

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**KARADENİZ BÖLGESİNDE BULUNAN BALLARIN AĞIR METAL
TAYİNİ**

Proje No: FYL-2014-5130

Fen ve Mühendislik Bilimleri/Yüksek Lisans Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Şerife TOKALIOĞLU
Fen Fakültesi/Kimya Bölümü

Haziran 2016

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı, FYL-2014-5130 kodu ile maddi olarak destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	4
ABSTRACT	5
1. GİRİŞ	6
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Bal ve Özellikleri	7
2.2. Balın Fiziksel ve Kimyasal Yapısı	8
2.3. Balın Rengi	9
2.4. Balın Kokusu	9
2.5. Balın Viskozitesi	9
2.6. Balın Asitliği	10
2.7. Balda Nem Miktarı	10
2.8. Baldaki Şekerler	10
2.9. Baldaki Vitaminler	11
2.10. Baldaki Ağır Metal ve Mineral Madde Miktarı	11
2.11. Çiçek Balı	13
2.12. Salgı Balı	14
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Kullanılan Cihazlar	14
3.2. Kullanılan Reaktifler ve Çözeltiler	14
3.3. Örnek Hazırlama	14
3.4. Örneklerin Çözünürleştirilmesi	15
3.5. Örneklerdeki Eser Element Derişimlerinin Belirlenmesi	16
4. KAYNAKLAR	17

ÖZET

Bu projede Karadeniz bölgesinin çeşitli yörelerinden toplanan balların ağır metal derişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bal örneklerinin çözünürleştirilmesi için yaş külleme yöntemi kullanılmıştır. Çözünürleştirme sonrası örneklerdeki ağır metal (Pb, Mg, Ca, Zn, Mn, Co) derişimleri alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, Bal, Atomik absorpsiyon spektrometresi

ABSTRACT

In this project, it was aimed to determination of heavy metal concentrations of honey samples collected from different places of the Black sea region. Wet digestion method was used for digestion of honey samples. After digestion, the concentrations of heavy metals (Pb, Mg, Ca, Zn, Mn, Co) in honey samples was determined by flame atomic absorption spectrometer.

Keywords: Heavy metal, honey, atomic absorption spectrometer

1. Giriş

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hızlı nüfus artışı, kentleşme ve endüstrileşmeye paralel olarak ortaya çıkan, çevre kirliliği sorunları gün geçtikçe büyümekte olup, çevre kirliliğinin yoğun olduğu bölgedeki insanların sağlığı bu kirlilikten doğrudan doğruya ya da dolaylı olarak etkilenmektedir. Çevre kirliliği, endüstrileşmenin başladığı kentsel alanlarda kendini hava kirliliği olarak hissettirirken, tarım alanlarında yoğun olarak kullanılan pestisit ve diğer kimyasal ilaçlar toprağı, suyu ve besini kirleterek insan sağlığını doğrudan tehdit etmektedir. Çevre kirliliği sonucunda yeraltı ve yerüstü su kaynakları, hava ve toprak kirlenmekte olup bu bölgede yaşayan bitkiler, hayvanlar ve insanlar da bu kirlilikten olumsuz yönde etkilenmektedirler.

Havada bulunan partiküllerin % 0,01-3'ünü sağlık yönünden çok toksik etkiler gösteren eser elementler meydana getirir. Bunların sağlık yönünden önemi insan dokularında birikime uğramalarından ve muhtemel sinerjistik etkilerinden kaynaklanmaktadır. Havadan solunum yolu ile alınan partiküllere ek olarak, yenilen yiyecekler, içilen su aracılığı ile de önemli miktarda metalik partiküler maddeler vücuda alınmaktadır. İnsan sağlığını geniş çapta olumsuz yönde etkileyen metaller arasında atmosferde yaygın olarak bulunan; kurşun, kadmiyum, nikel, civa metalleri önem taşımaktadır. Diğer metallerin bir kısmı insan yaşamında temel yönden önem taşır, diğer bir kısmının konsantrasyonu ise insan sağlığını tehdit edecek boyutta olmadığından önem göstermez.

Çevre kirliliğini önlemek ve kirlenmeyi kontrol altında tutmak amacıyla birçok kişi ve kuruluş, biyolojik indikatörler üzerinde önemle durmaya başlamıştır. Biyolojik indikatörler, çeşitli kirleticilere karşı farklı duyarlılık gösteren canlılar olup, kirleticiler maddeleri vücutlarında biriktirerek uzun süre tutabilmektedirler. Bu özellikleri nedeniyle, günümüzde yürütülen araştırmalarda hava, su veya toprakta doğrudan kirlenme ölçümleri ile birlikte biyo indikatörlerden de yararlanılmakta ve bu canlıların popülasyon değişimleri izlenmektedir [1].

