

## Yurdumuz Zehirli Ballarının Laboratuvar Diyagnostiği Üzerinde Araştırma (\*)

The Research for the Laboratory Diagnosis of Poisonous - honey  
of Turkey

A. Cemâl OMURTAG (\*\*)

Bülend EVLİYA (\*\*\*)

Asiye AYDIN (\*\*\*\*)

Ahmet AKIN (\*\*\*\*\*)

Nurten ERİNÇ (\*\*\*\*\*)

Yurdagül DOLGUN (\*\*\*\*\*)

### GİRİŞ

Besin zehirlenmesi; etiyoloji bakımından değişik sebeplere bağlı olarak meydana gelir ise de, botulizm ve kronik maden zehirlenmeleri hariç, klinik semptomatoloji bakımından az çok değişiklikler göstermekle beraber, genellikle gastro-intestinal semptomların hakim olduğu bir tablo ile ortaya çıkar.

Besin zehirlenmesinin ortaya çıkışındaki sebepler, besin maddesinin ya kendi bünyesine veya çevresel sebeplere bağlıdır. Bu neden ile besin zehirlenmesi, etioloji bakımından ya ekzogen veya endogen karakterde olabilir.

Bir de bunun dışında, canlının Hypersensibilization'una bağlı patolojik olay da görülür ki, bu hal besin allergi'si olarak tanımlanır. Bunda besin maddesi suçsuz olup, mes'ul; canlının kendisidir. Ekzogen karakterdeki besin zehirlenmelerine ya Bakteriler veya

Redaksiyona verildiği tarih 27 Haziran 1973

(\*) 28-30 Eylül 1972 günü Ankara'da toplanan 15. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

(\*\*) A. Ü. Eczacılık Fakültesi Mikrobiyoloji ve Besin Analizleri Kürsüsü.

(\*\*\*) A. Ü. Adana Ziraat Fakültesi

(\*\*\*\*) Eczacı, Trabzon.

(\*\*\*\*\*) A. Ü. Eczacılık Fakültesi Mikrobiyoloji ve Besin Analizleri Kürsüsü.

(\*\*\*\*\*\*) A. Ü. Eczacılık Fakültesi 4. sınıf öğrencisi.

(\*\*\*\*\*\*) A. Ü. Eczacılık Fakültesi 4. sınıf öğrencisi.

Kimyasal maddeler sebep olur. Kimyasal maddelere bağlı zehirlenmeler ise, kimyasal maddenin tabiatı ile ilgili olarak ya akut veya kronik toksisite şeklinde vukua gelir. Kimyasal maddelerin sebep olduğu akut zehirlenmeler; ya kasten veya ihmâl sonu besin maddelerine karışması suretile husule gelir.

Kronik toksisite ise, mutfak eşyası olarak kullanılan madensel kapların terkibindeki; kadmiyum, arsenik, antimon, kurşun veya son zamanlarda bitkisel besin maddelerini tahrip eden haşerelere karşı kullanılan insektisitlerden ileri gelir.

Bakterilerin sebep olduğu zehirlenmeler ise; bakterilerin kendileri tarafından enfeksiyon veya bunların toksinleri vasıtası ile intoksikasyon şeklinde besin zehirlenmelerine sebep olurlar. Clostridium botulinum, Enterotoksigenik (Plazma koagulaz pozitif) Staphylococcus'ler, besin intoksikasyonuna; Sal. typhimurium, Sal. enteritidis, Sal. cholerasuis,  $\alpha$ -Typne Streptococcus (Str. fecalis), Bacillus cereus, Cl. perfringens gibi bakteriler de besin enfeksiyonuna sebep olurlar. Keza E. coli, Arizona grubu mikroorganizmalar, Proteus vulgaris ve Proteus mirabilis gibi bakteriler de besin zehirlenmesinde rol oynamaktadırlar.

Bundan başka sağlık kurallarına uyulmadan hatalı teknolojik işlem uygulanan veya gerekli Veteriner muayenesinin yapılmadığı hayvansal besin maddelerinin tüketimine bağlı invasionlar ile ayrıca zoonoz karakterindeki enfeksiyonlar da; besin analizleri içinde önemli bir yer işgal ederler. Bunlar birer enfeksiyon karakteri gösterirler.

Endogen tabiatla, yani toksik etkisi besin maddesinin tabiatına bağlı olan zehirlenmelere; Gonyaulax catenella denen planktonu havi midyelerin tüketiminin sebep olduğu, Paralitik Midye Zehirlenmesi; Favisim denen bakla zehirlenmesi; Phalloidin ve diğer alkaloid'leri havi mantarların sebep olduğu mantar zehirlenmesi; Solanine (Gluko-alkoloid)'i havi patateslerin yenmesi ile patates zehirlenmesi; Ichthyo-sarcotoxin ihtiva eden su ürünlerinin yenmesi ile balık zehirlenmesi ve nihayet arılar ile ballara taşınan Rhododendron (Andromeda)'ların toksini olan (Andromedotoxin)'i havi balların tüketimi ile bal zehirlenmeleri belli başlı birer örnek ola-

rak gösterilebilir. Bu nev'i zehirlenmede, zehirlenmeye sebep olan toksik madde, o besin maddesinin kendisine has bir özellik taşır. Ancak muhtelif şekilde işlenmiş veya tabii haldeki besin maddelerinin tüketimi sonucu ortaya çıkacak zehirlenme, Besin Analizcisi bu besin maddesinin tabiatı ve işleniş şekillerine göre değişik laboratuvar metodları uygulamaya sevkeder.

