

**ARDAHAN YÖRESİNDE ÜRETİLEN BAZI BAL ÇEŞİTLERİNİN
BİYOKİMYASAL ANALİZİ VE *Saccharomyces cerevisiae*
KÜLTÜRÜNDE BESİNSEL DEĞERİNİN ÖLÇÜLMESİ**

Çiğdem ÇOBAN

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr Ökkeş YILMAZ

Şubat-2014

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ARDAHAN YÖRESİNDE ÜRETİLEN BAZI BAL ÇEŞİTLERİNİN
BİYOKİMYASAL ANALİZİ VE *Saccarharomyces cerevisiae*
KÜLTÜRÜNDE BESİNSEL DEĞERİNİN ÖLÇÜLMESİ

Çiğdem ÇOBAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Prof. Dr Ökkeş YILMAZ

ELAZIĞ

2014

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ARDAHAN YÖRESİNDE ÜRETİLEN BAZI BAL ÇEŞİTLERİNİN
BİYOKİMYASAL ANALİZİ VE *Saccarharomyces cerevisiae*
KÜLTÜRÜNDE BESİNSEL DEĞERİNİN ÖLÇÜLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çiğdem ÇOBAN

111110103

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 31 / 12 / 2013

Tezin Savunulduğu Tarih: 24 /01 / 2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ (F.Ü) 
Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Kadir DEMİRELLİ (F.Ü) 
Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU (F.Ü) 

ŞUBAT -2014

ÖNSÖZ

Bu çalışmada Türkiye'nin Ardahan yöresinden hasat edilen farklı orijinlere ait balların fiziksel ve kimyasal özellikleri dikkate alınarak, bal örneklerinin biyokimyasal analizleri yapılmıştır. Ayrıca *Saccarharomyces cerevisiae* kültüründe besinsel değeri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda balın kalitesi hakkında genel bir değerlendirmeye varılmıştır.

Çalışmamda büyük katkıları olan danışmanım Sn Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a ve tüm yaşamımda sahip olduğum başarılarımın kaynağı aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma FÜBAP tarafından FF.12.20 nolu proje olarak desteklenmiştir. Bu desteğinden dolayı FÜBAP birimine teşekkürlerimi sunarım.

Çiğdem ÇOBAN
Elazığ - 2013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
TABLolar LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Bal	1
1.2. Arıcılık.....	4
1.3. Balların Sınıflandırılması	6
1.4. Balın Bileşimi.....	7
1.5. Balın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Parametreleri.....	7
1.5.1. Balda Şeker Oranı ve Önemi.....	7
1.5.2. Protein İçeriği	8
1.5.3. Enzimler	9
1.5.4. Balın Asitliği	10
1.5.5. Hidroksimetil Furfural (HMF) İçeriği	10
1.5.6. Nem İçeriği.....	11
1.5.7. pH değeri	11
1.5.8. Toplam fenolik madde.....	12
1.5.9. Antioksidan içeriği	13
1.6. Balın Kalitesini Etkileyen Faktörler.....	15
1.7. Bal ile İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar	16
1.8. Bal ile İlgili Yasal Düzenlemeler	17
2. MATERYAL ve METOD.....	19
2.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler	19
2.2. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar.....	19
2.3. İnceleme Materyali.....	19
2.4. Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	19
2.5. Şeker Analizi	20

2.6.	Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi	20
2.7.	Toplam Fenoliklerin Tayini.....	21
2.8.	Bal Örneklerinde 5-Hidroksimetilfurfural (HMF) Türevi Analizi.....	21
2.9.	ABTS ^{•+} Yok Edici Testi	22
2.10.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nın Gelişme Ortamının Hazırlanması	22
2.10.1.	Maya Hücresinde MDA Miktarının Ölçülmesi.....	23
2.10.2.	Maya Hücresinde Glutasyon Miktarının Ölçülmesi	24
2.10.3.	Glutasyon Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması	24
2.10.4.	Maya Hücresinde Total Protein Miktarının Ölçülmesi	25
2.10.5.	Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması.....	26
3.	BULGULAR	27
3.1.	Bal Örneklerinin Flavonoid İçerikleri	27
3.2.	Bal Örneklerinin Şeker İçerikleri	28
3.3.	Bal Örneklerinin HMF Düzeyleri.....	35
3.4.	Bal Örneklerinin DPPH Radikali Temizleme Etkisi.....	38
3.5.	Balların ABTS Radikali Temizleme Etkisi	39
3.6.	Balların Total Fenolil düzeyleri	39
3.7.	Balların <i>S. cerevisiae</i> Maya Hücresinin Yağ Asidi Profili Üzerine Etki	40
3.8.	Balların <i>S. cerevisiae</i> Hücresindeki Total Protein, GSH ve MDA Miktarı Üzerine Etkisi	42
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	44
4.1.	<i>İn vitro</i> Ortamda Balların Etkisi.....	44
4.2.	Anaerobik Kültür Ortamda Balların Etkisi	48
	KAYNAKLAR.....	51
	ÖZGEÇMİŞ.....	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. DPPH radikalının giderilmesi	21
Şekil 2. MDA kalibrasyon eğrisi	23
Şekil 3. Glutasyon (GSH)'nın kalibrasyon eğrisi	25
Şekil 4. Protein kalibrasyon eğrisi.....	26
Şekil 5. Şekerlerin Standart HPLC kromatogramı	30
Şekil 6. 1 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	30
Şekil 7. 2 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	31
Şekil 8. 3 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	31
Şekil 9. 4 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	32
Şekil 10. 5 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	32
Şekil 11. 6 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	33
Şekil 12. 7 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	33
Şekil 13. 8 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	34
Şekil 14. 9 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı	34
Şekil 15. HMF'nin HPLC kromatogramı.....	35
Şekil 16. 5 nolu örnek balın HMF pikinin HPLC kromatogramı.....	35
Şekil 17. Kaliteli bal olarak belirtilen balın HMF pikinin HPLC kromatogramı	36
Şekil 18. 2 nolu bal örneğinin HMF pikinin HPLC kromatogramı	36
Şekil 19. 1 nolu bal örneğinin HMF pikinin HPLC kromatogramı	37
Şekil 20. Bal örneklerinin prolin içeriği (mg/kg)	38

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Balların Flavonoid Düzeyleri ($\mu\text{g}/1\text{ g}$)	27
Tablo 2. Balların Şeker Düzeyleri ($\text{mg}/10\text{g}$).....	29
Tablo 3. Balların Örneklerinin Yüzde Olarak Şeker İçerikleri(%).....	29
Tablo 4. Balların HMF düzeyleri.....	39
Tablo 5. Bal örneklerinin DPPH radikalini temizleme aktiviteleri (%)	39
Tablo 6. Bal örneklerini ABTS Radikali Temizleme Etkisi	40
Tablo 7. Balların Total Fenolil düzeyleri (μg).....	41
Tablo 8. Bal örneklerinin <i>S. cerevisiae</i> 'nın yağ asidi profili üzerine etkisi ($\mu\text{g}/\text{g}$).....	41
Tablo 9. <i>S. cerevisiae</i> hücresinin vitamin profili üzerine etkisi ($\mu\text{g}/1\text{ g}$).....	42
Tablo 10. Bal örneklerinin <i>S. cerevisiae</i> 'nın total protein, GSH ve MDA miktarı üzerine etkisi	43

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye'nin Ardahan yöresinden hasat edilen farklı orijinlere ait bazı bal örneklerinin biyokimyasal analizleri yapıldı. Çalışmada, Ardahan yöresinin Yol Ağzı, Demir Döven, Türk Gözü, Dal Gözü, Kale Önü ve Kol köyleri ile Posof ilçesinden toplanan yedi farklı bal örneği kullanıldı.

Bal örneklerinin flavonoid, hidroksimetil furfural (HMF), şeker, total fenolik düzeyleri, antioksidan aktiviteleri ölçülerek, ayrıca *in vitro* ortamda maya hücresinin gelişimi üzerine etkisi incelendi,

HPLC cihazı ile yapılan analiz sonuçlarına göre, 5 ve 7. grup balların flavonoid, şeker ve total fenolik düzeyleri doğal balların özelliklerine benzerlik gösterdi. Ayrıca bu bal örneklerinin HMF değerleri diğer bal örneklerinden düşük bulundu. Bulgularımızda, tüm bal örneklerinin DPPH radikali üzerinde temizleme özelliğine sahip olduğu saptandı.

Bal örnekleri üzerinde değişik biyokimyasal analizler yapıldıktan sonra, *Saccharomyces cerevisiae*'nin kültür ortamına glukoz yerine bal ilave edilerek, maya hücresinin yağ asidi, ADEK vitamin ile fitosteroller, total protein, GSH ve MDA düzeyleri üzerinde etkileri incelendi. *S.cerevisiae*'nin kültür ortamında yapılan deney sonucuna göre, total protein, GSH, ADEK vitamin ile fitosterol miktarının kontrole göre arttığı belirlendi.

Sonuçlarımıza göre, günlük yaşamda sıkça tükettiğimiz balların *in vitro* şartlarda *S.cerevisiae*'in kültür ortamında biyokimyasal parametreler üzerinde farklı etkilere sahip olduğu belirlendi. Ayrıca, 2 bal örneği hariç diğerlerinin maltoz miktarı yüksek bulundu. Maltoz içeriğinin yüksek olması bal örneklerinin doğal koşullarda üretilmediğinin bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Çünkü maltoz bitki öz sularında doğal olarak bulunmaz. Nişastanın hidrolizi sonucu oluşur.

Anahtar Kelimeler: Ardahan balları, Antioksidan aktivite, HMF, *Saccharomyces cerevisiae*, Total protein, Redükte glutathione

SUMMARY

BIOCHEMICAL ANALYSIS OF SOME HONEYS VARIETIES IN THE REGION ARDAHAN AND MEASUREMENT OF NUTRITIONAL VOLUES IN THE *Saccarharomyces cerevisiae* CULTURE MEDIA

In this study, the biochemical analyses of the some honey samples from different origins that have been harvested from Ardahan region of Turkey were performed. It has been used seven honey samples in the study, from collecting the Yol Ağzı, Demir Döven, Türk Gözü, Dal Gözü, Kale Önü and Kol villages and Posof town.

The levels of flavonoid, hydroxymethyl furfural (HMF), sugar, and total phenolic and antioxidants activities of honey samples have been measured, additionally examined their effects on the yeast growth *in vitro* media.

According to HPLC analysis results, the contents of flavonoid, sugar, and total phenolic in 5th and 7th honey samples showed similar to properties of naturally honey samples. In addition, it has been found that the content of HMF in these honey samples lower than other honey samples. In our results, all the honey samples have scavenging effects on the DPPH radical.

After the biochemical analysis on the honey samples, it was added to honey samples replace to glucose in growth media of *Saccarharomyces cerevisiae*, the level of fatty acid ADEK vitamins and phytosterol, total protein, GSH and MDA were examined. In the result of experiment in culture media of *S. cerevisiae*, the levels of total protein, GSH and ADEK and phytosterol were higher than the control group.

According to our results, honey samples often consume in our everyday life which it was determined that different effects have on the biochemical parameters *in vitro* media of *S. cerevisiae*. In addition, except two honey samples, the level of maltose in the other honey samples was found high. It can be evaluated that high maltose level in honey samples to be as a result of having it's produced in an unnatural ways. Maltose is formation to hydrolyzing starch, because of no found plant juice.

Keywords: Ardahan honey, Antioxidant activity, HMF, *Saccharomyces cerevisiae*, Total protein, reduced glutathione

1. GİRİŞ

1.1. Bal

Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarların veya Basra (*Marchelina hellenica*) adı verilen eş kanatlı böcekler tarafından, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladıkları tatlı maddelerin, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplandıktan sonra vücutlarında bileşimlerinin değiştirilmesi ve petek gözlerinde depo edilip olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir üründür (Ötleş, 1995). Bir başka tanıma göre salgı balı, genellikle orman ağaçları üzerinde yaşayan böceklerin tatlı sularının arılar tarafından toplanmasıyla oluşan baldır (Anonymous, 2006).

