



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DÖRT FARKLI BAL ÇEŞİDİNİN FİZİKSEL VE KİMYASAL
AKTİVİTELERİ İLE ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI
VE KARŞILAŞTIRILARAK İNCELENMESİ**

DEMET DEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

ORDU 2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

DEMET DEMİR

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

DÖRT FARKLI BAL ÇEŞİDİNİN FİZİKSEL KİMYASAL AKTİVİTELERİ İLE ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE KARŞILAŞTIRILARAK İNCELENMESİ

DEMET DEMİR

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 62 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ÖMER ERTÜRK)

(İKİNCİ TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ ELİF ÇİL)

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de arıcılığın ekonomiye önemli katkı sağladığı üç il olan Bayburt, Ordu ve Rize illerinden alınan bal örneklerinin fizikokimyasal ve biyolojik karakterizasyonlarının incelenerek belirlenmesi ve karşılaştırılmasıdır. Bayburt Kitre köyüne ait iki, Ordu Yoroş yöresine ait bir ve Rize Anzer yöresine ait birer tane olmak üzere dört bal numunesi toplanmıştır. Toplanan örneklerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ve DPPH serbest radikal temizleme ve FRAP tayini ile antioksidan aktiviteleri, Kirby-Bauer Disk diffüzyon analizi ve Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) tayini ile de antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca örneklerin enzim inhibisyon analizi olarak üreaz, glukoz-oksidadz aktivitesi, UV-Vis ve FTIR analizleri yapılmıştır. Analizler sonucunda fenolik içeriği en yüksek olan bal Anzer balı en düşük olan bal Kara Kovan balı olarak tespit edilmiştir. Test edilen dört bal numunesinde flavonoid madde içeriği Anzer ve Kestane balında tespit edilebilmiştir. Antioksidan değerine bakıldığında en yüksek değer Anzer balında tespit edilmiştir. İncelenen numunelerin arasında çok değişken olmasada farklılıklar gözlenmiştir. Tespit edilen bu farklılıkların nedeni olarak farklı coğrafik koşullar ve balın içermiş olduğu bileşenlerin farklı miktarlarda olmasıyla açıklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel, Antifungal, Bal, Biyoaktivite

ABSTRACT

INVESTIGATION AND COMPARISON OF PHYSICO-CHEMICAL ACTIVITIES, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF FOUR DIFFERENT HONEY VARIETIES

DEMET DEMİR

**ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES**

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

MASTER THESIS, 62 PAGES

(SUPERVISOR: DOÇ. DR. ÖMER ERTÜRK

(SUPERVISOR: DR. ÖĞR. ÜYESİ ELİF ÇİL)

This study aims to examine, determine and compare the physicochemical and biological characterizations of honey samples taken from Bayburt, Ordu and Rize, three provinces where beekeeping contributes significantly to the economy in Turkey. Four honey samples, two from Bayburt Kitre village, one from Ordu Yoroç region and one from Rize Anzer region, were collected. Total phenolic and flavonoid contents of the collected samples, antioxidant activities with DPPH free radical scavenging and FRAP determination, and antibacterial activities with Kirby-Bauer Disk diffusion analysis and Minimal Inhibitory Concentration (MIC) assay were investigated. In addition, urease, glucose-oxidase activity, UV-Vis and FTIR analyzes were performed as enzyme inhibition analysis of the samples. As a result of the analysis, Anzer honey with the highest phenolic content was determined as Black Hive honey with the lowest. In the four honey samples tested, the flavonoid content could be determined in Anzer and Chestnut honey. Considering the antioxidant value, the highest value was determined in Anzer honey. Differences were observed, although not very variable, among the samples examined. The reason for these differences can be explained by different geographical conditions and the different amounts of components contained in honey.

Keywords: Antibacterial, Antifungal, Honey, Bioactivity

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve çalışmanın yürütülmesi esnasında bana yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ömer ERTÜRK'e ve tez yazım aşamasında desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Melek ÇOL AYVAZ'a teşekkür ederim. Ayrıca, analizlerin yapımındaki desteklerinden dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇİL'e teşekkür ederim.

Aynı zamanda, yaşamım boyunca maddi ve manevi desteklerini her an üzerimde hissettiğim babam Arslan Azmi DEMİR, annem Emine DEMİR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, tez çalışmasına B-1827 numaralı proje ile destek sağlayan Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| TEZ BİLDİRİMİ | I |
| ÖZET | II |
| ABSTRACT | III |
| TEŞEKKÜR | IV |
| İÇİNDEKİLER | V |
| ŞEKİL LİSTESİ | VII |
| ÇİZELGE LİSTESİ | VIII |
| SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ | IX |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI | 3 |
| 2.1 Arıcılığın Tarihi Gelişimi..... | 3 |
| 2.2 Dünya’da ve Türkiye’de Arıcılık..... | 4 |
| 2.3 Bal..... | 4 |
| 2.3.1 Bal Hasatı..... | 6 |
| 2.3.2 Türkiye’de ve Dünyada Bal Ticareti..... | 6 |
| 2.3.4 Balın Fiziksel Özellikleri..... | 9 |
| 2.3.5 Balın Kimyasal Özellikleri..... | 11 |
| 2.5 Polen..... | 16 |
| 2.6 Propolis..... | 17 |
| 2.7 Bal Mumu..... | 18 |
| 2.8 Arı Zehri..... | 18 |
| 2.9 Arı Sütü..... | 19 |
| 2.10 Balın İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkisi..... | 19 |
| 2.11 Balın Üreaz Enzimi Üzerinde Etkisi ve Üreaz Enziminin Kullanım Alanları... 22 | 22 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEMLER | 23 |
| 3.1 Numunlerin Temini ve Ekstraktların Hazırlanması..... | 23 |
| 3.2 Balların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analizleri..... | 24 |
| 3.2.1 Nem..... | 24 |
| 3.2.2 Glikoz ve Fruktoz Miktarı..... | 24 |
| 3.2.3 Diastaz Sayısı..... | 25 |
| 3.2.4 Elektriksel İletkenlik..... | 25 |
| 3.2.5 pH Ölçümü..... | 26 |
| 3.2.6 C4 Şeker Analizi..... | 26 |
| 3.2.7 Serbest Asitlik Analizi..... | 26 |
| 3.2.8 HMF (Hidroksimetilfurfural) Analizi..... | 26 |
| 3.3 Demir (/III) İndirgeme Antioksidan Güç – FRAP ve DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Antioksidan Analizleri..... | 27 |
| 3.4 Toplam Fenolik Madde Tayini (TPC)..... | 28 |
| 3.5 Toplam Flavonoid Madde Tayini (TFC)..... | 29 |
| 3.6 Enzim inhibisyonu..... | 29 |
| 3.6.1 Üreaz Enzim İnhibisyonu..... | 29 |
| 3.6.2 Glukoz-Oksidaz Aktivitesinin Tayini..... | 30 |
| 3.7 UV-Vis Spektrum Ve FTIR Analizi..... | 31 |
| 3.8 Antimikrobiyal Aktivite..... | 31 |
| 3.8.1 Kirby-Bauer Disk Difüzyon Analizi..... | 31 |

| | |
|---|---|
| 3.8.2 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) | 32 |
| 3.9 İstatistiksel Analizler..... | 34 |
| 4.BULGULAR VE TARTIŞMA | 35 |
| 4.1 Numunelerin Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları..... | 35 |
| 4.2 Antioksidan Analizleri Bulguları | 38 |
| 4.2.1 Numunelerin Toplam Flavonoid Madde, Toplam Fenolik Madde, Demir (/III) İndirgeme Antioksidan Güç – FRAP Tayini Ve DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini Bulguları..... | 38 |
| 4.3 Enzim inhibisyonu | 43 |
| 4.3.1 Üreaz Enzim İnhibisyonu Ve Glukoz-Oksidaz Aktivite Bulguları | 43 |
| 4.4 Numunelerin UV-Vis Spektrum ve FTIR Deneylerinin Bulguları | 44 |
| 4.5 Antimikrobiyal Aktivite | 47 |
| 4.5.1 Numunelerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) ve Kirby-Bauer Disk Diffüzyon Bulguları | 47 |
| 5. SONUÇ | 52 |
| 6.KAYNAKLAR | 52 |
| ÖZGEÇMİŞ | Hata! Yer işareti tanımlanmamış. |

ŞEKİL LİSTESİ

| | <u>Sayfa</u> |
|--|---------------------|
| Şekil 2. 1 Balın Sağlık Üzerine Etkileri..... | 21 |
| Şekil 3. 1 Kirby-Bauer Disk-Difüzyon Deneyi..... | 32 |
| Şekil 3. 2 MİK Konsantrasyon Testi..... | 33 |
| Şekil 4. 1 Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Aktivitesi Korelasyon Grafiği..... | 39 |
| Şekil 4. 2 Toplam Fenolik İçerik ve DPPH Aktivitesi Korelasyon Grafiği | 40 |
| Şekil 4. 3 Antioksidan ve DPPH Aktivitesinin Korelasyon Grafiği..... | 41 |
| Şekil 4. 4 UV-Vis. Bal Örneklerinin Spektrumları (H1-H4)..... | 45 |

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

| | |
|---|----|
| Çizelge 2. 1 Balın bileşimi..... | 5 |
| Çizelge 2. 2 Türkiye’de yıllara göre bal üretim miktarının (ton) değişimi | 7 |
| Çizelge 3. 1 Bal Örnekleri | 23 |
| Çizelge 3. 2 Kullanılan Bakteri ve Mantar Türleri | 31 |
| Çizelge 4. 1 Bal Numunelerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları..... | 37 |
| Çizelge 4. 2 Bal Örneklerinin Toplam Fenolik (TP), Toplam Flavonoid (TF) İçerik..... | 39 |
| Çizelge 4. 3 Bal örneklerinin fenolik içerikleri (µg fenolik/mg örnek cinsinden..... | 43 |
| Çizelge 4. 4 Bal Örneklerinin Üreaz Enzimi İnhibisyonu ve Glikoz-Oksidaz Aktivite..... | 44 |
| Çizelge 4. 5 Bal Örneklerinin UV-Vis. Absorpsiyon Bantları (H1-H4) | 45 |
| Çizelge 4. 6 Örneklerinin FTIR Spektrum Atamaları (H1-H4)..... | 46 |
| Çizelge 4. 7 Dört Farklı Bal Numunesinin Bakteriler ve Funguslar Üzerinde Yaptığı Antimikrobiyal Etki Disk Difüzyon Yöntemiyle Oluşan..... | 51 |

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|-----------------------------------|--|
| % | : Yüzde |
| °C | : Santigrat |
| ATR | : Atenuated Toplama Yansıma |
| FeSO₄ | : Demir Sülfat |
| FRAP | : Demir İndirgeyici Antioksidan Güç |
| FTIR | : Fouriertransform Kıızıl Ötesi |
| HDA-10 | : 10-hidroksi-2-dekanoik asit |
| H₂O | : Su |
| H₂O₂ | : Hidrojen Peroksit |
| H1 | : Bayburt Kara Kovan Balı |
| H2 | : Bayburt Çiçek Balı |
| H3 | : Kestane Balı |
| H4 | : Anzer Balı |
| HMF | : Hidroksi metil furfural |
| HPLC | : Yüksek performanslı Sıvı Kromatografi |
| MeOH | : Metil Alkol |
| MİK | : Minimal İnhibitör Konsantrasyon |
| mg | : Miligram |
| mg GAE/kg | : Milligram Gallik AsitEşdeğeri/kilogram |
| µM | : Mikromolar |
| mM | : Milimolar |
| NaOH | : Sodyum Hidroksit |
| UV-Vis. | : Ultraviyole Görünür Spektrum |
| TGK | : Türk Gıda Kodeksi |

1. GİRİŞ

Bal en eski çağlardan beri insan tarafından değer gören besin kaynaklarından biridir. Arılar tarafından üretilen bir gıda olan balın günümüzde yaygın bir şekilde ticareti yapılmaktadır (Crane, 1980 ve 1990). Arılar çok çeşitli bitkisel kaynak kullandıklarından dolayı bal çeşitliliği çok olup ve hiç bir bal tam olarak diğeri ile aynı değildir. Bunun en önemli nedeni balların farklı iklim şartlarına maruz kalması ve farklı bitkilerden elde edilmesidir. Üretilen balların çeşitliliğinde yaklaşık olarak farklılık gösteren 181 maddenin bazılarının balın kendi yapısına özel ve benzersiz olduğu bilinmektedir (Crane,1990). Bu farklılık satışa standart ürün çıkarmakta sorun olarak görülmektedir. Balın karakteristik özelliklerinin belirlenmesi, belli coğrafi ve bitki orijinlerine göre sınıflandırılması tüketiciye özel ürün olarak sunulmasında etkindir (Crane, 1979a; Oddo ve ark., 2004).

İnsanların arıcılığı öğrenmeleri ve geliştirmeleri ile birlikte başta bal olmak üzere insanlara hem sağlık hem besin açısından yararı olan birçok önemli ürün üretilmektedir. Hem beslenme hem sağlığa etkisi bakımından bal önemli içeriğe sahiptir. Balın içermiş olduğu bu bileşenlerin başında karbonhidratların gelmesiyle birlikte bir miktar protein, enzim, iz element, vitamin, polifenol, aminoasit, mineral ve aroma bileşenlerini de içerisinde bulundurmaktadır. Bal, besinlerin sindirimini gerçekleştirmesinde yararlı etki göstermekle birlikte besinlerin geri emiliminde de etkin bir şekilde rol oynayarak insanların besinlerden faydalanma derecesini arttırmaktadır (Ay ve Yiğit, 2016).

Bal; bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarların (bal özünün) arılar tarafından toplandıktan sonra, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilmesi ve petekte olgunlaşması ile meydana gelen tatlı üründür (Ötleş, 1995). Nektar, balın ham maddesi olarak bilinir. İçerisinde çözünmüş şeker bulunduran bir sıvı olan nektarın, farklı oranlarda yağ, vitamin, alkaloid, aminoasit, protein, enzim, organik asit ve antioksidanlar içerdiği belirtilmiştir. Nektarda farklı bileşiklerin bulunması, balın arılar tarafından toplandıktan sonra midesinde olgunlaştırma işlemini gerçekleştirdiği esnada farklı bileşenlerin bala eklendiğini göstermektedir (Krell, 1996). Arılar nektarı toplarken, beslenmesinde kullandığı polenleri de kovana taşır ve depo eder (Ünlü, 1994).

Hastalıklara karşı bağışıklık sistemini güçlendirici, iyileştirici, koruyucu etkiye sahip olan polen, içerisinde fazla miktarda protein, mineral ve protein bulundurur (Sorkun, 1987; akmak, 2001). Bu bileşiklerin bazıları bitkisel bazıları arı kökenlidir (Sato ve Miyata, 2000). Bal, bazı ilaçların yapımında kullanılmasıyla birlikte, gıdalarda doğal tatlandırıcı olarak da kullanılabilir (Molan, 2001). Son yıllarda doğal bir ürün olan balın bağışıklık sistemini kuvvetlendirici ve kanseri engelleyici nitelikte olduğu gösterilmiştir (Lien ve Li, 1985).

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de arıcılığın ekonomiye önemli katkı sağladığı üç il olan Bayburt, Ordu ve Rize illerinden alınan bal örneklerinin fizikokimyasal ve biyolojik karakterizasyonlarının incelenerek belirlenmesi ve karşılaştırılmasıdır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bal, arılar tarafından üretilen, insanlar tarafından değer verilen önemli besin kaynaklarından birisidir. Bazı medeniyetler bal için avlanmakta, bal ve bal arılarını kutsal olarak görmektedir. Bal avcılığı pek çok yerde arıcılığın önüne geçerek uzun bir süre bu şekilde devam etmiştir (Crane, 1979a ve 1990).

2.1 Arıcılığın Tarihi Gelişimi

Arıların dünyaya insanoğlu yerleşmeden bal üretmeye başladıkları yapılan çalışmalara göre bilinmektedir. Arıcılığın çok eski çağlara dayandığı mağara resimleriyle, eski tarihlere ait fosiller ve benzeri bulgularla ortaya koyulmaktadır. Yapılan kazı çalışmalarında arı kültürünün ilk kez yapıldığı ülke Mısır'dır. Arı yetiştiriciliğinin Mısırda başladığını tarihi kayıtlar, resimler ve yazıtlar göstermektedir (Korkmaz, 2010). Arı yetiştiriciliği Anadolu ile birlikte Avrupa'da da önemli yer tutmaktadır. Farklı ülkelere göçmenler ile taşınan arıcılık, kutupların yer almadığı yerleşik hayata geçirilen birçok uygun yerde yapılır. Birçok alanda yayılım gösteren ve bu alanlara daha iyi adapte olmuş arıların, yayılım gösterdikleri ülkelerde de arıcılık oldukça yaygınlaşarak gelişim göstermektedir. Tarihi gelişim sürecinde önce ağaç kütükleri sonrasında kil ve topraktan yapılmış kovanlar kullanılmıştır. Günümüze gelene kadar bugün kullanılan kovanlar geliştirilmiştir.

Eski çağlardan beri arıcılıkla ilgili çalışmalar 16. yüzyıldan beri birbirini takip eden bilim ve teknolojik gelişmelerle doğru orantılı olarak ortaya çıkmıştır. Yapılan bazı çalışmalarla birlikte ana arının yumurtadan oluştuğunun, kraliçe arının ana ve dişi arı olduğu, bal arılarının *Apis mellifera* olarak adlandırıldığının, kraliçe arının kovan dışına çıkıp uçarken çiftleştiğinin, işçi arıların kovanlara nektar getirdikten sonra kovanlar üzerinde uçarak birtakım hareketler yaptıkları bilim insanları tarafından rapor edilmiştir. Bal arılarının ana vatanı Afrika, Asya ve Avrupa olmasıyla birlikte modern arıcılığın temeli ABD'ye bal arılarının götürülmesiyle başlamıştır. Arıların doğal yaşamına uygun ilk kovan tipi Lorenzo Langstroth'un geliştirdiği bildirilmiştir (Korkmaz, 2003).

İnsanlar balın belirli bir miktarını kovandaki arılara zarar vermeden alarak, belirli bir miktar balı da balın toplandığı ağaç kovuklarındaki arılara bırakarak arıcılık mesleğine başladıkları bildirilmiştir. Arıların hayat döngüsünün ve biyolojik yapısının arıcılar tarafından anlaşılmasına başlamasıyla arıcılıkla ilgili yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerle birlikte arıların üstündeki kontrolün kovanların içlerinin izlenmesine imkân bulunduğu ve monte edilebilir kovanların elde edilmeye başlanmasıyla modern arıcılığın temelini atıldığı bildirilmiştir (Sunay ve Samancı, 2008).

2.2 Dünya’da ve Türkiye’de Arıcılık

Dünya nüfusunun artışıyla beraber arıcılık faaliyetlerinde de artış görülmektedir. Arıcılık dünyada birçok alanla beraber yayılım göstermiş uygulamalardan birisidir. Arıların zirai ürünlerin gelişiminde ve bitkilerin tozlaşmasında fazla miktarda yararlı katkı sağlayan bir rolü olduğu bilinmektedir (Öztürk, 2001; Crane, 2003).

Arıların habitatının ve biyolojisinin anlaşılmasıyla birlikte arıcılık teknikleri gelişmiş ve arılar üzerinde kontrol daha etkili bir şekilde sağlanmıştır. 1851 yılında monte edilebilir kovanların elde edilmesiyle modern arıcılık adımları atılmıştır. Türkiye’de son yıllarda zengin bitki örtüsü ve çevresel koşulları sayesinde arıcılık geniş alanlarda yayılım göstermektedir. Bu yayılım ülkemizde kovan ve koloni sayısını arttırmıştır (Kumova ve Korkmaz, 2007). Ülkemizin bitki örtüsü, çevresel koşulları, yüz ölçümü ve topografik yapısı dikkate alındığında arıcılık mesleğinde çok daha iyi durumda olmalıdır (Sıralı, 2002).

2.3 Bal

Evrimsel gelişime bakıldığında, bitkilerden toplanan nektar ve salgılar ile arılar bal yapabilir hale gelmiştir (Crane, 1990). Bal, TGK’da 2012 / 58 sayılı tebliğe göre “bal arısının bitki nektarları, bitkinin canlı kısımları salgıları ya da bitkinin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarını toplayıp kendine özgü maddelerle birleştirerek değiştirdiği, nem miktarını düşürüp peteklerde depolayarak olgunlaştırdığı doğal ürün” olarak tanımlama yapılmıştır (Anonim, 2010).

Bal yapısal olarak içerisinde 200'e yakın farklı çeşit bileşen bulunmaktadır. Balın içeriğinde organik asitler, flavonoidler, vitaminler, mineraller, fenolik asitler, aminoasitler, enzimler vb. bileşenler bulunmaktadır. Bal içerdiği bileşenlerle birlikte besin değeri yüksek, hazmı kolay, çoğu hastalığa koruyucu etkisi olan hastalık tedavilerinde tercih edilen bir gıdadır (Özmen ve Alkın, 2006; Spilioti ve ark., 2014).