Bu çalışmanın amacı gerek besin gerekse ilaç olarak önemli olan balın; ağır metal kirlenmesine uğrayıp uğramadığını araştırılması hedeflenmekteydi. Atmosfer kirliliğinin bir bölümünü oluşturan metaller; fosil yakıtların yanması ve endüstriyel işlemlerle metal içerikli ürünlerin yakılması sonucunda ortama yayılırlar. Bu şekilde arı

kovanlarının yol kenarları, şehir merkezleri ve sanayi çevresi gibi kirli ortamlara konulması sonucunda balların içerikleri de değişebilmektedir. Amacımız bu değişikliği belirleme yönündeydi.

2. Genel Bilgiler

2. 1. Bal ve Özellikleri

Bal; arıların çiçek nektarlarını, bitkilerin veya bitkiler üzerinde yaşayan bazı canlıların salgılarını topladıktan sonra, kendine özgü maddelerle karıştırarak değişikliğe uğrattı, bal peteklerine depoladıkları tatlı maddedir. Bal kodeksine göre böyle tanımlanan bal, son yıllarda ülkemizde üzerinde en fazla spekülasyon yapılan gıda maddesi konumuna gelmiştir. Beslenme ve tedavi amaçlı olarak tüketiminin yaygın olması kolay para kazanma hevesi içerisinde bulunan bazı kişilerin sahte bal üreterek piyasada yer edinmeye çalışmasına neden olmuştur. Genel olarak balın yaklaşık % 80'i değişik yapıdaki şekerlerden, %17'si sudan meydana gelmektedir. Geri kalan %3'lük kısım başta enzimler olmak üzere diğer değerli maddelerden oluşmaktadır. Balın 100 gramında 304 kalori bulunmaktadır. Ayrıca % 0.3 proteinin yanı sıra demir, bakır, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, silisyum, alüminyum, krom, nikel ve kobalt gibi mineraller vardır. Salgı balları ise çiçek ballarına göre mineral maddelerce daha zengindir. Bu özelliğinden dolayı tedavi amaçlı olarak da kullanılmakta ve kristalize olmadıkları için de tercih edilmektedirler [2].

Ayrıca bal içerisinde onbeş şeker tespit edilmiş olup bunlardan bazıları, fruktoz, glikoz, sakkaroz, maltoz, izamaltoz, erloz, kestoz, melezit ve rafinozdur. Genel olarak früktoz şekeri diğerlerinden farklıdır. Balı bildiğimiz şekerden ayıran çok önemli bir fark vardır. Şeker ancak sindirim sisteminde değişime uğradıktan sonra kana karışırken bal sindirime gerek olmadan çok süratli bir şekilde kana karışır. Dolayısıyla bal insan vücudunun en yüksek derecede ve en hızlı biçimde faydalanacağı bir gıdadır. Ilık su ile karıştırılan balın birkaç dakika içinde vücuda enerji verdiği tespit edilmiştir [3].

Tablo 2.1. Türk gıda kodeksi yönetmeliğine göre balın sahip olması gereken özellikleri
[4]