Arıların bal yapma mekanizmaları karmaşıktır. Bal arıları nektarlardan emdikleri şekerli özsularını bal keselerinde, sindirim suları ile karıştırarak işleyip kuluçka zamanında yemek üzere kovanlardaki bal mumundan doğal veya yapay peteklere getirip püskürtürler. Arıların bu püskürttükleri bal sulu olup kovanlardaki ısı ve arıların kanat çırpmalarından ileri gelen hava değişimi ile suyunu yitirir. Çeşitli bitki türlerine göre değişmek üzere % 30-70 oranında su ihtiva eden nektar, bal haline dönüştüğünde koyulaşır ve su miktarı % 17-18'e düşer. Bileşiminde bulunan arıdan gelen enzimlerin etkisi ile bal olgunlaşır. Sakkaroz, glukoz ve fruktoza ayrışır. Isıtılmamış ballarda bu ayrışım depolama sırasında da çok yavaş olarak devam eder (Anonymous, 2006).

Bal, insanların mağara hayatından beri on binlerce yıl öncesinde bilinen bir maddedir. Fransa, İspanya, Mısır ve Türkiye'de ki arkeolojik bulgular (mağaralara çizilen resimler, hiyeroglifler, çok eski tarihlere ait arı fosilleri, levhalardaki arıcılığa ait yazılar vb tarihi buluntular) bu görüşü desteklemektedir. Tarihsel süreç içinde insanlar ağaç kütükleri, toprak veya kil sepet örerek yapılmış kapları kovan olarak kullanmıştır. Günümüzde kullanılan kovanlar oldukça geliştirilmiş olmasına rağmen hala eski tip kovanlar da kullanılmaya devam etmektedir. Arıcılık, insanların ağaç kovukları içinde yaşayan arıları öldürmeden balları kullanmalarıyla başlamıştır. Arıcılık ile ilgili bulgular eski dünyaya yayılmış olmakla birlikte, bal arılarının gen merkezinin Orta Doğu olduğuna dair birçok kanıt bulunmaktadır. Çatalhöyük'te yapılan kazılarda, arıları nektar toplarken ve peteklerin üzerinde gösteren resimler bulunmuştur. Söz konusu resimlerin yaklaşık 10 bin yıllık olduğu ve bal üzerinde ilk yazılı belgelerden binlerce yıl daha eski olduğu bilinmektedir (Akaya, 2004).

Türkiye’de arıcılık, kovan sayısı bakımından son yıllarda büyük artışlar göstererek dünya sıralamasında üst noktalara gelmiştir. Dünya üzerinde sayısı 11.500’i aşan bitki türünden yaklaşık olarak 10.000 türü Türkiye’de bulunmaktadır. Bu bitkilerin çoğu endemik bitki florasını oluşturmaktadır. Türkiye bu derece zengin floraya sahip olmasına rağmen arıcılık faaliyetlerimiz diğer ülkelerle kıyaslandığında hak ettiği yerde değildir (Kayral, 1984).

Bal genel olarak salgı ve çiçek (nektar) balı olarak ikiye ayrılır. Salgı balları bitki veya böcek salgılarından, çiçek balları ise çiçeklerin nektarlarından elde edilir. Bal arısının bitkilerin çiçeklerinden topladığı nektar veya bal özü denen tatlı suları vücutlarındaki özel bezlerden salgılanan maddelerle karıştırarak zenginleştirmesi ve peteklerde olgunlaştırması sonucu doğal bal veya çiçek balı (nektar balı) elde edilir. Nektarın toplandığı çiçeğin tadı balın aromasında hissedilir (Portakal çiçeği balı, kestane çiçeği balı, vb. gibi). İhlamur, mese, erik, çam ağacı bitkilerin yapraklarının sızdırdıkları şekerli sıvı ile; yaprak bitleri gibi bazen ufak böceklerin yapraklar üzerine salgıladıkları tatlı sıvıdan meydana gelir ve salgı balı olarak adlandırılır. Bir başka tanıma göre salgı balı, genellikle orman ağaçları üzerinde yaşayan böceklerin tatlı sularının arılar tarafından toplanmasıyla oluşan baldır (Anonymous, 2006).

Türkiye’nin değişik bölgelerinde sahip oldukları floraya bağlı olarak farklı ballar üretilmektedir. Muğla ve yöresinde çam, Akdeniz bölgesi ve civarında narenciye, Karadeniz bölgesinde kestane balı bilinen ballardır. Bu ve diğer bölgelerimizde ise çok farklı çiçek balları üretilmektedir (Kayral vd., 1984).

Balın önemi tat, lezzet ve aroması ile sevilerek tüketilen bir gıda olması ve bazı hastalıkları tedavi edici bir ürün veya katkı maddesi olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır (Ötleş, 1995).

Bal, % 17 civarında bir neme sahip olup kuru maddesinin % 95’ini karbonhidratların oluşturduğu asidik bir gıdadır. Bununla beraber balın bileşimi, arıların kullandığı bitkilerin türüne yani nektarın özelliklerine (Crane, 1975), iklim şartlarına, arının cinsi ve yaşı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu yüzden sabit bir bal kompozisyonundan bahsetmek zordur.

Balın içeriğini karbohidratlar, enzimler, su, organik asitler, mineraller, vitaminler, proteinler, aromatik maddeler ve antioksidan maddeler oluşturur (Bogdanov vd., 2006).

Bal, besleyici değeri yüksek bir gıda olup karbohidratların hızlı emilimiyle her yaşta insanların tüketebileceği uygun bir üründür. Özellikle sporcular ve çocuklar için düzenli olarak tercih edilen bir gıdadır. Yapılan bazı çalışmalar balın deri yaralarını ve ciddi gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde başarı ile kullanıldığını göstermektedir. Balın bu özelliği antibakteriyel oluşuna, asitli oluşuna, içerdiği hidrojen perokside bağlıdır (Weston, 2000).

Bütün canlıların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için bir miktar neme ihtiyaçları vardır. Bakteriler balla temas ettiklerinde nemden yoksun kalır dolayısı ile gelişemez. İnsan vücudunu etkileyen birçok mikroorganizma balda yaşayamaz. Bal boğazda veya vücudun değişik yerlerinde etkili olabilen mikroorganizmaların gelişmesini engellemektedir. Yani bal, bal arısı *Apis mellifera* tarafından üretilen geleneksel olarak enerji kaynağı olarak bilinen antimikrobiyal özellikte bir gıdadır (Chen vd., 2000).

Bal antibakteriyel özelliği ile üst solunum yolu enfeksiyonlarına karşı kullanılmaktadır. Bunun yanında balın bileşenlerinden olan polifenoller, flavonoidler ve fenolik asitler diyetimizde olması gereken doğal antioksidanlardır (Chen vd., 2000). Balın kaynağı olan nektar, antioksidan özelliğe sahip tatlı bileşikler ile bitki pigmentlerinin, flavonoidlerin büyük bir kısmını içermektedir (Frankel vd., 1998). Balın bileşimi ve antioksidan kapasitesi floral kaynaklara bağlı olarak toplanan nektarlara bağlıdır. Bunun yanında mevsimsel, çevresel faktörler ve proses koşulları balın bileşimi ve antioksidan aktivitesini etkiler (Al Mamary vd., 2002). Yapılan çalışmalar genel olarak koyu renkli bal örneklerinde yüksek kapasitede antioksidan madde olduğunu göstermiştir (Chen vd., 2000). Balın rengi, genel olarak karotenoid ve flavonoidlere bağlıdır (Frankel vd., 1998).

İnsanların diyetlerinde doğal ürünlerin yer alması günden güne yaygınlaşmaktadır. Yapay (sentetik) gıda katkı maddeleri insan sağlığı üzerinde negatif etkisinden dolayı son zamanlarda yapılan çalışmalarda antioksidan özelliğe sahip meyve ve yenilebilir aromatik bitki gibi doğal kaynakların serbest radikalleri uzaklaştırıcı olarak kullanılması mümkündür (Wang, 2004). Çoğunlukla bu bitkiler arılar için nektar kaynağıdır. Sonuç olarak bitki orijininin bioaktif bileşenler bala taşınır (The National Honey Board, 2003).

Balın bileşiminde var olan fruktozun parçalanması ile açığa çıkan bir bileşik olan HMF miktarı balın kalitesi hakkında gerçek bir kriter özelliğini taşımaktadır. Çünkü hasat sonrası bala uygulanan ısı işlem sonrasında fruktozun parçalanması hızlanmakta ve HMF

miktarı artmaktadır. Dolayısı ile HMF miktarının artması balın kalitesinin düştüğünün göstergesidir (Tosi, 2001).

Balın özellikleri ve üretimiyle ilgili bilinen ilk kitap, Sir John Hill tarafından yazılmış 1759'da Londra'da basılmıştır. Arı ve balın tarihçesi incelendiğinde, nektar ve polen üreten çiçekli bitkiler ile bunlardan faydalanan böceklerin 100–150 milyon yıl önce, ilk memelilerin de mevcut olduğu Jurassic/Cretaceous devresinde ortaya çıktığı öne sürülmektedir. Bal üreten arılar 10–20 milyon yıl önce görülmüştür. Bal ile ilgili ilk resmi dokümanlar Anadolu'da Çatalhöyük'te bulunmuştur. M.Ö. 5000 yıllarında Sümerlerin yazılı belgelerinde bal üzerine bilgiler mevcuttur. Benzeri bilgiler Anadolu'daki başka bir uygarlık olan Hititlerin yazıtlarında da bulunmuştur. M.Ö. 3200'de Aşağı Mısır Kralı I. Dynasty, krallık sembolü olarak arıyı seçmiş ve krallığında bununla ilgili figürlere yer vermiştir. Musevi topluluklarında ise Tevrat ve Talmut'ta yazıldığı gibi Kur'an-ı Kerimde de balın yararlarından söz edilmektedir. Roma imparatorluğuna ait bazı yazıtlarda da bal ve arıcılık üzerine çeşitli bilgiler bulunmaktadır (Lusby, 2002).

Tarihte balın ilk kullanım amacının tatlı bir ürün olduğundan damak lezzetini sağlamak olduğu söylenir. Yıllar içinde balın kullanılma alan ve amaçları gelişmiş ve değişmiştir. Dünyada üretilen ve piyasada satılan balların büyük bir kısmı “Sofralık Bal”olarak tüketilmektedir. Bal gıda olarak tüketilmesinin yanında ilaç, kozmetik, tütün sanayinde de kullanılır. Ancak bunlardan gıda sanayi bal kullanımında daha önemli bir yere sahiptir. Gıda endustrisinde balın başlıca kullanım alanları arasında hububat, süt, şekerlik, bebek mamaları sayılabilir (Ötleş, 1995).

1.2. Arıcılık

Arıcılık milattan önce 3500 yıllara kadar dayanmaktadır. Arılar yaklaşık olarak 20.000 türü olan bir familyaya sahiptir ve diğer canlılardan ayıran en büyük özelliği sosyal yaşamlarıdır. Arıları inceleyen bilim adamları arıların yaşam biçiminden balın depolanmasına kadar birçok konuda sürpriz sonuçlar ile karşılaşmışlardır. Bal arılarının diğer arı türlerinden daha farklı özellikleri vardır. Bal arıları koloniler halinde yaşarlar. Bir arı kolonisinde bir kraliçe, birkaç yüz erkek ve 10–80 bin işçi arı vardır. Bu arılar görünüş olarak birbirinden farklıdır, kraliçe arı ve işçi arılar dişidir ve her kolonide yalnız bir kraliçe arı bulunur, kraliçe arı dişi arılardan daha büyükçedir. Kraliçenin esas görevi yumurtlamaktır ama koloninin büyüklüğünden ve kolondaki sisteminden de sorumludur.

Kraliçe 5–7 yıl arasında değişen yaşam ömrü ile bireyler arasında en uzun yaşayan arıdır. Kraliçe arı bir günde normal koşullarda kendi ağırlığına eş ağırlıkta 2000–3000 adet çok iyi koşullarda ise 6000 adet yumurta bırakabilir. Erkek arılar dişi arılardan iri olmasına rağmen tek görevi dişi arıyı dölmektir, çünkü kendileri için besin toplayabilecek organları ve iğneleri yoktur. İşçi arılar peteğin örülmesi, yiyeceğin toplanması, arı sütünün üretilmesi, temizlik ve savunma gibi genel anlamda her şeyden sorumludur(Encye Americana, 1993).

