

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GÜNEY MARMARA BÖLGESİNDE ÜRETİLEN BAZI BALLARIN
ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN, PESTİSİT VE
ANTİBİYOTİK KALINTILARININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim POLAT

Balıkesir, Şubat – 2011

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GÜNEY MARMARA BÖLGESİNDE ÜRETİLEN BAZI BALLARIN
ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN, PESTİSİT VE
ANTİBİYOTİK KALINTILARININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim POLAT

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşe Dilek AZAZ

Balıkesir, Şubat – 2011

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GÜNEY MARMARA BÖLGESİNDE ÜRETİLEN BAZI BALLARIN
ANTİMİKROBİYAL, ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN, PESTİSİT VE
ANTİBİYOTİK KALINTILARININ İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim POLAT

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşe Dilek AZAZ

Sınav Tarihi: 08.02.2011

Jüri Üyeleri: Doç. Dr. Ayşe Dilek AZAZ (Danışman) (BAÜ)

Prof. Dr. Gülendam TÜMEN (BAÜ)

Doç. Dr. Turgut KILIÇ (BAÜ)

Enstitü Yönetim Kurulunun tarih sayılı oturumunun
nolu kararı ile Mezun olmuştur.

Balıkesir, Şubat – 2011

“ Bu alışma Balıkesir Üniversitesi Rektrlğ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP 2010/23 Kodlu proje ile desteklenmiştir. Teşekkür ederiz.”

ÖZET

GÜNEY MARMARA BÖLGESİNDE ÜRETİLEN BAZI BALLARIN ANTİMİKROBİYAL, ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN, PESTİSİT VE ANTİBİYOTİK KALINTILARININ İNCELENMESİ

İbrahim POLAT

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi/Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşe Dilek AZAZ)

Balıkesir, 2011

Türkiye'nin Güney Marmara bölgesinden toplanan bal örneklerinin *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, *Enterobacter aerogenes* NRRL 3567, *Escherichia coli* ATCC 25292, *Klebsiella pneumoniae* (klinik izolat), *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Proteus vulgaris* NRRL 123, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Serratia marcescens* (klinik izolat), *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* (klinik izolat), *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Penicillium lanosum*, *Alternaria alternata*'ya karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite özellikleri belirlenmiştir. Ballar, filamentöz funguslar hariç test edilen organizmalara karşı 250-375 mg/ml arasında antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Diğer taraftan balların antioksidan aktiviteleri, DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre saptanmıştır. Antioksidan aktivite $9,12 \pm 0,26$ ve $73,58 \pm 0,47$ aralığında bulunmuş ve DPPH solüsyonunun % inhibisyonu olarak ifade edilmiştir. Ayrıca bal örneklerinin pestisit ve antibiyotik kalıntı analizleri, Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi (ARGEFAR) Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre analizlenebilen pestisit ve antibiyotiklerden herhangi birinin kalıntısına rastlanılmamıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Bal, antimikrobiyal aktivite, antioksidant aktivite, pestisit, antibiyotik kalıntıları.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDAN ACTIVITIES AND THE CONTAMINATION OF PESTICIDE AND ANTIBIOTIC RESIDUES OF SOME HONEY PRODUCED IN SOUTH MARMARA REGION

İbrahim POLAT

Balıkesir University, Institute of Science, Department of Biology

(M. Sc. Thesis/ Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşe Dilek AZAZ)

Balıkesir, 2011

The antibacterial and antifungal activity characteristics of honey samples collected from Southern Marmara region in Turkey were examined against *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, *Enterobacter aerogenes* NRRL 3567, *Escherichia coli* ATCC 25292, *Klebsiella pneumoniae* (clinical isolate), *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Proteus vulgaris* NRRL 123, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Serratia marcescens* (clinical isolate), *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* (clinical isolate), *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Penicillium lanosum*, *Alternaria alternata*. The honeys exhibited antimicrobial activity in the 250-375mg/ml range against the organisms that were tested except for the filamentous fungi. On the other hand, antioxidant activities of the honeys were determined by 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazine (DPPH) radical-scavenging assay. Antioxidant activity expressed as % inhibition of a solution of DPPH, ranged between $9,12 \pm 0,26$ and $73,58 \pm 0,47$. Moreover, the analyses of pesticide and antibiotic residues of honey samples were carried out in Ege University Center for R D and Pharmacokinetic Applications Food Control Laboratory. The received results show that no analysable pesticide or antibiotic residue was determined.

KEY WORDS: Honey, antimicrobial activity, antioxidant activity, pesticide, antibiotic residues.

İÇİNDEKİLER	
ÖZET, ANAHTAR KELİMELER	<u>Sayfa</u> ii
ABSTRACT, KEY WORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ	ix
1.GİRİŞ	1
1.1 Balın Bileşenleri	17
1.1.1 Karbonhidrat İçeriği	18
1.1.2 Protein, Enzim ve Aminoasit İçeriği	19
1.1.3 Vitamin ve Mineral İçeriği	19
1.1.4 Aroma İçeriği	20
1.1.5 Polifenol İçeriği	20
1.2 Balın Fizyolojik ve Sağlık Etkileri	21
1.2.1 Antimikrobiyal Aktivite	21
1.2.1.1 Ozmotik Etki	22
1.2.1.2 Asidite	23
1.2.1.3 Hidrojen Peroksit	24
1.2.1.4 Non-peroksit Faktörler	24
1.2.2 Antioksidan Aktivite	25
1.3 Balın Kontaminantları	26
1.3.1 Doğrudan Kontaminasyon	27
1.3.1.1 Varroa'ya Karşı Kullanılan Akarisidler ve Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL)	27
1.3.1.2 Yavru Çürüklüğü Hastalıklarına Karşı Kullanılan Antibiyotikler ve Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL)	28
1.3.2 Dolaylı Kontaminasyon	29
2.MATERYAL VE METOT	31
2.1 Materyal	31
2.1.1 Bal Örneklerinin Toplanması	31
2.1.2 Araştırmada Kullanılan Balların Bitkisel Kaynakları	31

2.1.3 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri	35
2.1.4 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Besiyeri ve Standartlar	42
2.2 Metot	45
2.2.1 Balların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	45
2.2.1.1 Agar Kuyucuk Metodu	45
2.2.1.2 Makrobroth Dilüsyon Metodu	46
2.2.1.3 Antifungal Aktivite	47
2.2.2 Bal Örneklerinin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntem	48
2.2.2.1 DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini	48
2.2.3 İstatistik	49
2.2.4 Bal Örneklerinin Pestisit ve Antibiyotik Kalıntı Analizleri ve Kullanılan Cihazlar	49
2.2.4.1 GC/ECD, NPD, MSD Grubu Kalıntı Pestisit Analizi	49
2.2.4.2 LC-MS/MS Grubu Pestisit Analizi	49
2.2.4.3 EBDC (Ethylene Bis Dithiocarbamate) Analizi	50
2.2.4.4 Kloramfenikol Kalıntı Analizi	50
2.2.4.5 LC MS/MS ile Sulfonamid Kalıntı Analizi	50
2.2.4.6 LC MS/MS ile Tetrasiklin Kalıntı Analizi	50
2.2.4.7 Nitrofuran Metabolitleri Analizi	50
3.BULGULAR	51
3.1 Balların Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	51
3.2 Balların Antioksidant Aktivite Sonuçları	60
3.3 Bal Örneklerinin Pestisit ve Antibiyotik Kalıntı Analizleri Sonuçları	61
4.SONUÇ VE TARTIŞMA	73
5.KAYNAKLAR	87

KISALTMALAR

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
ATCC	American Type Culture Collection, U.S.A
NCTC	National Collection of Type Cultures, U.K
NCPH	National Collection of Pathogenic Fungi, U.K
NRRL	Northern Regional Research Laboratory, U.S.A
CFU	Koloni Oluşturan Birim
MRSA	Metisilin' e Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	Vankomisin' e Dirençli Enterokok
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
⁰ C	Santigrat Derece
mm	Milimetre (10 ⁻³ metre)
ml	Mililitre (10 ⁻³ litre)
µl	Mikrolitre (10 ⁻³ mililitre)
µg	Mikrogram (10 ⁻³ miligram)
kg	Kilogram (10 ³ gram)
nm	Nanometre (10 ⁻⁹ metre)
mM	Milimolar (10 ⁻³ molar)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil Numarası	Adı	Sayfa
Şekil 1.1	Balın kontaminasyon yolları	27
Şekil 2.1	<i>Pinus brutia</i> ' nın gövde, yaprak ve kozalaklarının görünüşü	32
Şekil 2.2	<i>Arbutus unedo</i> ' nun meyve ve yapraklarının görünüşü	33
Şekil 2.3	<i>Erica arborea</i> ' nin çiçek ve yapraklarının görünüşü	34
Şekil 3.1	Farklı konsantrasyonlarda çam balının <i>E. aerogenes</i> üzerindeki büyüme inhibisyon zonları	53
Şekil 3.2	Kloramfenikol' ün <i>E. aerogenes</i> üzerindeki büyüme inhibisyon zonu	53
Şekil 3.3	Farklı konsantrasyonlarda çam balının <i>C.albicans</i> ATCC 10231 üzerindeki büyüme inhibisyon zonları	54
Şekil 3.4	Ketokonazol' ün <i>C.albicans</i> ATCC 10231 üzerindeki büyüme inhibisyon zonu	54
Şekil 3.5	Davulga balının <i>C. jejuni</i> üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu	56
Şekil 3.6	Davulga balının <i>K. pneumonia</i> üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu	56
Şekil 3.7	Püren balının <i>P.lanosum</i> üzerindeki gözlenemeyen büyüme inhibisyon zonu	58
Şekil 3.8	Ketokonazol' ün <i>P. lanosum</i> üzerindeki büyüme inhibisyon zonu	58
Şekil 3.9	Püren balının <i>A. niger</i> üzerindeki gözlenemeyen büyüme inhibisyon zonu	59
Şekil 3.10	Ketokonazol' ün <i>P.expansum</i> üzerindeki büyüme inhibisyon zonu	59
Şekil 3.11	Bal örneklerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH üzerinden serbest radikal süpürme aktivitesi	61

TABLO LİSTESİ

Tablo Numarası	Adı	Sayfa
Tablo 1.1	Çiçek ve salgı balarında bulunan bileşenlerin ortalama yüzdesi (g/100 g)	18
Tablo 1.2	Farklı floral kaynaklı ballarda tanımlanan fenolik asitler ve flavonoidler	21
Tablo 1.3	Besinler üzerinde gelişen mikroorganizmaların su aktivitesi aralığı	23
Tablo 1.4	Türk Gıda Kodeksine göre balda bulunan bazı pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri (mg/kg)	30
Tablo 3.1	Test Edilen Balların Agar Kuyucuk Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktiviteleri (mm)	52
Tablo 3.2	Test Edilen Balların Makrobroth Dilüsyon Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktiviteleri (MİK mg/ml)	55
Tablo 3.3	Test Edilen Balların Agar Kuyucuk Metoduna Göre Antifungal Aktiviteleri (mm)	57
Tablo 3.4	Test Edilen Bal Örneklerinin DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayinine Göre Antioksidan Aktiviteleri (mg/ml)	60
Tablo 3.5	Bal Örneklerinin GC/ECD, NPD, MSD Grubu Kalıntı Pestisit Analiz Sonuçları	62
Tablo 3.6	Bal Örneklerinin LC-MS/MS Grubu Pestisit Analiz Sonuçları	68
Tablo 3.7	Bal Örneklerinin EBDC (Ethylene Bis Dithiocarbamate) Analiz Sonuçları	71
Tablo 3.8	Bal Örneklerinin Kloramfenikol Kalıntı Analiz Sonuçları	71
Tablo 3.9	Bal Örneklerinin LC MS/MS ile Sulfonamid Kalıntı Analiz Sonuçları	72
Tablo 3.10	Bal Örneklerinin LC MS/MS ile Tetrasiklin Kalıntı Analiz Sonuçları	72
Tablo 3.11	Bal Örneklerinin Nitrofuran Metabolitleri Analiz Sonuçları	72

ÖNSÖZ

Öncelikle bana araştırma olanağı sağlayan, çalışmamın başlangıcından bitimine kadar çok değerli bilgi birikimlerini, destek ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. A. Dilek AZAZ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında yardım ve destekleri benimle olan Sayın Araş. Gör. Selma ÇELEN' e, çalışma arkadaşlarımdan Evrim KAKIRMAN ve Nelin SEV' e teşekkürlerimi sunarım.

Bal örneklerimin alınması sırasında arıcılık bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım arıcı Mehmet BİNTAŞ' a yakın ilgi ve yardımlarından ötürü teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili teyzem Muhteber ÖKSÜZ ile eniştem Hüsnü ÖKSÜZ' e saygı ve sevgilerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük fedakârlıkta bulunan ve beni her zaman destekleyen aileme en içten duygularıyla teşekkürleri sunarım.

Balıkesir, 2011

İbrahim POLAT

1. GİRİŞ

Balın hem bir besin kaynağı hem de tıbbi bir ürün olarak kullanımını çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Bal, *Apis mellifera* tarafından salgılanan invertaz enzimi ile bitki nektarlarından üretilen tatlı, aromatik ve visköz bir şurup olarak tanımlanmaktadır [1]. Kullanılabilir tatlandırıcı olduğundan insanlar için önemi bir besin kaynağıdır. Balın ilk defa kim tarafından ve ne zaman bulunduğu bilinmese de insanlarla arılar arasındaki ilişkinin M.Ö 7000’li yıllara dayandığı belirtilmektedir [2]. Eski Mısırlılar, Asurlular, Yunanlılar, Romalılar ve Çinliler balı intestinal bozukluklarda ve yaraların tedavisinde kullanmışlardır [3]. M.Ö 2100 ile 2000’li yıllarına dayanan bir Sümer tableti üzerinde balın ilaç ve merhem olarak kullanımından bahsedilmektedir [4].

Bal temelde besin maddesi ve enerji kaynağı olarak kullanılmakta, aynı zamanda insan sağlığı bakımından da önem taşımaktadır [5]. Balın yapısında bulunan bileşenler birçok besinsel ve biyolojik aktiviteler sergilemektedir. Bu nedenle çoğu kültürlerde yara, yanık, katarakt ve ülserlerin tedavisinde de kullanılmıştır. İlk olarak açık yaralara uygulandığında rahatlatıcı bir etki göstermiştir [6]. Balın yüksek osmotik etkisi, sıvıyı yara dokusunun içinden çekerek pansumanın dokulara yapışmasını önleyen nemli bir ortamın oluşmasını sağlamaktadır [7, 8]. Bu nemli yara çevresinin, bakteriyel kolonizasyonu engellediği düşünülmektedir. Nitekim enflamasyonu azaltmakta ve standart tedavilere göre daha hızlı bir şekilde eksuda formasyonunu düşürmektedir [6].

Dünya üzerinde gelişmekte olan tüm ülkelerde sağlık hizmetleri yetersizliğinden çok sayıda insan önlenemez ve tedavi edilebilir hastalıklar yüzünden ölmektedir [9]. Son yarım asır boyunca sağlık hizmetlerinde çok büyük ilerlemeler olmasına rağmen bulaşıcı hastalıklar hala dünya genelinde ölüm oranının % 25’ini, düşük gelirli ülkelerde ise % 45’ini oluşturmaktadır. Antienfektif ilaçlar ciddi olarak

bulaşıcı hastalıkların küresel yükünü düşürse de dirençli mikroorganizmalar gelişip yayıldıkları için ilaçların etkinliği azalmaktadır [10]. Antimikrobiyal ajanlara karşı oluşan bu direnç, dünyanın çoğu bölgesinde özellikle gelişmekte olan ülkelerde artan bir sorundur [11, 12]. Bu, günümüzde arı ürünlerinin kullanımına dayanan ve alternatif tıbbın bir dalı olarak adlandırılan apiterapi' nin bütün dünyada geleneksellikten bilimselliğe doğru hızla gelişmesine neden olmuştur.

Bal ve diğer arı ürünlerinin insan sağlığına faydalı olabilmesi için pestisitler, antibiyotikler veya kirleticilerle en az kontaminasyonla izlenebilir kaynaklardan hijyenik koşullar altında üretilmesi gerekir [13]. Pestisitler; bitkiler, hayvanlar veya insanlara zarar veren, istenmeyen canlı organizmalardan korunmak, bunları imha etmek, uzak tutmak ya da çoğalmalarını engellemek amacıyla kullanılan kimyasal maddelerdir. Pestisitler, bitki bünyesinden alınıp arılar aracılığıyla kovana taşındıklarından, dolaylı bir kontaminasyon kaynağı oluşturmaktadırlar. Bal arılarında görülen çeşitli hastalıkların önlenmesi amacıyla kullanılan antibiyotikler de arıcılık işlemlerinde direkt olarak kullanıldıklarından, doğrudan bir kontaminasyon kaynağıdır. Arı ürünlerinin bu gibi kontaminasyon kaynaklarıyla kirletilen bir çevrede üretilmesi hem insan hem de arı sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Nitekim son iki yıl içinde, dünyanın pek çok ülkesinde işçi arıların birdenbire ortadan yok olması şeklinde ortaya çıkan Koloni Çöküş Hastalığı (CCD)' nin tarımda kullanılan yeni sınıf insektisitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

2005 istatistiklerine göre dünyada 62 milyonun üzerinde bal arısı kolonisi bulunmakta ve bu kolonilerden toplam 1380000 ton bal üretilmektedir. Arı gen merkezlerinden biri sayılan Türkiye 4,2 milyon koloni varlığı 67 bin ton bal ve 3500 ton bal mumu üretimi ve 11 milyon dolar değerinde arıcılık ürünü dış satımı ile sayılı ülkeler arasında bulunmaktadır [14]. Ne var ki, balda antibiyotik kalıntılarının varlığı bal ihracatında önemli riskler teşkil edebilmektedir. Örneğin, bal üretiminde söz sahibi ülkeler arasında bulunan Çin Halk Cumhuriyeti orijinli ballarda "Chloramphenicol" kalıntısının tespit edilmesi bu ballarının Avrupa ve Kuzey Amerika'ya olan satışlarının yasaklanmasına neden olmuştur. Avrupa Birliği, onaylanmış ilaçların dışındaki hiçbir ilacın balda kullanımına izin vermemektedir.

Bu durum balda antibiyotik probleminin ülkemiz açısından son derece önemli olduğunu göstermektedir.

Balın literatürde antimikrobiyal, antioksidan ve anti-ülser aktivitelere sahip olduğu bildirilmekte ayrıca dünya arıcılığında ilaç kullanımı ve beraberinde getirdiği kalıntı sorunuyla da ilgili çok sayıda rapor bulunmaktadır [15, 16, 17, 18].

Balın enfekte cerrahi yaraların, yanık yaraların ve bazı ülserlerin tedavisinde yararlı olduğu belirtilmiştir [3]. Bal, yüksek viskozitesi sayesinde koruyucu bir bariyer oluşturarak yaraların iyileşmesine yardımcı olur. Ek olarak düşük seviyeli hidrojen peroksit salınışıyla hafif asidite, hem doku onarımına yardımcı olmakta hem de antimikrobiyal aktiviteye katkı sağlamaktadır [19].

Balın kronik sindirim sistemi hastalıklarından özellikle peptik ülser ve hazımsızlığa [20, 5. 21], duodenal ülsere [22, 23] çocuklarda ise bakteriyel gastroenteritise karşı etkili bir şekilde kullanıldığı bildirilmiştir.

Balın yaraların iyileşmesine olan katkısı defalarca ispatlanmıştır [24, 25]. Çocuğa özgü mide ve barsak iltihaplarının tedavisinde, enfekte cerrahi yaralarda, yanıklarda, dekübitus (yatak yarası) ülserleriyle, deri nakli ve cerrahi debridmanlarda (ölü dokunun ameliyatla alınması işlemi) balın faydalı olduğu bulunmuştur [25, 26].

Kaynatılmamış ticari balın lokal olarak yaralı farelere uygulandığı zaman yaraların iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür [27]. Bu özelliğinden dolayı bal, radikal vulvektomi (vulvanın kısmen ya da tamamen çıkarılmasına yönelik cerrahi girişim) [28] geçirmiş hastalar olmak üzere dekübitus ülseri [29] çeken hastalarda da klinik olarak kullanılmıştır.

Temnov (1944), çeşitli balların dıştan uygulandığı zaman hastaların pürülan (irinli) yaralarını iyileştirdiğini rapor etmiştir [30].

Balın antibakteriyel özelliği sayesinde ağız, boğaz ve bronş enfeksiyonlarına karşı etkili olduğu tespit edilmiştir [31]. Bunların yanında balın cildi besleyici ve nemlendirici krem olarak çeşitli ülser, yara ve yanıklara karşı faydalı olduğu belirtilmiştir [32, 33. 34].

Balın açık yaralar, yanıklar ve septik enfeksiyonlar için cerrahi bir sargı olarak kullanılışı olumlu sonuçlar vermiştir [35]. Klinik araştırmalarda ise gözde, katarakt hastalığına, konjktivit ve çeşitli kornea hastalıklarına karşı, direkt gözün içine uygulanarak kullanıldığını bildirilmiştir [31].

Tıbbi bitki ekstraktları ile beslenen bal arısı kolonilerinden elde edilen balların, lârenjite, üst solunum yolu enfeksiyonlarına, kronik ülser ve yaralara karşı kullanıldığını belirtilmiştir [36].

Obaseiki-Ebor ve ark. (1983), distile balın antimikrobiyal aktivitesi üzerine yaptıkları ilk çalışmada, gram pozitif ve gram negatif bakterilerin çoğunun balın %40 konsantrasyonu ile inhibe edildiğini ifade etmişlerdir [37].

Obaseiki-Ebor ve Afonya (1984), balın %50 ve üzeri konsantrasyonlarının *E.coli*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydi* ve *Clostridium jejuni*'nin gelişimini iyi bir şekilde inhibe ettiğini bildirmişlerdir [38].

Jeddar ve ark. (1985), balın gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı *in vitro* antibakteriyel aktivitesini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda balın % 40 ve üzeri konsantrasyonlarının bakterilere karşı inhibitör etkiler gösterdiğini belirlemişlerdir [39].

Farouk ve ark. (1988), Sudan'ın farklı yerlerinden toplanan bal örneklerinin hem standart test organizmalarına hem de enfekte yaralardan elde edilen klinik izolatlara inhibitör etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmada septik yaralar, kronik ülserler ve piyogen (iltihaplı) çıbanlara karşı yapılan günlük bal tatbikinin

sağlıklı dokuların gelişimini hızlandırdığı ve yaraların temizlenmesinde olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir [40].

Ali ve ark. (1991), gram pozitif ve gram negatif bakterilerle *Helicobacter pylori* gelişiminin % 20'lik bal konsantrasyonu ile inhibe edildiğini bildirmişlerdir [43]. Antimikrobiyal ajanlara direnç gösteren izolatların bile bala duyarlı olduğu rapor edilmiştir [44].

Obi ve ark. (1994), ishale neden olan bakteri ırklarının lokal izolatlarına karşı balın antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda balın % 40 ve üzeri konsantrasyonlarının test edilen tüm enteropatojenlere inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir [41].

Steinberg ve ark. (1996), balın oral bakteriler üzerindeki *in vivo* ve *in vitro* antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda balın yüksek konsantrasyon ve *in vitro* koşullarda *Streptococcus mutans*'ın gelişimini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Bal alımından 1 saat sonra ise tükürükte bulunan toplam bakteri ve *S. mutans* sayısında azalma gözlemlendiğini belirtmişlerdir [42].

Taormina ve ark. (2001), balın 7 tip mikroorganizma (*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) üzerine katalaz enzimi ile birlikte etkilerini araştırmış, sonuçta balın bu bakterilerin gelişimini yavaşlattığı ve özellikle *Bacillus cereus*'un üremesini tamamen durdurduğu, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *S. sonnei*'nin üremesinin engellenmesinde % 25 oranında başarılı olduğunu tespit etmişlerdir [45].

Mansour (2002), balın patojen mikroorganizmalarının vejetatif formlarından başka spor formlarına da etkili olduğunu ve bu sayede özellikle *Clostridium botulinum*'un spor formlarını yok edebildiğini belirtmiştir [46].

Yapısının % 80'ini fruktoz ve glikozun oluşturduğu balların 21 çeşit bakteriye ve özellikle *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı inhibe edici etkisi olduğu, glukoz ve fruktoz oranının % 40'a kadar düşürülmesi ile gram pozitif ve gram negatif birçok bakteriye (*Escherichia coli*, *Salmonella* gibi) inhibe edici etkisinin devam ettiği ortaya konulmuştur [47].

Mundo ve ark. (2004), farklı floral ve coğrafik kaynaklardan elde edilen 27 adet balın *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* ve *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum* ve *Penicillium expansum*'a karşı antimikrobiyal etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışmaların sonucunda balın % 17'den %100 (w/v)'e varan konsantrasyonlarının bakteriyel büyümeyi durdurduğu belirtilmiştir. Ancak test edilen balların herhangi birinde antifungal aktiviteye rastlanılmamıştır [48].

Balın *Bacillus cereus*' un spor germinasyonunu engellediği, aerob ve anaerob, gram pozitif ve gram negatif bakterilere etkili olduğu rapor edilmiştir. Bundan başka balın in vitro koşullarda Rubella virüsüyle [49] *Leishmania* parazitinin üç türünü [50] ve *Echinococcus*'u [51] inhibe ettiği bildirilmiştir.

Malika ve ark. (2004), antibiyotiğe dirençli bakteri ırklarına karşı aromatik ve tıbbi bitkilerden elde edilen balların antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda balların %25 ile %50 (hacim/hacim) konsantrasyonlarının test edilen bakterilerin çoğunu inhibe ettiği belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca balların gram negatif bakterilere olan etkisinin gram pozitiflere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir [52].

Kumar (2005), antibiyotiğe dirençli *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* izolatlarına karşı dağlık bölgelerden elde ettiği balların diğer ballara göre daha fazla antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirtmiştir [53].

Dastouri ve ark. (2008), % 40 ve üzeri konsantrasyonlarda balın *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *Pasturella multocida*, *Proteus vulgaris* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini ve en iyi aktivitenin de balın % 80 konsantrasyonundan alındığını belirtmişlerdir [54].

Basson ve Grobler (2008), Güney Afrika'da üretilen balların *Streptococcus mutans* (NCTC 10449), *S. salivarius* (NCTC 8618), *S. sanguis* (NCTC7864), *S. anginosus* (NCTC 10708), *S. gordonii* (NCTC 3165), *S. oralis* (NCTC 11427) *S. sobrinus* (NCTC 10921), *Candida albicans* (NCPF 3118), *Escherichia coli* (NCTC 9001) ve *Staphylococcus aureus* (NCTC 8530)'a karşı antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda *C. albicans* ballara bakterilerden daha fazla direnç göstermiştir. Buna karşılık *S. anginosus* ve *S. oralis* ballara diğer test bakterilerinden daha duyarlı bulunmuştur [55].

Omafuvbe ve Akanbi (2009), Nijerya'nın farklı coğrafik bölgelerden topladıkları 10 adet balın *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Clostridium sporogenes* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmada test edilen balların yüksek konsantrasyonları (%50-%100), *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Clostridium sporogenes*'i inhibe etmiştir. Buna karşılık bal örneklerinin *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'a karşı inhibitör etkiler göstermediği bildirilmiştir [56].

Hamdi ve Nzeako (2000), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın standart ırklarına karşı 6 adet ticari balın antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda bal örneklerinin bu standart organizmalar üzerinde farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite sergilediğini kaydetmişlerdir [57].

Ceyhan ve Uğur (2001), 84 adet bal örneğinin 8 patojenik bakteri ile 2 fungusu karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda kekik, kekik-meşe, çam-keçiboynuzu, çam-keçiboynuzu-anason ve çam-kestane

floral kaynaklarından elde edilen balların diğer ballara göre daha etkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmada balların % 50 (w/v)' lik konsantrasyonlarının çoğu test edilen bakterilerin gelişimini inhibe etmiştir. Balın antimikrobiyal aktivitesi göz önünde bulundurulduğunda ise fungusların bakterilerden daha dirençli olduğu tespit edilmiştir [58].

Hazır ve Keskin (2002), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan balların antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında gram pozitif ve gram negatif bakterilerle birlikte bir maya (*Candida albicans*) türü de kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre bal örneklerinin daha çok % 50 ve üzeri konsantrasyonları, bakterilere karşı inhibitör etki göstermiştir. Ancak maya türüne karşı herhangi bir aktivite belirlenmemiştir [59].

Mercan ve ark. (2007), Türkiye'nin farklı illerinden toplanan bal örneklerinin *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Morganella morganii*, *Micrococcus luteus* NRRL B-4375, *Escherichia coli* ATCC 35218 ve *Candida albicans*' a karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan balların %75'lik konsantrasyonlarının çoğu, test edilen bakterilerin gelişimini inhibe etmiştir. İzmir' den toplanan bal örneklerinin diğer ballara göre *P. aeruginosa*, *E. coli*, ve *S. aureus*' e karşı daha etkin olduğu saptanmıştır. Muğla'dan toplanan bal örneğinin ise *C. albicans* üzerinde yüksek antikandidal aktivite gösterdiği belirlenmiştir [60].

Beretta ve ark. (2005), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre farklı floral ve coğrafik kaynaklardan elde edilen 14 adet ticari balın antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda DPPH serbest radikalının %50 inhibisyonuna neden olan bal konsantrasyonlarının 1,63±0,17 ile 47,62±0,39 mg/ml arasında değiştiğini belirtmişlerdir [61].

Beretta ve ark. (2007), doğal balın hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini tamamen inhibe ettiğini, hücre zararını önleyerek lipofilik cumoxyl ve

cumoperoxyl radikallerine karşı güçlü süpürücü aktiviteler gösterdiğini belirtmişlerdir [62].

Pérez ve ark. (2007), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre salgı balı, salgı balıyla karışık çiçek balı ve çiçek balı olarak üç gruba ayırdığı 53 adet balın antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda 25 mg/ml' de ortalama olarak salgı balının % 70, salgı balıyla karışık çiçek balının % 41,1 ve çiçek balının % 20,7 radikal süpürme aktivitesinin olduğu belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca toplam fenol içeriği ile antioksidan aktivite arasında pozitif korelasyon bulunmuştur [63].

Baltrušaitytė ve ark. (2007), bitki ekstraktları (çam, huş ve ısırgan) kullanarak elde edilen balların doğal ballara göre daha fazla apigenin içerdiklerinden, daha yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduklarını belirtmişlerdir [64].

Sangsrichan ve Wanson (2008), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre Tayland'ın kuzey bölgesinden topladıkları 10 adet balın antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmada test ettikleri bal örneklerinin 500 mg/ml' sinin % 32 ile % 44 arasında değişen radikal süpürme aktivitesinin olduğunu rapor etmişlerdir [65].

Giorgiana ve ark. (2008), salgı balı, salgı balıyla karışık çiçek balı ve çiçek balı olarak üç gruba ayırdığı bal örneklerinin antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda salgı ballarının en yüksek çiçek ballarının ise en düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [66].

Bobis ve ark. (2008), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre Romanya'nın farklı yerlerinden toplanan salgı ballarının antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda 0,1 mg/ml' de test ettikleri balların %47,84 ile %62,99 arasında değişen radikal süpürme aktivitelerinin olduğu belirtilmiştir [67].

Hegazi ve El-Hady (2009), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre farklı floral kaynaklardan elde edilen 4 adet balın antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda koyu renkli balların açık renkli ballara göre daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir [68].

Margnitas ve ark. (2009), akasya, ayçiçeği, ıhlamur ve salgı ballarından oluşan 24 adet balın fizikokimyasal özelliklerini, toplam fenol, toplam flavonoid içeriği ile antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada salgı ballarının, toplam fenol ve toplam flavonoid içeriği bakımından diğer ballara göre daha üstün olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca çalışmada radikal süpürme aktivitesiyle toplam fenol içeriği arasındaki ilişkinin, radikal süpürme aktivitesiyle toplam flavonoid içeriği arasındaki ilişkiden daha yüksek olduğu belirtilmiştir [69].

R. Socha ve ark. (2009), farklı yerlerden toplanan 10 adet tıbbi balın fenolik bileşenleriyle antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda toplam polifenol ve flavonoid içeriği yüksek olan ahududu, kekik ve alıç gibi koyu renkli balların daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir [70].

Ulusoy ve ark. (2007), iki farklı Anzer Balı ile bir adet polenin fenolik bileşenlerini, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Test ettikleri tüm örneklerin DPPH radikalini süpürme yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir. Toplam polifenol miktarlarını ise Bal 1, Bal 2 ve Polen için 0,218, 0,223 ve 0,869 mg polifenol/mg fenolik ekstrakt olarak saptadıklarını ve en fazla toplam polifenol içeriğine sahip olan polenin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir [71].

Akbulut ve ark. (2008), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre Batı Anadolu'dan topladıkları çam ballarının antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda DPPH serbest radikalinin %50 inhibisyonuna neden olan bal konsantrasyonlarının 25,65 ile 50,78 mg/ml arasında değiştiğini belirtmişlerdir [72].

