

Determination of Naphthalene Levels of Honey in Eastern Mediterranean Region

Özgür GÖLGE*¹, Fatma HEPSAĞ², Osman KILINÇÇEKER³

¹Alaaddin Keykubat Üniversitesi, ALTSO Turizm MYO, Otel, Lokanta ve İkram Hizmetleri Bölümü, Alanya-Antalya

²Korkut Ata Üniversitesi, Kadirli Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Kadirli-Osmaniye,

³Adıyaman Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, 02040, Merkez-Adıyaman

Geliş (Received): 09.05.2017

Kabul (Accepted):12.10.2017

ABSTRACT

Honey is a sweet nutrient made by honey bees (*Apis mellifera* L.) using nectar from flowers. In recent years; the presences of residues threatening human health in honey come into question in Turkey. Naphthalene is a chemical used against moth and can be used to protect honeycomb. If naphthalene is respired; fatigue, headache, anemia and pallor may occur. According to Turkish Food Codex Honey Communique; the maximum level of naphthalene must be 10 ppb in honey. In this research; Naphthalene analyzes were carried out with GC-MS in a sum of 90 honey supplied from market and honey producers in Adana, Osmaniye and Mersin provinces at 2015 and 2016 and validation studies were performed on the analysis method used. Naphthalene was determined just in one of samples at 115.234 ppb. Although the results show that producers and consumers are being more conscious about using chemical in honey production as compared to previous years, official inspections should continue.

Keywords: Honey, Naphthalene, GC-MS, SPME.

Doğu Akdeniz Bölgesindeki Süzme Balların Naftalin Kalıntısı Düzeylerinin Belirlenmesi

ÖZET

Bal, bal arılarının (*Apis mellifera* L.) çiçek nektarlarını kullanarak ürettiği tatlı ve doğal bir

*Corresponding author: ozgurgolge@hotmail.com

besindir. Son yıllarda, Türkiye'deki ballarda insan sağlığını tehdit eden kalıntıların varlığı gündeme gelmektedir. Naftalin, bal peteğinde, güvelere karşı kullanılan bir kimyasaldır. Naftalin bulunduğu zaman insanda yorgunluk, baş ağrısı, kansızlık ve solgunluk gibi belirtiler gösterir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre naftalin miktarı balda maksimum 10 ppb olmalıdır. Bu çalışmada; 2015 ve 2016 yıllarında Adana, Osmaniye ve Mersin illerindeki market ve bal üreticilerinden tedarik edilen toplam 90 adet süzme balda GC-MS ile naftalin analizleri yapılmış ve kullanılan analiz metodunda validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Naftalin, örneklerin sadece bir tanesinde 115.234 ppb düzeyinde tespit edilmiştir. Bulunan sonuçlar; bal üretiminde geçmiş yıllara göre üreticilerin ve tüketicilerin kimyasal kullanımı konusunda daha bilinçlenmiş olduğunu göstermesine rağmen, bu konudaki resmi denetimlerin devam etmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Bal, Naftalin, GC-MS, SPME.

GİRİŞ

Bal Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde; Bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirilerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal bir ürün olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2012). Bal tarih boyunca insanlar tarafından tüketilen, bitkisel ve hayvansal kökenli doğal bir gıda olup, sağlıklı yaşamı desteklemektedir. İnsanlar tarafından işleme tabi tutulmadan tüketilen tek tatlı hayvansal gıda olarak bilinmektedir (Kahraman, 2012).

Türkiye 2015 yılında, 103 bin 539 ton bal üretimiyle Çin'den sonra dünya ikincisi olmasına rağmen, ihracatta 24. sıradadır (Anonim, 2017). Bu durumun en önemli sebebi üretilen balın % 97'lik kısmının ülke içinde tüketilmesi olmakla beraber, ballarda bulunan kimyasal madde kalıntılarının da ihracatı olumsuz etkilediği düşünülmektedir.