Balın ham maddesi nektardır. Balın hammaddesi olan nektarın büyük bir kısmı çiçeklerden gelmektedir. Balların bir kısmının nektarı çiçeğin dışındaki bitkisel kaynaklı canlı kısımlardan elde edilerek üretilir. Salgı balı üretimi bu şekilde gerçekleştirilen bal çeşididir. Salgı bazı emici böceklerin salgıladığı bitkisel kaynaklı fakat çiçekle ilgisi olmayan içerisinde şeker bulunan bir sıvıdır. Bitkiler tarafından üretilen nektar ve polen, böceklere veya benzeri başka hayvanlara çiçekler tarafından tozlaşma için yem olarak sunulur. Böceklerle tozlaşan birçok bitki hiç nektar üretmeden sadece polen üretir. Tozlaşmada arılar en önemli eklembacaklılardır. Tozlaşmayla birlikte bal bitkilerin yan ürünüdür (Crane, 1979b).

Balın bileşiminin değişken olmasında birçok faktör etkilidir. Bu etkenlerin başında çiçek kaynağı gelmekle beraber, işleme, çevresel ve mevsimsel faktörler de dış etmen olarak etkili olmaktadır. Bal, früktoz (%38) ve glikoz (%31) monosakkaritlerinin bulunduğu doygun bir çözeltidir (Alvarez–Suarez ve ark. 2010). Balın kuru ağırlığının büyük bir kısmı karbonhidrat kaynaklı olmakla birlikte bu karbonhidratlar monosakkarit, disakkaritler ve oligosakkaritlerden oluşmaktadır. Genel olarak şekerlerin %70'i monosakkarit %10-15'i disakkaritler ve geri kalanı oligosakkaritlerden oluşmaktadır (Aygün, 2015).

Çizelge 2. 1 Balın bileşimi (Santos-Buelga ve González-Paramás, 2017)

| Bileşen | Miktar (%) | En az-En çok |
|-----------------------|------------|--------------|
| Su | 17.09 | 13.1-26.5 |
| Fruktoz | 39.44 | 37.07-42.65 |
| Glukoz | 28.15 | 18.2-32.1 |
| Sukroz | 3.19 | 00.36-16.57 |
| Diğer şekerler | 8.5 | 0.1-16 |
| Mineraller | 0.36 | 0.11-0.72 |
| Toplam protein | 1.13 | 0.22-2.93 |

Bal içerisinde insanların sağlığı üzerinde yararlı etkiye sahip fazla miktarda mineral içeren besleyici bir gıdadır. İncelenen çalışmalarda balın içerisinde yararlı metallerin yanı sıra ağır metallere de rastlanmıştır. Bu ağır metalleri içeren arı ürünlerinin çevre kirliliği indikatörü ve çevre kirliliğinin tespitinde ucuz ve etkili bir takip yöntemi olabileceği belirtilmiştir (Nisbet ark., 2013).

2.3.1 Bal Hasatı

Hasat işlemi kolonilerden uzak olan arazi gibi açık alanlarda "hasat çadırı" denen kapalı bir alanın kurulması ile başlar. Hasat çadırının içerisinde bal hasatı işlemi için gerekli olan peteklerin ve balların yerleştirileceği boş ballıklar ve bal tenekeleri, balın süzülmesi için süzme makinası gibi hasat ekipmanları da bulunmaktadır. Genellikle bal hasatı petek gözlerinin 2/3'ü veya 3/4'ü kadarının işçi arılar tarafından bal mumu ile karıştırıldıktan sonra yapılması ve hasat yapılırken arılar için yeterli oranda balın bırakılması gerekir. Yeterli balın bırakılmaması "yağmacılık" olarak adlandırılır. Arıların yeterli miktarda kullanacağı balın olmaması balın verimini olumsuz olarak etkiler (Korkmaz, 2003).

Bal hasatı için hazırlanan araziye arıların girişini engellemek için yeterli önlemlerin alınması gerekmektedir. Önlemler alındıktan sonra alınan ballı petekler silkelenerek petekte bulunan arıların uzaklaştırılması sağlanır. Arıların uzaklaştırılma işlemi bir fırça yardımı ile de gerçekteştirilebilmektedir. Uzaklaştırma işlemi gerçekteştirildikten sonra petekler boş ballıklara yerleştirilip çadıra getirilir. Peteklerdeki yabancı maddelerin ekipmanlar yardımıyla temizlenme işlemi gerçekteştirildikten sonra bal içeren petekler süzme işlemi için makinaya alınır ve süzülür. Bal süzüldükten sonra boşalan petekler arı kovanlarına tekrar yerleştirilir. Süzülerek elde edilen balın içerisinde istenmeyen birçok kalıntı ve yabancı madde bulunabilir. Yabancı madde kalıntılarının süzülen baldan uzaklaştırılması için elekten geçirilmeli ve yaklaşık 2 gün dinlenme tankında bekletilmelidir. Dinlendirilen ballar kavanoza alınır ve pazara sunulmaktadır.

2.3.2 Türkiye'de ve Dünyada Bal Ticareti

Dünyada bal ihracatının yüksek bir kısmı Arjantin ve Çin yapılmaktadır. Geriye kalan balın ihracatını ise Türkiye ile Macaristan, Meksika, Brezilya, şili, Uruguay, Romanya, Kanada, Bulgaristan, Hindistan, Salvador ve Vietnam yapmaktadır.

Bu ülkelerden bal ihracatının başında gelen Çin, Arjantin ve Meksika ihracatın toplam pazar paylarının %59'unu oluşturmaktadır (Öztürk, 2001; Sunay ve ark. 2004).

Dünyada besin değeri yüksek olan bal ile birlikte arı sütü, propolis, polen, arı zehri, bal mumu gibi arı ürünlerinin de ticareti yapılmaktadır. Ticareti yapılan bu ürünler pek çok ülkede birçok hastalık tedavisinde kullanılmaktadır. Tarımı gelişmiş ülkelerde bitkisel üretimde miktar ve kaliteyi artırmak için de arıcılık yapılmaktadır. Doğaya zarar vermeden yapılan ender tarımsal faaliyetlerden biri olan arıcılık çevreye zarar vermeden sürdürülebilir bir tarım faaliyeti olacaktır (Öztürk, 2001).

Türkiye bal üretimi açısından biyolojik çeşitlilik, iklim ve yükselti farklılıkları gibi nedenlerden dolayı elverişli ülkelerden biri olarak kabul görmektedir. Türkiye en yüksek kovan ve bal üretimini yaparak 2017 yılında ilk beş ülke arasına girmektedir (Anonim, 2019).

Çizelge 2. 2 Türkiye’de yıllara göre bal üretim miktarının (ton) değişimi

| Yıl | Miktar | Yıl | Miktar |
|------------|---------------|------------|---------------|
| 1992 | 60318 | 2006 | 83842 |
| 1993 | 59207 | 2007 | 73935 |
| 1994 | 54908 | 2008 | 81364 |
| 1995 | 68620 | 2009 | 82003 |
| 1996 | 62950 | 2010 | 81115 |
| 1997 | 63319 | 2011 | 94245 |
| 1998 | 67490 | 2012 | 89162 |
| 1999 | 67259 | 2013 | 94694 |
| 2000 | 61190 | 2014 | 103525 |
| 2001 | 60190 | 2015 | 108128 |
| 2002 | 74554 | 2016 | 105727 |
| 2003 | 69540 | 2017 | 114471 |
| 2004 | 60190 | 2018 | 107920 |
| 2005 | 82336 | 2019 | 110000 |

Kovan başına bal üretiminde ülkemiz diğer ülkelere göre geride kalmıştır. Ülkemizde bal üretiminin üretici profili, arı hastalıkları, arı zararlıları ve destekleme politikaları olarak sıralanabilir. Arıcılık işlemlerinin iyileştirilmesi bal veriminde daha karlı ve verimli üretim sağlayacaktır (Sakarya ve Çevrimli, 2018). Ülkemizde ihracatını yaptığımız balın büyük bir kısmını çam balı oluşturmaktadır. Son yıllarda ay çiçek ve pamuk ballarının da ihracatı yapılmaktadır. Ülke olarak yapılan bal ihracatımız 10.000 ton civarındadır.

Dünyada bal ithalatının en önemli pazarları Japonya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunmaktadır. Dünyada bal üretiminin bir kısmı uluslararası ticarete girmektedir. Dünyada bal ithalatında en önemli orana Avrupa pazarları sahiptir. Avrupa'da ithalatçı ülkelerden en önemlisi Almanya'dır. Türkiye'nin bal üretimi Almanya'nın yapmış olduğu bal ithalatından azdır (Öztürk, 2001; Sunay ve ark. 2004).

2.3.3 Bal Çeşitleri

Ballar kaynağını almış oldukları bitki orijinine göre sınıflandırılır. Bal elde edildiği kaynağının yanı sıra, fiziksel durumuna, mevsimine, coğrafik orijine, satış ve üretiliş şekline göre de sınıflandırılabilir (White, 2003). Satışa sunulan bal çeşitlerinin elde edimesinde sadece bir çiçekten ya da birden fazla çiçekten elde edilmiş çok çeşit bal bulunmaktadır. Arıların sadece bir çiçekten topladıkları nektar ile yaptıkları ballara monoflora ballar, arıların farklı çiçeklerden topladıkları nektarlar ile yaptıkları ballara poliflora ballar denir (Sunay ve ark., 2004). Türk Gıda Kodeksi (TGK) 2012/58 nolu Bal Tebliği' ne göre bal üç temel sınıfa ayrılmaktadır (Anonim, 2012).

Kaynağına Göre Ballar:

Salgı balı ve çiçek balı bu sınıfa ait bal çeşitleridir.

Çiçek balı: Kaynak olarak nektarın kullanıldığı bal çeşididir. Bu balın eldesinde bir çiçekten ya da birden fazla çiçekten nektar toplanabilir.

Salgı balı: Çam balı olarak da bilinen, bitkinin canlı kısımlarının salgısından ya da canlı kısım üzerinde yaşayan emici böceklerin salgılarından elde edilen bal çeşididir.

Pazara Sunuluş veya Üretim Şekline Göre Ballar:

Petekli bal, süzme bal, sızma bal, pres bal, petekli süzme bal, filtre bal bu sınıfa ait bal çeşitleridir.

Petekli bal: Saf balmumundan hazırlanmış ana peteklerin tamamı veya büyük bölümü sırlanmış olarak satışa sunulan bal çeşididir.

Süzme bal: Sırları alınan yavrusuz peteklerden santrifüj yolu ile elde edilen bal çeşididir.

Sızma bal: Peteklerden sızdırılarak elde edilen bal çeşididir.

Pres balı: Yavrusu olmayan peteklerin doğrudan veya 45°C'yi aşmamak üzere

ısıtılarak preslenmesi ile elde edilen bal çeşididir.

Petekli süzme bal: Süzme bal içerisinde petekli bal parçaları ile hazırlanmış bal çeşididir.

Filtre edilmiş bal: Yabancı organik veya inorganik maddelerin filtrasyon yolu polen içeriği önemli ölçüde azalmış bal çeşididir.

Üretilmiş Olduğu Materyale Göre:

Doğal petekli bal, fırıncılık balı, kara kovan balı bu sınıfa ait bal çeşitleridir.

Fırıncılık balı: Yabancı tat ve kokuya sahip fermente olmuş veya yüksek sıcaklıkta işlem görmüş, endüstriyel veya daha sonra işlenecek diğer gıda maddelerinde bileşen olarak kullanılma amaçlı bal çeşididir.

Doğal petekli bal: Modern kovanlarda ana petek kullanılmadan, arılar tarafından peteği ile beraber üretilen bal çeşididir.

Kara kovan: Kara kovanlarda içerisinde ana petek kullanılmadan, arıların petek kullanarak yapmış olduğu bal çeşididir (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2015).

2.3.4 Balın Fiziksel Özellikleri

Viskozitesi (Kıvamı)

Bal viskozitesi yüksek bir besindir. Balın şeker içeriğinden dolayı sıcaklık arttıkça viskozitesi azalır, kuru madde yoğunluğu arttıkça viskozitesi artar (Oroian, 2013). Yapılan çalışma ve araştırmalara göre ayçiçeği, kekik, köknar, portakal, pamuk ve çam ballarının viskozitesi 2.54-23.4 Pas arasında değişmektedir (Yanniotis ve ark., 2006). Araştırmalarda toplanan bal numunelerinin viskozite değerinin 1.77-11.38 Pas aralığında değiştiği bildirilmektedir. Yapılan çalışma örneklerinden viskozite değeri en düşük olan bal yonca, viskozite değeri en yüksek olan bal sedir balı olduğu belirtilmiştir (Anonim, 2010).

Elektriksel İletkenlik

Çiçek balları ile salgı ballarını ayırt etmek için kullanılan bir değerdir. Elektriksel iletkenlik değeri ayrıca balların mineral ve asit miktarına göre değişim gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalarda bu değer salgı ballarında daha yüksektir.

Salgı ballarının iletkenlik değeri en düşük 0.8 mS/cm iken çiçek balında ise en yüksek iletkenlik değeri 0.8 mS/cm olarak belirlenmiştir (Bilgen Çınar, 2010; Anonim, 2012; Batu ve ark., 2013). Balda bulunan protein miktarı, organik asit ve mineraller elektriksel iletkenlik değerini artırıcı, balın su içeriğinin ise iletkenlik değeri ile azaltıcı yönde ilişki kurduğu belirlenmiştir (Chua ve ark., 2012).

Kristallenme (Kristalizasyon)

Balın içerisinde bulunan glikoz şekerinin bir süre sonra belirli bir değere ulaşarak dibe çökmesine kristalizasyon denir. Balın kristallenme hızı içerisinde bulunan şeker ve su miktarına göre değişim gösterebilmektedir. Çiçek ballarında mutlaka belirli bir süre sonra kristallenme olur. Balın kristalize durumu ve miktarı, içerdiği şeker yapısı, sıcaklığı ve nem içeriği ile ilgilidir.

Kristallenmenin başlıca nedenleri;

- Yararlanılan bitki türü
- Kovandan bal alımın zamanında olup olmaması
- Yeni veya eski peteklerin kullanılması
- Partikül ve polen miktarı
- Bal depo edilen yerin maruz kaldığı sıcaklık ve nem
- Balın içerdiği hava kabarcıkları
- Ambalaj kaplarının çeşitleri gibi nedenlerdir (Zürcher ve Hadorn, 1974).

Peteklerdeki kapalı hücreler balın nemden, tozdan, diğer kontaminantlardan ve diğer kristallerden korunmasını sağlar. Bundan dolayı genel olarak bal petekte kristalize olmaz (Crane, 1980). Kristallenme için ideal olan sıcaklık değeri 14°C'dir. Ancak 10°C'nin altında kristalleşmenin yavaşlamasıyla birlikte 26.5°C'nin üzerinde bal kristalize olmaz (Zürcher ve Hadorn, 1974).

Kristalizasyon balda, glikoz miktarının olması gereken seviyenin altına düşmesi ile su miktarında meydana gelen artışla birlikte balda maya hücreleri gelişerek mayalanmaya neden olur (Shafiq ve ark., 2012). Bu gerçekleşen mayalanma ile birlikte balın yapısında bozulmalar olduğu gözlemlenmiştir (Anonim, 2014; Nakilcioğlu ve Ötleş, 2015).

Renk

Bal rengini, bala uygulanan ısı işlem, sahip olduğu sıcak iklim, içerdiği mineral miktarı ve maruz kaldığı doğa koşulları gibi etmenlerin etkilediği bildirilmiştir (Anonim, 2011). Nektardaki renk değişimleri, esmerleşme reaksiyonları polen rengi ve bal çerçevelerinin kullanım süresinin de bal renginin değişimde etkili olduğu belirtilmiştir (Nombré ve ark., 2010). Balın renginin tanımlamasında Lovibond kolarimetresinin veya Pfund sıkalasından yararlanılmaktadır (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2015). TKG ve TSE 'ye göre balın rengi "su beyazı ile koyu kahverengi arasında değişebilen" tonlarda olmalıdır (Anonim, 2011). Mineral madde içeriği fazla olan balların daha koyu renkli olduğu ifade edilmiştir (Şahinler, 2000).

Bal rengi balın lezzetiyle ilişkilendirilmektedir. Açık renkli balların tatları daha yumuşakken, renkleri daha koyu olan balları tatları daha keskin ve belirgin olduğu ifade edilmiştir (White, 2003). Balın rengi balın ticaretinde de oldukça önemli ve etkileyici bir özelliكتedir. Açık renkli balların tüketimde ön planda iken koyu renkli balların daha çok endüstriyel olarak kullanıldığı ifade edilmektedir (Krell, 1996).

2.3.5 Balın Kimyasal Özellikleri

Antioksidan Aktivite

Antioksidan, toksik maddelerin vücuttan uzaklaştırılmasını sağlayan ve vücudu serbest radikal zararlılarından koruyan maddelerdir. Bitki özütlerinden elde edilen balın içermiş olduğu antioksidan değerinin yüksek olması bala olan ilginin artmasına neden olduğu belirtilmektedir (Rice-Evans ve Miller, 1997). Balın antioksidan aktivitesi, fenolik içeriği ile pozitif ilişkilidir. Genel olarak rengi koyu olan bal çeşitlerinde fenolik içerik ve antioksidan aktivitenin diğer bileşiklere göre daha yüksek olduğu bilinmektedir (Sarıkaya, 2009).

Balın sahip olduğu antioksidan etkinin birçok hastalıkların ve kanser tedavilerinde önemli etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Al-Habori ve ark., 2002; Pyrzynska ve Biesaga, 2009; Miotto, 2010).

Su İçeriği

Balın içerdiği suyun temel kaynağı nektardır. Balın hasat zamanı, iklim koşulları, depolama şartları ve sırlanmış petek yüzdesi balın su içeriği üzerinde etkilidir. Bal tebliğine göre su içeriği %20'yi geçmemeli ve %10-20 arasında olmalıdır. Balın içerisinde su yüzdesi balın kalitesinde, kristalleşmesinde viskozitesinde, tadında, balın raf ömrünün ve olgunlaşma düzeyinin belirlenmesinde önemli bir kriter olarak tercih edilmektedir. İncelenen çalışmalarda su içeriğinin balda az olması mayalanmayı engellediği yüksek su içeriğinin mayalanmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Nombré ve ark., 2010; Anonim, 2012; Islam ve ark, 2012; Karabagias ve ark., 2014; Stephens ve ark., 2015).

Enzim İçeriği ve Aktivitesi

Bal enzimler bakımından çok zengin bir içeriğe sahiptir. Baldaki enzim içeriği çok değişkendir. Çeşitli araştırmacılar balda diastaz veya amilaz, nikotin, invertaz, katalaz, oksidaz, fosfataz enzimlerini bulmuşlardır. Bu enzimlerin bir kısmı bitkiden gelmekte bir kısmı ise arının başındaki bezlerden salgılamaktadır. Diastaz, invertaz ve gliko-oksidad gibi enzimler balın içerisinde bulunan başlıca enzimlerdir. Diastaz enzimleri nektar ve arı kaynaklıdır. Diastaz enzimleri bala uygulanan ısıl işlem depolama sırasında balın tazeliğinin değerlendirmesinde bir özellik olarak kullanılır (Sak-Bosnar ve Sakac, 2012).

Glikoz-oksidad, glikozu glikonik asit ve hidrojen peroksit katalizleyen diğer önemli bir enzimdir. Balın yara, hazımsızlık gibi gastrointestinal hastalıklarda, bakteriyel gastroenterit, ülser ve duodenal ülserlerde tedavi edici olarak kullanılmasını sağlayan antimikrobiyal özelliği ağırlıklı olarak, hidrojen peroksit içeriğine bağlıdır. Balın enzim içeriği pek çok faktörden etkilenebilmekte ve bundan dolayı orijin tespiti için uygun değildir (Anklam, 1998).

Nem ve Fermantasyon (Mayalanma)

Balın içerdiği su miktarının mayalanma üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır (Chirife ve ark., 1982). Balda mayaların etkisiyle mayalanma gerçekleşmektedir. Genellikle fruktoz ve glikoz kullanılarak etil alkol mayalanma gerçekleşerek karbondioksit açığa çıkmaktadır

Balın içerisinde bulunan alkol oksijenle karşılaştığında su ve asetik aside parçalanmaktadır. Bu parçalanmanın sonucunda mayalanma gerçekleşmesi balın tadını ekşitmektedir. Osmotolerant mayalar balda genelde doğal olarak bulunmaktadır. *Saccharomyces spp.* en çok balda gözlenen maya türleridir (Chirife ve ark., 2006). Balın içerisinde bulunan su miktarı raf ömrünü ve olgunlaşma seviyesini belirlemede önemli ölçütler arasındadır. TGK 2005'e göre balın içermiş olduğu su miktarının %20'nin altında olması gerekli görülmektedir (Karadal ve Yıldırım, 2012).

Mineral

Bal mineral içeriği bakımından çok zengin besleyici bir gıdadır. Sodyum, iyot, kalsiyum, sülfür, magnezyum, klorin, fosfor, potasyum, alüminyum, titanyum, boron, bakır, krom, molibden, çinko, kurşun, kalay, nikel, demir gibi maddelerin miktarlarının değişken olabileceği tayin edilmiştir. Yapılan birçok araştırmada rengi koyu olan balların mineral içeriğinin açık renkli ballardan daha fazla olduğu belirlenmiştir (White, 1979; Crane, 1990; Krell, 1996; White 2003).

