karşı doğal balın topikal olarak uygulanmasına yönelik çalışma yapılmıştır. Bal uygulanan hastaların kontrol grubuna göre semptomlarında 3/4

oranında bir azalma tespit edilmiştir. Balın higroskopik yapısı ve mukozaya uygulandığında bakteri üremesini asidik pH ile önlemesi, doku-besleyici minerallere ve vitaminlere sahip olması, dokunun doğrudan yenilenmesine yardımcı olmaktadır (202). Bir çalışmada ballar ile antiseptik ve sistemik antibiyotiklerin postoperatif yaralar üzerine etkisi çalışılmıştır. Diğer uygulamalara göre balın iyileştirme zamanı daha kısa olmuştur. Balın spesifik antibakteriyel özelliği nedeniyle topikal olarak güvenle yüksek osmolaritedeki yaralar için uygulanması başarıyla sağlanmıştır. Balın doğal bir ürün olması ve yara iyileştirici özelliğiyle ilgili durumun arının cinsi, coğrafi konumu ve botaniksel orijini, üretimi ve depolama koşullarıyla bir etkileşim içinde olduğu bildirilmiştir (203). Klinik gözlemler balın kronik yaralarda iyileşmeyi başlattığı veya hızlandırdığını göstermektedir. Bir çalışmada monositik hücre kültürü kullanılarak (MonoMac-6 modeli) immünokomponent hücrelerin aktivasyonunda balın etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar monositik hücrelerden sitokinlerin stimülasyonu ile yaraların iyileşmesinde balın etkisi arasında ilişki kurulabileceğini göstermektedir. Balın yara, yanık ve deri ülserleri tedavisi üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir (204). Hidradenitis suppurativa'nın cerrahi tedavisinde manuka balı başarılı bir şekilde yaralarda uygulanmıştır. Konvensiyonel terapiler ve 4 cerrahi uygulamayı takip eden 3 yıllık tedavi süresince olumlu iyileşme görülmeyen yaralarda sargı bezine emdirilmiş manuka balının uygulanmasının ardından hastalarda stafilokokal enfeksiyonların sona erdiği ve 4 ay içinde iyileşmenin başarı ile sağlandığı bildirilmiştir. Ko-amoksilav ile kombine olarak gamma radyasyonu ile sterilize edilmiş sargı bezine emdirilmiş 25-35 g aktif manuka balı infekte yaraya absorban pedler ile sarılmıştır. Balın birçok özelliği arasında antiinflamatuvar etki, epitelizasyon ve granülizasyon üzerindeki uyarıcı etkisi, yara üzerindeki ölü dokuyu temizleyici etkisi bilinmekle birlikte iyileştirici etkisi moleküler düzeyde açıklanamamıştır (205).

4.9.2. Balın Göz Üzerine Etkileri

Venezuela'daki Meliponinae ballarındaki flavonoidlerin botaniksel, coğrafi ve entomolojik orijinleri ile onların antikatarakt aktiviteleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Öncelikle Venezuela'dan toplanan *Apis mellifera* ballarının içerdiği

flavonoid *Mellipona spp.* ile karşılaştırılmıştır. Katarakt tedavisinde flavonoid içeriğinin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (114, 206).

4.9.3. Balın Antibakteriyel Etkileri

Balın iyileştirici etkisinin ozmoz durumundan ve hidrojen peroksitin antibakteriyel özelliklerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bal dilüe edildiğinde glikoz oksidaz enzimi tarafından antibakteriyel madde olan hidrojen peroksit oluşmaktadır. Hidrojen peroksiti parçalayan katalaz enzimi genelde balda bulunmaktadır. Yeni Zelanda'da bulunan manuka balları yüksek düzeyde nonperoksit antibakteriyel aktiviteye sahip olarak bilinmektedirler (103, 207, 208). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *Helicobacter pylori*'ye karşı balın bakteriyosidal etkisini ozmozun belirlediği gösterilmiştir. Balmumunda bulunan triacontanol'un, tereyağlarına koruyucu olarak katıldığı aynı zamanda ülser tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Hidrojen peroksitin benzoik asitle reaksiyonunda peroksiasitlerin meydana geldiği düşünülmektedir. Bunlar hidrojen peroksitten daha stabildirler. Bal çözeltisine katalaz ilave edildiğinde bu asitler yıkıma uğramaktadır. Katalaz hidrojen peroksitine selektiftir ve alkil peroksitleri veya peroksikarboksilik asitleri yıkıma uğratmamaktadır. Peroksikarboksilik asitlerin hidrojen peroksitine göre daha kuvvetli antimikrobiyal ajanlar oldukları ve düşük pH ortamında (pH:3.9) antimikrobiyal etkisini gösterdikleri bildirilmiştir (208). Farklı floral kaynaklardan ve coğrafi bölgelerden temin edilen 27 adet bal örneğinin, besin değerini bozan 7 adet mikroorganizmanın gelişmesi ve 5 adet gıda kaynaklı patojen üzerindeki inhibe edici etkileri değerlendirilmiştir. *In vitro* araştırmalar *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella enterica*, *S.typhimurium* bakterilerini içeren yara enfeksiyonlarına karşı balın etkili olduğunu bildirmektedir. Balın antimikrobiyal aktivitesinin onun asitliği, osmolaritesi, hidrojen peroksitin glukoz oksidaz yolu ve enzimatik jenerasyonu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Balın antimikrobiyal özelliklerinden dolayı doğal bir besin koruyucusu olduğu bildirilmiştir. Balın içerdiği yüksek şeker konsantrasyonundan dolayı bakteri gelişmesini inhibe ettiği bildirilmektedir (209). De Man Ragosa Sharpe (MRS) ortamında veya tiyoglikolat ortamı ilave edilmiş farklı unifloral ballarda insan bağırsaklarında bulunan 5 bifidobakter türünün ve bağırsak mikroorganizmalarının kültürü yapılmıştır. İnokule

örnekler anaerobik ortamda 37° C’de 48 saat inkübe edilmiştir. Bifidobakter türleri tarafından üretilen fermantasyon son ürünlerinin düzeyleri (laktik ve asetik asit) ölçülmüştür. 3 farklı floraya ait bal örneklerinin tümü 5 bağırsak bifidobakteriyum türünün gelişmesini ve aktivitesini artırmıştır. Onların diğer bağırsak mikroorganizmaları üzerine etkileri selektif olmuştur. Balın bulunduğu ortamda *C. perfringens* ve *E. aerofaciens*’in gelişmesi inhibe olmaktadır (99). Bir çalışmada balın antimikrobiyal etkileri ve bağırsak epitel hücrelerine yapışmış *Salmonella interitidis*’e karşı koruyucu etkileri değerlendirilmiştir. Son zamanlarda bakteri ve rotavirüslerin neden olduğu gastrointestinal enfeksiyonlardan gastritis, duodenitis ve gastrik ülserde balın oral olarak kullanımının tedavi edici ve koruyucu olduğu rapor edilmiştir ve omani ballarının tüm tiplerinin *S. interitidis*’in gelişmesinde inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (92). Mısır’da farklı bal çeşitlerinin bazı arı ürünlerine göre, 5 tür bakteri grubu (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Esherichia coli*) üzerine etkileri araştırılmıştır (210). Uzun süre bekletilen kışniş balının kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal etkinliği üzerine yapılan çalışmada taze ve depolanmış kışniş ballarının analizi yapılmış olup balı bir süre saklamanın mono, seski ve diterpen miktarlarını, yağ asidi oktil esterlerini, antibakteriyel ve antifungal etkinliği önemli ölçüde azalttığını, buna karşılık yağ asidi etil ester miktarını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir (211).

4.9.4. Balın Antioksidan Etkileri

Bal içerdiği vitamin C, flavonoidler ve fenolik bileşikler nedeniyle önemli bir antioksidan kaynak oluşturmakta ve birçok durumda koruyucu olarak kullanılmaktadır (212). Balda bulunan bir flavonoid olan krizin’in (5,7-dihidroksiflavon) potent antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (213). Bir çalışmada balın antioksidan özellikleri analitik olarak incelenmiş ve standardizasyon çalışması yapılmıştır. Öncelikle antioksidan kapasitede 14 adet farklı flora ve coğrafi orijinden ticari bal üzerinde çalışma yapılmıştır. Antioksidan özellikler fenolik içerik ve bal rengi yoğunluğu ile korelasyon göstermektedir (214). Burkina Faso’da 27 çeşit bal örneğinde bulunan

toplam fenoller, flavonoid, prolin içeriği ve onların antioksidan aktivitesi analiz edilmiştir. Antioksidan aktivite ve prolin arasında korelasyon olduğu bulunmuştur. Vitellaria balının diğer ballara göre yüksek düzeyde prolin içeriğine ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu tespit edilmiştir (215). Malaysian ballarının antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik içeriklerinin birbirleriyle olan ilişkileri değerlendirilmiştir. Karakteristik antioksidan aktiviteler toplam fenolik içeriklerle belirgin bir korelasyon göstermiştir. Balda antioksidan olarak rol oynadığı bilinen bazı bileşenlerin içeriğinde, vitamin C, vitamin E, enzimlerden katalaz, peroksidaz ve fenolik bileşiklerin bulunduğu bildirilmiştir. Balın antioksidan kapasitesinin onun floral kaynağına bağlı olduğu bildirilmektedir (206). Balın içerdiği çeşitli flavonoidlerden apigenin, pinocembrin, kamferol, kersetin, galangin, krizin, hesperitin ve fenolik asitlerden ellagik, kafeik, p-kumarik ve ferulik asitin antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (135). Clover ve wildflower ballarının antioksidan kapasitesini pişmiş ve tekrardan ısıtılabilen soğutulmuş ve dondurulmuş gıdalardaki lipid oksidasyonunu geciktirmesi ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Clover ve wildflower ballarının 4° C’de -18° C’de depolanan hazır yiyeceklerde lipid peroksidasyonunu geciktirdiği ve WH balının soğutulmuş köftelerde sodyum tripolifosfat’a nazaran lipid hidroperoksitlerin oluşumunu daha fazla azalttığı tespit edilmiştir. Bal lipid peroksidasyonunu geciktiren fosfatların kullanımına karşı doğal bir alternatif olarak gösterilmiştir (216).