Öyle besin maddeleri de vardır ki; bunlar için zehirlenmeyi meydana getiren etiolojik sebep Pathognomonik'tir. Bunun en bariz örneği de zehirli ballardır. Esasen bu çalışmada besin maddesinin tabiatına bağlı yani etiolojisi endogen olan besin maddelerinden münhasıran zehirli balların diyagnostiği konu olarak alınmıştır. Tüketimi sonu zehirlenmeye sebep olan, bal; dilimizde «Deli bal», «Zehirli bal» deyimleri ile tanımlanmaktadır.

PULEWKA (4) zehirlenmeye sebep olan deli bala ait toksinin; nitrogen'den âri, alkol ve kloroform'da çözülebilen; soğuk suda % 2,81; sıcak suda % 0,87 oranında çözülebilen, eter ve benzolde güçlükle eriyebilen, petrol eterinde çözülmeyen, alkaloid'leri presipite eden maddelerle çöktürülemeyen özelliklere sahip, elementer analizi sonu formülününün  $C_{31} H_{51} O_{10}$  olduğuna hükmedilen bir yapıda olduğunu bildirmektedir. Toksin; Glacial acetic acid içinde kaynatılmakla parçalanmaz, fakat konsantre Tartaric acid veya Oxalic acid içinde kaynatılmakla tahrip edilir.

DACK (2) madensel asitlerin toksine ilâve edilmesi halinde kırmızı bir renk hasil olduğunu kaydetmektedir. Toksinleri; birer glikozit olan Ericolin ve Andromedotoksin'dir. Andromedotoksin, Ericaceae familyasından; Andromeda, Kalmia, Rhododendron gibi bitkilerin terkinde bulunur.

DACK (2), zehirlenme semptomları olarak; Mide bulantısı, kusma, diarrhea, baş dönmesi ve sersemlik, baş ağrısı, geçici körlük, malaria'yı andırır fevr, baygınlık, şuurun tamamen zail oluşu gibi semptomlara ilâveten exitation, kramp'lar, mide ve karın ağrıları, ağız ve deride yanma hissi, aşırı terleme gibi semptomlar da görüldüğünü bildirmektedir.

Bir besin analizcisi için en önemli husus; tanzim edeceği rapora zehirlenmeye sebep olan unsurun tabiatını kesin olarak bildi-

- Yurdağül Dolgun

rebilmesidir. Zehirlenmede şüpheyi çekecek besin maddesinin birden ziyade olması halinde, bunlardan en ciddî sebebin açıklığa kavuşturulması gerekir. Böyle bir durumda, bal da itham ediliyor ise; o taktirde bu balın zehirlenmeye sebep olup olmadığının bir besin analizcisi için en kestirme yoldan tesbiti gerekir.

Bunun için; besin analizcisinin uygulayacağı metodun, kısa fakat emin sonuç veren bir metod olması gerekir. Ayrıca ekonomik olmayan, pahalı ve zaman tüketici metodların besin analizlerinde uygulanması tercih edilmez. Bunlar, ancak özel araştırmalar için geçerli olabilir.

Klinik semptomlar ne kadar pathognomonik olur ise olsunlar, besin zehirlenmesi olaylarında sebebin lâboratuvar muayene metodları ile kesin diagnostiği, bu besin maddesini işleyen sanayici veya onu işlenmiş olarak satan satıcıya yükleyeceği hukukî müeyyidenin uygulanabilmesi için mutlaka gerekmektedir.

Bu çalışmada; bu hususlar göz önüne alınmış ve bu güne değin uygulanmış metodların bir değerlendirilmesinin yapılabilmesi için eleştiriye tabi tutulmak suretiyle, konu deneysel olarak işlenmiştir.

#### M A T E R Y A L

Materyal olarak; Ankara ve Trabzon'dan temin edilen bal ile, Bolu, Trabzon ve Rize'den temin edilen Rhododendron bitki türlerinin polen ve örtü tüyleri kullanılmıştır.

#### I — B A L :

- A — Deli bal ... a) Trabzon 1969. (1 adet).  
b) Trabzon, Çaykara, Taşören. 20 Şubat 1970 (1 adet).

#### B — Normal ballar..

##### 1 — Şekerlenmemiş;

- a) Ağustos 1972 de Hal'den temin edilen petek bal (4 adet).  
b) Ağustos 1972 de A. O. Ç. den temin edilen süzme bal (1 adet).

c) Ağustos 1972 de Hal'den temin edilen petek bal (1 adet).

2 — Şekerlenmiş;

a) 1970 de Trabzon'dan temin edilen süzme bal (1 adet).

b) 1970 de piyasadan temin edilen Balpınar süzme balı (1 adet).

c) 1970 de temin edilen Balpınar petek balı, (1 adet).

olmak üzere, toplam olarak 2 adet deli bal, 9 adette normal bal,

II — *BİTKİ*: olarak da;

1 — Rhod. ponticum (Trabzon) 1969.