Vitamin

Balın içerisinde mineral bileşenlerinin yanı sıra vitamin bileşenleri de yer almaktadır. Riboflovin, pantotenik, niasin, tiamin, piridoksin ve askorbik asit vitaminleri balın yapısında değişken miktarda bulunan vitaminlerdir (White, 2003). Bu vitaminlerin yanında balda folik asit ve biotin de bulunduğu görülmektedir (Krell, 1996).

Şekerler (Karbonhidratlar)

Bal, yapısında bulunan karbonhidratların başında monosakkaritlerin gelmesinin yanı sıra disakkaritler ve yüksek şekerlerde fazla miktarda bulunur. Yapılan araştırma ve çalışmalara göre balın yapısında bulunan şekerler:

- Monosakkaritler olarak D-glikoz ve D-fruktoz
- Disakkaritler olarak sakkaroz, maltoz, izomaltoz, nigeroz, turanoz, maltuloz, kojibiyoz, $\alpha\beta$ - trehaloz, gentiobiyoz, laminaribioz, neorehaloz
- Yüksek şekerler olarak panoz, erloz, maltatrioz, 1-ketoz, melizitoz, izomaltositglikoz, theandroz, sentoz, izopanoz, izomaltosiltetroz, izomaltosilpentoz ve rafinoz bulunur (White, 1979 ve 2003; Krell, 1996).

Nektarın yapısında bu şekerlerden çoğu bulunmaz, fakat enzim ve asitlerin etkisiyle balın olgunlaşması sırasında oluşmaktadır (White, 1979 ve 2003). Balın içerisindeki şeker oranı tatlılık seviyesini belirlemekle birlikte bazı ballar arasında tatlılık seviyesinde farklılık oluşturmaktadır. Bu farklılığın temel nedeni balların içerisindeki bulunan şeker miktarından kaynaklanmaktadır. Balların büyük bir kısmında fruktoz şekeri miktar olarak diğer şekerlere oranla fazladır, bir kaç şekerden glikoz miktarının fazla olduğu belirtilmiştir (White, 1979; Crane, 1980).

Yüksek fiyatlı birçok gıda ürünlerinde hile olduğu gibi balda da başvurulan ve sık rastlanan hile yöntemleri gözlenir. Bala, yüksek fruktozlu mısır şurubu (HFCS), mısır şurubu, invert şeker şurubu gibi farklılık gösteren şeker şuruplarını ilavesi balda en sık raslanan hile yöntemlerinden biridir. Balın içeriğinde bulundurduğu şeker yapılarının bilinmesi, yapılan bu hilelere karşı tespit açısından kolaylık sağlar. Balın içinde bulunan sakkarit tespitinde fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemler kullanılabilir. En sık olarak kullanılan yöntemler Yüksek performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC), ince tabaka kromatografisi (TLC), Gaz Kromatografisi (GC) ve amperometrik atımlı dedektörlü iyon kromatografisidir (Anklam, 1998).

Oligosakkaritlerin balda tespiti yapılan hilenin anlaşılması için bir yöntem olabilir. Oligosakkaritlerin oluşması, kimyasal ve enzimatik yöntemlerle HFCS ve invert şeker üretimi sırasında gerçekleşmektedir.

İtalyan bal numunelerin şeker yapıları GC yöntemi ile aydınlatılmıştır (Zunin ve ark., 1987). Ayrıca hile tespitinde baldaki sakkaroz ve erloz içeriği kullanılabilirliği belirtilirken, maltoz / izomaltoz oranı hile tespitinde uygun bulunmamıştır (Anklam, 1998).

Çizelge 2. 3 Balın bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri (Anonim 2012; Anonim 2015)

| | Türk Gıda Kodeksi | | Türk Standartları Enstitüsü | |
|--------------------------------|---|--|---|---|
| | Çiçek Balı | Salgı Balı | Çiçek Balı | Salgı Balı |
| Nem | %20 | %20 | %20 | %20 3.4-6.1 |
| pH | - | - | 3.4-6.1 | |
| Renk | Su beyazından koyu kahve rengine kadar | Pfund skalaya göre en az 60 olmalıdır | Su beyazı ile koyu kahve rengine arası | Çoğunlukla koyu renkte, Pfund skalayagöre en az 60 Olmalıdır |
| Nişasta | - | Olmamalı | Olmamalı | Olmamalı |
| Sakkaroz (en fazla) | 5 g/100g | 5 g/100g | %5 (kütlece) | %5 (kütlece) |
| Fruktoz-Glukoz (en az) | 60 g/100g bal | 45 g/100g bal | %60 (kütlece) | %45 (kütlece) |
| Fruktoz/Glukoz | 0.9-1.4 | 1.0-1.4 | 0.9-1.4 | 1.0-1.4 |
| Elektrik iletkenliği | En fazla 0.8 mS/cm | En az 0.8 mS/cm | - | - |
| Diyastaz sayısı (en az) | 8 | 8 | 8 | 8 |
| HMF (en fazla) | 40 mg/100 kg | 40 mg/100 kg | 40 mg/100 kg | 40 mg/100 kg |
| Protein miktarı (en az) | 300 mg/100 kg | 300 mg/100 kg | 300 mg/100 kg | 300 mg/100 kg |

Nektar kaynağı olan binlerce bitki türü doğada bulunmaktadır. Doğadaki bu bitki gruplarına örnek verecek olursak; yem bitkileri, kültür bitkileri, kır çiçekleri, ağaç ve çalılar vb. bitkiler sayılabilir (Doğaroğlu, 1999). Bir çiçekten üretilen bal miktarı, nektarın şeker içeriğine ve toplam üretilen nektar miktarına bağlıdır. Genellikle bitkide bir seferde düşük ölçüde nektar bulunur. Fazla miktarda nektar üreten çiçekli bitkilerde bile bu değer belirli bir ölçüdedir (Crane, 1979b). Arıların taşıyabileceği toplam nektar miktarı ortalama olarak 70 mg dolaylarındadır (Doğaroğlu, 1999). Arılar bitkiden nektarı aldıktan sonra bal ürününü oluşturabilirler. Arıların nektara ulaşamaması, tatlı olmaması ve nektar kaynağı olan çiçeğin şeklinin arının davranışlarında yorucu olması nektarın bal için kullanılma şansının azalmasına neden olur (Crane, 1979b).

Nektar üretimini etkileyen birçok etken gibi sıcaklıkta büyük ölçüde üretimi etkilemektedir. Her bitkinin nektar üreteceği sıcaklık farklılık gösterir. Hava sıcaklığının yüksek olmaması nektar üretimini engeller. Ayrıca arı türlerinin hepsi 12°C sıcaklığın altında uçamazlar (Crane, 1979b).

2.5 Polen

Polen, çiçeğe sahip olan bitkilerin erkek organlarının üst bölümünde yer alan üreme hücresidir. Arılar tarafından toplanırken, ağızlarında bulunan özel enzimle birlikte polen yapışkanlık kazanır. Bu yapışkanlık polenlerin topak halini almasını sağlar ve oluşan bu ürüne arı poleni denir (Anonim, 2014). Polenlerin renkleri, biçimleri ve boyutları bitkiden bitkiye farklılık gösterebilir. Bu farklılık çiçeğin özellikleri, iklim koşulları, toprağın özelliklerine göre değişebilmektedir. Renk olarak genellikle sarı olmasının yanı sıra çok farklı renklerde de görülebilmektedir (Korkmaz, 2010; Anonim, 2011). Arıların tek protein kaynağı polendir (Standifer 2003). Polen arı yavruları için vitamin, protein, steroit, mineral ve lipit maddelerince zengin içeriğe sahip elzem bir besin kaynağıdır (Krell, 1996; Schmidt, 1997). Arılar polen toplamak için sabah erken saatleri tercih ederler. Arı çok sayıda çiçek içerisinde dolaşırken vücudunda bulunan yapı olarak sert olan kıllarına yapışan polenleri fırçaların bulunduğu arka bacakları vasıtasıyla topladığı ve ağızdan çıkan salgı ile nemlendirerek birbirine yapıştırarak polen sepetinde kovana taşıdığı bilinmektedir (Korkmaz, 2010).

Polen toplarken polen toplanılan çiçek miktarı, polen paleti yapma süresi, günlük uçuş sayısı, havanın sıcaklığı, çiçeğin türü, rüzgârın şiddeti ve hava nemine göre farklılık gösterebilmektedir. Arılar sadece iki tane polen paleti taşıyabilmekte ve polen tanelerinin polenin toplandığı bitkiye ait olduğu belirtilmektedir (Artık ve Konar, 2018). İnsanlar için önemli bir besin kaynağı olan polenin, büyümeyi hızlandıran, yorgunluk giderici, kansızlığı önleyebilen ve metabolizmayı düzenleyici etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Ayrıca X ışınlarının zararlı etkilerinden insanları ve hayvanları koruyucu etkiye sahip olduğu da belirtilmiştir (Şahinler, 2000; Anonim, 2014).

2.6 Propolis

Arıların, bitkilerin tomurcuk, yaprak ve birçok benzer kısımlarından toplayıp kovanda mumla karıştırarak birçok amaçla kullanılan reçine gibi kokan, rengi sarı ve kahverengi arasında değişen yapışkan kıvamda olan bir üründür (Kutluca Karlıdağ ve Genç, 2007).

Propolis ilk olarak yunan uygarlığında kullanılması ile birlikte yunan yazıtlarında birçok iltihaplı yaralarda, çürüklerde kür yapımında kullanılıp doğal antibiyotik olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Yunan Uygarlığının yanı sıra Antik Roma'da yaraların iyileşmesi amacıyla birçok karışımın elde edilmesinde propolis ürünü kullanıldığı belirtilmiştir (Yavuz ve ark., 2012). Arıların propolisi kovanda ölen büyük böcekleri dışarıya taşıyamadıkları ve ölen canlıların bedenlerinde bozulmalar meydana gelip açığa çıkan maddelerin diğer canlılara zarar vermesini engellemek amacıyla ölü canlıları mumyalarken kullandıkları bildirmiştir. Ayrıca kovanda meydana gelen çatlak veya delikleri propolis ile sıvayıp tıkama işlemi yapılmaktadır (Yavuz ve ark., 2012).

İnsan sağlığı üzerinde propolisin çok önemli etkileri bulunmaktadır. Bağışıklık sistemini uyararak direnci arttırmakla birlikte, antimikrobiyotik, aneztezik ve antioksidan gibi birçok özelliğe sahiptir. Birçok deri hastalıklarının tedavisinde, diş eti tedavisinde, romatizma ve eklem rahatsızlarında doku yenilenmesi ve yanık tedavisinde kullanılmaktadır (Yavuz ve ark., 2012).

Uluslararası ticareti yapılan propolis ayrıca marketlerde de satışa sunulmaktadır. Arı türlerinin propolis toplama miktarı değişkenlik göstermektedir. Kafkas ırkının propolis toplama miktarı diğer arı ırklarından yüksektir. Fiziksel özellik olarak propolis; 10°C'nin altındaki sıcaklık derecelerinde katılaşarak sertleşir ve kırılabilir, 30°C-40°C aralığında yumuşayarak yapışkan bir hal almakta, 80°C'de sıvılaşmaya başladığı belirtilmiştir.

Kovan dışına çıktıktan sonra yapışkan bir hal alıp kendisine ait bir kokusu bulunmaktadır (Bianchi, 1995). Propolisin toplanabilmesi için tercih edilmesi gereken dönem kış ayları ve soğuk geçen sonbahar aylarıdır. Toplanan propolisin kâğıt üzerinde toz halinde serilmesiyle birlikte yabancı atıklardan ayıklaması gereklidir. Ayrıca sıcaklığa maruz bırakılıp ısıtılmadan ve ufalanmadan toplanması gerekmektedir (Kutluca Karlıdağ ve Genç, 2007).

2.7 Bal Mumu

Bal mumu işçi arıların ventral kısmında bulunan salgı bezlerinden salgılanan maddedir. Salgılandığında rengi açık beklendiğinde ise rengi giderek koyulaşmaktadır. Bal mumu arılar tarafından salgılanmadan önce bal tüketmektedir. Arıların belirli bir miktarda bal mumu üretmeleri için çok miktarda bal tüketmeleri gerekmektedir. Bal tüketimi gerçekleştikten sonra uygun sıcaklık olarak 35°C'de birbirine geçmiş halkalar gibi salkım şeklini oluşturarak bal mumu salgıladıkları belirtilmiştir (Pirim ve ark., 2011).

Arılar bal mumunu bal, polen depo etmek için gerekli depo gözlerini örme ve yavruları yetiştirip büyütmek amacıyla salgılamaktadır. Arıcılıkta ise bal mumu petek yapımında, eşyaların parlatılmasında, boya endüstrisinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. İnsan sağlığında ise bal mumunun yüz kremlerinde, dişçilik alanında, merhem benzeri ilaç üretiminde kullanıldığı bildirilmiştir (Şahinler, 2000).

2.8 Arı Zehri

Arı zehri, arıların alkali ve asit salgı bezlerinde üretilip zehir torbasına depolanan bir salgı olduğu bilinmektedir. Arı sokmalarında bu salgı iğne içindeki zehir kanalından iğnenin girmiş olduğu bölgeye bırakılır (Anonim, 2014). Sokulan bölgeye bırakılan bu sıvının yapısında histamin hiyaluranidaz, MCD-peptidifosfolipaz-A2, apamin ve mellitin bulunmaktadır. Renk olarak sarımtırak renktedir. Kristalize hale geçmesi sıvı ve oksijen ile temas ederek kurumasıyla gerçekleşmektedir (Anonim, 2015). Arılardaki zehir miktarının arının yapısına, gelişimine, kaç günlük olduğuna ve mevsimine göre 0.05-0.03 ml/arı olacak şekilde değişim gösterebileceği tespit edilmiştir. Arı zehrinin birçok hastalık tedavisinde önemli etkilere sahip olduğu belirtilmektedir.

Eklem rahatsızlıkları, romatizma, iltihap kurutucusu, grip, ortopedik hastalıklarda, ağrı kesici olarak hastalık tedavilerinde ve ilaç yapımında kullanılarak önemli bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Anonim, 2014).

2.9 Arı Sütü

Arı sütü, en yüksek besleyici değeri olan arı ürünüdür. İşçi arılarının alt çene ve boğazlarındaki salgı bezlerinden salgılanan sıvı bir maddedir. Ayrıca kovanda bulunan ana arıya aşılınmış larvaların beslenmesini de sağlamaktadır (Anonim, 1989). Ana arı yetiştiriciliği, yavru yumurtaların gelişimini tamamlaması ile birlikte belli bir aşamada durdurulup arı sütünün depo edildiği yavru yumurtaları yok edilerek toplanması sonucu arı sütünün üretimi yapılmaktadır. Toplama işlemi gerçekleştirildikten sonra arı sütü koyu renkli ışık geçirmeyen şişelerde saklanılacağı belirtilmiştir (Korkmaz, 2010).

Kimyasal içerik açısından arı sütünün arıların beslenmesine, mevsimine, üretim yöntem şekline, larva yaşına bağlı olarak değişim gösterebildiği gözlemlenmiştir. Genellikle arı sütünün içerisinde dikarboksilik asit ve hidroksi asitleri bulunmaktadır. Hidroksi asitlerinin koloni gelişiminde önemli bir etkiye sahip olduğu bilgisi yapılan birçok çalışmada bulunmaktadır. Özel bileşenlerden biri olan 10-HDA (10-hidroksi-2-dekanoik asit)'nin değeri arı sütünden arı sütüne değişim göstermektedir. Bu değer yeni toplanmış arı sütünde 1.4 g/100g'den fazla iken liyofilize arı sütünde 3.5g/100g'dan yüksektir (Sabatini ve ark., 2009). 10-HDA'nın yapılan çeşitli çalışmalarda ömrü uzattığı ve menopoza önleyici etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür. 10-HDA'nın mili molar (Mm) seviyelerdeki konsantrasyonları ile birçok yapılan araştırmada cildi koruduğu, yaşlanmayı geciktirdiği ve antiromatoid aktivitelere etki gösterdiği bildirilmiştir (Uçar, 2018). Arı sütünün besin değeri çok yüksek olmasıyla birlikte sağlık üzerinde birçok hastalığı iyileştirici ve tedavi edici etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Şahinler, 2000).

2.10 Balın İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkisi

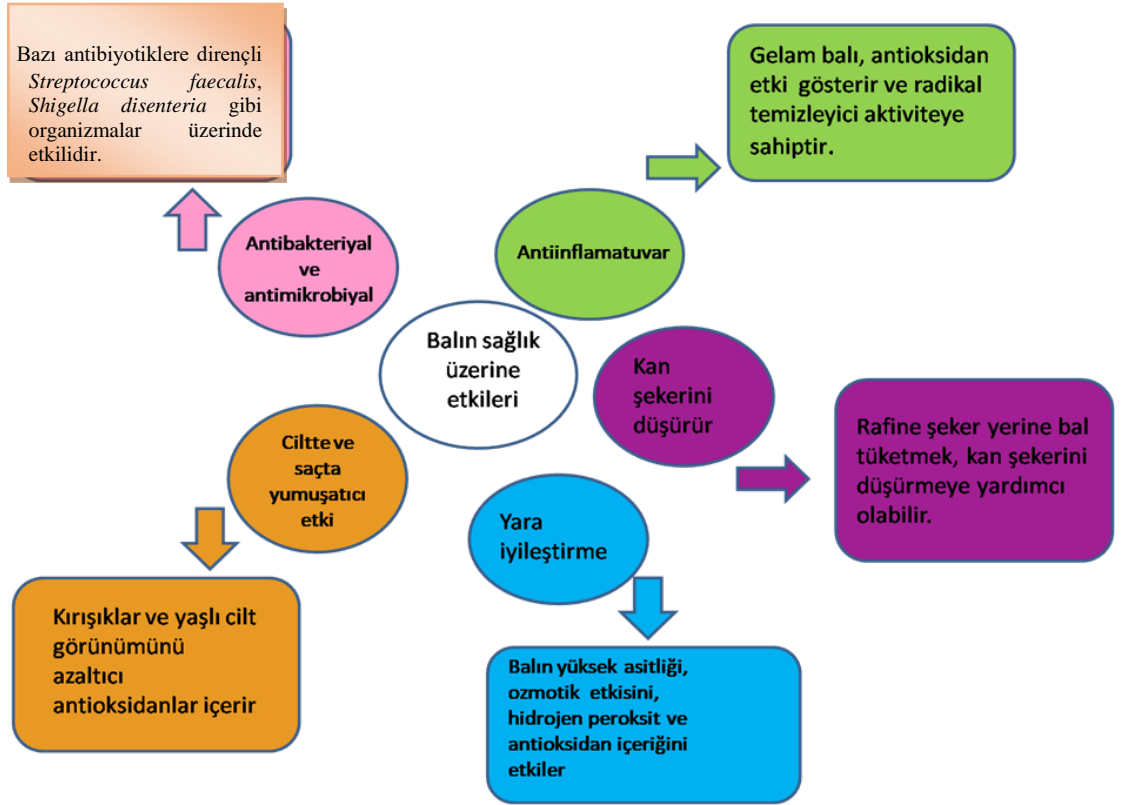
Antimikrobiyal etki: Balın, insanlarda hastalığa neden olan bakterilerin gelişmesini önleyici ortam oluşturan bir etkisi bulunmaktadır. Yapılan araştırmalara göre balın sadece bakteriler üzerinde değil birçok virüs, mantar ve parazitlere karşıda

gelişimlerini önleyici etkisi bulunmaktadır. *Echinococcus granulosus* paraziti hidatik kiste neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada bu parazit %10'luk bal konsantrasyonuna maruz bırakıldıktan belirli bir süre sonra parazit için öldürücü etkiye neden olmuştur (Karadal ve Yıldırım, 2012). Bunun yanı sıra başka bir çalışmada Bingöl yöresinden toplanan bal örneklerinin belirli bir değerinin (0.1 ml) birçok parazit, bakteri ve mantar türlerinin gelişimini önleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Aksoy ve Dığrak, 2006).

Antioksidan etki: Gıda bileşenlerinin oksijenle temas etmesi sonucu gerçekleşen oksidasyonu sonucunda gıdaların besin değeri düşmekle beraber renk, koku, tat gibi balın özelliğini belirleyen etmenlerde bir takım değişimler ortaya çıkmaktadır. Gıda da doğal olarak bulunan ya da dışarıdan ilave edilen oksidasyon olayını engelleyen maddeler antioksidan madde olarak tanımlanır (Köksel, 2007). Bal doğal olarak antioksidan maddeler içeren bir gıda ürünüdür. Nektarın toplanmış olduğu bitkisel kaynak, mevsimsel faktörlere ve çevredeki faktörlere bağlı olarak balın içinde bileşen olarak bulunan antioksidan bileşikler değişim göstermektedir (Spilioti ve ark., 2014). Glikoz-oksidad, katalaz, oksidad, peroksidaz enzimleri gibi, fenolik asitler, flavonoidler, karotenoidler, riboflavin, tokoferoller, tiamin ve askorbik asit gibi vitaminler de balın içerisinde bulunarak antioksidan etki oluşturmaktadır (Khalil ve ark., 2012; Isidorov ve ark., 2015). Balın içermiş olduğu toplam fenolik madde içeriği antioksidan özelliğinin artışı ile ilişkilendirilmektedir (Alzahrani ve ark., 2012). Koyu renkli bal çeşitlerinin fenolik madde içeriklerinin açık renkli ballardan daha yüksek olmasıyla birlikte antioksidan değerlerinin de yüksek olduğu bazı çalışmalarda incelenerek açıklanmıştır (Ajibola ve ark., 2012; Marshall ve ark., 2015).