4.9.5. Balın Diğer Tıbbi Etkileri

Günümüzde yapılan çalışmalar intraoral yoldan şekerli maddelerin verilmesinin sakinleştirme ve antinosiseptif özelliklerinin tat alma duyusuyla bağlantılı olduğunu, enteral absorpsiyonla ilgili olmadığını göstermektedir. Bebeklere intraoral yoldan bal verildiğinde plasebolara göre ağlama zamanlarında önemli düzeyde azalma olduğu gözlenmiştir (217). Sıçan midesinde etanole bağlı vasküler permeabilite artışındaki değişimler üzerinde balın etkisi çalışılmıştır. Sırasıyla mideyi koruyucu ve antioksidan özelliklerinden dolayı sukralfat ve allopurinol ilaçları kullanılmıştır. Bal oksijen türevi serbest radikallerin toksik etkilerine karşı koruyucu ve endotel hücre permeabilite artışını bozan katalaz’ı içermektedir. Balın antioksidan

özelliğine bağlı bu koruyucu etkisinden faydalanılmıştır. Çalışmalar balın etanole bağlı vasküler permeabilite artışıdaki değişimleri azalttığı, böylece -SH içeren bileşiklerin veya antioksidanların dışarıdan uygulanmasının etanole bağlı gastrik zarara karşı mukozayı koruduğu gösterilmiştir (218). Balın mesane kanseri üzerine antitümoral etkisi *in vitro* ve *in vivo* olarak çalışılmıştır. Bu çalışmalarda 3 tane insan mesane kanseri hücre kültürü (T24, 253J ve RT4) ile murine mesane kanser hücre kültürü (MBT-2) kullanılmıştır. *In vivo* çalışmada kanser hücreleri farenin karın bölgesine s.c. olarak implante edilmiştir ve tümör gelişimi ve etkileri araştırılmıştır. *In vitro* çalışmada T24 ve MBT-2 hücre kültürlerinin %1-25 oranında; RT4 ve 253J hücre kültürlerinin ise %6-25 oranında bal tarafından önemli ölçüde proliferasyonunun inhibe edildiği gösterilmiştir. *In vivo* çalışmalarda %6 ve %12 oranında balın intralezyonel enjeksiyonunun balın oral yoldan alımındaki gibi tümör büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bal içerdiği antibakteriyel, antifungal, sitostatik ve antienflamatuvar etki gibi terapötik özellikleri bakımından geniş bir kullanım alanına sahip olduğu bildirilmiştir. Balın, Fournier's gangrenine, abdominal yara kesiklerine, gastrik ülser, gastroenterit ve yanıklara terapötik etki gösterdiği ayrıca deri greflerinin saklanması amacıyla kullanıldığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar sıçan ve fare tümörlerinde balın antitümör etkinliği ve antimetastatik etkilerinin olduğunu göstermektedir. Balın kemoterapötik ilaçlardan 5-fluourasil ve siklofosfamid'in antitümör etkisini de potansiyelize ettiği bildirilmiştir (102). Balın kalsiyum kanal blokları üzerine farklı yollardan etki edebildiği bildirilmektedir. Balın diltiazemin plazma konsantrasyonunu düşürdüğü, verapamil ile birlikte kullanıldığında tam kalp blokajını indüklediği, bu durumun besin-ilaç etkileşimleri açısından önemli olduğu bildirilmiştir (219). Gastrointestinal metabolizma üzerine ve tavşanlardaki glycyrrhizin ve glycyrrhetic asidin dağılımı hakkında balın etkisi üzerine yapılan çalışmada balın glycyrrhizin'in faydasını arttırdığı ve muhtemel aldosteronizm riskini azalttığı bildirilmiştir (220). Burkina Faso merkezinde balın terapötik açıdan uygulanmasına yönelik araştırmada çeşitli gastrointestinal rahatsızlıklar, solunumla ilgili rahatsızlıklar, vertigo, oftalmik rahatsızlıklar, diş ağrısı, yaralar, yanıklar, göğüs ağrıları, üriner enfeksiyonlar, kısırlık ve impotans, baş dönmesi, dizanteri, postnatal rahatsızlıklar ve deri temizleyicisi olarak kullanıldığı belirtilmiştir. 195 kişide yapılan araştırmada balın en yaygın

olarak, kadınlardaki periyodik ağrılar ve postnatal rahatsızlıklarda (89 kişi), gastroenterik rahatsızlıklar (57 kişi) ve solunum yolu rahatsızlıklarında (41 kişi) kullanıldığı bildirilmiştir (221). Arı ürünü preparatlarının radyasyona bağlı hastalıkların terapötik etkisi üzerine yapılan deneylerde 3 Gy ve 5 Gy dozlarında ışın verilen farelerde çeşitli kombinasyonlarda bal, propolis ve arı sütü preparatları kullanılması durumunda bu hayvanların ışınlardan korunabilecekleri gösterilmiştir. Preparat enjeksiyonlarının kontrol grubundaki hayvanlara kıyasla ışınların yol açtığı hastalıkları hafiflettiği ve hemoglobin, kan hücresi, hematoblastı arttırdığı; lipid peroksidasyon aktivitesini ve rejenerasyon süresini azalttığı bildirilmiştir (222). Balın antimetastatik etkisini araştırmak üzere murine tümörleri kullanılarak yapılan bir çalışmada tümör hücre aşılamasından önce oral yolla verilen balın antimetastatik etki gösterdiği bildirilmiştir. Buna rağmen balın tümör hücre aşılamasından sonra verildiğinde akciğer metastazını arttırdığı bildirilmiştir. Sonuç olarak aşılama öncesi oral yolla verilen balın tümör nodül oluşumunun yayılması üzerine koruyucu etki ettiği bildirilmektedir (223).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereç

Bu çalışmada analizi yapılan bal örnekleri, Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki pazar ve marketlerden sağlandı. Örneklerdeki naftalinin saptanması için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-DAD kullanıldı.

5.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Naftalin (Merck, 1.06200.0100)
- Asetonitril (Merck, 1.00030.2500)
- Etanol (Merck, 1.11727.2500)
- Potasyum hidroksit (Merck, 1.05012.1000)
- n-hekzan (Merck, 1.04368.2500)
- Sodyum sülfat, susuz (Carlo Erba, 483007)
- Sodyum sülfat, 9H₂O (Merck, 1.06638.1000)

5.1.2. Çözeltiler

Stok çözeltilerin hazırlanması: 0.01 g naftalin tartılıp 100 ml'ye asetonitril ile tamamlanarak stok standart çözelti hazırlandı. Bu çözeltilerden 0.2 ng/µl konsantrasyonda standart naftalin çözeltisi asetonitril ile seyreltilerek hazırlandı. Tüm stok çözeltiler -20° C'de ağzı kapalı ve alüminyum folyoya sarılarak saklandı.

% 50'lik sulu KOH çözeltisinin hazırlanması: 125 g KOH Milipore-Milli Q-RG'den elde edilen su ile 250 ml'ye tamamlandı.

5.1.3. Alet ve Malzemeler

- Teraziler (Sartorius Basic)
- Hassas teraziler (Shimadzu-AX120)
- Homojenizatör (Ika Werk)
- Çalkalayıcı (GFL-3017)

- Rotary evaporatör (Ika Labortechnik)
- Isıtıcı manto (Elektro-mag Model MX150)
- Cam malzemeler
- Mikro enjektör (Hamilton 702, 705, 710, 750)
- Filtre kağıdı (Whatman No.4)
- Filtre (Whatman Puradisc PTFE 0.45µm)

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (Agilent 1100, ABD)

- Pompa (Model G1311A)
- In-line degasser (Model G1379A)
- Detektör (Model G1315A DAD, 220 nm, band genişliği: 4 nm)
- Enjektör (Rheodyne 7725i, 20 µl, 100 µl loop)
- Bilgisayar programı (Data Station): Agilent ChemStation
- Kolon: Symmetry C₁₈, 100 Å⁰, 5 µm, 4.6x250 mm (Part No: WAT054275) (Waters)
- Kolon ısıtıcısı (Model G1316A, Thermostatted Column Compartment)
- Guard kolon: (Hicrom KR100-5C18-10C, 10 mm length)

5. 2. Yöntem

Bal örneklerindeki naftalin analizleri diode dizi detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile yapıldı. YBSK ile <LOD naftalin şüpheli bir bal örneğinin analizi ise TÜBİTAK-ATAL 'da GC-MS ile yapıldı.

Örnek Ekstraksiyonu (89, 224) : Bal örnekleri 250 ml'lik şilifli balonlara 12.5±0.1 g hassasiyetle tartıldı ve üzerine 50 ml etanol, 8.75 ml %50'lik KOH çözeltisi ve 0.5 g Na₂S.9H₂O ilave edilerek geri çeviren soğutucuda 1 saat hafif kaynatıldı. İşlemin sonunda karışım 1 saat geri çeviren soğutucu altında su geçer konumda ~30-40° C'ye kadar soğutuldu. Karışım ayırma hunisine alınarak 90 ml n-hekzan ile 120 rpm'de 1 saat çalkalayıcıda çalkalandı. Organik faz ayrılarak polar safsızlıkların uzaklaştırılması için 25 ml saf su ile 2 defa yıkandı ve saf su fazı atıldı. n-hekzan fazı, üzerine 4 g susuz sodyum sülfat konulmuş Whatman No.4 süzgeç kağıdından süzülerek, dibi konik cam balona alındı ve 50° C'de vakum

evaporatöründe yaklaşık 20 ml n-hekzan kalacak şekilde uçuruldu. Kalan kısmın üzerine 3 ml asetonytril ilave edilerek n-hekzan tamamen uçuruldu. ~1 ml'lik asetonytrilli kısım balon jøjeye aktarılıp asetonytril ile 5 ml'ye tamamlandı. 0.45 µm'lik Whatman Puradisc PTFE filtreden geçirildi ve içinden 5 µl alınarak 95 µl asetonytril ile 100 µl'ye seyreltildi. YBSK'ya enjekte edildi.

YBSK için çalışma koşulları:

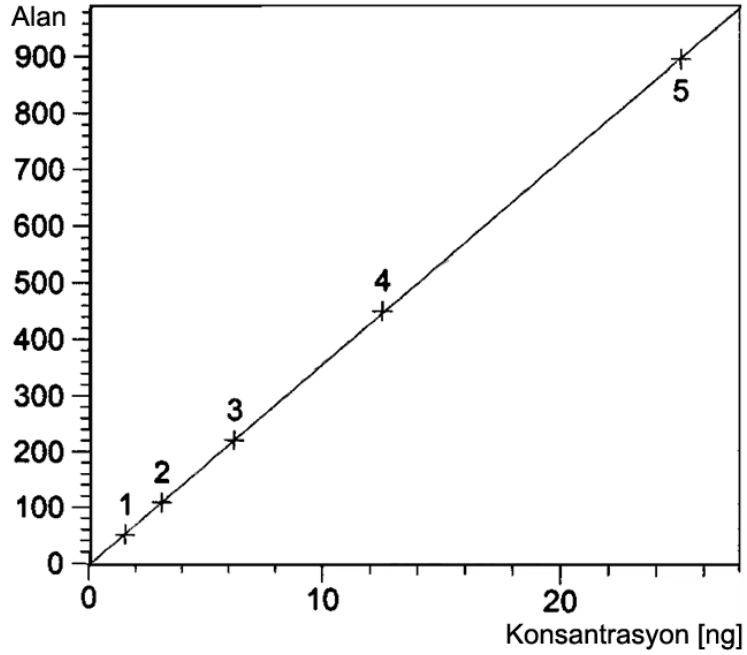
- Çözücü Sistemi: Asetonytril/su (50:50, v/v)
- Enjeksiyon : 20µl, 100 µl
- Akış hızı : 1 ml/dak.
- Kolon sıcaklığı : 25° C
- Pompa basıncı : ~ 123 bar

Cihaz analizden 1 saat kadar önce çalıştırılarak koşullandırıldı. YBSK'ya hazır hale getirilen örnekler ikişer defa enjekte edildi. Naftalin standart çözeltileri 1.56, 3.12, 6.24, 12.5, 25 ng miktarlarda üçer defa enjekte edilerek linearitesine bakıldı. Yapılan çalışmada, naftalinin lineer regresyon çizgisi $y=36.2887x-3.7496$ ($r=0.9999$) elde edildi. Alıkonma zamanı (Retention time, t_R) 24.7 dakikaydı.

