



## Ardahan İlinde Üretilen Ballarda Antibiyotik Kalıntı Düzeylerinin Araştırılması\*

Oktaç ÖZKAN<sup>1✉</sup>, Dinç EŞSİZ<sup>2</sup>, Kemal YAZICI<sup>3</sup>, Dinçer ERDAĞ<sup>4</sup>

1. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
2. Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, TÜRKİYE.
3. Ardahan Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Ardahan, TÜRKİYE.
4. Kafkas Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Kars, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received  
18.02.2015

Kabul Tarihi/Accepted  
20.03.2015

Yayın Tarihi/Published  
20.10.2015

**Öz:** Bal sahip olduğu özellikleri ve sağlıklı bir gıda maddesi olması nedeniyle tüketiciler tarafından tercih edilen hayvansal orjinli bir üründür. Bal arılarında görülen American foulbrood (AFB) ve European foulbrood (EFB) gibi hastalıklar ciddi kayıplara yol açmaktadır. Bu hastalıklar ile mücadelede antibakteriyel ajanların kullanımı ise bal ve bal ürünlerinde kalıntı sorununa neden olmaktadır. Olası antibiyotik kalıntıları nihai tüketici olan insanlarda antibiyotik direnci ve allerjik reaksiyonlar gibi ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Bu nedenle, gerek Avrupa Birliği gerekse ülkemizde arı yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır. Bu çalışmada, Ardahan ve ilçelerinden toplanan 180 adet bal numunesi antibiyotik (sulfonamid ve streptomisin) kalıntısı yönünden analiz edildi. Direk üreticilerden sağlanan numunelerin kalıntı analizi ticari kit (Ridascreen) kullanılarak ELISA yöntemiyle gerçekleştirildi. Bulguların istatistiki karşılaştırmaları için varyans analizi metodu uygulanmış, gruplar arası önem kontrolleri *Duncan-testi* ile tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, streptomisin için numunelerin %37'sinde, sulfonamid için ise numunelerin %52'sinde kalıntı tespit edilmiştir. Streptomisin için en yüksek kalıntı düzeyi (ortalama 5.57 ppm) Posof ilçesinde, sulfonamid içinse ortalama 2.79 ppm ile Çıldır ilçesinden alınan örneklerde ölçülmüştür. Sonuç olarak, üreticilerin antibiyotik kullanımı hakkında bilgilendirilmeleri ve antibiyotik kalıntısı bakımından kontrollerin daha sık yapılması gerektiği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik, Bal, Kalıntı, Streptomisin, Sulfonamid.

## Investigation of the Antibiotic Residue Levels in Honey produced in Ardahan Province

**Abstract:** Owing to special properties and being a healthy food, honey is an animal originated product, preferred by consumers. Diseases such as American foulbrood (AFB) and European foulbrood (EFB) seen in honeybees lead to serious economical losses. The use of antibacterial agents against these diseases results in residual problems in honey and honey products. Possible antibiotic residues cause serious problems, such as antibiotic resistance and allergic reactions in people who are the ultimate consumers. Therefore, the use of antibiotics in honeybee keeping has been forbidden in the EU countries and in our country. In this study, 180 honey samples obtained from Ardahan and its towns were analysed for the antibiotic residues (sulphonamides and streptomycin). Residual analyses of samples obtained directly from the producers were carried out by using ELISA commercial test kits (Ridascreen). Variance analysis method was applied for statistical comparisons and the differences between groups were determined by Duncan test. According to the results, 37 and 52% of the samples contained residues for streptomycin and sulfonamides, respectively. Maximum residue levels for streptomycin (mean 5.57 ppm) were measured in samples taken from Posof and for sulfonamide (mean 2.79 ppm) in samples taken from Çıldır. As a result, beekeepers should be educated about the use of antibiotics and the inspections determining the antibiotic residue should be made more often.

**Keywords:** Antibiotic, Honey, Residue, Streptomycin, Sulfonamide.

✉ Oktaç ÖZKAN

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.  
e-posta: oktayożkan@yahoo.com

\* Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje no: 2010 VF 45) tarafından desteklenmiştir.