Petek gözleri en az bal mumu harcayarak maksimum ölçüde bal depolamak için en uygun şekil olan altıgen prizmadır ve derinliği 12 mm, duvar kalınlığı ise 1/500 inç tir. Arının yiyecek aramak için yapmış olduğu gezinti yaklaşık olarak 25 dakika sürer ve bu süre içerisinde 5 çiçek ziyaret eder. 450 gramlık saf balı elde edebilmek için yaklaşık olarak 17 bin bal arısının 10 milyon çiçeği ziyaret etmesi gereklidir. Bu yüzden 450 gram saf bal edebilmek için arıların bin iş saati çalışmaları gereklidir (Brackenbury, 1995). Kovanda her zaman bir düzen mevcuttur, hangi arının ne yapacağı önceden belirlidir ve hiçbir görev aksatılmaz. Arılar sırasıyla larva ve pupa evrelerini tamamlayarak erişkin hale gelirler. Larva dönemi kraliçe arının yumurtaları bırakmasıyla başlar ve bu dönemde larvaların bırakıldığı petek gözlerine son derece özenli bakım başlar. Hücrelerdeki arı yumurtaları üç gün içinde gelişir, bu gelişme döneminde işçi arılar tarafından yaklaşık olarak 10000 kere ziyaret edilir. Üç gün sonra larvalar yumurtadan çıkar ve gelecek üç gün boyunca sadece arı sütü ile beslenirler (Encye Americana, 1993).

Arı larvaları düzenli beslenerek 6 gün sonra ilk ağırlıklarının 1500 katına kadar ulaşırlar. Larvaların yedinci gününde larva yemek yemeyi keser ve işçi arılar larvanın hücre kapağını mum ile kubbe şeklinde bir kapak ile kapatır. Larva bu durum başladıktan sonra kendi ürettiği bir madde ile bulunduğu peteği tamamen koza ile örerek kendini hapseder. Bu zamandan sonra pupa dönemi başlar. Pupa döneminde bulunduğu gözde 12 gün kalır ve arı yumurtası hücreye bırakıldıktan üç hafta sonra bal arısı uçmaya hazır olarak çıkar ve 6 haftalık ömrüne başlamış olur. Dişi olan arılar hücrenin ve kovanın işleri ile ilgilenirken diğer arılar hücrelerinden çıkarak görevlerine başlar. İşçi arılar pupa döneminden çıkar çıkmaz kovanın temizlik işlerine başlarlar, 2 gün boyunca öncelikle kendi hücrelerini daha sonra da diğer pupa döneminden çıkan hücreleri temizler. Larva bakıcılığı ile uğraşacak olan işçi arılar 2 gün boyunca pupa döneminden çıkan hücreleri temizledikten sonra yani üçüncü günden itibaren larvaların beslenmesiyle uğraşmaya

başlar. İşçi arılar 10. günden itibaren kovan dışına çıkarak çevreyi tanır. Bu sırada işçilerin karnındaki balmumu bezleri gelişmeye başlar ve 12. günlerinde olgunlaşarak balmumu üretecek hale gelirler. 12. günlük olan işçiler, arı yavrularını beslemeyi bırakırlar ve birbirine eşit altıgenlerden oluşan peteğin inşasına koyulurlar. Arılar bal mumu üreterek petek inşa ettikleri sırada iğne bezleri gelişir ve zehir üretmeye başlar. İşte bu dönemdeki arılar kovan kapısında nöbet tutarak davetsiz misafirlerin içeri girmesini engellerler. Gelen her canlı (farklı arı bile) kapıdaki nöbetçinin kontrolünden geçerek içeri girebilir. Nöbetçi arının yerinden ayrılması durumunda ise hemen başka bir işçi arı nöbeti devralır (Encye Americana, 1993).

1.3. Balların Sınıflandırılması

Balların sınıflandırılması üretim ve pazarlama sekline göre yapılabildiği gibi, rengine ve nem oranına ve elde edilen kaynağa göre de yapılabilmektedir. Balın rengine göre sınıflandırılmasında altı standart bulunmakta olup ballar açık su beyazından siyah ambere kadar sınıflandırılmaktadır. Balın nemine göre sınıflandırılması üç bölümde yapılmakta olup 1. 2. ve 3. sınıf balların içerebileceği en yüksek su oranları sırasıyla % 17,8, % 18,6, % 20,0'dır. Yararlanılan kaynağa göre ballar, çiçek balı ve salgı balı olarak gruplandırılırlar. Çiçek balları, arıların çeşitli zararsız bitkilerin çiçeklerinden elde ettikleri ballar olup yararlanılan kaynağın cinsine göre ıhlamur, pamuk, yonca balı vs. şeklinde adlandırılırlar (Anonim, 2002; Doğaroğlu, 2004).

Salgı balları ise arıların, zararsız bitkilerin veya bazı böceklerin salgılarından elde ettikleri ballar olup, elde edildikleri kaynağa bağlı olarak çam balı veya yaprak balı olarak adlandırılırlar. Üretim veya pazarlama şekillerine göre ballar; petekli, süzme ve pres balları olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Arılar tarafından yapılan ve peteklere doldurulan ballar tabii petekli ballar, suni petek gömeçlerine doldurulan ballar ise suni petekli ballar olarak adlandırılırlar. Pres balı, baskı balı olarak da tanımlanmakta olup peteklerin 45°C sıcaklığa kadar ısıtılması veya ısıtılmadan mekanik usullerle sıkıştırılmasıyla elde edilen ballardır. Süzme ballar ise petekteki balın oda sıcaklığında santrifüj edilmesiyle veya hiçbir işlem yapılmaksızın elde edilen ballardır (Anonim, 2002; Doğaroğlu, 2004).

1.4. Balın Bileşimi

Bal, içeriğindeki maddelerin çeşitliliği nedeniyle oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Çeşitli yörelere ve elde edilme zamanlarına göre de oldukça farklı yapılar gösterebilmektedir. Bu nedenle balın bileşimi ile ilgili analizler oldukça geniş sayıda örnek içermektedir. Balın ilk akla gelen özelliği tatlı olmasıdır. Bunun sebebi balın içindeki başlıca üç şekerdir. Bunlar glikoz, sakkaroz ve fruktoz'dur. Diğer önemli bileşen su olup, balın %20'ye yakın kısmını oluşturur. Yaklaşık %7'lik bölümü ise demir, sodyum, sülfür, magnezyum, fosfor, polen, manganez, alüminyum, gümüş, albumin, dekstrin, nitrojen, protein ve asitlerden oluşmaktadır. Balın içinde birçok vitaminin yanı sıra az miktarda çeşitli hormonlar, çinko, bakır ve iyot bulunmaktadır. Bu bileşenlere ilave olarak diastaz, amilaz, invertaz, katalaz, oksidaz, fosfataz gibi enzimlerin bulunduğu araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Bu enzimlerin bir kısmı bitkilerden kaynaklanmakta olup, bir kısmı ise arının başındaki bezlerden salgılanmaktadır (Hoyt, 1965).

Hemen hemen bütün bal çeşitlerinde fruktoz miktarı çoğunlukta olup, ikinci sırada glukoz bulunmaktadır. Balın karbohidratlarının %85-95'ini bu iki şeker oluşturur. İki veya üç molekül glikoz ve fruktozdan meydana gelen daha kompleks şekerler ise geriye kalan karbohidratları teşkil etmektedir (Finola vd., 2005).

1.5. Balın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Parametreleri

Balın kalitesini ve kimyasal özelliklerini değerlendirmede en önemli faktörler renk tespiti, şeker oranı, nem içeriği, suda çözünmeyen madde oranı, elektrik iletkenliği, serbest asitlik, diastaz aktivitesi ve hidroksimetil furfural içeriğidir (Bogdanov, 2002).

1.5.1. Balda Şeker Oranı ve Önemi

Şekerler balın en önemli bileşenidir. Bal özü kaynakları olan bitkilerin çeşidine göre ve honeydew denilen tatlı salgıların arılar tarafından kullanılmasına göre balların şeker bileşenleri farklı olmaktadır. Balda az miktarda bulunan bazı disakkarit ve trisakkaritler çiçek ve salgı balını karakterize eder. TS 3036'da anlatılan Lane-Eynon metodunda önce invert şeker (glukoz+fruktoz) tayin edilmekte, inversiyondan sonra tekrar invert şeker analizi yapılarak önceki ve sonraki invert şeker arasındaki farkın 0,95 faktörüyle çarpılmasıyla sakkaroz hesap edilmektedir. HPLC cihazı ile yapılan analizlerde

ise ballarda; fruktoz, glukoz gibi monosakkaritler; sakkaroz, maltoz gibi disakkaritler; melezitoz ve rafinoz gibi trisakkaritlerin varlığı tespit edilmiştir (Hışıl, 1984).

Doyma noktası üzerindeki glukozun kristal hale dönüşümü balın şekerlenmesi olayıdır. Balın şekerlenmesi bozulma olmayıp balın elde edildiği bitkisel kaynağa göre oluşabilen doğal bir olaydır. Bazı ballar hiç şekerlenmemesine karşın bazıları hiç hasat edilmeden peteklerde şekerlenir. Bu durum balın yapısıyla ilgili etmenin yanı sıra balın depolanması ve işlenmesi sırasında uygulanan bazı işlemlerin de şekerlenmeyi etkilemesinden kaynaklanmaktadır. Balın yapısı ve şekerlenmesi arasındaki ilgi ise en çok fruktoz/glukoz veya glukoz/su oranlarıyla saptanabilmektedir.

Balın şekerlenmesi bozulma olmamasına karşın dolaylı olarak kolaylıkla fermentasyona neden olmaktadır. Balda bulunan fruktoz ve glukoz, şeker mayalarının etkisiyle parçalanmakta olup bunun sonucunda alkol ile karbondioksit meydana gelmekte, oksijen bulunan ortamda da alkol parçalanarak asetik asit ve suyu oluşturmakta ve bu fermentasyon sonucu bal bozulmaktadır (Doğaroğlu, 2004).

Bala, genellikle sakkarozun asitlerle inversiyonuyla oluşan şeker şurubu ve nişastanın parçalanması sonucu elde edilen nişasta şurubu katılarak tağşiş yapılabilmektedir. Bazı bal üreticileri ise fazla çiçek bulunmayan yerlerde kovanların çevresine kaplar içinde şerbet gibi tatlı çözeltileri dizerek arıların bunlarla beslenmesini sağlarlar. Bu şekilde beslenmiş arıların yaptıkları bal doğal olmayıp, tadı yavan, rengi açık, sakkaroz miktarı yüksektir (Keskin, 1975).

1.5.2. Protein İçeriği

Balın protein içeriği ortalama olarak % 5 düzeyindedir. Bal proteinleri, balın floral kaynağının kimyasal karakteri olarak düşünülmektedir (Komanine, 1960). Çünkü, bal arısının proteinleri ve amino asitleri bütün bal çeşitlerinde aynı olabilmektedir. Lisin, histidin, arginin, aspartik asit, teronin, serin ve prolin gibi farklı amino asitler balda bulunabilmektedir. Balın protein içeriğinin belirlenmesi çalışmalarında ve yaklaşık olarak bütün rutin analizlerinde, prolin içeriği değeri yoğun olarak kullanılmaktadır. Prolin, balda bulunan amino asitler arasında en yüksek düzeydedir. Prolin tüm amino asitler arasında tek başına ortalama olarak % 50 dolayında bulunmaktadır (Komanine, 1960). Prolin içeriği, farklı ballar arasında büyük ölçüde farklılık gösteren, balın toplam amino asit içeriğinin bir indeksi sayılabilmektedir. Prolinin, ek kalite değeri ve bazı durumlarda balın olgunluğunun

belirlenmesinde bir kriter olmasının yanısıra, şeker ile tağşişin belirlenmesinin bir kanıtıdır.