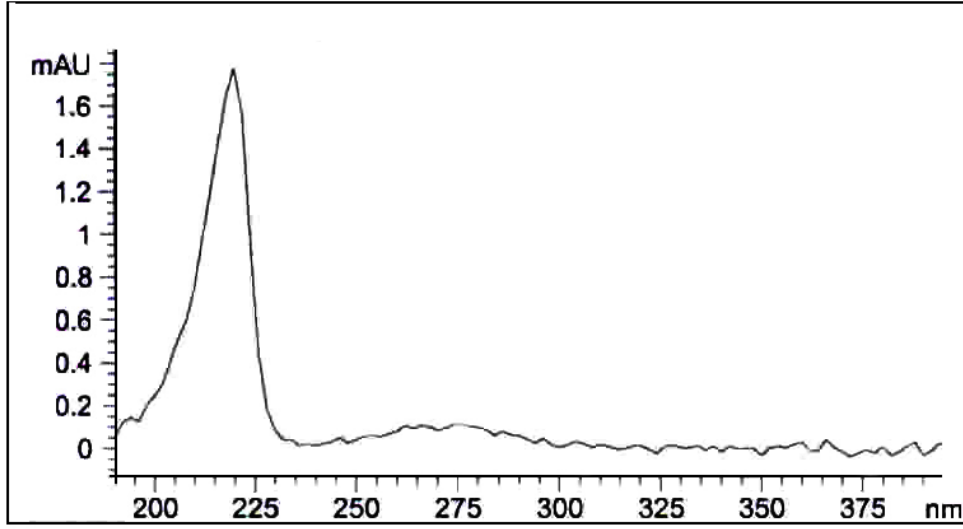
6. BULGULAR

Şekil 6.1’de YBSK’da naftalinin kalibrasyon eğrisi verilmiştir. Şekil 6.2’de naftalin standardının absorpsiyon spektrumu verilmiştir. Şekil 6.3’te ise naftalin standardının YBSK kromatogramı verilmiştir.

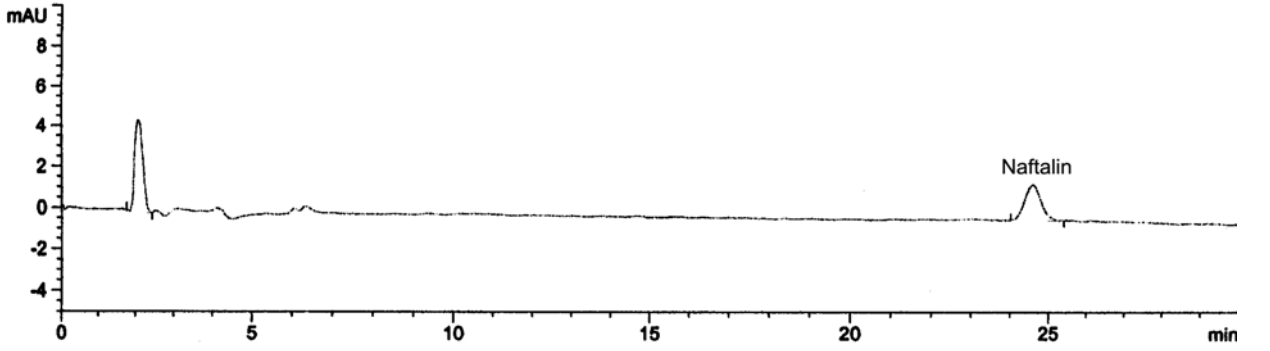
Tablo (6.1)’de 1 ppm naftalin katımı yapılan bal örneklerinin geri kazanım yüzdeleri verilmiştir. Türkiye’nin çeşitli bölgelerindeki market ve pazarlardan alınan bal örneklerinde YBSK ile yapılan naftalin analizi sonuçları Tablo (6.2), (6.3) ve (6.4)’de verilmiştir. Çalışmamızda 100 adet bal örneğinde <LOD olan naftalin şüpheli bir örnek TÜBİTAK-ATAL’da GC-MS ile analiz edilmiş ve naftalin olduğu doğrulanmıştır.



Şekil 6.1. YBSK’da naftalinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 6.2. Naftalin standardının absorpsiyon spektrumu



Şekil 6.3. 1.56 ng naftalin standardının YBSK kromatogramı

Tablo 6.1. : 1 ppm katım yapılan bal örneklerinin geri kazanımları

n	Ortalama Alan	Geri kazanım (%)
1	104.12	79.58
2	106.77	81.60
3	109.92	84.01
4	98.73	75.46
5	98.15	75.02
6	109.80	83.92
7	109.33	83.56
		80.45±4.84

Tablo 6.2. : Markalı ve markasız bal örneklerinde YBSK ile yapılan naftalin analizi sonuçları. P: Pazar, M: Market. t.e.: Tespit edilemedi.

BAL CİNSLERİ SÜZME BALLAR	KAYNAK		YBSK (ppb)
	Satış	Üretim	
Çiçek balı	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
	P	Samsun	t.e.
	P	Ordu	t.e.
	P	Ardahan	t.e.
	P	Kars	t.e.
	P	Kars	t.e.
	P	Kars	t.e.
	M	Bitlis	t.e.
	P	Konya	t.e.
	P	Yozgat	t.e.
	M	Manisa	t.e.
	M	Ankara	t.e.
	M	Erzurum	t.e.
	M	Marmaris	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	P	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	P	Balıkesir	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	Erzurum	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	Erzincan	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	İstanbul	t.e.

Tablo 6.2.'in Devamı : Markalı ve markasız bal örneklerinde YBSK ile yapılan naftalin analizi sonuçları. P: Pazar, M: Market. t.e.: Tespit edilemedi.

BAL CİNSLERİ SÜZME BALLAR	KAYNAK		YBSK (ppb)
	Satış	Üretim	
Karakovan balı	P	Hakkari	t.e.
	M	Afyon	t.e.
	P	İzmir	t.e.
	P	Antalya	t.e.
Kekik balı	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
Keven kekik balı	M	Elazığ	t.e.
Püren balı	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
Kozak balı	P	İzmir	t.e.
Narenciye balı	P	Antalya	t.e.
	P	Antalya	t.e.
Ihlamur kestane balı	P	Şile	t.e.
Kestane balı	P	Kastamonu	t.e.
	P	Ordu	t.e.
	P	Kastamonu	t.e.

Tablo 6.3 : Markalı ve markasız bal örneklerinde YBSK ve GC-MS ile yapılan naftalin analizi sonuçları. P: Pazar, M: Market. t.e.: Tespit edilemedi.

BAL CİNSLERİ PETEK BALLARI	KAYNAK		YBSK (ppb)
	Satış	Üretim	
Petek balı	P	Sivas	t.e.
	P	Erzincan	t.e.
	P	Erzincan	t.e.
	M	İstanbul	t.e.
	M	Erzincan	t.e.
	P	Antalya	t.e.
	P	Sivas	t.e.
Kekikli petek balı	P	Erzincan	t.e.
	P	Marmaris	t.e.
Karakovan petek balı	M	Muş	t.e.
	P	Hakkari	t.e.

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemiz sahip olduğu zengin bitki örtüsü, iklim ve coğrafi yapısının çeşitliliği bakımından arıcılığa son derece elverişli bir konumdadır. Arıcılık, topraktan bağımsız oluşu, diğer sektörlere göre daha az iş gücüne ihtiyaç duyulması, yatırımın gelire dönüşmesi süresinin çok kısa olması ve ürünlerine iç ve dış pazarda potansiyel talebin fazla olması gibi nedenlerden dolayı diğer tarımsal faaliyetlere oranla büyük avantajlara sahip bir uğraşıdır (225). Zengin bitki kaynağına sahip ülkemizin tüm bölgeleri arıcılık yapmak için uygun bir ekolojik yapıya sahiptir (226). Dünyada mevcut olan ballı bitki tür ve çeşitlerinin 3/4'ünün Türkiye'de bulunması büyük bir doğal zenginliktir. Bu bitki florasının çeşitliliğinin yanı sıra coğrafik yapısından dolayı ülkemizde; erken ilkbaharda Akdeniz Bölgesi'nde narenciye balı, yaz aylarında Anadolu'da yayla balı, Trakya Bölgesi'nde ayçiçek ve Muğla yöresinde de çam balı üretimi arıcılara uygun koşullar yapabilme olanağı sağlamaktadır (225). Ülkemizde arı ürünlerinin sağlığa faydalı olduğu düşüncesiyle bal, polen, propolis, arı sütü, arı zehiri gibi arıcılık ürünlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (226).

Bu kadar yararlı bir besin kaynağı olan bala yabancı madde karışması sağlık ve ekonomimiz açısından büyük önem taşımaktadır. Arı hastalıklarında ve pestlerle mücadelede kullanılan ilaç ve pestisit uygulamalarının ve kötü niyetle kullanılan kimyasal maddelerin bal ve balmumunda kalıntı bıraktığı bilinmektedir. Çalışmamızda ülkemizin tüm bölgelerinden temin edilen bal örneklerinde naftalin analizi yapılarak örneklerde naftalin bulunup bulunmadığı saptandı.