## GİRİŞ

Ülkemizde arıcılık, yaygın olarak yapılan ve tüm dünyada olduğu gibi gelişme gösteren bir sektördür. Arıcılık faaliyetlerinin önemli sonucu olarak üretilen bal, diğer ürünlere oranla daha yüksek miktarlarda tüketilmesi ile ön plana çıkmaktadır (1,2). Bal gerek tadı gerekse besleyici özellikleri nedeniyle insanlar tarafından tercih edilen doğal ve sağlıklı bir üründür (2,3). Besleyici özelliğinin yanı sıra balın antifungal, antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahip olduğuna dair yayınlar bulunmaktadır (4). Bal doğal çevrede üretilen bir ürün olması nedeniyle çevresel kirlenmelerle ya da arıcılık faaliyetleri esnasında ksenobiyotiklerle kontamine olabilmektedir (3-6). Arı yetiştiriciliğinde sorun yaratan kirlenmelerin başlıcaları aflatoksin, antibiyotik ve pestisit kalıntılarıdır (4). Bu çalışmada antibiyotik kalıntıları üzerine odaklanılmıştır. Antibakteriyeller arıcılıkta *Paenibacillus larvae*, *Melissococcus pluton* (*Bacillus larvae*) ve *Varroa destructor* tarafından meydana getirilen American foulbrood, European foulbrood ve varroosis hastalıkları ile mücadele amacıyla kullanılmaktadır (4,7-10). Ancak Avrupa Birliğinde bal arılarında antibakteriyel tedaviye izin verilmemektedir ve bu nedenle bal için maksimum rezidü limitleri (MRL) yayınlanmamıştır (Commission regulation (EU) No 37/2010). Benzer şekilde ülkemizde de arıcılıkta antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır (8). Arıcılıkta antibiyotik kullanımıyla oluşan rezidüler nihai tüketici olan insanlarda akut ve kronik toksisitenin yanı sıra bakteriyel rezistans gelişimine de neden olmaktadır (4,5,7-11). Sulfonamidler, bakteri hücresinde folik asit sentezinde para-aminobenzoik asidin yerini alarak bakteriyostatik etki oluştururlar (12). Arıcılıkta, 1940'ların başlarında ABD tarafından sulfonamid grubundan sulfatiazol American foulbrood hastalığına karşı tescillenmiştir. Ancak daha sonraları ballarda rezidü bıraktığı için kullanımı yasaklanmıştır (13). Streptomisin, genellikle gram negatif bakterilerden kaynaklı enfeksiyonların sağaltımında

veteriner ve beşeri hekimlikçe yaygın bir şekilde kullanılan aminoglikozid antibiyotiktir (14). Streptomisin DNA yapımında etkin olan m-RNA'yı etkileyerek yanlış aminoasit seçimine neden olur. Sonuçta yanlış polipeptit sentezi gerçekleşir. Ayrıca streptomisin ribozomların birikimini engelleyerek polipeptitlerin proteine polimerizasyonunu inhibe eder (15). Bal arılarının American – Avrupa foulbrood hastalığında tedavi potansiyeline sahiptir. Avrupa birliği müktesabatına göre diğer hayvansal gıdalarda 200 µg/kg'a kadar rezidü limiti belirlenmişse de ballarda bulunmasına izin verilmemektedir (14, 16).

Bu çalışmamızda ülkemizin önemli arıcılık merkezlerinden olan Ardahan ili ve ilçelerindeki üreticilerden temin edilen bal numunelerinde streptomisin ve sulfonamid rezidüleri araştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Numunelerin Toplanması

Toplam 180 adet bal numunesi her bir noktadan 30 farklı üreticiden direkt olarak peteklerinden süzülmuş olarak Ardahan il merkezi ile Posof, Çıldır, Hanak, Damal ve Göle ilçelerinden toplanmıştır.

### ELISA Analizi

Elisa analizi kitlerin temin edildiği üretici firmanın (RIDASCREEN Sulfonamide ELISA kit (R 3004) ve Streptomisin ELISA kit (R 3103), (r-biopharm, Germany) yönergelerine göre yapılmıştır.

Kısaca, her bir numunedan 3 gr alınarak, 6 ml (50mM) sodyum asetat buffer eklenerek vortekste karıştırıldıktan sonra 4000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen karışım yönergeler izlenerek C18 kolondan geçirildi. Kolon aşamasını takiben elde edilen numunedan 50µl, standartlar ve diğer konjugatların uygun sırayla kuyucuklara ilavesini takiben, 15 dk karanlıkta bekletildi. Sonrasında her bir well'e 100 µl durdurma solüsyonu eklendi ve

yarım saat içerisinde 450 nm'de elisa reader'da (Biotek, Elx-800) okutuldu.

### İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlara ait İstatistik hesaplamalar, SPSS 13.0 paket program kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arasında istatistiki karşılaştırmalarda varyans analizi metodu uygulanmış, gruplar arası önem kontrolleri Duncan-testi ile tespit edilmiştir.

### BULGULAR

Tüm bölgelerden alınan numunelerin Streptomisin ve Sulfonamid kalıntısı yönünden sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Pozitif bal numuneleri.  
**Table 1.** Positive honey samples.

| Bölge      | Numune Sayısı | Streptomisin | Sulfonamid   |
|------------|---------------|--------------|--------------|
| Göle       | 30            | 0* (%0)      | 1* (%3.33)   |
| Posof      | 30            | 23* (%76)    | 8* (%26.66)  |
| Çıldır     | 30            | 23* (%76)    | 28* (%93.33) |
| İl Merkezi | 30            | 21* (%70)    | 4* (%13.33)  |
| Damal      | 30            | 1* (%3.33)   | 28* (%93.33) |
| Hanak      | 30            | 0* (%0)      | 25* (%83.33) |
| Toplam     | 180           | 68* (%37.77) | 94* (%52.22) |

\*: Pozitif numune sayısı.  
\*: Number of positive samples.

Tablodan da görüldüğü üzere, numunelerin %68'inde streptomisin ve %94'ünde sulfonamid kalıntısına rastlanmıştır. Numune sayısı bakımından (%23) streptomisin en fazla görüldüğü yerler Posof ve Çıldır iken Göle ve Hanak'da pozitif numuneye rastlanmamıştır. Sulfonamid içinse Çıldır ve Damal'dan alınan numunelerin %28'inde pozitif sonuç görülürken en düşük pozitif sonuç %3.33 oranı ile Göle'de tespit edilmiştir.

Tespit edilen kalıntı miktarlarına ait istatistiki sonuçlar Tablo 2 ve 3'de verilmiştir.

**Tablo 2.** Numunelerin Sulfonamid rezidüsü yönünden istatistik değerlendirilmesi.

**Table 2.** Statistical evaluation of Sulfonamide residues in samples.

| Sulfonamid |                   |                   |            |
|------------|-------------------|-------------------|------------|
| Bölge      | Numune Sayısı (n) | Mean              | Std. Error |
| Göle       | 30                | 0.04 <sup>c</sup> | 0.037      |
| Posof      | 30                | 0.46 <sup>c</sup> | 0.150      |
| Çıldır     | 30                | 2.79 <sup>a</sup> | 0.087      |
| İl Merkezi | 30                | 0.17 <sup>c</sup> | 0.081      |
| Damal      | 30                | 1.83 <sup>b</sup> | 0.204      |
| Hanak      | 30                | 1.87 <sup>b</sup> | 0.186      |
| Toplam     | 180               | 1.19              | 0.099      |

P<0.001. a, b, c: Farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

P<0.001. a, b, c: The difference between the values indicated by different letters were found to be statistically significant.

**Tablo 3.** Numunelerin Streptomisin rezidüsü yönünden istatistik değerlendirilmesi.

**Table 3.** Statistical evaluation of streptomycine residues in samples.

| Streptomisin |                   |                    |            |
|--------------|-------------------|--------------------|------------|
| Bölge        | Numune Sayısı (n) | Mean               | Std. Error |
| Göle         | 30                | 0.00 <sup>c</sup>  | 0.000      |
| Posof        | 30                | 5.57 <sup>a</sup>  | 1.772      |
| Çıldır       | 30                | 2.78 <sup>b</sup>  | 0.337      |
| İl Merkezi   | 30                | 2.22 <sup>bc</sup> | 0.287      |
| Damal        | 30                | 0.19 <sup>c</sup>  | 0.190      |
| Hanak        | 30                | 0.00 <sup>c</sup>  | 0.000      |
| Total        | 180               | 1.79               | 0.337      |

P<0.001. a, b, c: Farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

P<0.001. a, b, c: The difference between the values indicated by different letters were found to be statistically significant.

Tablolardan da görüldüğü üzere en yüksek sulfonamid konsantrasyonuna (2.79±0.087 ppm) Çıldır'da rastlanırken, streptomisin için en yüksek konsantrasyon 5.57±1.772 ppm ile Göle'de tespit edilmiştir.