Almanya’da, prolin içeriği 18,0 mg/100g dan daha düşük olduğu zaman, balın tağşişe uğratıldığı veya olgunlaşmamış olduğu kabul edilmektedir (Bogdanov, 2002). Daha önce yapılan araştırmaların çoğunluğunda, prolin içeriği, asidik ortamda ninhidrinin uygulanmasının sonucunda oluşturan renk karşılaştırma metodu ile tayin edilmiştir. Prolin içeriği, bal orijinine göre baldan bala değişmektedir. Sorkun vd. (2002) tarafından Türk balları üzerinde yapılan bir araştırmada, Türk çiçek ve salgı ballarının prolin içeriği sıra ile 15,87-96,3 mg/100 g ve 17,14-67,46 mg/100 g arasında belirlenmiştir. Aynı zamanda, Fas (okaliptüs, narenciye, *Lythrum sp.*, akasya, *Apiaceae*, salgı ve çok çiçekli) ballarının prolin içeriği 15,8-300 mg/100 g dolayında bulunduğu açıklanmıştır (Terrab vd., 2002). Son zamanlarda, Meda vd. (2005), Burkina Fas (*Vitellaria sp.* akasya ve *Lanea sp.*) balları üzerinde yaptıkları bir araştırmada, prolin içeriğinin 43,8- 216,9 mg/100 g, ortalama olarak 98,9 mg/100 g düzeyinde olduğunu ortaya koymuşlardı. Bradford (1976) metodu, Brezilya ballarının protein içeriğinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Azeredo vd., 2003). Bradford metodu, protein içeriğini tayin etmek için çabuk ve doğru bir yöntemdir. Bu teknik, Lowry ve diğer metodlarından daha basit, çabuk ve çok duyarlıdır. Ayrıca, çözeltiler ve protein olmayan numunelerin biyolojik bileşikleriyle çok az etkileşim yapmaktadır. Bu teknik, kırmızı ve mavi olmak üzere iki renkli formunda bulunan Coomassie Brilliant Blue G-250 çözeltisinin reaksiyonlarına dayanmaktadır. Kırmızı formundaki boya, protein-boya bağlanması ile mavi formuna değişmektedir. Protein-boya karışımının yüksek absorbans değerine sahip olmasından dolayı, en yüksek duyarlılıkta proteinin tayinine olanak sağlamaktadır. Azeredo vd. (2003), tarafından bazı Brezilya balları üzerinde yapılan bir araştırmada, protein içeriği 19,9-223,6 mg/100 g arasında bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, bu yöntem bal protein içeriklerinin tayin edilmesinde uygun yöntem olarak benimsenmiştir.

1.5.3. Enzimler

Balda bulunan başlıca enzimler invertaz, glukoz oksidaz ve diastaz (α -amilaz ile β -amilaz karışımı) enzimleridir. İnvertaz enziminin, nektarın bala dönüşümü sırasında meydana gelen kimyasal değişikliklerden sorumlu olduğu bildirilmektedir. Hidrojen peroksit ve glukonik asit üretiminde balın antibiyotik etkisinden sorumlu enzimin glukoz oksidaz olduğu belirtilmektedir. Amilaz ise balda nişasta degradasyonunu ve viskozite

kaybını gerçekleştirmekte olup, amilaz aktivitesi diastaz sayısı ile tespit edilebilmektedir (Babacan ve Rand 2002, 2005).

Diastaz aktivitesi birimi (Gothe birimi); 40 °C sıcaklıkta ve 1 saatte 0,01 g nişastayı hidroliz edebilen enzim miktarı olarak tanımlanır. Hidroliz olayından sonra geri kalan hidroliz olmamış nişasta, iyot çözeltisiyle muamele edilerek renkli bir komplekse dönüştürülür. Belli dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler yapılarak, sonuçlar her 1 g bal için Gothe skalası (veya Schade skalası) ile tespit edilmektedir (Bogdanov, 2002). Balın enzim içeriği, balı diğer tatlandırıcılardan farklı bir ürün olarak nitelendirmekte olup, enzim miktarındaki azalma bala uygulanan ısıtma ve depolama koşullarının uygunsuzluğunu göstermektedir (Huidobro vd., 1995).

1.5.4. Balın Asitliği

Balın asitliği, mikroorganizmalara karşı stabilitesini artırır (Hışıl ve Börekçioğlu, 1986). Balda yüksek asit değerlerinin tespit edilmesi ise zamanla fermentasyona uğradığını, sonuçta alkolün bakteriyel etkilerle asetik asite dönüştüğünü göstermektedir (Erdoğan, 2008).

Asitlik; serbest, laktonik ve toplam asitlik olarak ayrılmaktadır. Toplam asitlik serbest ve laktonik asitlerin toplamı olup, serbest asitlik özellikle glukonik asit kaynaklı organik asitlerle belirtilmektedir (Downey vd., 2005). Balın içerisinde; asetik, butirik, sitrik, kaproik, laktik, glukonik, formik, malik, okzalik, suksiniletannik, tartarik asitler mevcut olup, balın pH değeri 3,29–4,87 arasında değişmektedir. Her bal çeşidinin titrasyon eşdeğerlik noktası sabit olduğundan dolayı balın asitliği eşdeğerlik noktasını bularak tespit edilmektedir (Bogdanov, 2002).

1.5.5. Hidroksimetil Furfural (HMF) İçeriği

HMF balda karbonhidratların ısıtılması sonucu oluşmaktadır. Yüksek sıcaklık işlemlerinde heksoz dehidrasyonu HMF oluşumuna yol açmakta olup, yüksek asitlik mevcudiyetinde HMF oluşumu artmaktadır. Düşük sıcaklıklarda ise maillard reaksiyonu sonucu HMF oluşmaktadır (Gökmen, 2007). Bu yüzden HMF, balın tazeliğinin indikatörü olarak belirtilmektedir (Schad vd., 1958).

1.5.6. Nem İçeriği

Balın stabil kalabilmesi ve maya fermentasyonu sonucu bozulmaya direncini gösteren kalite kriteri balın su içeriğidir (Bogdanov, 2002). Balın su yüzdesinin düşük olması onun olgunluğunu gösterir ve buna göre de uzun süre bozulmadan saklanabilir (Erdoğan vd., 2004).

Balın içindeki şekerlere dayanıklı mayalar, özellikle su oranı yüksek balların fermentasyonuna (ekşimesine) neden olur. Sırlanmış ve olgunlaşmış balların su oranı daha az olduğu için ekşimesi zordur. Düşük oranlarda nem içeren ballarda artan şeker yoğunluğu nedeniyle zararlı mikroorganizmaların etkinliği önlenir ve fermentasyon durur. İstenilen en uygun nem oranı balın olgunlaştığı zamanki nem oranı olduğundan yalnızca olgunlaşan ballar hasat edilmelidir. Hangi düzeyde nem içerirse içersin, açıkta veya nem geçirebilir kaplarda tutulan ballar, havadan nem çekerek su oranını yükseltme eğilimi gösterirler. Bu nedenle saklama yerinin nemi % 60 dolayında olmalı ve bal uygun kaplarda kapalı olarak saklanmalıdır (Doğaroğlu, 2004). Balın su içeriği çeşitli faktörlere bağlıdır. Hasat dönemi, kovanda ulaşılan olgunluk derecesi ve iklimsel faktörler örnek olarak verilebilir (Finola vd., 2005). Genel olarak dağ balları ova ballarından daha az nem içermekte olup, fazla nem balın olgunlaşmadığını ya da dışarıdan su katıldığını göstermekte bu da balın yüzey fermentasyonu tehlikesini doğurmaktadır (Erdoğdu, 2008).

1.5.7. pH değeri

Bal, tipik asitli bir ortam olup, genel olarak pH değeri 3,20–4,50 arasında değişmektedir. Bu asitlik temel olarak, nektarın olgunlaşması sırasında enzimin etkisinin sonucunda meydana gelen gluktonolakton / glkonik asit içeriğinden kaynaklanmaktadır (White, 1975). Balın pH değerinin düşük olması, birçok bakteri türünün ve özellikle hayvansal kökenli patojen bakterilerin gelişimini engellemede etkilidir. Çünkü bu tür bakterilerin optimum gelişim pH değerleri genel olarak 7,2–7,4 arasında değişmektedir (Molan, 1992). Balın pH değeri, içindeki farklı asitlerin miktarı ve mineral (kalsiyum, sodyum, potasyum ve diğer kl bileşikleri) içeriği ile ilişkilidir. Mineral tuzlar ile zengin ballar genel olarak yüksek pH değerlerine sahiptir (Lawless vd., 1996).

Daha önce yapılan araştırmalarda, farklı bölgelerdeki farklı balların pH değerleri; Türk ayeği ballarında 3,74 (Velioğlu ve Köse, 1983), Türk ek ve salgı ballarında sırası ile 3,26 ve 4,77 (Sorkun vd., 2002), Hindistan ek ballarında 4,10–4,76 (Anupama

vd., 2003), Fransız ballarında 3,70–5,28 (Devillers vd., 2004), Fas ballarında 3,55–4,7 (Terrab vd., 2002), İspanyol *Thymus vulgaris* ballarında 3,56–4,79 (Terrab vd., 2004), aralıklarında bulunmuştur. Balın pH değerinin, balın ekstraksiyon ve depolama üzerine büyük önemi vardır. Çünkü pH değerinin, tekstür, stabilite ve raf ömrü gibi faktörlerin üzerinde etkisi vardır (Terrab vd., 2004).

1.5.8. Toplam fenolik madde

Doğada oluşan polifenoller, antioksidan olmaları ve burukluk, acılık, esmerleşme reaksiyonları ve renk gibi özellikleri üzerine etkilerinden dolayı büyük önem kazanmaktadır. Polifenoller, basit benzen türevlerine ilaveten, bal da dahil, bitkiler ve bitkilerden kaynaklanan gıdaların hidroksisinamatlar ve flavonoidler grubunu kapsamaktadır. Folin-Ciocalteu çözeltisi ile toplam fenolik madde içeriği deneyleri, monofenollerin yanı sıra daha kolay oksitlenebilir polifenollerin tayin edilmesini olanak vermektedir (Singleton vd., 1999).

Düşük konsantrasyonlarda oda sıcaklığında, şeker tek başına fenoller ile büyük ölçüde reaksiyona girmemektedir. Ancak, konsantrasyonu çok yüksek ise, fenollerin analizine girişim yapabilmektedir. Bu sorun, standart düzeltmelerin uygulanması ile veya standartların örnek ile aynı konsantrasyondaki şeker çözeltisinde hazırlanması ile çözülmektedir (Singleton vd., 1999). Balda, büyük miktarda indirgen şekerlerin bulunmasından dolayı, Folin-Ciocalteu denemesinde fenoller ile girişim beklenmektedir.

Balın toplam fenolik madde içeriği, bitkisel ve coğrafi orijini, indirgen şekerlerin etkileşiminin giderilmesinde izlenen yöntemle bağlı olarak değişmektedir. Al Mamary vd. (2002), Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak, indirgen şekerlerin girişimini gidermeden, Akasya, *Zizipus sp.* ve tropikal çiçeklerin ballarının toplam fenolik madde içeriğini tayin etmiştir. Elde edilen değerler 61,05–246,21 mg GAE/ 100 g arasında değişmektedir. Benzer bir şekilde, Meda vd., (2005), Burkina Fas (*Conbretaceae*, *Vitellaria* ve *Lannea sp.*) ballarının toplam fenolik madde içeriği belirlemişlerdir. Ortalama değerleri 32,59–114 mg GAE / 100 g arasında tespit edilmiştir.

Bu sonuçlara göre, salgı balları, çiçek ballarına kıyasla daha yüksek toplam fenolik madde içermektedir. Bu iki araştırmada açıklanan toplam fenolik madde değerleri, diğer yöntemler ile elde edilen sonuçlara kıyasla, oldukça yüksek görülmektedir. Bu durum,

indirgen şekerlerin analizdeki girişiminin dikkate alınmamış olmasından kaynaklanmaktadır.