Ulusoy ve ark. (2010), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinden elde ettikleri 9 adet balın antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda DPPH serbest radikalının % 50 inhibisyonuna neden olan bal konsantrasyonlarının, 84 ile 296 µg/ml arasında değiştiğini rapor etmişlerdir [73].

Dormal ve Çakıllar (1960), pestisitlerin ülkemizde üreticiler tarafından daha fazla ve kaliteli ürün elde etmek amacıyla gelişi güzel kullanıldığını, bunun da özellikle kalıntı ve dayanıklılık gibi pek çok sorunu beraberinde getirdiğini belirtmişlerdir. Pestisit kalıntıları ile ilgili ilk çalışmaların 1940'lı yıllarda başladığını, bu çalışmaların tolerans değerlerinin tespit edilmesi ve tespit edilen tolerans değerlerine göre son ilaçlama ile hasat arasındaki sürenin belirlenmesi çalışmaları olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar Walker ve ark. (1954)' na atfen 1950' li yıllarda Amerika Birleşik Devletlerinde pestisit kalıntısı araştırmalarının başladığını, Harries ve ark. (1969)' na atfen de İngiltere'de bu tip çalışmaların 1960' lı yıllarda başlayıp yürütüldüğünü belirtmektedirler [74].

Güvener ve ark. (1992), ülkemizde amitraz ve malathion ile ilaçlanmış ballardaki kalıntı miktarını 1980–1986 yılları arasında belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmalarında ilaçlama yapılan kovanlarda amitraz analizlerinden bir sonuç alamamışlar, malathion kalıntısını ise tolerans seviyesinin altında bulmuşlardır [75].

Selçukoğlu (1999), Çukurova'da yaygın şekilde kullanılan amitraz ve fluvalinate kalıntısı bakımından 135 bal örneğini incelemiş; hiçbirinde fluvalinate kalıntısına rastlamadığını belirtmiştir. Buna karşılık 25 örnekte amitraz kalıntısına rastladığını, örneklerin %72'sinde kalıntı düzeyinin 3,1–12 mg/kg arasında olduğunu ve bunların da en yüksek dilimi içerdiğini tespit etmiştir [76].

Fıratlı ve ark. (2000), gerek iç piyasada, gerekse dış satımda bal ve bal ürünlerinin pazarlanmasında ciddi sorunlar yaşandığını belirtmiştir. Türkiye ballarının kalıntı içerdiği, standartlara uymadığı gibi gerekçelerle iade edildiklerini,

hatta AB (Avrupa Birliği)' nin Türkiye' den bal dışalımmı 1999 yılı için askıya aldığını belirtmişlerdir [14].

Kolankaya ve ark. (2001 b), 2000 yılında bal ve polen örneklerinde yapılan GC analizleri sonucunda amitraz ve perizin uygulaması yapılan hiçbir örnekte bu insektisitlere ait kalıntı saptanmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca kalıcı ve yağda çözünen insektisitlerin yağda çözündükleri için bal mumunda da çözünerek balmumu içinde biriktiğini ve zamanla bu miktarın artış gösterdiğini açıklamışlardır. Bal mumu içinde depolanan bu maddelerin bal mumunun tekrar kullanımı ile zamanla bala doğru hareket edebildiğini, bu nedenle de bal mumundaki konsantrasyon ne kadar yüksek olursa, balda da o kadar kalıntı tespit edilebildiğini belirtmişlerdir. Yağda znen insektisitlerden olan amitrazın balda ve balmumunda stabil olmadığı için kalıntısının saptanamadığını ancak daha toksik olan 2,4 dimethlanilin metabolitinin balmumunda ölçülebilir olduğunu belirtmişlerdir [77].

der (1983), varroa savaşımında kullanılan amitraz'ın, bol ve ucuz olması nedeniyle en çok kullanılan varroa mücadele ilaçları arasında yer aldığını ifade etmiştir [78].

Kayral (1993), lkemizde varroa'ya karşı kullanılan ilaçların dünya ülkeleri ile paralel olduğunu ifade etmiştir. Amitraz'ın genellikle fumigant olarak bilindiğini ve daha çok fumigant şeritler ile tabletler şeklinde kullanıldığını belirtmiştir. Türkiye Kalkınma Vakfı tarafından yapılan araştırmalarda amitraz'ın ülkemizde varroa'ya karşı en çok kullanılan ilaçlar arasında olduğu belirtilmiştir [79].

Aydın ve ark. (2003), Güney Marmara Bölgesinde 2002 Mart ayında yapmış oldukları ankette arıcılara zarar veren en önemli hastalığın varroa (% 58) olduğunu belirtmişlerdir. Varroa' nın tedavisinde de en çok kullanılan etken madde amitraz (% 53) olurken en az kullanılan etken maddenin (% 4) formik asit olduğunu ifade etmişlerdir [80].

Bulakeri ve Tufan (1986), Marmaris-Fethiye yörelerinden toplanan 134 bal örneğinin pestisit kalıntılarını araştırmış ve 27 adet bal örneğinde malaoxone kalıntısı bulmuşlardır. Sonraki yıllarda malaoxone kalıntısına giderek daha az rastlandığını belirtmişlerdir [81].

Taccheo (1988), amitrazın balda kalıcı olmadığını ve 3–4 hafta içerisinde tamamen metabolitlerine ayrıştığını vurgulamıştır [82].

Hammerling ve ark. (1991), Almanya’da 1986 ile 1990 yılları arasında 330 adet bal örneğini amitraz kalıntısı yönünden analiz etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda bal örneklerinin % 60’ında kalıntıya rastlanmadığı ancak örneklerin % 8,5’inde 0,05 mg/kg’ dan daha fazla miktarlarda amitraz kalıntısı bulunduğu belirtilmiştir [83].

Neri ve ark. (1992), son amitraz uygulamasıyla hasat arasında 4 hafta geçmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Ayrıca bu şekilde kullanılmayan ilaçların balda kalıntı sorununa neden olduğunu ifade etmişlerdir [84].

Fernandez ve Lozano (1993), gaz kromatografisi ile spektrofotometrik yöntemler kullanarak amitraz, bromoprophylate, coumaphos ve fluvalinate’ın ballardaki kalıntısını incelemişler ve kalıntı değerlerinin 1-40 µg/kg arasında değiştiğini ifade etmişlerdir [17].

Greef ve ark. (1994), Belçika’da fulvalinate ile ilaçlanan kovanlardan alınan 215 bal örneğinden sadece 1’ inde çok düşük düzeyde kalıntı belirlemişlerdir. Buna karşılık balmumunda kalıntı saptanan örnek sayısı yıllara göre değişerek (% 25-95) farklı oranlarda gözlemlendiğini ifade etmişlerdir [85].

Garcia ve ark. (1995), 1988, 1989 ve 1990 yıllarında İspanya’dan topladıkları 177 adet bal örneğinin 69’unda 1-116 µg/kg arasında değişen 6 adet organofosfor pestisit kalıntısına rastlamışlardır [86].

Fléché ve ark. (1997), 1986 ile 1996 yılları arasında 615 adet Fransız balını analiz etmişler, örneklerin %17,5’de pestisit kalıntılarının bulunduğunu belirlemişlerdir [87].

Anju ve ark. (1997), Hindistan’da satışa sunulan 27 adet bal örneğini, organoklorin, sentetik pyrethroid, organofosfor ve carbamate kalıntıları yönünden incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda test edilen örneklerin tamamı en az bir pestisit ile kontamine edilmiştir. Çalışmada farklı 10 organoklorin pestisit kalıntısının, 0,01 ile 6 mg/kg arasında değiştiği ve bu değerlerin çoğunun da 0,5 mg/kg’ nın altında olduğu tespit edilmiştir. Farklı 8 organofosfor ve 3 carbamate kalıntısının ise 0,1 ile 9 mg/kg arasında değiştiği belirtilmiş ve bu değerlerin organoklorin pestisitlere göre daha yüksek olduğu anlaşılmıştır [88].

Tsigouri ve ark. (2000), Yunanistan’da yapmış oldukları bir çalışmada analiz edilen 66 balmumu numunesinin hepsinde 0,44-30,1 mg/kg arasında değişen fluvalinate kalıntılarının bulunduğunu tespit etmişlerdir [89].

Blasco ve ark. (2003), İspanya ve Portekiz’den elde edilen toplam 50 adet bal örneğini, organoklorin, carbamate ve organofosfor pestisit kalıntıları yönünden incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda balda bulunan pestisit kalıntılarının çoğunun organoklorinlerden oluştuğu belirtilmiştir. Çalışmada İspanyol ballarının % 35’inin Portekiz ballarının ise % 66’sının γ - heksaklorosiklohektan ile kontamine edildiği rapor edilmiştir [90].

Mullin ve ark. (2010), test ettikleri koloni örneklerinde 150’nin üzerinde farklı pestisit kalıntısının bulunduğunu, en yüksek pestisit kalıntısının da balmumunda biriktiğini rapor etmişlerdir [91].

Morlat ve Beaune (2003), 2002 yılında Türkiye’den ithal edilen balların % 27,8’de streptomisin (10-20 μ g/kg), % 5,7’de tetrasiklin kalıntılarının (10-20 μ g/kg) bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada ayrıca Türk ballarının % 82,1’nin, İspanyol

ballarının % 17,1'nin ve Fransız ballarının da % 2,9'unun sulfa grubu antibiyotiklerle kontamine edildiği belirtilmiştir [92].

Dharmananda (2003), 2002 yılı boyunca Çin'de üretilen balların çoğunda 0,3 ile 34 µg/kg arasında değişen kloramfenikol kalıntılarının bulunduğunu belirtmiştir [93].

Reybroek (2003), Belçika'da yerel olarak üretilen bal örneklerinin % 1,6'sının streptomisin, % 2,8'nin tetrasiklin, % 4,2'nin de sulfanomid kalıntısı içerdiğini belirtmiştir. Belçika'ya ithal edilen bal örneklerinin ise % 47,2'sinin streptomisin, %29,6'sının tetrasiklin, % 31,6'sının sulfanomid ve % 47,1'inin de kloramfenikol kalıntısı içerdiğini bildirmiştir [94].

Kaufmann ve Kaenzig (2004), baldaki sulfanilamid kalıntılarının sadece kovanda bakteriyel hastalıklara karşı kullanılmasından değil, aynı zamanda zirai mücadelede herbisit olarak kullanılan asulam'ın metabolitlerine parçalanmasından da kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir [95].

Ortelli ve ark. (2004), 34'ünün Asya ülkelerinden ithal edildiği İsviçre marketlerinde satılan toplam 75 adet bal örneğinin 13'de 0,4 ile 6 µg/kg arasında değişen kloramfenikol kalıntılarının bulunduğunu belirlemişlerdir [96].

Fransa [92], Belçika [94] ve İsviçre'ye [97] ithal edilen balların % 20'si ile % 50'sinde çoğunlukla streptomisin, sulfonamid, tetrasiklin ve kloramfenikol gibi antibiyotik kalıntılarına rastlandığı bildirilmiştir.

Saridaki-Papakonstadinou ve ark. (2006), sıvı kromatografisi kullanarak Yunanistan'da üretilen 251 adet bal örneğinin tetrasiklin kalıntılarını incelemişlerdir. Çalışmada test edilen örneklerinin % 29'unda çoğunluğu 0,018 ile 0,055 mg/kg arasında değişen tetrasiklin kalıntılarının bulunduğu belirtilmiştir [98].

Solomon ve ark. (2006) kauçuk ve muz ekinlerinin çiçeklenme zamanı boyunca arı kovanlarından elde ettikleri nektar ve bal örneklerinin antibiyotik kalıntılarını incelemişlerdir. Çalışmada sırasıyla nektar ve bal örneklerinin 4-17 ile 11-29 µg/kg streptomisin, 2-29 ile 3-44 µg/kg ampisilin ve 17-34 ile 26-48 µg/kg kanamisin içerdiği tespit edilmiştir [99].

Diserens (2007), test ettiği 3855 adet bal örneğinin % 1,7'sinin antibiyotik kalıntıları yönünden Avrupa standartlarına uygun olmadığını belirtmiştir. Çalışmada bal örneklerinin 3,0-10,820 µg/kg streptomisin, 5,0-4,592 µg/kg sulfonamid, 5,0-2,076 µg/kg tetrasiklin, 0,1-169 µg/kg kloramfenikol, 0,3-24,7 nitrofuran, 2,0-18 µg/kg tilosin, 1,0-504 µg/kg klonon kalıntıları içerdiği rapor edilmiştir [100].

Vidal ve ark. (2009), analiz ettikleri 16 adet bal örneğinden 3'ünde 8,6 µg/kg' a varan eritromisin kalıntılarının bulunduğunu belirtmişlerdir [101].

Baggio ve ark. (2009), 2001-2007 yılları arasında İtalya'dan topladıkları 5303 adet bal örneğinin tetrasiklin, sulfonamid, streptomisin, kloramfenikol ve tilosin kalıntılarını incelemişlerdir. Çalışmada balların % 6,3'de analiz edilen antibakteriyel ilaçlara rastlanmıştır. Örnekler arasında ithal edilen ballar ile marketlerde satılan balların yerel olarak üretilen ballara göre daha fazla antibakteriyel kalıntılar içerdiği belirtilmiştir. Sulfonamidler analiz edilen aktif maddeler arasında en çok rastlanan antibakteriyel madde olmuş, bunu tetrasiklin, streptomisin, tilosin ve kloramfenikol' ün izlediği rapor edilmiştir [102].

Sheridan ve ark. (2008), 25 farklı ülkeden temin edilen 116 adet bal örneğini, sulfonamid ve kloramfenikol kalıntıları yönünden incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda balların % 38'de test edilen antibiyotik kalıntılarında en az birine rastlanmıştır. Çalışmada Doğu Avrupa ülkelerinden temin edilen balların % 47'sinde sulfatiazol, % 26'sında ise kloramfenikol kalıntılarının bulunduğu belirtilmiştir [103].

Güneş ve ark. (2008), Türkiye'nin Güney Marmara bölgesinden topladıkları kestane, çam, ıhlamur ve çiçek ballarından oluşan 50 adet bal örneğinin eritromisin kalıntılarını incelemişlerdir. Çalışmada test edilen bal örneklerinin % 8'inde 50 ile 1776 µg/kg arasında değişen eritromisin kalıntılarının bulunduğu belirtilmiştir [104].

Güneş ve ark. (2009), Türkiye'nin Güney Marmara bölgesinden topladıkları kestane, çam, ıhlamur ve çiçek ballarından oluşan 50 adet bal örneğinin oksitetrasiklin ve sulfonamid kalıntılarını incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda analiz edilen herhangi bir antibakteriyel kalıntıya rastlanılmamıştır [105].

1.1 Balın Bileşenleri

Balın bileşimi floral kaynaklara bağlı olarak oldukça değişkenlik gösterir. Bununla birlikte balın bileşimini mevsimsel ve çevresel faktörlerle balın işlenme süreci de etkileyebilmektedir. Balın yapısında 181'in üzerinde madde bulunmaktadır [106]. Bal, başlıca fruktoz (% 38) ve glikozdan (% 31) oluşmakta, mineral, protein, serbest aminoasit, enzim ve vitaminler de içermektedir [107, 108]. Balda çok sayıda minör bileşen bulunmakta ve bunların çoğunun antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Bunlar fenolik asitler, flavonoidler [109, 110], bazı enzimler (glikoz oksidaz, katalaz) [111] ve aminoasitlerdir [112, 113]. Tablo 1.1 çiçek ve salgı balında bulunan bileşenlerin ortalama yüzdelerini göstermektedir.

Tablo 1.1 Çiçek ve salgı balarında bulunan bileşenlerin ortalama yüzdesi (g/100 g) [114, 115].

Bileşen	Çiçek Balı	Salgı Balı
Su içeriği	17,2	16,3
Fruktoz	38,2	31,8
Glukoz	31,3	26,1
Sükroz	0,7	0,5
Disakkaritler	5,0	4,0
Melezitoz	<0,1	4,0
Erloz	0,8	1,0
Oligosakkaritler	3,6	13,1
<i>Toplam şekerler</i>	<i>79,9</i>	<i>80,5</i>
Mineraller	0,2	0,9
Proteinler	0,3	0,6
Toplam asitler	0,5	1,1
pH	3,9	5,2

1.1.1 Karbonhidrat İçeriği

Özellikle monosakkaritlerden fruktoz ve glukoz başta olmak üzere balın kuru ağırlığının yaklaşık % 95'ini karbonhidratlar oluşturmaktadır. Bal, yüksek derecede şekerlerin oluşturduğu kompleks bir karışımdır ve bu şekerlerin çoğu ince bağırsakta çabucak sindirilebilen formdadır. Bununla birlikte balda yaklaşık 25 farklı oligosakkarit de bulunmaktadır [116, 117]. Ancak bu oligosakkaritlerin çoğu nektarda bulunmamakta, balın olgunlaştırılması ve depolanması sırasında baldaki asitlerle arı enzimlerinin etkileşimi sonucu meydana getirilmektedir [118]. Sindirim sürecinde, baldaki temel karbonhidratlar vücuda alındıktan sonra, fruktoz ve glikoz hızla kana taşınmakta ve insan vücudu tarafından enerji ihtiyaçları için kullanılmaktadır. Balın 20 g'lık dozu gerekli günlük enerjinin yaklaşık % 3'ünü karşılamaktadır [119].

1.1.2 Protein, Enzim ve Aminoasit İçeriği

Bal ortalama olarak % 0,5 düzeyinde protein içermektedir. Bu proteinlerin çoğunu da enzimlerle serbest aminoasitler oluşturmaktadır. Bununla birlikte farklı floral kaynaklardan elde edilen balların protein içeriğinin 1000 µg/g'ın üzerinde olduğu belirtilmiştir [120]. Ne var ki, bu değer günlük protein alımına olan katkısı çok azdır.

Diastaz (amilaz), invertaz ve glikoz oksidaz balda bulunan başlıca enzimlerdir. Diastaz, nişasta ve glikojeni daha küçük şeker birimlerine ayrıştırmaktadır. İvertaz, (sukraz, α-glikosidaz) sükrozu fruktoz ve glikoza indirgemektedir. Glikoz oksidaz ise glikozdan hidrojen peroksit ve glukonik asitin oluşmasını sağlamaktadır [119].

Aminoasitler balın kalitesiyle botanik orijininin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Polen baldaki aminoasitlerin ana kaynağı olduğu için aminoasit profili balın botanik orijininin bir kanıtı olarak değerlendirilmektedir. Serin (Ser), histidin (His), lizin (Lys), glisin (Gly), teronin (Thr), arjinin (Arg) ve prolin (Pro) gibi balda 26 adet aminoasit bulunabilmektedir [63, 113, 121, 122]. Prolin balda bulunan aminoasitler arasında en yüksek düzeyde olanıdır ve toplam serbest aminoasitlerin yaklaşık % 50'sine karşılık gelmektedir [123]. Arılar tarafından bala katılan prolin aminoasidi balın bir olgunluk ölçüsüdür [124]. Normal bir balın prolin içeriği 200 mg/kg'ın üzerinde olmalıdır. Prolin içeriğinin 180 mg/kg'ın altında olması bala yabancı madde katıldığını göstermektedir.

1.1.3 Vitamin ve Mineral İçeriği

Balın mineral madde miktarı farklı floral kaynaklara bağlı olarak 0,02 ila 1,03 g/100g arasında değişmektedir. Bununla birlikte koyu renkli ballar açık renkli ballara göre daha fazla mineral madde içermektedir [125]. Balda potasyum başta olmak üzere kalsiyum, bakır, mangan ve fosfor gibi mineraller bulunmaktadır [126].

Balın vitamin içeriği düşüktür. Phyllochinon (K), thiamin (B1), riboflavin (B2), pyridoxin (B6) ve niacin balda rapor edilen vitaminlerdir.

1.1.4 Aroma İçeriği

Aroma profili bir gıda ürününün organoleptik kalitesini ve güvenilirliğini gösteren en önemli özelliklerinden biridir [127]. Çok sayıda uçucu bileşenden dolayı aroma profili bir gıda maddesinin orijininin belirlenmesinde kullanılan “parmak izi” dir [128]. Çünkü, bir çok aroma yapılı bileşik botanik kaynağına göre değişebilen farklı tip ballarda farklı profiller sergilemektedir [129]. Nitekim okaliptüs ballarının uçucu bileşenlerden nonanol, nonanal ve nonanoic asit içermesi, diğer ballara göre kolaylıkla ayırt edilebilmesini sağlamıştır. Bununla birlikte süpürge otu (*Erica spp.*) ballarında yüksek derecede isophorone (3,5,5-trimethylcyclohexen-2-enone) bulunmuştur [130, 131]. Metil anthranilate *Citrus* ballarının karakteristik bir bileşeni olarak tanımlanmıştır.

1.1.5 Polifenol İçeriği

Polifenoller balın görünüşüyle fonksiyonel özelliklerinden sorumludur. Balda başlıca polifenollerden flavonoidler (quercetin, luteolin, kaempferol, apigenin, chrysin, galangin), fenolik asitler ve fenolik asit türevleri bulunmaktadır [132, 133, 134, 135, 136]. Balın flavonoid içeriği nektar, polen ve propolis kaynaklarına bağlı olarak 2 ile 46 mg/kg arasında değişmektedir [137]. Açık renkli ballar flavonoid içeriği bakımından koyu renkli ballara göre daha üstündür [138]. Diğer taraftan koyu renkli balların daha fazla fenolik asit içerdiği belirtilmektedir. Bununla birlikte fenolik bileşikler biyokimyasal belirteçler olarak balın coğrafik orijiniyle antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Başlıca üç fenolik familyanın dağılımı (benzoik asitler, cinnamic asitler ve flavonoidler) farklı floral orijinli ballarda farklı profiller sergilemektedir. Bu nedenle fenolik bileşiklerin karakteristik

dağılım şablonu, balın floral orijinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır [133, 139]. Tablo 1.2 balda tanımlanan fenolik asitler ve flavonoidleri göstermektedir.

Tablo 1.2 Farklı floral kaynaklı ballarda tanımlanan fenolik asitler ve flavonoidler

Fenolik asitler	Flavonoidler
4-Dimethylaminobenzoic asit	Apigenin
Caffeic asit	Genistein
p-Coumaric asit	Pinocembrin
Gallic asit	Tricetin
Vallinic asit	Chrysin
Syringic asit	Luteolin
Chlorogenic asit	Quercetin 3-methyl ether
	Kaempferol
	Quercetin
	Galangin
	Pinobanksin
	Myricetin

1.2 Balın Fizyolojik ve Sağlık Etkileri

1.2.1 Antimikrobiyal Aktivite

Günümüzde antibiyotiğe dirençli mikrobiyal türlerin varlığı bal da dahil olmak üzere eski ilaçların terapotik kullanımının yeniden değerlendirilmesine neden olmuştur [140]. Pek çok araştırma balın MRSA ve VRE dahil çok sayıda mikroorganizmaya etkili olduğunu göstermektedir [141]. Yüksek antimikrobiyal aktivite; ozmotik etki, asidite, hidrojen peroksit ve non-peroksit faktörlerin sonucudur [39].

1.2.1.1 Ozmotik Etki

Balın ozmotik etkisi yapısında bulundurduğu şekerlerden kaynaklanmaktadır. Su molekülleriyle beraber şeker moleküllerinin güçlü etkileşimi, mikroorganizmalar için gerekli olan çok az miktarda su molekülünü serbest bırakmaktadır. Bu “serbest” su, su aktivitesi (a_w) olarak ölçülmektedir. Çoğu mikroorganizmanın optimum gelişme gösterebilmesi için su aktivitesinin minimum 0,9 ile 1.00 olması gerekir ki [142], bu ancak %12 ile %2 arasında değişen tipik bir balın solüsyonlarına karşılık gelir [143]. Oysa seyreltilmemiş balın su aktivitesinin ortalama değerinin 0,562 ile 0,62 arasında değiştiği belirtilmektedir [144, 145. 146]. Yüksek miktarda su içeriğine sahip ballarda bazı mayalar yaşayabilmesine karşın, olgunlaşmış balın su aktivitesi herhangi bir bakteri türünün gelişimini desteklemede yetersiz kalmaktadır. Baldaki su içeriği %17.1’in altında olursa, fermantasyon olayı gerçekleşemez. Diğer taraftan, bazı türler su aktivitesi (a_w) 0,99 olduğunda maksimum büyüme oranı gösterirler. Bu yüzden sulandırılmış balın ozmotik etkisiyle meydana getirilen inhibisyon, bakterilerin türüne göre değişmektedir. Tablo 1.3 besinler üzerinde gelişen mikroorganizmaların su aktivitesi aralığını göstermektedir [142].

Tablo 1.3 Besinler üzerinde gelişen mikroorganizmaların su aktivitesi aralığı

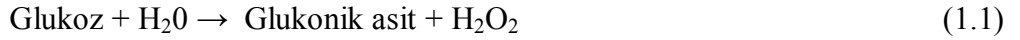
Su aktivitesi (a_w) aralığı	Bu aralıkta en küçük su aktivitesiyle inhibe edilen mikroorganizmalar
0.60–0.65	Ozmofilik mayalar (<i>Saccharomyces rouxii</i>), bazı küfler (<i>Aspergillus echinulatus</i> , <i>Monoascus bisporus</i>)
0.65–0.75	Kserofilik küfler (<i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Sallema sebi</i>), <i>Saccharomyces bisporus</i>
0.75–0.80	Halofilik bakteriler, Mikotoksijenik aspergilluslar
0.80–0.87	Mikotoksijenik penisilyumlar <i>Staphylococcus aureus</i> , most <i>Saccharomyces (bailli) spp.</i> , <i>Debaryomyces</i>
0.87–0.91	Mayalar (<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Hansenula</i>), <i>Micrococcus</i>
0.91–0.95	<i>Salmonella</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Serratia</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , bazı küfler ve mayalar (<i>Rhodotorula</i> , <i>Pichia</i>)
0.95–1.00	<i>Pseudomonas</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> ve bazı mayalar

1.2.1.2 Asidite

Bal karakteristik olarak pH' ı 3,2 ile 4,5 arasında değişen asidik bir yapı sergilemektedir [114]. Çoğu organizma için optimum pH değeri 7,2-7,4 arasında olduğundan [147], bu değer bir çok hayvan patojeninin inhibe edilmesi için yeterlidir [148]. Düşük pH balda bulunan glukonik asidin varlığına atfedilmektedir. Bazı patojenik türlerin gelişimi için minimum pH değerlerinin *E. coli* için 4,3, *Salmonella spp.* için 4,0, *Pseudomonas aeruginosa* için 4,4, *Streptococcus pyogenes* için 4,5 olduğu belirlenmiştir [149]. Bu yüzden seyreltilmemiş balda asidite önemli bir antibakteriyel faktördür.

1.2.1.3 Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksidin antibakteriyel aktiviteye olan katkısı “inhibine” adı altında ilk kez 1937’de Dold ve arkadaşları tarafından raporlanmıştır [150]. Daha sonra inhibine ilkesinin balda enzimatik reaksiyon sonucu ortaya çıkan hidrojen peroksitine bağlı olduğu bulunmuştur. Glikoz oksidaz enzimi, nektarın bala dönüşmesine yardım etmek amacıyla arıların hipofarengal bezlerinden nektar içerisine salgılanmaktadır [45]. Bal sulandırıldığında ise glikoz oksidaz aktif hale getirilmekte, glikoz okside edilerek glukonik asit ve hidrojen peroksit oluşturulmaktadır. Hidrojen peroksit ayrıştığında ise çok etkili serbest radikaller ortaya çıkmakta ve bu maddeler bakterileri etkileyerek ölümlerine neden olmaktadır. Böylece balın sulandırılmasıyla açığa çıkan aktivite, doku hasarına meydan vermeyecek bir düzeyde yavaşça serbest bırakılan antiseptik bir solüsyonun oluşumunu sağlamaktadır [20]. Bununla birlikte seri halde dört kez seyreltilen bir balın antibakteriyel aktivitesinde azalma gözlenmektedir [151].



Bir balın hidrojen peroksit derecesi aslında o balda bulunan katalazın miktarıyla belirlenmektedir [152]. Katalaz hidrojen peroksidi parçalayan bir enzimdir ve glikoz oksidazdan farkı polenden köken almasıdır. Dolayısıyla bir balın antibakteriyel aktivite derecesi arıların ne kadar polen topladığıyla ilişkilidir.

1.2.1.4 Non-peroksit Faktörler

Baldaki antibakteriyel aktivitenin tümü sadece hidrojen peroksit oluşumuna bağlı değildir. Hidrojen peroksit katalaz eklenerek ortadan kaldırılsa bile bazı ballarda hala önemli bir antibakteriyel aktivitenin olduğu görülür [148]. Buna non-peroksit antibakteriyel aktivite adı verilmektedir. Baldaki non-peroksit aktiviteyi lizozim, fenolik asitler ve flavonoidler oluşturmaktadır [45, 153, 154]. Bogdanov (1997), bitki kaynaklarına ek olarak non-peroksit aktiviteye arı kaynaklarının da

katkı sağladığını ileri sürmüştür [129]. Nitekim işçi arıların tükürük salgılarından bala karışan lizozim enzimi bakterilerin peptidoglikan tabakasındaki kimyasal bağları koparmaktadır. Bununla birlikte Wahdan, flavonoid ve fenolik asitlerin balın antibakteriyel aktivitesinin bir parçası olduğunu belirtmiştir. Balda bulunan flavonoidlerden guercetinin antibakteriyel aktivitesi, DNA giraz inhibisyonuna atfedilmektedir [155]. Non-peroksit aktiviteyi oluşturan bileşenlerin aksine hidrojen peroksit ısı, ışık ve depolamayla ortadan kaldırılabilir [129]. Ancak bu bileşenlerin antibakteriyel aktiviteye olan katkısı hidrojen peroksitle karşılaştırıldığında azdır [156]. Bu nedenle optimum antibakteriyel aktivite için bal serin ve karanlık bir yerde depolanmalı ve taze tüketiciler için tüketilmelidir.

Balların antibakteriyel aktivitelerinde farklılıklar görülebilmekte, bunun da bitki kaynağından ileri geldiği belirtilmektedir. Şu ana kadar dikkati çeken en büyük aktivite Yeni Zelanda’da bulunan özellikle de Kuzey Ada’ nın Doğu burnunda yetişen manuka balından (*Leptospermum scoparium*) alınmıştır. Manuka balının güçlü antibakteriyel aktivitesi spesifik antibakteriyel bir madde olan methylglyoxal (MGO)’in varlığına atfedilmektedir [157].

1.2.2 Antioksidan Aktivite

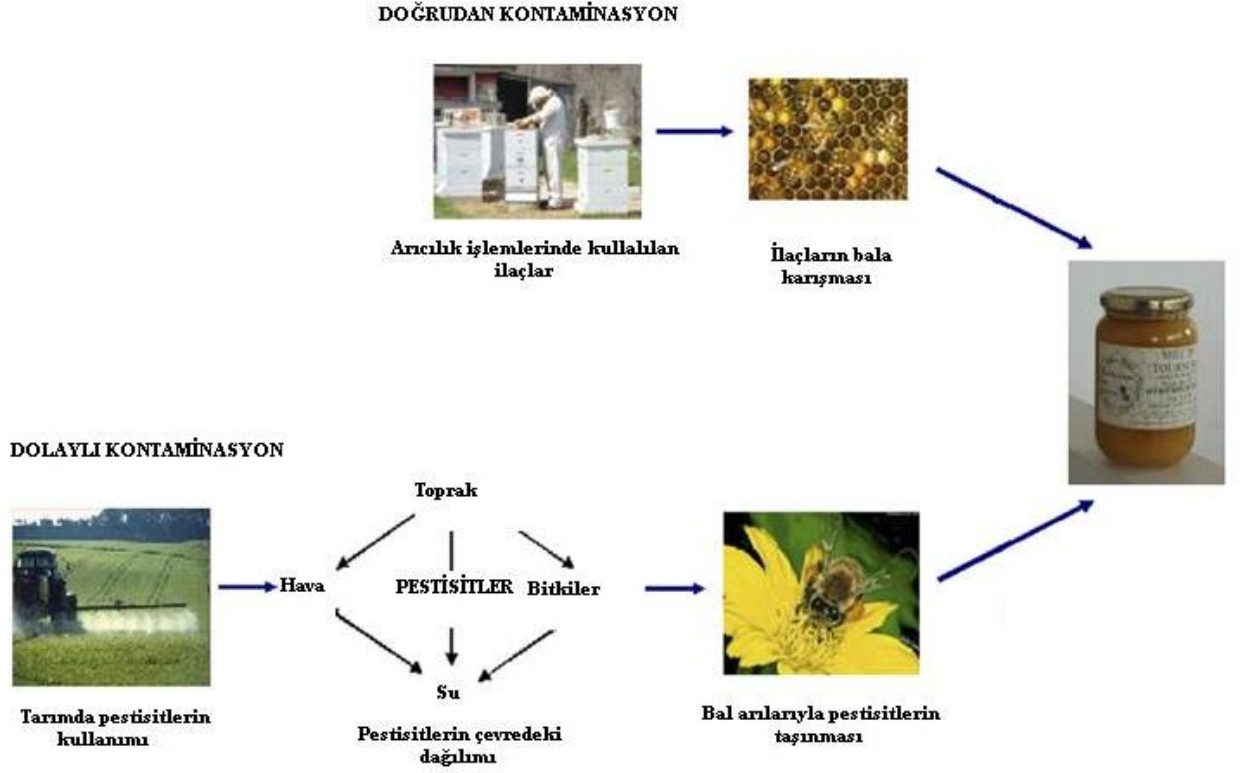
Antioksidan aktivite, O^{\cdot} , OH^{\cdot} ve lipit peroksit (LOO^{\cdot}) gibi serbest radikallerin insan vücudunda diğer moleküllerle etkileşime girerek oluşturdukları oksidatif reaksiyonları azaltma yeteneğidir. Serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücresel bileşenlere hasar verdiğinden kanser gibi pek çok hastalığın başlıca nedeni olarak düşünülmektedir. Baldaki bileşikler de bu serbest radikalleri süpüren ve organizmayı detoksifiye eden antioksidan maddeler içermektedir. Bunlar fenolik asitler, peptitler, organik asitler, enzimler, Maillard reaksiyon ürünleri ve düşük miktarda bulunan bileşiklerdir [61, 63, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164]. Genelde koyu renkli balların daha yüksek antioksidatif etkisi bulunmaktadır [165, 166, 167, 161, 162, 168, 69, 169, 170, 171]. Salgı, kestane (*Castanea sativa*), Karabuğday (*Fagopyrum sp.*), Süpürge otu (*Calluna vulgaris*),

Kekik (*Satureja*) ve Manuka (*Leptospermum scoparium*) gibi koyu renkli balların yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir.