2 — Rhod. flavum (Trabzon - Hemşin) 1969.

3 — Rhod. ponticum (Bolu) 25.5.1970.

4 — Rhod. caucasicum (Rize «Cimil-İkizdere arası») 14.6.1970.

5 — Rhod. ponticum (Bolu) 30.5.1972.

6 — Rhod. flavum (Trabzon) 26.4.1972.

olmak üzere altı adet Rhododentron bitki türü kullanılmıştır.

#### M E T O D

#### I — Balların incelenmesi :

A — **Mikroskopik muayene** : Bal numuneleri bir miktar H<sub>2</sub>O içinde eritilip, santrifüje edilmiş ve elde edilen çöküntü üzerine bir damla lugol solüsyonu damlatılıp mikroskopta kuru objektifle muayene edilmiştir.

B — **Kimyasal muayene** : BUCAK (1) tarafından kullanılan ve PULEWKA (4) tarafından modifiye edilen STAS-OTTO metodunun, kloroformda ısıtılmayı müteakip bildirilen süzme işlemi tarafımızdan sarfınazar edilmek suretiyle uygulanmıştır.

#### II — Bitkilerin incelenmesi :

A — **Polen tozlarının muayenesi** : Kloralhidratın 1/2 solüsyonundan bir lâm üzerine bir damla damlatılıp; kurutulmuş ve toz

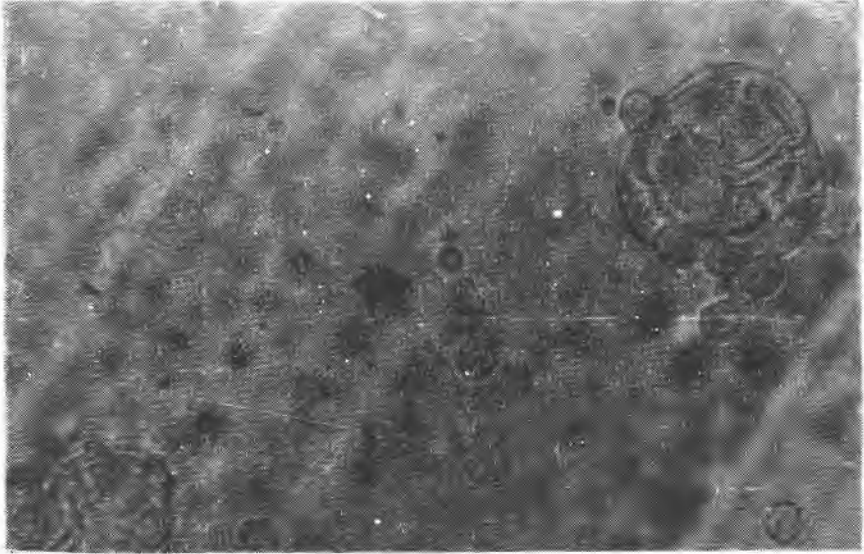
haline getirilmiş çiçek tozundan, yoğun bir preparat olmamasına dikkat edilecek şekilde bir miktar konulup, üzerine lâmel kapatılmış, hava kabarcıkları tamamen kayboluncaya kadar fasılalı bir şekilde hafif hafif ısıtılmıştır. Preparatın kloralhidrat kaybı; yeniden lâm lâmel arasından ilâve edilmek sureti ile telafi edilmiştir. Preparat soğutulduktan sonra mikroskop altında kuru objektif ile muayene edilmiştir.

**B — Yaprak örtü tüyünün muayenesi :** Burada kurutulmuş yaprakların toz haline getirilmesi ve ayrıca % 70 lik alkol içinde yumuşatılmasını müteakip alınan kesitler, polen tozlarının muayenesi için bildirilen şekilde hazırlanarak mikroskopta incelenmiştir. Ancak burada preparatlar kloralhidrat solüsyonu ve SARTUR reaktifleri ile ayrı ayrı hazırlanıp muayene edilmişlerdir.

#### DENEMELERDEN ELDE EDİLEN SONUÇLAR

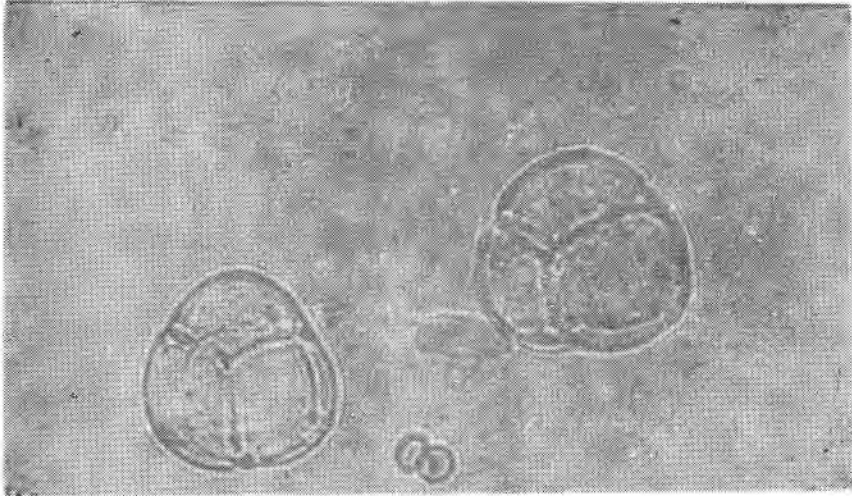
#### A — Balların mikroskobik muayenesi

##### 1 — Deli ballar :



(R e s i m : 1)