Başka bir çalışmada, Beretta vd. (2005), bazı İtalyan ballarının toplam fenolik madde içeriklerini belirlemişlerdir. İndirgen şekerlerin etkileşiminin uzaklaştırılması amacıyla, Folin-Ciocalteu çözeltisi asidik koşulda (sodyum karbonatın ilave edilmemesinden) gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, Singleton vd. (1999)'a göre Folin-Ciocalteu çözeltisi asidik koşulda, askorbik asit ve çok kolay oksitlenebilir bileşiklerinin tayin edilmesinde kullanılabilir. Bu değerler diğer değerlere kıyasla düşük olduğu için bu yöntem ile elde edilen değerlerin yalnız fenolik içeriğin bir göstergesi olduğu doğru değildir. Bu çalışmada toplam fenolik madde içeriği 5,25 -78,96 mg GAE/100 g aralığında bulunmuştur. Örneğin, çilek, kestane ve akasya ballarının toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 78,96, 21,21 ve 5,25 mg GAE/100 g dolayındadır.

Son zamanlarda, Blasa vd. (2005), meşhur İtalyan *Millefiori* ve akasya ballarının toplam fenolik madde içeriğini Folin-Ciocalteu çözeltisi kullanılarak belirlemiştir. Elde edilen değerler sıra ile 12,5 ve 17,5 mg GAE /100 g dolayındadır. Bu çalışmada, bütün ballarda büyük miktarlarda bulunan indirgen şekerlerinin girişimini gidermesi amacıyla, incelenen balın şahit çözeltisi hazırlanmıştır. Şahit çözeltide, balın bir kısmı PVPP ile belli süreyle karıştırılıp filtre edilmiştir. Fenolik bileşikler PVPP ile uzaklaştırılmaktadır. Filtrat (şeker çözeltisi) şahit olarak kullanılmaktadır

1.5.9. Antioksidan içeriği

Son zamanlarda, serbest radikallerin oksidatif reaksiyonlarının sonucunda, lipid, protein ve nükleik asitler gibi vücutta bulunan bileşiklerin zarar gördüğüne inanılmaktadır. $O^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$ ve lipid peroksit ($LOO^{\bullet}$) gibi aktif oksijen moleküllerin, kansere ve mutasyona yol açma basta olmak üzere birçok biyolojik sorunlara neden olduğu açıklanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Serbest radikal zincirinin reaksiyonu, lipidin indirgenmesine neden olduğundan dolayı, membran geçirgenliğine zarar verebilme ve insan vücudunda malonaldehit ve asetaldehit gibi zehirli bileşiklerin üretebilmesine neden olabilmektedir. Bu zehirli bileşikler, DNA ve RNA da dahil, biyolojik bileşikler ile anormal karmaşık bileşikler üretmektedir (Glavind vd., 1952, Esterbaur vd., 1991). Bu serbest radikaller, genel olarak farklı antioksidanların sirkülasyonu ile yok edilmektedir. Antioksidan terimi, oksitlenebilir substrat ile karşılaştırıldığında, düşük konsantrasyonlarda

bulunmakta, fakat bu substratın (vücuttaki her türlü moleküller dahil) oksitlenmesini büyük ölçüde engelleyen veya geciktiren her hangi bir madde (Halliwell, 1990; Percival, 1998; Young ve Woodside, 2001) anlamına gelmektedir.

Bitkilerden türevleşen ürünlerinin çoğundaki oksijen kapasitesi çoğunlukla polifenollerden kaynaklanmaktadır. Genel olarak gıdadaki antioksidanlar fenollerdir. Diğer biyolojik bileşiklerinin çok az rolleri vardır. Antioksidanın etkisi, oksidanın rekabete dayanan tüketiminden; hedefli moleküllerin korunması ve serbest radikallerini üreten zincir reaksiyonunun durdurulmasından kaynaklanmaktadır (Singleton vd., 1999). Fenoller, molekül yapısının aromatik halkasında mobil hidrojenleri içeren hidroksil grupları içermesinden dolayı, peroksil radikalleri uzaklaştırmada çok etkilidir (Halliwell, 1990; Aruoma, 1994). Serbest radikaller şu şekilde yok edilmektedir: Fenolat anyonundan bir elektron uzaklaştırıldığı zaman, oluşan ürün semikinon serbest radikaldır. Orto veya para-difenolden ikinci elektron uzaklaştırıldığı zaman kinon oluşmaktadır. Fenol ve kinon karışımı dengelenip ara semikinon açığa çıkmaktadır. Çünkü serbest radikaller çiftlenmemiş elektronlar karşısında çok reaktif moleküllerdir. Herhangi kaynaktan başka bir serbest radikal ile karşılaşıldığında, iki bileşik birleşip kovalent bağ oluşturmaktadır. Dolayısıyla, reaksiyon zinciri sona ermektedir (Singleton vd., 1999).

Balın, kronik yaraların, diyabetik ülserin, mide ülseri ve mide-bağırsak ülseri gibi birçok hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Balın tedavi edici rolü kısmen antimikrobiyel etkisinden ve kısmen de antioksidan madde içermesinden kaynaklanmaktadır. Çünkü bu hastalıkların bazılarının, serbest radikallerinin verdiği zararlardan ortaya çıktığı bilinmektedir (Aljadi ve Kumaruddin, 2004).

Balın bitkisel ve coğrafi orijinin tanımlanması amacıyla bal üzerinde yapılan araştırmaların çoğunluğunda, pH, asitlik, diyastaz aktivitesi, prolin, amino asitler, polen, şeker içeriği, mineral, uçucu maddeler ve fenollerin içeriği veya dağılımı gibi parametrelerin üzerinde yoğunlaşmıştır. Ancak özellikle Türkiye’de, balların antioksidan aktivitesi üzerinde çok az çalışılmıştır. Antioksidan aktivitesi balın bir kalite kriteri olarak kullanılabilmesinin yanısıra, onun tedavi edici potansiyeli ve kalitenin değerlendirilmesinin iyi bir parametresi olabilmektedir. Meda vd. (2005), askorbik asit kalibrasyon eğrisi kullanılarak, Burkina Faso (*Conbretaceae*, *Vitellaria* ve *Lannea sp.*) ballarının antioksidan içeriğini tayin etmiştir. Çiçek ballarının antioksidan içeriği 10,20-65,86 mg AAE /100 g arasında değişirken, salgı ballarının antioksidan içeriği 24,80-32,38

mg AAE /100g arasında değişmektedir. Toplam fenolik madde açısından salgı balları çiçek ballarından daha yüksek değerler gösterirken, antioksidan içeriği bakımından çok sayıda çiçek balı salgı ballarından daha yüksek değerler göstermektedir. Farklı balların fenolik madde içerikleri aynı düzeylerde bulunsalar bile bu balların antioksidan içeriklerinin aynı düzeylerde bulunmasının zorunluluğu yoktur. Bunun anlamı, bir numunenin antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde içeriği kullanılarak değerlendirilemez. Balların antioksidan aktivitesi; fenolikler, peptitler, organik asitler, enzimler, Maillard reaksiyon ürünleri ve muhtemelen düşük miktarlarda bulunan bileşikler gibi birçok bileşiklerin aktivitelerinin toplamının sonucu olarak meydana gelmektedir (Gheldof vd., 2002).

1.6. Balın Kalitesini Etkileyen Faktörler

Kaliteli bal üretiminde en önemli etmenlerden birisi, koloni popülasyonu düzeyidir. Bal üretim dönemi başlangıcına güçlü koloniler ile girmek balın ballık adı verilen ekleme katlarında üretilmesine olanak tanır. Üretici gerekli düzenlemeyi zamanında yapmadığında üretim çoğu kez kuluçkalıkta yapılmış olur ve aşırı miktarda polen içerir. Polen içeriğinin artması; balın daha koyu renkli ve ağır kokulu olmasına, balın hızlı kristalize olmasına ve dolayısıyla kolaylıkla fermentasyonuna neden olmaktadır. Ballara uygulanan farklı işlemler balın kalitesini önemli ölçüde etkilemekte olup, bu faktörlerden en önemlileri şunlardır:

1. Nem
2. Isıtma
3. Süzme ve dinlendirme
4. Balın depolanması (Doğaroğlu, 2004)

Balın bileşimi ve özellikleri üretilen alanın flora kaynağına ve iklim koşullarına bağlı olduğu gibi işleme ve depolama yöntemlerine de bağlı olmaktadır. Ham bal en iyi bal olmasına karşın, balın ısıtılması kristalizasyonu önlemede veya geciktirmede ve viskoziteyi azaltarak dolum yapmayı kolaylaştırmada tek yöntem olmasından dolayı uygulanmaktadır (Turhan vd., 2007). Balın ısıtılması sonucu aromatik maddelerin içeriği azalır. Nektar ve bal arısından bala geçen bu maddeler tat sağlamakta olup, sıcaklığın ve ısıtma zamanının artış oranı ile aynı oranda kaybolmaktadır (Tosi vd., 2008).

Kaliteyi etkileyen bir diğerk faktör süzme işleml olup, balın 35 °C sıcaklıkta ısıtılması yeterlidir. Balın dinlendirilmesi ise durultma amacı ile yapılmaktadır. Balın depolanması sırasında kaliteyle ilgili en önemli etmenler; depolama yerinin sıcaklığı, nem, ambalaj kaplarının özelliğı ve depolama süresidir. Oda sıcaklığında tutulan ballarda HMF miktarında yükselmeye ters orantılı olarak diastaz miktarında düşme görülür ve bu da istenmeyen bir durumdur. Ayrıca sıcaklığın etkisiyle şekerler, enzim, lakton ve asitlikte azalmalar görülür. Bu nedenle depolama yerinin sıcaklığının düşürülmesi gerekmektedir (Doğaroğlu, 2004).

1.7. Bal ile İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar

Balın bileşimi ve özellikleri ülkeden ülkeye ve hatta ülkelerin kendi içerisinde yöreden yöreye değişmektedir. Balın kalitesi ve kabul edilebilirliğini belirlemede duyusal ve biyokimyasal özellikler çok önemli olup, ürün kalitesini belirlemek için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Gerçekleştirilen çalışmalardan bazıları aşağıda belirtilmektedir.

İspir ilçesinde, farklı çevre koşullarının bal verimi ve kalitesi üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, bal örneklerinde kuru madde miktarlarının %79,50–82,50, toplam asitlik değerlerinin 25,50–29,00 meq/kg, toplam seker miktarlarının %72,13–76,45 arasında değiştiğı belirlenmiştir (Erdoğan vd., 2004). Bal amilazının aktivitesine sıcaklığın yapmış olduğı etki üzerine yapılan bir çalışmada, 55 °C sıcaklıkta enzim aktivitesinin %80'inin korunduğı ve maksimum aktivitenin 38–40 °C sıcaklıkta gerçekleştiğı belirtilmiştir (Babacan ve Rand, 2007).

Hatay yöresinin yayla ve ayçiçeğı ballarının biyokimyasal özelliklerini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, yayla balında ortalama kül % 0,131, nem oranı %15,23, asitlik 32,3 meq/kg, HMF değeri 5,73 mg/kg, diastaz sayısı 17,9, invert seker % 66,20, sakkaroz % 2,84, protein % 0,91 ve pH 6,36 olarak bulunmuştur. Ayçiçeğı balında ise bu değerlerin sırasıyla % 0,5, % 18,1, 40,9 meq/kg, 2,17 mg/kg, 17,9, % 69, % 1,9, % 0,9, 5,6 olduğı belirlenmiştir (Şahinler ve Gül, 2001).

İsrail'de siyah çayları tatlandırmak amacıyla kullanılan ballar üzerine yapılan bir çalışmada, nem oranı % 15–17,8, invert seker % 70,1–79,2, glikoz % 35,9–42,1, sakkaroz % 2,72–10,12, HMF 0,32–1,8 mg/kg ve diastaz aktivitesi 5–15 aralığında bulunmuştur (Merin vd., 1998).