Fenolik bileşikler ve flavonoidler balın antioksidan kapasitesine fazlasıyla katkıda bulunmaktadır [162, 172]. Örneğin fenol türevleri, tek başına ya da kombinasyon halinde antitümör ve antiinflatuar etkileri oluşturmada önemli rol oynamaktadır [173]. Bal ve propoliste mevcut bir flavonoid olan apigenin p53 tümörleri üzerinde durdurucu bir etki sergilemektedir [174, 175]. Bununla birlikte balın antitümöral etkileri birden fazla faktörü içine alan bir sürece atfedilmektedir. Bunlar (1) sitotoksik H₂O₂ salınışı [176], (2) bazı spesifik bileşenler (chrysin ve caffeic asit penyl etil ester) tarafından siklooksijenaz (COX-2) proteininin direkt olarak inhibisyonu [177], (3) iltihaba bağılı yarılmanın indüksiyonundan sorumlu reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı süpürücü etkiler olarak sıralanmaktadır [178]. Balda antioksidan aktivite floral kaynaklara bağılı olarak değışmekte, muhtemelen bitki içeriğindeki sekonder metabolitlerle enzim aktivitelerindeki farklılıklara dayanmaktadır.

1.3 Balın Kontaminantları

Bal ve diğeri arı ürünlerinin kontaminasyonu başlıca iki yoldan kaynaklanmaktadır. Bunlardan ilki doğrudan kontaminasyon olup arı hastalık ve zararlılarının sağaltımı amacıyla kovanda ilaç uygulamasıyla oluşmaktadır. Diğeri ise pestisitlerin zirai mücadelede kullanılması sonucu arıların bu maddeleri bal özü, çiçek tozları vb besinlerle kovana taşımalarından kaynaklanan dolaylı kontaminasyondur. Şekil 1.3 balın kontaminasyon yollarını göstermektedir.



Şekil 1.1 Balın kontaminasyon yolları

1.3.1 Doğrudan Kontaminasyon

Dünya arıcılığında Varroa akarı ve Yavru Çürüklüğü hastalıklarına karşı kullanılan ilaçlar balın doğrudan kontamine edilmesinde büyük önem taşımaktadır.

1.3.1.1 Varroa'ya Karşı Kullanılan Akarisidler ve Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL)

Varroa akarı, *Varroa destructor* dünyada olduğu gibi ülkemizde de çok sayıda bal arısı kolonilerinin kaybına neden olan son derece tehlikeli bir dış parazittir. Nitekim ülkemizde Varroa'nın arıcılıkta meydana getirdiği kaybın, diğer bütün hastalık ve zararlılardan ileri gelen kayıpların toplamından daha fazla olduğu belirtilmiştir [179]. Bununla birlikte Varroa'nın kapalı yavru gözleri içerisinde çoğalması ve gelişimini burada tamamlaması, savaşında kullanılan kimyasal

maddelerin etkinliğini azaltmaktadır. Bu nedenle arıcılık uygulamalarında sık aralıklarla kullanılan akarisitlere karşı varroa' nın direnci artmakta arı ölümleri ve balda ilaç kalıntısı gibi sorunlar gündeme gelmektedir [180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188. 189].

Amitraz, cymiazole, bromopropylate, coumaphos, flumethrin ve fluvalinate dünyada varroa mücadelesinde yoğun olarak kullanılan akarisitlerdir. Bu bileşiklerin kovan içerisinde kullanılması bal ve diğer arı ürünlerinin doğrudan kontaminasyonuna neden olmaktadır [190, 191]. Bu, halk sağlığı açısından önemli bir problemdir ayrıca balın kalitesini de düşürmektedir. Avrupa Birliği (EU) yasalarına göre bal, doğal bir ürün olduğundan kimyasallar içermemelidir [192]. Avrupa Birliği 2377/90/EEC Meclis Yasası ve onunla ilgili düzenlemeler balda amitraz, coumaphos ve cymiazole'ün maksimum kalıntı limitlerini (MKL) sırasıyla 0,2, 0,1 ve 1 mg/kg olarak saptamıştır [193]. Bununla birlikte baldaki akarisit derecelerinin kabul edilen maksimum kalıntı derecelerinden daha düşük olduğu belirtilmektedir [194, 195. 196]. Çünkü kalıntılar daha çok balmumunda birikmektedir [197]. Diğer taraftan geniş ölçüde kullanılan amitraz'ın degradasyonu sonucu oluşan 2,4 dimethlanilin' in balda olduğu gibi balmumunda da ölçülebilir ve amitraza göre daha toksik olduğu unutulmamalıdır [77, 82, 198, 199]. Kalıntı analizlerinde sadece etken madde değil başlıca amitraz metaboliti de dikkate alınmalıdır [200].

1.3.1.2 Yavru Çürüklüğü Hastalıklarına Karşı Kullanılan Antibiyotikler ve Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL)

Amerikan ve Avrupa Yavru Çürüklüğü, larva ve pupa döneminde görülen bakteriyel hastalıklar olup, kolonin geleceğini sağlayan kuşaklar üzerinde doğrudan etkili olduğundan arıcılıkta büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte bu hastalıklara neden olan bakterilerle enfekte kolonilerden, hala bal veriminin alınmak istenmesi antibiyotiklerin gelişigüzel bir şekilde kullanılmasıyla sonuçlanmakta dirençli suşların da gelişerek balın kontamine edilmesine neden olmaktadır. Nitekim

Amerika ve Arjantin’de oksitetrasiklinlerin Amerikan Yavru Çürüklüğüne karşı rutin olarak kullanılması hastalık etmeni olan *Paenibacillus larvae*’nin dirençli suşlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur [201].

Tetrasiklin, sulfonamid, kloramfenikol ve streptomisin Amerikan ve Avrupa Yavru Çürüklüğü hastalıklarına karşı sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdir. Kolonide bu gibi antibiyotiklerin kullanımı arı sütünü dahi kontamine edebilmektedir [202]. Nitekim kloramfenikol, Çin’ de üretilen arı sütünde bulunmuştur [93, 94]. Bununla birlikte Avrupa Birliği antibiyotiklerin yavru çürüklüğü hastalıklarına karşı kullanılmasına izin vermemektedir. Bu nedenle çoğu Avrupa Birliği ülkesinde antibiyotikler için belirlenmiş bir maksimum kalıntı limiti yoktur. Ancak İsviçre, İngiltere ve Belçika gibi bazı ülkelerde her antibiyotik grubu için 0,01 ile 0,05 mg/kg arasında değişen yasal sınırlar belirlenmiştir. Ülkemizde de arıcılık uygulamalarında antibiyotiklerin kullanımı yasal otoriteler tarafından yasaklanmıştır [104].

1.3.2 Dolaylı Kontaminasyon

Pestisitler, bitkiler, hayvanlar veya insanlara zarar veren, istenmeyen canlı organizmalardan (böcekler, fareler ve diğer hayvanlar, istenmeyen bitkiler, mantarlar, bakteri ve virüsler) korunmak, bunları imha etmek, uzak tutmak ya da çoğalmalarını engellemek amacıyla kullanılan kimyasal maddelerdir. Arıların tarım alanlarındaki bu ve benzeri kimyasal maddelerle özellikle de tekniğe uygun olarak atılmayan toz veya ıslanabilir toz ilaçlarıyla temasa geçmesi kovana ürünlerinin dolaylı yoldan kontamine edilmesine neden olmaktadır. Bu, sadece insan sağlığı açısından değil aynı zamanda arı sağlığı açısından da büyük tehdit oluşturmaktadır. Nitekim mikro-kapsül şeklinde hazırlanan ve arazide hemen etkili olmayan ilaçlar, arılar tarafından kovana taşıdıklarında sıcaklık ve rutubetin etkisiyle aktif hale gelmekte, kovanda toplu halde larva ve ergin kayıplarına yol açmaktadır [203, 204, 205]. Bu yüzden Avrupa ve Kanadalı arıcılar 1998’den beri ciddi boyutlardaki bal arıları kayıplarının zirai mücadelede kullanılan pestisitlerden kaynaklandığını belirtmektedirler. Öte yandan arılar neonikotinoidler olarak adlandırılan yeni böcek

ilaçlarından imidachlopride maruz kaldığında termitlerde görülen hafıza kaybı sendromuna benzer bir etkiye uğradıkları tahmin edilmektedir [206]. Bu, koloninin besin gereksinimlerinden sorumlu tarlacı arıların tekrar kovana dönememesiyle sonuçlanmaktadır.

Balda bulunan pestisitlerin nispeten daha düşük konsantrasyonda olması arılar tarafından filtre edildiği izlenimini uyandırmaktadır. Diğer taraftan bugün itibariyle kullanılan modern pestisitlerin çoğu kararlı yapıda olmayıp kullanıldıktan hızlı bir süre sonra metabolitlerine ayrılmaktadır. Bununla birlikte metabolitlerinin pestisit kalıntılarına göre daha çok risk oluşturacağı belirtilmektedir [207]. Genel olarak pestisitler için belirlenmiş MKL değeri yoktur. Avrupa Birliğinde sabit olmayan maksimum kalıntı limitlerine rağmen pestisitler için daha çok 0,01 mg/kg etki derecesi dikkate alınmaktadır. Tablo 1.4 Türk Gıda Kodeksine göre balda bulunan bazı pestisitlerin maksimum kalıntı limitlerini göstermektedir.

Tablo 1.4 Türk Gıda Kodeksine göre balda bulunan bazı pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri (mg/kg) [208]

Pestisit adı	Kabul edilebilir en yüksek düzey (mg/kg)
Aldicarb	0,01
Brompropylat	0,1
Dichlobenil	0,05
Dichlorvos	0,01
Endosulfan	0,01
Ethion	0,01
Lindan	0,01
Chlordan	0,01
DDT	0,05
Endrin	0,01
α -HCH	0,01
β -HCH	0,01
Heptachlor	0,01
Hexachlorbenzen	0,01

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

2.1.1 Bal Örneklerinin Toplanması

Araştırmamızda *Pinus brutia* Ten. (kızılçam), *Arbutus unedo* Linneus (Kocayemiş) ve *Erica* sp. (süpürgeotu) çiçeklerinden üretilen çam, davulga ve püren balları kullanılmıştır. Örnekler hasat zamanında, Çanakkale ilinin Biga ilçesine bağlı olan köylerinde, arıcılıkla uğraşan kişilerden direkt olarak alınmıştır. Örnekler sağım sırasında hava sızdırmaz steril cam kavanozlara alınmış oda sıcaklığında karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir. Balların floral kaynaklarını temsil eden türlerin herbaryum örnekleri, Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde saklanmaktadır.

2.1.2 Araştırmada Kullanılan Balların Bitkisel Kaynakları

Pinus brutia Ten.

Tepe yapısı genç yaşlarda piramit, ileri yaşlarda yayvan görünümündedir. Dalları gövdeye dik açıyla birleşmiş ve uçlarında çok kez kısa sürgünler bulunur. Kabuğu düzgün boz renkte, ileri yaşlarda kalın, derince yarıklı ve esmer kırmızımsıdır [209]. Genç sürgünleri tüysüz, önceleri kırmızımsı, gelişimiyle birlikte yeşilimsi kahverengi renktedir. Adını genç sürgünlerinin renginden dolayı almıştır [210, 211]. İğne yapraklar 10-18 cm uzunlukta, yumuşak, açık yeşil renkte, kenarları ince dişli, kısa sürgünleri dalların ucunda toplanmış ve fırça biçiminde görülür [209]. Tomurcuklar genel olarak yumurta biçiminde ve 15-20 mm uzunlukta olup, tomurcuk pulları aşağıya doğru bakar ve kenarları kirpiklidir, reçinesiz, erkek

çiçekler sivri piramit görünüşündedir [212]. Kozalak 6-11 cm boyunda, parlak açık kahverengi ve topaç biçimindedir. Çok kısa saplı veya sapsız kozalak sürgünlere dik oturur ya da yan durumlu olarak çoğunlukla 2-6 adedi bir arada çevrel halde bulunur. Apofiz yan pervazlı, göbek büyük, içe doğru hafifçe basıktır [213, 214]. Genel olarak Doğu Akdeniz ülkelerinde yayılış yapar ve Akdeniz ikliminin tipik bir ağaç türüdür. Ülkemizde yoğun olarak Muğla, Antalya, Mersin, Adana ve Antakya'da deniz seviyesinden başlayarak 1300 metre yüksekliğe kadar yayılış alanı göstermektedir [215].



Şekil 2.1 *Pinus brutia*'nın gövde, yaprak ve kozalaklarının görünüşü

***Arbutus unedo* Linneus**

Her dem yeşil, küçük ağaç ya da çalı formunda, 2-3 m'ye kadar boyolanabilen bitkilerdir. Yaprakları 5-8 cm, derimsi, oblanseolat veya ovat kenarları serrattir. Aşağıya doğru eğik olan çiçekler kısa ve geniş salkım veya bileşik salkım durumları

halinde toplanmıştır. Korolla beyaz renkli urseolat, küremsi ve 5 lobludur. Sayıları 10 olan ie-bakan erkek organların aşağı kısımlarında Şişkin ve yün gibi tüylü, beyaz renkli filamentleri, tepesinde geriye kıvrık, ince uzun birer boynuz bulunan, 2 delikle açılan, kırmızı renkli anterleri vardır. Üst durumlu, 5 meyve yaprağından ibaret olan diŐi organ, aksillar plasentalanma gösteren çok sayıda tohum taslağı ihtiva eden yumurtalıkla, baŐıık halinde bir tek stigma ile sonlanan uzun bir stilus taŐıymaktadır. DiŐi organın taban kısmında, korolla yapraklarıyla erkek organların bağlandığı yerde, nektar salan bir disk bulunmaktadır. Sarkık meyve durumları halinde toplanmış olan uzun saplı meyveler, 1-2 cm çapında, yüzeyi pürtüklü kre biçiminde, her gözünde 4-5 tohum bulunan 5 gözlü bakka tipinde meyvelerdir. Meyveler genellikle 5-15 gr ağırlığında ve 10 mm boyutlarındadır. Önceleri yeşil olan meyvelerin rengi olgunlaŐtıka ateŐ kırmızısına bazen de portakal rengine dönmektedir. Ülkemiz koŐullarında genellikle Kasım-Mart aylarında ieklenmekte, Marmara, Ege, Akdeniz ve Karadeniz kıyı bölgelerindeki makilerde bulunmaktadır [216, 217].



Şekil 2.2 *Arbutus unedo* 'nun meyve ve yapraklarının görünüşü

Erica sp.

Üç m' ye kadar boylanabilen her dem yeşil çalılardır. Yapraklar iğnemi, vertisillat, bir dairede 3 ya da 4 dizilişli 3-7 mm boyundadır. Çiçek kurulları yan durumlu veya termal durumlu salkım şeklindedir. Çiçekler aktinomorf simetridir. Çanak yaprakları birbiri ile birleşmemiş, ayrı; taç yapraklar kampanulat, urseolat veya tubulattır. Ovaryum 4-5 hücrelidir. Meyve kapsül, tohumlar oval, testa hücreleri ince duvarlıdır [218]. Yurdumuzda süpürgeotu adıyla tanınmaktadır. Türkiye'de maki içerisinde kızılçam ve meşe ormanları altında geniş alanlar kaplamaktadır. Akdeniz, Batı ve Güney Anadolu'da deniz seviyesinden başlayarak 1530 m yüksekliğe kadar yayılış alanı göstermektedir.



Şekil 2.3 *Erica arborea*' nın çiçek ve yapraklarının görünüşü

2.1.3 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri

Çalışmada maya formundaki insan patojeni *Candida albicans* (klinik izolat), *Candida albicans* ATCC 10231, *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, *Enterobacter aerogenes* NRRL 3567, *Escherichia coli* ATCC 25292, *Klebsiella pneumoniae* (klinik izolat), *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Proteus vulgaris* NRRL 123, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Serratia marcescens* (klinik izolat), *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 bakterileri ve *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Penicillium lanosum* mikrofungusları kullanılmıştır. Saprotik mikrofunguslar Doç. Dr. Ayşe Dilek Azaz tarafından topraktan izole edilmiştir. Tüm mikroorganizma stokları Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde saklanmaktadır.

Campylobacter jejuni: Gram negatif, hareketli, spor oluşturmeyen kapsülsüz bir mikroorganizmadır. Polar bir flegellaya sahiptir ve tirbuşon benzeri hareket eder. Optimum 42⁰C'de gelişir. Üreyebilmeleri için mikroaerofilik koşullara gereksinim duyar [219, 220]. Kanatlı hayvanların normal bağırsak florasında bulunur. Bu nedenle enfeksiyonlar çoğunlukla kanatlı etlerinin yetersiz pişirilmesi [221], çiğ süt tüketimi [222], sütlerin hatalı pastörizasyonu ve pastörize sütlerin sonradan kontaminasyonu [223, 224], çiğ olarak tüketilen salata gibi yiyeceklerin enfekte materyalden çapraz kontaminasyonu [225, 226], içme ve kullanma sularının dezenfekte edilmemesi [227] sonucu ortaya çıkmaktadır. Mide ve bağırsak iltihabı yanı sıra menenjit (beyin zarlarının iltihabı), kolit (kalın bağırsak iltihabı), idrar yolu enfeksiyonları ve apandisit gibi birçok hastalık vakalarına da neden olabilmektedir [228, 219]. β -laktam antibiyotiklerden imipenem dışında özellikle penisilin ve sefalosporinler'e dirençlidir [229].

Enterobacter aerogenes: *Enterobacter* türleri nadiren sağlıklı vücutları enfekte eden, daha çok hastaneye yatırılan kişilerde hastalık etmeni olan bakterilerdir [230]. *E. aerogenes* tabiatıta doğal olarak toprak, su, tahıllar ve aynı zamanda insan ve hayvanların bağırsaklarında bulunan nonfekal koliform bir bakteridir. Fırsatçı

patojen özellik göstererek çoğunlukla alt solunum yolları, idrar yolları, yara ve yanık enfeksiyonlarına, nadiren de menenjitte neden olmaktadır. Tedavi boyunca β -laktam antibiyotiklerine kolaylıkla direnç geliştirebilmektedir [231, 232, 233, 234]. Bu nedenle sefalosporin ve ampisilin'lere dirençli, karbenisilin ve sefotaksim gibi antibiyotiklere nispeten duyarlıdır [235, 236].

Escherichia coli: İnsan ve sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında normal olarak yaşayan fekal tip koliform bakteridir. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 μm uzunluğunda ve 0,1-0,5 μm çapındadır. Fakültatif anaerob bir organizmadır. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olduğundan en iyi vücut sıcaklığında çoğalır. *E.coli* bağırsakta bulunan diğer bakterilere göre sayısal olarak daha az olduğundan normalde hastalık yapmaz. Ancak herhangi bir nedenle başka dokulara geçme olanağı bulursa idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, mastit (meme dokusu iltihabı) ve septisemiye (mikropların kana karışması ve burada kendilerine uygun bir ortam bularak vücuda dağılımları sonucu ortaya çıkan durum) neden olabilir. *E.coli*, antibiyotiklere direnç gösteren β laktamaz enzimi üretir. Ampisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, sefalosporin ve amigoglikozidler *E.coli*' ye karşı değişik şekillerde etki göstermektedir [235, 236].

Klebsiella pneumoniae: Hareketsiz, spor oluşturmeyen, kısa ve uçları yuvarlak, 1-2 μm boy ve 0,5-0,8 μm ende basil görünümlü bir bakteridir. Gram negatif, polisakkarit yapısında kapsüllü, aerob ve fakültatif anaerob özellik gösterir. Optimum 37⁰C'de gelişir. *K. pneumoniae* öncelikle pnömoni etkenidir ve bakteriyel pnömonilerin %2' sinden sorumludur. Daha çok 2 yaş altı ve 40 yaş üstü kişilerde vücut direncinin kırılması, virütik üst solunum yolu enfeksiyonları sonrasında bu tip pnömoniler görülür. Ayrıca piyelit (böbrek çanağının iltihabı), piyelonefrit (kan yoluyla ya da idrar yollarıyla gelen bakterilerin böbrek dokusuna yerleşmesi sonucunda oluşan irinli iltihap) ve sistit (idrar kesesi iltihabı) gibi idrar yolu enfeksiyonları ile sinüzit, menenjit, anjin (bademcik iltihabı) ve çeşitli organ hastalıklarına da neden olmaktadır. Kemoterapötiklere fazlasıyla direnç göstermektedirler. Karbesilin ve ampisilin'e direnç yüksek orandadır [236].

Listeria monocytogenes: Gram-pozitif, fakültatif anaerop, spor oluşturmeyen kapsülsüz bir bakteridir. Hücreler kısa, yuvarlak uçlu çubuk veya kokobasil (0,5-2,0 µm uzunluğunda ve 0,4-0,5 µm eninde) şeklindedir. Optimum gelişme sıcaklığı genellikle 35-37°C olup, suşlar 1-45°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında da gelişme gösterebilir [237, 238]. *L. monocytogenes* doğada çok yaygın olup su, silaj, lağım suyu, mezbaha atıkları, sağlıklı ve mastitisli (meme iltihabı) ineklerin sütleri ile insan ve hayvan dışkısında da bulunabilmektedir [239]. *L. monocytogenes*'in çevreye yayılması enfekte hayvandan, toprak ve yeşil yemlerin kontaminasyonuna, buradan da et ve süt hayvanlarına tekrar geçmesi şeklinde bir döngü gösterdiği bildirilmektedir. Böylece kontamine sebze, meyve, süt ve etten insanlara geçiş gerçekleşmektedir [240, 241]. İnsanlarda menenjit, septisemi, konjunktivit (göz kapaklarını ve göz küresini kaplayan şeffaf dış tabakanın iltihabı), deri ve mukoza lokalizasyonları ve kan tablosunda monositoza (kanda bulunan monositlerin sayıca artışı) neden olmaktadır. Kontamine gıda tüketimi ile düşük miktarda *L. monocytogenes* alımı, sağlıklı yetişkinlerde herhangi bir klinik belirtiyeye yol açmaz iken çocuk ve bebek, yaşlı, hamile, ilaç veya hastalık nedeniyle bağışıklık sistemi bozuk olan kişilerin bu canlıya daha duyarlı olduğu bilinmektedir [242]. Ampisilin tek başına *L. monocytogenes*' e etkili olsa da tedavide daha çok ampisilin ve aminoglikozid kombinasyonu tercih edilmektedir [243].

Proteus vulgaris: Gram negatif, kokobasil ve daha büyük basil görünümlü, hareketli, spor oluşturmeyen kapsülsüz bir bakteridir. Toprakta, suda ve dışkıyla kontamine edilen materyallerde bulunur. Bağırsak bakterilerinin genel karakterlerini gösterir. İnsanda uygun koşulları bulduğunda enfeksiyona yol açar. Özellikle yeni doğanlarda göbek kordonu ve yara enfeksiyonlarına, menenjit, organ apseleri ve bu enfeksiyonlardan kaynaklanan epidemiler halinde görülen sepsis (kan dolaşımında bakteriler nedeniyle meydana gelen enfeksiyon) ve menenjitelere neden olabilmektedir [244]. *P. vulgaris* ampisiline dirençli olup amikasin, imipenem, norfloksasin, seftazidin ve gentamisin'e duyarlıdır [245].

Pseudomonas aeruginosa: 1,5-3 µm uzunluğunda, bazen ikili bazen de kısa zincirler halinde görülen, hareketli, gram negatif, kapsülsüz, spor oluşturmeyen aerop

bir bakteridir. Optimum 37⁰C' de gelişir. İnsan ve hayvan bağırsağında bulunur. Fırsatçı bir patojendir. İdrar yolu, göz, dış kulak, orta kulak, yanık ve yara enfeksiyonları, menenjit, bronşit (bronşların iltihaplanması), septisemi, osteomyelit (kemik iliği iltihabı) ve kolit gibi hastalıklardan izole edilebilir [246, 247]. *P. aeruginosa*'nın yeni doğan çocukların ölümüyle sonuçlanan epidemik ishale neden olduğu bildirilmektedir. Hastane çevrelerinde özellikle immun sistemi zayıflamış hastalarda ishale neden olarak yaşamı tehdit edebilir. *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında gentamisin etkili şekilde kullanılan bir antibiyotiktir [235, 236].

Serratia marcescens: 0,5 µm çapında ve 0,9-2,0 µm boyunda çubuk şeklinde gram negatif, fakültatif anaerop, kapsülsüz bir bakteridir. Doğada yaygın olarak toprak, bitki ve suda bulunur. İnsan ve hayvanlarda ise ince barsak ve üst solunum yolu florasında bulunan bir mikroorganizmadır. Fırsatçı patojen olarak hastane salgınlarına yol açmakta alt solunum yolu, idrar yolu, cerrahi yara ve deri enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Özellikle prematör ve düşük doğum ağırlıklı yeni doğanlar için ölüme sebep olan ciddi bir ajandır [248]. Son yıllarda ampisilin ve aminoglikozidler'e karşı direncin artmakta olduğu belirtilmektedir [249].

Shigella sonnei: Gram negatif, fakültatif anaerop, hareketsiz, spor oluşturmeyen, kapsülsüz, çubuk şekilli bir bakteridir. Sadece insanlarda hastalık etmenidir. *Shigella* cinsi bakteriler fekal-oral yolla bulaşmaktadır. İnsanların birbirlerine doğrudan temas etmesi, kontamine su ve yiyeceklerin alınması en sık bulaşma yollarıdır. Sigelloz adı verilen kramp tarzında karın ağrıları, tenesmus (ağrılı idrar yapma) ve kanlı mukuslu ishale kendini gösteren klasik basilli dizanteri hastalığına neden olur. Dünyada ve ülkemizde bakteriyel ishalde en sık izole edilen bakterilerindendir. Plazmit kaynaklı geniş spektrumlu β-laktamaz üretebilen suşlarının bulunması ileriki yıllarda karbapenem dışındaki antibiyotiklerin kullanımının sınırlanacağını göstermektedir [250, 251].

Staphylococcus aureus: Gram pozitif, spor oluşturmeyen, hareketsiz, kok formunda, fakültatif anaerop bir bakteridir. Optimum 37⁰C' de gelişir. Doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunda, insan ve hayvan dışkılarında, ciltte apseli

yaralarda ve sivilcelerde bulunur. Gıdalarda ve gıda işletmelerinde, elle gıda hazırlayanlarda, hastane personeli ve hastane ortamlarında da yaygın olarak bulunur. Gıdalarda geliştiğinde enterotoksinler üreterek besin zehirlenmelerine neden olmaktadır. Bunun yanı sıra sepsisler, zatüree, osteomyelit ve artritis (kemik ve eklem iltihabı) gibi sistem ve organ enfeksiyonlarına da sebep olmaktadır. Kullanılmakta olan antibiyotiklere karşı hızla direnç kazanmaları sebebiyle günümüzde gerek hastanelerde gerekse toplum kökenli enfeksiyonlarda önemli rol oynamaktadır [252, 253. 254].

Candida albicans: Yuvarlağımsı veya oval, tomurcuklanarak üreyen, 2-5 µm büyüklüğünde, yalancı ve bazen de gerçek hif oluşturan bir organizmadır. Fırsatçı patojendir. *Candida* türleri normal koşullarda ağız, bağırsak, genital organlar ve deri florasında bulunur. İnsan ve hayvan mukozalarında kommensal olarak yaşar. Kandidiyazis adı verilen enfeksiyona neden olur. Kan ve lenf yoluyla yayılma özelliği göstererek diğer doku ve organları etkisi altına alabilir. Enfeksiyon daha çok bağışıklık sistemi baskılanmış, kemik iliği nakli, organ nakli, yeni doğan yoğun bakım üniteleri ile çocuk yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülür. Nistatin ve flukonazol tedavi amacıyla kullanılan ilaçlar arasındadır [235, 255. 256].

Alternaria alternata: Malt Ekstrakt Agar besiyerinde 25°C' de 10 günde, 5,5-6 cm çapında koloni oluşturmaktadır. Koloni genellikle siyah veya zeytinimsi siyah, bazen gri renktedir. Konidiyoforlar tek veya küçük gruplar halinde, dallı veya basit, düz veya kıvrımlı, bazen genikulat, soluk veya orta derecede altın sarısı, düz çeperli 50 mm uzunlukta, 3-6 mm kalınlığında, bir veya birkaç tane apikal poru bulunmakta ve 1-3 bölmelidir. Konidiler genellikle uzun sık dallanan zincirler halinde, obklavat, obpriform, ovoid veya elipsoidal, genellikle kısa konik veya silindirik bir gagaya sahip, bazen bu gaga konidinin üçte biri kadar uzun olmaktadır. Konidiler soluk veya orta derecede altın sarısı renginde, düz veya verrukuloz çeperli, sekize kadar enine ve bir kaç tane de boyuna veya oblik bölmeli, bütün uzunluk 18-63 mm, eni ise 7-18 (13) mm, gaga soluk renkli 2-5 mm kalınlığındadır [235, 257]. Son derece yaygın bir saprofit olup birçok bitki artığı, gıda, toprak, tekstil maddeleri üzerinde bulunmaktadır. *A. alternata* nar, turunçgiller, elma, armut ve sebzelerde kahverengi

leke hastalığına neden olmaktadır [258]. Hastalık genellikle genç sürgün, genç yaprak ve yeşil meyve kabuğu üzerinde ortaya çıkmaktadır. Enfeksiyon yaprakların delinmesine, yırtılmasına, sararıp dökülmesine, genç sürgünler üzerinde yanıklık şeklinde kuru kısımların oluşmasına daha sonra ise tamamen kurummasına yol açmaktadır. Bunun yanı sıra astım ve rinit (burun içini döşeyen mukozanın iltihabı) gibi alerjik hastalıklardan sorumlu olabilen önemli fungus türlerden biridir.

Aspergillus flavus: Czapek Dox Agar besiyerinde 25°C’ de 10 günde 6-7 cm çapında koloni oluşturmaktadır. Koloni rengi olgunlaştıkça sarıdan yeşile doğru renklenmektedir. Koloni altı genellikle renksiz – pembemsi esmer renktedir. Genellikle ince fakat sıkı yapılı bir misel keçesi oluşturmakta, çoğunlukla düz ancak bazı ırklarında ise radial olarak oluklu ya da beyin kıvrımlıdır. Veziküller gençken uzamış, daha sonraları ise subgloboz veya globoz olmaktadır. Sterigma iki seri halinde 1. seri biraz şişkindir. Çoğunlukla konidiler olgunlaştıklarında globoz veya subgloboz, belirgin bir şekilde pürüzlü veya düz çeperli büyüklükleri ırklar arasında değişkendir [235, 257]. *A. flavus*, aflatoksin adı verilen insanlar ve hayvanlar üzerinde kanserojenik, mutajenik ve zehirli etkilere sahip kimyasal maddeler üretmektedir. Aflatoksinler depolanmış hemen her çeşit depo yemleri ile besinlerde ve doğada yaygın olarak bulunan toksik metabolitlerdir. Gıdalarla beraber yüksek dozlarda alınması karaciğer kanserine neden olabilmektedir [259].