Deli bal'a ait polen tozu (orjinal) (Trabzon 1969)



(R e s i m : 2)

Dell bal'a ait polen tozu orijinal (Trabzon, Çaykara, Taşören) 20 Şubat 1970

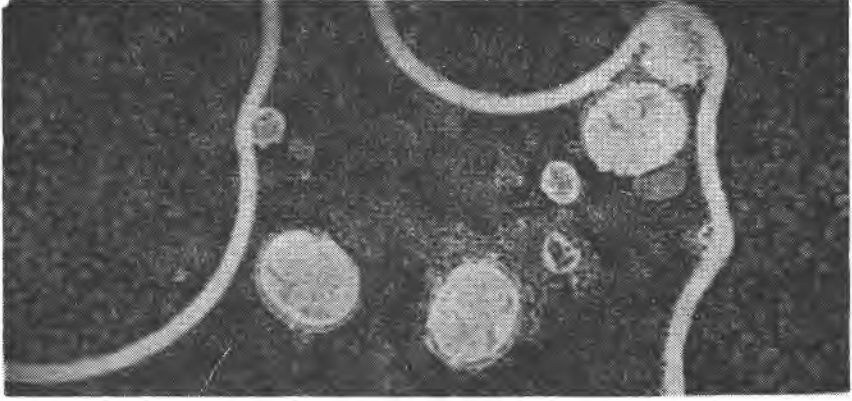
2 — Normal ballar :

a) Şekerlenmiş ballar;



(R e s i m : 3)

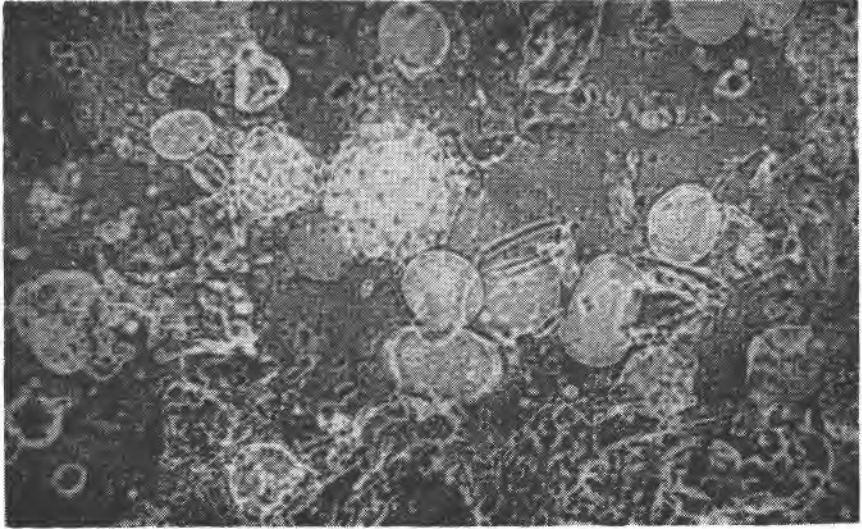
Şekerlenmiş normal, süzme bala ait Polen tozları (orijinal)



(R e s i m : 4)

Şekerlenmiş normal, süzme petek altı Polen tozları orijinal

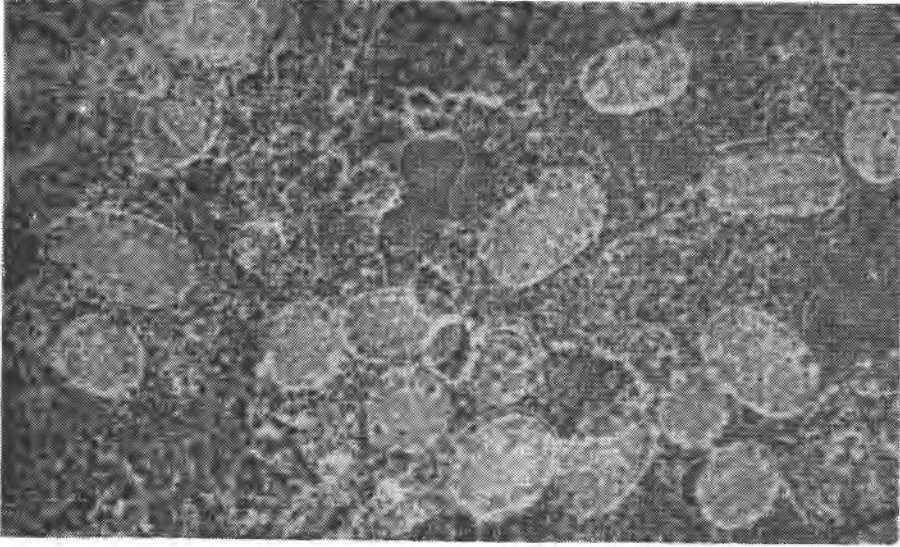
b) Şekerlenmemiş ballar :



(R e s i m : 5)

Şekerlenmemiş normal, süzme bala altı Polen tozları orijinal





(R e s i m : 6)

Şekerlenmemiş normal, petek bala ait Polen tozları orijinal

### B — Kimyasal muayene :

Deli balların analizinde; ilk kloroform ile uçurulma kademesinde, sarı pembe renkte bir bakiye kalmakta, son safha olan asit ilâve edilip ısıtıldıktan sonra bordo (koyu kırmızı) renk almakta olduğu ve 30 dakika sonra, bordo renkten koyu kahverengine dönen bir renk aldığı tesbit edilmiştir.