Depolama süresinin ve işleme koşullarının balın HMF değerine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, işleme koşullarının esmer buğday ballarında % 23 oranında HMF artısına sebep olduğu belirlenmiştir. 6 aylık depolama sonucunda ise HMF oranının 1,02 mg/100g'dan 1,81 mg/100g'a yükseldiği tespit edilmiştir (Wang vd., 2004).

Arjantin'de ballar üzerine yapılan bir çalışmada, ortalama değerler olarak serbest asitlik 20,6 meq/kg, kül miktarı % 0,063, su içeriği % 18,4, glikoz % 31,7, früktoz % 41,1 ve HMF 14,8 mg/kg tespit edilmiştir (Finola vd., 2005).

Güney İspanya ballarında diastaz ve invertaz aktivitesi ve HMF içeriğini tespit etmek amacıyla 49 bal örneği üzerinde yapılan bir çalışmada; diastaz aktivitesinin ortalama 20,48 Gothe birimi ve 3,99–49,42 arasında değişiklik gösterdiği bulunmuş olup, invertaz aktivitesi ortalama olarak 12,34 bulunmuştur. HMF içeriği ise ortalama 8,24 mg/kg olup, 0,19–41,16 mg/kg arasında değişiklik göstermiştir (Serrano vd., 2007). Fas ballarında yapılan bir çalışmada, ayçiçeği ballarında ortalama nem %17,6, serbest asitlik 26 meq/kg, HMF 17,8 mg/kg, diastaz sayısı 55,5, kül içeriği % 0,19 olarak belirlenmiştir (Terrab vd., 2003).

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada 33 adet bal örneğinin, nem içeriğinin % 13,0–18,9 arasında değiştiği ve sakkaroz oranlarının da % 0,1–2,7 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Lazaridou vd., 2004).

1.8. Bal ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Hemen hemen bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de gerek TS 3036 gerekse Türk Gıda Kodeksinin ilgili maddeleri ile balın kapsamı, özellikleri, sınıflandırılması, işleme teknikleri ve piyasaya arzı belirlenmiş ve sınırlandırılmıştır. Benzeri yasal düzenlemeler, tüketici istekleri de göz önüne alınarak farklı ülkelerde farklı biçimlerde bal işleme ve pazarlamaya neden olmaktadır. Hatta dış satım olanaklarını kullanan bazı ülkeler, bal işleme ve pazarlama koşullarını balı satma durumunda oldukları ülke standartlarına göre düzenleme durumunda kalmışlardır. Ülkemizin de bal dış satımı konusunda iddialı bir ülke durumunda olması ve hatta Avrupa Birliği'ne katılma aşamasında bulunması nedeniyle tüzük ve standartlarını bu ülke pazarları doğrultusunda düzenleme durumu ile karşı karşıya kaldığı bir gerçektir (Doğaroğlu, 2004). Türk Gıda Kodeksi Bal Standardı ve TS Bal Standardı'na göre ballarda hiçbir yabancı madde bulunmamalı, bozuk (fermente olmuş, küflenmiş, anormal koku ve tatla olan, genel

zellikleri değişmiş bal) olmamalı ve ballara dışarıdan herhangi bir madde ve koruma maddeleri, boyalar, ticari glikoz, dekstrin katılmamalıdır.

Nem içeriği, mineral içeriği, asitlik, HMF içeriği, diastaz aktivitesi, şeker oranı ve suda çözünmeyen madde içeriğinden oluşan kimyasal ve fiziksel parametreler Codex Alimentarius Standard (2001) ile standardize edilmiş olup, Avrupa Birliği Komisyonu (EU, 2002) balda bulunan maddelerin limitlerini belirlemiştir.

Biz de bu çalışmamızda ülkemizin önemli bal merkezlerinde olan Ardahan yöresi ballarının biyokimyasal analizlerini yaparak özelliklerinin ortaya çıkarılmasını amaçladık.

2. MATERYAL ve METOD

2.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler

Twin 40, TRIS-HCl baz ve metanol, asetonitril, n-hekzan, n-heptan, izopropanol, aseton, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , Na_2HPO_4 , butilhidroksitoluen (BHT), n-Butanol, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, (DPPH), dimetil sülfoksit (DMSO), 2- tiobarbiturik asit (TBA), etil alkol, sodyum klorür, potasyum bikarbonat, yağ asidi metil esteri (doymuş ve doymamış türleri), ergosterol, beta sitosterol, stigmasterol, α -tokoferol, K2 vitamini, K1 vitamini, EDTA, glutatyon (GSH), trikloroasetik asit (TCA), 5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), (PHA), sodyum sitrat, bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), sodyum potasyum tartarat, sodyum hidroksit, sodyum karbonat, folin, albumin standartı, metafosforik asit (MPA).

2.2. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar

Ultrasonik su banyosu, homojenizatör, gaz kromatografisi, HPLC cihazı, etüv, UV spektrofotometre, vorteks, hassas terazi, otomatik pipeteler, santrifüj, derin dondurucu, otoklav.

2.3. İnceleme Materyali

Çalışmada kullanılan bal örnekleri Ardahan ilinden mevsimsel dönemlerinde 2012 yaz aylarında toplandı. Bal örnekleri Ardahan ilinin Posof ilçesine ait Yol Ağzı (bal 1), Demir Döven (bal 2), Türk Gözü (bal 3), Dal Gözü (bal 4), Kol köyü (bal 5) ve Posof ilçe merkez(bal 6, 7, 8, 9)'lerinden toplandı. Ayrıca arıcalar tarsfindan katkılı ve katkısız bal örnekleri Bitlis yöresinden getirilerek karşılaştırılmaya tabi tutuldu ve bütün ballar satışa sunulan kavanozlarda muhafaza edildi. Çalışmamızda 8 ve 9 numaralı bal örnekleri ile katkılı ve katkısız bal örnekleri prolin deneyinde kullanılmıştır.

2.4. Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Flavonoidlerin kromatografik analizi için 5 μm iç çapında PREVAIL C18 (15x4.6 mm) ters-faz kolon kullanıldı. Mobil faz olarak % 1 asetik asit içeren metanol/su/asetonitril (46/46/8, v/v/v) karışımı kullanıldı. Bu mobil faz 0,45 μm membran filtresi içinden geçirilerek süzüldü ve daha sonra kullanılmadan önce ultrasonikasyon cihazında havası alındı. Kateşin ve naringin için 280 nm, rutin, mirisetin, morin ve kuarsetin için 254 nm,

dalga boyu kullanılarak RHPLC ayrımını takiben DAD tarafından bu flavonoidlerin ölçümü yapıldı. Akış hızı 1.0 ml/min ve enjeksiyon değeri 10 µL olarak ayarlandı. Analizlerin kromatografik pikleri reaksiyon sürelerinin karşılaştırılması ve standart referanslarının UV spektrumları ile doğrulandı.

Miktar ölçümü standart metot kullanımıyla pikin birleştirme yoluyla gerçekleştirildi. Tüm kromatografik işlemler 25 °C’de yapıldı.

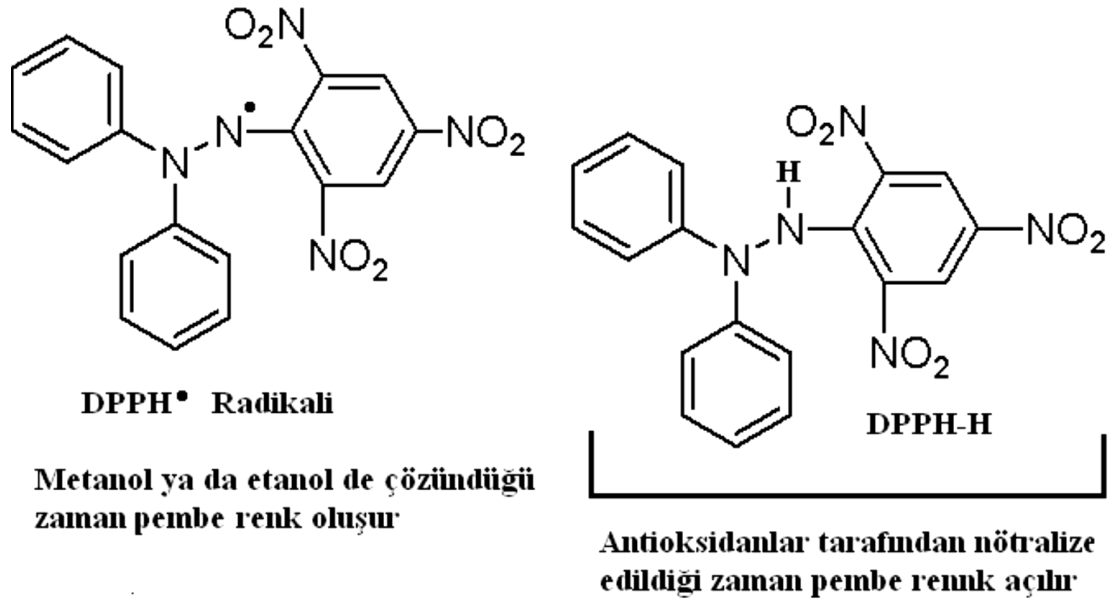
2.5. Şeker Analizi

Toplanan balların 10 g örneği blender içine alınarak distile su ile iyice homojenize edildi. Daha sonra sıvı kısım alındı. Bu işlemten sonra, toplam filtratın hacmi belirlenerek UV dedektörünün bağlı olduğu HPLC cihazı ile analiz edildi. Analizde mobil faz olarak Asetonitril+Su (v/v) (%75/%25) karışımı kullanıldı. Analiz için Supelcosil NH2 (250x4.6 mm, 5µ., Sigma USA) kolon kullanıldı ve dalga boyu 190 nm olarak seçildi. Şeker miktarının hesaplanması eksternal standart yöntemine göre yapıldı.

2.6. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi

DPPH, serbest radikal temizleme aktivitesi, Brand-Williams ve ark. Tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Bunun üzerine serbest radikal olarak 25 mg/l α,α-diphenyl bpicrylhydrazyl (DPPH) metanolde hazırlanılarak kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 200, 400 ve 800 µl bal ekstraktları ve DPPH çözeltisinden 3,9 ml ilave edildi. Karışımlar, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon sonunda absorbansları 517 nm’de blanka karşı spektrofotometrede okundu. Azalan absorbans, geriye kalan DPPH miktarı serbest radikal giderme aktivitesi olarak belirlendi. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\% = \frac{\text{KontrolABS} - \text{SampleABS}}{\text{KontrolABS}} \times 100$$



Şekil 1. DPPH radikalinin giderilmesi

2.7. Toplam Fenoliklerin Tayini

Bal örneklerinin toplam fenolik miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlendi (Singleton vd., 1999). 10 g bal etil alkol ile ekstrakte edildikten sonra, 1 ml alınarak üzerine 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilip vortekslendi ve 3 dk sonra da % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 3 mL ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında bırakıldı. Bu sürenin sonunda örneklerin yoğunluğu 760 nm'de destile suya karşı okundu. Bu işlem, her bal örneği için üç tekrar olarak yapıldı. Standart fenolik bileşik olarak pirokatekol ve kuersetin kullanıldı. Kalibrasyon grafiği çizdirmek için 25 mg pirokatekol ve 25 mg kuersetin ayrı ayrı deney tüplerinde çözüldükten sonra, 0, 50, 100, 200 ve 400 μL alınıp konsantrasyonu ve absorbansı belirlendikten sonra kalibrasyon grafiği çizilip hesaplama yapıldı.

2.8. Bal Örneklerinde 5-Hidroksimetilfurfural (HMF) Türevi Analizi

Bal örneklerinin HMF analizi HPLC cihazı ile yapıldı. 10 g bal örneği 50 mL'lik falkon tüplerine alınarak 10 ml su/ metanol (% 90/%10, v/v) karışımıyla çözüldükten sonra, 5000 rpm'de +4 °C'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra 1 mL otosampler viallerine alınarak HPLC cihazında analiz edildi. Analiz için, Supelcosil Ascentis RP Amide HPLC kolonu (150x4.6, 5 μm) ve mobil faz olarak da su ve metanol karışımı (% 90/%10, v/v) kullanıldı. HMF'nin analizi için 283 nm dalga boyu seçildi ve DAD dedektörü kullanıldı.