Ülkemizde Marmara Bölgesi'nde üretilen balların floral kaynağının akasya, kestane, ayçiçeği, papatya, ihlamur, kekik, meşe, yabani nane, yabani yonca, erguvan, karaçalı, geven, üçül türleri, otlak ayrığı, küçük kuzu kulağı, püren, deve dikenini, çiğdem, akbardak, kırkekiği; Ege Bölgesi'nde üretilen balların floral kaynağının zeytin, kırçiçekleri, pamuk, tırfil, çiriş, elma, gökdiken, menengiç, çam, kozak, çaltı, taş yoncası, ada çayı, püren, kekik, kestane, karpuz, domates, sarmaşık, turp ayrığı, hayıt, üçgül, deve dikenini, püren, hardal; Karadeniz Bölgesinde üretilen balların floral kaynağının kaynanadili, papatya, korunga, çam, kekik, akçaağaç, hindiba, meyva

ağaçları, fındık, tütün, söğüt, taflan, orman gülü, çemen, sütleğen, böğürtlen, tarla ayrığı, akasya, fiğ, kekik, meşe; Doğu Anadolu Bölgesi'nde üretilen balların floral kaynağının çayır püskülü, kenger, hardal, sığırdili, mavi perçem çiçeği, yabani hindiba, ardıç, iğde, kuşburnu, konca, sığır kuyruğu, geven, ballıbaba, kırkekiği, çam, akasya, meşe, yabani üçgül, çoban çantası, kelp kuyruğu, kardelen, akgül, papatya, korunga, şerbetçi otu, sarı çam, koyun yumağı, nohut, boğa diken, engerek otu, köy göçüren, dadırak, mayasilotu, yabani çivitotu, şalgam, kedi nanesi, yer meşesi, sarı çiçekli yonca, kangal, yavşan, çayır düğmesi, kaba yonca, geven çeşitleri, sütleğen; Akdeniz Bölgesi'nde üretilen balların floral kaynağının keçi boynuzu, narenciye, yabani turp, püren, çilek, hayıt, böğürtlen, hardal, diken, ladin, ardıç, mersin, badem, susam, harnup, okaliptus, çiğdem, palamut, zeytin, kiraz elma, yem bitkisi, orman, adaçayı; İç Anadolu Bölgesi'nde üretilen balların floral kaynağının ebegümeci, şalba, diken türleri, tilki kuyruğu, domuz ayrığı, armut, çakıldak, şerbetçi otu, düğmecik, yabani fiğ, koyun yumağı, peygamber çiçeği, geven, kırkekiği, emecek, akasya, ayçiçeği, tarla ayrığı; Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde üretilen balların floral kaynağının ise köpek dişi, fiğ, kekik, ballıbaba, sarı diken, bozkır, yabani yonca, korunga, mısır, karaçalı, çobandöşeği, badem, çarçur, süpürge otu, tusi, pamuk ve kültür bitkilerinden oluştuğu bildirilmektedir (<http://www.tarim.gov.tr>, 25.03.2006).

Yurtdışında balda naftalin aranması ile ilgili yapılmış çalışmalar incelendiğinde; Castle ve ark.'larının İngiltere'deki marketlerden temin ettikleri 49 adet bal örneğinde GC-MS ile yaptıkları çalışmada naftalin kalıntısına rastlanılmadığı bildirilmiştir (12). Tananaki ve ark.'ları tarafından balda naftalin tespitine yönelik yöntem geliştirilmiş, 25 adet bal örneğinde naftalin kalıntı analizi için GC-MS kullanılmıştır. Yunanistan'da yapılan bu çalışmada sadece bir adet bal örneğinde naftalin kalıntısı konsantrasyonunun 10 µg/kg'ı aştığı bildirilmiştir (88). Naftalinin de içinde yer aldığı, polisiklik aromatik hidrokarbonların balda GC-MS ile yöntem geliştirilerek tespitine dayalı bir başka çalışma bulunmaktadır (8). Yunanistan'da 3 yıl süreyle 115 adet ticari bal ve 1060 adet arıcılardan toplanan bal örneğinde GC-MS yöntemi ile naftalin analizi yapılmıştır. Naftalin, ilk yıl ticari ballarda, arıcılardan temin edilen ballara nazaran daha fazla tespit edilmiş olup sonraki 2 yıl boyunca benzer biçimde azalma olduğu tespit edilmiştir (227). İsviçre, Fransa, İtalya, İspanya, Kanada, Yeni Zelanda, Orta/Güney Amerika ve Avusturya orijinli 32 adet bal

örneğinde Basel şehrindeki Kantonaales Laboratuvarı'nda GC-MS yöntemi ile naftalin analizi yapılmıştır. Naftalin sadece bir örnekte 0.002 mg/kg düzeyinde tespit edilmiştir (<http://www.kantonlabor-bs.ch/files/75/honey.pdf>, 02.10.03).

Ülkemizde ballarda naftalin aranmasına yönelik analizler İzmir Hıfzıssıhha Enstitüsü'nde YBSK-DAD ve TÜBİTAK-ATAL'da GC-MS ile yapılmaktadır (89, <http://www.tubitak.gov.tr>, 14.04.2006). Hatay yöresinden toplanan 50 adet bal örneğinde yapılan bir çalışmada, bal örneklerinin %28'inin TSE 3036 Bal standardında belirtilen tüm kriterlere uygun olduğu; elde edilen değerlerden %4'ünün kül, %46'sının asitlik, %16'sının invert şeker, %22'sinin pH ve %44'ünün ise diastazla ilgili TSE 3036 Bal standardına uygun olmadığı belirlenmiştir (140). Ülkemizde 2002 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından yürütülen “*Ulusal Kalıntı İzleme Projesi*” çerçevesinde ballarda yapılan kalıntı çalışmalarında analiz edilen 118 adet bal örneğinin 26'sında (%22) naftalin kalıntısı tespit edilmiştir (1).

Bu çalışmada toplam 100 adet bal örneği YBSK-DAD ile analiz edilmiştir. Market ve pazarlardan temin edilen bal örneklerinin 18 adedi Marmara, 37 adedi Ege, 7 adedi Karadeniz, 17 adedi Doğu Anadolu, 16 adedi Akdeniz, 3 adedi İç Anadolu ve 2 adedi Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ne ait olmak üzere toplanmıştır. Bu bal örneklerinin 54 adedi süzme balı, 35 adedi salgı balı, 11 adedi petek balı olarak gruplandırılmıştır. Sonuç olarak yaptığımız çalışmada bal örneklerinin 53'ü market, 47'si pazardan temin edildi. Çalışmamızda naftalin analizi ters faz tekniği kullanılarak YBSK-DAD ile yapıldı. Ege Bölgesi'nden temin edilen 1 adet çam balı, YBSK ile <LOD naftalin şüpheli bal örneği olup, aynı örnek TÜBİTAK-ATAL'a gönderilerek GC-MS ile analiz edilmiştir. Alınan sonuç 1.13 ng/g naftalin düzeyindedir. YBSK ile aldığımız sonuç GC-MS ile de doğrulanmıştır. % geri kazanım oranı 1 ppm naftalin'in naftalin'siz bal örneklerine katım deneyleri yapılarak hesaplanmış ve çalışma tekniği kontrol edilmiştir. 1 ppm naftalin katımı yapılan bal örneklerinde geri kazanım %80.45 ±4.84 (n=7) olarak bulunmuştur. Çalışmamızda naftalin için deteksiyon sınırı 0.312 ng olarak tespit edilmiştir

Bal üreticilerin büyük ekonomik kayıplardan kurtulması için naftalin ve diğer kalıntıların düzenli kontrolünün yapılması gerekmektedir. TGK'ya göre balda naftalin bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (95). Tüketicileri ballarda bulunabilecek

kalıntıların zararlarından korumak ve ihraç ettiğimiz ürünlerde söz konusu olabilecek iadeleri önlemek bakımından gıdalarda yapılacak çalışmalar büyük önem taşır.

Balların gerek naftalinden gerekse pestisit ve ilaç gibi diğer kalıntılardan korunması için öncelikle engelleyici tedbirlerin alınması gerekmektedir. Özellikle üreticilerin kalıntıların tehlikesi ve önlenmesi konusunda eğitilmeleri gerekmektedir. Bunun yanında tarım ürünlerinde kalıntı kontrolü yapan kurumlar desteklenmelidir. Sağlıklı bir toplumun oluşması için beslenmeyle ilgili yapacağımız çalışmalar, gelecek nesillerin sağlıklı yetişmesi bakımından büyük önem taşır. Ülkemiz beslenmesinde çok önemli bir yer tutan ve yurt dışına giderek artan miktarlarda ihraç edilen bal aynı zamanda ülkemiz ekonomisi bakımından da önemlidir. Bu nedenle gıdaların üretimden tüketiciye sunuluncaya kadar tüm besin zinciri boyunca geçirdiği aşamalarda, naftalin ve diğer kimyasal maddelerle kontaminasyonun önlenmesi için kontrol ve analizlerinin yapılması gerekmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Daş Y.K.: Türkiye’de Üretilen Ballarda Bazı Organik Fosforlu ve Sentetik Piretroid İnsektisit Kalıntılarının İncelenmesi. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2004 (Danışman: Prof. Dr. S. Kaya)
2. Evran, E: ‘Bal’gibi zehir yemişiz, Sabah gazetesi, 21.10.2003.
3. Cordella C., Militão J.S.L.T., Clément M-C., Drajnudel P., Cabrol-Bass D.: Detection and quantification of honey adulteration via direct incorporation of sugar syrups or bee-feeding: preliminary study using high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) and chemometrics. *Anal. Chim. Acta.*, 531: 239-248, 2005.
4. Çeliker S.A.: Arıcılık. T.E.A.E.-Bakış., 9: 1-4, 2002.
5. Willems B.A.T., Melnick R.L., Kohn M.C., Portier C.J.: A physiologically based pharmacokinetic model for inhalation and intravenous administration of naphthalene in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 176: 81-91, 2001.
6. Cho M., Jedrychowski R., Hammock B., Buckpitt A.: Reactive naphthalene metabolite binding to hemoglobin and albumin. *Fund. Appl. Toxicol.*, 22: 26-33, 1994.
7. Stohs S.J., Ohia S., Bagchi D.: Naphthalene toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology.*, 180: 97-105, October 30, 2002.
8. Albero B., Sánchez-Brunete C., Tadeo J.L.: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in honey by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC. Int.*, 86: 576-582, 2003.
9. Kayali-Sayadi M.N., Rubio-Barroso S., Garcia-Iranzo R., Polo-Diez L.M.: Determination of selected polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted bread by supercritical fluid extraction and HPLC with fluorimetric detection. *J. Liq. Chrom.&Rel. Technol.*, 23: 1913-1925, 2000.
10. Lehotay J., Hromul’áková K.: HPLC determination of trace levels of benzylchloride, chlorobenzene, naphthalene, and biphenyl in environmental samples. *J. Liq.Chrom.& Rel. Technol.*, 20: 3193-3202, 1997.