Balların renklerinin ve balın içermiş olduğu prolin aminoasitinin antioksidan özelliğın bir göstergesi olduğu Bangladeş balları üzerinde yapılan çalışmada belirtilmiştir (Islam ve ark., 2012). Balın antioksidan özelliği gıdalarda esmerleşme ve acılaşmaya neden olan oksidasyon reaksiyonlarını da engellemektedir (Karadal ve Yıldırım, 2012).

Sindirim, Kanser ve Deri hastalıkları üzerinde etkisi: Balın içeriğinde bulunan metabolitlerin antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin sindirim sistemi, kanser ve deri rahatsızlıkları gibi birçok hastalık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. Bal, mide rahatsızlığı ülserine neden olan *Helicobacter pylori* bakterisinin gelişimini azaltıcı yönde etkiye sahiptir (Ajibola ve ark., 2012). Farelerle yapılan bir çalışmada diyetle beslenen denek farelerinin mide rahatsızlıklarının azaltıldığını tespit edilmiştir (Zanini ve ark., 2014). Balın içerdiği flavonoidler ve fenolik asit gibi birçok bileşen kanser hücrelerinin gelişimini engelleyici yönde etkisi bulunmaktadır (Othman, 2012). Düzenli bir şekilde belirli miktar bal tüketiminin birçok kanser tedavisinde olumlu sonuç verdiği gözlenmiştir (Abdel-Latif, 2015). Bal birçok kronik yaraların iyileşme sürecinde tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Aljadi ve Kumaruddin, 2004).



Şekil 2. 1 Balın Sağlık Üzerine Etkileri (Batt ve Liu, 2012; Yaghoobi ve Kazerouni, 2013; Vallianou ve ark., 2014)

2.11 Balın Üreaz Enzimi Üzerinde Etkisi ve Üreaz Enziminin Kullanım Alanları

Bal çeşitli enzimleri içermesinin dışında bazı hastalıklara neden olan üreaz enziminin aktivitesini engelleyen inhibitor maddeler içermektedir. Üreaz enzimi, ürenin karbondioksit ve amonyağa hidrolize katalize edilen bir enzimdir. Peptik ülser günümüzde çok yaygın olan hastalıklardan biridir. *H. pylori* midedeki mukus tabakası içerisinde bulunmaktadır. *H. pylori* üreaz enzimi salgılayarak üreyi amonyağa dönüştürür ve ürettiği amonyak ile kendini mide asidinin etkisinden korur (Sökmen ve ark., 2016).

Üreaz enziminden kaynaklı oluşan hastalıkların önüne geçmek için doğal inhibitörler üzerine birçok çalışma yapılmaktadır (Onado ve ark., 1990). Üreaz enzimi bazı hastalıklar teşhis edilirken üre miktarının belirlenmesinde, atık sularda ürenin temizlenmesinde ve gıda endüstrisinde üreyi uzaklaştırmak için kullanılmaktadır (Rajesh ve ark., 2005; Dindar ve ark., 2011).

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1 Numunelerin Temini ve Ekstraktların Hazırlanması

Türkiye'nin üç ayrı bölgesinden dört bal örneği toplanmıştır. Bayburt Kitre köyüne ait iki tane bal numunesi, Ordu YoroZ yöresine ait bir tane bal numunesi ve Rize Anzer yöresine ait bir bal numunesi toplanmıştır. Ballar arıcılıkla uğraşan bal ticareti yapan arıcılardan bal sağımı yapıldıktan sonra alınarak çalışmada kullanılmıştır. Bal örnekleri 2020 yılında ağustos ve eylül aylarında toplandı. Toplanan bal örneklerinin kodları ve bilgileri Çizelge 3.1'de listelenmiştir. Bal örnekleri ekstraksiyonu için uygun oda sıcaklığında ve ışısız ortamda laboratuvarda bekletilmiştir.

Çizelge 3. 1 Bal Örnekleri

| Numunenin İsmi | Bal Çeşidinin İsmi | Toplandığı Yer |
|----------------|--------------------|---------------------|
| H1 | Kara Kovan Balı | Kitre köyü-Bayburt |
| H2 | Çiçek Balı | Kitre köyü-Bayburt |
| H3 | Kestane Balı | YoroZ, Ordu |
| H4 | Anzer balı | Anzer Yaylası, Rize |

Her bal örneğinden yaklaşık 10 g eşit hacimde (50 ml) %99.9 etanol içerisine ilave edildi ve bir karıştırıcıda 3 dakika homojenize edildi. Karışım bir çalkalayıcı (Heidolph Promax 2020, Schwabach, Almanya) ile oda sıcaklığında 24 saat sürekli karıştırıldı. Partiküller filtre kağıdı ile uzaklaştırıldı. Çözeltinin nihai hacmi %99.9 etanol ile ayarlandı (Akyüz ve ark., 2014). Etanolik ekstrakt, ilki antioksidan testler için, ikincisi fenolik bileşikler için ve üçüncüsü üreaz enzim inhibisyonu için kullanılan üç kısma ayrıldı. Bal numunlerinde üreaz enzim inhibisyonu için konsantrasyonu 200 mg/ml olacak şekilde etanolik ekstraktlar hazırlandı. Glukoz-oksidad analizinde farklılık ise çözücü olarak pH 6.1 olan 100 mM sodyum fosfat tamponu çözeltisiyle gerçekleştirildi.

HPLC ile fenolik profil analizi için sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapıldı. İlk olarak etanolik ekstrakt döner buharlaştırıcı ile 40°C'de kurutuldu. Tortu, 10 ml asitleştirilmiş damıtılmış su (pH 2) içinde çözündürüldü ve daha sonra 5 ml dietil eter ve 5 ml etil asetat ile üç kopya halinde özü çıkarıldı (Kim ve ark., 2006).

Hem dietil eter hem de etil asetat fazları havuzlandı ve döner buharlaştırma (IKA-Werke, Staufen, Almanya) ile 40°C'de kurutuldu. Kalıntılar 2 ml etanol içinde yeniden

süspanse edildi, şırınga filtreleriyle (RC-membran, 0.45 um) süzüldü ve HPLC aletine enjekte edildi. Bal örnekleri (10 g), dijital orbital çalkalayıcı ile 200 rpm'de ve 20°C'de (Manyetik Isıtıcılı Mikser. Mtops Brand. Ms300hs Model, Shaker. Biosan 3d Mini Shaker S. klima kabini, Grotech marka, GR8 model, Unitroniks) 18/6 aydınlık/karanlık periyodu ile sürekli karıştırılarak 250 ml %95 etanol ile özütlenmiştir (tek ekstraksiyon). Çözelti süzüldü ve süpernatant ayrıldıktan sonra 10.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Etanolik çözelti daha sonra ham maddeyi elde etmek için 40°C'de azaltılmış baskı altında döner bir buharlaştırıcıda yoğunlaştırıldı.

3.2 Balların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analizleri

Balların doğallık ve saflığının belirlenmesin de şeker oranları, nem, pH, diastaz sayısı renk ve elektriksel iletkenlik gibi kriterler kullanılır. Bu yapılan çalışmada pH, nem, elektriksel iletkenlik, diastaz sayısı, fruktoz-glikoz miktarı, C₄ şeker ve serbest asitlik değerleri ölçülerek belirlenmiştir.

3.2.1 Nem

Homojen edilmiş bal numunelerinin kırılma indisi refraktometrenin prizma yüzeylerine konularak 20°C'de belirlenmiştir. Kırılma indisinin 20°C sıcaklıktaki oranları ile rutubet oranları karşılaştırılarak elde edilen sonuç yüzde (%) olarak hesaplanarak belirlendi (TS 3036, 2002).

3.2.2 Glikoz ve Fruktoz Miktarı

Numunelerden tartılarak 5 g bal alındı. Alınan bal ısıtılmadan 40 ml damıtılmış suda çözülmesi sağlanmıştır. Elde edilen çözelti, pipetle önceden 25 ml MeOH eklenmiş 100 ml'lik ölçülü balona aktarılmıştır. İşaretlenmiş çizgiye kadar balon, su ile doldurularak membran filtreden geçirilip süzülme işlemi yapıldıktan sonra deney tüpüne eklenir. Örneklerin analizi HPLC cihazında yapılmıştır (TS 13359, 2008).

3.2.3 Diastaz Sayısı

Analiz edilecek bal numunelerinden tartım yapılarak 10 g bal alınıp 15 ml saf su ile birleştirilerek seyreltme işlemi yapılmıştır. Isı uygulama işlemi yapılmadan elde edilen çözeltiye tampon çözelti olarak 5 ml asetal eklenerek tamamen çözünme işlemi gerçekleştirilmiştir. 50 ml'lik 2 erlenmayer kullanılarak birine nişasta, diğerine bal solüsyonu koyulup 40°C'de su banyosuna bırakıldı. Nişasta solüsyonundan 5 ml alınıp bal solüsyonuna ilave edilip belirli aralıklarla elde edilen karışımdan 0.5 ml alınıp 5 ml seyreltilmiş ve iyot çözeltisi ilave edilmiştir. Öncesinde standart dilüsyon seviyesi belirlenmiş saf su karışıma eklenerek spektrometrede 600 nm'deki absorpsiyonu okunup kaydedilmiştir. İlk okumanın 5. dakikada olmasına özen gösterilmelidir. Okunan absorpsiyon değerine göre zaman aralıkları belirlenerek, 0.235 absorpsiyona denk gelen reaksiyon süresi, 300 rakamına bölünerek diastaz sayısı belirlenmiştir (TS 13364, 2008).

3.2.4 Elektriksel İletkenlik

Tartım işlemi yapılarak alınan 20 g kuru bal damıtılmış su ile çözdürülüp çözelti elde edilmiştir. Elde edilen çözelti 100 ml'lik balona aktararak saf su eklenerek balonun çizgisine kadar doldurulup tamamlanmıştır. Çözeltinin 40 ml'si erlene aktararak ideal sıcaklığı 20°C'ye su banyosunda ayarlanmıştır. Elde edilen çözeltiden geriye kalan numune iletkenliğin ölçülmesinde kullanılarak iletkenlik hücresinin yıkanmasında kullanılmıştır.

Çözeltinin içine iletkenlik ölçülerine bağlanan elektrotlar bırakılarak sıcaklığın kararlı hale gelmesi beklenilmiştir. Çözeltinin iletkenliği (mS) cinsinden okunarak, 20 g kuru baldan elde edilen çözeltinin öz iletkenliği $B \gamma = K.G$ (mS/cm) bağıntısı ile hesaplanarak belirlenmiştir (Acquarone ve ark., 2007; TS 13366, 2008).

K: Hücre sabiti, (cm⁻¹)

G: Numune çözeltisinin elektrik iletkenliği, mS

3.2.5 pH Ölçümü

Balda bulunan toplam asitlik, içermiş olduğu esterler, laktonlar ve serbest asitler ile ifade edilir. Asitlik balda mikroorganizmalara karşı dayanıklılığı artırırken, formik asidin düşük pH değerinden sorumlu asit olduğu belirlenmiştir. Formik asit arıların, iğnesinden bal gözleri sırlanmadan gözlere bıraktıkları asittir. Ayrıca formik asit pH seviyesini düşürmesinin yanı sıra balın olgunlaşmasına da yardımcı olmaktadır. Balın pH değeri 3.4-3.5 arasında değişim göstermektedir. Tartılarak numuneden alınan 10 g bal 10 ml saf su ile karıştırılarak çözünmesi sağlanır ve üç paralel olarak pH ölçümü yapılır (TS 13360, 2008).

3.2.6 C₄ Şeker Analizi

Bu tayin işlemi ham baldan elde edilen protein çözeltisinin yakılma işlemi gerçekleştirildikten sonra çıkış yapan karbondioksit (CO₂) gazının C atomunun C₁₃/C₁₄ oranının tespit edilmesiyle elde edilen değerlerden %C₄ şeker oranı hesaplaması yapılmaktadır. Bu işlem C₄ şekeri eklenerek ya da C₄ şekerinin besin olarak kullanıp arılara verilmesi sonucu elde edilen balları ayırt etmekte kullanılır (TS 13360, 2008).

3.2.7 Serbest Asitlik Analizi

Numunelerin homojenize işlemi gerçekleştirildikten sonra tartım işlemi yapılarak numunelerden 10 g alınmış ve 75 ml su ilave edilerek karıştırma işlemi yapılmıştır. Çözeltiye elektrotların daldırma işlemi yapılarak karışım karıştırılırken beraberinde NaOH eklenerek pH 8.3 değerine ulaşana kadar titre edilmiştir. Eklenen NaOH çözelti miktarı not edilerek NaOH cinsinden mmol/kg olarak hesaplanmıştır (TS 13360, 2008).

3.2.8 HMF (Hidroksimetilfurfural) Analizi

10 g bal alınarak 25 ml su ile karıştırılıp çözelti elde edilmiştir. Balon jodedeki çözeltiye 1 ml Carrez-1 ve 1 ml Carrez-2 koyulup hacmi 50 ml'ye tamamlanarak karıştırılmıştır. Elde edilen karışımın 10 ml'si filtrenelerek lavaboya, geriye kalan miktar ise behere süzölmüştür. Süzöntüden D1 ve D2 olmak üzere iki deney tüpü oluşturulmuştur.

Deney tüplerine pipetle 2'şer ml bal çözeltisi eklenmiş ve 5 ml p-toluidin karışımı eklenerek çalkalama işlemi yapılmıştır. Çalkalama işleminden sonra 1-2 dakika beklenecek D1 tüpüne 1 ml su, D2 tüpüne 1ml barbitürik asit karışımı ilave edilip tekrar çalkalama yapılmıştır. D1 tüpünden elde edilen karışım ile spektrometre de sıfırlama yapılmıştır. D2 tüpü küvete alınarak 3-4 dakika geçmeyecek şekilde kör numuneye karşı 550 nm'deki absorpsiyon değeri ölçülmüştür. Maksimum absorpsiyon değerine kadar okuma yapılmış ve en yüksek değer alınmıştır (Aydın ve ark., 2014).

3.3 Demir (/III) İndirgeme Antioksidan Güç – FRAP ve DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Antioksidan Analizleri

FRAP metodu antioksidanlar varlığında (Fe(III)-TPTZ- 2,4,6-tris (2-piridil)-S-triazin) kompleksinin indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşması ve oluşan kompleksin 595 nm'de en yüksek üstünlük göstermesi esasını gözetmektedir. FRAP yöntemi kullanılan birçok yöntemle göre kolaylıkla standardize edilebilen basit bir yöntemdir. FRAP (Fe (III) indirgeme gücü (Ferric reducing antioksidan power)) metodu bal ekstraktlardaki antioksidan kapasitenin belirlenmesinde geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Benzie ve Strain, 1996).

Kalibrasyon için $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 'un değişen konsantrasyonları (31.25- 62.5- 125- 250- 500- 1000 μM) kullanılarak çalışma eğrisi hazırlandı. Devamında 1.5 ml FRAP reaktifi (300 mM pH 3.6) asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM $FeCl_3$ (10: 1: 1)] ile 50 μl numune karıştırıldı. 4 dakika süre sonunda 595 nm'de absorpsiyon değerleri okundu. Kalibrasyon eğrisi eldesi için $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 'un değişen konsantrasyonları kullanılarak absorpsiyon okuma işlemleri gerçekleştirildi. Örneklerin sonuçları $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 'la karşılaştırılmalı olarak bulundu ve μM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ eşdeğeri antioksidan güç olarak ifade edildi.

Ticari olarak satın alınabilen DPPH radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 100 μM 'lık etanolik çözeltisi hazırlandı. Yöntemin esası Molyneux (2004)'e göre yapıldı. Örneklerin metanolik ekstraktları kendi çözümleri ile seyreltilerek değişik konsantrasyonlarda hazırlandı. DPPH çözeltisi ve numune çözeltileri eşit miktarda (750 μl) karıştırılıp 50 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bekleme işleminin sonucunda DPPH'ın 517 nm'de en yüksek absorpsiyonları verdiği okundu.

Kör olarak DPPH çözeltileri ve numunenin çözüldüğü çözücü kullanıldı. Bulunan absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek SC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.4 Toplam Fenolik Madde Tayini (TPC)

Numunelerde teşhis edilen fenolik maddelerin tayin yönteminin başlıca nedeni Folin Ciocalteu reaktifi ile renkli kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır (Singleton ve Rossi, 1965; Singleton, 1999). Arı ürünlerinde toplam fenolik madde tayini ölçümünde çok sıklıkla tercih edilen yöntemdir. Reaksiyon sonunda oluşan koyu mavi renkli kompleks 760 nm’de maksimum absorbans oluşturur. Ölçülen absorbans değeri fenolik madde miktarı ile doğru orantılıdır.

Standart grafiğin hazırlanmasında referans olarak gallik asit fenolüğü kullanılmıştır. Gallik asit standardı 1 mg/ml konsantrasyondaki çözeltilerinden başlanılarak 0.500, 0.250, 0.125, 0.062, 0.031 ve 0.015 mg/ml’lik çalışma çözeltileri hazırlandı. Hazırlanmış olarak altı farklı konsantrasyondaki değerlerine karşılık absorbans grafiği çizildi. Standart kalibrasyon grafiğinden faydalanılarak örnek içindeki fenolik madde miktarı belirlendi. Elde edilen sonuçlarda gallik asit eşdeğeri 100 g örnek başına (mg GAE /100 g) olarak verildi.

RP-HPLC-UV ile fenolik bileşiklerin analizi

Numunelerdeki ve standartlardaki fraksiyonların belirli bileşenlerinin belirlenmesi, bir UV detektörü ile HPLC (Elite LaChrom Hitachi, Japonya) kullanılarak yapıldı. Ayırma, bir ters fazlı C18 kolonu (150 mm x 4.6 mm, 5 µm; Fortis) olan bir kolon üzerinde, 30°C’de bir gradyan solvent A (su içinde %2 AcOH) ve solvent B (70:30, asetonitril) kullanılarak gerçekleştirildi. Su karıştırmadan önce sonikasyona tabi tutuldu ve yerleşik HPLC sistemi tarafından sürekli gazdan arındırıldı. Akış hızı, gradyan programlama kullanılarak 1 ml dk⁻¹’de sabit tutuldu; Mobil fazın akışı B (%5) olarak 3. dakikada başlamış, 8, 10, 18, 25 ve 35. dakikalarda kademeli olarak %15, 20, 25, 40 ve %80’e yükselmekte ve 40 dakika sonra %5’e düşmektedir. Fenolik profil kolonda dengelenmesi için 10 dakika bırakılmadan önce Can ve Baltas (2016) tarafından tarif edildiği gibi belirlendi.

3.5 Toplam Flavonoid Madde Tayini (TFC)

Fenoliklerin bir alt grubu olan flavonoidler bitkilerde bulunan doğal antioksidan kaynaklarıdır. Yöntem Fukumoto ve Mazza (2000)'e göre yapıldı. Reaksiyon sonucunda oluşan sarı renkli kompleks 415 nm'de ölçülmesiyle toplam flavonoid madde miktarı belirlendi. Sonuçların hesaplanabilmesi için standart olarak kuersetin kullanıldı ve kalibrasyon grafiği elde için stok 1 mg/ml olarak hazırlandı. Bu stoktan seri seyreltme ile 0.500, 0.250, 0.125, 0.062, 0.031 ve 0.015 mg/ml'lik çalışma çözeltileri hazırlanıp metoda göre absorban değerleri okundu. Kuersetin konsantrasyonuna karşılık absorban grafiği çizilerek standart kalibrasyon grafiği elde edildi. Standart kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak örnek içinde bulunan toplam flavonoid miktarı hesaplandı ve sonuçlar gram örnek başına mg Kuersetin eşdeğeri (mg QE/100g) olarak verildi.

3.6 Enzim inhibisyonu

3.6.1 Üreaz Enzim İnhibisyonu

Üreaz, ürenin hidrolizini karbondioksit ve amonyağa katalize eden bir enzimdir. Üreaz enzimi inhibisyon çalışmaları, Weatherburn (1967) tarafından geliştirilen fenol-hipoklorit metodundan yararlanılarak spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Enzim substratı olan üreyi içeren, pH'sı 8.2 olan tampon ortamında enzim-substrat etkileşimi sonucu oluşan amonyum iyonu, fenol reaktifi (%1 fenol+ %0.005 sodyum nitropürisit) ve alkali reaktifi (%0.5 NaOH + %0.1 sodyum hipoklorit) ilavesiyle birlikte mavilacivert renk oluşturmaktadır. (Jack Bean üreaz) 5U/ml olacak şekilde 0.01mM pH=7.4 Na₂HPO₄ ile hazırlandı.