	Çiçek Balı	Salgı Balı	Çiçek ve Salgı Balı Karışımı	Fırıncılık Balı
Nem (en fazla)	% 20 % 23 (püren-Calluna ballarında)	% 20	% 20	% 23 % 25 (püren-Calluna kaynaklı fırıncılık ballarında)
Sakkaroz (en fazla)	5 g/100g 15 g/100g (Yalancı akasya – Robina psedoacacia, adi yonca-Medicago sativa, Banksia mezesii çiçek balı, tatlı yonca-Hedysarum, kırmızı okaliptüs-Eucalyptus camadulensis, meşin ağacı-Eucryhia lucida- Eucyrphia milliganii, narenciye ballarında) 10 g/100g (Lavanta çiçeği-Lavandula spp., Boraga officinalis ballarında)	5 g/100g 10 g/100g (Kızıl çam Pinus brutia ve fıstık çamlarından Pinus pinea elde edilen salgı ballarında)	5 g/100g	5 g/100g
Fruktoz +Glukoz (en az)	100g’da 60 gram	100g’da 45 gram	100g’da 45 gram	-
Fruktoz / Glukoz	0,9 - 1,4	1,0 - 1,4	1,0 - 1,4	-
Suda çözünmeyen madde (en fazla)*	0,1 g/100g	0,1 g/100g	0,1 g/100g	0,1 g/100g
Serbest asitlik (en fazla)	50 meq/kg	50 meq/kg	50 meq/kg	80 meq/kg
Elektrik iletkenliği	En fazla 0.8 mS/cm (Kocayemiş-Arbutus unedo, çan otu-Erica, okaliptus, ıhlamur-Tilia spp., süpürge çalı- Calluna vulgaris, okyanus mersini-Leptospermum ve çay ağacı-Melaleuca spp’ den elde edilenler hariç olmak üzere) En az 0.8 mS/cm (Kestane balında)	En AZ 0.8 mS/cm	En fazla 0.8 mS/cm En az 0.8 mS/cm (kestane balı ve salgı balı karışımlarında)	En fazla 0.8 mS/cm
Diastaz sayısı (en az)	83 (Narenciye balı gibi yapısında doğal olarak düşük miktarda enzim bulunan ve doğal olarak HMF miktarı 15 mg/kg’dan fazla olmayan balda)	8	8	-
HMF (en fazla)**	40 mg/kg	40 mg/kg	40 mg/kg	-
Balda protein ve ham bal delta C13 değerleri arasındaki fark	-1.0 veya daha pozitif	-1.0 veya daha pozitif (Kızılçam Pinus brutia ve fıstık çamlarından Pinus pinea elde edilen salgı ballarında)	-1.0 veya daha pozitif	-1.0 veya daha pozitif
Prolin miktarı (en az)	180 mg/kg	180 mg/kg	180 mg/kg	180 mg/kg
Naftalin miktarı (en fazla)***	10 ppb	10 ppb	10 ppb	10 ppb

2.2. Balın rengi

Bal rengi soluk sarıdan amber ve siyaha yakın koyu kırmızı amber rengine kadar farklı renklerde olabilir. Bu renk çeşitliliği mineral madde, polen ve fenolik madde içeriğine bağlıdır ve floral kaynak karakteristiği sayılabilir. Balda renk oluşumu optik özellikten başka yapısında bulunan karoten, klorofil türevleri, ksantofil ve diğer bazı renk maddelerinden de etkilenmektedir. Bal rengini ölçmede çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Renk göz önünde bulundurularak balın uluslararası derecelendirmesinde yedi sınıf kullanılmaktadır. Bunlar, su beyazı, ekstra beyaz, beyaz, ekstra açık amber, açık amber, amber ve koyu amberdir.

Balın renginin tanımlanmasında farklı yöntemler kullanılmaktadır. Pfund skalası, bal endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir ölçüm tekniğidir. Ölçüm, standard amber renkli, cam, cetvel benzeri bir skala ve hücre içerisine koyulan sıvı balın kıyaslanması esasıyla yapılmaktadır. Bu karşılaştırma, renk yoğunluğunun bir ölçüsüdür. Balın rengi, amber skala boyunca 1-140 mm arasında değişen mesafede hareketi ölçülerek mm cinsinden ifade edilmektedir. Her mm değerine karşılık gelen renk tanımlamaları bulunmaktadır ve bunlar amber renginin tonları şeklindedir [5].

2.4. Balın Kokusu

Bal, içindeki polene bağlı olarak özel bir kokuya sahiptir. Bala doğal kokusunu veren maddenin siyah birada bulunan maddeler olabileceği ileri sürülmüştür. Balın kokusu ağıza alınıp yenilirken hissedilir. Çok ısıtılan ballar aroma maddelerinin büyük bir kısmını kaybederler. Bal, şiddetli kokan bir maddenin yanında saklanırsa o maddenin yabancı kokusunu da çekebilme özelliğine sahiptir. Genellikle koyu renkli ballar açık renkli ballardan daha keskin kokulu ve daha asitlidirler [6].

2.5. Balın Viskozitesi

Balın viskozitesi bileşimine ve içindeki su miktarına bağlıdır. Balı ısıtarak viskoziteyi azaltıp bala akışkanlık kazandırabiliriz. İçeriğindeki su oranı %14'den az olan ağır balları ısıtarak akışkanlığını artırmak zararlı olur [6].