Aspergillus niger: Czapek Dox Agar besiyerinde 25°C’ de 14 günde 5 cm çapında koloni oluşturmakta, kolonide gevşek sarımsı bazal miselyum ve bol miktarda siyah renkte konidi yapıları görülmektedir. Koloni altı hafif sarımsı veya renksizdir. Konidi başları tipik olarak büyük ve siyah, önce globoz, daha sonra radyat veya yaşlandığında iki veya daha fazla gevşek – iyi belirlenmiş sütun halinde yarılmaktadır. Konidiyoforlar değişken uzunlukta, çeper düz, nispeten kalın, renksiz ve özellikle üst kısımda kahverengimsi tonlardadır. Veziküller globoz, 50-62,5 µm, sterigma iki seri halindedir [257]. *A. niger*, yaygın olarak ölü yapraklar, depolanmış tohumlar, organik gübre yığınları ve diğer çürümekte olan bitkiler üzerinde yaşayan saprofitik bir fungustur. Soğan, sarımsak, incir ve turunçgil meyvelerinde siyah küf etmenidir. Sporları solunduğu zaman astım ve alerjik alveolit (nefesle alınan organik

tozlara karşı gelişen alerji nedeniyle, akciğerlerdeki ince yapılı hava keselerinin iltihaplanması ve kalınlaşması) gibi hastalıklara neden olabilmektedir [260].

Penicillium expansum: Czapek Dox Agar besiyerinde 25°C’ de 14 günde 5 cm çapında koloni oluşturmaktadır. Koloni yüzeyi yeşilimsi sarı tonlarda, koloni altı renksizdir. Konidiyoforlar farklılaşmamış yüzey altı veya havai hiflerden gelişmektedir. Saplar nispeten dar ve ince çeperli, genellikle bir iki bölmeli, bazı türlerde apikal olarak şişkin ancak vesiküller daima 10 µm’ den küçük çapta, karakteristik şekilde penisillat dallanmıştır ve “penisillus” denilen yapılar gelişmektedir. Penisilluslar asimetrik, baskılanmış metulalar 10-12,5 x 2,5-3 µm, fiyalidler ise 8-9 x 2,5 µm ölçülerindedir. Konidiler bazipetal olarak gelişmekte, genellikle uzun zincirler halinde, tek hücreli, çok küçük, küresel, elipsoid, priform veya apikulat nadiren silindirik kitle halinde gri – yeşil, gri – mavi veya gri, nadir olarak kahverengidir [257]. *P. expansum* hasat sonrası başlıca elmaların çürümesine neden olmaktadır [261]. Patulin adı verilen mikotoksin üreterek meyveleri kontamine etmekte ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır [262].

Penicillium lanosum: Czapek Dox Agar besiyerinde koloniler yavaş gelişmekte, 25°C’ de 14 günde 4 cm koloni çapı oluşturmaktadır. Sert ve sıkı yapılı bazal keçe bulunmakta, üzerinde flukkoz hifler gelişmekte ve koloni yüzeyine lanat görünüm vermektedir. Koloni düz, kenar bölgelerde hafif şekilde sporlanmakta, koyu gri-yeşil tonlarda, diğer yerler flukkoz hiften dolayı devamlı olarak beyaz kalmakta, eksudat sınırlı miktarda ve küçük damlacıklar halinde, koloni altı soluk sarı-krem tonlarındadır. Penisillus büyük, asimetrik, düzensiz dallanmakta ve divergent eğilimdedir. Konidiyoforlar kısa dallar halinde havai hiflerden gelişmekte, 100-200 µm uzunlukta, daha az olarak substrattan gelişmekte, bu durumda 200-600 x 2,8-3,3 µm ölçülerindedir. Çeper düz veya düze yakın, dallar değişken, 25-35 x 2,8-3,0 µm, iki tane konidiyofor üzerinde genellikle aşağı kısımlardan gelişmektedir. Metula 2,3 tane, 9-14 x 2,5-3,5 µm, uçları hafif genişlemiş, 4,0-4,5 µm, penisillusun farklı seviyelerinden gelişmektedir. Fiyalidler 2-10 tane, 9-11 x 3,0-4,0 µm, konidiler globoz - subgloboz, 2,8-3,0 µm çapında, çeper hafif granüllü, konidi zincirleri gevşek şekilde veya dağınıktır [257].

2.1.4 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Besiyeri ve Standartlar

Mueller Hinton Broth (Merck) (Çift Kuvvet)

Et ekstresi.....	4 gr
Kazein hidrolizatı.....	35 gr
Nişasta.....	3 gr
Distile su.....	1000 ml

84 gr Mueller Hinton Broth (Oxoid) besiyeri 1000 ml distile su ilave edilerek hazırlanmıştır ve daha sonra tüplere 10'ar ml paylaştırılarak 121 °C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Mueller Hinton Agar (Merck)

Et ekstresi.....	4 gr
Agar.....	12 gr
Kazein hidrolizatı.....	17,5 gr
Nişasta.....	1,5 gr
Distile su.....	1000 ml

38 gr Mueller Hinton Agar (Oxoid) besiyeri 1000 ml distile su ilave edilerek hazırlanmış ve 121⁰C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Daha sonra su banyosunda 48⁰C'ye kadar soğutulup, 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20'şer ml gelecek şekilde dökülmüştür.

Buffered Listeria Enrichment Broth Base (Oxoid)

Tripton soya Broth.....	30 gr
Yeast ekstrakt.....	6 gr
Potasyum dihidrojen orthofosfat.....	1,35 gr

Di-sodyum hidrojen orthofosfat.....	9,6 gr
Distile su.....	500 ml

23,5 gr Buffered Listeria Enrichment Broth Base (Oxoid) besiyerine 500 ml distile su ilave edilip hazırlandıktan sonra içerisine Modifiye Listeria Selektive Enrichment Supplement (Oxoid) ilave edilip, tüplere 10'ar ml paylaşılırak 121⁰C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Modifiye Listeria Selektive Enrichment Supplement (Oxoid)

Nalidiksik asit.....	20 mg
Amfotericin B.....	5 mg
Acriflavine.....	7,5 mg

Supplement, 2 ml steril distile suyla sulandırılmıştır ve Buffered Listeria Enrichment Broth Base (Oxoid) besiyerine katılmıştır.

Malt Ekstrakt Agar (Samson ve Pitt, 1985)

Malt extract toz.....	20 gr
Pepton.....	1 gr
Glukoz.....	20 gr
Agar.....	15 gr
Distile su.....	1000 ml

56 gr Malt Ekstrakt Agar besiyeri 1000 ml distile su ilave edilerek hazırlanmış ve 121⁰C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Daha sonra su banyosunda 48⁰C'ye kadar soğutulup, 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20'şer ml gelecek şekilde dökülmüştür.

Czapek Dox Agar (Merck)

Sodyum nitrat (NaNO ₃).....	2 gr
Potasyum hidrojen fosfat (K ₂ HPO ₄).....	1 gr
Magnezyum sülfat (MgSO ₄ .7H ₂ O).....	0,5 gr
Potasyum klorür (KCl).....	0,5 gr
Demir sülfat (FeSO ₄).....	0,01 gr
Sükroz.....	30 gr
Agar.....	20 gr
Distile su.....	1000 ml

54 gr Czapek Dox Agar besiyeri 1000 ml distile su ilave edilerek hazırlanmış ve 121⁰C’de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Daha sonra su banyosunda 48⁰C’ye kadar soğutulup, 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20’şer ml gelecek şekilde dökülmüştür.

Sabouraud Dextrose Agar (Merck)

Bacto pepton.....	10 gr
Bacto dekstroz.....	40 gr
Agar.....	15 gr
Distile su.....	1000 ml

65 gr Sabouraud Dextrose Agar besiyerine 1000 ml distile su ilave edilerek hazırlanmış ve 121⁰C’de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Daha sonra su banyosunda 48⁰C’ye kadar soğutulup, 90 mm çapındaki her bir steril petri kabına 20’şer ml gelecek şekilde dökülmüştür.

Sabouraud Dextrose Broth (Merck) (Çift kuvvet)

Bacto pepton.....	10 gr
Bacto dekstroz.....	40 gr

Distile su.....1000 ml

100 gr Sabouraud Dextrose Broth besiyeri 1000 ml distile su ilave edilerek hazırlanmıştır ve daha sonra tüplere 10'ar ml paylaşılırak 121⁰C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

McFarland No:0.5 Bulanıklık Standardı

BaCl₂ (%1.175).....0,5 gr

H₂SO₄ (0.36N).....99,5 ml

BaCl₂ ve H₂SO₄ karışımı 15 ml' lık kapaklı tüplere dağıtılmış, kapağı parafilm ile sıkıca kapatılarak karanlıkta ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

2.2 Metot

2.2.1 Balların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Balların antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde Agar Kuyucuk [40, 263. 148] ve Makrobroth Dilüsyon [55, 54] teknikleri kullanılmıştır.

2.2.1.1 Agar Kuyucuk Metodu

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan *Campylobacter jejuni*, çift kuvvet Mueller Hinton Broth (MHB) içerisinde 42⁰C'de 48 saat mikroaerofilik koşullarda, *Listeria monocytogenes*, Buffered Listeria Enrichment Broth Base (BLEB) içerisinde 35⁰C'de, *Candida albicans*, Sabouraud Dextrose Broth (SDB) içerisinde 37⁰C'de ve diğer organizmalar da çift kuvvet Mueller Hinton Broth (MHB) içerisinde 37⁰C'de 24 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. Yirmi dört

saat inkübasyonun sonunda (*C. jejuni* için 48 saat) gelişen mikroorganizmalar buldukları tüpten alınarak Mc Farland No:0,5'e (yaklaşık 10^8 CFU/mL) göre bulanıklık ayarı yapılmıştır. Mc Farland No:0,5'e göre ayarlanan taze mikroorganizma süspansiyonlarından 100 µl çekilip 90 mm çapındaki steril petri kaplarına aktarılmış ve üzerlerine *C. jejuni* için 48°C'ye kadar soğutulmuş %5 oranında at kanı içeren Mueller Hinton Agar (MHA), *C. albicans* içinde Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ve diğer mikroorganizmalar içinse, 20'şer ml ile Mueller Hinton Agar (MHB) dökülmüştür. Daha sonra petriyerler düz bir zemin üzerinde homojen karışım sağlandıktan sonra donmaya bırakılmıştır. Fazla beklenmeden petriyerler buzdolabına kaldırılmış +4°C'de 30 dakika bekletilmiş ve ardından besiyeri üzerinde 5 adet 8 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Daha sonra balların steril saf suyla seyreltilmiş olan % 20 (200 mg/ml), % 40 (400 mg/ml), % 60 (600 mg/ml) ve % 80 (800 mg/ml) 'lik solüsyonları ve seyreltilmeden saf olarak 100 µl' si sırasıyla bu beş kuyucuğa konulmuştur. Bakteriler için kloramfenikol, *C. albicans* için ketokonazol'un saf suyla hazırlanmış % 20 (200 mg/ml) solüsyonlarının 100 µl'si de aynı şekilde bu kuyucuklara aktarılmış ve standart olarak değerlendirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kapları, *C. jejuni* için 42°C'de 48 saat mikroaerofilik koşullarda, diğer mikroorganizmalar için de uygun inkübasyon sıcaklığında 24 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra oluşan açık zonlar ölçülüp kaydedilmiştir.

2.2.1.2 Makrobroth Dilüsyon Metodu

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan *C. jejuni*, çift kuvvet Mueller Hinton Broth (MHB) içerisinde 42°C'de 48 saat mikroaerofilik koşullarda, *L. monocytogenes*, Buffered Listeria Enrichment Broth Base (BLEB) içerisinde 35 °C' de, *C. albicans*, Sabouraud Dextrose Broth (SDB) içerisinde 37 °C'de ve diğer mikroorganizmalarda çift kuvvet Mueller Hinton Broth (MHB) içerisinde 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında gelişen kültürler, Mc Farland No: 0,5'e (yaklaşık 10^8 CFU/ml) göre bulanıklık ayarı yapılmıştır. Çalışmada test edilen balların %37,5 (375 mg/ml), %35 (350 mg/ml), %32,5 (325 mg/ml), %30 (300

mg/ml), %27,5 (275 mg/ml), %25 (250 mg/ml) ve %22,5 (225 mg/ml) oranlarındaki dilüsyonları aseptik koşullarda çift kuvvet Mueller Hinton Broth (MHB) ve çift kuvvet Sabouraud Dextrose Broth (*C.albicans* için) içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan her bir bal dilüsyonundan 1 ml alınarak test tüplerine aktarılmış üzerlerine Mc Farland No:0,5'e göre ayarlanan taze mikroorganizma süspansiyonlarından 20 µl inoküle edilmiştir. Mikroorganizma inoküle edilmemiş yalnızca balın seri dilüsyonlarını içeren tüpler negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Mikroorganizma inokülasyonu yapılmış olan tüpler uygun inkübasyon sıcaklığında 24 saat (*C. jejuni* ise 48 saat mikroaerofilik ortamda) inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üremenin olup olmadığını tespit edebilmek için tüplere tetrazolium violet çözeltisi püskürtülmüştür. Bu işlemin sonunda renklenmenin olması için uygun inkübasyon sıcaklığında 30 dakika daha inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda hazırlanan dilüsyonlar içerisinde renklenmenin olmadığı en düşük konsantrasyon değeri Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) olarak kaydedilmiştir.

2.2.1.3 Antifungal Aktivite

Antifungal aktivite çalışmaları için de agar kuyucuk metodu kullanılmıştır. Konidi elde etmek amacıyla saprofitik funguslardan *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium expansum*, *P. lanosum* Czapek Dox Agar (CDA) besiyerinde ve *Alternaria alternata* Malt Ekstrakt Agar (MEA) besiyerinde, 90 mm çapında petri kapları kullanılarak 25°C'de 7-10 gün süreyle geliştirilmiştir. Spor süspansiyonları, %5 (w/v) oranında DMSO içeren %1'lik (w/v) sodyum klorür çözeltisi kullanılarak hazırlandıktan sonra stok spor süspansiyonları filtre edilerek -20°C'de, muhafaza edilmiştir. 10⁵ CFU/ml yoğunlukta spor süspansiyonu hazırlamak için stok spor süspansiyonu DMSO içeren % 1'lik (w/v) sodyum klorür çözeltisinde seyreltilmiş ve thoma lamı kullanılarak sporlar sayılmıştır. 10⁵ CFU/ml yoğunlukta spor solüsyonlarından 100 µl çekilip steril 90 mm çapındaki petri kaplarına aktarılmıştır. Bu petri kaplarının her birine 20'şer ml 48 °C'ye kadar soğutulmuş Czapek Dox Agar ve Malt Ekstrakt Agar besiyeri dökülmüş, petriler düz bir zemin üzerinde

homojen karışım sağlandıktan sonra donmaya bırakılmıştır. Petriler daha sonra buzdolabına kaldırılmış +4⁰C'de 30 dakika bekletilmiştir. Bu işlemin sonunda besiyerleri üzerinde 1 adet 8 mm çapında kuyucuk açılmıştır. Balların steril saf suyla seyreltilmiş olan %20 (200 mg/ml), %40 (400 mg/ml), %60 (600 mg/ml), %80 (800 mg/ml)' lik solüsyonları ve seyreltilmeden saf olarak 100 µl'si her biri farklı petrilere açılmış kuyucuklara konulmuştur. Ketokonazol'un saf suyla hazırlanmış %20 (200 mg/ml) solüsyonundan 100µl'si kuyucuğa aktarılmış ve standart olarak değerlendirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kapları 7 gün süresince 25⁰C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan açık zon ölçülüp kaydedilmiştir.

2.2.2 Bal Örneklerinin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntem

Bal örneklerinin antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayini yöntemi kullanılmıştır.

2.2.2.1 DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini

Bal örneklerinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) üzerindeki serbest radikal süpürücü etkileri Blois metoduna göre belirlenmiştir [264]. Bu amaçla her bir örnek için, 3 ml bal solüsyonu (bal konsantrasyonları 200-10 mg/ml) içeren ortama 1 ml metanol içinde hazırlanmış DPPH (1 mM) ilave edilerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 200-800 nm arası spektrum taraması yapıldıktan sonra maksimum absorbanı olarak 515 nm belirlenmiş olup çalışmalarda bu dalga boyu kullanılarak ölçüm yapılmıştır. DPPH üzerinden serbest radikalleri süpürücü etkisinin (I) yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% I = [(\text{kontrol absorbanı} - \text{bal absorbanı}) / (\text{kontrol absorbanı})] \times 100 \quad (1.2)$$

Test edilen ballar her bir konsantrasyonu için üç tekrar olarak çalışılmıştır. Pozitif kontrol olarak sentetik antioksidan olan Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) kullanılmıştır.

2.2.3 İstatistik

Antioksidant aktivite deney sonuçlarından elde edilen ortalamalar bir yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırılmış, ortalamalar arası farklılıklar, Tukey HSD (Tukey gerçekten anlamlı farklılık) testi ile belirlenmiştir. Veri analizinde SPSS istatistik programı (SPSS, versiyon 15.0, SPSS Science, Chicago, IL) kullanılmıştır.

2.2.4 Bal Örneklerinin Pestisit ve Antibiyotik Kalıntı Analizleri ve Kullanılan Cihazlar

Bal örneklerinin pestisit ve antibiyotik kalıntı analizleri, Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi (ARGEFAR) Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

2.2.4.1 GC/ECD, NPD, MSD Grubu Kalıntı Pestisit Analizi

Kullanılan Cihazlar: Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (GC/MS), Gaz Kromatografisi/Elektron Tutucu Dedektör (GC/ECD), Gaz Kromatografisi/Nitrojen Fosfor Dedektör (GC/NPD).

2.2.4.2 LC-MS/MS Grubu Pestisit Analizi

Kullanılan Cihaz: Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS)

2.2.4.3 EBDC (Ethylene Bis Dithiocarbamate) Analizi

Kullanılan Cihazlar: HP 6890 GC – 5973 MSD – G 1888 Headspace System

2.2.4.4 Kloramfenikol Kalıntı Analizi

Kullanılan Cihazlar: Agilent 1100 Series HPLC, Agilent SL LC-MSD/Agilent 1100 Series HPLC, Agilent SL LC-MSD

2.2.4.5 LC MS/MS ile Sulfonamid Kalıntı Analizi

Kullanılan Cihaz: Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (LC-MS)

2.2.4.6 LC MS/MS ile Tetrasiklin Kalıntı Analizi

Kullanılan Cihaz: Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (LC-MS)

2.2.4.7 Nitrofuran Metabolitleri Analizi

Kullanılan Cihaz: Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (LC-MS)

3. BULGULAR

3.1 Balların Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

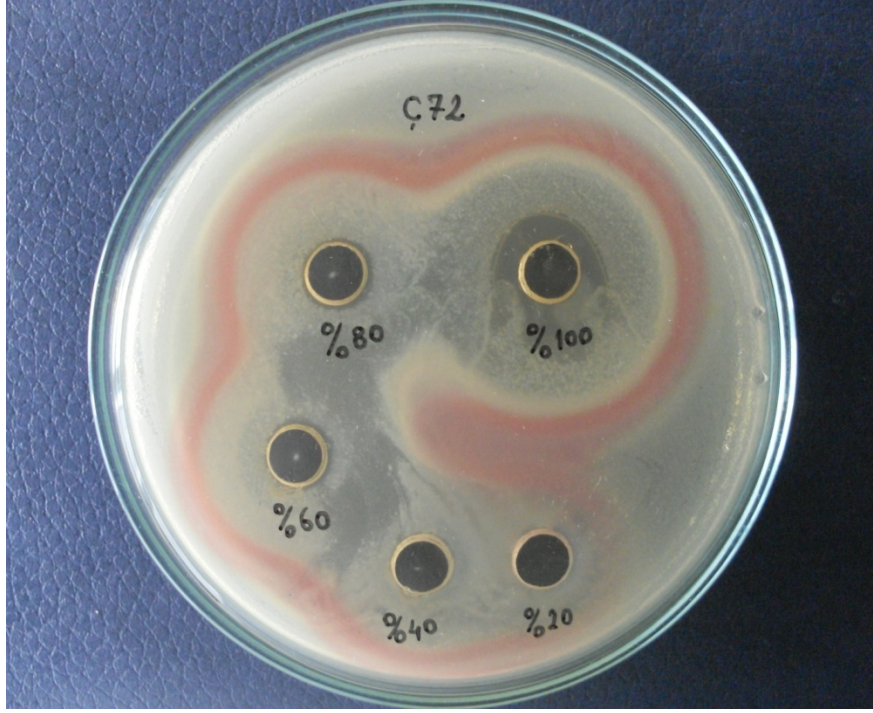
Araştırmamız sırasında balların antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde Agar Kuyucuk ve Makrobroth Dilüsyon metotları kullanılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen değerler sırasıyla Tablo 3.1, Tablo 3.2 ve Tablo 3.3 verilmiştir.

Tablo 3.1 Test Edilen Balların Agar Kuyucuk Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktiviteleri (mm)

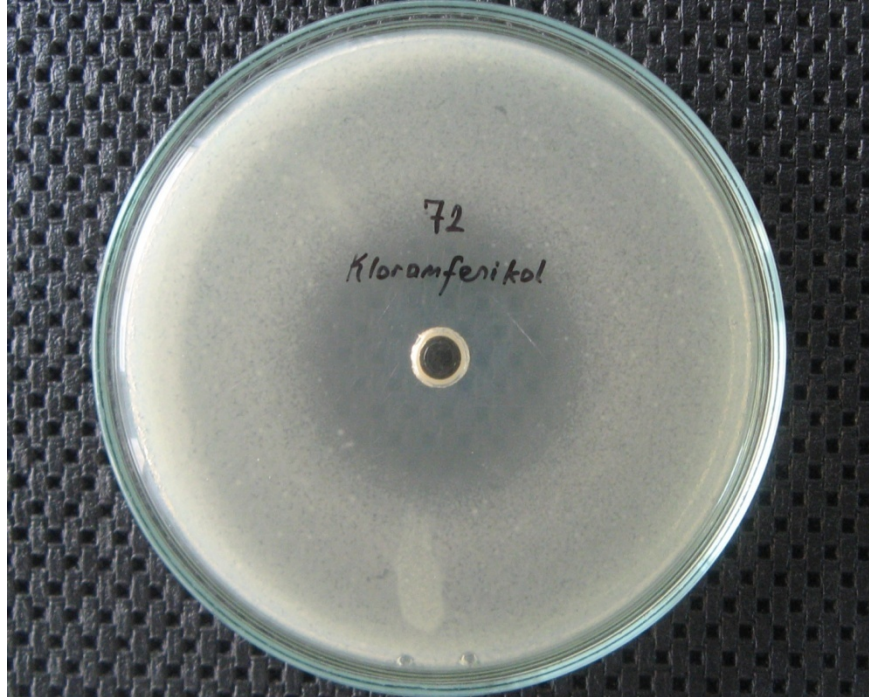
Mikroorganizmalar	Kaynaklar	İnhibisyon Zon Çapları “mm”															Standart
		Çam					Davulga					Püren					
		Saf bal	800 mg/ml	600 mg/ml	400 mg/ml	200 mg/ml	Saf bal	800 mg/ml	600 mg/ml	400 mg/ml	200 mg/ml	Saf bal	800 mg/ml	600 mg/ml	400 mg/ml	200 mg/ml	
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33291	14	12	11	8,5	-	16	13	12	8,5	-	16	13	11	9	-	40 ^C
<i>Enterobacter aerogenes</i>	NRRL 3567	13	11	10	8,5	-	13	11	9	8,5	-	15	12	11	8,5	-	32 ^C
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25292	14	12	11	9	-	15	12	11	10	-	16	13	11	9	-	34 ^C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Klinik izolat	14	11	10	9	-	15	12	10	8,5	-	15	12	10	9	-	32 ^C
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644	14	12	10	8,5	-	14	12	10	8,5	-	16	13	11	9	-	31 ^C
<i>Proteus vulgaris</i>	NRRL 123	13	11	9	8,5	-	14	11	10	9	-	15	13	10	9	-	33 ^C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	13	11	10	8,5	-	12	11	9	8,5	-	16	12	11	9	-	33 ^C
<i>Serratia marcescens</i>	Klinik izolat	14	11	10	9	-	14	12	10	9	-	14	11	10	9	-	33 ^C
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	15	13	10,5	9	-	14	12	10	9	-	15	12	10	8,5	-	32 ^C
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	14	11	10,5	9	-	15	11	9	8,5	-	15	12	11	9	-	31 ^C
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	15	11	10	8,5	-	15	11	10	8,5	-	15	11	10	9	-	31 ^K
<i>Candida albicans</i>	Klinik izolat	15	11	10	8,5	-	15	12	10	8,5	-	15	11	10	9	-	31 ^K

^C Kloramfenikol

^K Ketokonazol



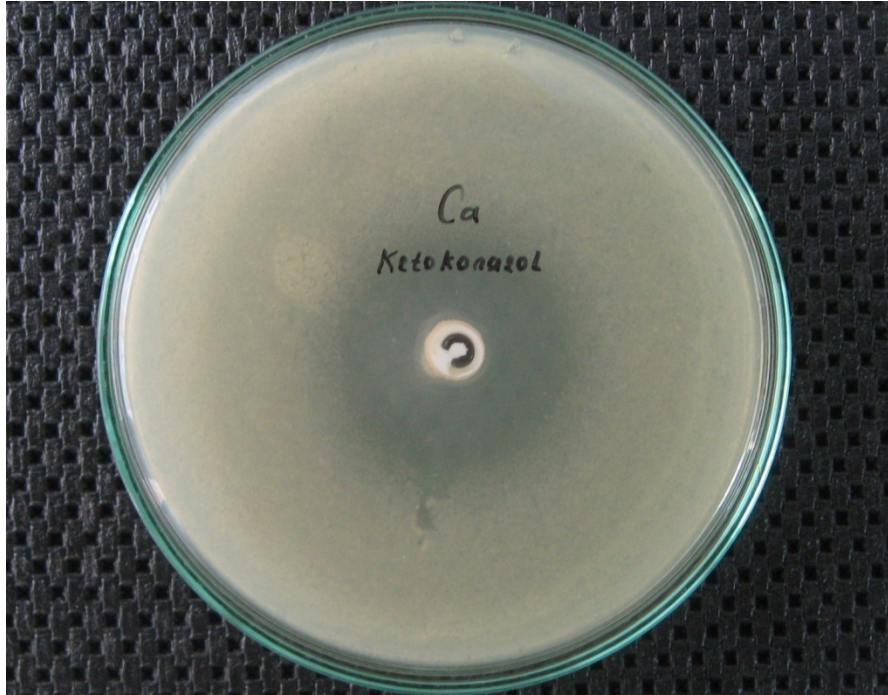
Şekil 3.1 Farklı konsantrasyonlarda çam balının *E. aerogenes* üzerindeki büyüme inhibisyon zonları



Şekil 3.2 Kloramfenikol' ün *E. aerogenes* üzerindeki büyüme inhibisyon zonu



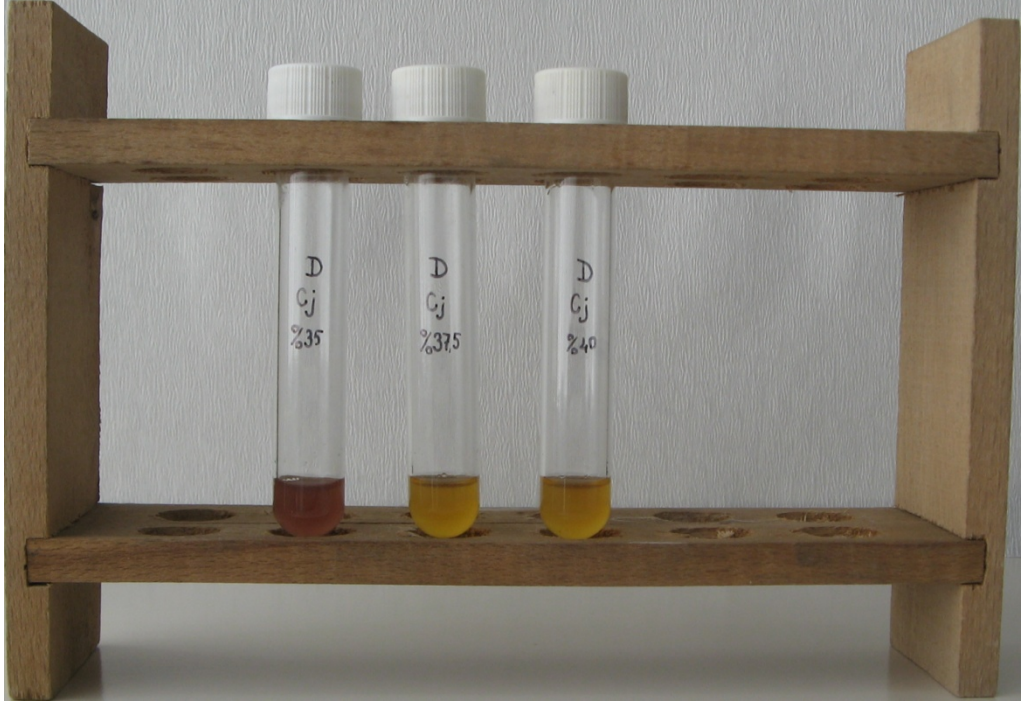
Şekil 3.3 Farklı konsantrasyonlarda çam balının *C. albicans* ATCC 10231 üzerindeki büyüme inhibisyon zonları



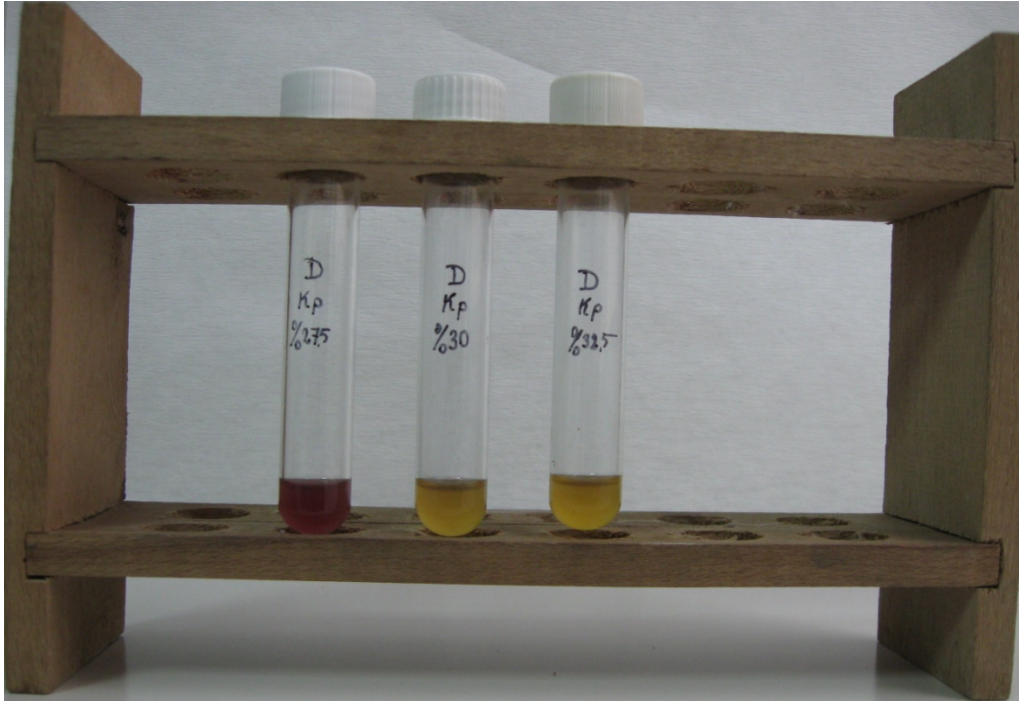
Şekil 3.4 Ketokonazol' ün *C. albicans* ATCC 10231 üzerindeki büyüme inhibisyon zonu

Tablo 3.2 Test Edilen Balların Makrobroth Dilüsyon Metoduna Göre Antimikrobiyal Aktiviteleri (MİK) (mg/ml)

Mikroorganizmalar	Kaynak	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları “mg/ml”		
		Çam	Davulga	Püren
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33291	375	375	350
<i>Enterobacter aerogenes</i>	NRRL 3567	300	300	300
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25292	275	250	275
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Klinik izolat	300	300	300
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644	325	325	300
<i>Proteus vulgaris</i>	NRRL 123	300	250	275
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	300	300	275
<i>Serratia marcescens</i>	Klinik izolat	275	300	275
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	300	300	300
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	300	300	300
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	325	300	275
<i>Candida albicans</i>	Klinik izolat	300	300	275



Şekil 3.5 Davulga balının *C. jejuni* üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu

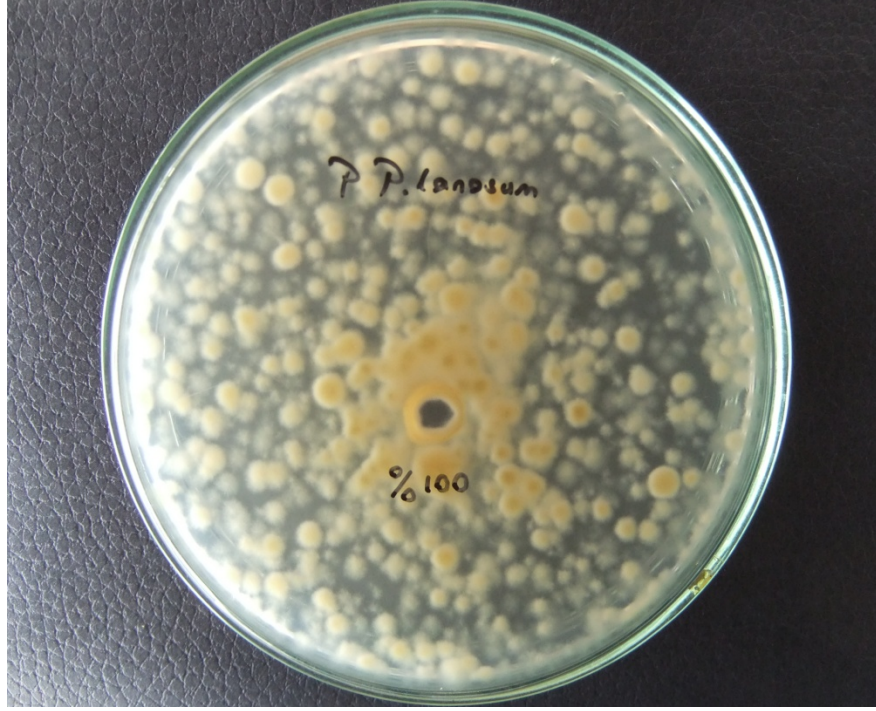


Şekil 3.6 Davulga balının *K. pneumonia* üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu

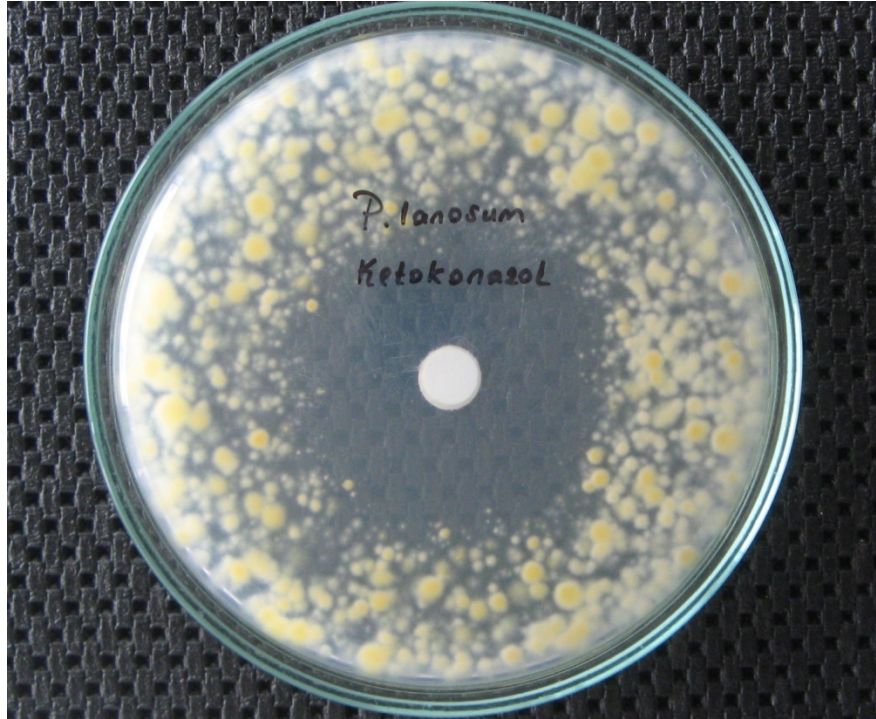
Tablo 3.3 Test Edilen Balların Agar Kuyucuk Metoduna Göre Antifungal Aktiviteleri (mm)

Mikrofunguslar	İnhibisyon zon çapları "mm"															
	Çam					Davulga					Püren					Standart
	Saf bal	800 mg/ml	600 mg/ml	400 mg/ml	200 mg/ml	Saf bal	800 mg/ml	600 mg/ml	400 mg/ml	200 mg/ml	Saf bal	800 mg/ml	600 mg/ml	400 mg/ml	200 mg/ml	200 mg/ml
<i>Alternaria alternata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26
<i>Penicillium expansum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41
<i>Penicillium lanosum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	36

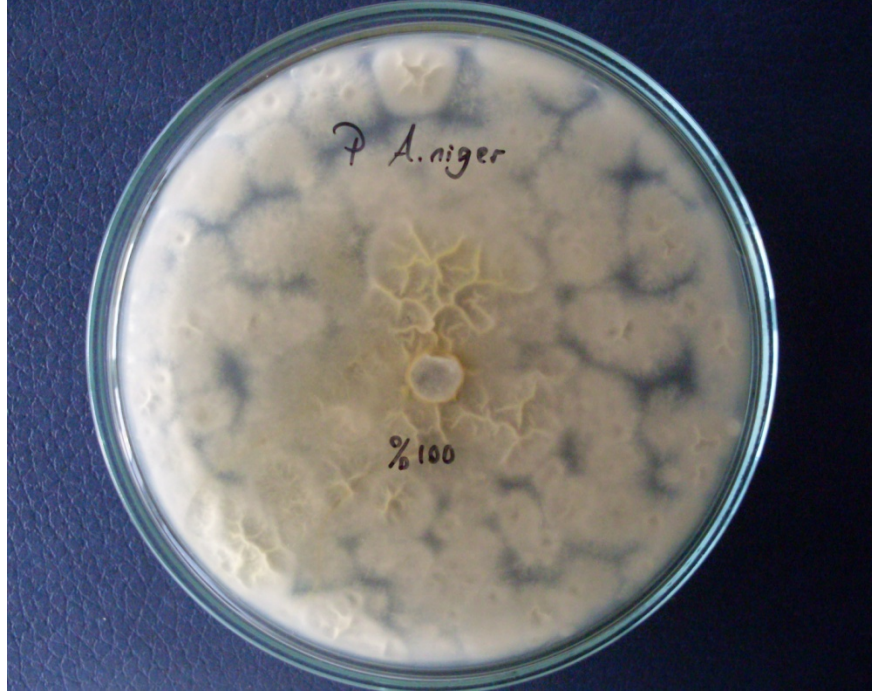
Standart: Ketokonazol



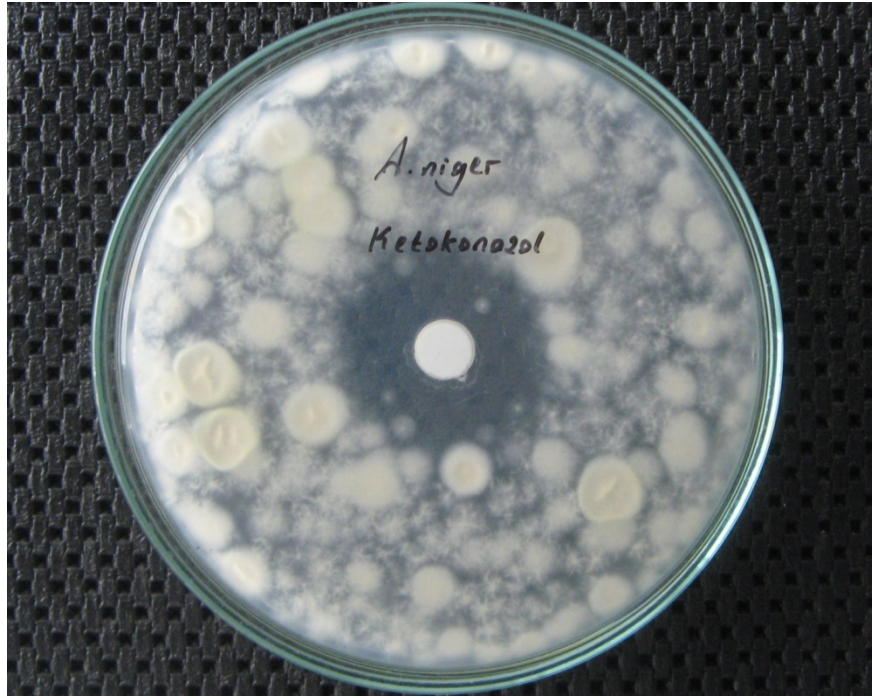
Şekil 3.7 Püren balının *P.lanosum* üzerindeki gözlenemeyen büyüme inhibisyon zonu



Şekil 3.8 Ketokonazol' ün *P. lanosum* üzerindeki büyüme inhibisyon zonu



Şekil 3.9 Püren balının *A. niger* üzerindeki gözlenemeyen büyüme inhibisyon zonu



Şekil 3.10 Ketokonazol' ün *A. niger* üzerindeki büyüme inhibisyon zonu

3.2 Balların Antioksidant Aktivite Sonuçları

Araştırmamızda kullandığımız balların antioksidant aktivite özellikleri, DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayinine göre belirlenmiştir. Çalışmada sonucunda elde edilen değerler Tablo 3.4' de verilmiş, Şekil 3.11'de grafik halinde gösterilmiştir.

Tablo 3.4 Test Edilen Bal Örneklerinin DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayinine Göre Antioksidan Aktiviteleri (mg/ml)

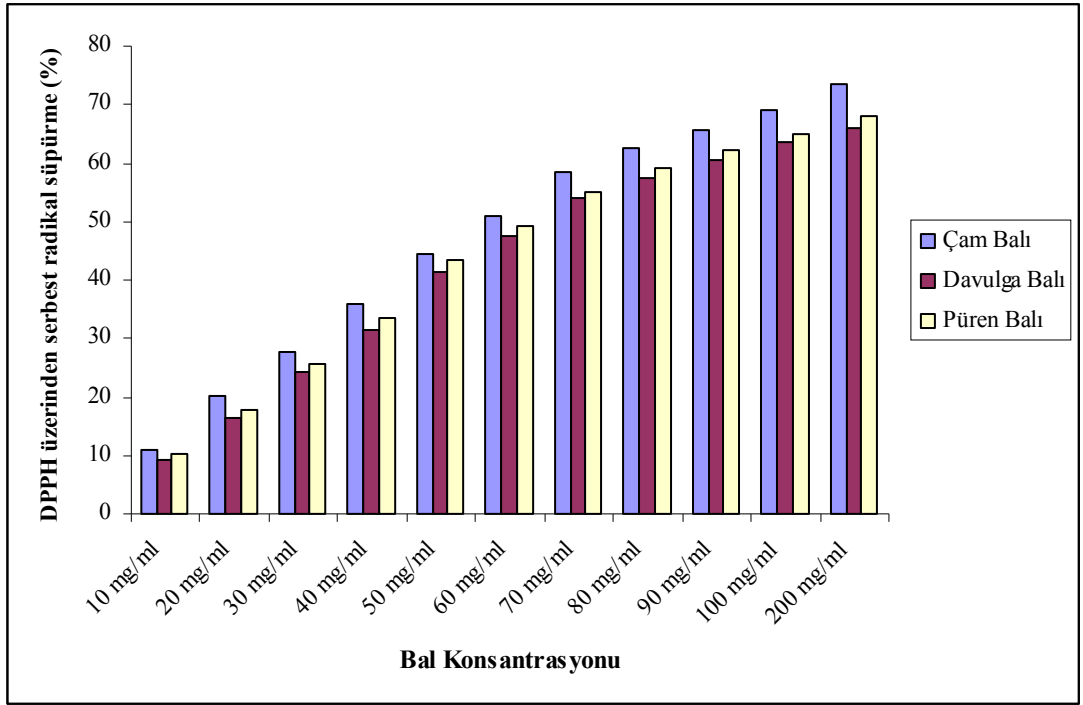
Bal konsantrasyonu (mg/ml)	DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etkisi (% \pm SD)*			
	Çam balı	Davulga balı	Püren balı	BHT
10	10,86 \pm 0,26 a	9,12 \pm 0,26 a	10,13 \pm 0,23 a	94,48 \pm 0,32
20	20,03 \pm 0,40 b	16,35 \pm 0,33 b	17,69 \pm 0,34 b	-
30	27,66 \pm 0,52 c	24,42 \pm 0,25 c	25,81 \pm 0,39 c	-
40	36,00 \pm 0,26 d	31,42 \pm 0,56 d	33,53 \pm 0,37 d	-
50	44,50 \pm 0,32 e	41,53 \pm 0,53 e	43,38 \pm 0,34 e	-
60	50,80 \pm 0,51 f	47,49 \pm 0,37 f	49,37 \pm 0,24 f	-
70	58,50 \pm 0,47 g	54,13 \pm 0,25 g	55,14 \pm 0,37 g	-
80	62,61 \pm 0,29 h	57,33 \pm 0,25 h	59,13 \pm 0,33 h	-
90	65,59 \pm 0,40 ı	60,59 \pm 0,42 ı	62,08 \pm 0,17 ı	-
100	68,96 \pm 0,49 i	63,49 \pm 0,28 i	64,90 \pm 0,17 i	-
200	73,58 \pm 0,47 j	66,05 \pm 0,41 j	67,88 \pm 0,20 j	-

*Her bir bal konsantrasyonu 3 tekrar olarak çalışılmıştır

Aynı sütunlarda (a-j) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05)

SD: Standart sapma

BHT: Bütillenmiş hidroksitoluen



Şekil 3.11 Bal örneklerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH üzerinden serbest radikal süpürme aktivitesi

3.3 Bal Örneklerinin Pestisit ve Antibiyotik Kalıntı Analizleri Sonuçları

Araştırmamızda kullanılan bal örneklerinde analizlenebilen pestisit ve antibiyotiklerden herhangi birinin kalıntısına rastlanılmamıştır.

Tablo 3.5 Bal Örneklerinin GC/ECD, NPD, MSD Grubu Kalıntı Pestisit Analiz Sonuçları

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
1	2,3,5,6-Tetrachloroaniline	<0,005	2	2,4' DDE	<0,005
3	2,4-D-1-Butyl ester	<0,010	4	2-4' DDT	<0,005
5	2-4-5-T-Butoxyether	<0,010	6	2-Phenylphenol	<0,010
7	4,4' DDD	<0,010	8	4,4' DDE	<0,005
9	4,4' DDT	<0,010	10	Acephate	<0,005
11	Acetochlor	<0,005	12	Acrinathrin	<0,005
13	Alachlor	<0,010	14	Aldrin (HHDN)	<0,005
15	Allethrin	<0,005	16	Alpha Cypermethrin	<0,010
17	Alpha Endosulfan	<0,010	18	Alpha HCH	<0,010
19	Amitraz	<0,010	20	Anthraquinone	<0,010
21	Aramite	<0,005	22	Atrazine	<0,010
23	Azaconazole	<0,005	24	Azinphos ethyl	<0,010
25	Azinphos methyl	<0,010	26	Azobenzene	<0,010
27	Azoxystrobin	<0,010	28	Benalaxyl	<0,010
29	Benfluralin	<0,005	30	Benfuracarb	<0,010
31	Beta Cyfluthrin	<0,010	32	Beta Endosulfan	<0,005
33	Beta HCH	<0,010	34	Bifenthrin	<0,005
35	Binapacryl	<0,010	36	Bioresmethrin	<0,005
37	Bitertanol	<0,005	38	Boscalid	<0,005
39	Bromacil	<0,010	40	Bromophos ethyl	<0,005
41	Bromophos methyl	<0,005	42	Bromopropylate	<0,005
43	Buprimate	<0,010	44	Buprofezin	<0,010
45	Butralin	<0,010	46	Butylat	<0,005
47	Cadusafos	<0,010	48	Captafol	<0,010
49	Captan	<0,010	50	Carbaryl	<0,005

Tablo 3.5' in Devami

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
51	Carbofuran	<0,010	52	Carbosulfan	<0,010
53	Carboxin	<0,010	54	Chiomethionate	<0,005
55	Chlorbenside	<0,005	56	Chlorbufam	<0,010
57	Chlorfenapyr	<0,005	58	Chlorfenprop methyl	<0,005
59	Chlorfenson	<0,010	60	Chlorfenvinphos	<0,005
61	Chloridazon	<0,005	62	Chlormephos	<0,010
63	Chlorobenzilate	<0,010	64	Chloroneb	<0,010
65	Chlorothal- dimethyl	<0,005	66	Chlorothalonil	<0,010
67	Chlorphoxim	<0,005	68	Chlorpropham	<0,010
69	Chlorpyrifos	<0,005	70	Chlorpyrifos methyl	<0,005
71	Chlozolate	<0,010	72	Cis-chlordane (alpha)	<0,005
73	Cis-Permethrin	<0,005	74	Climbazole	<0,010
75	Clomazone	<0,010	76	Coumaphos	<0,005
77	Cyanazine	<0,005	78	Cyanofenphos	<0,005
79	Cyanophos	<0,005	80	Cyfluthrin	<0,010
81	Cypermethrin	<0,005	82	Cyproconazole	<0,010
83	Cyprodinil	<0,010	84	Delta HCH	<0,005
85	Deltamethrin	<0,005	86	Demeton S Methyl	<0,010
87	Demeton-S	<0,010	88	Desmetryne	<0,005
89	Dialifos	<0,005	90	Diallate	<0,010
91	Diazinon	<0,010	92	Dichlofluanid	<0,005
93	Dichloran	<0,005	94	Dichlorvos	<0,010
95	Diclofop methyl	<0,005	96	Dicofol	<0,010
97	Dieldrin	<0,010	98	Diflubenzuron	<0,010
99	Dimethenamide	<0,005	100	Dimethoate	<0,010
101	Diniconazole	<0,005	102	Dinocab	<0,010

Tablo 3.5' in Devamı

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
103	Dioxathion	<0,010	104	Diphenamid	<0,005
105	Diphenylamine	<0,010	106	Dipropetryn	<0,005
107	Disulfoton	<0,010	108	Disulfoton sulfoxide	<0,005
109	Dithalimphos	<0,005	110	Diuron	<0,005
111	Endosulfan sulfate	<0,005	112	Endrin	<0,005
113	Epoxiconazole	<0,005	114	EPTC	<0,010
115	Esfenvalerate	<0,005	116	Etaconazole	<0,010
117	Ethalfuralin	<0,010	118	Ethiofencarb	<0,010
119	Ethion	<0,005	120	Ethoprophos	<0,010
121	Etoxazole	<0,010	122	Etridiazole	<0,005
123	Etrimfos	<0,010	124	Fenamiphos	<0,010
125	Fenarimol	<0,005	126	Fenazaquin	<0,010
127	Fenbuconazole	<0,010	128	Fenchlorphos	<0,005
129	Fenchlorphos oxon	<0,005	130	Fenitrothion	<0,005
131	Fenoxaprop ethyl	<0,010	132	Fenoxycarb	<0,010
133	Fenpropathrin	<0,005	134	Fenson	<0,010
135	Fenthion oxon	<0,010	136	Fensulfothion	<0,010
137	Fenthion	<0,010	138	Fenvalerate	<0,005
139	Fipronil	<0,010	140	Flamprop methyl	<0,005
141	Flonicamid	<0,010	142	Fluazifop-P- butyl	<0,005
143	Flucythrinate	<0,005	144	Fludioxinil	<0,010
145	Flufenoxuron	<0,010	146	Fluomethuron	<0,010
147	Fluquinconazole	<0,005	148	Flusilazole	<0,010
149	Flutriafol	<0,005	150	Folpet	<0,010
151	Fonofos	<0,010	152	Formothion	<0,010

Tablo 3.5' in Devami

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
153	Gama HCH (BHC)- Lindane	<0,005	154	Gamma Chyalothrin	<0,005
155	Haloxifop ethoxyethyl	<0,005	156	Haloxifop methyl	<0,005
157	Heptachlor	<0,005	158	Heptachlor- endo-epoxide	<0,005
159	Heptachlor-exo- epoxide	<0,005	160	Heptenophos	<0,010
161	Hexachlorobenzene	<0,005	162	Hexaconazole	<0,005
163	Imazalil	<0,010	164	Indoxacarb	<0,010
165	Iodofenphos	<0,005	166	Iprodione	<0,010
167	Isazofos	<0,005	168	Isofenphos	<0,005
169	Isofenphos methyl	<0,010	170	Isopropalin	<0,005
171	Isoxaflutol	<0,005	172	Kresoxim methyl	<0,005
173	Lambda cyhalothrin	<0,005	174	Leptophos	<0,005
175	Linuron	<0,010	176	Lufenuron	<0,005
177	Malathion	<0,010	178	Mecarbam	<0,010
179	Mefanpyr diethyl	<0,005	180	Mephosfolan	<0,005
181	Metalaxyl	<0,010	182	Metalaxyl-m	<0,010
183	Metazochlor	<0,010	184	Methacrifos	<0,010
185	Methidathion	<0,005	186	Methoxychlor	<0,005
187	Metolachlor	<0,010	188	Metoxuron	<0,005
189	Metrafenone	<0,005	190	Metribuzin	<0,005
191	Mevinphos	<0,010	192	Mirex	<0,005
193	Monocrotophos	<0,010	194	Monolinuron	<0,010
195	MPCPS	<0,005	196	Musk Ketone	<0,010
197	Myclobutanil	<0,010	198	Naled	<0,010
199	Napropamid	<0,005	200	Neburon	<0,005
201	Nitralin	<0,005	202	Nitrofen	<0,010
203	Nitrothal isopropyl	<0,010	204	Norflurazon	<0,005

Tablo 3.5' in Devami

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
205	Nuarimol	<0,005	206	Ofurace	<0,005
207	Oxadiazon	<0,005	208	Oxadixyl	<0,010
209	Oxyfluorfen	<0,005	210	Paraoxon ethyl	<0,010
211	Paraoxon methyl	<0,005	212	Parathion ethyl	<0,010
213	Parathion methyl	<0,010	214	Pebulat	<0,005
215	Penconazole	<0,005	216	Pendimethalin	<0,005
217	Pentachloroaniline	<0,005	218	Pentachloroanisole	<0,005
219	Pentanochlor	<0,010	220	Permethrin	<0,010
221	Perthane	<0,010	222	Phenmedipham	<0,010
223	Phenthoate	<0,010	224	Phorate	<0,010
225	Phosalone	<0,005	226	Phosfolan	<0,005
227	Phosmet	<0,010	228	Phosphamidon	<0,010
229	Picloram	<0,005	230	Pirimicarb	<0,010
231	Pirimiphos-ethyl	<0,010	232	Pirimiphos methyl	<0,010
233	Prochloraz	<0,005	234	Procymidone	<0,005
235	Profenofos	<0,010	236	Profluralin	<0,010
237	Prometryn	<0,010	238	Propachlor	<0,005
239	Propanil	<0,005	240	Propargite	<0,010
241	Propazine	<0,005	242	Propham	<0,010
243	Propiconazole	<0,005	244	Propoxur	<0,010
245	Propyzamide	<0,005	246	Prosulfuron	<0,005
247	Prothiophos	<0,005	248	Pyrazophos	<0,010
249	Pyrethrins	<0,010	250	Pyridalyl	<0,005
251	Pyridaphenthion	<0,010	252	Pyridimifen	<0,005
253	Pyrimethanil	<0,010	254	Pyriproxyfen	<0,010
255	Quinalphos	<0,010	256	Quinonamid	<0,010
257	Quinoxyfen	<0,010	258	Quintozene	<0,005
259	Quizalofop ethyl	<0,010	260	Resmethrin	<0,005
261	S 421	<0,005	262	Spirodiclofen	<0,005
263	Spiromesifen	<0,005	264	Spiroxamine	<0,010
265	Sulprofos	<0,005	266	Tau Fluvalinate	<0,005
267	Tebuconazole	<0,010	268	Tebufenpyrate	<0,010

Tablo 3.5' in Devami

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
269	Tecnazene	<0,005	270	Teflubenzuron	<0,005
271	Terbacil	<0,005	272	Terbufos	<0,005
273	Terbufos sulfon	<0,010	274	Terbumethon	<0,005
275	Terbutol	<0,010	276	Terbutryn	<0,010
277	Tetrachlorvinphos	<0,010	278	Tetraconazole	<0,005
279	Tetradifon	<0,005	280	Tetramethrin	<0,010
281	Tetrasul	<0,005	282	Thiabendazole	<0,010
283	Thiamethoxam	<0,005	284	Thiobencarb	<0,010
285	Thiometon	<0,010	286	Tolclofos methyl	<0,005
287	Tolyfluanid	<0,010	288	Tralomethrin	<0,010
289	Trans Chlordane	<0,005	290	Trans-Permethrin	<0,005
291	Triadimefon	<0,005	292	Triadimenol	<0,010
293	Tri-allate	<0,010	294	Triazophos	<0,010
295	Trichlorphon	<0,010	296	Trifloxystrobin	<0,005
297	Triflumizole	<0,005	298	Triflumuron	<0,005
299	Trifluralin	<0,005	300	Triforine	<0,010
301	Triphenylphosphate	<0,005	302	Tris ethyl phospate	<0,005
303	Vinclozolin	<0,005	304	Zeta- Cypermethrin	<0,010
305	Zoxamide	<0,005			

**NTS: Nicel Tayin Sımrı

Tablo 3.6 Bal Örneklerinin LC-MS/MS Grubu Pestisit Analiz Sonuçları

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
1	Acetamiprid	<0,005	2	Bensulfuron methyl	<0,005
3	Bromuconazole	<0,005	4	Benomyl/Carbendazim	<0,005
5	Carfentrazone	<0,005	6	Clethodim	<0,005
7	Clodinafob propargyl	<0,005	8	Clofentezine	<0,005
9	Cyanazin	<0,005	10	Cyazofamid	<0,005
11	Cycloate	<0,005	12	Diethofencarb	<0,005
13	Dimethomorph	<0,005	14	Ethofumesate	<0,005
15	Etofenprox	<0,005	16	Fenamidone	<0,005
17	Fenpyroximate	<0,005	18	Fenthion-oxon	<0,005
19	Fenthion-oxon- sulfone	<0,005	20	Fenthion-oxon- sufoxide	<0,005
21	Flurochloridone	<0,005	22	Furathiocarb	<0,005
23	Hexythiazox	<0,005	24	Imidachloprid	<0,005
25	Iprovalicarb	<0,005	26	Lenacil	<0,005
27	Mefanpyr diethyl	<0,005	28	Metamitron	<0,005
29	Methomyl	<0,005	30	Metoxyfenozide	<0,005
31	oxadiargyl	<0,005	32	Paclobutrazol	<0,005
33	Pencycuron	<0,005	34	Piperonyl butoxide	<0,005
35	Propaquizafop	<0,005	36	Prosulfocarb	<0,005
37	Pyraclostrobin	<0,005	38	Pyridaben	<0,005
39	Pyriproxyfen	<0,005	40	Sethoxydim	<0,005
41	Simazine	<0,005	42	Spinosad	<0,005
43	Spiroxamine	<0,005	44	Tebufenozide	<0,005
45	Tepraloxydim	<0,005	46	Terbufos-sulfoxide	<0,005
47	Terbutylazine	<0,005	48	Terbutol (Terbucarb)	<0,005
49	Thiacloprid	<0,005	50	Thiobencarb	<0,005
51	Tribenuron methyl	<0,005	52	Aldicarb	<0,005

Tablo 3.6' nin Devamı

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
53	Aldicarb sulfone	<0,005	54	Amidosulfuron	<0,005
55	Azamethiphos	<0,005	56	Aziprotryn	<0,005
57	Barban	<0,005	58	Butachlor	<0,005
59	Butocarboxim	<0,005	60	Butoxycarboxim	<0,005
61	Carbofuran-3- hydroxy	<0,005	62	Chloroxuron	<0,005
63	Clothanidin	<0,005	64	Desmedipham	<0,005
65	Diclobutrazol	<0,005	66	Dicrotophos	<0,005
67	Disulfoton-sulfone	<0,005	68	Famoxadone	<0,005
69	Fenhexamid	<0,005	70	Fenthion- sulfone	<0,005
71	Fenuron	<0,005	72	Fosthiazate	<0,005
73	Isocarbofos	<0,005	74	Isoproturon	<0,005
75	Malaoxon	<0,005	76	Mepanipyrim	<0,005
77	Methabenzthiazuron	<0,005	78	Methiocarb	<0,005
79	Metobromuron	<0,005	80	Mibemectin A4	<0,005
81	Oxycarboxin	<0,005	82	Phorate Sulfone	<0,005
83	Picoxystrobin	<0,005	84	Promecarb	<0,005
85	Pyridayl	<0,005	86	Pyrifenox	<0,005
87	Rotenone	<0,005	88	Thiocyclam hydrogenoxalate	<0,005
89	Thiofanox	<0,005	90	Thiofanox sulfone	<0,005
91	Thiofanox sulfoxide	<0,005	92	Triticonazole	<0,005
93	Uniconazole	<0,005	94	2,4 Dimethylaniline	<0,001
95	Ametryn	<0,005	96	Aminocarb	<0,005
97	Bendiocarb	<0,005	98	Bifenazete	<0,005
99	Bromfevinphos- ethyl	<0,005	100	Butafenacil	<0,005
101	Buturon	<0,005	102	Carbofuran 3 keto	<0,005

Tablo 3.6' nin Devamı

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
103	Carbophenothion	<0,005	104	Chlorotoluron	<0,005
105	Cloquintocet- mexyl	<0,005	106	Crimidline	<0,005
107	Cymoxanil	<0,005	108	Desmethylformamido- pirimicarb	<0,005
109	Desmethyl- pirimicarb	<0,005	110	Dichlofenthione	<0,005
111	Diflufenican	<0,005	112	Dimethachlor	<0,005
113	Dimoxystrobin	<0,005	114	Diphenamid	<0,005
115	Emomectin Benzoate	<0,005	116	Famphur	<0,005
117	Fenpropidin	<0,005	118	Fenpropimoph	<0,005
119	Fenthion- sulfoxide	<0,005	120	Flufenacet	<0,005
121	Fluopicolide	<0,005	122	Forchlorfenuron	<0,005
123	Formetanate hydrochloride	<0,005	124	Fuberidazole	<0,005
125	Furalaxyl	<0,005	125	Halfenprox	<0,005
126	Iodosulfuron- Methyl-Sodium	<0,005	127	Isoxathion	<0,005
128	Mepronil	<0,005	129	Methoprotryne	<0,005
130	Metolcarb	<0,005	131	Molinate	<0,005
132	Monuron	<0,005	133	N-2,4 DMP-formamide	<0,005
134	N-Desethyl- pirimiphos- methyl	<0,005	135	O-O Tepp	<0,005
136	Propamocarb Free Base	<0,005	137	Propamocarb hyrdochloride	<0,005
138	Proquinazid	<0,005	139	Prothoate	<0,005
140	Pyridat	<0,005	141	Quinoclamine	<0,005
142	Sebuthylazin	<0,005	143	Spinosad	<0,005

Tablo 3.6' nın Devamı

No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)	No	Pestisit Adı	NTS** (mg/kg)
144	Tebutam	<0,005	145	Thiodicarb	<0,005
146	Thionazin	<0,005	147	Tralkoxydim	<0,005
148	Triamiphos	<0,005	149	Triazamate	<0,005

Tablo 3.7 Bal Örneklerinin EBDC (Ethylene Bıs Dithiocarbamate) Analiz Sonuçları

Yapılan Analiz	NTS** (mg/kg)
Toplam Ditiyokarbomat	<0,010

Tablo 3.8 Bal Örneklerinin Kloramfenikol Kalıntı Analiz Sonuçları

Yapılan Analiz	NTS** (µg/kg)
Kloramfenikol	<0,08

**NTS: Nicel Tayin Sınırı

Tablo 3.9 Bal Örneklerinin LC MS/MS ile Sulfonamid Kalıntı Analiz Sonuçları

Yapılan Analiz	NTS**(mg/kg)
Sulfaklorpiridazin	<0,010
Sulfadiazin	<0,010
Sulfadoksin	<0,010
Sulfamerazin	<0,010
Sulfametazin	<0,010
Sulfameter + Sulfametoksipiridazin	<0,010
Sulfametizol	<0,010
Sulfametoksazol	<0,010
Sulfapiridin	<0,010
Sulfatiazol	<0,010
Sulfisoksazol	<0,010
Dapson	<0,010

Tablo 3.10 Bal Örneklerinin LC MS/MS ile Tetrasiklin Kalıntı Analiz Sonuçları

Yapılan Analiz	NTS** (mg/kg)
Klortetrasiklin	<0,010
Demeklosiklin	<0,010
Doksisiklin	<0,010
Oksitetrasiklin	<0,010
Tetrasiklin	<0,010

Tablo 3.11 Bal Örneklerinin Nitrofuran Metabolitleri Analiz Sonuçları

Yapılan Analiz	NTS** (µg/kg)
3-Amino-2-oxazolidinone (AOZ)	<1,200
Semicarbazide (SC)	<0,510
1-Aminohydantoin (AH)	<6,760
1-Amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidinone (AMOZ)	<1,120

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Araştırmada test edilen balların, agar kuyucuk ve makrobroth dilüsyon teknikleri kullanılarak test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Agar kuyucuk metodunda, 8 mm çapında açılan kuyucuklara balların farklı konsantrasyondaki solüsyonlarından 100 µl konulmuş ve oluşan zon çapları mm olarak kaydedilmiştir.