Yöntem enzim 200 µl ve 500 µl tampon (100 mM Üre, 1 mM EDTA, 0.01mM Na₂HPO₄, 0.01 M LiCl pH:8.2) içeren deney tüpüne 100 µl test bileşikleri (%70'lik etanolik ve sulu ekstreler) ilave edildi. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra herbir deney tüpüne 600 µl fenol reaktifi (%1 w/v fenol ve %0.005 w/v sodyum nitroprusside) ve 600 µl alkali reaktif (%0.5 w/v sodyum hidroksit ve % v/v0.1 NaOCl) ilave edildi, 50 dakika inkübasyona bırakıldı. Oluşan mavi-lacivert renkli karışım spektrofotometrik (Spectro UV-Vis Double Beam PC LAbomed Inc., Los Angeles, CA, USA) 625 nm dalga boyunda 3 tekrarlı absorbans değerleri ölçüldü (Weatherburn, 1967). Pozitif kontrol olarak üreazın yaygın olarak bilinen inhibitörü asetohidroksamik asit (AA) kullanıldı. IC₅₀ değerlerini hesaplamak için, aynı reaksiyon koşulunda elde edilen bal numunelerinin ve standartların farklı konsantrasyonları test edildi. Farklı çözücülerde hazırlanan Kestane ve Çiçek balı ekstralarının üreaz enzim üzerindeki % inhibisyon değerleri; % Inhibition= [(A_{kontrol}-A_{örnk})/(A_{kontrol})x100].

3.6.2 Glukoz-Oksidaz Aktivitesinin Tayini

Bal numunelerinde glukoz oksidaz inhibisyon aktivitesi belirlemek için yaban turpundan izole edilmiş peroksidaz enzimi ve reaktan olan *o*-dianisidin substratı kullanılmıştır (Flanjak ve ark., 2016). Yöntemin esası, bal içerisinde bulunan glukoz-oksidadın D-glukoz D-glukonolaktona oksidasyonun oluşumu ve akabinde de glukonik asit ile hidrojen peroksite (H₂O₂) dönüşümünün katalizidir. H₂O₂, ko-substrat olarak bilinen *o*-dianisidin ile suya indirgenirken oluşan renkli ürün spektrofotometre ile maksimum absorbansın ölçülmesi esasına dayanır. Yöntem, pH 6.1 100 mM sodyum fosfat tamponu içerisinde çözünen 2.14 mM 0.7 ml glukoz çözeltisi, 1 mg/ml etanolik olarak hazırlanan 0.1 ml *o*-dianisidin, pH 6.1 100 mM sodyum fosfat tamponu 60 U olarak hazırlanan 0.1 ml yaban turpu peroksidazı ve 0.2 g/ml olan 0.1 ml bal ekstraktı karıştırıldı. Daha sonra karışım 30 dk. 37°C'deki su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Bekletilme süresi sonunda 1 M hidroklorik asit çözeltisinden 0.1 ml ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı ve 400 nm'de maksimum absorbans ölçümü yapıldı. Sonuçlar µg H₂O₂/g bal'a dönüştürüldü.

3.7 UV-Vis Spektrum Ve FTIR Analizi

UV-Vis. (Ultraviyole-görünür) spektrumlar, oda sıcaklığında 200-600 nm dalga boyu aralığında Shimadzu UV-1800 spektrofotometrede kaydedildi. Numunelerin konsantrasyonu 2 mg numune/1 ml mutlak etanol olmuştur. FTIR (Fourier transform kızılötesi) spektroskopi çalışmaları Shimadzu IR Affinity-1 spektrofotometresi kullanılarak ATR (Atenuated toplam yansıma) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.8 Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktiviteler ve Antibakteriyel ve Antifungal deneyler, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve agar petri kabında disk difüzyon işlemi kullanılarak değerlendirildi. Kullanılan mikroorganizmalar (Çizelge 3.2)'de verildi.

Çizelge 3. 2 Kullanılan Bakteri ve Mantar Türleri

| Mikroorganizmalar | |
|---|---|
| <i>Bacillus subtilis</i> B209 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®13883 |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC®10876 | <i>Escherichia coli</i> ATCC®25922 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 6538 | <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC®27729 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC®7677 | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC®976 |
| <i>Micrococcus luteus</i> B1018 | <i>Candida albicans</i> ATCC®10231 |
| <i>Citrobacter freundii</i> ATCC® 43864 | <i>Aspergillus niger</i> ATCC®9642 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC®13883 | |

Tüm bakteri türleri Mueller Hinton Broth ortamında (Merck) 37°C'de 24 saat büyütüldü ve mantar türleri Sabouraud Dekstroz Broth'ta (Difco) 30°C'de 48 saat büyütüldü. 0.5 McFarland bulanıklığına sahip bakteriyel süspansiyon ve 1.0 McFarland standartlarında bulanıklığa sahip mantar süspansiyonu elde edilmiştir. % inhibisyon değerleri; % Inhibition= $[(A_{\text{kontrol}}-A_{\text{ömk}})/(A_{\text{kontrol}}) \times 100]$ formülüyle hesaplanmıştır.

3.8.1 Kirby-Bauer Disk Difüzyon Analizi

Yüklenecek her numuneden 30 µl (40 mg/ml) için steril kağıt diskler (6 mm çapında) agar üzerine yerleştirildi. Tamamı yerel bir eczaneden temin edilen mantarlar için 100 ünite Nistatin ve bakteriler için Ampisilin ve Sefazolin pozitif kontrol olarak kullanıldı. 27°C'de 48 saat inkübasyonun ardından inhibisyon zonları belirlendi.

Farklı organizma türlerinin numuneleri, farklı inhibisyon bölgeleri, antibakteriyel ve antifungal maddenin gücünü tahmin etmek için dijital bir kumpas yardımıyla sınırlandırıldı ve ardından çizelge haline getirilmiştir (Şekil 3.1).

Tüm değerlendirmeler, üçlü numuneler üzerinde gerçekleştirilmiştir. 15 mm'den düşük inhibisyon zon çapları dirençli, 15-20 mm arası inhibisyon zon çapları orta seviye antimikrobiyal aktivite, 20 mm'nin üzerindeki inhibisyon zon çapları ise duyarlı olarak değerlendirilmiştir.



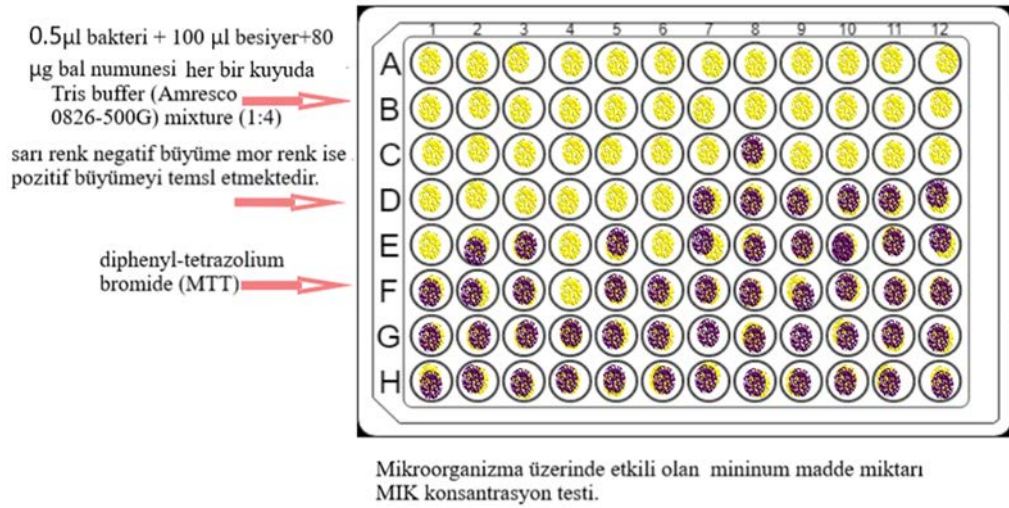
Şekil 3. 1 Kirby-Bauer Disk-Difüzyon Deneyi

3.8.2 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

MİK değerleri, mikroorganizmaların büyümesini doğru bir şekilde sınırlayan ve mikro kuyu seyreltme yöntemiyle tanımlanan en düşük dört farklı bal etanolik özüt konsantrasyonunu sembolize eder. Bal ekstraktlarının tamamı, %70 etanol ve su içinde çözülmüş ve bundan sonra, seyreltme serileri 96 kuyucuklu mikroparka (Corning) içinde düzenlenmiştir. Bir Tris tamponu (Amresco 0826-500G) karışımı (1:4) 30°C'de eşit miktarda broth çözeltisi (mantarlar için Sabouraud Dextrose broth (Oxoid) ve bakteriler için Mueller Hinton broth (Merck)) ile harmanlanmıştır. Her dört farklı bal numunesi 1000, 500, 250, 125, 62.5, 32.25, 15.625 ve 7.8125 µg/ml konsantrasyonlarında test edilmiştir. Test organizmasının bir gece boyunca inkübe edilmiş bakteri sıvı kültürü, 0.5 McFarland, mayalar için 1 McFarland standartlarının bulanıklığında hazırlandı. Çözündürmeden sonra, her kuyuya 5 µl taze düzenlenmiş 1×10^8 bakteri, 1×10^7 mantar/ml bakteri süspansiyonu aşılandı ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

Bakteriler için pozitif kontrol olarak Amoksisilin ve Sefazolin, mantarlar için 1500, 750, 375, 187.5, 93.75 46.75, 23.375 ve 11.687 µg/ml konsantrasyonlarında Nistatin, negatif kontrol olarak ise %70 etanol kullanıldı.

Daha sonra her kuyucuğa 30 µl 3-(4, 5-dimetil-tiazol-2-il)-2.5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) 0.5 mg/ml son konsantrasyonda taze su ilave edilerek eklenmiş ve 30 dakika inkübe edilmiştir. Kırmızı rengin değiştirilmesi, bakterilerin biyolojik olarak aktif olduğunu gösterdi. MİK, MTT'de hiçbir renk değişiminin izlenmediği kuyuya alındı ve MİK değerleri, üçlü analizinin ortalaması olarak verildi (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2 MİK Konsantrasyon Testi

3.9 İstatistiksel Analizler

Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Veriler, IBM SPSS istatistik sürüm 26 yazılımı kullanılarak analiz edildi (USA, 2019). Uygulanan analiz temel olarak tanımlayıcı, alt kümelere göre korelasyon analizi, parametrik ve parametrik olmayan analiz olmuştur. TPC ve antioksidan aktivite verilerinin sayısal değişkenlerinin normal olarak kabul edilebileceği tespit edildi. Bununla birlikte, homojen dağılmamıştır, bu nedenle homojenliğin yokluğunda Welch'in sağlam testini kullanıldı. Tüm test sonuçları Ortalama±SE katsayısı olarak temsil edildi. Harflerle temsil edilen istatistiksel farklılıklar, tek yönlü bir varyans analizi (ANOVA) yoluyla elde edildi. İstatistiksel olarak anlamlı olan her faktör için ortalamalar, Tamhane'nin T2 testi kullanılarak (tüm dağılımlar heteroskedastikti) $p<0.05$ ile karşılaştırıldı. Spearman sıralama korelasyonları da sunulmuştur. Antimikrobiyal aktivite testinden elde edilen veriler normal dağılmamış olarak kabul edilebilir, bu nedenle istatistiksel değerlendirme için parametrik olmayan bir test (Kruskal-Wallis) kullanıldı.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Numunelerin Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

Kara Kovan balı (H1), Çiçek balı (H2), Kestane balı (H3) ve Anzer balı (H4) ballarının temel içerik ve özelliklerini belirlemek için antioksidan, antimikrobiyal ve enzim inhibisyon deneyleri yapılarak elektiriksel iletkenlik, pH ölçümü, C₄ şeker analizi, serbest asitlik, diastaz sayısı, glikoz ve fruktoz sayısı, nem gibi parametreler değerlendirilmiştir.

Numune örnekleri için temsil edilen fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları (Çizelge 4.1)'de verilmiştir. Bal numuneleri için elde edilen veriler genellikle yasal parametre değerleri içerisinde yer alırken bazı değerler bazı numunelerde farklılık göstermektedir. Nem balların fermente olarak kısa sürede bozulmasına neden olmaktadır. Nem oranı balın toplanma zamanına, hasat yerinin coğrafik faktörlerine göre farklılık gösterdiği bilinmektedir (Oddo ve ark., 2004). Balın nem içeriği %17'den düşük ise hiç bir şekilde fermentasyon gerçekleşmemektedir (Amor, 1978; Molan, 1992; Singh and Bath 1997). Ülkemizde genellikle balın petek yüzeylerinin 1/2-2/3'ü sırlandığı zaman, yeteri kadar olgunlaşmamış balın hasat edilmesi, çok su içermesi, dolayısıyla erken kristalleşmesine ve fermantasyonuna neden olmaktadır (Doğaroğlu, 1999; Tolon 1999). Yaptığımız çalışmada nem oranı en fazla %20 olması gerekirken H4 balında bu değer %20.5 çıkmıştır. Bu da akla ilk olarak yanlış bal hasatı yapılmış olabileceğini akla getirmektedir. H1, H2, H3 bal numunelerinde ise yasal değer oranı aşılmamaktadır. Yapılan literatür taramasında buna benzer durumların rapor edildiği belirlenmiştir. Hotoman (2015) çalışmasında da Anzer balının nem içeriğinin değişken olduğu gözlenmiş ve nem içeriği %17.90-20.27 değerleri arasında bulunmuştur. Bunun dışında Bingöl, Ordu, Giresun ve Kırgısıztan gibi bölgelerden temin edilen balların nem oranının yasal parametreyi aşmadığı fakat bölgeden bölgeye farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Bilgen Çınar, 2010; Kabakçı ve ark., 2012; Ateş, 2014; Şahin, 2019).

Can ve ark., 2016'de yayınladıkları çalışmada Karadeniz bölgesinden toplanan Kestane balı örneklerinde ve yapmış olduğumuz çalışmada Kestane balının fiziksel ve kimyasal parameter analiz sonuçları birbirine oldukça yakın değerlerde elde edilmiştir. Bu çalışmada da en yüksek elektrik iletkenliği kestane balında bulunmuştur. Salgı ballarında örneğin çam ve kestane ballarında elektrik iletkenliği en az 0.8 mS/cm beklenmektedir.

Baldaki kristallenmeyi engellemek, pastörizasyonla baldaki mikroorganizmaları yok etmek amacıyla ballara ısı işlem uygulanabilmektedir. Fakat ısı işlem uygulaması, besin öğelerinin, vitaminlerin ve diastaz aktivitesinin azalmasına, HMF miktarının ise artmasına neden olabilmektedir (Bilgen Çınar 2010). H2 balında HMF değerinin çok yüksek çıkması ama buna karşılık diastaz sayısının tespit edilememesi bu numunenin uygun olmayan biçimde ısı işlemine maruz kalmış olabileceği sonucunu akla getirmektedir ve bu istenmeyen bir durumdur.

Çizelge 4. 1 Bal Numunelerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

| Özellikler | İstenilen Değerler* | NUMUNE ADI | | | |
|------------------------------------|---|------------|---------------|-------------|-------------|
| | | H1 | H2 | H3 | H4 |
| Yabancı Madde Tayini | Yabancı madde ihtiva etmemeli; koku, tat, acıcılık, renk ve görünüm bakımından grup ve tipine özgü olmalı | UYGUN | UYGUN | UYGUN | UYGUN |
| Nem Miktarı, % | En fazla % 20 | 15.5 | 15.0 | 19.0 | 20.5 |
| Serbest Asitlik, meq/kg | En fazla 50 | 31.5 | 32.5 | 21.5 | 29.5 |
| Maltoz, % | En fazla %4 | 1.76 | 1.72 | 0.69 | 1.54 |
| Sakaroza, % | En fazla %5 | 0.08 | TE | TE | TE |
| Fruktoz, % | | 36.98 | 36.63 | 37.32 | 36.23 |
| Glukoz, % | | 31.59 | 30.80 | 23.89 | 27.40 |
| Fruktoz+Glukoz, % | Çiçek balı için en az % 60 | 68.57 | 67.43 | 61.21 | 63.63 |
| | Çam balı için en az %45 | | | | |
| Fruktoz/Glukoz | Çiçek Balı için 0.9-1.4 | 1.17 | 1.19 | 1.56 | 1.32 |
| | Çam balı için 1.0-1.4 | | | | |
| Elektrik İletkenliği, mS/cm | Çiçek balı için en fazla 0.8 | 0.83 | 0.22 | 1.25 | 0.36 |
| | Çam ve kestane balı için en az 0.8 | | | | |
| Diastaz Sayısı, ds | En az 8 | 30.00 | TE | 12.00 | 40.00 |
| HMF, mg/kg | En fazla 40 | 5.30 | 123.20 | 16.00 | 5.12 |
| Delta C13 Bal | Çiçek Balı için -23 ve daha negatif | -26.40 | -26.20 | -25.90 | -25.70 |
| | Çam balı için -22.5 ve daha negatif | | | | |
| Delta C13 Protein | | -25.50 | -25.80 | -25.20 | -25.90 |
| Delta C 13 Farkı | -1.0 veya daha pozitif (çam balı hariç) | -0.90 | -0.39 | -0.69 | 0.23 |
| %C4 | En fazla %7 (çam balı hariç) | 5.42 | 2.38 | 4.26 | 1.41 |
| Polen Analizi | | Yayla | Yayla | %80 Kestane | Yayla |

* TÜRK GIDA KODEKSİ BAL TEBLİĞİ 2020/7

4.2 Antioksidan Analizleri Bulguları

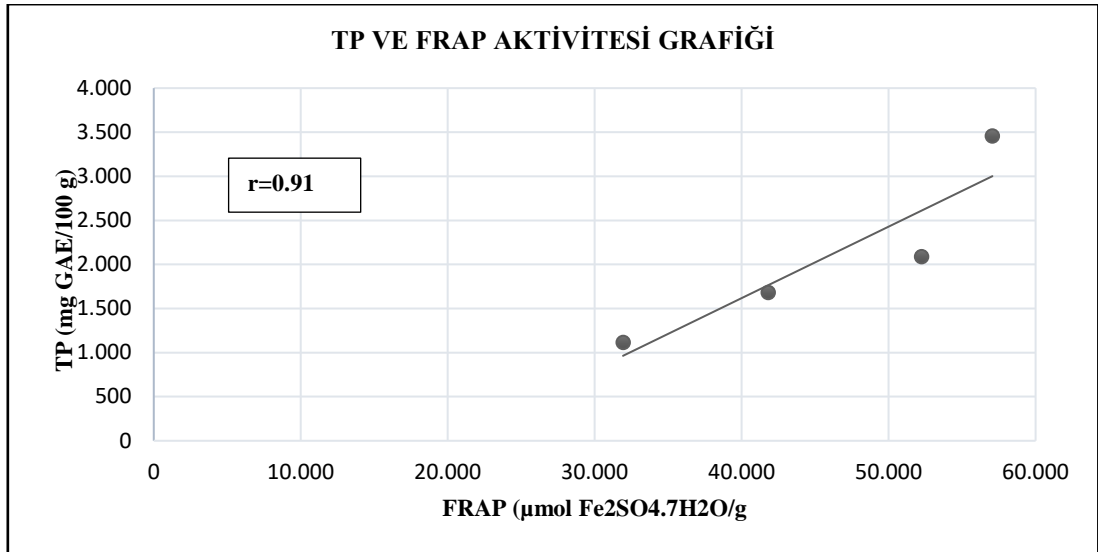
4.2.1 Numunelerin Toplam Flavonoid Madde, Toplam Fenolik Madde, Demir (III) İndirgeme Antioksidan Güç – FRAP Tayini Ve DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini Bulguları

Bitkilerin çoğu çok geniş yelpazede polifenol ve flavonoid madde içerdiği bilinmektedir. Polifenolik maddelerin içerikleri balların florasıyla ilgili olup, antioksidan, antitümoral, antimikrobiyal aktivitesi gibi birçok aktiviteden sorumludur. Bu tez çalışmasında farklı bal örnekleri bunlar H1, H2, H3, H4 temin edilmiş ve bunların etanolik ekstraktları hazırlanarak hem antioksidan kapasiteyi belirleme adına toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı, FRAP ve DPPH radikal temizleme testleri uygulandı aynı zamanda da balların fenolik profilleri aydınlatılmıştır (Çizelge 4.2). Çalışmada balların toplam fenolik içerikleri en yüksek H4 57.060 mg GAE/100 g numune olarak tespit edildi. En düşük toplam fenolik içerik ise H1 31.927 mg GAE/100 g olarak tespit edildi. Malkoç ve ark., 2019 yılında yapmış oldukları çalışmada 11 tane Anzer balı çalışılmış ve toplam fenolik madde içerikleri 19.50-38.30 mg GAE/100 g numune olarak tespit edilmiştir. Mevcut çalışmamızda ise H4 toplam fenolik madde içeriği literatüre göre yüksek bulunmuştur. Başka bir çalışmada Bayburt bölgesinden toplanan bal örneklerinde toplam fenolik madde içeriğini 21.94-76.88 mg GAE/100 g olarak belirlenmiş (Bayram ve ark., 2021). Mevcut çalışmamızda H2 toplam fenolik madde içeriği 52.237 mg GAE/100 g olarak H1 toplam fenolik madde içeriği ise 31.927 mg GAE/100 g olarak tespit edilmiştir. Literatürle kıyaslama yapıldığında küçük farklılıklar dışında uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Yıldız ver ark., (2014) yılında yapmış oldukları çalışmada Kestane balı (H3) toplam fenolik içeriğini 98 mg GAE/100 g olarak tespit edilmiştir. Mevcut çalışmamızda ise 41.811 mg GAE/100 g olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda H3 toplam fenolik madde içeriği literatüre göre düşük elde edilmiştir. Bunun sebebinin H3 balının saf Kestane balı (H3) olmadığını söyleyebiliriz. Balların toplam flavonoid madde miktarı H3 ve H4 tespit edilmiştir. Diğer iki balda ise toplam flavonoid tespit edilememiştir.