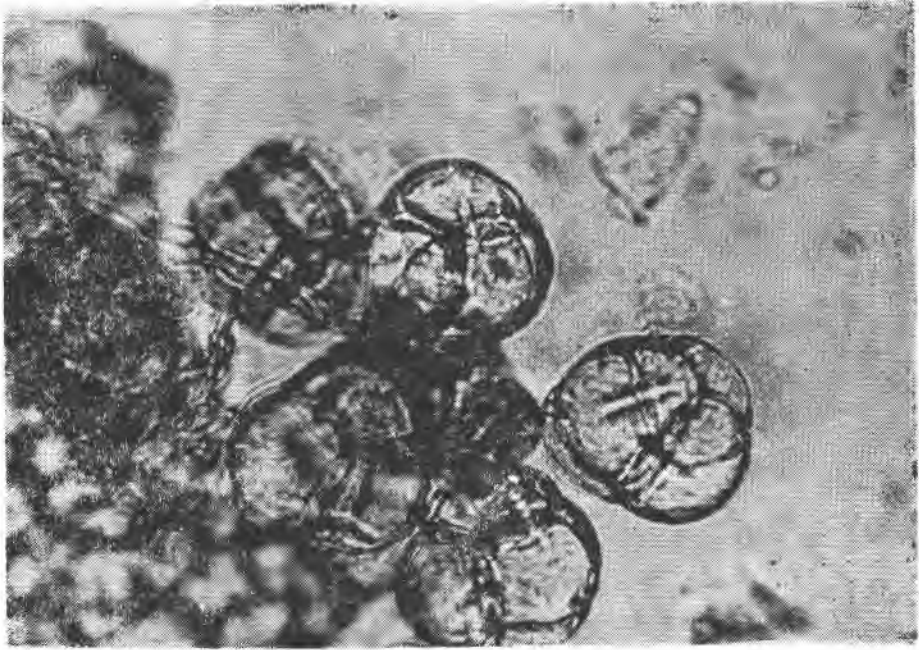
Şekerlenmiş normal ballarda; ilk kloroform ile uçurulma kademesinde hafif kirli sarı renkte bir bakiye kalmakta, son safha olan asit ilâve edilip ısıtıldıktan sonra, sarı kahve rengi meydana gelmekte ve 30 dakika sonra meydana gelen bu renk koyulaşarak, sarı kahverenginden biraz daha koyu kahverengini almakta olduğu tesbit edilmiştir.

Şekerlenmemiş normal ballar da ise; kloroform ile uçurulma-  
da renksiz bir bakiye kalmakta, son safhada ise şekerlenmiş nor-  
mal baldaki rengin meydana geldiği müşahade edilmiştir.

Ancak bu deneyler;  $HNO_3$  ile yapıldığında, şekerlenmiş veya  
şekerlenmemiş normal ballarda son safhanın renksiz olduğu, deli  
balda ise bordo kırmızısı yerine biraz daha açık kırmızı renk mey-  
dana geldiği tesbit edilmiştir.

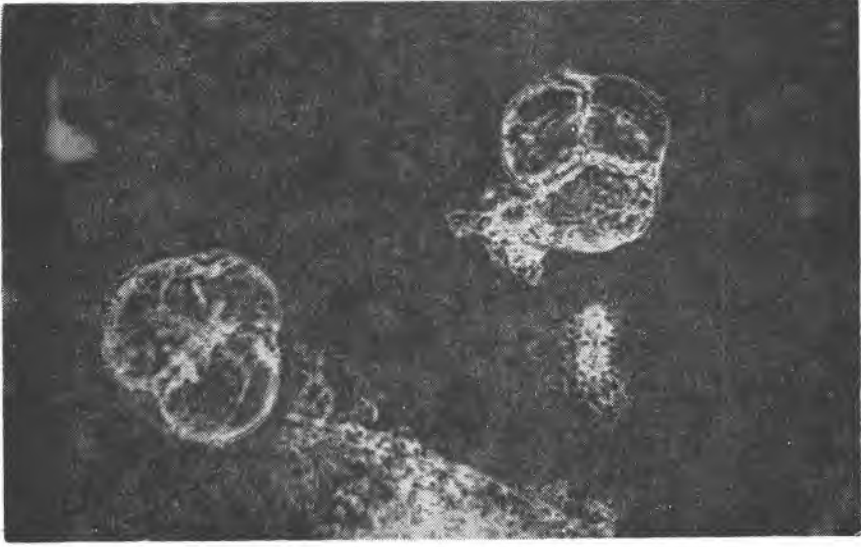
## II — Bitkilerin incelenmesinden elde edilen sonuçlar :

A — Resim (7), (8), (9) da da görüleceği üzere *Rhod. ponticum*,  
*Rhod. flavum* ve *Rhod. caucasicum*'un polen tozları arasında hiç  
bir fark tesbit edilememiştir.