Agar kuyucuk metoduna göre test ettiğimiz balların %40 ve üzeri dilüsyonlarının antibakteriyel ve antikandidal aktiviteler sergilediği belirlenmiştir. Buna karşılık kullanılan balların %20 dilüsyonlarında herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye rastlanılmamıştır (Tablo 3.1). Çeşitli araştırmacılar tarafından farklı zamanlarda rapor edilen birçok araştırmada da test edilen balların %40 ve üzeri konsantrasyonlarda pek çok patojen bakterinin balda gelişemediği rapor edilmiştir [37, 38, 39, 41. 59]. Tablo 3.1' de görüldüğü gibi bal solüsyonlarının konsantrasyonları arttıkça mikroorganizmalara karşı elde edilen zonların çaplarının da arttığı görülmektedir. Balda bulunan şekerler yüksek ozmotik basıncın asıl nedenidir bu yüzden uygun olmayan düşük su aktivitesinin indüksiyonu mikrobiyal gelişmeyi inhibe etmektedir [58]. Ayrıca seyreltilmemiş balın düşük pH değeri çoğu bakteri için gerekli olan optimum pH değerinden (~7) oldukça düşüktür [265]. Bununla beraber bala asitliğini veren organik asitlerin hücre membranlarında yüksek oranda çözünmelerinin balın antimikrobiyal aktivitesinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir [266].

Agar kuyucuk metodundan elde edilen sonuçlara göre *Erica* sp. çiçeklerinden elde edilen püren balının diğer ballara göre daha fazla antimikrobiyal potansiyele sahip olduğunu söyleyebiliriz (Tablo 3.1). Bu sonuç floral kaynaklara bağlı olarak ballar arasında antimikrobiyal aktivitenin değişebilirliğini göstermektedir [19, 37, 40, 48, 148, 267, 268, 269, 270, 271, 272. 273]. Bitkilerde bulunan aktif bileşenlerin

kompozisyonu özellikle kemotip ve iklim koşullarına bağlı olup, aynı türün bireylerinde bile farklılık gösterebilmektedir.

Araştırmamızda makrobroth dilüsyon metodu kullanılarak balların MİK değerleri de belirlenmiş ve test edilen balların test mikroorganizmaları üzerinde 250-375 mg/ml değerlerde inhibe edici etkiye sahip oldukları saptanmıştır (Tablo 3.2). *Escherichia coli* ve *Proteus vulgaris* davulga balında en düşük değer ile 250 mg/ml' de inhibe edilirken, *Campylobacter jejuni* çam ve davulga balında 375 mg/ml konsantrasyonda inhibe edilmiştir. *Listeria monocytogenes* püren balı ile 300 mg/ml' de, çam ve davulga balı ile de 325 mg/ml' de; *Pseudomonas aeruginosa* püren balında en düşük değer ile 275 mg/ml' de, çam ve davulga balında 300 mg/ml' de; *Serratia marcescens* çam ve püren ballarında 275 mg/ml' de, davulga balında ise 300 mg/ml' de; *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida albicans* (klinik izolatu) en iyi püren balında 275 mg/ml' de inhibe edilirken diğer ballar ile 325 ve 300 mg/ml değerlerinde inhibe edildikleri saptanmıştır. *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* üzerinde ise test edilen ballar 300 mg/ml' de etkili olmuşlardır. Yapılan bazı çalışmalarda test edilen manuka ballarının antimikrobiyal aktivitesinin coğrafi koşullara bağlı olarak 500 mg/ml ile 30 mg/ml konsantrasyonları arasında değişebildiği rapor edilmiştir [19, 55, 274]. Daha önce yapılan bir araştırmada ise *E.coli* NCTC 9001 ve *S.aureus* NCTC 8530' un 250-500 mg/ml' de inhibe edildiği tespit edilmiştir [55]. Subrahmanyam ve ark. (2001), Jambol balının (*Syzygium cumini*) minimum inhibisyon konsantrasyonunun yara, yanık enfeksiyonlarına neden koagülaz negatif ve koagülaz pozitif tüm organizmalar için yaklaşık 300 mg/ml olduğunu belirtmişlerdir [275].

Makrobroth dilüsyon metodu sonuçlarına göre *P. aeruginosa* için gözlenen minimum inhibisyon konsantrasyonları, *E. coli*' ye göre bulunanlardan daha yüksektir (Tablo 3.2). Bu sonuç, *E. coli*' nin bala olan duyarlılığının *P. aeruginosa*' a göre daha fazla olduğunu raporlayan Willinson ve Cavanagh (2005)' in çalışmasıyla paralellik göstermektedir [273]. Bununla birlikte araştırmamızda test mikroorganizmalarından, gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilere göre daha

yüksek MİK değerinin olduğu saptanmıştır (Tablo 3.2). Bu sonuç, balda lipofilik yapıda bulunan antimikrobiyal bileşenleri akla getirmektedir. Rapor edilen birçok çalışmada gram negatif bakterilerin yüksek lipit içerikleri nedeniyle ballara karşı daha duyarlı oldukları belirtilmiştir [21, 52, 265, 276. 277].

Çok sayıda antimikrobiyal bileşiğe dirençli olan *P. aeruginosa* [278], yara dokusu içerisindeki konakçı immün efektörlerden korunmakta ayrıca doku rejenerasyonu için gerekli olan fibrin ve kollajen moleküllerini parçalayan toksinler üretmektedir. Bu yüzden *P. aeruginosa* kronik yaralar için önemli bir sorundur ve iyileşmeyi geciktirmektedir [279]. Balın ise doku onarımını başlatan monositler yolu ile sitokin üretimini uyardığı [280, 281] ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca balların prostoglandinler olarak adlandırılan bazı kimyasalların üretiminden sorumlu siklooksijenaz (COX-2) enzimini inhibe ederek yara çevresinde oluşan acı hissini ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir [177]. Ayrıca yaraları iyileştirmekte, kötü kokuyu uzaklaştırmakta, antiinflamatuvar aktivitesi ile ödem ve eksudaları azaltmakta ve skarlaşmayı (iz kalması) mümkün olduğu kadar aza indirmektedir. Bununla birlikte çalışmamızda kullandığımız balların üçü de *P. aeruginosa*' ya karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Cooper (1999), enfekte olmuş yaralardan *P. aeruginosa*' ın 17 irkına karşı manuka balının 100 mg/ml' den (%10) daha düşük MİK değerine sahip olduğunu belirtmiştir [282]. Molan (2002), enfekte olmuş yanıklardan *P. aeruginosa* ırklarına karşı manuka balının 60 mg/ml (%6)' lik MİK değerinin olduğunu ifade etmiştir [283]. Çalışmamızda ise *P. aeruginosa*' ya karşı çam ve davulga balının 300 mg/ml, püren balının ise 275 mg/ml konsantrasyonlarda MİK değerine sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 3.2).

Basson ve Grobler (2008), Güney Afrika'da üretilen ballara karşı *C. albicans* NCPF 3118' in oral streptokoklara göre daha fazla direnç gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında kullandıkları balların *C. albicans*' ı 500 mg/ml' de inhibe ettiğini rapor etmişlerdir [55]. Omafuvbe ve Akanbi (2009) ise, Nijerya'nın farklı coğrafik bölgelerden topladıkları 10 adet balın *C. albicans* üzerinde inhibe edici etki göstermediğini rapor etmişlerdir [56]. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise Mercan ve ark. (2007), İzmir, Sivas, Afyon ve Muğla'dan topladıkları bal örneklerinin %50

ve üzeri konsantrasyonlarının *C. albicans* (klinik izolat)'a karşı antikandidal aktiviteler gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte çalışmada Sivas'tan toplanan bal örneği dışında test edilen balların %20 konsantrasyonları *C. albicans'* in üremesini durduramamıştır [60]. Hazır ve Keskin (2002) ise, Türkiye' nin farklı bölgelerinden topladıkları bal örneklerinin *C. albicans'* a karşı herhangi bir aktivitesinin olmadığını rapor etmişlerdir [59]. Çalışmamızda ise kullandığımız balların her üçünün de *C.albicans* ATCC 10231 ile *C.albicans* (klinik izolat)' a karşı antikandidal aktiviteler gösterdikleri belirlenmiştir (Tablo 3.2).

Balın yüksek şeker konsantrasyonu (indirgenmiş su aktivitesi), düşük pH' sı, hidrojen peroksit üretimi ve içerdiği proteinimsi veya diğer belirlenememiş bileşikleri antimikrobiyal aktiviteden sorumludur [48]. Bununla birlikte seyreltilmemiş balın pH değeri 3,2 ile 4,5 aralığında olup, çoğu bakteri için gerekli olan optimum pH (~7) değerinden oldukça düşüktür. Ancak bal, sulandırıldığı zaman su aktivitesinin de artmasıyla düşük pH değerini kaybetmekte, mikroorganizmaların gelişebileceği pH değerlerine yükselmektedir. Bu yüzden makrobroth dilüsyon metodu çalışmalarımızda önemli bir antibakteriyel faktör olan düşük pH göz önünde bulundurulmamıştır. Şüphesiz test mikroorganizmaları üzerinde inhibe edici konsantrasyonlar olarak belirlediğimiz 250 ile 375 mg/ml konsantrasyonları arasında bulunan pH değerleri, seyreltilmemiş balın pH değerine göre daha yüksektir ki bu değerler mikroorganizmaların büyüme aralığına denk gelen pH değerleri de olabilir. Diğer taraftan balın sulandırılmasıyla açığa çıkan hidrojen peroksit üretiminin farklı ballarda, farklı zamanlarda en yüksek seviyeye ulaştığı bildirilmektedir. Hidrojen peroksidin bakteriyostatik etki gösterebilmesi için en azından 10 mg/l' lik konsantrasyonuna ihtiyaç vardır [284]. Bu konsantrasyon değerine ulaşılması ise bazen 24 saat sürebilmektedir [285]. Eğer bu konsantrasyonlar 24 saatlik inkübasyonun sonucunda elde ediliyorsa, *C. jejuni* dışında diğer mikroorganizmalar için daha düşük MİK değeri elde etmemiz mümkündür. Bununla birlikte mikroaerofilik koşullarda inkübe ettiğimiz *C. jejuni'* nin diğer test mikroorganizmalarına göre daha yüksek bir MİK değerinin olması, glikoz oksidaz aktivitesiyle meydana gelen hidrojen peroksidin mikroaerofik

koşullarda oluşmamasından ileri geldiği düşünülmektedir. Glikoz oksidaz aktivitesi ile üretilen hidrojen peroksidin oluşabilmesi için aerobik koşullar gereklidir [286].

Antibakteriyel aktivite sonuçlarımızda bakterilerin test edilen ballara karşı aynı biçimde etkilenmediği görülmektedir (Tablo 3.2). Bu durumun balların floral kaynakları ile ilişkili olan non-peroksit faktörlerinden ileri geldiği düşünülmektedir. Balın non-peroksit aktivitesinden sorumlu bileşenleri; arı orijinli lizozim ve laktoperoksidaz enzimleri ile bitkisel orijinli fenolik asitler ve flavonoidlerdir [54]. Bununla birlikte arılar balı belirli sınırlar içerisinde olgunlaştırdıklarından, arı kaynaklı enzimlerin non-peroksit aktiviteye olan katkısının dünya genelindeki çoğu balda benzer olduğu ifade edilmektedir. Ancak bu durum bitkisel kaynaklardan gelen fenolik asitler ve flavonoidler için söylenemez. Her bitkinin fenolik bileşikleri ile flavonoidlerinden oluşan karakteristik bir dağılım şablonu vardır ve bütün bitkiler aynı antibakteriyel bileşenlere sahip değildir [54]. Nitekim hidroksiflavanonlar [287] ile flavanostilbenler [288] içeren balların metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*' un (MRSA) üremesini durdurduğu belirtilmektedir. Flavonoidlerden galangin ve kafeik asit fenetil ester' in bakteriyel RNA polimeraz' ı inhibe ettiği tespit edilmiştir [289]. Mori ve ark. (1987)' na göre robinetin, mirisetin ve -epigallokteşin gibi flavonoidler *Proteus vulgaris*' in DNA sentezini etkili bir şekilde durdurmaktadır [290]. Ek olarak quercetin' in *E.coli* üzerindeki antibakteriyel etkisi DNA giraz inhibisyonuna bağlanmaktadır [291]. Sonuç olarak araştırmamızda bitkisel kaynakların etkisi en çok *P. vulgaris* ile *E.coli* üzerinde davulga balında gözlenmiştir (Tablo 3.2).

Araştırmamızda kullanılan balların test edilen bakteriler ile *C.albicans* ATCC 10231 ve *C.albicans* (klinik izolat) üzerinde inhibe edici etki sergilemesine rağmen filamentöz fungusların üremesini durduramamıştır (Tablo 3.3). Bu sonuç, bala karşı fungusların bakterilere göre daha dirençli olduğunu göstermektedir. Funguslar grup olarak, genellikle aside karşı, bakterilere göre daha toleranslı olan ozmofil mikroorganizmalardır. Bunların birçoğu optimum olarak pH 5 veya daha aşağı değerlerde gelişebilirler. Bu değerler seyreltilmemiş balın pH değerlerine karşılık gelmektedir. Bulgularımız Molan (1997), Mundo ve ark. (2004), Hamdi ve Nzeako

(2000), Ceyhan ve Uğur (2001), White ve ark. (1963) ile Schmolz ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir [21, 48, 57, 58, 284. 292].

Çalışmamızda kullandığımız balların, DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre, antioksidan aktivite özellikleri de belirlenmiştir. Test ettiğimiz bütün ballar farklı %'de DPPH serbest radikalini süpürme etkisi göstermiştir (Şekil 3.11). Elde edilen sonuçlara göre 10-200 mg/ml konsantrasyonları arasında çam balı $10,86 \pm 0,26$ ile $73,58 \pm 0,47$, püren balı $10,13 \pm 0,23$ ile $67,88 \pm 0,20$, davulga balı $9,12 \pm 0,26$ ile $66,05 \pm 0,41$ radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (Tablo 3.4). Bununla birlikte pozitif kontrol olarak kullanılan Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) 10mg/ml' de DPPH serbest radikalini $94,48 \pm 0,32$ oranında süpürmüştür. Araştırmamızda *Pinus brutia* Ten. üzerinde yaşayan *Marchalina hellenica* Gennadius (pamuklu koşnili)' un salgılarından üretilen çam balının davulga ve püren ballarına göre daha yüksek antioksidan aktivitesinin olduğu saptanmıştır.

Balın antioksidan aktivitesini fenolik bileşikler, peptitler, organik asitler, enzimler, Maillard reaksiyon ürünleri ve muhtemelen düşük miktarda bulunan bileşikler belirlemektedir [162]. Bunun yanı sıra balın antioksidan aktivitesinden daha çok fenolik bileşikler sorumludur. Diğer taraftan salgı balları çiçek ballarına göre daha yüksek toplam fenolik madde içermektedir [293, 294]. Balların toplam fenol içeriği ile antioksidan aktiviteleri arasında da pozitif korelasyon bulunmaktadır [63]. Bu noktadan yola çıkarak test ettiğimiz, salgı balı olarak adlandırılan, çam balının diğer ballara göre daha fazla antioksidan aktivite göstermesi, daha yüksek toplam fenolik madde içermesinden kaynaklanabilir.

Genelde koyu renkli balların daha yüksek antioksidan potansiyele sahip oldukları çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir [165, 166, 167, 161, 162, 168, 69, 169, 170. 171]. Koyu renkli ballar açık renkli ballara göre daha fazla fenolik madde içermektedir. Buna karşılık açık renkli ballar flavonoid içeriği bakımından koyu renkli ballardan daha üstündür [138]. Radikal süpürme etkisi ile toplam fenol içeriği arasındaki ilişkinin, radikal süpürme aktivitesi ile toplam flavonoid içeriği arasındaki

ilişkiden daha yüksek olduğu belirtilmektedir [69]. Bu da balların toplam fenol içeriğinin antioksidan aktiviteye olan katkısının toplam flavonoid içeriğinden daha fazla olduğu anlamını taşımaktadır. Araştırmamızda da püren ve davulga balına göre daha koyu renkte olan çam balının daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Balın botanik orijininin antioksidan aktiviteye olan katkısı antibakteriyel aktiviteye olan katkısından daha belirgindir. Bunun birinci sebebi balda birden fazla antibakteriyel faktörün bulunmasıdır. Diğer sebebi ise balın antibakteriyel aktivitesinin bir biyolojik aktivite olmasıdır [295]. Bu nedenle araştırmamızda püren balının diğer ballara göre daha fazla antibakteriyel aktiviteye sahip olması antioksidan aktivitesinin de daha fazla olacağı anlamına gelmemelidir.

Pérez ve ark. (2007), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre 25 mg/ml' de ortalama olarak salgı balının % 70, salgı balıyla karışık çiçek balının % 41,1, çiçek balının ise % 20,7 radikal süpürme aktivitesinin olduğunu belirtmişlerdir [63].

Vela ve ark. (2007), farklı floral kaynaklardan elde ettikleri 36 adet İspanya balından salgı ballarının ortalama olarak çiçek ballarına göre daha yüksek polifenol içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada 25 mg/ml' de salgı balları ortalama olarak $66,8 \pm 18,1$, çiçek balları ise $28,7 \pm 16,6$ radikal süpürme aktivitesi göstermiştir [171].

Baltrušaitytė ve ark. (2007), farklı floral kaynaklardan elde ettiği 35 adet bal örneğinin tamamında fenolik asitlerden *p*-coumaric, flavonoidlerden kaempferol, chrysin ve apigenin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada test edilen ballardan çam, huş ağacı ve ısırgan ekstraktları ile oluşturulan balların doğal ballara göre daha yüksek oranda apigenin içerdiği dolayısıyla da bu balların daha yüksek antioksidan aktivitesinin olduğu rapor edilmiştir [64].

Giorgiana ve ark. (2008), salgı balı, salgı balıyla karışık çiçek balı ve çiçek balı olarak üç gruba ayırdığı bal örneklerinden salgı ballarının en yüksek, çiçek ballarının ise en düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada toplam fenolik içeriği bakımından salgı ballarının diğer ballara göre daha zengin olduğu belirtilmiştir [66].

Hegazi ve El-Hady (2009), DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine göre test ettikleri koyu renkli balların (palmiye ve sider) açık renkli ballara (akasya ve kişniş) göre daha fazla antioksidan etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir [68].

R. Socha ve ark. (2009), test ettiği 10 adet tıbbi balın içinden toplam polifenol ve flavonoid içeriği yüksek olan alıç, ahududu ve kekik gibi koyu renkli balların daha yüksek antioksidan aktivitesinin olduğunu belirtmişlerdir. Kullandıkları tıbbi balların toplam fenolik içeriği ile antioksidan aktiviteleri arasında yüksek korelasyonun olduğunu belirtmişlerdir. Tıbbi balların doğal ballara göre flavonoid içeriği bakımından daha zengin olduğu anlaşılmıştır. Çalışmada 200 mg/ml' de yaklaşık olarak sarısabır balı %31, nane balı %34, ısırgan balı %36, çam balı %41, kadife çiçeği balı %42, kekik balı %80, ahududu balı %81 ve alıç balı %85 radikal süpürme aktivitesi göstermiştir [70]. Araştırmamızda ise 200 mg/ml' de çam balı %73,58 ± 0,47, tıbbi ballar sınıfında yer alan püren balı %67,88 ± 0,20 ve davulga balı %66,05 ± 0,41 radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (Tablo 3.4).

Margnitas ve ark. (2009), salgı ballarının akasya, ayçiçeği ve ihlamur ballarına göre daha zengin toplam fenol ve flavonoid içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada salgı ballarının en çok, akasya ballarının ise en düşük radikal süpürme aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir [69].

Estevinho ve ark. (2008), Kuzeydoğu Portekiz'den elde ettikleri 20 adet balı koyu ve açık renkli ballar olarak ikiye ayırmışlar, 50 mg/ml' de açık renkli balların %37,8, koyu renkli balların da %69,6 radikal süpürme aktivitesinin olduğunu belirtmişlerdir [139]. Çalışmamızda ise 50 mg/ml' de çam balı %44,50 ± 0,32, püren

balı $43,38 \pm 0,34$ ve davulga balı $41,53 \pm 0,53$ oranında DPPH radikalini süpürme aktivitesi göstermiştir (Tablo 3.4).

Mohamed ve ark. (2010), test ettikleri Malezya balının 100 mg/ml' de yaklaşık olarak $41,3 \pm 0,78$ oranında radikal süpürme aktivitesinin olduğunu belirtmişlerdir [296]. Araştırmamızda ise 100 mg/ml' de çam balı $68,96 \pm 0,49$, püren balı $64,90 \pm 0,17$ ve davulga balı $63,49 \pm 0,28$ oranında radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (Tablo 3.4).

Akbulut ve ark. (2008), Batı Anadolu'dan topladıkları çam ballarının antiradikal aktivitesi ile fenolik bileşikleri arasında yüksek korelasyonun olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada kullanılan çam ballarının antioksidan aktiviteleri arasında kayda değer farklılıklar gözlenmiş, DPPH serbest radikalinin %50 inhibisyonuna neden olan bal konsantrasyonlarının 25,65 ile 50,78 mg/ml arasında değiştiği tespit edilmiştir [72]. Araştırmamızda ise DPPH serbest radikalinin %50 inhibisyonuna neden olan bal konsantrasyonlarının yaklaşık olarak 60 mg/ml olduğu saptanmıştır (Tablo 3.4).

Haroun (2006), Türkiye' de üretilen salgı balları (çam ve meşe) ile kestane ve karışık çiçek ballarının pamuk, ayçiçek, yayla ve narenciye ballarına göre daha yüksek antioksidan aktivitesinin olduğunu belirtmiştir. Çalışmada toplam fenolik madde ile antioksidan aktivite arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada salgı balları çiçek ballarına göre fenolik asitler açısından oldukça zengin bulunmuştur. Buna karşılık çiçek ballarının salgı ballarına göre sayı olarak daha fazla flavonoid içerdiği tespit edilmiştir [297].

Ulusoy ve ark. (2010), Türkiye' nin Karedeniz Bölgesi'nden topladıkları 9 adet bal örneğinden en yüksek toplam fenol içeriğine sahip olan Anzer balının (H6 örneği) en yüksek radikal süpürme aktivitesinin olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşılık test etikleri ballardan ıhlamur balı (H1 örneği) en düşük fenolik içeriği ile en düşük radikal süpürme aktivitesi göstermiştir [73].

Araştırmamızda bal örneklerinin pestisit ve antibiyotik kalıntı analizleri, Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi (ARGEFAR) Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre analizlenebilen pestisit ve antibiyotiklerden herhangi birinin kalıntısına rastlanılmamıştır (Tablo 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10, 3.11).

Varroa destructor bal arılarının (*Apis mellifera L.*) larva, pupa ve erginleri üzerinde kan emerek yaşayan tehlikeli bir dış parazittir. Ülkemizde *Varroa*'nın arıcılıkta meydana getirdiği kaybın, diğer bütün hastalık ve zararlılardan ileri gelen kayıplardan daha fazla olduğu belirtilmektedir [179]. *V. destructor* ile doğal enfekte olan arı kolonileri normal şartlar altında 3-4 yıl yaşayabilmektedir [298, 299]. Ancak akar, bal arılarının hemolenfinden (vücut boşluğu sıvısı) beslenmesi esnasında açtığı yara odakları [300] ile vektörlüğünü yaptığı viral [301, 302], bakteriyel [303], fungal [304] ve diğer patojenlere [305, 306] geçiş kolaylığı sağlamaktadır. Nitekim bal arısı kolonilerinde *varroa* vektörlüğü yardımıyla gelişen sekonder enfeksiyon tablosu, arı koloni sönmesi (AKS) ile ilişkilendirilmektedir [299, 307, 308, 309]. Öte yandan akar, torakstaki ana trake kanallarını bozguna uğratarak özellikle kanat kaslarının ihtiyacı olan gaz değişimini engellemekte, tarlacı arıcıların uçuş mesafelerini kısaltarak kovana geri dönüş sorunlarına yol açmaktadır. Ek olarak *Varroa* mücadelesinde kullanılan çeşitli akarisitlerin, bal arılarının enfeksiyonlara karşı immün yanıtını engelleyebileceği ve immün sistem genlerinin ifadesini baskılayabileceği düşünülmektedir. *Varroa*'nın kapalı yavru gözleri içerisinde çoğalması ve gelişimini burada tamamlaması, savaşmada kullanılan kimyasal maddelerin etkinliğini azaltmaktadır. Bu nedenle arıcılık uygulamalarında sık aralıklarla kullanılan akarisitlere karşı *Varroa*'nın direnci artmakta arı ölümleri ve balda ilaç kalıntısı gibi sorunlar gündeme gelmektedir. Bununla birlikte araştırmamızda Avrupa Birliği standartlarına göre balda kalıntısı aranan akarisitlerden amitraz, coumaphos, tau-fluvalinate ve brompropylate' a rastlanılmamıştır (Tablo 3.5).

1987 yılında dünya genelinde sadece *Varroa* kontrolü için kullanılan 90'dan fazla akarisit olduğu belirtilmektedir [310]. Giderek artmakta olan bu ilaçların

çoğunun lipofilik yapıda olması kalıntıların daha çok bal mumunda birikmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu nedenle baldaki akarisit derecelerinin kabul edilen maksimum kalıntı derecelerinden daha düşük olduğu belirtilmektedir [194, 195. 196]. Baldaki akarisit kalıntıların nispeten daha düşük konsantrasyonlarda olması, arılar tarafından filtre edilmesinin yanında bugün itibariyle kullanılan modern pestisitlerin kararlı yapıda olmayışından da kaynaklanmaktadır. Nitekim Korta ve ark. (2001) Varroa mücadelesinde yoğun olarak kullanılan amitraz' ın balda 1 gün, balmumunda da 10 gün içerisinde metabolitlerine parçalandığını tespit etmişlerdir. Çalışmada amitraz' ın metabolitlerine parçalanmasının balın düşük pH' ından kaynaklandığı ifade edilmiştir [190]. Bununla birlikte metabolitlerin pestisit kalıntılarına göre insan sağlığı açısından daha fazla risk oluşturacağı belirtilmektedir [207]. Bu yüzden kalıntı analizlerinde sadece etken madde değil, başlıca amitraz metabolitlerinin de kolayca saptanabileceği yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Sentetik akarisitler dışında, Varroa kontrolünde esansiyel yağlar ve organik asitler gibi toksik olmayan ve balda kalıntı bırakmayan bileşiklerin kullanımı, pek çok Avrupa Ülkesinde giderek artmaktadır. Wehling ve ark. (2003)' na göre oksalik asit ile formik asit uygulamalarının Varroa' ya karşı etkili olduğu ve balda doğal olarak bulunmaları sebebiyle insan sağlığı açısından zararlı etki göstermedikleri belirtilmektedir [311]. Esansiyel yağ bileşiklerinin yüksek oranda buharlaşma özelliği nedeniyle arı hastalık ve zararlılarına karşı etkili bir şekilde kullanıldığı; bu esansiyel yağların bal arıları üzerinde %10' dan daha az düzeyde öldürücü etki gösterdiği, Varroa ve yavru çürüklüklerinin kontrolünde başarılı olduğu ifade edilmektedir [312].

Koloni Çöküş Hastalığı (CCD), Amerika Birleşik Devletleri'nde 2006 ile 2009 yılları arasında bal arısı kolonilerinin üçte birinin birdenbire yok olması şeklinde ortaya çıkan bir hastalıktır [313, 314]. Bu hastalığın nedenleri hakkında yapılan çalışmalar hala devam etmekte olup, tartışmaların odak noktasını zirai mücadelede kullanılan pestisitler oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra Avrupa ve Kanadalı arıcılar 1998'den beri ciddi boyutlardaki bal arıları kayıplarının tarım alanlarında kullanılan insektisitlerden imidachloprid ve fipronil' den kaynaklandığını

belirtmektedirler. Arılar yeni sınıf insektisitlerden imidachloprid' e maruz kaldığında termitlerde görülen hafıza kaybı sendromuna benzer bir etkiye uğradıkları tahmin edilmektedir [206]. Bu, koloninin nektar, polen ve propolis gereksinimlerinden sorumlu tarlacı arıların tekrar kovana dönememesiyle sonuçlanmaktadır. Bununla birlikte araştırmamızda test edilen bal örneklerinde imidachloprid ve fipronil kalıntılarına rastlanılmamıştır (Tablo 3.5, 3.6).

Asulam, meyve bahçeleri ile çayır ve otlaklık alanlarda yetişen yabancı otların (*Rumex* sp., *Dryopteris* sp., *Pteridium aquilinum*) kontrolünde kullanılan bir pestisitir. Bu pestisit in toprakta bulunan *Flavobacterium* sp. tarafından enerji ve karbon kaynağı olarak kullanılması sulfanilamid metabolitinin oluşmasına neden olmaktadır [315, 316]. Bu yüzden balda sulfanilamid kalıntıları, sadece Amerikan ve Avrupa Yavru Çürüklüğü hastalıklarına karşı kullanılmasından değil, aynı zamanda zirai mücadelede herbisit olarak kullanılan asulam' ın metabolitlerine parçalanıp arılar tarafından kovana taşınmasından da kaynaklanmaktadır [95]. Diğer taraftan balda sulfanilamid, kloramfenikol, tetrasiklin ve nitrofuran kalıntılarının bulunması balın mikrobiyal büyüme üzerindeki inhibitör etkisini tam olarak yansıtmaz. Araştırmamızda test edilen ballarda herhangi bir pestisit ve antibiyotik kalıntısının bulunmayışı balın mikroorganizmalar üzerindeki inhibe edici etkisinin kendi doğasından kaynaklandığını göstermektedir.

Amerikan yavru çürüklüğü bal arısı larvalarında görülen ve larvaların ölüp kokuşmasına yol açan çok tehlikeli ve salgın bir yavru hastalığıdır. Hastalığın etmeni gram pozitif *Paenibacillus larvae* adlı spor oluşturan bir bakteridir. Besinlerle beraber işçi arılar tarafından larvalara bulaştırılan bakteri sporları hastalığa neden olmaktadır [317]. Sporların çimlenebilmesi için gerekli olan optimum koşullar da en fazla larvalarda bulunmaktadır. Sporlar, larvanın midesinde pH' ın 6,6; sıcaklığın 36-37⁰C ve CO₂' in %5-10 olduğu mikroaerofilik koşullarda çimlenirler. Sporların çimlenmesi sonucu oluşan vejetatif bakteriler aerobik ve hareketli olduklarından gelişimlerini larva midesinde tamamlayamazlar. Bu nedenle vejetatif çomaklar, larvaların ön mide hücrelerini fagositoz yoluyla delerek hemolenfe göç ederler. Burada çok fazla üreyerek tekrar sporlanmaya başlarlar. Bu

nedenle bu bakterilerle enfekte kolonilerde, antibiyotik kullanımının bir yararı yoktur. Antibiyotikler, sadece bakterilerin vejetatif formlarına etkilidir. Sporlar, antibiyotiklerle yok edilemez [318]. İhbarı zorunlu olan bu hastalıkla en kesin ve etkili mücadele yöntemi, hastalıklı kolonilerin tümüyle yakılarak yok edilmesidir [319].

Yavru hastalıklarına karşı kullanılan antibiyotikler, hastalığın yaygın olarak görüldüğü ilkbahar döneminde yoğun olarak kullanıldıklarından, balda kalıntıya sebep olmaktadır. Ek olarak antibiyotiklerin yavru hastalıklarına karşı gelişmiş şekilde kullanılması dirençli suşların da ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Nitekim oksitetrasiklinler, Amerika, Kanada ve Arjantin’ de Amerikan Yavru Çürüklüğüne karşı rutin olarak kullanıldıklarından, *P. larvae*’ nin dirençli suşları ortaya çıkmıştır [201]. Bu yüzden Meksikalı arıcılar yavru hastalıklarına karşı streptomisini tercih etmektedirler. Diğer taraftan balda antibiyotik kalıntılarının nispeten uzun yarılanma süresi göstermesi ciddi sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir. Örneğin dünyanın pek çok ülkesinde gıda üreten hayvanlarda kullanımı yasaklanmış kloramfenikol’ un apilastik anemi denilen ölümcül bir kan hastalığına neden olduğu belirtilmektedir. Bu antibiyotiğin kullanımı sınırlı olup, insanlarda çok ciddi hastalıkların (menenjit, tifo, ciddi yaralanmalar gibi) tedavisinde başka hiçbir çare kalmadığı takdirde kullanılmaktadır.