11. Farkas N., Lőrinczy D., Dergez T., Kilár F., Belagyi J.: Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on erythrocyte membranes by DSC and EPR. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 16: 163-168, 2004.
12. Castle L., Philo M.R., Sharman M.: The analysis of honey samples for residues of nitrobenzene and petroleum from the possible use of Frow mixture in hives. *Food Chem.*, 84: 643-649, 2004.
13. Devlet İstatistik Enstitüsü, 2005 verileri. Beşiktaş, İstanbul.
14. The Merck Index. Ed. O'Neil M.J. Thirteenth Edition. Merck & Co., INC. Whitehouse Station, NJ, 2001.
15. Vijayavel K., Balasbramanian M.P.: Fluctuations of biochemical constituents and marker enzymes as a consequence of naphthalene toxicity in the edible estuarine crab *Scylla serrata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 63: 141-147, 2005.
16. Heinrich M.: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, s.: 299-300, 2002.
17. NIH, Public Health Services: Toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene in F344/N rats (Inhalation studies), NIH Publication No. 01-4434, NTP TR 500, p. 1-11, December 2000.
18. Bagchi M., Bagchi D., Balmoori J., Ye X., Stohs S.: Naphthalene-induced oxidative stress and DNA damage in cultured macrophage J774A.1 cells. *Free Rad. Biol. Med.*, 25: 137-143, 1998.
19. Vuchetich P., Bagchi D., Bagchi M., Hassoun E., Tang L., Stohs S.: Naphthalene-induced oxidative stress in rats and the protective effects of vitamin E succinate. *Free Rad. Biol. Med.*, 21: 577-590, 1996.
20. Bagchi M., Balmoori J., Ye X., Bagchi D., Ray S.D., Stohs S.J.: Protective effect of melatonin on naphthalene-induced oxidative stress and DNA damage in cultured macrophage J774A.1 cells. *Mol. Cell Biochem.* 221: 49-55, 2001.
21. U.S. Environmental Protection Agency. Toxicological Review of Naphthalene, August 1998.
22. U. S. Environmental Protection Agency. Health and Environmental Effects Profile for Naphthalene. EA/600/X-86/241. Environmental Criteria and

- Assesment Office, Office Health and Environmental Assesment, Office of Research and Development, Cincinnati, OH, 1986.
23. Faust R.A.: Risk assesment information system, Toxicity summery for naphthalene . Chemical hazard evolution group, Biomedical and environmental information analysis section, Health and Safety Research Division, 1993.
 24. Warren D.L., Brown J.R., Buckpitt A.R.: Evidence of cytochrome P450-mediated metabolim in the bronchiolar damage for naphthalene. *Chem.-Biol. Interact.*, 40: 287-303, 1982.
 25. Miller M., Powell J., Cohen G.: Formation and identification of naphthoquinone glutathione conjugates following microsomal metabolism of 1-naphthol. Eds: Kocsis, J., Jollow, D., Witmer, C., Nelson, J., Synder, R., *Biological Reactie Intermediates*, Vol.III., s. 391-398, Plenum Pres, New York, 1986.
 26. Eisele G.R.: Naphthalene distribution in tissues of laying pullets, swine, dairy cattle. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 34: 549-556, 1985.
 27. Buckpitt A.R., Franklin R.B.: Relationship between naphthalene and 2-methylnahthalene metabolism to pulmonary bronchiolar epithelial cell necrosis. *Pharm.Ther.*, 41: 393-410, 1989.
 28. Wells P.G., Wilson B., Lubek B.M.: *In vivo* murine studies on the biochemical mechanism of naphthalene cataractogenesis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 99: 466-473, 1989.
 29. Plopper C.G., Suverkropp C., Morin D., Buckpitt A.R.: Relationship of cytochrome P-450 activity to Clara cell cytotoxicity. I. Histopathologic comparision of the respirotary tarcet in mice, rats and hamster after parenteral administration of naphthalene. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 261: 353-363,1992a.
 30. Plopper C.G., Macklin J., Nishi S.J., Hyde D.M., Buckpitt A.R.: Relationship of cytochrome P-450 activity to Clara cell cytotoxicity. III. Morphometric comparision of changes in the epithelial populations of terminal bronchioles and lobar bronchi in mice, hamster, and rats after parenteral administration of naphthalene. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 261: 353-363,1992b.

31. Xu G.T., Zigler J.S., Lou M.F.: The possible mechanism of naphthalene cataract in rat and its prevention by an aldose reutase inhibitor. (AL1576). *Exp. Eye. Res.*, 54: 63-72, 1992a.
32. Xu G.T., Zigler J.S., Lou M.F.: Establishment of a naphthalene cataract model in vitro. *Exp. Eye. Res.*, 54: 73-81, 1992b.
33. Tingle M.D., Pirmohamed M., Templeton E., Wilson A.s., Madden S., Kitteringham N.R., Park B.K.: An investigation of the formation of cytotoxic, genotoxic, protein-reactive and stable metabolites from naphthalene by human liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.*, 46: 1529-1538, 1993.
34. Jerina D.M., Daly J.W., Witkop B., Zaltzman-Nirenberg P., Udenfriend S.: 1,2-Naphthalene oxide as an intermediate in the microsomal hydroxylation of naphthalene. *Biochemistry*, 9: 147-156, 1970.
35. Wilson A.S., Davis C.D., Williams D.P., Buckpitt A.R., Pirmohamed M., Park B.K.: Characterization of the toxic metabolite(s) of naphthalene. *Toxicology*, 114: 233-242, 1996.
36. Bakke K., Struble C., Gustafsson J.A., Gustafsson B.: Catabolism of premercapturic acid pathway metabolites of naphthalene to naphthols and methylthio-containing metabolites in rats. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 82: 668-671, 1985.
37. Chen K.C., Dorough H.W.: Glutathione and mercapturic asit conjugations in the metabolism of naphthalene and 1-naphthyl N-methylcarbamate (carbaryl). *Drug Chem. Toxicol.*, 2: 331-354, 1979.
38. Mackell J.V., Rieders F., Brieger H., Bauer E.L.: Acute hemolytic anemia due to ingestion of naphthalene moth balls. I. Clinical aspects. *Pediatrics*, 7: 722-727, 1951.
39. Omurtag G.Z., Güranlıoğlu F.D., Şehirli Ö., Arbak S., Uslu B., Gedik N., Şener G.: Protective effect of aqueous garlic extract against naphthalene-induced oxidative stres in mice. *J. Pharm. Pharmacol.*, 57: 623-630, 2005.
40. Rozman K.K., Summer K.H., Rozman T., Greim H.: Elimination of thioesters following administration of naphthalene and diethylmaleate to the rhesus monkey. *Drug Chem. Toxicol.*, 5: 265-275, 1982.

41. Boyland E., Sims P.: Metabolism of polycyclic compounds: 12. An acid-labile precursor of 1-naphthylmercapturic acid and naphthol: an N-acetyl-S-(1:2-dihydrohydroxynaphthyl)1-cysteine. *Biochem. J.*, 68: 440-447, 1958.
42. Zuelzer W.W., Apt L.: Acute hemolytic anemia due to naphthalene poisoning: A clinical and experimental study. *JAMA*, 141: 185-190, 1949.
43. Dökmeçi İ.: Toksikoloji Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1998.
44. Preuss R., Angerer J., Drexler H.: Naphthalene-an environment and occupational toxicant. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, 76: 556-576, 2003.
45. Honda T., Kiyozumi M., Kojima.: Pulmonary toxicity of naphthalene, 2-methylnaphthalene, and isopropyl naphthalenes in mice. *Chem. Pharm. Bull.*, 38: 3130-3135, 1990.
46. Koch H.R., Doldi K., Hockwin O.: Naphthalene cataract development. *Doc. Ophthalmol.*, 3: 323-332, 1976.
47. Lubek B.M., Kobow S., Basu P.K., Wells P.G.: Cataractogenicity and bioactivation of naphthalene derivatives in lens culture and in vivo. *Lens Eye Toxic. Res.*, 6: 203-209, 1989.
48. Germansky M., Jamall S.: Organ-specific effects of naphthalene on tissue peroxidation, glutathione peroxidases, and superoxide dismutase in the rat. *Arch. Toxicol.*, 61: 480-483, 1988.
49. Potts A.M.: Toxic responses of the eye. Eds: Amdur M.O., Doull J., Klassen C.D., *Toxicology. Fourth Edition*, s. 521-565, Pergamon Press, New York, 1991.
50. Grant W.M.: *Toxicology of the eye. Third Edition.* Charles C Thomas Publisher, Springfield, 1986.
51. Tao R.V., Holleschau A.M., Rathbun W.B.: Naphthalene-induced cataract in the rat. *Ophthalmic. Res.*, 23: 272-283, 1991.
52. Pandya U., Saini M.K., Jin G.F., Awasthi S., Godley B.F., Awasthi Y.C.: Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol. Lett.*, 155: 195-204, 2000.
53. Van H.R., Pirie A.: The metabolism of naphthalene and its toxic effect on the eye. *Biochem. J.*, 102: 842-852, 1967.

54. Shichi H., Tanaka M., Jensen N.M., Nebert D.W.: Genetic differences in cataract and other ocular abnormalities induced by paracetamol and naphthalene. *Pharmacology*, 20: 229-241, 1980.
55. Smith R.P.: Toxic responses of the blood. In: Klassan C.D. Ed. Casarett & Doull's Toxicology. 5th Edition, McGraw-Hill, New York, s.335-354,1996.
56. Fradin Z., Stein G.Y., Varon M., Kanter P., Zeidman A.: Naphthalene induced fatal haemolysis in G6PD deficiency. *Hellenic Society of Heamatology (HAEMA)*, 8: 286-288, 2005.
57. Kurz J.M.: Naphthalene poisoning. *Critical care nursing techniques. Dimens. Crit. Care Nurs.*, 6: 264-270, 1987.
58. Gupta R., Singhal P.C., Muthusethupathy M.A., Malik A.K., Chugh K.S.: Cerebral oedema and renal failure following naphthalene poisoning. *J.Assoc. Physic.*, 27: 347-348, 1979.
59. Lezenius A.: Ein fall von naphthalincataract am menschen. *Monatablatter für Augenheikunde*, 40: 129-141, In: U.S. Environmental protection Agency. *Toxicological Review of Naphthalene*, August 1998.
60. Vural N.; Toksikoloji. A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yay. No:73, Ankara, 2005.
61. Manchanda S.S., Sood S.C.: Accidental poisoning in children: with a case report of naphthalene poisoning. *Ind. Child Health.*, 9: 113-119, 1960.
62. Valaes T., Doxiadis S.A., Fessas T.: Acute hemolysis due to naphthalene inhalation. *J. Pediatr.* 63: 904-915, 1963.
63. Linick M.: İllness associated with exposure to naphthalene in mothballs. *MMWR*, 32: 34-35, 1983.
64. Ijiri I., Shimosato K., Ohmae M., Tomita M.: A case report of death from naphthalene poisoning. *Jpn. J. Legal. Med.*, 41: 52-55,1987.
65. Gaines T.B.: Acute toxicity of pesticides. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 14: 515-534, 1969.
66. Shopp G.M., White K.L., Holsapple M.P., Barnes D.W., Duke S.S., Anderson A.C., Condie L.W., Hayes J.R., Borzelleca J.F.: Naphthalene toxicity in CD-1 mice: General toxicology and immunotoxicology. *Fund. Appl. Toxicol.*, 4: 405-419, 1984.