2.9. ABTS^{•+} Yok Edici Testi

ABTS radikal çözeltisi hazırlandıktan sonra, deney tüplerine 4 mL alınarak, tüplerin üzerine 100 µL bal ekstrelerinden eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra örneklerin absorbansı 734 nm’de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)’den oluşan köre karşı okunacaktır. Azalan absorbans ortamdan yok edilen ABTS radikallerinin miktarıyla doğru orantılıdır. Ekstrelerin ortamdaki ABTS radikallerinin ne kadarını temizlediği aşağıdaki formüle göre belirlenecektir. % ABTS Yok Etme Aktivitesi = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$. A_0 = Kontrolün absorbans değeri, A_1 = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbans değeri

2.10. *Saccharomyces cerevisiae*’nın Gelişme Ortamının Hazırlanması

Bu amaçla; öncelikle deneyde kullanılacak olan *Saccharomyces cerevisiae* FMC16’nın gelişimi ve çoğalması için YEDP (100 ml için 1 g yeast ekstrakt, 2 g baktopepton, 2 g glukoz) besiyeri ortamı hazırlandı. Her grup için tekrar sayısı (n) = 6 olarak yapıldı. Besiyeri ortamı hazırlandıktan sonra aşağıdaki gruplara ayrıldı;

1- Kontrol grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktopepton ve 4g glukoz içeren besiyeri ortamı hazırlandı.

2- Bal örnekleri: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktopepton ve 4 g bal içeren besiyeri ortamı hazırlandı. Her bal örneği ayrı bir grup olarak belirlenerek deneysel çalışma işlemi yürütüldü.

Besi yerleri hazırlandıktan sonra, 120 °C’de 15 dakika sterilizasyon yapıldıktan sonra laboratuvar şartlarına kadar soğutulup her kültür örneğine *S. cerevisiae* hücrelerinin stok kültüründen 1 ml düzeyinde aşılama yapıldı. Aşılama sırasında kontaminasyon olayına dikkat edildi ve hassas düzeyde çalışıldı.

Aşılama işleminden sonra kültürler 30 °C’de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda kültürler laboratuvar şartlarında 517 nm’de hücre yoğunlukları ölçüldükten sonra, 6000 rpm’de 5 dakika süreyle +4 °C’de santrifüj edilerek hücreler toplandı. Hücreler pellet olarak toplandıktan sonra yaş ağırlıkları belirlenip diğer biyokimyasal işlemlerin yapılmasına geçildi.

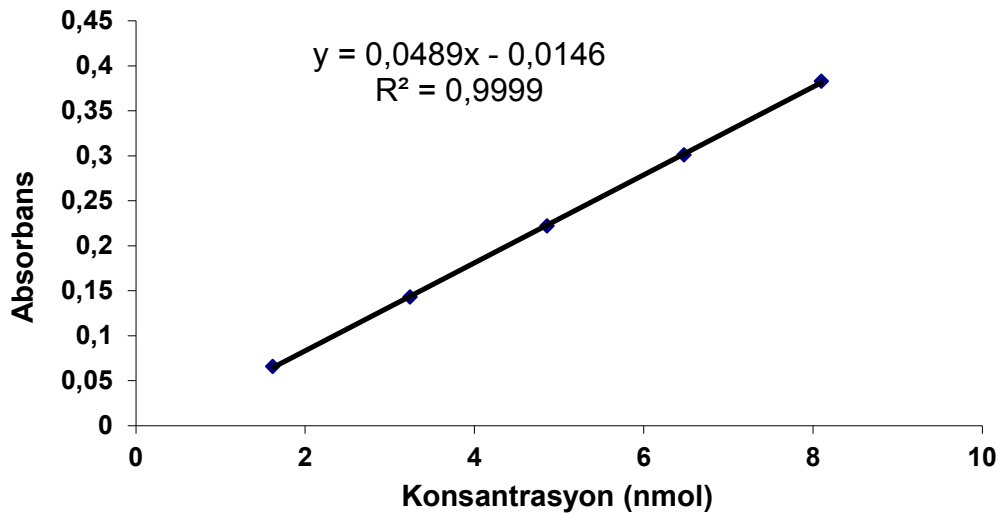
Hücre pelletleri, 20 mM Tris HCl-baz (pH= 7.4) ve 20 mM ETDA karışımıyla homojenize edilip santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı ile GSH, total protein ve

MDA ölçümleri yapıldı ve geriye kalan pellet 10 ml 3/2, (v/v) oranında n-hekzan/izopropanol karışımı ile homojenize edilerek, yağ asidi düzeyi, sterollerin (ergosterol, stigmasteol, β -sitosterol) analizi yapıldı.

Total protein düzeyi, Lowry yöntemine göre, GSH miktarı Elman reaktifi ile ve TBARS düzeyi ise thiobarbitürik asit reaktifinin kullanıldığı spektrofometrik yöntemlerle yapıldı. Yağ asitlerinin analizi gaz kromatografi, sterol ve lipofilik vitaminlerin analiz ise HPLC cihazıyla gerçekleştirildi. Sonuçlar SPSS istatistik programı kullanılarak analiz edilip farklılıklar istatistik açıdan değerlendirildi.

2.10.1. Maya Hücresinde MDA Miktarının Ölçülmesi

MDA (TBARS) düzeyinin ölçümü, Ohkawa vd. (1979)'nin metoduna göre bazı modifikasyonlar yapılarak spektrofotometre ile ölçüldü. Elde edilen süpernatant kısımdan 1 ml alınarak üzerine sırasıyla: 0,5 ml % 8,1'lik SDS, 0,5 ml % 0,8'lik TBA, 1ml % 10'luk TCA, 1ml % 20'lik asetik asit ve 50 μ l % 4'lük BHT eklendi ve bu karışım vortekslendi. Karışım, 97 °C'de kaynar su banyosunda 1 saat bekletildi. Bu süre sonunda örnekler çıkarılıp soğutularak bütanol-pridin karışımı (3/1) (v/v) eklenip, vortekslendikten sonra 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda üstteki kısımdan 2 ml alınarak, oluşan pembe renk spektrofotometrede 532 nm'de köre karşı okundu. Homojenattaki MDA miktarı tayini, Şekil'2 de verilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.



Şekil 2. MDA kalibrasyon eğrisi

2.10.2. Maya Hücresinde Glutasyon Miktarının Ölçülmesi

1 mL supernatant üzerine 1 ml % 10'luk TCA ilave edildi. Bu şekilde proteinlerin çöktürülmesi sağlandı. Karışım bu şekilde yaklaşık 10 dk oda sıcaklığında bekletildi ve bu sürenin sonunda 4500 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek proteinlerin çöktürülmesi sağlandı. Proteinler çöktürüldükten sonra üst süpernatant kısım başka bir deney tüpüne alındı ve GSH miktarını ölçmek için aşağıdaki işlemler yapıldı. Süpernatant kısım üzerine 0.3 M Na_2HPO_4 çözeltisinden 2 ml ilave edildi ve 0.5 ml % 0.03'lük DTNB çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı 5-10 sn sonra oluşan sarı renk oda sıcaklığında iyice stabil hale geldikten sonra 412 nm'de blank'a karşı okundu.

2.10.3. Glutasyon Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması

Örneklerdeki GSH miktarı tayini, saf GSH standardından (Merck) hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Bunun için; saf glutatyondan 10 ml için 0.002 g olacak şekilde hazırlandıktan sonra aşağıdaki şekilde gruplar oluşturuldu:

S1 → 20 µl GSH + 2 ml Na_2HPO_4 + 1 ml DTNB

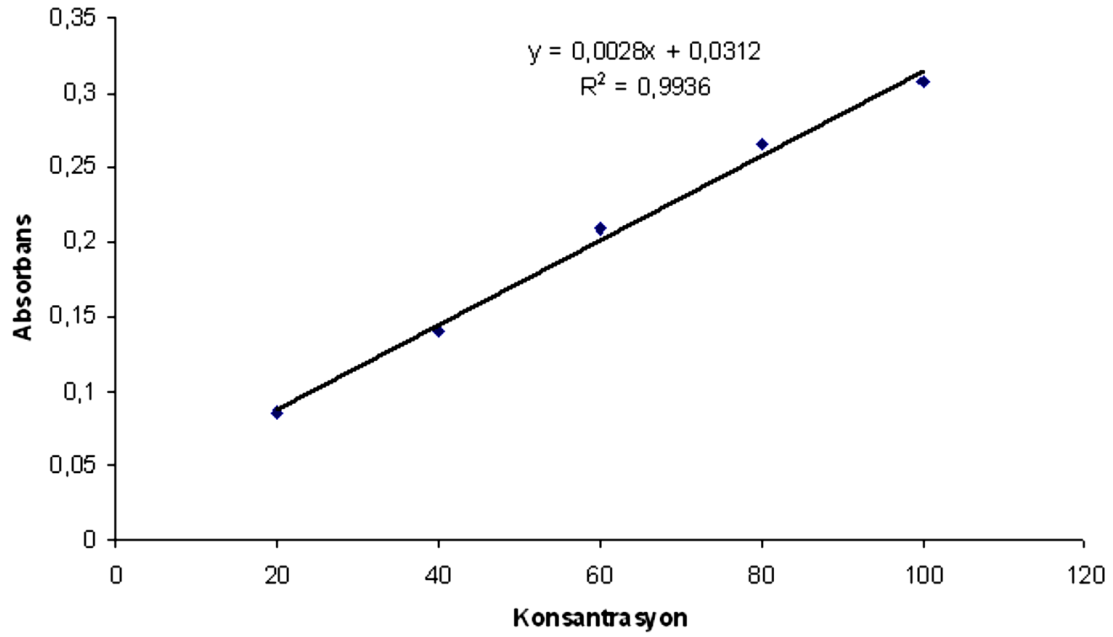
S2 → 40 µl GSH + 2 ml Na_2HPO_4 + 1 ml DTNB

S3 → 60 µl GSH + 2 ml Na_2HPO_4 + 1 ml DTNB

S4 → 80 µl GSH + 2 ml Na_2HPO_4 + 1 ml DTNB

S5 → 100 µl GSH + 2 ml Na_2HPO_4 + 1 ml DTNB

Gruplar, stabil hale geldikten sonra 412 nm'de blank'a karşı okundu ve okunan değerlere göre Şekil 3'deki kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. GSH miktarının hesaplanmasında mg/g pellet miktarı cinsinden belirlendi.



Şekil 3. Glutatyon (GSH)'nın kalibrasyon eğrisi

2.10.4. Maya Hücresinde Total Protein Miktarının Ölçülmesi

Örneklerin total protein miktarlarının ölçümü Lowry yöntemine göre yapıldı. Bu amaçla aşağıdaki çözeltiler hazırlandı:

A= %1 (w/v) Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi

B= %2 (w/v) Sodyum potasyum tartarat

C= 0.2 M Sodyum hidroksit

D= % 4 (w/v) Sodyum karbonat

Protein ile ilgili deney yapılacağı zaman 49 ml C reaktifi üzerine 49 ml D reaktifi ilave edildi, daha sonra 1 ml A ve 1 ml B reaktifinden ilave edildi. Bu çözeltilerin karışımından hazırlanan reaktife E solüsyonu adı verildi. Daha sonra protein çözeltisinden deney tüpüne alındı ve örnek üzerine 4 ml E reaktifinden ilave edildi, karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bekleme süresi sonunda 500 µl Folin (10 ml Folin-Ciocalteau reaktifi üzerine 10 ml saf su ilave edilerek hazırlanır) karışımında eklenerek 30 dakika tekrar oda sıcaklığında bekletildi ve sonra 750 nm'de balnk'a karşı spektrofotometrede okundu.