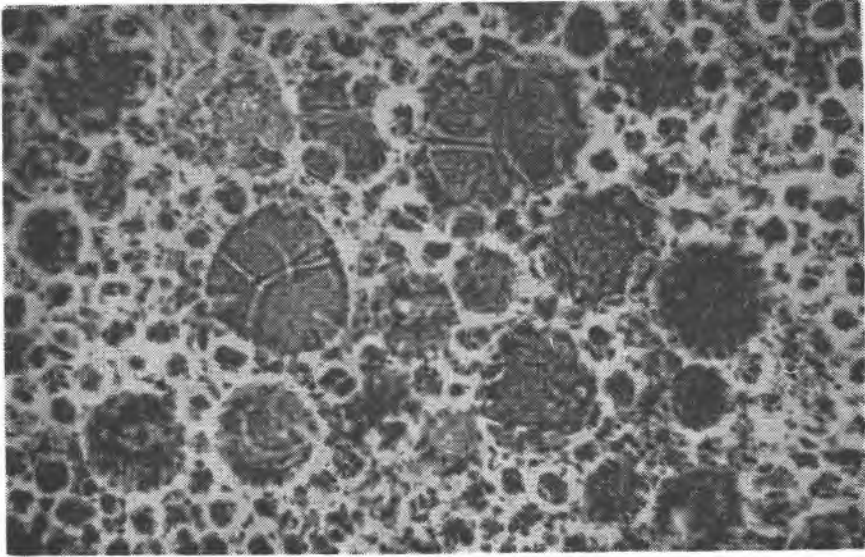
(R e s i m : 7)

*Rhod. ponticum* bitki polen tozları (orjinal) (30.5.1972 Bolu)



(R e s i m : 8)

Rhod. flavum bitki polen tozu (orjinal) (26.4.1972 Trabzon)



(R e s i m : 9)

Rhod. caucasicum bitki polen tozu (orjinal) (14.6.1972 Rize «Cimil - İkizdere arası»)

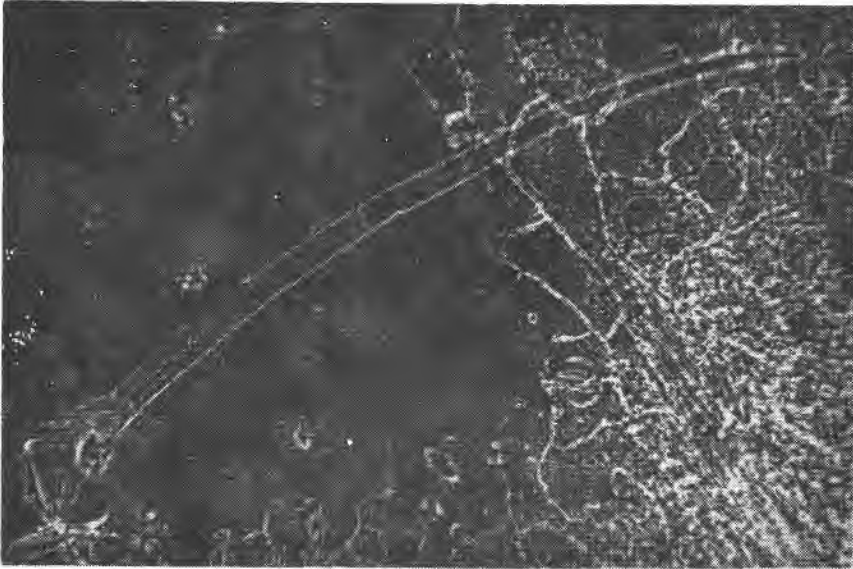
**B — Yaprak örtü tüyleri :** (Resim 10) da görüldüğü üzere *Rhod. flavum*'un yapraklarından alınan kesitteki örtü tüyü ve resim (11) deki *Rhod. flavum*'un yaprak tozundaki örtü tüyleri kısa, resim (12) de görülen *Rhod. ponticum*'un örtü tüyleri kamçı şeklinde ince ve uzun olup resim (13) de görülen *Rhod. caucasicum*'un örtü tüyleri ile büyük bir benzerliğe sahip olduğu görülmüştür.

#### TARTIŞMA ve KARAR

UNGAN ve arkadaşları (5); zehirli balların diagnostiğinin o balla ait polen tozlarının mikroskopik yapısının incelenmesi ile kabil olabileceğini bildirmişlerdir.