67. Sandmeyer E.E.: Aromatic hydrocarbons. Eds.: Clayton G.D. and F.E. Clayton, Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 3rd, ed., Vol. 2B, s. 3333-3343, John Wiley and Sons, New York, 1981.
68. Ghetti G., Mariani L.: Eyes changes due to naphthalene. *Med. Lav.*, 47: 533-538, 1956.
69. Van der Hoeve J.: Chorioretinitis in humans from the effect of naphthalene. *Arch. Augenheikunde.*, 56: 259-262, In: U.S. Environmental protection Agency. Toxicological Review of Naphthalene, August 1998.
70. National Toxicology Program (NTP). Unpublished Subchronic Toxicity Study: Naphthalene (C52904), Fischer 344 Rats. Prepared by Battelle's Columbus Laboratories under Subcontract No. 76-34-106002, 1980a.
71. Bagchi D., Balmoori J., Bagchi M., Ye X., Williams C.B., Stohs S.J.: Comperative effects of TCDD, endrin, naphthalene and chromium (VI) on oxidative stres and tissue damage in the live and brain tissue of mice. *Toxicology*, 175: 73-82, 2002.
72. Fitzhugh O.G., Buschke W.H.: Production of cataract in rats by beta-tetralol anda other derivates of naphthalene. *Arch. Ophthalmol.* 41: 572-582, 1949.
73. Murano H., Kojima M., Sasaki K.: Differences in naphthalene cataract formation between albino and pigmented rat eyes. *Ophthalmic Res.*, 25: 16-22, 1993.
74. Van Heyningen R., Pirie A.: Naphthalene cataract in pigmented and albino rabbits. *Exp. Eye Res.*, 22:393-394, 1976.
75. Van Heyningen R.: Naphthalene cataract in rats and rabbits: a résumé. *Exp. Eye Res.*, 28: 435-439, 1979.
76. Zinkham W.H., Childs B.: A defect of glutathione metabolism in erythrocytes from patients with a naphthalene-induced hemolytic anemia. *Pediatrics*, 22:461-471, 1958.
77. U.S. Environmental Protection Agency. Integrated Risk Information System (IRIS) on Naphthalene. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC, 1999.
78. U.S. Environmental Protection Agency. Toxicological Review of Naphthalene (CAS No. 91-20-3) in Support of Summary Information on the Integrated Risk

- Information System (IRIS). National Center for Environmental Assessment Cincinnati, OH, 1998.
79. U.S. Environmental Protection Agency. Health Effects Assessment for Naphthalene. EPA/540/1-86/014. Environmental Criteria and Assessment Office, Office Health and Environmental Assessment, Office of Research and Development, Cincinnati, OH, 1986.
 80. Buckpitt A.R., Bahson L.S.: Naphthalene metabolism by human lung microsomal enzymes. *Toxicology*, 41: 333-341, 1986.
 81. Buckpitt A.R., Warren D.L.: Evidence of hepatic formation export and covalent binding of reactive naphthalene metabolites in extrahepatic tissue in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 225: 8-16, 1983.
 82. Doherty M.D., Makowski R., Gibson G.G., Cohen G.M.: Cytochrome P-450 dependent metabolic activation of 1-naphthol o naphthoquinones and covalent binding species. *Biochem. Pharmacol.*, 34: 2261-2267, 1985.
 83. Yamanouchi T., Komura S., Yagi K.: Serum lipid peroxide levels of albino rats administered naphthalene. *Biochem. Int.*, 13: 1-6, 1986.
 84. Güranlıoğlu F.D.: Naftalin'in Neden Olduğu Oksidan Doku Hasarı ve Sarımsak (*Bulbus Allii sativi*) Ekstresinin Antioksidan Etkisinin Araştırılması. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2004 (Danışman: Doç. Dr. G. Z. Omurtag)
 85. Rao G.S., Pandya K.P.: Biochemical changes induced by naphthalene after oral administration in albino rats. *Toxicol.Lett.*, 8: 311-315, 1981.
 86. Bagchi D., Balmoori J., Bagchi M., Ye X., Williams C.B., Stohs S.J.: Role of p53 tumor suppressor gene in the toxicity of TCDD, endrin, naphthalene, and chromium (VI) in liver and brain tissues of mice. *Free Radic. Biol. Med.*, 28: 895-903, 2000.
 87. WHO, IPCS: Environmental Health Criteria 202, Selected Non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons, Geneva, 1998.
 88. Tananaki C., Zotou A., Thrasyvoulou A.: Determination of 1,2-dibromoethane, 1,4-dichlorobenzene and naphthalene residues in honey by gas chromatography-mass spectrometry using purge and trap thermal desorption extraction. *J Chromatogr. A.*, 1083: 146-152, 2005.

89. Koçak S., Gödren H., Uzunayak Ü.: Balda naftalin kalıntı problemlerine yaklaşım ve HPLC(DAD) ile yöntem geliştirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı, İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü, Yayın No: 8, 1999.
90. Kayali-Sayadi M.N., Rubio-Barroso S., Cuesta-Jimenez M.P., Polo-Diez L.M.: A new method for the determination of selected PAHs HPLC with fluorimetric detection and solid-phase extraction in coffee brew samples by J. Liq. Chrom.&Rel. Technol., 22: 615-627, 1999.
91. El harrak R., Calull M., Marcé R.M., Borrull F.: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase extraction membranes. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 64: 47-57, 1996.
92. Alnaqdy A., Al-Jabri A., Mahrooqi Z.A., Nzeako B., Nsanze H.: Inhibition effect of honey on the adherence of *Salmonella* to intestinal epithelial cells in vitro. Int. J. Food Microbiol., 103: 347-351, 2005.
93. Omurtag A.C.: Besin Analizleri 1.Cilt, s.86-91, A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yay., Yay.No: 35, Ankara,1975.
94. Ergun K., Tufekcioglu O., Aras D., Korkmaz S., Pehlivan S.: A rare cause of atrioventricular block: Mad honey intoxication. Int. J. Cardiol., 99:347-348, 2005.
95. T.C. Resmi Gazete (2004). 15 Ocak 2004, No. 25347.
96. Ioannidou M.D., Zachariadis G.A., Anthemidis A.N., Stratis J.A.: Direct determination of toxic trace metals in honey and sugars using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Talanta., 65: 92-97, 2005.
97. Borawska M.H., Kapala J., Hukalowicz R.: Radioactivity of honeybee honey. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 64: 617-621, 2000.
98. Keskin H.: Gıda Kimyası. 3. Basım, s. 571-587, İ.Ü. Yay. Sayı: 1980, Kimya Fak. No.: 21, Şirketi Mürettibiye Basımevi, İstanbul, 1975.
99. Shin H-S., Ustunol Z.: Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: An in vitro comparison. Food. Res. Int., 38: 721-728, 2005.
100. Mato İ., Huidobro J.F., Simal-Lozano J., Sancho M.T.: Significance of nonaromatic organic acids in honey. J. Food Prot., 66: 2371-2376, 2003.

101. Muñoz E., Palmero S.: Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology. *Food Chem.*, 94: 478-483, 2005.
102. Swellam T., Miyagana N., Onozawa M., Hattori K., Kawai K., Shimazui T., Akaza H.: Antineoplastic activity of honey in an experimental bladder cancer implantation model: *In vivo* and *in vitro* studies. *Int. J. Urol.*, 10: 213-219, 2003.
103. Weston R.J., Mitchell K.R., Allen K.L.: Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey. *Food Chem.*, 64: 295-301, 1999.
104. Ruiz-Argueso T., Rodriguez-Navarro A.: Microbiology of ripening honey. *Appl. Microbiol.*, 30: 893-896, 1975.
105. Yao L., Jiang Y., Singanusong R., Data N., Raymont K.: Phenolic acids and abscisic acid in Australian *Eucalyptus* honeys and their potential for floral authentication. *Food Chem.*, 86: 169-177, 2004.
106. Yao L., Jiang Y., Singanusong R., Data N., Raymont K.: Phenolic acids in Australian *Melaleuca*, *Guioa*, *Lophostemon*, *Banksia* and *Helianthus* honeys and their potential for floral authentication. *Food Res. Intern.*, 37: 166-174, 2004.
107. Nanda V., Sarkar B.C., Sharma H.K., Bawa A.S.: Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *J. Food Compost Anal.*, 16: 613-619, 2003.
108. Nozal M.J., Bernal J.L., Toribio M.L., Diego J.C., Ruiz A.: Rapid and sensitive method for determining free amino acids in honey by gas chromatography with flame ionization or mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A.*, 1047: 137-146, 2004.
109. Suárez-Luque S., Mato I., Huidobro J.F., Simal-Lozano J., Sancho M.T.: Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 955: 207-214, 2002.
110. Suárez-Luque S., Mato I., Huidobro J.F., Simal-Lozano J.: Solid-phase extraction procedure to remove organic acids from honey. *J. Chromatogr. B.*, 770: 77-82, 2002.

111. Hernández O.M., Fraga J.M.G., Jiménez A.I., Jiménez F., Arias J.J.: Characterization of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chem.*, 93: 449-458, 2005.
112. Sorkun K., Doğan C.: Türkiye’de üretilen doğal ve yapay balların ayırt edilmesinde 10 gram baldaki toplam polen sayısının (TPS) önemi. *Mellifera*, sayı 3, 2002.
113. Golob T., Doberšek U., Kump P., Nečemer M.: Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection x-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chem.*, 91: 593-600, 2005.
114. Vit P., Tomás-Barberán F. A.: Flavonoids in Meliponinae honeys from Venezuela related to their botanical, geographical and entomological origin to assess their putative anticataract activity. *Z. Lebensm. Forsch. A.*, 206: 288-293, 1998.
115. Terrab A., González A.G., Díez M.J., Heredia F.J.: Characterization of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. *Eur. Food. Res. Technol.*, 218: 88-95, 2003.
116. Radovic B.S., Careri M., Mangia A., Musci M., Gerboles M., Anklam E.: Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chem.*, 72: 511-520, 2001.
117. Paramás A.M.G., Bárez J.A.G., Marcos C.C., García-Villanova R.J., Sánchez J.S.: HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chem.*, 95: 148-156, 2006.
118. Tomás-Barberán F.A., Ferreres F., Blázquez M.A., García-Viguera C., Tomás-Lorente F.: High-performance liquid chromatography of honey flavonoids. *J. Chromatogr.*, 634: 41-46, 1993.
119. Arias V.C., Castells R.C., Malacalza N., Lupano C.E., Castells C.B.: Determination of oligosaccharide patterns in honey by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Chromatographia.*, 58: 797-801, 2003.
120. Sanz M.L., Sanz J., Martínez-Castro I.: Gas chromatographic-mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of

- disaccharides and trisaccharides in honey. *J. Chromatogr. A.*, 1059: 143-148, 2004.
121. Bruggink C., Maurer R., Herrmann H., Cavalli S., Hoefler F.: Analysis of carbonhydrates by anion exchange chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 1085: 104-109, 2005.
 122. Andrade P., Ferreres F., Gil M.I., Tomás-Barberán F.A.: Determination of phenolic compounds in honey with different floral origin by capillary zone electrophoresis. *Food Chem.*, 60: 79-84, 1997.
 123. Dokuzlu C.: *Gıda Analizleri. 2. Basım*, s. 229-243, Marmara Kitabevi Yayınları, Bursa, 2004.
 124. Omurtag A.C.: *Besin Analizleri. 3.Cilt*, s.409-436, M.Ü. Eczacılık Fakültesi Yay., Yay.No: 1, İstanbul Matbaa Meslek Lisesi,İstanbul,1982.
 125. Türk standartları Enstitüsü, TS 3036, Bal, Ankara, Mart 2002.
 126. Negueruela. A.I., Perez-Arquillue C.: Color measurement of rosemary honey in the solid state by reflectance spectroscopy with black background. *J AOAC Int.*, 83: 669-674, 2000.
 127. Lammertyn J., Veraverbeke E.A., Irudayaraj J.: zNose™ technology for theclassification of honey based on rapid aroma profiling. *Sens. Actuators B. Chem.*, 98: 54-62, 2004.
 128. McMullen S.E., Lansden J.A., Schenck F.J.: Modifications and adaptations of the charm II rapid antibody assay for chloramphenicol in honey. *J. Food Prot.*, 67(7): 1533-1536, 2004.
 129. Torley P.J., Rutgers R.P.G., D'Arcy B., Bhandari B.R.: Effect of honey types and concentration on starch gelatinization. *Lebens.-Wiss. U.-Technol.*, 37: 161-170, 2004.
 130. Chirife J., Zamora M.C., Motto A.: The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *J. Food Eng.*, 72: 287-292, 2006.
 131. Felsner M.L., Cano C.B., Matos J.R., de Almeida-Muradian L.B., Bruns R.E.: Optimization of thermogravimetric analysis of ash content honey. *J. Braz. Soc.*, 15: 797-802, 2004.