2.6. Balın Asitliği

Balın tatlılık özelliğini örten madde, balda bulunan asitlerdir. Balda en fazla bulunan asit, gluko-oksidad enziminin faaliyeti sonucu meydana gelen glukonik asittir. Diğer asitlerin kaynağı pek bilinmemekle birlikte balın asidik yapıda olması mikroorganizmalara karşı dayanıklılığını arttırırken, arılar bala formik asit ilave ederek balın olgunlaşmasına yardımcı olmaktadır. Balın düşük pH değerinden sorumlu olan asit miktarının, bal gözleri sırlanmadan önce arıların iğnesinden bu gözlerle enjekte ettikleri formik asitten ileri geldiği bildirilmektedir. Ballar genelde asidik reaksiyon gösterip, pH 3.5-5.5 arasındadır. Balda yüksek asit değerinin tespit edilmesi ise zamanla fermentasyona uğradığını, sonuçta alkolün bakteriyel etkilerle asetik aside dönüştüğünü göstermektedir. Bal içerisinde asetik, bütirik, sitrik, formik, laktik, malik, süksinik, glikonik, oksalik, kaprik, tannik, tartarik ve valerik asitler bulunmaktadır. Glikonik asit hariç balda bulunan diğer asitlerin kaynağı kesin olarak bilinmemektedir. Asitliği %0,4'ten fazla olan ballar şüpheli ve sakıncalı olarak belirtilmiştir [2].

2.7. Balda Nem Miktarı

Balın nem içeriği iklim koşulları ile ilişkili bir parametre olup, üretim yılı veya üretim mevsimi ve olgunluk derecesine bağlıdır. Balın nem içeriği, depolama sırasında fermentasyon olayının önlenmesi ve balın stabilitesinin devamı açısından önemlidir. Bazı mayalar (ozmofilik maya), yüksek oranda nem içeren ballarda canlı kalabilmekte, balın bozulmasına neden olmaktadır. Buna karşın, olgunlaşmış balın nem içeriği herhangi bir mikroorganizmanın gelişimine olanak vermeyecek kadar düşüktür. Balın nem içeriği %17'den düşük ise hiç bir şekilde fermentasyon gerçekleşmemektedir [6].

2.8. Baldaki Şekerler

Karbonhidratlar balın temel bileşimidirler. Bu bileşimlerden en yüksek düzeyde monosakkaritler (fruktoz %32-49, glukoz %22-44), sonrasında da sakkaroz, izomaltoz ve rafinoz, maltoz ile birlikte diğer yüksek şekerler de bulunmaktadır. Molekül yapılarına göre şekerler; Disakkaritler; sakkaroz, maltoz, monosakkaritler; fruktoz ve glukoz, izomaltoz, nigeroz, leukroz, neutreholoz, turanoz, maltuloz, kojibioz, gentiobioz, naminaribioz ve izomaltuloz, polisakkaritler; 1-kestoz, melelitoz, izopanoz, maltotrioz, izomaltotetroz, theanderoz, panoz, izomaltotrioz, erloz, 3-izomaltosil

plukoz, izomaltopentoz ve centoz olarak ayrılırlar. Arıların kullandıkları floraya bağlı olarak bu şekerlerin oranları bal içerisinde değişiklik göstermektedir. Ballarda glukoz/fruktoz oranı balın kristalleşme özelliğini ve orijinini gösteren önemli bir parametredir [6].

2.9. Baldaki Vitaminler

E, K, C, B1 ve B2 balda en çok bulunan vitaminlerdir. Ayrıca niasin, folik asit ve biotin de farklı miktarlarda bal içinde bulunmaktadır (URL-3 2013). Bu vitaminlerin çoğu polenlerde bulunmaktadır. Ambalajlama sırasındaki süzme ile polenlerin bir kısmı uzaklaştırıldığı için vitamin miktarlarında %8-45 düzeylerinde azalmalar olmaktadır. Tüketilen bal miktarı düşünüldüğünde baldaki vitaminlerin beslenme açısından büyük bir öneme sahip olmadığı görülmektedir [6].

2.10. Baldaki ağır metal ve mineral madde miktarı

Arıların kullandıkları floraya bağlı balların kül miktarları değişmektedir. Balın külünün fazlalığı renginin koyuluğu ile doğru orantılıdır. Balın kimyasal yapısı ile rengi ilişkilidir. Koyu renkli ballarda bulunan şekerler ve aminoasitler arasında yoğun bir etkileşim olduğu öngörülmektedir. Kül ve aminoasit/şeker oranıyla balın rengi birbirleriyle yakından ilişkilidir. Çiçek balında %0,6'dan fazla; salgı balında ise %1,2'den fazla kül seviyesi bulunması uygun değildir. Baldaki kül, içinde barındırdığı mineral maddelerden (magnezyum, manganez, sodyum, fosfor, demir, potasyum, klor, kükürt, iyot vb.) oluşmaktadır [4,6].