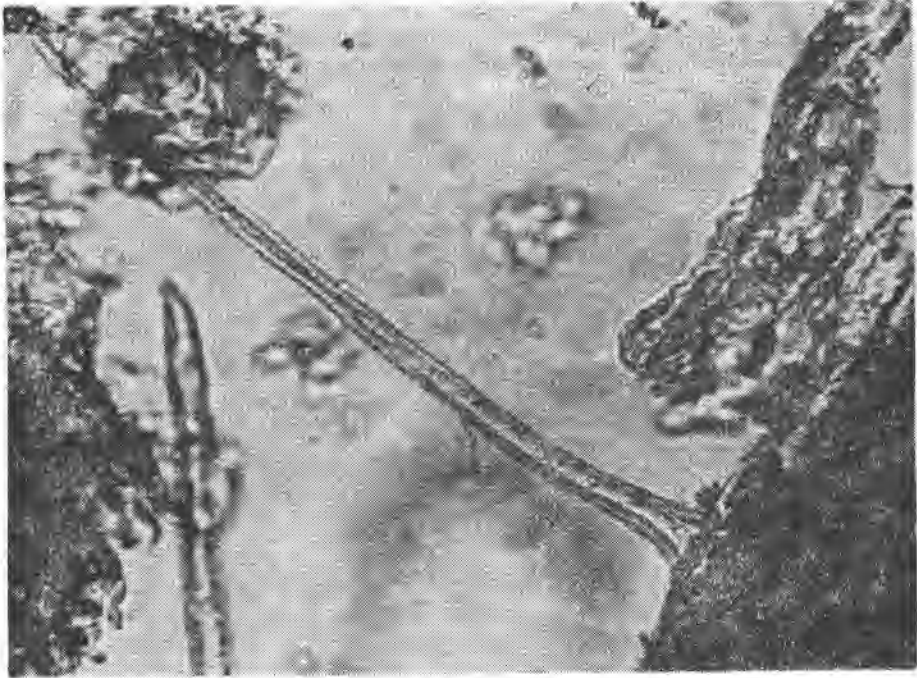
BUCAK (1) ise; zehirli balların diagnostiğinin STAS-OTTO'nun kimyasal metodunun uygulanması ile mümkün olabileceğini ileri sürmüştür.

STAS-OTTO metodunu modifiye eden PULEWKA (4)'nın tekniği yerinde bir değer taşımaya rağmen, PULEWKA bu metodu, hayvan deneyi ile pekiştirme eğilimi göstermiştir.



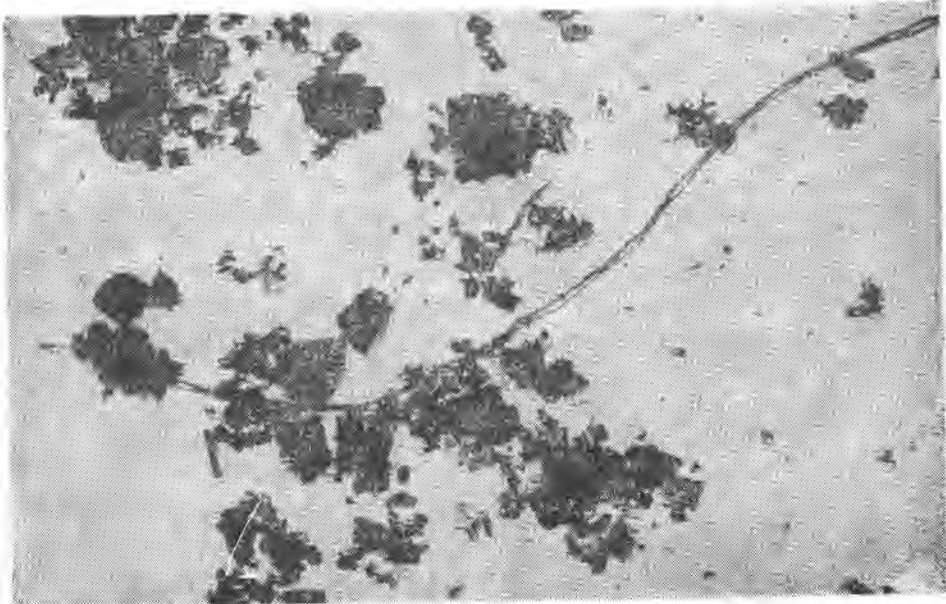
(R e s i m : 10)

*Rhod. flavum*'un yaprak örtü tüyü kesiti (Trabzon 26.4.1972) orijinal



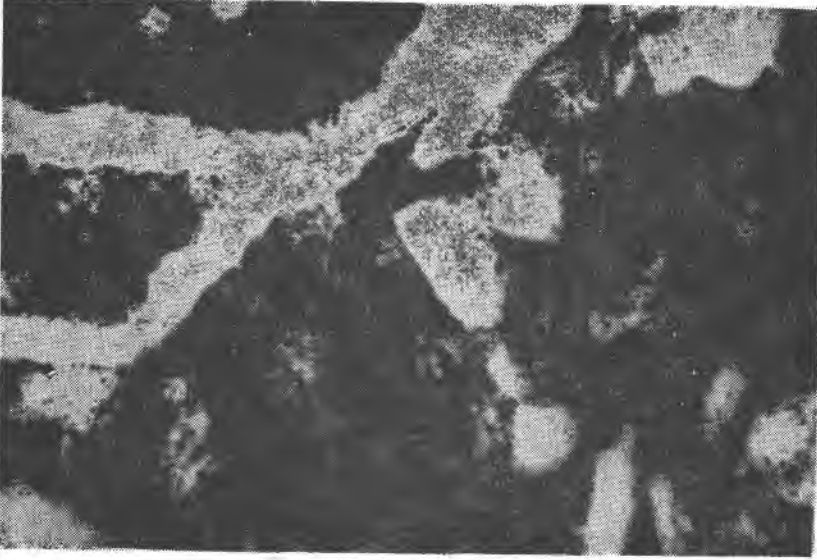
(R e s i m : 11)

Rhod. flavum'un toz haline getirilen yapraklarına ait örtü tüyü (Trabzon - Hemşin) orijinal 1969.