132. de Rodríguez G.O., de Ferrer B.S., Ferrer A., Rodríguez B.: Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chem.*, 84: 499-502, 2004.
133. Ergün K., Bulakeri N., Işık N.: Türkiye’de üretilen doğal ve yapay balların ayırt edilmesinde fiziksel, kimyasal ve mikroskopik analizler. *Mellifera.*, sayı 4, 2002.
134. Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer P.: Physicochemical characteristics and polen spectrum of some Algerian honeys. *J. Food Prot.*, 2006 (Baskıda).
135. Turkmen N., Sari F., Poyrazoğlu E.S., Velioglu Y.S.: Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chem.*, 95: 653-657, 2006.
136. Schultheiss J., Jensen D., Galensa R.: Determination of aldehydes in food by high-performance liquid chromatography with biosensor coupling and micromembrane suppressors. *J. Chromatogr. A.*, 880: 233-242, 2000.
137. Chambel P., Oliveira M.B., Andrade P.B., Fernandes J.O., Seabra R.M., Ferreira M.A.: Identification of 5,5'-oxy-dimethylene-bis(2-furaldehyde) by thermal decomposition of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde. *Food Chem.*, 63: 473-477, 1998.
138. Yılmaz H., Yavuz Ö.: Content of some trace metals in honey from south-eastern Anatolia. *Food Chem.*, 65: 475-476, 1999.
139. Sanz M.L., Gonzalez M., de Lorenzo C., Sanz J., Martínez-Castro I.: A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chem.*, 91: 313-317, 2005.
140. Sahinler N., Sahinler S., Gül A.: Hatay yöresi ballarının bileşimi ve biyokimyasal analizi. *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi.*, 6: 93-108, 2001.
141. Zappalá M., Fallico B., Arena E., Verzera A.: Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food Control.*, 16: 273-277, 2005.
142. Anklam E.: A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem.*, 63: 549-562, 1998.
143. Alissandrakis E., Daferera D., Tarantalis P.A., Polissiou M., Harizanis P.C.: Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chem.*, 82: 575-582, 2003.

144. Cotte J.F., Casabianca H., Chardon S., Leheritier J., Grenier-Loustalot M.F.: Chromatographic analysis of sugars applied to the characterization of monofloral honey. *Anal. Bioanal. Chem.*, 380: 698-705, 2004.
145. Sütülpınar N., Mat A., Satganoğlu Y.: Poisoning by toxic honey in Turkey. *Arch. Toxicol.*, 67: 148-150, 1993.
146. Doğan C., Sorkun K.: Türkiye'nin Ege, Marmara, Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinden toplanmış ballarda polen analizi. *Mellifera*, sayı 1, 2001.
147. Omurtag A.C., Evliya B., Aydın A., Akın A., Erinç N., Dolgun Y.: Yurdumuz zehirli ballarının laboratuvar diyagnostiği üzerinde araştırma. *Ankara Ecz. Fak. Mec.*, 3: 55-70, 1973.
148. Jansson C.: Multiresidue method for the gas chromatographic determination of pesticides in honey after solid- phase extraction cleanup. *J AOAC Int.*, 83: 714-719, 2000.
149. Kolankaya D.: Impact of pestisit use on bees and bee products. *Mellifera*, 4-7: 57-64, 2004.
150. Rezić I., Horvat A.J.M., Babić S., Kaštelan-Macan M.: Determination of pesticides in honey by ultrasonic solvent extraction and thin-layer chromatography. *Ultrason Sonochem.*, 12: 477-481, 2004.
151. Albero B., Sánchez-Brunete C., Tadeo J.L.: Multiresidue determination of pesticides in honey by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography with electron-capture detection. *J AOAC Int.*, 84: 1165-1171, 2001.
152. Gomez de Balugera Z., Goicolea M.A., Barrio R.J.: Determination of 4-chloroaniline and 4-chlorophethyl urea in honey by liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Liq. Chrom.&Rel. Technol.*, 20: 1591-1603, 1997.
153. Blasco C., Fernández M., Picó Y., Font G.: Comparision of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction for determining six organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 1030: 77-85, 2004.
154. Bogdanov S., Kilchenmann V., Seiler K., Pfeifferli H., Frey T.H., Roux B., Wenk P., Noser J.: Residues of para-dichlorobenzene in honey and beeswax. *J. Apicult Res.*, 43: 14-16, 2004.

155. Rissato S.R., Galhiane M.S., Knoll F.R.N., Apon B.M.: Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection. *J. Chromatogr. A.*, 1048: 153-159, 2004.
156. Korta E., Bakkali A., Berrueta L.A., Gallo B., Vicente F.: Study of semi-automated solid-phase extraction for the determination of acaricide residues in honey by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 930: 21-29, 2001.
157. Korta E., Bakkali A., Berrueta L.A., Gallo B., Vicente F.: Study of an accelerated solvent extraction procedure for the determination of acaricide residues in honey by high-performance liquid chromatography- diode array detector. *J. Food Prot.*, 65: 161-166, 2002.
158. Jiménez J.J., Bernal J.L., del Nozal M.J., Novo M., Higes M., Llorente J.: Determination of rotenone residues in raw honey by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 871: 67-73, 2000.
159. Tsigouri A.D., Menkissoglu-Spiroudi U., Thrasyvoulou A., Diamantidis Gr.: Fluvalinate residues in honey and beeswax after different colony treatments. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 72: 975-982, 2004.
160. Herrera A., Pérez-Arquillué C., Conchello P., Bayarri S., Yagüe C., Ariño A.: Determination of pesticides and PCBs in honey by solid-phase extraction cleanup followed by gas chromatography. with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 381: 695-701, 2005.
161. Yu J., Wu C., Xing J.: Development of new solid-phase microextraction fibers by sol-gel technology for the determination of organophosphorus pesticide multiresidues in food. *J. Chromatogr. A.*, 1036: 101-111, 2004.
162. García M.A., Fernández M.I., Herrero C., Melgar J.: Acaricide residue determination in honey. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 881-887, 1996.
163. Moosbeckhofer R., Pechhacker H., Unterweger H., Bandion F., Heinrich-Lenz A.: Investigations on the oxalic acid content of honey from oxalic acid treated and untreated bee colonies. *Eur. Food Res. Technol.*, 217: 49-52, 2003.
164. Ames B.N., Profet M., Gold L.S.: Dietary pesticides (%99.99 all natural). *Medical Sciences, Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 87: 7777-7781, 1990.

165. Antúnez K., D'Alessandro B., Piccini C., Corbella E. and Zunino P.: *Paenibacillus larvae* spores in honey samples from Uruguay: a nationwide survey. *J. Invertebr. Pathol.*, 86: 56-58, 2004.
166. Thompson T.S., Noot D.K., Calvert J., Pernal S.F.: Determination of lincomycin and tylosin residues in honey using solid-phase extraction and liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr. A.*, 1020: 241-250, 2003.
167. Benetti C., Dainese N., Biancotto G., Piro R., Mutinelli F.: Unauthorised antibiotic treatments in beekeeping development and validation of a method to quantify and confirm tylosin residues in honey using liquid chromatography-tandem mass spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta.*, 520: 87-92, 2004.
168. Verzeznassi L., Royer D., Mottier P., Stadler R.H.: Analysis of chloramphenicol in honeys of different geographical origin by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam.*, 20: 335-342, 2003.
169. Shen H-Y., Jiang H-L.: Screening, determination and confirmation of chloramphenicol in seafood, meat and honey using ELISA, HPLC-UVD, GC-ECD, GC-MS-EI-SIM and GCMS-NCI-SIM methods. *Anal. Chim. Acta.*, 535: 33-41, 2005.
170. Ferguson J., Baxter A., Young P., Kennedy G., Elliott C., Weigel S., Gatermann R., Ashwin H., Sharman M.: Detection of chloramphenicol and chloramphenicol glucuronide residues in poultry muscle, honey, prawn and milk using a surface plasmon resonance biosensor and Qflex^R kit chloramphenicol. *Anal. Chim. Acta.*, 529: 109-113, 2005.
171. Forti A.F., Campana G., Simonella A., Multari M., Scortichini G.: Determination of chloramphenicol in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.*, 529: 257-263, 2005.
172. Scortichini G., Annunziata L., Haouet M.N., Benedetti F., Krusteva I., Galarini R.: ELISA qualitative screening of chloramphenicol in muscle, eggs, honey and milk: method validation according to the Commission Decision 2002/657/EC criteria. *Anal. Chim. Acta.*, 535: 43-48, 2005.

173. Bogusz M.J., Hassan H., Al-Enazi E., Ibrahim Z., Al-Tufail M.: Rapid determination of chloramphenicol and its glucuronide in food products by liquid chromatography-electrospray negative ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.*, 807: 343-356, 2004.
174. Kaufmann A., Kaenzig A.: Contamination of honey by the herbicide asulam and its antibacterial active metabolite sulfanilamide. *Food Addit. Contam.*, 21: 564-571, 2004.
175. Mahedero M.C., Díaz N.M., Muñoz de la Peña A., Mansilla A.E., Gómez D.G., Gil D.B.: Strategies for solving matrix effects in the analysis of sulfathiazole in honey samples using three-way photochemically induced fluorescence data. *Talanta.*, 65: 806-813, 2004.
176. Van Bruijnsvoort M., Ottink S.J.M., Jonker K.M., de Boer E.: Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk and honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 1058: 137-142, 2004.
177. García M.C.M., Díez N.M., Gil D.B., López F.S.: Determination of sulphathiazole and sulphanylamide by photochemically induced fluorescence and first-derivate fluorescence. *J Pharm Biomed Anal.*, 38: 349-354, 2005.
178. Maudens K.E., Zhang G-F., Lambert W.E.: Quantative analysis of twelve sulfanamides in honey after acidic hydrolysis by high-performance liquid chromatography with post-column derivatization and fluorescence detection. *J. Chromatogr. A.*, 1047: 85-92, 2004.
179. Verzeznassi L., Savoy-Perroud M.-C., Stadler R.H.: Application of liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry to the detection of 10 sulfonamides in honey. *J. Chromatogr. A.*, 977: 77-87, 2002.
180. Eder P., Cominoli A., Corvi C.: Determination of streptomycin residues in food by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. with post-column derivatization and fluorometric detection. *J. Chromatogr. A.*, 830: 345-351, 1999.
181. Landerkin G.B., Katznelson H.: Stability of antibiotics in honey and sugar syrup as affected by temperature. *Appl. Microbiol.*, 5: 152-154, 1957.