Jones [7], yaptığı çalışmada; balda bulunan eser elementlerin çok düşük düzeyde olmasından dolayı çevre kirliliğinin izlenmesinde bal arılarının daha iyi indikatör olabileceğini belirtmektedir. Arıları beslemek için kullanılan şurubun içine Uranyum ilave edildiğinde, arılarda yüksek konsantrasyon; petekte, larvada ve balda ise daha düşük derişim saptanmıştır. Ayrıca birçok araştırmacı tarafından balda ağır metal içeriği ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.

Jones çevresel kirlilik çalışmalarında bir belirteç olarak kullanılan balda ağır metal derişiminin belirlenmesi hususunda İngiltere'de toplanan balların Pb, Ag, Cd, Cu

seviyelerini tespit etmiştir. Bal numunelerindeki farklı ağır metal türlerinin düşük derişimlerde bulunması ya da bulunmaması balda ağır metal analizinin önemli bir görüntüleme aracı olarak kullanılmasını sağlamıştır [7].

Sevimli ve ark., Türkiye’de toplanan bal örneklerindeki ağır metal türlerinin tayinini nötron aktivasyon analizi gerçekleştirerek gerçekleştirmişlerdir. Bal örneklerindeki As, Cr, K, Br, Zn, Co, Fe, Sb derişimlerini tayin etmişlerdir [8].

Ru ve ark., Çin’de toplanan sekiz çeşit bal örneklerindeki Cd, Hg, Cu, Zn, Pb, As gibi ağır metal türlerinin derişimlerini atomik absorpsiyon spektrometresi kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre toplanan ballardaki ağır metal derişimleri gıdalarda izin verilen sınır değerlerin altında çıkmıştır [9].

Munoz ve ark., İspanya’da topladıkları bal numunelerindeki Zn, Cd, Pb türlerinin analizlerini sıyırma voltametrisi kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Sonuçlarını ICP-MS ile karşılaştırarak yöntemin doğruluğunu tespit etmişlerdir [10].

Buldini ve ark., İtalya’da toplanan bal örneklerinin ağır metal derişimlerini iyon kromatografi ve voltametri kullanarak belirlemişlerdir [11].

Sanna ve ark., ballardaki Cu, Pb, Zn, Cd, Hg gibi ağır metal türlerinin derişimlerini anodik sıyırma voltametrisi kullanarak tayin etmişlerdir [12].

Andrade ve ark., Brezilya’da toplanan bal numunelerindeki Pb, Cd, Cr derişimlerini yaş çözünürleştirme yöntemi ile çözüp grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi kullanarak tayin etmişlerdir [13].

Singh ve ark., Hindistan’dan toplanan bal örneklerindeki Cd, Cr, Pb, Hg derişimlerini atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin etmişlerdir. Bal örneklerini 450 °C’de kül ettikten sonra yaş çözünürleştirme yapmışlardır [14].

Mahmoudi ve ark., İran’ın kuzeybatı bölgesinden toplanan bal örneklerindeki Pb, Zn, As derişimlerini alevli ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi kullanarak tayin etmişlerdir [15].

Mohammadi ve ark., İran'dan toplanan bal numunelerindeki Cu, Cr, Cd, Pb, As, Ni ve Zn derişimlerini ICP-OES kullanarak tayin etmişlerdir [16].

Chua ve ark., Malezya'dan altı bal örneğinin element bileşimleri ICP-OES ve ICP-MS kullanılarak belirlenmiştir. Bal örneklerinin toplam element içeriği balın fiziksel özellikleri ile ilişkilendirilmiştir [17].

Chudzinska ve Baralkiewicz, Polanya'dan üç farklı çeşit 140 bal örneğinde 15 element tayinini ICP-MS ile gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen data kemometrik olarak değerlendirilmiştir [18].

Munoz ve Palmero, İspanya'dan 16 bal örneğinde Cd, Pb ve Zn tayinini poansiyometrik olarak gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca ICP-MS ile Zn tayinini yaparak sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırmışlardır [19].

Batista ve ark., Brezilya'nın farklı şehirlerinden 47 örnek almış ve 42 element analizini ICP-MS ile yapmışlardır. Eser element bileşimleri ile balın orjini arasındaki ilişki için kemometrik değerlendirme yapmışlardır [20].