(R e s i m : 12)

Rhod. ponticum'un toz edilen yapraklarına ait örtü tüyü (Trabzon 1969) orijinal



(R e s i m : 13)

**Rhod. caucasicum'un toz edilen yapraklarına ait  
örtü tüyü (Rize «Cimil - İkizdere arası) orijinal 14.6.1970**

Bu araştırmalardan elde edilen sonuçlara dayanarak, Rhododendron'lara ait polen tozlarının tesbiti ile birlikte, STAS-OTTO metodunun PULEWKA modifikasyonunun tarafımızdan uygulanan değişik şeklini zehirli balların diagnostığında emin lâboratuvar metodları olduğu kanaatine varılmıştır.

Yalnızca polen tozlarının aranması ve kimyasal metodun uygulanması ile sonuca kesin olarak varılmanın kabil olmadığı hallerin zuhur etmesi ihtimali karşısında bu iki metodun birlikte uygulanması tarafımızdan tavsiye edilmektedir. Ancak BUCAK (1) tarafından uygulanan STAS-OTTO- metodu değerli bir metod olmakla beraber, uygulanması güç ve zaman sarfına sebep olmaktadır.

Besin zehirlenmeleri ile ilgili olarak, şüpheli besin maddesinin lâboratuvar hayvanları üzerinde yapılacak denemelerinde sindirim yolunun takip edilmesi ve intragastrik enjeksiyon yapılması tavsiye edilmektedir (3).

Bakteri toksinleri ile deney hayvanları üzerinde yapılan protekt ve nötralizasyon deneylerinin, buradaki hayvan deneyi ile karıştırılmaması gerekir. Bu neden ile şüpheli besin maddesinden hazırlanan veya o maddenin muadili olarak kabul edilen substansların, parenteral yol ile verildiğinde meydana gelecek semptomlar ile peroz olarak alındığında görülecek semptomlar bakımından bir paralelliğin besin zehirlenmelerinin diyagnostiğinde muhtelif yan etkenlerden ötürü, her zaman zuhur edeceğinin beklenmesinin doğru sonucu vereceği kanaatine varılamamıştır.

Ayrıca Andromedotoksin ismi verilen toksinin, sentetik olarak imalinin kesinliği halinde, zehirli balların bu zehirlilik özelliklerinin diyagnostiğinde; Kolon, Kâğıt, İnce Tabaka veya Gaz Kromatografisi metodlarından yararlanmak akla gelir ise de, bilhassa Gaz Kromatografisi gibi pahalı cihazların, her zaman her müessesede temini mümkün olamayacağı cihetle, sonuçları seri ve rutin analizlere elverişli metodların uygulanması lâboratuvarcı tarafından tercih edilir.

Bu nedenler ile; zehirli balların lâboratuvar diyagnostik metodları olarak polen tozlarının incelenmesi ile PULEWKA (4)'nın STAS-OTTO modifikasyonunun, tarafımızdan uygulanan değişik şekilden yararlanmanın yeterli olacağı sonucuna bu çalışma ile varmış bulunulmaktadır.

#### Ö Z E T

Bu çalışma ile zehirli balların diyagnostiğinde; lâboratuvar metodları olarak,

1 — Polen tozlarının mikroskobikman tesbiti,

2 — PULEWKA (4) tarafından modifiye edilmiş olan STAS-OTTO metodunun tarafımızdan uygulanan değişik şekilden yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır.

#### S U M M A R Y

Two methods have been used satisfactorily for the laboratory diagnosis of poisonous honey, in this study;

1 — The microscopic examination; for the demonstration of the polens of *Rhod. caucasicum*, *Rhod. ponticum* and *Rhod. flavum*.

2 — PULEWKA'S modified chemical method of STAS-OTTO which has been also, modified by us in this study.

#### L İ T E R A T Ü R

- 1 — **BUCAK, A.M. (1938)** : Zehirli bal Farmakologie Bd. 8; Nr. 4; 12.
- 2 — **DACK, G. M. (1956)** : Food poisoning, Library of Congress Catalog, Number 55 - 12510, The University of Chicago Press.
- 3 — **OMURTAG, A. C. (1955)** : Memleketimiz kutu konservesi balıkları ile salamura balık konservelerindeki Volatile asitleri miktarının mukayeseli neti celeri. Türk Mikrobiyoloji Dergisi, No: 1-2, Sahife, 21 - 30.
- 4 — **PULEWKA, P. (1949)** : Bull. Fac. Med., 12, S; 275 - 286, İstanbul.
- 5 — **UNGAN, A., GÜROĞLU, İ., KÂKYAOĞLU, B., KİPER, M., ve LUGAL Z. (1950)** : Besin kimyası, Güney Matbaacılık ve Gazetecilik T.A.O. Sahife; 157..

#### T E Ş E K K Ü R

Araştırmacılar; araştırmada yararlanan *Rhod. caucasicum* bitki numunesinin kendilerine temin etmiş olan A.Ü. Eczacılık Fakültesi Botanik Kürsüsü Profesörü, Prof. Dr. Kâmil KARAMANOĞLU'na teşekkürlerini sunarlar.