Dünyanın bal ihracat pazarının yarısını 103000 ton ile Çin, ardından 88000 ton ile Arjantin karşılamaktadır. Bu ülkelerin ihracatta toplam pazar payları %59’ dur. Diğer taraftan bal ithalatının önemli pazarlarını 105000 ton ile Almanya, 79000 ton ile Amerika Birleşik Devletleri ve 40000 ton ile Japonya oluşturmaktadır. Bu ülkelerin ithalatta pazar payları ise %77’ dir [320]. Bununla birlikte 2002 yılı boyunca üretilen Çin Halk Cumhuriyeti orijinli ballarda 0,3 ile 34 µg/kg arasında değişen kloramfenikol kalıntılarının bulunması [93], bu balların Avrupa ve Kuzey Amerika’ya olan satışlarının yasaklanmasına neden olmuştur. Çin’in pazardan çekilmesiyle dünya piyasalar arzında 100000 tonluk açık Türkiye de dahil olmak üzere diğer ülkeler tarafından doldurulmuştur. 2002 yılında Avrupa ve Amerika’ya 50 milyon Euro tutarında yaklaşık 17000 ton bal ihracatı gerçekleşmiştir [321]. Ne

var ki, Morlat ve Beaune (2003), 2002 yılında Türkiye'den ithal edilen balların % 27,8'de streptomisin (10-20 µg/kg), % 5,7'de tetrasiklin kalıntılarının (10-20 µg/kg) bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada ayrıca Türk ballarının % 82,1'nin, İspanyol ballarının % 17,1'nin ve Fransız ballarının da % 2,9'unun sulfa grubu antibiyotiklerle kontamine edildiği tespit edilmiştir [92]. Ek olarak yurt dışında çeşitli laboratuvarlarda analizi yapılan Türk çam ballarının %43'ü ile çiçek ballarının %37,5'inde sulfadimidin başta olmak üzere çeşitli antibiyotik kalıntılarının bulunduğu belirtilmektedir [321]. Bu durum balda antibiyotik kalıntılarının ülkemiz açısından ciddi bir sorun olduğunu göstermektedir. Türk ballarının başına Çin örneği' nin gelmemesi için yavru çürüklüğü hastalıklarının kontrolünde antibiyotik kullanımından kaçınılmalıdır.

Türkiye sahip olduğu 4,4 milyon dolayındaki kovan varlığı ile dünyada üçüncü, 67 bin ton bal üretimi ile 4. sırada yer almaktadır. Kovan varlığı ve bal üretimi bakımından dünyanın önemli ülkeleri arasına girmektedir. Ancak, Türkiye' nin dünya bal ticaretinde % 1,87' lik payla 10. sırada yer alışı sahip olduğu kovan varlığı ve bal üretimiyle uyum sağlamamaktadır [322, 323. 324]. Buna karşılık arı kovanlarının fazla olması, ülkemizin arı ve bitki florasının zenginliğini göstermektedir. Bu zenginlik, bitkisel kaynaklara bağlı olarak sadece bal değil, aynı zamanda diğer arı ürünlerinde de gözlenebilen güçlü sinerjik etkileşimlerin olabileceği anlamını taşımaktadır. Antienfektif ilaçlar günümüzde ciddi olarak bulaşıcı hastalıkların küresel yükünü düşürse de dirençli mikroorganizmalar gelişip yayılışlarını sürdürmektedir. Bu noktada yaptığımız çalışmanın yüksek antibakteriyel, antifungal ve antioksidan aktivitelerin kazanılmasına, bal üretimini önemli ölçüde etkileyen Varroa mücadelesine karşı etkili kontrol yöntemlerinin geliştirilmesine ve balda kalıntı sorununa karşı önlemlerin arttırılmasıyla ülkemize bilimsel ve ekonomik açıdan yarar sağlayacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- [1] Akpınar, A. U. Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Müh. Bölümü, *Bal Beslenme Dergisi*, Bursa, (2002), S: 5-10.
- [2] Bogdanov, S. A short history honey. *The book of honey*, (2009), Chapter 1.
- [3] Zumla, A., Lulat, A. “Honey - a remedy rediscovered”. *Journal of the Royal Society of Medicine*, **82**, (1989), 384-385.
- [4] Crane, E. “History of honey, In Crane, E (ed.) *Honey, a comprehensive survey*”, William Heinemann; London, (1975), pp 439-488.
- [5] Schmidt, J.O. “Bee product chemical composition and application”. *International Coference on: Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy*, Israel, (1997), p:15.
- [6] Coulston, A.M. “Honey...how sweet it is!”, *Nutr Today*, **35**, (2000), 96–100.
- [7] Molan, P.C. “Potential of honey in the treatment of wounds and burns”, *American Journal of Clinic Dermatology*, **2**(1), (2001a), 13-19.
- [8] Dunford, C., Cooper, R.A., White, R.J., Molan, P.C. “The use of honey in wound management”. *Nursing Standard*, **15**(11), (2000), 63-68.
- [9] Sofowora, A. “Medicinal plant and traditional medicine in Africa”, (1987), Chapter 1 and 2.
- [10] “World Health Organization. Drug information”. *WHO, Geneva*, **13**(4), (1999), 230-233.
- [11] Shears, P. “Antimicrobial resistance in the tropics”. *Tropical Doctor*, **30**(2), (2000), 114-116.
- [12] Assefa, A. and Yohannes, G. “Antibiotic Sentivity of *S. aureus* and *E.coli* strains isolated in Gondar, Ethiopia”. *Tropical Doctor*, **27**(2), (1997), 121-126.

- [13] Yoon, Y.M., Newlands, C. "Quality standards of medical grade manuka honey". In: White R, Cooper R, Molan P, editors. "Honey: a modern wound management product". Aberdeen: *Wounds*, (2005), p. 89-102
- [14] Fıratlı, Ç., Genç, F., Karacaoğlu, M., Gençer, V.H. "Türkiye Arıcılığının Karsılaştırılmalı Analizi Sorunlar-Öneriler". *Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi*, (2000), s.811-826.
- [15] Cavallora, R. "Presents status of Varroa in Europe and progress in Varroa mite control". Prooceding of meeting of the EC- expert group, Italy, (1989), 28-30 November. European community: Luxembourg, 1097.
- [16] Imdorf, A., Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Maquelin, C. "A new varroacide with thymol as the main ingredient". *Bee World*, **76** (2), (1995), 77-83.
- [17] Fernandez Muino, M.A., Simal Lozano, J. "Gas chromatographic-mass spectrometric method for the simultaneous determination of amitraz, bromopropylate, coumaphos, cymiazole and fluvalinate residues in honey". *Analyst*, **118**(12), (1993), 1519-1522.
- [18] Berzas Nevado, J., Mahedero, M.C., Olibares, J.A., Salinas, F. "Determination of amitraz in honey by first-derivative spectrophotometry". *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **43**(2-3), (1991), 187-194.
- [19] Lusby, P., Coombes, AL., Wilkinson, JM. "Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria". *Archives of Medical Research*, **36**, (2005), 464-467.
- [20] Al Somai, N., Coley, K. E., Molan, P. C., Hancock, B. M. "Susceptibility of *Helicobacter pylori* to the antibacterial activity of manuka honey". *Journal of the Royal Society of Medicine*, **87**(1), (1994), 9-12.
- [21] Molan, P.C. "Honey as an antimicrobial agent". *International Coference on Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy*, (1997), Israel, p:27.
- [22] Salem, S.N. "Honey regimen in gastrointestinal disorders". *Bull. Islamic Med.*, **1**, (1981), 358-362.
- [23] Haffejee, I.E., Moosa, A. "Honey in the treatment of infantile gastroenteritis". *British Medical Journal*, **290**, (1985), 1866-1867.

- [24] Molan, P.C. "The evidence supporting the use of honey as a wound dressing". *International Journal of Lower Extremity Wounds*, **5**, (2006), 40-54.
- [25] Simon, A., Traynor, K., Santos, K., Blaser, G., Bode, U., Molan, P.C. "Medical Honey for Wound Care - Still the 'Latest Resort'?" *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, Epub. (2008), Jan 7.
- [26] Simon, A., Sofka, K., Wiszniewsky, G., Blaser, G., Bode, U., Fleischhack, G. "Wound care with antibacterial honey (Medihoney) in pediatric hematology-oncology". *Support Care Cancer*, **14**, (2006), 91-97.
- [27] Bergman, A., Yanai, J., Weiss, J., Bell, D., David, MP. "Acceleration of wound healing by topical application of honey. An animal model". *American Journal of Surgery*, **145**, (1983), 374-376.
- [28] Cavanagh, D., Beazley, J., Ostapowicz, F. "Radical operation for carcinoma of the vulva. A new approach to wound healing". *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth*, **77**(11), (1970), 1037-1040.
- [29] Blomfield, R. "Honey for decubitus ulcers". *Journal of the American Medical Association*, **224**(6), (1973), 905.
- [30] Temnov, V. A. "Bactericidal properties of honey and utilization of honey and other beekeeping products for the healing of wounds". *Bee World*, **25**, (1944), 86-87.
- [31] Krell, R. "Value-Added Products From Beekeeping". *FAO Agricultural Services Bulletin*, No. 124. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, (1996).
- [32] Hutton, D.J. "Treatment of pressure sores". *Nursing Times*, **62**(46), (1966), 1533-1534.
- [33] Armon, P.J. "The use of honey in the treatment of infected wounds". *Tropical Doctor*, **10**, (1980), 91.
- [34] Dumronglert, E. "A follow-up study of chronic wound healing dressing with pure natural honey". *Journal of the National Research Council of Thailand*, **15**(2), (1983), 39-66.
- [35] Green, A.E. "Wound healing properties of honey". *British Journal of Surgery*, **75**(12), (1988), 1278-1279.

- [36] Rosenblat, G., Angonnet, S., Gorosit, A., Tabak, M., Neeman, I. "Antioxidant properties of honey produced by bees fed with medical plant extracts". *International Conference on Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy*, (1997), Israel, p:49.
- [37] Obaseiki-Ebor, E.E, Afonya, T:C.A, Onyekweli, A.O. "Preliminary report on the antimicrobial activity of honey distillate". *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **35**(11), (1983), 748-749.
- [38] Obaseiki-Ebor, E.E, Afonya, T.C.A. "In vitro evaluation of the anticandidiasis activity of honey distillate (HY-1) compared with that of some antimycotic agents". *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **36**, (1984), 283-284.
- [39] Jeddar, A., Kharsany, A., Ramsaroop, U.G., Bhamjee, A., Haffejee, I.E, Moosa, A. "The antibacterial action of honey. An *in vitro* study". *South African Medical Journal*, **67**, (1985), 257-258.
- [40] Farouk, A., Hassan, T., Kashif, H., Khalid, S.A., Mutawali, I., Wadi, M. "Studies on Sudanese bee honey: laboratory and clinical evaluation". *International Journal of Crude Drug Research*, **26**(3), (1988), 161-168.
- [41] Obi, C.L., Ugoji, E.O., Edwin, S.A., Lawal, S.F., Anyiwo, C.E. "The antibacterial effect of honey on diarrhea causing bacterial agents isolated in Lagos, Nigeria". *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, **23**, (1994), 257-260.
- [42] Steinberq, D., Kaine, G., Gedalia, I. "Antibacterial effect of propolis and honey on oral bacteria". *American Journal of Dentistry*, **9**, (1996), 236-239.
- [43] Ali, A. T. M. M., Chowdhury, M. N. H., Al Humayyd, M. S. "Inhibitory effect of natural honey on *Helicobacter pylori*". *Tropical Gastroenterology*, **12**(3), (1991), 139-143.
- [44] Osato, M.S., Reddy, S.G., Graham, D.Y. "Osmotic effect of honey on growth and viability of *Helicobacter pylori*". *Digestive Diseases and Sciences*, **44**, (1999), 462-464.
- [45] Taormina, P.T., Niemira B.A., Beuchat, L.R. "Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power". *International Journal of Food Microbiology*, **69**, (2001), 217-225.

- [46] Mansour, M. A. "Epithelial corneal oedema treated with honey". *Clinical and Experimental Ophthalmology*, **30**, (2002), 141-142.
- [47] Sato, T., Miyata, G.. "The nutraceutical benefit, part iii: Honey". *Nutritional Pharmaceutical*, **16**(6), (2000), 468- 469.
- [48] Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I., Worobo, R.W. "Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys". *International Journal of Food Microbiology*, **97**, (2004), 1–8.
- [49] Fahey, J.W., Stephenson, K.K. "Pinostrobin from honey and Thai ginger (*Boesenbergia pandurata*): A potent flavonoid inducer of mammalian phase 2 chemoprotective and antioxidant enzymes". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, (2002), 7472–7476.
- [50] Zeina, B., Zohra, B.I., al Assad, S. "The effects of honey on *Leishmania* parasites: an in vitro study". *Tropical Doctor*, **27**[Suppl 1], (1997), 36–38.
- [51] Kılıçoğlu, B., Kısmet, K., Koru, Ö., Tanyüksel, M., Oruç, M.T., Sorkun, K., Akkuş, M.A. "The scolicidal effects of honey". *Advances in Therapy*, **23**, (2006), 1077–1083.
- [52] Malika, N., Mohamed, F., Chakib, E.A. "Antimicrobial Activities of Natural Honey from Aromatic and Medicinal Plants on Antibio-resistant Strains of Bacteria". *International Journal of Agriculture*, **6**(2), (2004), 289-293.
- [53] Kumar, A., Kaushik, R., Kashyap, A., Kashyap, M.K. "Indian honey: A natural product with antibacterial activity against antibiotic resistant pathogens, an in vitro study". *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **8**(2), (2005), 190-193.
- [54] Dastouri, M.R., Fakhimzadeh, K., Shayeg, J., Dolgari-Sharaf, J., Valilou, M.R., Maheri-Sis, N. "Evaluating antibacterial activity of the Iranian honey through MIC method on some dermal and intestinal pathogenic bacteria". *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **7**(4), (2008), 409-412.
- [55] Basson, N.J. and Grobler, S.R. "Antimicrobial activity of two South African honeys produced from indigenous *Leucospermum cordifolium* and *Erica* species on selected micro-organisms". *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **8**, (2008), 41.

- [56] Omafuvbe, B.O. and Akanbi, O.O. “Microbiological and physico-chemical properties of some commercial Nigerian honey”. *African Journal of Microbiology Research*, **3**(12), (2009), 891-896.
- [57] Nzeako, B.C, Hamdi, J. “Antimicrobial potential of honey on some microbial isolates”. *SQU J Sci Res Med Sci*, **2**, (2000), 75–79.
- [58] Ceyhan, N., Uğur, A. “Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey”. *Rivista Di Biologia-Biology Forum*, **94**(2), (2001), 363-371.
- [59] Hazır, S., Keskin, N. “Investigation of antimicrobial effect of honey collected from various regions of Turkey”. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **5**(3), (2002), 325-328.
- [60] Mercan, N., Guvensen, A., Çelik., Katırcıoğlu, H. “Antimicrobial activity and pollen composition of honey samples collected from different provinces in Turkey”. *Natural Product Research*, **21**(3), (2007), 187-195.
- [61] 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”. *Analytica Chimica Acta*, **533**, (2005), 185-191.
- [62] Beretta, G., Orioli, M., Facino, R.M. “Antioxidant and radical scavenging activity of honey in endothelial cell culture (EA.hy926)”. *Planta Medica*, **73**, (2007), 1182–1189.
- [63] Pérez, R.A., Iglesias, M.T., Pueyo, E., González, M., Lorenzo, C.D. “Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, (2007), 360-365.
- [64] Baltrušaitytė, V., Venskutonis, P.R., Čeksterytė, V. “Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts”. *Food Chemistry*, **101**, (2007), 502-514.
- [65] Sangsrichan, S., Wanson, W. “The antioxidant capacity of honey samples collected in the North part of Thailand in relationship with its total polyphenol”. *KMITL Science Journal*, **8**(2), (2008), 68-79.
- [66] Giorgiana, S.O., Marghitas, L.A., Bobis, O., Popescu, O., Bonta, V., Maghear, O., Dezmirean, D. “Correlation between the phenolic content and antioxidant capacity of declared honeydew honeys produced in Transylvania”. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, **65**(1-2), (2008), 249-254.

- [67] Bobis, O., Marghitas, L., Rindt, I.K., Niculae, M., Dezmirean, D. "Honeydew honey: correlation between chemical composition, antioxidant capacity and antibacterial effect". *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*, **41**(2), (2008), 271-277.
- [68] Hegazi, A.G. and Abd El-Hady, F.K. "Influence of honey on the suppression of human low density lipoprotein (LDL) peroxidation (*In vitro*)". *Advance Access Publication*, **6**(1), (2009), 113-121.
- [69] Margnitas, L., Dezmirean, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., Bogdanov, S. "Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania". *Food Chemistry*, **112**, (2009), 863-867.
- [70] Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Fortuna, T. "Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys". *Food Chemistry*, **113**, (2009), 568-574.
- [71] Ulusoy, E., Sarıkaya, A.O., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş. "Anzer Balı ve Poleninin Fenolik Bileşenlerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri", (BIY058P), 21. *Ulusal Kimya Kongresi*, İnönü Üniversitesi, Malatya, 23-27-Ağustos, 2007.
- [72] Akbulut, M., Özcan, M.M., Çoklar, H. "Evaluation of antioxidant activity, phenolic, mineral contents and some physicochemical properties of several pine honeys collected from Western Anatolia". *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, (2008), 1-13.
- [73] Ulusoy, E., Kolaylı, S., Sarıkaya, A.O. "Antioxidant and antimicrobial activity of different floral origin honeys from Turkey". *Journal of Food Biochemistry*, **34**, (2010), 321-335.
- [74] Dormal, S. ve Çakıllar, M. "Meyve ve sebzelerde insektisitlerin bakiye tesirleri". *T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Bitki Koruma Bülteni*, **1**(4), (1960), 62-69.
- [75] Güvener, A., Nurlu, K. ve Ok, T. "Arı akarı (*Varroa jacobsoni* Oudemans)'na Karşı İlaçlamalardan Sonra Ballarda İlaç Bakiyelerinin Tetkiki". *Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı*, (1992), S:257.
- [76] Selçukoğlu, E. "Çukurova Bölgesi'nde toplanan bal örneklerinden amitraz ve fulvalinate kalıntılarının belirlenmesi", Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, (1999).

- [77] Kolankaya, D., Koçak, O., Sorgun, K., Erkmen, B. “Varroa Hastalığına Karşı Kullanılan Pestisitlerin Dozu, Uygulama Yöntemleri Ve Kalıntı Analizleri”. *Türkiye Kalkınma Vakfı Projesi*, No:5 (2001b).
- [78] Öder, E. “Bal Arısı Hastalıkları”, A.Ü.Ziraat Fakültesi, Erzurum, (1983), S: 1-163.
- [79] Kayral, N. (1993) “Yeni Teknik Arıcılık”. 6. Baskı, İstanbul, S: 699-763.
- [80] Aydın, L., Çakmak, İ., Güleğen, E., Korkut, M., “Güney Marmara bölgesi arı hastalık ve zararlıları anket sonuçları”. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **3**(1), (2003), 37-40. Bursa.
- [81] Bulakeri, N. and G. Tufan. “Determination of pesticide residues in honey of Izmir provinces”. *Izmir Food Control and Research Institute report* (1985), pp 34-48.
- [82] Taccheo, M.B., Paoli, M.D., Spessotto, C. “Determination of total amitraz residue in honey by electron capture capillary gas chroma tography—a simplified method”. *Pesticide Science*, **23**(1), (1988), 59-64.
- [83] Hammerling, B. and C.H. Augustyniak, Risto. “Gesammt-Amitraz Rückstande in Bienenhonigen”. *Die Nahrung*, **35**(10), (1991), 1047-1052.
- [84] Neri, B., Ubaldi, A., Barchi, D., Di Lullo, A., Cozzani, R. “Determination of residues of fluvalinate in honey”. *Industrie Alimentari*, **31**(307), (1992), 748-750.
- [85] Greef, M.D., Wael L.D and Laere O. “The determination of the fluvalinate residues in the Belgian honey and beeswax”. *Apiacta*, **29**(4), (1994), 83-87.
- [86] Garcia, M.A., Fernandez, M.I., Herrero, C., Melgar, M.J. “Acaricide residue determination in honey”. *Bull. Environ. Contain. Toxicol.*, **56**, (1996), 881-887.
- [87] Fléché C., Clément M.C., Zeggane S., Faucon J.P. “Contamination des produits de la ruche et risques pour la santé humaine : situation en France”. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.*, **16**, (1997), 609–619.
- [88] Anju R., Beena K., Gahlawat S., Sihag R., Kathpal T. “Multiresidue analysis of market honey samples for pesticidal contaminaton”, *Pestic. Res. J*, **9**, (1997), 226–230.

- [89] Tsigouri, A., Spiroudi, U.M., Thrasyvoulou, A.T., Diamantidis, G.C. “Determination of fluvalinate residues in beeswax by gas chromatography with electron-capture detection”. *Journal of AOAC International*, **83**(5), (2000), 1225-1228.
- [90] Blasco, C., Fernández, M., Pena, A., Lino, C., Silveira, I., Font, G., Picó, Y. “Assessment of Pesticide Residues in Honey Samples from Portugal and Spain”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, (2003), 8132-8138.
- [91] Mullin, C.A., Frazier, M., Frazier, J.L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D., Pettis, J.S. “High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health”. *Plos one*, **5**(3), (2010), 1-19.
- [92] Morlot, M., Beaune, P. “An experience with charm II system”, *Apiacta*, **38**, (2003), 226–235.
- [93] Dharmananda, S. “Traces of chloramphenicol in Chinese bee products: origin, development and resolution”, (2003), 1–5.
- [94] Reybroeck, W. “Residues of antibiotics and sulphonamides in honey on the Belgian market”, *Apiacta*, **38**, (2003), 23–30.
- [95] Kaufmann, A., Kaenzig, A. “Contamination of honey by the herbicide Asulam and its antibacterial active metabolite sulfanilamide”. *Food Additives and Contaminants*, **21**, (2004), 564–571.
- [96] Orтели, D., Edder, P., Corvi, C. “Analysis of chloramphenicol residues in honey by liquid chromatography – Tandem mass spectrometry”. *Chromatographia*, **9**, (2004), 61–64.
- [97] Bogdanov, S., Fluri, P. “Honigqualität und Antibiotikarückstände, Schweiz”. *Bienenztg.* **123**, (2000), 407–410.
- [98] Saridaki-Papakonstadinou, M., Andredakis, S., Burriel, A. and Tsachev, I. “Determination of tetracycline residues in Greek honey”. *Trakia Journal of Sciences*, **4** (1), (2006), 33-36.
- [99] Solomon, R.D.J, Satheja, S.V., Vimalan, J. “Prevalence of antibiotics in nectar and honey in South Tamil Nadu, India”. *Integrated Bioscience*, **10**(3), (2006), 163-167.

- [100] Diserens, J. M. Contaminants and residues in Food. Strategies (if any) to screen and analyse veterinary drug residues in food from animal origin. *5th International Fresenius Conference Nestle Research Center*, 1000 Lausanne 26 Switzerland, (2007).
- [101] Vidal, J. L.M., Luiz, M. M. A., Gonzalez, R.R. and Frenich, A.G. “Multiclass analysis of antibiotic residues in honey by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**(5), (2009), 1760–1767
- [102] Baggio, A., Gallina., Benetti, C. and Mutinelli, F. “Residues of antibacterial drugs in honey from the Italian market”. *Food Additives and Contaminants*, **2**(1), (2009), 52-58.
- [103] Sheridan, R., Policastro, B., Thomas, S., Rice, D. “Analysis and occurrence of 14 sulfonamide antibacterials and chloramphenicol in honey by solid-phase extraction followed by LC/MS/MS. analysis”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, (2008), 3509-3516.
- [104] Güneş, N., Cibik, R., Güneş, M.E., Aydın, L. “Erythromycin residue in honey from the Southern Marmara region of Turkey”. *Food Additives and Contaminants*, **25**(11), (2008), 1313-1317.
- [105] Güneş, M.E., Güneş, N., Cibik, R. “Oxytetracycline and sulphonamide residues analysis of honey samples from Southern Marmara region”. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, **15**, (2009), 163-169.
- [106] Chow, J. “Probiotics and prebiotics: a brief overview”. *Journal of Renal Nutrition*, **12**, (2002), 76–86.
- [107] Pérez, R.A. “Analysis of volatiles from Spanish honeys by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, (2002), 2633-2637.
- [108] Terrab, A., Gonzále, M.M.L., González, A.G., Díez, M.J., Heredia, F.J “Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis”. *European Food Research and Technology*, **218**, (2003), 88–95.
- [109] Martos, I., Ferreres, F., Yao, L., D’Arcy, B., Caffin, N., Tomás-Barberán F.A. “Flavonoids in monospecific Eucalyptus honeys from Australia”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, (2000), 4744–4748.

- [110] Dimitrova, B., Gevrenova, R., Anklam, E. “Analysis of phenolic acids in honeys of different floral origin by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography”. *Phytochemical analysis*, **18**, (2007), 24–32.
- [111] Molan, P.C., Betts, J.A. “Clinical usage of honey as a wound dressing: an update”. *Journal of Wound Care*, **13**, (2004), 353–356.
- [112] Patzold, R., Bruckner, H. “Gas chromatographic detection of D-amino acids in natural and thermally treated bee honeys and studies on the mechanism of their formation as result of the Maillard reaction”. *European Food Research and Technology*, **223**, (2006), 347–354.
- [113] González-Paramás AM, Gómez-Bárez JA, Cordon Marcos C., García-Villanova, R.J., Sanchez, J.S. “HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen)”. *Food Chemistry*, **95**, (2006), 148–156.
- [114] White, J.W. “Composition of honey”. In Crane, E (ed.) *Honey. A Comprehensive survey*, Heinemann Edition; London; (1975), pp 157-206.
- [115] [ANON] *Swiss food manual, Chapter 23 A, Honey*. Eidgenössische Druck und Materialzentrale Bern., (1995).
- [116] Doner, L.W. “The sugars of honey - a review”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **28**, (1977), 443-456.
- [117] Siddiqui, I.R. “The sugars of honey”. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, **25**, (1970), 285-309.
- [118] Jeffrey, A.E., Echazarreta, C.M. “Medical uses of honey”. *Rev Biomed.*, **7**, (1996), 43–49.
- [119] Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. Gallmann, P. “Honey for nutrition and health: a review”. *American Journal of the College of Nutrition*, **27**, (2008), 677–689.
- [120] Azeredo, L.C., Azeredo, M.A.A., Souza, S.R., Dutra, V.M.L. “Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins”. *Food Chemistry*, **80**, (2003), 249–254.
- [121] Iglesias, M.T., de Lorenzo, C., Polo, M.C., Martín-Álvarez, J., Pueyo, E. “Usefulness of amino acids composition to discriminate between honeydew

and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, (2004), 84–89.

- [122] Hermosín, I., Chicón, R.M., Cabezudo, M.D. “Free amino acid composition and botanical origin of honey”. *Food Chemistry*, **83**, (2003), 263–268.
- [123] Komanine, A. “Amino acids in honey”. *Acta Chemica Fennica*, B33, (1960), 185–187.
- [124] Vonder der ohe, W., Dustman, J.H., Von der ohe, K. “Prolin als Kriterium der Reife des Honigs”. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **87**(12), (1991), 383–386.
- [125] White., J.W. “Physical characteristics of honey”. In Crane, E (ed.) *Honey: a comprehensive survey*. Heinemann; London, UK, (1975), pp 207-239.
- [126] Adebisi, F.M., Akpan, I., Obiajunwa, E.I., Olaniyi, H.B. “Chemical/physical characterization of Nigerian honey”. *Pakistan Journal of Nutrition*, **3**(5), (2004), 278-281.
- [127] Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bouoni, L., Virgili, R., Parolari, G. “Sensory property relationship to chemical data italian-type dry-cured ham”. *Journal of Food Science*, **27**, (1994), 491–495.
- [128] Anklam, E., Radovic, B.S. “Suitable analytical methods for determining the origin of European honey”. *American Laboratory*, **7**, (2001), 60–64.
- [129] Bogdanov, S., Ruoff, K., Persano, Oddo, L. “Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review”. *Apidologie*, **35**, (2007), 4–17.
- [130] Cuevas-Glory, LF., Pino, J.A., Santiago, L.S., Sauri-Duch, E. “A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey”. *Food Chemistry*, **103**, (2007), 1032–1043.
- [131] Piasenzotto, L., Gracco, L., Conte, L. “Solid phase microextraction (SPME) applied to honey quality control”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**, (2003), 1037–1044.
- [132] Ferreres, F., Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.I., Tomas-Lorente, F. “An HPLC technique for flavonoid analysis in honey”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **56**, (1991), 49–56.

- [133] Gil, M.I., Ferreres, F., Ortiz, A., Subra, E., Tomas-Barberan, F.A. “Plant phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, (1995), 2833–2838.
- [134] Truchado, P., Ferreres, F., Bortolotti, L., Sabatini, A.G., Tomás-Barberán, F.A. “Nectar flavonol rhamnosides are markers of acacia (*Robinia pseudacacia*) honey”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, (2008), 8815–8824.
- [135] Michalkiewicz, A., Biesaga, M., Pyrzynska, K. “Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey”. *Journal of Chromatography A*, **1187**, (2008), 18–24.
- [136] Tomás-Barberán, F.A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B.S., Anklam, E. “HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**, (2001), 485–496.
- [137] Kenjeric, D., Mandic, M.L., Primorac, L., Bubalo, D., Perl, A. “Flavonoid profile of *Robinia hoenys* produced in Croatia”. *Food Chemistry*, **102**, (2007), 683-690.
- [138] Amiot, M.J., Aubert, S., Gonnet, M., Tacchini, M. “Phenolic composition of honeys: preliminary study on identification and group quantification”. *Apidologie*, **20**(2), (1989), 115-125.
- [139] Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Dias, L.G., Pereira, E. “Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey”. *Food and Chemical Toxicology*, **46**, (2008), 3774–3779.
- [140] Select Committee on Science and Technology. “Resistance to antibiotics and other antimicrobial agents”. *House of Lords*, Report no. 7, London, (1998).
- [141] “Why using the level of the active component in manuka honey to replace the UMF rating is misleading.” *New Zealand BeeKeeper*, p: 6–7.
- [142] Rizvi, S.S.H. *Engineering properties of foods*, (2005), chapter 7, p: 251.
- [143] Scott, W.J. “Water relations of food spoilage microorganisms”. *Advances in Food Research*, **7**, (1957), 83–127. Antiseptics and Antimicrobial Agents, p:120.

- [144] Bogdanov, S., Rieder, K., and Rüegg, M. “Neue Qualitätskriterien bei Honiguntersuchungen”. *Apidologie*, **18**(3), (1987), 267–278.
- [145] Rüegg, M. and Blanc, B. “The water activity of honey and related sugar solutions”. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **14**, (1981), 1–6.
- [146] Rousseau, M., Tysset, C., Durand, C. “Microbism and wholesomeness of commercial honey”. *Apiacta*, **15**(2), (1980), 51-60.
- [147] Sneath, P.H.A. and Holt, J.G. *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins, volume 2, Baltimore, U.S.A, (1986).
- [148] Allen, K.L., Molan, P.C., and Reid, G.M. “A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys”. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **43**(12), (1991a), 817–822.
- [149] Thimann, K.V. *The Life of Bacteria*. Macmillan, 2nd edition, New York (1963).
- [150] Dold, H., Du, D.H. and Dziao, S.T. “Nachweis antibakterieller, hitze-und lichtempfindliche Hemmungsstoffe (Inhibine) in Naturhonig (Blütenhonig)”. *Zeitschrift fuer Hygiene und Infektionkrankheiten*, **120**, (1937), 155-167.
- [151] Adeleke, O.E., Onakoya, T.M. and Ali, S.S. “Exposure of bacterial isolates from different pathological sources to honey”. *African Medical and Pharmaceutical Sciences*, **7**, (2002), 79-83.
- [152] Dustmann, J.H. “Über die Katalaseaktivität in Bienenhonig aus der Tracht der Heidekrautgewächse (Ericaceae)”. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, **145**, (1971), 294–295.
- [153] Cushnie, T., Lamb. A. “Antimicrobial activity of flavonoids”. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **26** (5), (2005), 343-356.
- [154] Weston, R.J., Mitchell, K.R., Allen, K.L. “Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey”. *Food Chemistry*, **64**(3), (1999), 295-301.
- [155] Plaper, A., Golob, M., Hafner, I., Oblak, M., Solmajer, T., Jerala, R. “Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase”. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **306**, (2003), 530–536.