2. 11. Çiçek Balı

Çiçek balı, bal arısının bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektaryumlardan topladığı nektarın, vücutlarındaki bezlerden salgılanan maddelerle karıştırarak zenginleştirmesi ve peteklerde olgunlaştırması sonucu elde edilir. Nektar, bal arılarının karbonhidrat ihtiyacını karşılamaktadır. Bal arıları nektarı dilleri ile toplayıp bal mideleri ile kovana taşıyarak petek gözlerine depolarlar. Nektar, bazı eğrelti otları, gymnospermlerde ve pek çok angiospermdede özelleşmiş salgı bezleri olan nektaryumlar tarafından salgılanmaktadır. Nektaryumlar bitkide bulunduğu konum itibarı ile floral ve ekstra floral olmak üzere iki çeşittir. Angiospermlerin floral nektaryumları, çiçeğin iç bazalının yanında bulunmaktadır ve genellikle sadece floem ile bağlantılıdır. Türkiye'de üretilen balların büyük bir kısmı çiçek kaynaklı ballardır. Bu ballar, düşük kül, mineral madde, sukroz ve yüksek oranda invert şekerler içermektedir [4].

2. 12. Salgı Balı

Salgı balı, bal arılarının bitkiler üzerinde yaşayan bazı böceklerin salgılarını topladıktan sonra, kendine özgü salgılarla karıştırarak değişikliğe uğratarak, petek gözlerine depoladıkları maddedir. Bir salgı balı çeşidi olan çam balı, Homoptera familyasına ait *Marchalina hellenica*'nın *Pinus brutia* Ten ve *Pinus halepensis* Miller türleri üzerindeki balçığı sekresyonunun bal arıları tarafından kovana taşınması ile üretilmektedir. Bu bal çeşidinin büyük bölümü Türkiye'de üretilmektedir. Melezitoz, floem sıvılarındaki sakkarozun, aphidlerin sindirim enzimleri ile etkileşimi sonucu oluşmaktadır. Bu nedenle, melezitoz varlığı salgı ballarının karakteristik özelliğidir. Bitki özsuvarı, *Marchalina hellenica* midesinde sindirilmez, böceğin yapısında bulunan özel filtre odalarından geçer, salgılarla zenginleştirilerek balçığı olarak salgılanır. Çam balı, zamanla iyi kaliteli bal olarak kabul görmüştür. Keskin bir tadı ve aroması yoktur, kristalleşme olmaz. Koyu kıvamlı, kolayca saklanabilir ve çevre kirliliğinden uzakta çam ormanlarında üretilmektedir. Çam ballarının, çiçek ballarına göre asitliğinin düşük olması nedeni ile asidik ortamda oluşan HMF'nin ortaya çıkma oranının düşük olmasından, ısıtılmaya karşı hassas değildir. Salgı balı, koyu rengiyle ve yüksek değerlerde seyreden pH, kül miktarı ve elektriksel iletkenliği ile karakterize edilir [21].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada Perkin Elmer marka AAnalyst 800 model alevli atomik absorpsiyon spektrometresi kullanıldı. Toplam metal tayini için sıcak asit parçalamaları sıcaklık kontrollü ısıtıcı blok kullanarak gerçekleştirildi. Elementler için ölçüm parametreleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Kullanılan asetilen/hava akış hızı, 2.0/17 L/dak'dır. Elementlerin çalışma aralıkları, Cu, Fe ve Ca için 0.5-5 µg/mL, Zn için 0.1-3 µg/mL, Mn ve Mg için 0.1-1 µg/mL'dir.

Tablo 3.1. Aletsel parametreler

	Fe	Zn	Ca	Mg	Mn	Cu
Dalga boyu (nm)	248.3	213.9	422.7	285.2	279.5	324.8
Slit (nm)	0.2	0.7	0.7	0.7	0.2	0.7

3.2. Kullanılan Reaktifler ve Çözeltiler

Çalışmalarımızda Kullanılan tüm reaktifler analitik saflıktadır. Tüm çözeltiler ultra saflıkta su kullanılarak hazırlandı (18.2 MΩ cm, Merck Millipore). Tüm malzemeler % 10 (v/v)'luk HNO₃ içeren asit banyosunda 24 saat bekletildi ve sonra saf su ile yıkandı.

3.3. Örneklerin Hazırlanması

Araştırmadaki on bir adet kestane ve çiçek bal örnekleri Karadeniz bölgesinden toplanmıştır. Toplanan bal örnekleri önceden steril edilmiş cam kavanozlara konularak ağzıları hemen kapatılmış ve kavanozlarda hemen steril poşetlere geçirilmiştir. Kavanoz analiz için laboratuvara getirilmiştir.