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Ardahan il merkezi ve ilçeleri bal üretimi açısından ülkemizde ki önemli merkezlerdendir. Bu nedenle burada üretilen balların kalitesinin tüketicilerin sağlığı açısından dikkatle takip edilmesi gereklidir. Ülkemizde ve tüm dünyada arıcılık ürünleri üretim esnasında farklı ksenobiyotiklerce

kontaminasyona uğrayabilmektedir (6). Bal arılarının hastalıkları ile mücadelede ise yasak olmasına rağmen antibakteriyel tedavi yoluna başvurulmaktadır (8). Bu durum önemli bir arıcılık ürünü olan balda antibakteriyel kalıntısı ile sonuçlanmaktadır. Antibiyotikler bal arıları tarafından aktif bir şekilde metabolize ve elimine edilemedikleri için kalıntının balda kalma süresi uzun bir periyodu kapsar (17). Bal ve diğer gıda ürünlerindeki antibiyotik kalıntıları nihai tüketici olan insanlarda başlıca bakteriyel direnç olmak üzere ciddi sağlık sorunlarından sorumludurlar (4,10,18).

Güney Marmara Bölgesinde arı hastalıkları ve zararlıları ile ilgili olarak yapılan bir anket çalışmasında yetiştiricilerin %44'ü en az bir ilacı, %26'sı birden fazla ilacı aynı anda olmak üzere toplam %70'i değişik ilaçları kek ya da şuruplara ilave etmişlerdir. Ayrıca, arıcılar bu ilaçları herhangi bir klinik belirti görmeden kullandıklarını belirtmişlerdir. İlaç kullananların %42'si eritromycin, %28'i vitamin, %24'ü fumagillin, %14'ü oksitetrasiklin, %4'ü mikostatin, %2'si fluvalinat ve %2'si amitraz'ı kışlık besine ilave ettiklerini belirtmişlerdir (19).

Ülkemizde farklı bölgelerde, ballarda antibiyotik kalıntısı ile ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur. Buna ilişkin bir çalışmada, 2006 yılının ilk altı ayında, Türkiye'nin 6 farklı bölgesinde bulunan ve yaygın olarak arıcılık yapılan 22 farklı yöreden direkt olarak arıcılardan, peteklerinden süzölmüş olarak toplanan numunelere kalıntı taraması yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre 1714 numune de sulfamethazin, 1425 numunede tetrasiklin ve 91 numunede de streptomisin kalıntısı tespit edilmiştir (1). Bu çalışmada incelenen numunelerin %37.77'sinde streptomisin, %52.22'sinde ise sulfonamid kalıntısı tespit edilmiştir. Pakistan'da marketlerde satılan markalı (40 adet) ve markasız (60) ballardan alınan 100 farklı numunede HPLC metodu ile penisilin G, streptomisin, gentamisin ve tetrasiklin kalıntısı bakımından incelenmiştir. Her iki numune grubunda

da gentamisine rastlanmazken diğer antibiyotiklere ait kalıntılar tespit edilebilmiştir (pozitif numune sayısı: minimum %5, maksimum %8.3). Tüm numuneler bazında %18 oranında pozitif numuneye rastlanmış ve kalıntı bulunması bakımından markalı ve markasız bal numuneleri arasında ciddi bir farklılık gözlenmemiştir (4). Hindistan'da 12 farklı bal numunesi; oksitetrasiklin, kloramfenikol, ampisilin, siprofloksasin, enrofloksasin ve eritromisin kalıntısı yönünden test edilmiştir. İncelenen tüm antibiyotiklere ait farklı oranlarda olmakla beraber, kalıntı tespit edilmiştir. Minimum pozitif numune sayısı %8 ile siprofloksasin iken maksimum pozitif numune sayısı %83 ile enrofloksasin olmuştur. Araştırmacılar numunelerin farklı bölgelerden alındığını ve Delhi'de üretilen balların antibiyotik kalıntısı bakımından güvenli olduklarını belirtmişlerdir (6). Söz konusu çalışma aynı zamanda balın üretildiği çevre ve yetiştiricilik tekniklerinin kalıntı sorunu ile olan ilişkisini açık bir şekilde ortaya koymaktadır.