Naftalin, maden kömürü katranının damıtılmasından elde edilen, özel kokulu, beyaz, suda erimeyen, alkol, benzol ve eterde kolaylıkla eriyen antiseptik bir hidrokarbondur (C₁₀H₈). Hızla buharlaşarak katı halden gaz haline geçmektedir. Balmumu peteklerinin mum güvesine karşı naftalinle korunması sonucu peteklerde naftalin konsantrasyonu artmaktadır. Yüksek

düzelere ulaşan naftalin, arılara toksik olabilmekte ve koloni kayıplarına varan sonuçlarla karşılaşmaktadır. Balmumu naftalini alır ve bir kısmı daha sonra bala geçebilir (Bağçe, 2009). Naftalinin solunması, yutulması ve deriye teması ile ortaya çıkan etkiler insanlarda akut olarak hemolitik anemi, karaciğer hasarı ve sinir sistemi bozuklukları ile ilişkilendirilmektedir. Naftalinin kanserojen etkilerine bakıldığında ise Amerika Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından muhtemel insan kanserojeni olarak tanımlandığı görülmektedir (Tosunoğlu, 2015).

Avrupa Birliği'nde 2005 yılından itibaren naftalin için izin verilen maksimum kalıntı limiti;EC 396/2005Standardı'na göre 10 µg/kg (ppb) olarak belirlenmiştir. Bu limit aynı düzeyde (10 ppb olarak) Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (2012/58) de yer almaktadır. Ülkemizde 2000'li yılların başından itibaren balda naftalin kalıntısı üzerine durum tespiti çalışmaları bulunmakla birlikte, en yoğun bal üretiminin yapıldığı bölgelerden birisi olan Doğu Akdeniz Bölgesi'nde oldukça sınırlı kalmıştır.

Bu araştırmada, 2015 ve 2016 yıllarında Adana, Osmaniye ve Mersin illerindeki market ve bal üreticilerinden tedarik edilen süzme balların naftalin kalıntısı düzeyinin belirlenerek, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde mevcut durumun tespiti amaçlanmıştır. Ayrıca, analiz sırasında son derece uçucu bir bileşik olan naftalin kaybını en aza indirmek için; daha önceki araştırmalarda çoğunlukla kullanılan, numune hazırlığının cihaz dışında ve elle enjeksiyonun yapıldığı klasik metottan farklı olarak, numune hazırlama aşamasının tamamen kapalı ortamda ve numunenin cihaza enjeksiyonunun otomatik enjektörle yapıldığı analiz metodunun geçerli kılma (validasyon) çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada; 2015 ve 2016 yıllarında Adana, Osmaniye ve Mersin illerindeki market ve bal üreticilerinden tedarik edilen 90 adet süzme balın naftalin analizi; Naftalinin Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (SPME) metodu ile absorblanması ve Head Space (HS)-Gaz Kromatografisi Kütle Spektrofotometresi (GC-MS) cihazı kombinasyonu ile kantitatif olarak tespit edilmesi prensibiyle gerçekleştirilmiştir.

Bu metoda göre; 1 g bal 20 ml'lik HS vialine tartılmıştır, numune üzerine 0.1 (ppm) ng/µl'lik

Döteryum (D8) naftalin internal standardından (Aldrich) 100 µl ve 5 ml ultra saf su eklenmiştir. Vialin kapağı kapatılıp, iyice çalkalanarak karıştırılmıştır. Daha sonra, Tablo 1’de verilen şartlarda HS cihazının otomatik örnekleyici bölümüne yerleştirilerek inkübasyon ve GC/MS’e (Shimadzu GCMS-QP2010 Plus 2010) enjeksiyon işlemine geçilmiştir (Badertcher ve ark., 2010). Örneklerin değerlendirilmesi GC-MS’de seçilmiş iyon modunda (SIM), tabloda değerleri verilen iyonlar ile yapılmıştır. Kalibrasyon grafiği kullanılarak analiz edilen numunede bulunan naftalin miktarı; µg/kg (ppb) cinsinden hesaplanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde ölçüm limiti olarak 5 µg/kg (ppb) değeri kullanılmıştır.