3.4. Örneklerin Çözünürleştirilmesi

Çözünürleştirmede yaş yakma yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla 1.00 g örnek tartılıp, üzerine 10 mL derişik HNO₃ ilave edilmiştir. Kuruluğa yakın buharlaştırma sonrası 3 mL derişik H₂O₂ eklenmiştir. Aynı buharlaştırma işlemi ikinci kez tekrar edilmiştir. Elde edilen berrak çözelti 10 mL'e saf su ile tamamlanmıştır.

3.5. Bal Örneklerindeki Eser Element Derişimleri ve Yöntemin Doğruluğu

Bal örneklerindeki eser elementlerin toplam derişimleri (µg g⁻¹) Tablo 3.2'de verilmiştir. Elementlerin derişimleri Ca için 15.5 µg g⁻¹ - 84 µg g⁻¹, Mg için 1.24 µg g⁻¹ -53.2 µg g⁻¹, Fe için 2.72 µg g⁻¹ -67.5 µg g⁻¹, Zn için <ND-49.2 µg g⁻¹, ve Mn için <ND -14.2 µg g⁻¹ aralığında bulunmuştur. Cu, Ni, Pb, Cd ve Cr elementlerinin bal örneklerindeki derişimleri tayin edilemedi. 11 bal örneğindeki elementlerin ortalama derişimleri (µg g⁻¹), Fe için 16.9, Zn için 19.3, Ca için 47.9, Mn için 6.28, Mg için 26.1 ve Cu için 1.1 olarak bulundu.

Cu, Fe ve Zn için FAO-WHO CODEX tarafından gıdalarda bulunmasına izin verilebilen derişimler, Cu (0.1-5 ppm), Fe (1.5-15 ppm) ve Zn (<5 ppm) [22] olup, analiz edilen bal örneklerindeki Fe ve Zn derişimleri bu sınır değerlerin üzerinde bulunmuştur. Buradan bölge üreticilerinin bal üretimini şehir ve sanayi bölgelerinden uzak olmayan yerlerde gerçekleştirdikleri, dolayısıyla sanayi atıkları ve araç egsoz gazlarının sebep olduğu ağır metal kirlenmelerinin olabileceği sonucu çıkarılabilir.

Bal örneklerinin analizinde kullanılan yöntemin doğruluğu için Tomato Leaves 1573a sertifikalı referans madde (SRM) analizi yapılmıştır. Çözme yöntemi bal örneklerinininki ile aynıdır. Ca ve Mg için 0.01 g SRM tartılmış ve çözme sonrası 100 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.3'de verilmiştir. Elementlerin geri kazanma değerleri %89-95 arasında değişmektedir.

Tablo 3.2. Bal örneklerindeki eser element derişimleri (n=3)

Örnek no	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Ca ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)
1	9.36 ± 3.0	ND	54.8 ± 2.0	2.88 ± 0.43	53.2 ± 1.0	1.48 ± 0.12
2	7.12 ± 0.8	ND	78.4 ± 8.8	14.2 ± 1.0	49.6 ± 1.2	1.04 ± 0.08
4	9.6 ± 0.6	49.2 ± 1.6	56 ± 1.6	2.84 ± 0.20	21.2 ± 2.8	0.28 ± 0.08
7	7.10 ± 0.7	ND	75.7 ± 1.2	6.08 ± 0.36	31.6 ± 0.2	2.2 ± 0
9	2.72 ± 0.7	ND	42.4 ± 2.0	1.90 ± 0.08	18.8 ± 0.4	ND
11	57.1 ± 12	ND	84 ± 2.4	7.72 ± 0.68	35.0 ± 2.0	ND
12	3.2 ± 0.6	3.72 ± 0.2	40 ± 3.6	ND	6.40 ± 0.72	ND
13	3.7 ± 1.3	5.0 ± 0.3	27.6 ± 2.8	ND	3.80 ± 0.60	ND
14	10.6 ± 2.3	ND	16.4 ± 0.2	ND	8.04 ± 1.12	0.48 ± 0.08
15	67.5 ± 3.3	ND	36.1 ± 4	8.36 ± 0.04	58.8 ± 6.8	ND
16	8.36 ± 1.4	ND	15.5 ± 0.4	ND	1.24 ± 0.06	ND
Ortalama derişim, $\mu\text{g g}^{-1}$	16.9	19.3	47.9	6.28	26.1	1.1

ND: Tayin edilemedi.