Çizelge 4. 2 Bal Örneklerinin Toplam Fenolik (TP), Toplam Flavonoid (TF) İçerik ve Antioksidan Aktivite Sonuçları

| Numuneler | TP (mg GAE/100 g numune) | TF (mg QE/g numune) | FRAP ($\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ numune) | DPPH SC_{50} mg/mL |
|----------------|--------------------------|---------------------|--|-----------------------------|
| H1 | 31.927 \pm 2.593 | - | 1.116 \pm 0.001 | 62.516 \pm 0.001 |
| H2 | 52.237 \pm 0.687 | - | 2.087 \pm 0.112 | 32.746 \pm 0.001 |
| H3 | 41.811 \pm 1.005 | 0.021 \pm 0.001 | 1.680 \pm 0.083 | 38.204 \pm 0.001 |
| H4 | 57.060 \pm 2.089 | 0.005 \pm 0.001 | 3.458 \pm 0.135 | 20.226 \pm 0.001 |
| Troloks | | | | 0.004 \pm 0.000 |

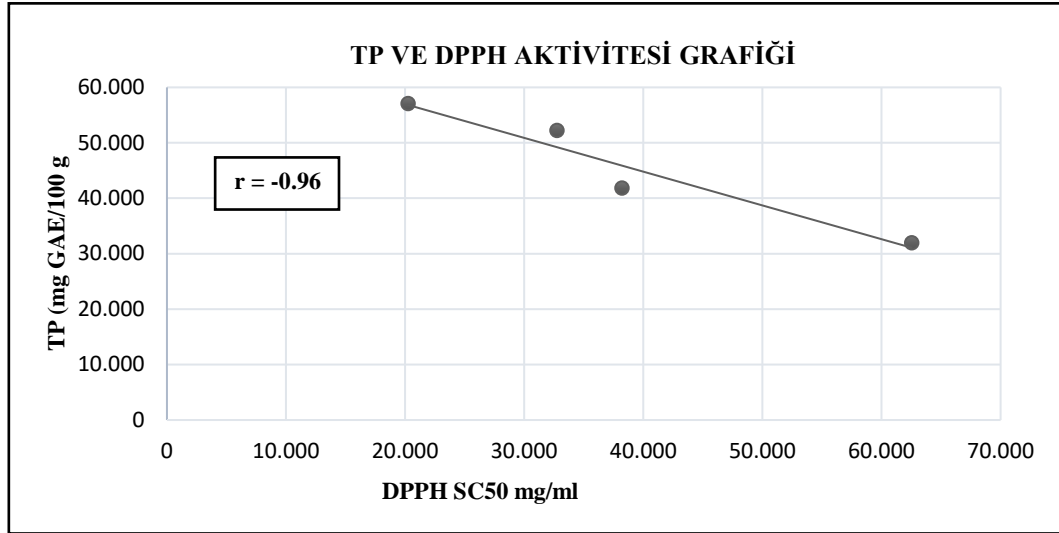
Balın antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde çok sayıda yöntemler olup, bunlar arasında en yaygın kullanılan ve tercih edilen FRAP metodudur. Balların FRAP sonuçları 1.116- 3.458 $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ arasında değişim göstermektedir. Çalışmada en yüksek FRAP değeri H4 balında tespit edilmiştir. H4 toplam fenolik madde içeriğinin yüksek çıkması antioksidan aktivitesi ile doğru orantılı ve güçlü pozitif yönde ilişki olduğunu yapmış olduğumuz korelasyon grafiği ile söyleyebiliriz (Şekil 4.1).



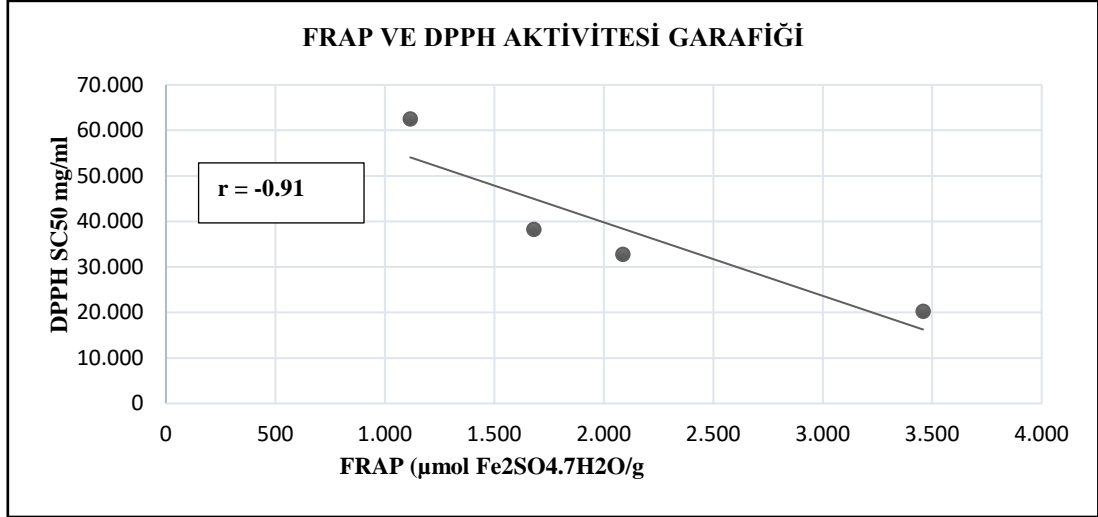
Şekil 4. 1 Toplam Fenolik İçerik ve FRAP değerleri Korelasyon Grafiği

Bal örneklerinde radikal temizle aktivitesi olarak DPPH testi yapıldı ve SC_{50} değerleri 20.226-62.516 mg/ml aralığında olacak şekilde tespit edildi. En yüksek DPPH değeri H4 tespit edildi. Malkoç ve ark., (2019) 11 tane Anzer balı (H4) örneğinde antioksidan aktivite bakılmıştır. Balların DPPH sonuçları 35.10- 64.12 mg/ml olarak tespit edildi. Çalışmamızda H4 20.226 mg/ml olarak tespit edilmiştir.

Kolaylı ve ark. (2008), yapmış oldukları çalışmada farklı bal örneklerinin antioksidan aktiviteleri karşılaştırmışlar ve en yüksek DPPH aktiviteyi Kestane balı (H3) örneklerinde tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da H3 örneğinin DPPH aktivitesi 38.204 mg/ml olarak tespit edildi. Toplam fenolik içerik (TP) ile DPPH aktivitesi bulguları çalışmamızda karşılaştırılarak aralarında negatif yönde güçlü korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Bununla birlikte çalışmamızda FRAP ve DPPH aktivite bulguları karşılaştırılarak aralarında negatif yönde güçlü korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Ballardaki antioksidan aktivite balın içeriğindeki fenolik profilinden kaynaklanmaktadır (Can ve ark., 2016). Çalışmada balların fenolik profili RP-HPLC-UV ile aydınlatılmıştır. H3 p-kumarik asit majör bileşen olarak belirlendi. H4 kafeik asit ve şiringik asit majör bileşen olarak tespit edildi.



Şekil 4. 2 Toplam Fenolik İçerik ve DPPH Aktivitesi Korelasyon Grafiği



Şekil 4. 3 FRAP değerleri ve DPPH Aktivitesinin Korelasyon Grafiği

Balların antioksidan özelliklerinden sorumlu bileşenlerin başında fenolik bileşikler yer almaktadır (Silici ve ark. 2010; Santos ve ark., 2017). Çalışmada 25 farklı fenolik bileşen standardı kullanarak RP-HPLC-UV ile 280 ve 315 nm dedeksiyonlarında analizler yapıldı. Andrade ve ark. (1997) kapiler zon elektroforez tekniği kullanılarak Kestane balı (H3) fenolik açısından oldukça zengin olup, p-OH benzoik asit, protokatekuik asit, klorenjenik asit, kafeik asit, şiringik asit, p-kumarik asit, sinamik ve ferulik asit içerdiğini tespit etmiştir. Mevcut çalışmamızda da H3 klorenjenik asit, p-kumarik asit bileşeni tespit edildi. Malkoç ve ark. (2019) yapmış oldukları çalışmada H4 fenolik bileşenleri belirlenmiş değişik oranlarda tespit edilmiş mevcut çalışmamızdaki sonuçlar ile uyum içinde olduğu tespit edildi.

Çalışmada bal örneklerinin fenolik içerikleri de incelenmiştir. Çizelge 4.3'de de görüldüğü üzere bal, doğal olarak antioksidan görevi gördüğü bilinen bir dizi bileşen içermektedir. Bazı örnekler kumarik asit, ferulik asit, sinamik asit, kafeik asit, şiringik asit ve diğer fenolik bileşikleri içerdiği belirlenmiştir.

H1 balının *p*-OH Benzoik Asit, Syringic Asit, Hesperidin, krizin ve Pinocembrin içerdiği, H2 balının ise araştırılan yirmibeş standard fenolik bileşikten yalnızca *p*-OH Benzoik Asit ve Hesperidin içerdiği belirlenmiştir. H3 ve H4 nolu ballarda çalışılan diğer ballarda bulunmayan Klorojenik Asit tespit edilmişken, tam tersi olarak *p*-OH Benzoik Asit tespit edilememiştir. *p*-Kumarik Asit yalnızca H3 balında, kafeik asit ise yalnızca H4 balında tespit edilmiştir.

Ayvaz ve ark., 2018'de yayınladıkları çalışmada; Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinden toplanan kestane ballarının çoğunda HPLC ile analiz edilerek saptanan fenolikler Kumarik asit ve *t*-sinnamik asit iken, hiçbir bal örneğinde Luteolin ve Epicatechin saptanmadığını rapor etmişlerdir. Bu sonuç çalışmamızla kısmen örtüşmektedir. Kestane balı olan H3 nolu bal numunesinde Kumarik asit saptanmış, Luteolin, Epicatechin ve bu çalışmadan farklı olarak *t*-Sinnamik Asit saptanmamıştır.

Can ve ark., 2016'da yayınladıkları çalışmada Karadeniz Bölgesinden toplanan kestane ballarında Klorojenik Asit tespit etmemişken, Kumarik asit çok daha düşük oranda tespit edilmiştir (5.52 µg fenolik/mg).

Çizelge 4. 3 Bal örneklerinin fenolik içerikleri (μg fenolik/mg örnek cinsinden verilmiştir.)

| Standartlar | H1 | H2 | H3 | H4 |
|---------------------------|------|------|-------|------|
| Gallik Asit | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Protocatechuic Asit | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Klorojenik Asit | N.D. | N.D. | 2.65 | 1.21 |
| <i>p</i> -OH Benzoik Asit | 0.50 | 0.70 | N.D. | N.D. |
| Epicatechin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Kafeik Asit | N.D. | N.D. | N.D. | 3.00 |
| Syringic Asit | 0.64 | N.D. | N.D. | 1.10 |
| <i>m</i> -OH Benzoic Acid | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Rutin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Ellagic Asit | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| <i>p</i> -Kumarik Asit | N.D. | N.D. | 19.45 | N.D. |
| Ferulik Asit | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Myricetin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Resveratrol | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Daidzein | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Luteolin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Quercetin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| <i>t</i> -Sinamik Asit | N.D. | N.D. | N.D. | 0.54 |
| Apigenin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Hesperidin | 0.72 | 0.71 | N.D. | N.D. |
| Rhamnetin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Krizin | 1.24 | N.D. | N.D. | 0.11 |
| Pinocembrin | 0.87 | N.D. | N.D. | N.D. |
| CAPE | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Curcumin | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |

N.D. tespit edilmedi

4.3 Enzim inhibisyonu

4.3.1 Üreaz Enzim İnhibisyonu ve Glukoz-Oksidaz Aktivite Bulguları

Peptik ülser günümüzde çok yaygın olan hastalıklardan biridir. *H. pylori* midedeki mukus tabakası içerisinde bulunmaktadır. *H. pylori* üreaz enzimi salgılayarak üreyi amonyağa dönüştürür ve ürettiği amonyak ile kendini mide asidinin etkisinden korur (Sökmen ve ark., 2016).

Üreaz enziminden kaynaklı oluşan hastalıkların önüne geçmek için doğal inhibitörler üzerine birçok çalışma yapılmaktadır (Onado ve ark., 1990). Mevcut çalışmamızda bal örneklerinde in vitro koşullarda üreaz enzim inhibisyonu incelendi (Çizelge 4.4). Balların inhibisyon potansiyelleri için hesaplanan SC_{50} değerleri 0.026-0.028 g/ml arasında değişim göstermektedir. Balların antioksidan aktivitesi ile üreaz enzimi arasında doğrusal bir ilişkiden söz edebiliriz. DPPH aktivitesi yüksek olan ballarda üreaz enzim inhibisyonunun da daha etkili olduğu tespit edildi.

Hotoman, 2015 yapmış olduğu çalışmada Anzer balı (H4) için üreaz enzimi inhibisyon sonuçlarını 20.61-23-81 mg/ml olarak bulunmuştur. Mevcut çalışmamızdaki H4 sonuçları ile literatürdeki çalışmanın uyum içinde olduğu tespit edildi. Balın içeriğinde yer alan miktar ve çeşitlilik olarak çok fazla tespit edilemeyen enzimler, biyoçeşitlilikte tüm enzimler gibi çeşitli görevleri bulunmaktadır. Balda bulunan enzimler invertaz, diastaz, glukoz oksidaz enzimleri başlıca enzimler olup, bitki kaynağına bağlı olarak balda farklı oranlarda bulunmaktadır (White, 1975; Ömür, 2015; Şahin ve ark., 2020). Çalışmadaki örneklerde glukoz-oksidadz aktivitesi testi yapılmış olup ballarda 0.700- 11.010 $\mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{g}$ ham bal olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). En yüksek glukoz-oksidadz aktivitesi H4 kodlu bal numunesinde tespit edilmiştir. Şahin ve ark., (2020) yılında yapmış oldukları çalışmada bazı ham bal örnekleri ve çiçek ballarında glukoz-oksidadz aktivitelerini değerlendirilmiş ve en yüksek aktiviteyi çiçek balında 11.207 $\mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{g}$ olarak tespit edilmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da H2 kodlu numunenin glukoz-oksidadz aktivitesi yakın değerde bulunmuştur. Flanjak ve ark., (2016) 45 tane bal örneğinde glukoz-oksidadz aktivitelerini incelenmiş ve sonuçları 40.3-347.7 $\mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{g}$ balı olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen bu değerler mevcut çalışmamızın sonuçlarından daha yüksektir.

Çizelge 4. 4 Bal Örneklerinin Üreaz Enzimi İnhibisyonu ve Glikoz-Oksidadz Aktivite Bulguları

| Numuneler | Üreaz-IC ₅₀ (g/mL) | Glikoz-Oksidadz $\mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{g}$ bal |
|---------------------------|-------------------------------|--|
| H1 | 0.028±0.001 | 0.700±0.200 |
| H2 | 0.026±0.001 | 11.010±0.100 |
| H3 | 0.026±0.001 | 8.820±0.700 |
| H4 | 0.026±0.001 | 1.917±0.100 |
| Thiourea $\mu\text{g/mL}$ | 15.09±0.001 | |

4.4 Numunelerin UV-Vis Spektrum ve FTIR Deneylerinin Bulguları

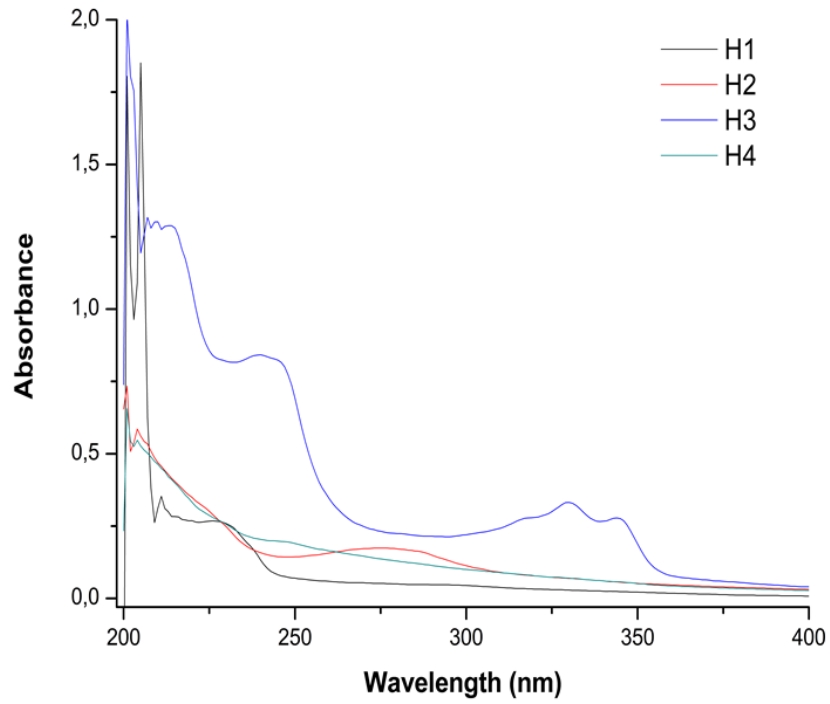
Numunelerin UV-Vis spektrumları, numuneler arasında bazı dikkate değer benzerlikler ve farklılıklar göstermiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.4). Bulgularımızı üç gruba ayırabiliriz. İlk olarak, tüm numunelerde 201-209 nm dalga boyu aralığında orta ila yüksek yoğunluklu bantlar, aromatik sisteme ve $>\text{C}=\text{C}<$, $-\text{C}\equiv\text{C}-$ ve $>\text{C}=\text{X}$ (X:O, S, N) grupları taşıyan yapılara karşılık gelir.

İkinci olarak, H1, H2 ve H4 örnekleri için 220 ile 275 nm arasındaki bantlar, $>C=X$ (X: O, S, N) yapısı $n-\pi^*$ geçişlerinden kaynaklanabilir. Son olarak, H3 örneğinin 330 ve 340 nm'sindeki bantlar, konjuge sistemlerin $\pi-\pi^*$ ve $n-\pi^*$ geçişlerine karşılık gelir (Renuka ve ark, 2016).

Çizelge 4. 5 Bal Örneklerinin UV-Vis. Absorpsiyon Bantları (H1-H4)

| Numuneler | λ_{max} (nm) | Absorbans |
|-----------|-----------------------------------|--|
| H1 | 201, 205, 211, 226 | 1.805, 1.851, 0.353, 0.268 |
| H2 | 201, 204, 207, 274 | 0.734, 0.586, 0.534, 0.174 |
| H3 | 201, 207, 209, 214, 240, 330, 344 | 2.02, 1.317, 1.301, 1.288, 0.842, 0.332, 0.278 |
| H4 | 201, 204, 244 | 0.656, 0.547, 0.199 |

¹ λ_{max} : Maksimum absorpsiyonda dalga boyu değeri



Şekil 4. 4 Bal Örneklerinin UV-Vis. Spektrumları (H1-H4)

Bal kimyasal bileşimine bakıldığında başlıca şekerler (%70-80), su (%10-20) ve enzimler, mineraller, proteinler gibi 200'den fazla farklı amino asitler, organik asitler, vitaminler, fenolikler, flavonoidler, lipidler ve bazı uçucu bileşikler gibi minör bileşenden oluşan viskoz bir sıvı olarak kabul edilebilir. Spektrel bulgularımız bu kimyasal profili doğrulamaktadır. FTIR ve UV-Vis. spektrumları, balın küçük bileşenlerinin fonksiyonel grupları için karşılık gelen bantları ortaya çıkardı. H1-H4 ballarına ait UV-Vis. spektrumları, örnekler arasındaki farklılıkları FTIR verilerinden daha iyi ortaya çıkardı. Farklı bal türleri için benzer IR spektrel sonuçları elde edilse de balın çok karmaşık bir besin matrisi olduğunu bilinmektedir. Baldaki moleküler yapıların belirteçleri ve konsantrasyonları birçok faktöre bağlıdır. Bu faktörler temel olarak bitkilerin botanik ve coğrafi kökeni ile mevsimsel ve iklim koşulları, arı türleri ve toprak özellikleridir (Parri ve ark., 2020). H3 ve H4 kodlu bal numuneleri peptit >C=O gerilmesi göstermedi. Bunun nedeni, bu numunelerdeki amino asitlerin ve/veya proteinlerin düşük içeriği olabilir.