Tablo 1.Balda naftalin analizi için GC-MS cihaz şartları

KOLON FIRINI	ENJEKSİYON BLOĞU	MS DEDEKTÖR	HEADSPACE
Başlangıç Sıcaklığı: 70°C	Mod: Split	Arayüz Sıcaklığı: 250°C	İnkübasyon Öncesi Süre: 4 dakika
Başlangıç Zamanı: 2.0 dakika	Başlangıç Sıcaklığı: 200°C	MS Dedektör sıcaklığı: 200°C	İnkübasyon Sıcaklığı: 90 °C
Sıcaklık Yükselme Hızı: 10°C/ dakika	Basınç: 100 kPa	Naftalin için seçilmiş iyonlar: 128-129-102-127	Ekstraksiyon Süresi: 25 dakika
Son Sıcaklık: 250°C	Toplam Akış: 42.8 ml/ dakika	Naftalin D8 için seçilmiş iyonlar: 108-136	Çalkalama Hızı: 25 dakika
Analiz Süresi: 20 dakika	Gaz Tipi: Helyum		
Kolon Tipi: HP-5MS (30m X 0.25mm X 0,25 µm)			

Metot validasyonu çalışmaları kapsamında; Tayin limiti ve ölçüm limiti, lineer ölçüm aralığı belirlenmiş, iki analist tarafından tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI

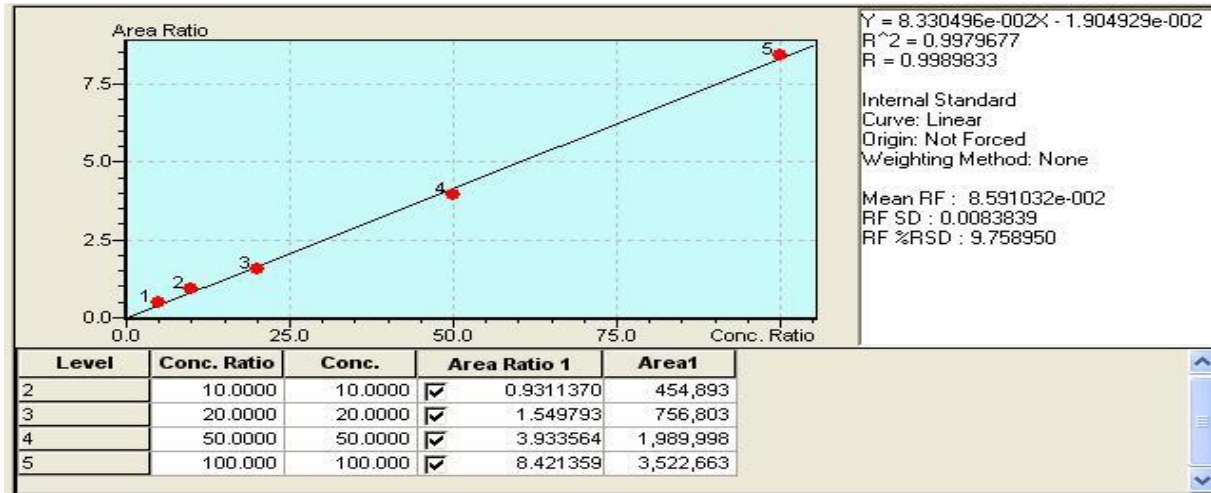
Tayin Limiti ve Ölçüm Limiti

Tayin limiti ve ölçüm limiti çalışması için blank bal örneğine 5 ppb düzeyinde naftalin standardı eklenerek 10 adet geri kazanım çalışması yapılmıştır. Tayin limiti ve ölçüm limiti şu formüllere göre hesaplanmıştır: Tayin Limiti= 3 x SD (Standart Sapma), Ölçüm Limiti= 10 x SD. Yapılan

çalışmalar sonucunda ölçüm limiti 5 ppb olarak tespit edilmiştir.