- [156] Weston, R.J., Brocklebank, L.K., Lu, Y. "Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zealand honeys". *Food Chemistry*, **70**, (2000), 427–435.
- [157] Mavric, E., Wittmann, S., Barth, G., Henle, T. "Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand". *Molecular Nutrition & Food Research*, **52** (4), (2008), 483-489.
- [158] Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Pracentini, M., Albertini, M., Piatti, E. "Raw *Millefiori* honey is packed full of antioxidants". *Food Chemistry*, **97**(2), (2006), 217-222.
- [159] D'arcy, B.R. RIRDC Publication No 05/040 (report): 1, (2005).
- [160] Fatey, J.W., Stephenson, K.K. "Pinostrobin from honey and Thai ginger (*Boesenbergia pandurata*): A potent flavonoid inducer of mammalian phase 2 chemoprotective and antioxidant enzymes". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(25), (2002), 7472-7476.
- [161] Frankel, S., Robinson, G.E., Berenbaum, M.R. "Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys". *Journal of Apicultural Research*, **37**(1), (1998), 27-31.
- [162] Gheldof, N., Wang, X.H., Engeseth, N.J. "Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(21), (2002), 5870-5877.
- [163] Inoue, K., Murayama, S., Seshimo, F., Takeba, K., Yoshimura, Y., Nakazawa, H. "Identification of phenolic compound in manuka honey as specific superoxide anion radical scavenger using electron spin resonance (ESR) and liquid chromatography with coulometric array detection". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **85**(5), (2005), 872-878.
- [164] Nagai, T., Inoue, R., Kanamori, N., Suzuki, N., Nagas, T. "Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat". *Food Chemistry*, **15**(2), (2006), 256-262.
- [165] Bertonecjl, J., Dobersek, U., Jamnik, M., Golob, T. "Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey". *Food Chemistry*, **105**(2), (2007), 822-828.

- [166] Cossu, M., Almanini, C. "Identification and quantification of antioxidant compounds and evaluation of correlated physical features of honeys from different floral sources". *Sardinia Chemistry*, Universita di Sassari, Sassari, Sardinia, Italy, (2008), pp 56.
- [167] Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M.; Estevinho, L.M. "Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract". *Food Chemistry*, **114**(4), (2009), 1438-1443.
- [168] Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. "Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia". *Food Chemistry*, **100**(2), (2007), 526-534.
- [169] Pichichero, E., Canuti, L., Canini, A. "Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **89**(4), (2009), 609-616.
- [170] Piljac-Žegarac, J., Stipcevic, T., Belscak, A. "Antioxidant properties and phenolic content of different floral origin honeys". *JAAS*, **1**, (2009), 43-50.
- [171] Vela, L., De Lorenzo, C., Pérez, R.A. "Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **87**(6), (2007), 1069-1075.
- [172] Gheldof, N., Wang, X.H., Engeseth, N.J. "Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, (2003), 1500–1505.
- [173] Facino, R.M. "Honey in tumor surgery". *Archives of Surgery*, **136**(5), (2001), 600.
- [174] Muñoz, O., Copaja, S., Speisky, H., Peña, R.C. and Montenegro, G. "Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante". *Química Nova*, **30**, (2007), 848-851.
- [175] McVean, M., Xiao, H., Isobe, K.I and Pelling, J. "Increased in wild type p53 stability and transactivational activity by the chemopreventive agent apigenin in keratinocytes". *Carcinogenesis*, **21**, (2000), 633-639.

- [176] Lopez-Lazaro, M. "Dual role of hydrogen peroxide in cancer: possible relevance to cancer chemoprevention and therapy". *Cancer Letters*, **252**, (2006), 1–8.
- [177] Michaluart, P., Masferrer, J.L., Carothers, A.M., Subbaramaiah, K., Zweifel, B.S., Koboldt, C., Mestre, J.R., Grunberger, D., Sacks, P.G., Tanabe, T., Dannenberg, A.J. "Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cell and in rat model of inflammation". *Cancer Research*, **59**, (1999), 2347–2352.
- [178] Greten, F.R., Eckmann, L., Greten, T.F., Park, J.M., Li, Z.W., Egan, L.J., Kagnoff, M.F. and Karin, M. "IKK links inflammation and tumorigenesis in mouse model of colitis associated cancer". *Cell*, **118**, (2004), 285–296.
- [179] Tutkun, E. ve İnci, A. "Bal Arısı Zararlıları ve Tedavi Yöntemleri (Teşhisten Tedaviye)". Demircioğlu Matbaacılık, Ankara, (1992), S:156.
- [180] Hanel, H., Koeniger, N. "Effects of JH III on the reproduction of *Varroa jacobsoni*". *Apidologie*, **14**, (1983), 137-142.
- [181] Kumova, U. "Çeşitli insektisit ve akarisitlerin bal arısı (*Apis mellifera* L., 1758)'na olan etkileri ve bunların bal arısı paraziti *Varroa jacobsoni* Quedmans 1904'ye karşı savaşımında kullanma olanakları", Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, (1985), 1-133.
- [182] Lubinevski, Y., Stern, Y., Slabezki, Y., Lenski, Y., Yossef, H., Gerson, U., "Control of *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae* mites using Mavrik in *Apis mellifera* colonies under subtropical and tropical climates". *American Bee Journal*, **128**(1), (1988), 48-52.
- [183] Koeniger, N., Fuchs, S. "Control of *Varroa jacobsoni* in honeybee colonies containing sealed brood". *Apidologie*, **19**(2), (1988), 117-130.
- [184] Slabezki, Y., Gal, H., Lensky, Y. "The effect of fluvalinate application in bee colonies on population levels of *Varroa jacobsoni* and honey bees and on residues in honey and wax". *Bee Science*, **1**(4), (1991), 189-195.
- [185] Milani, N., "Morphometri of strains of *Varroa jacobsoni* Quedmans Resistant and Susceptible to Pyrethroids". *XXXIV th International Apicultural Congress of Apimondia*, Lausanne- Switzerland, (1995), 15-19 August, Poster No: 325/192.

- [186] Mooseckhofer, R., Wallner, K., Luh, M., Womastek, R., Pechhacker, H. "The residue level in honey, wax and propolis after ten years of varroa treatment in Austria". *XXXIV*^l International Apicultural Congress*, Lausanne, Switzerland, (1995), Programme and Summaries of the Reports. 201.
- [187] Kumova, U. "A new application form of amitraz to control *Varroa jacobsoni* and effects on honeybees (*Apis mellifera* L.) colonies". *XXXVth International Apicultural Congress of Apimondia*, Antrep-Belgium, (1997), 1-6 September, No: 434/237.
- [188] Elzen, P. J., Baxter, J. R., Spivak, M., Wilson, W. T. "Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos". *Apidologie*, **31**, (1999a), 437-441.
- [189] Spreafico, M., Eördegh, F. R., Bernardinelli J., Colombo, M. "First detection of strains of *Varroa desructur* resistant to coumaphos. Result of laboratory test and field trails". *Instuto di Entomologia Agraria*, Milano Universty, Via Celoria 2, 20133 Milano, Italy, (2000).
- [190] Korta, E., Bakkali, A., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F., Kilchenmann, V., Bogdanov, S. "Characterization and monitoring of acaricide degradation products in honey and beeswax". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, (2001), 5835–5842.
- [191] Fernandez-Muino, M.A., Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F., Simal-Lozano, J. "Nonacaricide pesticide residues in honey: Analytical methods and levels found". *Journal of Food Protection*, **58**, (1995), 1271–1274.
- [192] Directive 74/409/EEC of 22 July 1974 on the harmonization of the laws of the Member States relating to honey.
- [193] Council regulation No. 2377/90/EEC of 26 June 1990 (OJ L 224 August 18, 1990, p. 1) laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Subsequent modifications: EC No.1931/1999 (OJ L 240 September 10, 1999, p. 3), EC No. 2393/1999 (OJ L 290 November 12, 1999, p. 5), EC No. 1478/2001 (OJ L 195 July 19, 2001, p. 32).
- [194] Muino, M.A.F., Sancho, M.T., Simal Gandara, J., Creus Vidal, J.M., Huidobro J.F., Simal Lozano, J. "Acaricide residues in honeys from Galicia (NW Spain)". *Journal of Food Protection*, **60**, (1997), 78–80.

- [195] Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Imdorf, A. "Acaricide residues in some bee products". *Journal of Apicultural Research*, **37**, (1998a), 57–67.
- [196] Wallner, K. "Varroacides and their residues in bee products". *Apidologie*, **30**, (1999), 235–248.
- [197] Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Imdorf, A., Fluri, P. "Residues in honey after application of thymol against varroa using the Frakno Thymol Frame". *American Bee Journal*, **138**, (1998b), 610–611.
- [198] Jan, J. and Cerne, J. "Distribution of some organochlorine compounds (PCB, CBz and DDE) in beeswax and honey". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **51**(5), (1993), 640- 646.
- [199] Jimenez, J.J., Bernal, L.J., Del Nozal, M.J., Martini, M.T., Mayorga, A.L. "Characterisation and monitoring of amitraz degradation product in honey". *Journal of High Resolution Chromatography*, **20**(2), (1997), 81-84.
- [200] Korta, E., Bakkali, A., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F., Bogdanov, S. "Determination of amitraz and of other acaricide residues in beeswax". *Analytica Chimica Acta*, **475**, (2002), 97–103.
- [201] Miyagi, T., Peng, C.Y.S., Chuang, R.Y., Mussen, E.C., Spivak, M.S. and Doi, R.H. "Verification of oxytetracycline-resistant American foulbrood pathogen *Paenibacillus larvae* in The United States". *Journal of Invertebrate Pathology*, **75**, (2000), 95-96.
- [202] Matsuka M., Nakamura, J. "Oxytetracycline residues in honey and royal jelly". *Journal of Apicultural Research*, **29**, (1990), 112–117.
- [203] Burget, M. and Fisher, G "The contamination of foraging honey bees and pollen with Pennacap-M". *American Bee Journal*, **117**, (1977), 626- 627.
- [204] Stoner, A., Sonnet, P.E., Wilson, W.T. and Rhodes, H.A. "Pennacap-M collection by honey bees". *American Bee Journal*, **118**(3), (1978), 154-155.
- [205] Stoner, A., Rhodes, H.A. and Wilson, W.T "Case histories of the effects on microencapsulated methylparathion (Pennacap-M) applied to fields near honey bee colonies". *American Bee Journal*, **120**(4), (1979), 297-300.
- [206] Muz, M.N. "Bal arılarında ani koloni sönmesi", *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **32**(3), (2008), 271-275.

- [207] Şener, R.H. “Seralarda yetiştirilen sebzelerde kullanılan DTC (dithiocarbamate)’li ilaç kalıntılarının araştırılması”. TAGEM Tarımsal Araştırma Özetleri 1996, No:1, S:86.
- [208] Anonim, 22.10.2000 tarih ve 24208 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan “Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği” ne göre hazırlanmıştır, Tebliğ no: 2000/39.
- [209] Anşin, R. Tohumlu bitkiler *Gymnospermae* (Açık Tohumlular). KTÜ Orman Fakültesi Yayın No: 122/15, s.262, Trabzon, (1994),
- [210] Davis, B.H. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Volume I, University of Edinburgh Press, s.74-75, Edinburgh, (1965).
- [211] Selik, M. Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.)’ın botanik özellikleri üzerinde araştırmalar ve bunların halepçamı (*Pinus halepensis* Mill.) vasıfları ile mukayesesi. Orman Genel Müdürlüğü Yayın No: 353, s.36, İstanbul, (1963).
- [212] Gökşin, A. Kızılçamın Botanik Özellikleri, Kızılçam El Kitabı, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Muhtelif Yayınlar Serisi 52, s.11-14. Ankara, (2001).
- [213] Yaltrık, F. Dendroloji, *Gymnospermae* (Açık Tohumlular). İÜ Orman Fakültesi Yayın No: 3443/386, s. 320, İstanbul, (1993).
- [214] Anşin, R., Özkan, Z.C. Tohumlu Bitkiler (*Spermatophyta*) Odunsu Taksonlar. KTÜ Orman Fakültesi Yayın No: 167/19, s. 512, Trabzon, (1997).
- [215] Yaltrık, F., Boydak, M., Türkiye Kızılçamlarında Genetik Çeşitlilik. Uluslar arası Kızılçam Sempozyumu 18-23 Ekim, Bildiriler Kitabı, s.1-10, Marmaris, (1993).
- [216] Tanker, N., Koyuncu, M., Çoşkun, M. Farmasötik botanik. AÜ Eczacılık Fakültesi Yayınları No:88, s. 284-285, Ankara, (2004).
- [217] Şeker, M., Z. Yücel ve E. Nurdan. “Çanakkale yöresi doğal florasında bulunan kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) populasyonunun morfolojik ve pomolojik özelliklerinin incelenmesi”. *Tarım Bilimleri Dergisi*, **10**(4), (2004), 422-427.
- [218] Davis, B.H. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Volume 6, University of Edinburgh Press, s.89-95, (1965).

- [219] Cliver, D.O: Foodborne Diseases. Academic Press, Inc., London, (1990).
- [220] Hobbs, B.C., Roberts, D. Food Poisoning and Food Hygiene. 5th ed. Edward Arnold, London, (1987).
- [221] Evans, M.R., Lane, W., Frost, J.A., Nylen, G. "A campylobacter outbreak associated with stir-fried food", *Epidemiology and Infection*, **121**(2), (1998), 275-279.
- [222] Robinson, D.A., Jones, D.M. "Milk-borne campylobacter infection". *British Medical Journal*, **282**, (1981), 1374-1376.
- [223] Birkhead, G., Vogt, R.L., Heun, E., Evelt, C.M., Patton, C.M. "A multiple-strain outbreak of *Campylobacter* enteritis due to consumption of inadequately pasteurized milk". *Journal of Infectious Diseases*, **157**(5), (1988), 1095-1097.
- [224] Riordan, T., Humphrey, I.J., Fowles, A. "A point source outbreak of campylobacter infection related to bird-pecked milk". *Epidemiology and Infection*, **110**(2), (1993), 261-265.
- [225] Graves, T.K., Bradley, K.K., Crutcher, J.M. "Outbreak of *Campylobacter enteritis* associated with cross-contamination of food-Oklahoma", *JAMA*, **47**(17), (1996), 129-131.
- [226] Roels, T.H., Wickus, B., Bostrom, H.H., Kazmierczak, J.J., Nicholson, M.A., Kurzynski, T.A., Davis, J.P. "A foodborne outbreak of *Campylobacter jejuni* (O:33) infection associated with tuna salad : a rare strain in an unusual vehicle". *Epidemiology and Infection*, **121**(2), (1998), 281-287.
- [227] Metzging, L. Waterborne outbreaks of *Campylobacter* enteritis in central Sweden. *Lancet*, August, (1981), 352-354.
- [228] Blaser, M.J., Reller, B.L. "*Campylobacter enteritis*". *New England Journal of Medicine*, **305**, (1981), 1444-1452.
- [229] Aarestrup, F.M., Engberg, J. "Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*", *Veterinary Research*, **32**(3-4), (2001), 311-21.
- [230] Kasper, D.L., Braunwald, E., Fauci, A.S., Hauser, S.L., Longo, D.L. and Jameson, J.L.. Harrison's Principles of Internal Medicine. McGraw- Hill, 16th edition, (2005).

- [231] Arpin, C., Coze, C., Rogues, A.M., Gachie, J.P., Bebear, C. and Quentin, C. “Epidemiological study of an outbreak due to multidrug-resistant *Enterobacter aerogenes* in medical intensive care units”, *Journal of Clinical Microbiology*, **34**, (1996), 2163–2169.
- [232] Arpin, C., Dubois, V., Coulange, L., Andre, C., Fischer, I., Noury, P., Grobost, F., Brochet, J. P., Jullin, J., Dutilh, B., Larribet, G., Lagrange, I. and Quentin, C. “Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in community and private health care centers”. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **47**, (2003), 3506–3514.
- [233] Bornet, C., Davin-Régli, A., Bosi, C., Pagés, J.M. and Bollet, C. “Imipenem resistance of *Enterobacter aerogenes* mediated by outer membrane permeability”. *Journal of Clinical Microbiology*, **38**, (2000), 1048–1052.
- [234] Davin-Régli, A., Monnet, D., Saux, P., Bosi, C., Charrel, R., Barthelemy, A. and Bollet, C. “Molecular epidemiology of *Enterobacter aerogenes* acquisition: one-year prospective study in two intensive care units”. *Journal of Clinical Microbiology*, **34**, (1996), 1474–1480.
- [235] Hasenekoğlu, İ. ve Yeşilyurt, S., Mikrobiyoloji, Erzurum (2002), 12.
- [236] Bilgehan, H., Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji), Barış Yayınları, İzmir, (2000), 25.
- [237] Juntilla, J.R., Niemela, S.I. ve Hirn, J. “Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-haemolytic *Listeria*”. *Journal of Applied Bacteriology*, **65**, (1988), 321-327.
- [238] Norrung, B. “Microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in foods under special consideration of risk assessment approaches”. *International Journal of Food Microbiology*, **62**, (2000), 217–221.
- [239] Farber, J.M. ve Peterkin, P.I. “*Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen”. *Microbiology Reviews*, **55**, (1991), 476-511.
- [240] Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M. ve Diker, K.S. Özel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınevi, Ankara, (1999), S:362.
- [241] Roche, S.M, Kerouanton, A., Minet, J., Le Monnier, A., Brisabois, A. ve Velge, P. “Prevalence of low-virulence *Listeria monocytogenes* strains from

different foods and environments". *International Journal of Food Microbiology*, **130**, (2009), 151–155.

- [242] Goulet, V., Jacquet, C., Martin, P., Vaillant, V., Laurent, E. ve de Valk, H. "Surveillance of human listeriosis in France, 2001– 2003". *Euro Surveillance*, **11**(6), (2006), 79–81.
- [243] Çoban, A., "Yenidoğan sepsisinde antibiyotik tedavisi", *Ankem Dergisi*, **3**(3), (1989), 358-367.
- [244] Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Kurtuğlu, M.G., Körkoca, H., Çiftçi, İ.H., Aygül, K., Berktaş, M. "Klinik Örneklerden İzole Edilen *Proteus vulgaris* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıkları", *Van Tıp Dergisi*, **12**(2), (2005), 145-148.
- [245] Baysallar, M., Küçükaraaslan, A., Aydoğan, H., Hamasha, A., Başustaoğlu, A.C: "İdrar örneklerinden izole edilen *Proteus* türlerinin antibiyotik duyarlılık test sonuçları, kısıtlı bildirim ve retrospektif değerlendirmenin yorumlanması", *Ankem Dergisi*, **16**, (2002), 48-51.
- [246] Tortora, J.G., Funke, R.B. and Case L.C., *Microbiology*, The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., California, 1992, S: 169, 277, 523.
- [247] Frobisher, M. *Fundamentals of Microbiology*, W. B. Saunders Company, USA, 1968, S: 457.
- [248] Tıraş, Ü., Erdeve, Ö., Çamurdan, O., Dallar, Y. "*Serratia marcescens*: A serious death causing agent for neonates" *Turkish Journal of Medical Science*" **22**, (2002), 571-573.
- [249] Aksoy, S.B., Çoşkun, Ö., Gül, H.C., Görenek, L., Eyigün, C.P. "Enfeksiyon hastalıkları konsültasyon hizmetlerinin antibiyotik kullanımı, direnç ve maliyet üzerindeki etkisi", *Gülhane Tıp Dergisi*, **50**, (2008), 71-77.
- [250] Acıkgöz, Z.C, Köseoğlu Eser, O., Kocagöz, S: "CTX-M-3 type beta lactamase producing *Shigella sonnei* isolates from pediatric basillary dysentery cases", *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **61**(2), (2008), 135-137.

- [251] Xiong, Z., Li, T., Xu, Y., Li, J. “Detection of CTX-M-14 extended-spectrum beta-lactamase in *Shigella sonnei* isolates from China”, *Journal of infection*, **55**(5), (2007), 125-128.
- [252] Öncül, O., Erdemoğlu, A., Özsoy, M.F., Altunay, H., Ertem, Z. ve Çavuşoğlu, Ş., “Hastane personelinde nasal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı”, *Klinik Dergisi*, **15**(3), (2002),74-77.
- [253] Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N. ve Lo Nostro, A., “Antimicrobial resistance orofile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)”, *Food Control*, **18**(3), (2007), 196-200.
- [254] Yakupoğulları, Y., Gündüz, A., Özcan, M., Doğukan, M., Seyrek, A. ve Yılmaz, M., “*Staphylococcus aureus* suşlarının siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin ve moksifloksasin duyarlılıkları”, *Fırat Tıp Dergisi*, **11**(1), (2006), 45-47.
- [255] Kılıçturgay, K., Gökırmak, F., Töre, O., Gedikoğlu, S., Göröl, G. ve Helvacı, S. Klinik Mikrobiyoloji, Bursa Güneş & Nobel Kitapevleri, Bursa, (1994).
- [256] Odds, F.C., Van Nuffel, L., Dams, G. “Prevalence of *Candida dubliniensis* isolates in a yeast stock collection”, *Journal of Clinical Microbiology*, **36**(10), (1998), 2869-2873.
- [257] Hasenekoğlu, İ. Toprak Mikrofungusları, 1, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 689, Erzurum, (1991), 107.
- [258] Erkiş, A., Canhoş, Y., Biçici, M. “Türkiye’de *Alternaria alternata* f.sp. *citri*’nin *Minneola Tangelo* İzolatlarının İprodione’a Dayanıklılıkları”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **23**(5), (1999), 1051-1056.
- [259] Özsunar, A., “Trakya Bölgesi’nde Üretilen İnek Sütlerinde Alfatoksin M1 Varlığı”, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ, 2005.
- [260] Edwards, J.H. and Al-Zubaidy, T.S. Medical aspects. In J. E. Smith and J. A. Pateman, (eds.), *Genetics and physiology of Aspergillus*. Academic Press, New York, (1977).
- [261] Paster, N., Huppert, D., Barkai-Golan, R. “Production of patulin by different strains of *Penicillium expansum* in pear and apple cultivars stored at different

- temperatures and modified atmospheres". *Food Additives and Contaminants*, **12**, (1995), 51–58.
- [262] Taniwaki, H.M., Hoenderboom, C.J.M., Vitali, A.A., Eiroa, M.N.U. "Migration of patulin in apples". *Journal of food protection*, **55**, (1992), 902–904.
- [263] Molan, P. C. and Russell, K. M. "Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys." *Journal of Apicultural Research*, **27**, (1988), 62–67.
- [264] Blois, M.S., "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*, **26**, (1958), 1199-1200.
- [265] Molan, P.C. "The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity". *Bee World*, **73**(1), (1992), 5–28.
- [266] Marcis, B.J. "Mechanisms of benzoic acids up take by *Saccharomyces cerevisiae*". *Applied Microbiology*, **30**, (1975), 503–506.
- [267] James, O.B., Segree, W. and Ventura, A.K. "Some antibacterial properties of Jamaican honey". *Wisconsin Medical Journal*, **21**(7), (1972), 7-17.
- [268] Tomlinson, J.T. and Williams, S.C.. "Antibiotic properties of honey produced by the domestic honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Aphidae)" *Pan Pacific Entomologist*, **6**(14), (1985), 346-347.
- [269] Molan, P.C., Smith I.M. and Reid, G.M. "A comparison of the antibacterial activities of some New Zealand honeys". *Journal of Agricultural Research*, **27**(4), (1988), 252-256.
- [270] Basson, N.L. and Grobber, S.R. The effect of honey on human tooth enamel and oral bacteria. In "Proceedings of the International Conference on Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy" held in Tel Aviv, Israel, May 26-30, 1996, p. 65-71. Plenum Press, New York.
- [271] Toth, G., Lemberkovics, E. and Kutasi-Szabo, J. "The volatile components of some Hungarian honeys and their antimicrobial effects". *Am. Bee J.*, **127**(7), (1987), 496-497.
- [272] Wootton, M., Edwards, R.A. and Rowse, A. "Antibacterial properties of some Australian honeys". *Food Technology in Australia*, May 1978, 175-176.

- [273] Wilkinson, J. M. and H. M. Cavanagh,. “Antibacterial activity of 13 honeys against *E.coli* and *Pseudomonas aeruginosa*”. *Journal of Medicinal Food*, **8**, (2005), 100-103.
- [274] French, V.M., Cooper, R.A., Molan, P.C. “The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci”. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **56**, 2005, 228-231.
- [275] Subrahmanyam, M., Sahapure, A.G., Nagan, N.S., Bhagwat, V.R. and Ganu, Y.U. “Effects of tropical application of honey on burn wound healing”. *Ann. Burns and Fire Disasters*, **14**(3), (2001), 143–145.
- [276] El-Sukhon, S.N., Abu-Harfeil, N., Sallal, A.K. “Effects of honey on Bacterial Growth and Spore Germination”. *Journal of Food Protection*, **57**(10), (1994), 918-920.
- [277] Bogdanov, S. “Nature and origin of the antibacterial substances in honey”. *Lebensmittel-Wissenschaft + [i.e.und] Technologie Food science + technology.Science + technologie alimentaire*, **30**(7), (1997), 748-753.
- [278] Olaitan, P.B., Adeleke, O.E., Ola, I.O. “Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes”. *African Health Sciences* **7**(3), (2007), 159-165.
- [279] Schmidtchen, A., Holst, E., Topper, H., Bjorck, L. “Elastase-producing *Pseudomonas aeruginosa* degrade plasma proteins and extracellular products of human skin and fibroblasts, and inhibit fibroblast growth”. *Microbial Pathogenesis*, **34**, (2003), 47–55.
- [280] Tonks, A., Cooper, R.A., Price, A.J., Molan, P.C., Jones, K.P. “Stimulation of TNF- α release in monocytes by honey”. *Cytokine* **14**(4), (2001), 240-242.
- [281] Jones, K.P., Blair, S., Tonks, A., Price, A., Cooper, R. “Honey and the stimulation of inflammatory cytokine release from a monocytic cell line”. *First World Wound Healing Congress*. Melbourne, Australia, 2000.
- [282] Cooper, R. “The use of honey as an antiseptic in managing *Pseudomonas* infections”. *Journal of Wound Care*, **8**, (1999), 161–164.
- [283] Molan, P.C. “The efficacy of honey in inhibiting strains of *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns”. *Journal of Burn Care & Rehabilitation*, **23**, (2002), 366–370.

- [284] White, J.W., Subers, M.H., Schepartz, A.L. "The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system". *Biochemica and Biophysica Acta*, **73**, (1963), 57-70.
- [285] Bang, L.M., Bunting, C., Molan, P. "The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing". *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, **9**, (2003), 267-273.
- [286] Lin, S. M. "The effect of manuka honey on enterobacteria". A thesis submitted in fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Biological Sciences at the University of Waikato, 2010, Chapter 1, page 31.
- [287] Taylor, R.S.L., Edel, F., Manandhar N.P. and Towers, G.H.N. "Antimicrobial activities of Southern Nepalese medicinal plants". *Journal of Ethnopharmacology*, **50**(2), (1996), 97-102.
- [288] Sato N., Kai, Y., Shemilt, G.I. and Chiku, S. "Synthesis of ¹⁴C-labelled ceflupenam (E1077), a novel parenteral cephalosporin antibiotic". *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, **36**(2), (1995), 173-178.
- [289] Takaisi, N.B., Scjoncjer, H. "Electron microscopy and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propole provenance". *Planta Medica*, **60**, (1994), 222-227.
- [290] Mori, A., Nishino, C., Enoki, N., Tawata, S. "Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*". *Phytochemistry*, **26**, (1987), 2231-2234.
- [291] Plaper, A., Golob, M., Hafner, I., Oblak, M., Solmajer, T., Jerala, R. "Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase". *Biochem Biophys Res Commun.*, **306**, (2003), 530-536.
- [292] Schmolz, E., Garedow, A., Lamprecht, I. "The antimicrobial activity of honey of the stingless bee *Trigona* spp." *Journal of Apicultural Science*, **47**(1), (2003), 37-48.
- [293] Al Mamary, M., Al Meeri, A. and Al habori, M. "Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey". *Nutrition Research*, **22**, (2002), 1041-1047.

- [294] Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. "Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honeys, as well as their radical scavenging activity". *Food Chemistry*, **91**, (2005), 571–577.
- [295] Bogdanov, S. "Honey for nutrition and health". *The book of honey*, (2009), Chapter 7, page: 6.
- [296] Pérez, R.A., Vela, L., de Lorenzo, C. "Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **87**, (2007), 1069–1075.
- [296] Mohamed, M., Sirajudeen, K.N.S., Swamy, M., Yaacob, N.S., Sulaiman, S.A. "Studies on the antioxidant properties of Tualang honey of Malaysia". *African journal of traditional, complementary and alternative medicine*, **7 (1)**, (2010), 59–63.
- [297] Haroun, M. I. "Türkiye’de Üretilen Bazı Çiçek ve Salgı Ballarının Fenolik asit ve Flavonoid Profilinin Belirlenmesi", Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, 2006.
- [298] Aydın, L. "Nosemiasis". *Türkiye Parazitol Dergisi*, **18**, (1994), 224-228.
- [299] Bakonyi, T., Farkas, R., Szendroi, A., Dobos-Kovacs, M., Rusvai, M. "Detection of acute bee paralysis virus by RT-PCR in honey bee and *Varroa destructor* field samples: rapid screening of representative Hungarian apiaries". *Apidologie*, **33**, (2002), 63-74.
- [300] Kanbar, G., Engels, W. "Communal use of integumental wounds in honey bee (*Apis mellifera*) pupae multiply infested by the ectoparasitic mite *Varroa destructor*". *Genetics and molecular research*, **4**, (2005), 465-472.
- [301] Yue, C., Genersch, E. "RT-PCR analysis of Deformed Wing Virus in honey bees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*)". *Journal of General Virology*, **86**, (2005), 3419-3424.
- [302] Yue, C., Schroder, M., Gisder, S., Genersch, E.. "Vertical transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*)". *Journal of General Virology*, **88**, (2007), 2329-2336.

- [303] De Rycke, P.H., Joubert, J.J., Hosseinian, S.H., Jacobs, F.J. “The possible role of *Varroa destructor* in the spreading of American foulbrood among apiaries”. *Experimental Applied Acarology*, **27**, (2002), 313-318.
- [304] Benoit, J.B., Yoder, J.A., Sammataro, D., Zettler, L.W. “Mycoflora and fungal vector capacity of the parasitic mite, *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies”. *International Journal of Acarology*, **30**, (2004), 103-106.
- [305] Sammataro, D., Avitabile, A. *The Beekeepers Handbook*. Cornell University Press. USA, (1998).
- [306] Sammataro, D., Gerson, U., Needham, G. “Parasitic mites of honey bees: Life, history, implications and impact”. *Ann. Rev. Entomol.*, **45**, (2000), 519-548.
- [307] Bowen-Walker, P.L., Gunn, A. “The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels”. *Entomologia Experimentalis Applicata*, **101**, (2001), 207-217.
- [308] Bowen-Walker, P.L., Martin, S.J., Gunn, A. “The transmission of deformed wing virus between honey bees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud”. *Journal of Invertebrate Pathology*, **73**, (1999), 101-106.
- [309] Chen, Y.P., Pettis, J.S., Collins, A., Feldlaufer, M.F. “Prevalence and Transmission of honey bee viruses”. *Appl Environ Microbiol*, **72**, (2005), 606–611.
- [310] Wienands, A. “Medikamente gegen Varroa, Stand Februar 1987”. *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, **21**, (1987), 127–130.
- [311] Wehling, M., Ohe, W., Ohe, K. “Natural Content of Formic and Oxalic Acids in Honeys”. *Apiacta*, **38**, (2003), 257.
- [312] Kevan, S.D., Nasr, M.E., Kevan, P.G. “Feeding Menthol to Honey Bees (Hymenoptera: Apidea): Entry and Persistence in Haemolymph without Causing Mortality”. *The Canadian Entomologist*. **131**, (1999), 279-281
- [313] vanEngelsdorp, D., Underwood, R., Caron, D., Hayes, J. “An estimate of managed colony losses in the winter of 2006–2007: A report commissioned

- by the Apiary Inspectors of America". *American Bee Journal*, **147**, (2007), 599–603.
- [314] vanEngelsdorp, D., Hayes, J., Jr. "Underwood RM, Pettis JS A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009". *Journal of Apicultural Research*, **49**, (2010), 7–14.
- [315] Walker, N. "A soil Flavobacterium sp. that degrades sulphanilamide and Asulam". *Journal of Applied Bacteriology*, **45**, (1978), 125–129.
- [316] Allan, E. and Millward, L. "Sulfanilamide as a minor soil degradation product of asulam". *11th Workshop on Chemistry and Biochemistry of Herbicides*, (1984), pp: 107–112.
- [317] Zeybek, H. (1991) Arı Hastalıkları ve Zararlıları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitü Müdürlüğü, Etlik, Ankara.
- [318] Beyazıt, A., Seyisoğlu, M.A. Arılarda Amerikan yavru çürüklüğü (A.Y.Ç) hastalığı. İzmir Veteriner Hekimleri Odası, **1**, (2002), 26 – 31.
- [319] Gülpınar, V. "Bal arısı hastalık ve zararlıları". *Teknik Arıcılık*, **87**, (2005), 2-7.
- [320] Bogdanov, S. "Honey Trade", *The book of honey*, (2009), Chapter 10, page:2
- [321] Aydın, L., Çakmak, İ., Güneş, N. II. Marmara Arıcılık Kongresi Bildiri Kitabı. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, 28-30 Nisan 2003 Yalova, s: 177.
- [322] Akkaya, H., Vuruşaner, C.. Bal arısı ve zararlıları, ders notları. 1995, İstanbul.
- [323] Saki, C.E. *Arıcılık Ders notları*. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 1999, Elazığ.
- [324] Yücel, A. *Yumurta ve Bal*. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi yardımcı ders notları, No: 4. 2000, Bursa.