Çizelge 4. 6 Örneklerinin FTIR Spektrum Atamaları (H1-H4)

| Functional group/ Vibration mode ¹ | H1 | H2 | H3 | H4 |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| O-H and/or N-H stretching | 3387, 3325, 325 (s) | 3317 (s) | 3278 (s) | 3217 (s) |
| Aliphatic C-H stretching | 2916, 2846 (s) | 2916, 2846 (s) | 2931, 2877 (m) | 2931, 2877 (w) |
| Aromatic =C-H overtone and combination bands of out of plane bending | 1797-1998 (w) | 1797-2021 (w) | 1805-2005 (w) | 1797-1990 (w) |
| C=O stretching | 1735 (m) | 1735 (m) | 1735 (w) | 1743 (w) |
| C=O stretching of peptide bond | 1697 (w) | 1705 (w) | - | - |
| C=C stretching | 1651 (w) | 1651 (w) | 1643 (m) | 1643 (m) |
| Aliphatic C-H in-plane asymmetric bending | 1465, 1373 (m) | 1465, 1373(m) | 1419, 1342 (m) | 1419, 1342 (m) |
| C-N stretching | 1157 (s) | 1165 (m) | 1149 (m) | 1141 (m) |
| C-O stretching | 1049, 1010 (s) | 1056, 1033 (s) | 1033 (s) | 1026, 1049 (s) |
| Aromatic =C-H out of plane bending | 771 (m), 726 (s) | 779 (m), 717 (s) | 779 (m), 694 (s) | 771 (m), 686 (s) |

¹Karşılık gelen değerler dalga sayısıdır (cm-1); Tepe yoğunlukları s: güçlü, m: orta, w: zayıf kısaltmalarıyla işaretlenmiştir.

4.5 Antimikrobiyal Aktivite

4.5.1 Numunelerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) ve Kirby-Bauer Disk Diffüzyon Bulguları

Kirby-Bauer Disk difüzyon testinden elde edilen inhibisyon zon çapı sonuçları SPSS paket programında analiz edildiğinde, inhibisyon zon çaplarının normal dağılım gösterdiği ancak homojen olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu sebeple grupları karşılaştırmak için Dunnett C testi kullanılmıştır ($\alpha=0.05$). Bağımsız örneklem t teste göre deney grubu ve kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktur $t(df)=1.962$ $p=0.055$ (H_0 kabul gruplar arası fark yok.). Bununla birlikte, veriler homojen dağılmamıştır, bu nedenle balların antimikrobiyal aktivitelerini karşılaştırmak için Welch testi kullanıldı. Tüm test sonuçları Ortalama \pm SE katsayısı olarak temsil edildi. Harflerle temsil edilen istatistiksel farklılıklar, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile elde edildi. Yapılan bu çalışmada elde edilen bulgulara göre *Bacillus subtilis* B209 bakterisine karşı H1, H2 ve H3 ballarının hiçbir bir etki göstermediği, çalışmamızda kullanılan diğer bal örneği olan H4 balının ise yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Ancak bu etkinin kontrol antibiyotiği olan Ampicillin ve Sefazolin'e kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. H1 H2 ve H3 balları için MİK değeri $20 \leq \mu\text{g/ml}$ ve H4 bal örneğinin MİK değerlerinin ise $2.5 \leq \mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır. *B. cereus* ATCC®10876 bakterisine karşı çalışılan balların hiçbirinin antibakteriyel etki göstermediği tespit edilmiştir. Bu bakteriye karşı kontrol antibiyotiği olan Ampicillin ve Sefazolin'de yüksek bir etki göstermiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC®6538 bakterisine karşı tüm bal örnekleri farklı derecelerde etki göstermiştir. *S. aureus* H3 balına dirençli iken (10.83 ± 0.24 mm) H2 balına 20.33 ± 0.74 mm'lik inhibisyon zon çapıyla duyarlı olmadığı söylenebilir. H1 ve H4 balı birbirine yakın inhibisyon zon çapları vererek orta seviyede antibakteriyel etki göstermiştir (17.68 ± 0.73 mm, 16.59 ± 0.98) fakat bu inhibisyon zon çapının kontrol antibiyotiği olan Ampicillin ve Sefazolin'e kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir.

H3, H4 ve H1 ballarının MİK değerleri sırasıyla $10 \leq \mu\text{g/ml}$, $5 \leq \mu\text{g/ml}$ ve $5 \leq \mu\text{g/ml}$ ve H2 bal örneğinin MİK değerlerinin ise $2.5 \leq \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. H1 ve H3 *Listeria monocytogenes* ATCC®7677 türüne karşı orta seviyede antibakteriyel etki gösterirken H2 ve H4 ballarının aynı türe karşı dirençli olduğu söylenebilir. H2 ve H4 MİK değerleri sırasıyla $10 \leq \mu\text{g/ml}$, $40 \leq \mu\text{g/ml}$ iken H2 ve H1 bal örneklerinin MİK değerlerinin $5 \leq \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. *Micrococcus luteus* B1018 bakterisitüm bal örneklerine karşı direnç göstermiştir. H1, H2 ve H3 balları için MİK değeri $20 \leq \mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanırken, H4 balında MİK değerlerinin ise $10 \leq \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. *Citrobacter freundii* ATCC®43864 türüne karşı antibakteriyel aktivite gösteren bal örneklerinin tümüne bakıldığında H4 balının en yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu (25.67 ± 0.98 mm) ve bu aktivitenin kontrol antibiyotiği ile kıyaslandığında oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Aynı şekilde bu bakteriye benzer şekilde H1 balının da yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. MİK değerleri incelendiğinde H1, H2 ve H3 sırasıyla $2.5 \leq \mu\text{g/ml}$, $20 \leq \mu\text{g/ml}$ ve $2.5 \leq \mu\text{g/ml}$ ve H4 örneğinin değerinin ise $1.25 \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883 bakterisine karşı test edilen balların tümünün antimikrobiyal etkisi yok denecek kadar azdır. *K. pneumoniae* bakterisi çalışmadaki tüm bal örneklerine direnç göstermiştir. Tüm bal örneklerinin MİK değerlerinin $20 \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®13883 bakterisine karşı tüm bal örnekleri orta derecede etki göstermiştir. İnhibisyon zon çaplarının birbirine çok yakın olduğu tespit edildi. MİK değerlerinin tüm ballar için $2.5 \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. *Escherichia coli* ATCC®25922 bakterisine karşı tüm ballar orta düzeyde antibakteriyel etki göstermiş, kontrol antibiyotiklerine kıyasla daha düşük aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. H1, H2 ve H3 balları için MİK değerlerinin $20 \leq \mu\text{g/ml}$, fakat H4 bal örneğinin MİK değerlerinin ise $10 \leq \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729'ya karşı hiçbir bal örneğinin antimikrobiyal etki göstermediği tespit edildi. H1 balı *Saccharomyces cerevisiae* ATCC®976, *Candida albicans* ATCC®10231 ve *Aspergillus niger* ATCC®9642 maya ve fungus mikroorganizmalarına antimikrobiyal aktivite göstermezken karşı H3 ve H4 balı sadece *C. albicans* ATCC®10231 mayasına karşı dirençli kabul edilebilecek seviyede antimikrobiyal etki göstermiş ancak kontrol antibiyotiğine kıyasla daha düşük aktiviteye sahip oldukları da görülmüştür.

Balların *C. albicans* ATCC®10231 mayasına karşı MİK değerlerinin H1, için $40 \leq \mu\text{g/ml}$, H2, H3 ve H4 için $20 \leq \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. *Aspergillus niger* ATCC®9642 üzerine hiçbir bal inhibisyon zon çapı oluşturamamıştır. MİK değerinin ise $40 \leq \mu\text{g/ml}$ olduğu görülmüştür. Çalışmada kullanılan bal numunelerinin antibakteriyel özelliğin bakterilerin gram özellikleri ile arasında belirgin bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Gram pozitif bakteriler arasında *S. aureus* ATCC®6538 ve *B. subtilis* B209 üzerinde ortalama olarak ballar en iyi antibakteriyel etkiyi gösterirken, bir diğer gram pozitif bakteri olan *B. cereus* ATCC®10876 üzerine aynı şekilde ortalama olarak ballar en az etkiyi göstermiştir. Bununla beraber, çalışmada yer alan Gram negatif bakteriler üzerinde de ortalama olarak en çok etkilenen bakterimiz *C. freundii* ve *P. aeruginosa* olurken en az ortalama etki *Y. enterocolitica* üzerinde ve en küçük inhibisyon zonu olmuştur. H1, H2, H3, H4 bal örneklerinin en yüksek inhibisyon zon çapı oluşturduğu mikroorganizmalar, istatistiksel olarak birbirleri içinde kıyaslandığında (H4–*B. subtilis*, H2–*S. aureus*, H4–*C. freundii*, H3–*L. monocytogenes*; *Y. enterocolitica* ve *B. cereus*,'nin en dirençli mikroorganizmalar olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan ballardan multifloral bal haricinde, antimikrobiyal etkinin sırasıyla bakteri > maya > küf olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Çoğu bitki çok sayıda polifenol ve flavonoid içerir ve her bitki farklı bir profile sahip olma eğilimindedir. Polifenolik maddelerin konsantrasyonu ve türü, balın çiçek kökenine bağlıdır ve antioksidan, antimikrobiyal, antiviral ve antikanser aktiviteleri içeren biyolojik aktivitelerden sorumlu ana faktörlerdir (Al-Mamary ve ark., 2002).

Bitkilerde birçok farklı antioksidan bulunur ve ölçülmesi çok zordur. Radwan ve ark., 1984 dört otantik bal örneğinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Yapılan bu çalışmada çalışılan bal örneklerinin *E. coli*'ye karşı etkili olduğu rapor edilmiştir (Radwan ve ark., 1984). *S. aureus* ATCC 6538 bakterisine karşı tüm bal örnekleri farklı derecelerde etki göstermiştir. Yaptığımız çalışmada da denediğimiz bal örneklerinin aynı bakteriye karşı antibakteriyel etkisinin olduğu görülmüştür (Aksoy ve Dığrak, 2006). Bir diğer çalışmada (Küçük ve ark., 2007), Doğu Karadeniz bölgesine ait kestane balının *S. aureus*'a karşı etkisinin araştırıldığı çalışmada balın suşa etkili olduğu bildirilmiştir, çalışmamızda da bu suşa karşı H2 balının etkili olduğu, H3 balının etkili olmadığı gözlenmiştir.

Efem ve ark., (1992), yaptıkları araştırmada balın *S. aureus*'a karşı etkili olduğunu bulmuşlardır. Yapılan bir başka çalışmadaki farklılık ve benzerlikler bal örneklerinin lokalitelerinin farklılıklarından dolayısıyla da fitokimyasal faktörlerden kaynaklandığı söylenebilir. Çalışmada kullanılan tüm bal rnekleri *P. aeruginosa* bakterisine karşı farklı konsantrasyonlarda etkili olmuştur. *P. aeruginosa*' ya karşı antibakteriyel aktivite gösteren bal örneklerinin tümüne bakıldığında iek balının (H2) en yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Sonuçlar, Ayvaz 2017'de bal numunelerinin benzer FTIR spektrumlarına sahip olmasına rağmen, tüm numunelerin değişen kimyasal bileşimlere karşılık gelen bazı kk benzerlikler ve farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Spektral bulgular bal örneklerinin zengin bir kimyasal bileşime sahip olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4. 7 Dört Farklı Bal Numunesinin Bakteriler ve Funguslar Üzerinde Yaptığı Antimikrobiyal Etki Disk Difüzyon Yöntemiyle Oluşan İnhibisyon Zonları (mm) ve MİK Değerleri (mg/ml)

| Mikroorganizmalar | | H1 | H2 | H3 | H4 | Ampicillin | Cephazolin | Nystatin | Ortalama |
|---------------------------------|---------------|--------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------|-------------|----------|------------------|
| | | | | | | | | | ^a |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Disk difüzyon | 9.98±0.85 | 10.62±0.52 | 10.73±0.54 | 23.89±0.354 | 33.86±0.7 | 34.67±0.99 | NT | 14±0.98 |
| | (MİK; µg/ml) | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 2.5≤ µg/ ml | 3 | | | |
| <i>Bacillus cereus</i> | Disk difüzyon | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 23.58±0.0 | 26.43±0.053 | NT | 6.00±0.00 |
| | (MİK; µg/ml) | 80≤ µg/ ml | 80≤ µg/ ml | 40≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 54 | | | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Disk difüzyon | 17.68±0.73 | 20.33±0.74 | 10.83±0.24 | 16.59±0.98 | 12.76±0.6 | 6.00±0.00 | NT | 16.75±0.8 |
| | (MİK; µg/ml) | 5≤ µg/ ml | 2.5≤ µg/ ml | 10≤ µg/ ml | 5≤ µg/ ml | 2 | | | 3 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Disk difüzyon | 16.92±0.82 | 7.48±0.88 | 17.53±0.92 | 6.00±0.00 | 27.34 | 30.34±0.83 | NT | 12.25±0.8 |
| | (MİK; µg/ml) | 5≤ µg/ ml | 10≤ µg/ ml | 5≤ µg/ ml | 80≤ µg/ ml | ±0.54 | | | 5 |
| <i>Micrococcus luteus</i> | Disk difüzyon | 13.34±0.54 | 10.86±.73 | 13.32±.72 | 14.82±.67 | 6.00±0.00 | 35.67±0.98 | NT | 13.50±0.8 |
| | (MİK; µg/ml) | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 10≤ µg/ ml | | | | 8 |
| <i>Citrobacter freundii</i> | Disk difüzyon | 20.58±0.83 | 13.78±.61 | 18.45±0.42 | 25.67±0.98 | 15.89±0.3 | 16.11±0.34 | NT | 20.43±0.4 |
| | (MİK; µg/ml) | 2.5≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 2.5≤ µg/ ml | 1.25µg/ ml | 6 | | | 3 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Disk difüzyon | 12.56±0.23 | 10.49±0.67 | 10.99±0.65 | 9.99±0.87 | 14.24±0.8 | 16.27±0.74 | NT | 11.25±.62 |
| | (MİK; µg/ml) | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ml | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 4 | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Disk difüzyon | 17.86±0.63 | 17.26±0.36 | 18.82±0.49 | 17.38±0.87 | 30.45±0.2 | 25.24±0.56 | NT | 18.25±.61 |
| | (MİK; µg/ml) | 2.5≤ µg/ ml | 2.5≤ µg/ ml | 2.5≤ µg/ ml | 2.5≤ µg/ ml | 3 | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | Disk difüzyon | 13.39±0.67 | 12.84±0.62 | 13.54±0.63 | 14.83±0.13 | 22.00±0.2 | 17.00±0.00 | NT | 14.87±0.4 |
| | (MİK; µg/ml) | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 10≤ µg/ ml | 3 | | | 3 |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Disk difüzyon | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 25.54±0.7 | 24.65±0.92 | NT | 6.00±0.00 |
| | (MİK; µg/ml) | 40≤ µg/ ml | 40≤ µg/ ml | 40≤ µg/ ml | 40≤ µg/ ml | 3 | | | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Disk difüzyon | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 10.43±0.32 | 6.00±0.00 | NT | NT | 17.57±0 | 7.25±0.13 |
| | (MİK; µg/ml) | 40≤ µg/ml | 40≤ µg/ ml | 20≤ µg / ml | 40≤ µg/ ml | | | .32 | |
| <i>Candida albicans</i> | Disk difüzyon | 6.00±0.00 | 11.84±0.64 | 11.52±0.58 | 11.28±0.49 | NT | NT | 17.87±0 | 10.50±0.4 |
| | (MİK; µg/ml) | 40≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | 20≤ µg/ ml | | | .32 | 5 |
| <i>Aspergillus niger</i> | Disk difüzyon | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | 6.00±0.00 | NT | NT | 17.90±0 | 6.00±0.00 |
| | (MİK; µg/ml) | 40≤ µg/ ml | 40≤ µg/ ml | 40≤ µg/ ml | 40≤ µg/ ml | | | .32 | |
| Ortalama | | 11.92±0.64 | 10.07±0.62 | 12.15±.72 | 12.84±0.98 | | | | |

-:İnhibisyon yok, NT: Test edilmedi, *Listeria monocytogenes* ATCC®7677, *Bacillus subtilis* B209, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC®10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Citrobacter freundii* ATCC® 43864, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 976, *Candida albicans* ATCC®10231, *Aspergillus niger* ATCC®9642, *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729, *Micrococcus luteus* B1018

5. SONUÇ

Sonuç olarak, bal örneklerinin spektral bulguları, zengin kimyasal içeriği ve besin profilini onaylar niteliktedir. UV-Vis. ve FTIR spektrumları, botanik, coğrafi, mevsimsel ve iklimsel koşullar ve arı türleri nedeniyle örnekler arasında dikkate değer benzerlikler ve farklılıklar göstermektedir.

Kestane balının diğer ballara nazaran daha yüksek elektriksel iletkenliğe sahip olduğu, Anzer balının ise biyoaktif bileşenlerce zengin bir bal olduğu söylenebilir.

Balın gerçek kalitesinin bal kodeksi verileriyle tam olarak açıklanamayacağı söylenebilir. Son olarak, balın fizikokimyasal ve biyolojik olarak aktif özellikleri, üretildiği floradan ve coğrafi varyasyonlardan etkilendiği bu çalışmanın verileriyle de ortaya konmuştur.

6.KAYNAKLAR

- Abdel-Latif & MM. (2015). Chemoprevention of gastrointestinal cancers by natural honey. *World Journal Pharmacology* 4(1), 160-167.
- Acquarone, C., Buera, P. & Elizalde, B. (2007). Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry*, 101(2), 695-703.
- Al-Habori, M., Al-Meerı, A. & Al-Mamary, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22, 1041-1047.
- Ajibola, A., Chamunorwa, J.P. & Erlwanger, KH. (2012). Nutra ceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition and Metabolism*, 9(61), 1-13.
- Aksoy, Z. & Dığrak, M. (2006). Bingöl Yöresinde Toplanan Bal ve Propolisin Antimikrobiyal Etkisi Üzerinde invitro Araştırmalar, *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 18(4), 471-478.
- Akyüz, E., Şahin, H., Islamoglu, F., Kolaylı, S. & Sandra, P. (2014). Evaluation of phenolic compounds in *Tilia rubra* subsp. *caucasica* by HPLC-UV and HPLC-UV-MS/MS. *International journal of food properties*, 17(2), 331-343.
- Al-Mamary, M., Al-meerı, A. & Al-haborı, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr. Res.* 22,1041–1047.
- Aljadi, AM. & Kamaruddin, MV. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Cemistry*, 85, 513-518.

- Alvarez-Suarez, JM., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 15-23.
- Alzahrani, H.A., Alsabehi, R., Boukraâ, L., Abdellah, F., Bellik, Y. & Bakhotmah, BA. (2012). Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules*, 17(9), 10540-10549.
- Andrade P., Federico Ferreres F., Gilb M.I. & Tomás-Barberán F.A. (1997). Determination of phenolic compounds in honeys with different floral origin by capillary zone electrophoresis, *Food Chemistry*, 1, 79-81.
- Anonim, (1989). Arı Sütü. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- Anonim, (2010). TSE 3036 Bal Standardı. 19 Ocak 2010 Kabul Tarihli Bal Standardı, Ankara.
- Anonim, (2011). Bingöl Arıcılık Raporu. Sektörel Araştırmalar Serisi 4. (<http://www.fka.org.tr>) (Erişim Tarihi: 31.03.2015)
- Anonim, (2012). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (2012/58). *Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 27 Temmuz 2012 Tarih ve 28366 Sayılı Resmi Gazete*, Ankara.
- Anonim, (2014). Arıcılık ve Bal Raporu. Ünye Ticaret Borsası. Kasım. S:5-20.
- Anonim, (2015). TS 3036. Bal. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- Anonim, (2019). <https://www.marmarisbalevi.com.tr/tr/aricilik/dunyada-aricilik>, accessed on 15.09.2021
- Anklam, E. (1998). A Review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63, 549- 562.
- Amor, DM. (1978). *Composition, Properties and Uses of Honey: A Literature Survey*. British Food Manufacturing Industries Research Association. Aston, D. And Bucknall, S., (2004). *Plants and Honey Bees*, Northern Bee Books, West Yorkshire.
- Ateş Y. (2014). Bingöl yöresinde Üretilen Balların Kimyasal İncelenmesi. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Bingöl.
- Artık N. & Konar N. (2018). Arı Ürünleri ve Apiterapi-2: Arı Ürünlerinden Propolis, Polen ve Apilarnil Bileşimi. *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. Türkiye Klinikleri*. S: 20-5. Ankara.
- Ay, E. & Yiğit, Y. (2016). Bal, beslenme ve sağlık. In *3rd International Congress on Social Sciences, China to Adriatic, In congress book* (pp. 27-30).
- Aygün, A., Gunduz, A., Turedi, S., Turkmen, S., Karaca, Y., Ayaz, F. A. & Kim, S. (2015). Examination using LC-MS/MS determination of grayanotoxin levels in blood, urine, and honey consumed by patients presenting to the emergency department with mad honey intoxication and relations with clinical data: a preliminary study. *Annals of Saudi Medicine*, 35(2), 161-164.