Lineer Ölçüm Aralığı

Lineer ölçüm aralığını belirlemek amacıyla, blank bal örneğine 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb, 50 ppb, 100 ppb düzeylerinde olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda naftalin standardı eklenerek geri kazanım çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar kullanılarak Şekil 1'deki kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir:



Şekil 1. Beş noktalı kalibrasyon grafiği

Tekrarlanabilirlik

İki analist tarafından; blank bal örneğinde 6'şar adet 5 ppb ve 10 ppb düzeylerinde geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Tekrarlanabilirlik limiti (r) için; I. ve II. analistin verileri, ayrı ayrı şu formüle göre hesaplanmıştır: $r=2,8 \times s_r$ (standart sapma). Bulunan değerler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Tekrarlanabilirlik verileri

	Tekrarlanabilirlik Limiti		% Rölatif Standart Sapma	
	5 ppb	10 ppb	5 ppb	10 ppb
I. Analist	1.829	2.182	13.153	8.295
II. Analist	0.847	2.615	6.713	10.034

Tekrar Üretilirlik

I. ve II. Analistin tekrarlanabilirlik verileri,tekrar üretilebilirlik verisi olarak değerlendirilmiştir. Tekrar üretilebilirlik limiti (R); $R= 2,8 \times S_R$ formülüne göre hesaplanmıştır.İki analistin 5 ppb ve 10 ppb düzeyindeki sonuçlardan elde edilen standart sapmalar için F testi uygulanmıştır. Kişiler arasındaki standart sapmalar arasındaki fark önemsiz bulunduğundan, iki analistin verileri birleştirilerek 5 ppb ve 10 ppb düzeyinde tekrar üretilebilirlik standart sapmaları buradan da tekrar üretilebilirlik limitleri Tablo 3’de görüldüğü gibi bulunmuştur.