Yasal olarak müsaade edilmemesine rağmen araştırma sonuçları ülkemizde bazı arıcıların arı hastalıklarına karşı antibiyotik kullanmaya devam ettiğini göstermektedir (1). Bal ülkemiz ekonomisi bakımından önemli bir ürün olmasının yanı sıra ihracat ürünleri arasında da yer almaktadır. Avrupa Birliği Ülkeleri önemli ihracat noktalarımız arasında olup, birlik mevzuatınca ithal ürünler belli kontroller sonucu kabul edilmektedir. Bu taramalar esnasında Türkiye kaynaklı arıcılık ürünlerinde tespit edilen kalıntıların devamlılığı ve yüksek konsantrasyonları neticesinde AB tarafından bal ihracatımızın kısıtlamalarla karşı karşıya kalma olasılığı vardır. Bu nedenle arıcılıkta antibiyotik kullanımına derhal son verilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, gerek ekonomik gerekse tüketici sağlığı açısından çiftçilerimizin kalıntı sorunları hakkında bilgilendirilmesi, rutin kontrollerle sakıncalı ürünlerin tüketime sunulmasının engellenmesi ve bal arısı hastalıkları ile mücadelede yeni projelerin gerektiği açıkça görülmektedir.

**KAYNAKLAR**

1. Sunay AE., 2006. Balda antibiyotik kalıntısı sorunu. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 4, 143-148.
2. Li J., Chen L., Wang X., Jin H., Ding L., Zhang K., Zhang H., 2008. Determination of tetracyclines residues in honey by on-line solid-phase extraction high-performance liquid chromatography. *Talanta*, 75, 1245-1252.
3. Cheneau ED., Pirotais Y., Verdon E., Hurtaud-Pessel D., 2014. Confirmation of 13 sulfonamides in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry for monitoring plans: Validation according to European Union Decision 2002/657/EC. *Journal of Chromatography A*, 1339, 128-136.
4. Zai IUM., Rehman K., Hussain A., Shafqatullah A., 2013. Detection and quantification of antibiotics residues in honey samples by chromatographic techniques. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 14, 683-687.
5. Barganska Z., Slebioda M., Namiesnik J., 2011. Determination of antibiotic residues in honey. *Trends in Analytical Chemistry*, 30, 1035-1041.
6. Johnson S., Jadon N., 2010. Antibiotic residues in honey. Centre For Science and Environment and Pollution Monitoring Laboratory, India.
7. Galarini R., Saluti G., Giusepponi D., Rossi R., Moretti S., 2015. Multiclass determination of 27 antibiotics in honey. *Food Control*, 48, 12-24.
8. Gunes ME., Gunes N., Cibik R., 2009. Oxytetracycline and sulphonamide residues analysis of honey samples from Southern Marmara Region in Turkey. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15, 163-167.
9. Wang S., Liu J., Yong W., Chen Q., Zhang L., Dong Y., Su H., Tan T., 2015. A direct competitive assay-based aptasensor for sensitive determination of tetracycline residue in Honey. *Talanta*, 131, 562-569.
10. Wutz K., Niessner R., Seidel M., 2011. Simultaneous determination of four different antibiotic residues in honey by chemiluminescence multianalyte chip immunoassays. *Microchimica Acta*, 173, 1-9.
11. Thompson TS., Van den Heever JP., 2012. Degradation of erythromycin in honey and selection of suitable marker residues for food safety analysis. *Food Chemistry*, 133, 1510-1520.
12. Şener S., 2006. Veteriner farmakoloji. 1. Baskı., 59-60, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
13. Thompson TS., Noot DK., 2005. Determination of sulfonamides in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 551, 168-176.
14. Granja RHMM., Nino AMM., Zucchetti RAM., Nino REM., Patel R., Salerno AG., 2009. Determination of streptomycin residues in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 637, 64-67.
15. Şener S., 2006. Veteriner farmakoloji. 1. Baskı., 37-38, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
16. Seğmenoğlu MS., Baydan E., 2012. Ballarda rastlanabilen ilaç kalıntıları ve bulaşanlar. *Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi*, 2, 24-28.
17. Reybroeck W., Daeseleire E., De Brabender HF., Herman L., 2012. Antimicrobials in beekeeping. *Veterinary Microbiology*, 1-2, 1-11.
18. Wang S., Yong W., Liu J., Zhang L., Chen Q., Dong Y., 2014. Development of an indirect competitive assay-based aptasensor for highly sensitive detection of tetracycline residue in honey. *Biosensors and Bioelectronics*, 57, 192-198.
19. Aydın L., Çakmak İ., Güleğen E., Korkut M., 2003. Güney Marmara bölgesi arı hastalıkları ve zararlıları anket sonuçları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 1, 37-40.