Tablo 3.3. Tomato Leaves 1573a sertifikalı referans madde analizi (n=3)

	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Ca (w,%)	Mg (w,%)
Sertifikalı değer	4.70 ± 0.14	368 ± 7	246 ± 8	30.9 ± 0.7	5.05 ± 0.09	1.2^a
Bulunan değer	4.28 ± 0^b	333 ± 6	229 ± 0	29.3 ± 2.8	4.58 ± 0.09	1.07 ± 0.02
Geri kazanma (%)	91	90	93	95	91	89

a: Sertifikalı olmayan değer, b: Ortalama derişim $\pm$ SD

KAYNAKLAR

1. N Yılmaz, İzmit yöresinden toplanan bal ve polen örneklerinde element analizi ile bal örneklerinde polen analizi, Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 1996.
2. Dr. A. Korkmaz, Samsun Valiliği, Tarım İl Müdürlüğü, Ziraat Yüksek Mühendisi, 2006, Samsun.
3. Dr. F. Akçadağ, Balda HMF glikoz, früktoz ve sakkaroz tayini yeterlilik testi raporu, Tübitak ulusal metroloji enstitüsü referans malzemeler laboratuvarı Rapor No: KAR-G3RM-580.2014.02, Kocaeli, 2014
4. ANONİM, “Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Bal Tebliği. No 2005/49”, Resmi Gazete 17.12.2005/26026, 2005.
5. H.B Kaplan. Ege Bölgesi Ballarının Kimyasal Özellikleri, PAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 2014.
6. Y Ateş. Bingöl ve Yöresinde Üretilen Balların Kimyasal İncelenmesi, Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Bingöl, 2014
7. K.C Jones, Honey as an Indicator of Heavy Metal Contamination, Water-Air, and Soil Pollution. 33 (1987) 179-189.
8. H. Sevimli, N. Bayulgen, A. Varinlioğlu, Determination of Trace Elements in Honey by INAA in Turkey, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 165 (1992) 319-325,
9. Q. M. Ru, Q..Feng, J. Z. He, Risk assessment of heavy metals in honey consumed in Zhejiang province, southeastern China, Food and Chemical Toxicology, 53 (2013) 256–262.
10. E. Munoz, S. Palmero. Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology, Food Chemistry, 94 (2006) 478–483.
11. P. L. Buldini, S. Cavalli, A. Mevoli J. L. Sharma, Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy and transition metals in honey, Food Chemistry, 73 (2001) 487–495.

12. G. Sanna, M. I. Piloa, P. C. Piua, A. Tapparao, S. Renato, Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes, *Analytica Chimica Acta*, 415 (2000) 165–173.
13. C. K. Andrade, V. E. Anjos, M. L. Felsner, Y. R. Torres, S. P. Quináia, Direct determination of Cd, Pb and Cr in honey by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry, *Food Chemistry*, 146 (2014) 166–173.
14. S. Chandrama, R. Shubharani, and Sivaram, V., Assesment of heavy metals in honey by atomic absorption spectrometer, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (8), (2014) 509-515,
15. R. Mahmoudi, K. Mardani, B. Rahimi, Analysis of Heavy Metals in Honey from North-Western Regions of Iran, *Journal of Chemical Health Risks*, 5(4), (2015) 251-256.
16. H. M. Aghamirlou, M.h Khadem, A. Rahmani, M. Sadeghian, A. H. Mahvi, A. Akbarzadeh and S. Nazmara,. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 13:39 (2015) 1-8.
17. L. S. Chua, N.-Liza Abdul-Rahaman, M. R. Sarmidi, R. Aziz, Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia, *Food Chemistry* 135 (2012) 880–887
18. M. Chudzinska, D. Baralkiewicz, Application of ICP-MS method of determination of 15 elements in honey with chemometric approach for the verification of their authenticity, *Food and Chemical Toxicology* 49 (2011) 2741–2749.
19. E. Muñoz, S. Palmero, Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology, *Food Chemistry* 94 (2006) 478–483.
20. B.L. Batista, L.R.S. da Silva, B.A. Roch, J.L. Rodrigues, A.A. Berretta-Silva, T.O. Bonates, V.S.D. Gomes, R.M. Barbosa, F. Barbosa, Multi-element determination in Brazilian honey samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and estimation of geographic origin with data mining techniques, *Food Research International* 49 (2012) 209–215.
21. <http://www.aricilik.gov.tr/> Arıcılık araştırma dergisi, 5.sayı
22. <http://www.tab.org.tr/> Türkiye arı yetiştiricileri merkezi birliği