- Aydin, E., Yaylaci, S., Kocayigit, I., Osken, A., Genc, AB., Cakar, MA., & Tamer, A. (2014). Clinical and laboratory findings in mad honey poisoning: a single center experience. *Nigerian journal of clinical practice*, 17(5), 589-593.
- Ayvaz, M., Ömür, B., Ertürk, Ö. & Kabakçi, D. (2018). Phenolic profiles, antioxidant, antimicrobial, and DNA damage inhibitory activities of chestnut honeys from Black Sea Region of Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 42(3), e12502..
- Bayram, NE., Kara, HH., Can, AM., Bozkurt, F., Akman, PK., Vardar, SU., Çebi, N., Yılmaz MT., Sağdıç O. & Dertli, E. (2021). Characterization of physicochemical and antioxidant properties of Bayburt honey from the Northeastpart of Turkey. *Journal of Apicultural Research*, 60(1), 46-56.
- Baltas, N., Yildiz, O., & Kolayli, S. (2016). Inhibition properties of propolis extracts to some clinically important enzymes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(sup1), 52-55.
- Batt, PJ. & Liu, A. (2012). Consumer behaviour towards honey products in Western Australia. *British Food Journal*, 114(2), 285-297.
- Batu, A., Küçük, E. & Çimen, M. (2013). Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz Bölgeleri çiçek ballarının fizikokimyasal ve biyokimyasal değerlerinin belirlenmesi. *Electronic Journal of Food Technologies* 8(1), 52-62.
- Bayram, N. (2021). Vitamin, mineral, polyphenol, amino acid profile of bee pollen from *Rhododendron ponticum* (source of “mad honey”): nutritional and palynological approach. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), 2659-2666.
- Benzie, IF. & Strain, JJ. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bianchi EM. (1995). The Preparation of The Tincture, The Soft Extract, The Ointment, The Soap and Other Propolis - Based Products. *Apiacta*, 3(4), 56-62.
- Bilgen Çınar S. (2010). Türk Çam Ballarının Analitik Özellikleri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
- Can, Z. & Baltas, N. (2016). Bioactivity and enzyme inhibition properties of *Stevia rebaudiana*. *Current Enzyme Inhibition*, 12(2), 188-194.
- Crane, E. (1979a). History of honey, in *A Comprehensive Survey Honey*, pp.439- 475, Eds. Crane, E., Bee Research Association, Morrison and Gibb. Ltd., London.
- Crane, E. (1979b). The flowers honey comes from, in *A Comprehensive Survey Honey*, pp.3-55, Eds. Crane, E., Bee Research Association, Morrison and Gibb. Ltd., London.
- Crane, E. (1980). *A Book of Honey*, Oxford University Press, Newyork.
- Crane, E., (1990). *Bees And Beekeeping*, Heinemann Newnes, London.

- Crane, E., (2003). TheWorld'sbeekeeping- past and present, in *The Hive and The Honey Bee*, pp.1-20, Eds. Graham, J.M., Dadant and Sons. Inc. Ohio.
- Chirife J, Scarmato GA, & Herszage L (1982): Scientific basis for use of granulated sugar in treatment of infected wounds. *Lanced*, 1, 560-561.
- Chirife, J., Zamora, MC., & Motto, A. (2006). The correlation between water activity and% moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 287-292.
- Chua, LS., Abdul-Rahaman, NL., Sarmidi, MR. & Aziz, R. (2012). Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chemistry*, 135(3), 880-887.
- Cuevaes- Glory, L.F., Pino, A.J., Santiago, L.S. & Saury-Duch E. (2007). A Review of Volatile Analytical Methods for Determining the Botanical Origin of Honey. *Food Chemistry*, 103, 1032-1043.
- Çakmak, Ğ. (2001). Apiterapi (Polen). *Uludağ Arıcılık Dergisi*, Bursa, 1(3), 38-39.
- Dindar, B., Karakuş, E. & Abasiyanık, F. (2011). New urea biosensor based on urease enzyme obtained from *Helicobacter pylori*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 165(5), 1308-1321.
- Doğaroğlu, M., (1999). *Modern Arıcılık Teknikleri*, Anadolu matbaa ve ambalaj sanayi, İstanbul.
- Escuredo, O., Silva, LR., Valentão, P., Seijo, MC. & Andrade, PB. (2012). Assessing Rubus honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chemistry*, 130(3), 671- 678.
- Efem, SE., Udoh, KT. & Iwara CI. (1992). The antimicrobial spectrum of honey and its clinical significance. *Infection*, 20, 227-229.
- Fukumoto, LR. & Mazza G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, 3597–3604.
- Flanjak, I., Strelec, I., Kenjeric, D. & Primorac, L. (2016). Croatian produced unifloral honey characterized according to the protein and proline content and enzyme activities. *J. Apic. Res.* 60(1): 39–48.<https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>.
- Güler, A. (2017). *Bal Arısı (Apis mellifera L.) Yetiştiriciliği, Hastalıkları ve Ürünleri*, Samsun, Türkiye.
- Hotaman, HE. (2015). Anzer bal ve polenin bazı biyoaktif özelliklerinin in vitro olarak incelenmesi (Master's thesis, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı).
- IBM Corp. (2019). *IBM SPSS Statistics for Windows (Version 26.0)* [Computer software]. IBM Corp.
- Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, SA. & Gan, SH. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi

- honeys stored form orethan one year. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 177.
- Isidorov, V., Bagan, R., Bakier, S. & Swiecicka, I. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of Polish herb honeys. *Food Chemistry*, 171, 84-88.
- Kim, KH., Tsao, R., Yang, R. & Cui, SW. (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95(3), 466-473.
- Karabagias, IK., Badeka, AV., Kontakos, S., Karabournioti, S. & Kontominas, MG. (2014). Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physico-chemical and chemometric analyses. *Food Chemistry*, 165, 181-190.
- Karadal, F., & Yıldırım, Y. (2012). Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 9(3), 197-209.
- Kabakçı D., Çol M., Karataş Akdeniz G., Yılmaz Ö. & Güney F. (2012). Ordu ve Giresun İli Arı Yetiştiriciliğinden Toplanan Kestane Ballarının Biyokimyasal Yapıların İncelenmesi. *Arıcılık ve Arıcılık Araştırma Dergisi*, 4 (8), 25-26.
- Khalil, MI., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, MA., Islam, MN, Sulaiman, SA. & Gan, SH. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17(9), 11199-11215.
- Kolaylı, S., Aliyazıcıoğlu, R., Ulusoy, E. & Karaoğlu, Ş. (2008). Antioxidant and Antimicrobial Activities of selected Turkish honeys. *Hacettepe Journal of Biology & Chemistry*, 36(2), 163-172.
- Korkmaz A. (2003). Samsun Tarım İl Müdürlüğü. Arıcılık. S: 1, 2, 24. Samsun.
- Korkmaz A. (2010). Arıcılık. Samsun İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şube Müdürlüğü Yayını. S: 1-36. Samsun.
- Köksel, H. (2007). Karbonhidratlar. Gıda Kimyası, Editör İ. Saldamlı, *Hacettepe Üniversitesi Yayınları 3. Baskı*, Ankara, 72-77s.
- Krell, R. (1996). Value Added Products from Beekeeping. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome. P: 124, 409.
- Kumova U. & Korkmaz A. (2007). Çukurova koşullarında kolza (*Brassica napus* L.)'nın çiçeklenme fenolojisi, çiçek sayısı, nektar ve polen potansiyelinin belirlenmesi üzerine araştırmalar. I. Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu, 28-31 Mayıs, Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü. Samsun. Sempozyum Bildiri Kitabı, Sayfa: 175-185.
- Kutluca Karlıdağ S., & Genç F. (2007). Farklı Balarısı (*Apis mellifera*) Irk Ve Yöntemleri İle Üretilen Propolis Örneklerinin Reçine Miktarları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, Mayıs 2007, 52-53.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, U., Baltacı, C. & Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100(2), 526-534.

- Lien, EJ. & Li, WY. (1985). Structure Activity Relationship Analysis of Anti-Cancer Chinese Drugs and Related Plants, Long Beach, CA: Oriental Healing Arts Institute.
- Malkoç, M., Çakır, H., Yakup, K., Zehra, C., & Kolaylı, S. (2019). Phenolic composition and antioxidant properties of Anzer honey from black sea region of Turkey. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19(2), 143-151.
- Marshall, S., Gu, L. & Schneider, KR. (2015). Health benefits and medicinal value of honey. *Ifas Extension, University of Florida*.
- Miotto, D., 2010. Elucidation of the components involved in the antioxidant activity of honey. Yüksek Lisans Tezi. Brock University, Biyoloji Bilimi Fakültesi, Kanada
- Molan, P. (1992). The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee world*, 73(1), 5-28.
- Molan, P. (2001). The potential of honey to promote oral wellness. *General dentistry*, 49(6), 584-590.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 26, 211–219.
- Nakilcioğlu E. & Ötleş S. (2015). Yüzyılları Deviren Organik Bir Gıda Bal. *Dünya Gıda Dergisi*, 25 Şubat 2015.
- Nisbet, C., Güler, A., Yarım, G. F., Cenesiz, S., & Ardalı, Y. (2013). Çevre ve flora kaynaklarının arı ürünlerinin mineral madde içerikleri ile ilişkisi. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 38(4),494-498.
- Nombré, I., Schweitzer, P., Boussim, JI. & Rasolodimby, JM. (2010). Impacts of storage conditions on physicochemical characteristics of honey samples from Burkina Faso. *African Journal of Food Science*, 4(7), 458-463.
- Oddo, LP., Piro, R., Bruneau, É., Guyot-Declerck, C., Ivanov, T., Piskulová, J., Flamini, C., Lheritier, J., Morlot, M., Russmann, H., Von der Ohe, W., Von der Ohe, K., Gotsiou, P., Karabournioti, S., Kefelas, P., Passaloglou-Katrali, M., Thrasyvoulou, A., Tsigouri, A., Marcazzan, GL., Piana, M. L., Piazza, M. G., Sabatini, AG., Kerkvliet, J., Godinho, J., Bentabol, A., Valbuena, AO., Bogdanov, S. & Ruoff, K. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S38-S81.
- Othman, N. H. (2012). Honey and cancer: sustainable inverse relationship particularly for developing nations—a review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Oroian, M. (2013). Measurement, prediction and correlation of density, viscosity, surfacetens ion and ultrasonic velocity of different honey types at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 119(1), 167-172.

- Onado, Y., Takido, M., Magaribuchi, T. & Iwasaki, H. (1990). Effects of 12-sulfodehydroabietic acidmonosodium salt (TA2711), a new anti-ulceragent, on gastric mucosal lesions induced by necrotizing agents and gastric mucosal defensive factors in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 52, 631-638.
- Ömür, B. (2015). Investigation of the biochemical properties of the chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honeys produced in the Black Sea region.
- Özmen, N. & Alkın, E. (2006). Balın antimikrobiyel özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2006(4), 155-160.
- Ötleş, S. (1995). Bal ve Bal Teknolojisi (Kimyası ve Analizleri). Ege Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Müh. Bölümü, İzmir, s.89.
- Öztürk, Aİ. (2001). Arıcılık, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Parri E., Santinami G. & Domenici V. (2020). Front-Face Fluorescence of Honey of Different Botanic Origin: A Case Study from Tuscany (Italy). *Applied Sciences*; 10(5):1776. <https://doi.org/10.3390/app10051776>
- Pirim L., Çan MF. & Sönmez MM. (2011). Bingöl Arıcılık Raporu, Sektörel Araştırmalar Serisi-4. Fırat Kalkınma Ajansı. Malatya.
- Pyrzynska, K. & Biesaga, M. (2009). Analysis of Phenolic Acids And Flavonoids in Honey. *Trends in Analytical Chemistry*, 28(7), 893-902.
- Radwan S El- Essawy, A. & Sahran, MM. (1984). Experimental evidence for the occurrence in honey of specific substances active against Microorganisms. *Zentral Microbiol*, 139, 249- 255.
- Rajesh, B. V., Takashima, B. & Kaneto, K., (2005). An amperometric urea biosensor onto an electrochemically prepared copolymer poly (N-3-aminopropyl pyrrole-copolyrrole) film. *Biomaterials*, 26, 3683-3690.
- Renuka B, Sanjeev B. & Ranganathan D. (2016). Evaluation of phytoconstituents of *Caralluma nilagiriana* by FTIR and UV-VIS spectroscopic analysis. *J Pharmacogn Phytochem* 5:105-108. <https://doi.org/0.5530/pj.2015.3.4>
- Rice- Evans, CA., Miller, NJ. & Papanga, G. (1997). Antioxidant Properties of Phenolic Compounds. *Trends Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Sabatini AG., Marcazzan GL., Caboni MF., Bogdanov S. & Almeida-Muriadian LB. (2009). Quality and Standardisation of Royal Jelly. *Journal of Apiprodukt and Apimedical Science*, 1, 1-6.
- Sak-Bosnar, M., & Sakač, N. (2012). Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. *Food chemistry*, 135(2), 827-831.
- Sakarya, E. & Çevrimli, MB. (2018). Arıcılık işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunları; Ege Bölgesi örneği. *Eurasian Journal of Veterian Science*, 34(2), 83-91.
- Santos-Buelga, C. & González-Paramás, AM. (2017). Chemical Composition of Honey. In *Bee Products-Chemical and Biological Properties*. Springer, 43-82.

- Sarıkaya, A. (2009). Kestane Bal ve Propolisinin Fenolik Asit Kompozisyonu ve Antioksidan Özelliğinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Sato, T. & Miyata, G. (2000). The Nutraceutical Benefit part:3 Honey. *Nutrition*, 16, 468-469.
- Schmidt, JO. (1997). Chemical composition and application. *Bee Products— Properties, Applications, and Apitherapy*, 15-26.
- Shafiq, H., Iftikhar, F., Ahmad, A., Kaleem, M. & Sair, AT. (2012). Effect of crystallization on the water activity of honey. *International Journal Of Food And Nutritional Sciences*, 3(3), 1-6.
- Silici, S., Sagdic, O. & Ekici, L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. *Food Chemistry*, 121(1), 238-243.
- Silva, TMS., dos Santos, FP., Evangelista-Rodrigues, A., da Silva, EMS., da Silva, GS., de Novais, JS., dos Santos, FAR. & Camara, CA. (2013). Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and analysis*, 29(1), 10-18.
- Singh, N., & Bath, PK. (1997). Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58(1-2), 129-133.
- Singleton VL. & Rossi JA. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents American. *Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Singleton VL., Orthofer R. & Lamuela-Raventos RM. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sıralı, R. (2002). General bee keeping structure of Turkey. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 4(2), 30-39.
- Sunay, A., Altıparmak Ö., Doğaroğlu M. & Gökçen J. (2004). Türkiye’de ve Dünyada bal üretimi, ticareti ve karşılaşılan sorunlar, içindedir II. *Marmara Arıcılık Kongresi Bildiri Kitabı*, pp.151-183, Eds. Aydın, L., Çakmak, İ. ve Güneş, N., Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa
- Sunay, A. E., & Samancı, T. (2008). Arı ürünleri üretimi. *BAL-DER Arı Ürünleri ile Sağlıklı Yaşam Platformu Derneği*.
- Sorkun, K. (1987). Arı Ürünleri, Bilim Teknik Dergisi, 20, 20-21.
- Sökmen, BB., Aydın, S., Şahin, Y. & Akyurt, İ. (2016). Üreaz ve Elastaz Aktivitelerine Giresun’dan Toplanan *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh Deniz Yosununun İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 6(14), 124-131.

- Spilioti, E., Jaakkola, M., Tolonen, T., Lipponen, M., Virtanen, V., Chinou, I., Kassi, E., Karabournioti, S. & Moutsatsou, P. (2014). Phenolic acid composition, antiatherogenic and anticancer potential of honeys derived from various regions in Greece. *PloSOne* 9(4), e94860.
- Standifer, LN. (2003). Honey bee nutrition supplemental feeding. <http://maarec.cas.psu.edu/bkCD/HBBiology/nutrition-supplements.htm>.
- Stephens, J., Greenwood, D., Fearnley, L., Bong, J., Schlothauer, R. & Loomes, K. (2015). Honey production and compositional parameters. *Processing and Impact on Active Components in Food*, 675-680.
- Şahinler N. (2000). Arı Ürünleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 5 (1-2), 139-148.
- Şahin, G. (2019). Bazı Balların Kimyasal Bileşimi Üzerine Araştırma Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara
- Şahin, H., Kolaylı, S., & Beykaya, M. (2020). Investigation of Variations of Invertase and Glucose Oxidase Degrees against Heating and Timing Options in Raw Honeys. *Journal of Chemistry*, 2020, 1-7.
- Tolon, B. (1999) Muğla ve Yöresi Çam Ballarının Biyokimyasal Özellikleri üzerine Bir Araştırma. Doktora tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü; 117 pp.
- TS 13359, (2008). Bal-Fruktoz, Glukoz, Sakaroz, Turanoz ve Maltoz Muhtevası Tayini- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Metodu, Ankara.
- TS 13366, (2008). Türk Standartları Enstitüsü Elektriksel İletkenlik Tayini.
- TS 13360, (2008). Türk Standartları Enstitüsü Serbest Asit Muhtevasının Tayini.
- TS 3036, (2002). Türk Standartları Enstitüsü Bal Standartı.
- TS 13364, (2008). Bal-Diastaz aktivitesi tayini.
- Uçar M. (2018). Arı Sütünün Büyüme, Yaşlanma ve Üreme Sağlığı Üzerine Etkisi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 193-202.
- Ünlü, E. (1994). Bursa'da pazarlanan ballar üzerine kimyasal ve polinolojik araştırmalar.
- Weatherburn, MW. (1967). Phenol-hypo-chlorite action for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8), 971-974.
- White, JWJ. (1975). Composition of Honey. In C. Eva (Ed.), *Honey – A Comprehensive Survey* (pp. 157–206). London: Heinemann.
- White, JW. (1979). Composition of honey, in *A Comprehensive Survey Honey*, pp.157-194, Eds. Crane E., Bee Research Association, Morrison & Gibb. Ltd., London.
- White, JW. (2003). Honey, in *The Hive and The Honey Bee*, pp.869-918, Eds. Graham, J.M., DadantandSons. Inc. Ohio.

- Vallianou, NG., Gounari, P., Skourtis, A., Panagos, J., & Kazazis, C. (2014). Honey and its anti-inflammatory, anti-bacterial and anti-oxidant properties. *Gen Med (Los Angel)*, 2(132), 1-5. DOI: 10.4172/2327-5146,1000132.
- Yavuz C., Ertürk Ö. & Sarıkaya A. (2012). Propolisin Biyolojik Önemi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 4 (8), 32-33.
- Yanniotis, S., Skaltsi, S. & Karaburnioti, S. (2006). Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 72(4), 372-377.
- Yaghoobi, R., & Kazerouni, A. (2013). Evidence for clinical use of honey in wound healing as an anti-bacterial, antiinflammatory anti-oxidantand anti-viralagent: A review. *Jundishapur journal of natural pharmaceutica lproducts*, 8(3), 100-104.
- Yildiz, O., Karahalil, F., Can, Z., Sahin, H. & Kolayli, S. (2014). Total monoamine oxidase (MAO) inhibition by chestnut honey, pollen and propolis. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 29(5), 690-694.
- Zanini, S., Marzotto, M., Giovinazzo, F., Bassi, C. & Bellavite, P. (2014). Effects of dietary components on cancer of the digestive system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(13), 1870-1885.
- Zunin, P., Calcagno, C. & Evangeliste, F. (1987). L'analisi chimico- bromatologica nel controllo della genuinita del miele. *Rivista Italiana di Scienze Alimentari*, 16, 317-322.
- Zürcher, K. & Hadorn, H., (1974). Zucker spektrum und Kristallisations tendens von Honigen, *Mitt. GebieteLebensm. Hyg.*, 65, 407-420

ÖZGEÇMİŞ

| Kişisel Bilgiler | |
|------------------|--|
| Adı Soyadı | Demet DEMİR |
| Doğum Yeri | |
| Doğum Tarihi | |
| Uyruğu | <input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer: |
| Telefon | |
| E-Posta Adresi | |
| Eğitim Bilgileri | |
| Lisans | |
| Üniversite | Ordu Üniversitesi |
| Fakülte | Fen Edebiyat Fakültesi |
| Bölümü | Biyoloji |
| Mezuniyet Yılı | 15.06.2014 |
| Yüksek Lisans | |
| Üniversite | Ordu Üniversitesi |
| Enstitü Adı | Fen Bilimleri Enstitüsü |
| Anabilim Dalı | Moleküler Biyoloji ve Genetik |