182. Gentili A., Perret D., Marchese S.: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for performing confirmatory analysis of veterinary drugs in animal-food products. *Trends Analyt Chem.*, 24: 704-733, 2005.
183. Nakazawa H., Ino S., Kato K., Watanabe T., Ito Y., Oka H.: Simultaneous determination of residual tetracyclines in foods by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.*, 732: 55-64, 1999.
184. Alfredson G., Branzell C., Granelli K., Lundström A.: Simple and rapid screening and confirmation of tetracyclines in honey and egg by a dipstick test and LC-MS/MS. *Anal. Chim. Acta.*, 529: 47-51, 2005.
185. Kaufmann A., Roth S., Ryser B., Widmer M.: Quantitative LC/MS-MS determination of sulfonamides and some other antibiotics in honey. *J AOAC Int.*, 85: 853-860, 2002.
186. Viñas P., Balsalobre N., López-Erroz C., Hernández-Córdoba M.: Liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the analysis of tetracycline residues in honey. *J. Chromatogr. A.*, 1022: 125-129, 2004.
187. Asil H.I., Sporns P.: ELISA and HPLC methods for analysis of fumagillin and its decomposition products in honey. *J. Agric. Food Chem.*, 39:2206-2213, 1991.
188. Orsi R.F., Wuilloud R.G., De Wuilloud J.C.A., Olsina R.A., Martinez L.D.: On-line preconcentration and determination of cadmium in honey using knotted reactor coupled to flow injection-flame atomic absorption spectrometry. *J AOAC Int.*, 85: 1410-1414, 2002.
189. García J.C.R., García J.B., Latorre C.H., Martín S.G., Crecente R.M.P.: Comparison of palladium-magnesium nitrate and ammonium dihydrogenphosphate modifiers for lead determination in honey by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chem.*, 91: 435-442, 2005.
190. García J.C.R., García J.B., Latorre C.H., Rodríguez M.F., Martín S.G., Crecente R.M.P.: Comparison of palladium-magnesium dihydrogenphosphate modifiers for cadmium determination in honey samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta.*, 61: 509-517, 2003.

191. Demirezen D., Aksoy A.: Determination of heavy metals in bee honey using by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). G. U. Journal of Science., 18: 569-575, 2005.
192. Tuzen M., Soylak M.: Trace heavy metal levels in microwave digested honey samples from Middle Anatolia, Turkey. J. Food Drug Anal., 13: 343-347, 2005.
193. Inoue K., Murayama S., Takeba K., Yoshimura Y., Nakazawa H.: Contamination of xenoestrogens bisphenol A and F in honey: safety assessment and analytical method of these compounds in honey. J. Food Compost. Anal., 16: 497-506, 2003.
194. Bogusz M.J., Maier R.D., Schäfer A.Th., Erkens M.: Honey with *Psilocybe* mushrooms: a revival of a very old preparation on the drug market?. Int. J. Legal. Med., 111: 147-150, 1998.
195. Luo X-b., Chen B., Yao S-z.: High-performance liquid chromatography. with electrosprey mass spectrometry for rapid and sensitive determination of sanguarine and chelerythrine in exogenously contaminated honey. Chromatographia., 60: 347-351, 2004.
196. Padovan G.J., De Jong D., Rodrigues L.P., Marchini J.S.: Detection of adulteration of commercial honey samples by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio. Food Chem., 82: 633-636, 2003.
197. Küplülü Ö., Göncüoğlu M., Özdemir H., Koluman A.: Incidence of *Clostridium botulinum* spores in honey in Turkey. Food Control, 17: 222-224, 2006.
198. Al-Waili N.S.: An alternative treatment. for pityriasis versicolor, tinea corporis and tinea faciei with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture: an open pilot study. Complement Ther. Med., 12: 45-47, 2004.
199. Gupta A.L., Nicol K., Batra R.: Role of antifungal agents in the treatment of seborrheic dermatitis. Am. J. Clin. Dermatol., 5: 417-422, 2004.
200. Middelkoop E., van den Bogaardt A.J., Lamme E.N., Hoekstra M.J., Brandsma K., Ulrich M.M.W.: Porcine wound models for skin substitution and burn treatment. Biometarials., 25: 1559-1567, 2004.
201. Al-Waili N.S.: Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growht of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Arch. Med. Res., 36: 10-13, 2005.

2021. Biswal B.M., Zakaria A., Ahmad N.M.: Topical application of honey in the management of radiation mucositis. A preliminary study. *Support Care Cancer*, 11: 242-248, 2003.
203. Moore O.A., Smith L.A., Campbell F., Seers K., McQuay H.J., Moore R.A.: Systematic review of the use of honey as a wound dressing. *BMC Complement Altern. Med.*, 1:2, 2001.
204. Tonks A.J., Cooper R.A., Jones K.P., Blair S., Patron J., Tonks A.: Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine.*, 21: 242-247, 2003.
205. Cooper R.A., Molan P.C., Krishnamoorthy L., Harding K.G.: Manuka honey used to heal a recalcitrant surgical wound. *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.*, 20: 758-759, 2001.
206. Aljadi A.M., Kamaruddin M.Y.: Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.*, 85: 513-518, 2004.
207. Weston R.J., Brocklebank L.S., Lu Y.: Inhibition and quantitative levels of antibacterial components of New Zealand honeys. *Food Chem.*, 70: 427-435, 2000.
208. Weston R.J.: The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chem.*, 71: 235-239, 2000.
209. Mundo M.A., Padilla-Zakour O.I., Worobo R.W.: Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *Int. J. Food Microbiol.*, 97: 1-8, 2004.
210. Hegazi A.G., Moharram N.Z., Allah F.A., Nour M.S., Khair A.M.: Mısır'da üretilen farklı ballarının bazı arı ürünlerine göre antibakteriyel etkinliği. *Mellifera*, sayı 2, 2001.
211. Hegazi A.G., Abd El-Hady F.K., El-Ansari M.A., Abd Allah F.A.M., Saleh N.A.M.: Uzun süre bekletilen kışniş balının kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal özelliği. *Mellifera*, sayı 4, 2002.
212. Kolankaya D.: Antioksidant etki ve bal. *Mellifera.*, sayı 1, 2001.

213. Weng M-S., Ho Y-S., Lin J-K.: Chrysin induces G1 phase cell cycle arrest in C6 glioma cells through inducing p21^{Waf1/Cip1} expression: Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase. *Biochem. Pharmacol.*, 69: 1815-1827, 2005.
214. Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R.M.: Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal. Chim. Acta.*, 533: 185-191, 2005.
215. Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G.: Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.*, 91: 571-577, 2005.
216. Johnston J.E., Sepe H.A., Miano C.L., Brannan R.G., Alderton A.L.: Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Sci.*, 70: 627-631, 2005.
217. Ramenghi L.A., Amerio G., Sabatino G.: Honey, a palatable substance for infants: from De Rerum Natura to evidence-based medicine. *Eur. J. Pediatr.*, 2001.
218. Mobarok Ali A.T.M., Al-Swayeh O.A.: Natural honey prevents ethanol-induced increased vascular permeability changes in the rat stomach. *J. Ethnopharmacol.*, 55: 231-238, 1997.
219. Cheng T.O.: Food-drug interactions. *Int. J. Cardiol.*, 106: 392-393, 2006.
220. Ching H., Hou Y-C., Hsiu S-L., Tsai S-Y., Chao P-D.L.: Influence of honey on the gastrointestinal metabolism and disposition of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in rabbits. *Biol. Pharm. Bull.*, 25: 87-91, 2002.
221. Meda A., Lamien C.E., Millogo J., Romito M., Nacoulma O.G.: Therapeutic uses of honey and honeybee larvae in central Burkina Faso. *J. Ethnopharmacol.*, 95: 103-107, 2004.
222. Krylov V.N., Koryagin A.S., Nikolaeva A.A., Sinelschikov A.D., Ovosschnikova L.V.: Arı ürünü preparatlarının radyasyon hastalıklarının üzerindeki terapötik etkisi üzerine deneyler. *Mellifera.*, sayı 4, 2002.
223. Orsalic N., Basic I.: Antimetastatic effect of honey. *Mellifera*, 4-7: 38-43, 2004.

224. Tamakawa K., Ohgane Y., Katoh Y. Mishima Y., Seki T.: Simplified analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in daily diet with Sep-Pak silica cartridge. Eisei Kagaku., 32: 475-477, 1986.
225. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı: Arıcılık. Çiftçi Eğitim Serisi Yayınları No: 2004/2, 1-93, Ankara, 2004.
226. Şahinler N.: Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 5: 139-148, 2000.
227. Tananaki C., Thrasyvoulou A., Karazafiris E., Zotou A.: Contamination of honey by chemicals applied to protect honeybee combs from wax-moth (*Galleria mellonella* L.). Food Addit. Contam., 23: 159-163, 2006.

9. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Uşak' da doğdu. İlköğrenimini Namık Kemal İlkokulu' nda, orta ve lise öğrenimini 1989-1996 yılları arasında Antalya Anadolu Lisesi' nde tamamladı. 1996 yılında girdiği Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi' nden 2000 yılında mezun oldu. Aynı yıl Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2002 yılında yüksek lisans tezini tamamladı. Aynı yıl doktora başladı. Halen aynı Anabilim Dalı' nda görevine devam etmektedir.



Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir. **Doktora**

Tez Savunma Tarihi : **12 / 06 / 2006**.

		İMZA
Tez Danışmanı	: Doç.Dr.Gülden Z.OMURTAG	
Üniversitesi	: Marmara	
Üye	: Prof.Dr.Türkan YURDUN	
Üniversitesi	: Marmara	
Üye	: Prof.Dr.Semra ŞARDAŞ	
Üniversitesi	: Gazi	
Üye	: Prof.Dr.Oya KELEŞ	
Üniversitesi	: İstanbul	
Üye	: Prof.Dr.Buket ALPERTUNGA	
Üniversitesi	: İstanbul	

ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun **22 / 06 / 2006** tarih ve **01** sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Sevim RUTTAŞ