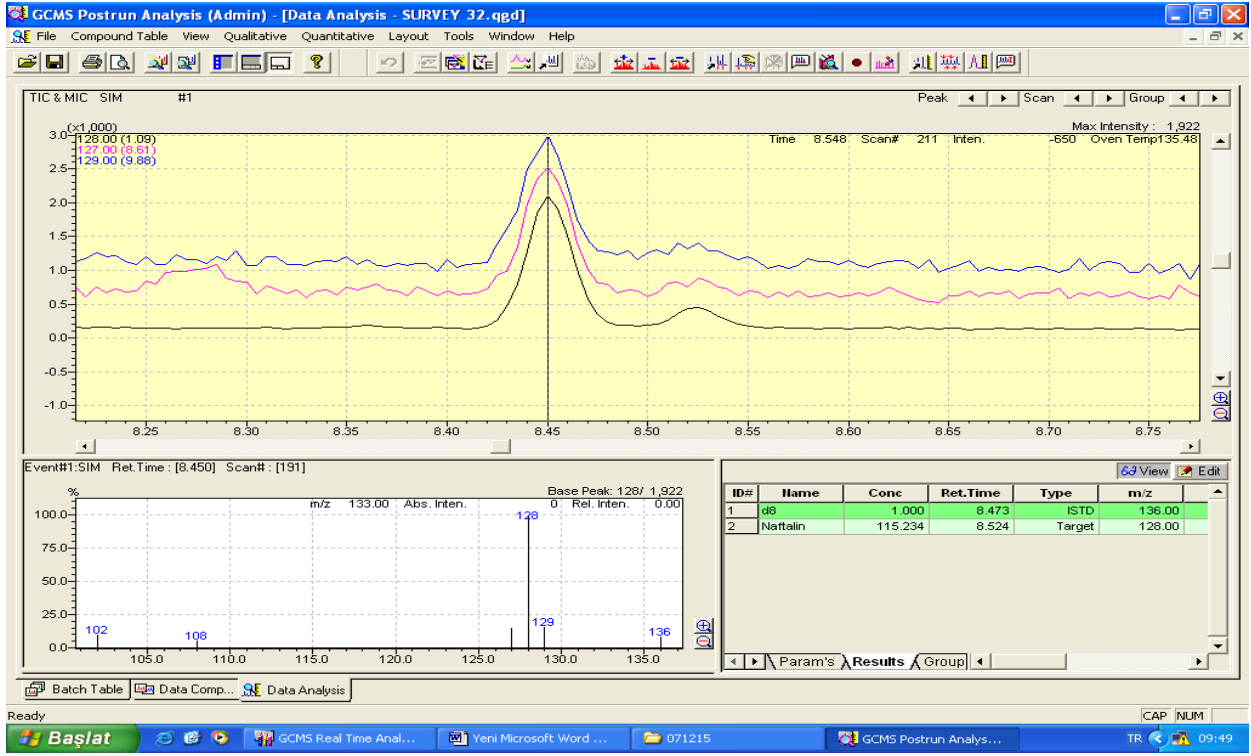
Tablo 3.Tekrarüretilebilirlik verileri

	5 ppb	10 ppb
% Rölatif Standart Sapma	11,439	8,783
Tekrar üretilebilirlik limitleri	1,517	2,299

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilere göre geri kazanım oranlarının, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik % rölatif standart sapma değerlerinin ilgili talimatlarda yer alan kabul kriterlerine uygun olduğu tespit edilmiştir.

Bal Örneklerinin Naftalin Analizi Sonuçları

Araştırma kapsamında incelenen süzme bal örneklerinden sadece bir tanesinde 115.234 ppb düzeyinde naftalin tespit edilmiştir (Şekil 2). Yani örneklerin sadece % 1,11’i (1/90), hem Avrupa Birliği Standardı’nda (Anonim, 2005) hem de Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği’nde (Anonim 2) belirtilen limit değer olan 10 ppb seviyesinin altında kalarak her iki standarda da uygun olarak bulunmuştur.



Şekil 2. Naftalin tespit edilen süzme bal örneğine ait kromotogram

TARTIŞMA ve SONUÇ

Galleria mellonella bir sonraki sene kullanılmak üzere saklanan peteklerde önemli hasarlara neden olan bir zararlıdır. Naftalin çeşitli ülkelerde yaklaşık 75 yıldır *Galleria mellonella* zararlısına karşı kullanılmasına rağmen; insan sağlığına olan zararlı etkilerinin ortaya çıkmasıyla birlikte özellikle 2000'li yılların başından itibaren çeşitli ülkelerde balda naftalin kalıntılarını belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Tosunoğlu, 2015). Ülkemizde bu konudaki ilk açıklama; Türkiye ballarında naftalin kalıntısı problemi ile ilgili olarak yayınlanan 2001 yılı Avrupa Birliği Komisyon raporunda 2000 yılında incelenen Türkiye kaynaklı bal örneklerinin % 32'sinde naftalin kalıntısının bulunduğu ve bunun için önlem alınması gerektiğinin bildirilmesiyle yapılmıştır.

Tananaki ve ark. (2006), Yunanistan'da 2003, 2004 ve 2005 yıllarında toplam 1175 bal örneğinde naftalin kalıntısı analizi yapmışlar; toplam 43 örnekte naftalin kalıntısı düzeyini 10 ppb düzeyinin üzerinde tespit etmişlerdir. Dobrinas ve ark. (2008) Romanya'da, Batelkova ve ark. (2012) ise Çek Cumhuriyeti'nde gerçekleştirdikleri araştırmalarda topladıkları balların hiç

birinde standartlarda belirtilen limit değerin üzerinde naftalin kalıntısı tespit edememişlerdir.

Türkiye’de yapılan araştırma sonuçlarına bakacak olursak; ilk çalışma Beyoğlu ve Omurtag (2007) tarafından gerçekleştirilmiş, bu kapsamda analiz edilen 100 adet bal örneğinin bir tanesinde 1,13 µg/kg düzeyinde naftalin kalıntısı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar; yapmış olduğumuz araştırmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Gül (2008)’ün çalışmasında; Türkiye’nin 7 coğrafik bölgesindeki arıcılardan alınan 600 ve ticari olarak satılan 10 bal örneğini naftalin kalıntısı yönünden analiz etmiş, çalışma sonunda sadece 5 örnekte naftalin kalıntısı tespit ederken, bunların hiçbirini yasal sınırın üzerinde bulmamıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise; Şireli ve Ülker (2013) toplam 120 adet süzme bal örneğinin 11’inde 1.1 ile 62 µg/kg arasında değişen oranlarda naftalin kalıntısı tespit etmişler, tespit edilen bu değerlerin hepsinin yasal sınırların altında olduğunu açıklamışlardır. Tosunoğlu (2015) ise Bursa ilinde satışa sunulmuş olan 45 bal örneğini katı faz mikro ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edip, GC-MS cihazında analiz etmiştir. Analiz sonucunda çalıştığı hiçbir örnekte tespit limiti olan 2 µg/kg değerinin üzerinde naftalin kalıntısı tespit edememiştir.

Bu konuda yapılan diğer çalışmalar ve araştırma sonuçlarımız incelendiğinde, bal üretiminde geçmiş yıllara göre üreticilerin ve tüketicilerin kimyasal kullanımı konusunda bilinçlenmeye başladığı görülmesine rağmen; bu konudaki resmi denetimlerin ve üretici bilgilendirme eğitimlerinin titizlik ve sorumluluk duygusu içerisinde devam etmesi gerektiği düşünülmektedir. Böylelikle Türkiye’nin güvenli ve kusursuz bal üretimindeki gerçek yerine, yani dünya bal üretiminde hedef nokta olan zirveye ulaştırılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2005. European Parliament and of the Council, Maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC, Regulation (EC) No: 396/2005.
- Anonim, 2012. Bal Tebliği, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 27.07.2012 tarih ve 28366 sayılı Resmi Gazete, Tebliğ No: 2012/58.
- Anonim, 2017. <http://www.hurriyet.com.tr/turkiye-bal-uretiminde-rekor-kirdi-0035362> (erişim tarihi: 2017).
- Badertcher, R., Kilchenmann, V., Linigier, A., Gallman, P., 2010. Determination of 1,4-dichlorobenzene, naphthalene and thymol residues in honey using static headspace coupled with GC-MS, *Journal of Api Product and Api Medical Science*, 2: 87-92.
- Bağçe, A., 2009. Arıcılıkta Kullanılan Temel Peteklerde Naftalin Kalıntısının Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Konya, 54 s.
- Batelkova, P., Borkovcova, I., Celechovska, O., Vorlova, L., Bartakova, K., 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbons and risk elements in honey from the South Moravian region (Czech Republic), *Acta Veterinaria Brno*. 81: 169–174.
- Beyoglu, D., Omurtag, G.Z., 2007. Occurrence of naphthalene in honey consumed in Turkey as determined by high pressure liquid chromatography, *Journal of Food Protection*, 7: 7-15.
- Dobrinas, S., Birghila, S., Coatu, V., 2008. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in honey and propolis produced from various flowering trees and plants in Romania, *Journal of Food Composition and Analysis* 21:71-77.
- Gül, A., 2008. Türkiye’de üretilen bazı balların yapısal özelliklerinin gıda güvenliği bakımından araştırılması, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Hatay, 251 s.
- Kahraman, S.D., 2012. Süzme Ballarda Depolama Sıcaklığının HMF Değeri ve Diastaz Aktivitesi Üzerine Etkisi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Konya, 90 s.
- Şireli, U.T. Ülker, H., 2013. Süzme ballarda GC-MS metodu ile naftalin kalıntısının incelenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri BAP No: 12H3338002, 22 s.

Tananaki, C., Thrasyvoulou, A., Karazafiris, E., Zotou, A., 2006. Contamination of honey by chemicals applied to protect honey bee combs from wax-moth (*Galleria mellonella* L.), Food Additive and Contaminants, 23: 159-63.

Tosunoğlu, H., 2015. Bursa İlinde Satışa Sunulmuş Balların Naftalin Kalıntısı Yönünden İncelenmesi, Uludağ Arıcılık Dergisi, 15: 41- 46.