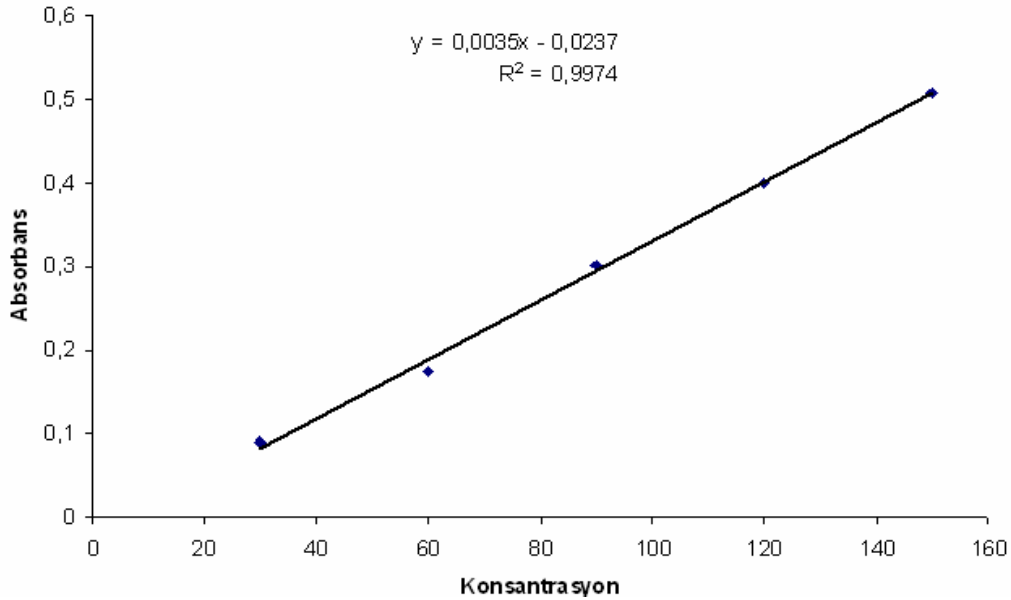
Total protein ölçümünde maya hücresinde proteinler çöktürüldükten sonra elde edilen pellete 1ml distile su ilave edilip vortekslendi, tekrar santrifüj edildi ve oluşan süpernatanta ölçüm yapıldı.

2.10.5. Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması

Bu amaçla saf haldeki albuminden 10 ml için 0.003 g olacak şekilde hazırlandıktan sonra standart grupları aşağıdaki şekilde hazırlandı:

- S1→ 100 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S2→ 200 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S3→ 300 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S4→ 400 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S5→ 500 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin

Gruplar 750 nm’de blank’a karşı okundu ve okunan değerlere göre Şekil 4’deki kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Örneklerin protein miktarları elde edilen bu kalibrasyon eğrisindeki denklem vasıtasıyla hesaplandı.



Şekil 4. Protein kalibrasyon eğrisi

3. BULGULAR

3.1. Bal Örneklerinin Flavonoid İçerikleri

Flavonoid analizi sonuçlarına göre, rutin miktarı en fazla 5. grup balın sahip olduğu ($p<0.001$), 1, 2, 3 ve 4. ballarda ise rutin içeriği tespit edilmedi. 6 ve 7. bal örneklerinde ise istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

Mirisetin miktarı bakımından 7. grup balın bu flavanoiti diğer ballara göre yüksek oranda içerdiği, 3. ve 5. bal örneklerinin ise bu flavanoiti belirli miktarda içerdiği ve aralarında fark gözlenmediği tespit edildi ($p>0.05$).

Morin miktarı, 5. bal örneğinde 7. bal örneğine göre daha yüksek oranda tespit edilmiş olup diğer ballarda bulunamamıştır. Ayrıca, Quercetin miktarı da yalnızca 7. Bal örneğinde olduğu saptandı (Tablo 1).

Tablo 1. Balların flavonoid düzeyleri ($\mu\text{g}/1\text{ g}$)

Bal örnekleri	Rutin	Mirisetin	Morin	Kuarsetin	Kaempferol
Bal 1	—	—	—	—	—
Bal 2	—	—	—	—	—
Bal 3	—	200	—	—	—
Bal 4	—	—	—	—	—
Bal 5	720	333	200	—	—
Bal 6	333.3	—	—	—	—
Bal 7	133.3	800	66.6	266.6	—

Naringin miktarı, en yüksek oranda 5. örnekteki bal da tespit edilmiştir. Naringin miktarı guplar arasında karşılaştırıldığında 1, 2, 3 ve 4. grup ballarda fark gözlenmediği halde ($p>0.05$), 7. grup balda ise yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca resveratrol da belirli miktarda sadece 6. bal örneğinde bulunmuştur (Tablo 1).

Tablo 1'in Devamı Balların flavonoid düzeyleri ($\mu\text{g}/1\text{ g}$)

Bal örnekleri	Kateşin	Naringin	Naringenin	Resveratrol
Bal 1	—	400	—	—
Bal 2	—	400	—	—
Bal 3	—	400	—	—
Bal 4	—	400	—	—
Bal 5	—	1800	—	—
Bal 6	—	—	—	66.6
Bal 7	—	800	—	—

3.2. Bal Örneklerinin Şeker İçerikleri

Şeker analizi sonuçlarına göre, ballar fruktoz açısından değerlendirildiğinde, 5 ve 7. gruplarda yüksek miktarda bulunup istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Diğer gruplarda ise azaldığı belirlendi. Arabinoz miktarı ise bütün gruplarda düşük miktarda tespit edildi. Glukoz miktarı incelendiğinde, 1 ve 6. örnekler arasında istatistiksel farklılık gözlenmediği halde ($p>0.05$), 2, 3, 4 ve 5. örneklerde azaldığı belirlendi ($p<0.05$). 7. örnekteki balda ise yüksek bulundu(Tablo 2).

Tablo 2. Bal örneklerinin şeker düzeyleri ($\text{mg}/10\text{ g}$)

Bal örnekleri	Arabinoz	Fruktoz	Glukoz
Bal 1	0.15 $\pm$ 0.01	96.15 $\pm$ 0.30	188.20 $\pm$ 0.25
Bal 2	0.16 $\pm$ 0.01	91.68 $\pm$ 0.21	163.07 $\pm$ 0.18
Bal 3	0.00 $\pm$ 0.00	92.66 $\pm$ 0.06	143.80 $\pm$ 0,19
Bal 4	0.06 $\pm$ 0.03	98.72 $\pm$ 0.47	166.70 $\pm$ 0.80
Bal 5	0.00 $\pm$ 0.00	359.9 $\pm$ 0.10	157.28 $\pm$ 0.33
Bal 6	0.12 $\pm$ 0.02	90.96 $\pm$ 0.24	184.56 $\pm$ 0.19
Bal 7	0.00 $\pm$ 0.00	336.36 $\pm$ 0.23	215.10 $\pm$ 0.05

Maltoz miktarı, 5. ve 7. grup ballar arasında farklılık gözlenmediği halde, 1, 2, 3, 4 ve 6. ballarda artış gözlenmiştir. Sakkaroz miktarı, 5. ve 7. örneklerde farklılık gözlenmediği halde diğer gruplarda azaldığı ve oldukça düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

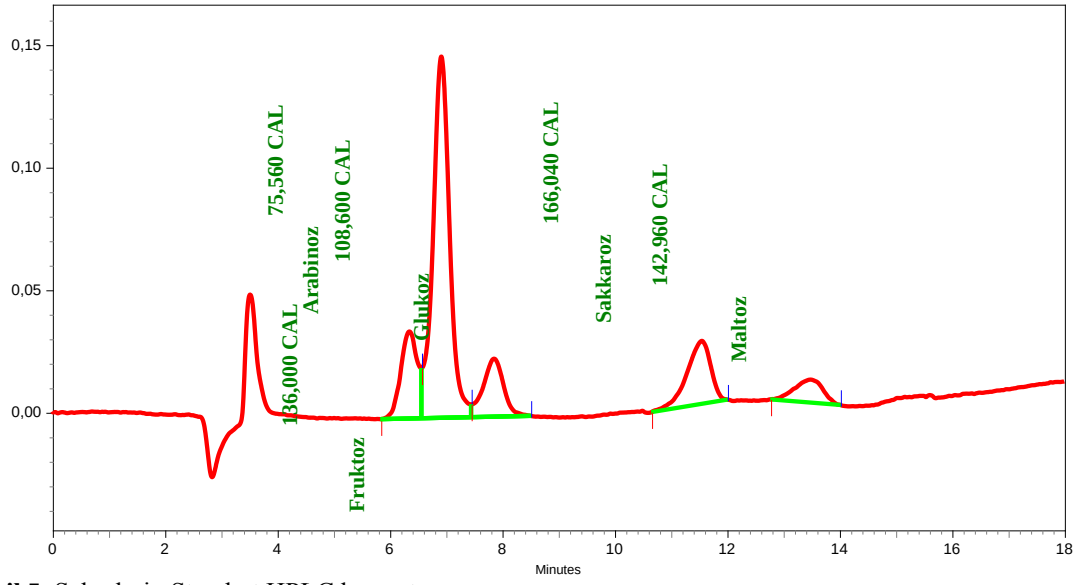
Tablo 2'nin Devamı Balların şeker düzeyleri (mg/10g)

Bal örnekleri	Sakkaroz	Maltoz
Bal 1	0.13±0.01	313,91±0.46
Bal 2	0.196±0.01	313.91±0.34
Bal 3	0.000±0.00	265.81±0.24
Bal 4	0.000±0.00	223.88±0.45
Bal 5	21.94±0.07	0.5100±0.01
Bal 6	0.140±0.01	301.43±0.55
Bal 7	18.51±0.36	0.1400±0.00

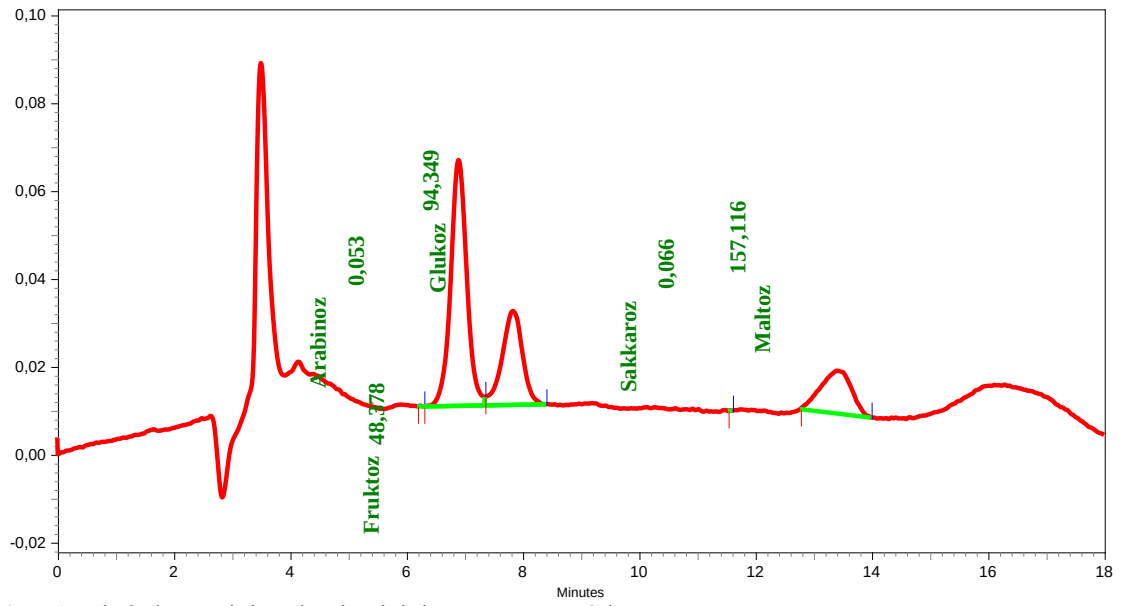
Tüm bu sonuçlar doğrultusunda toplam şeker miktarları karşılaştırıldığında ise; maltoz miktarının oldukça belirgin düzeyde fazla olduğu gözlemlendi ($p<0.0001$). Glukoz ve fruktoz ise belirli miktarda olup aralarında fark bulunmadı. Sakkaroz ve arabinoz ise düşük düzeyde bulundu (Tablo 2).

Tablo 3. Bal örneklerinin yüzde olarak şeker içerikleri (%)

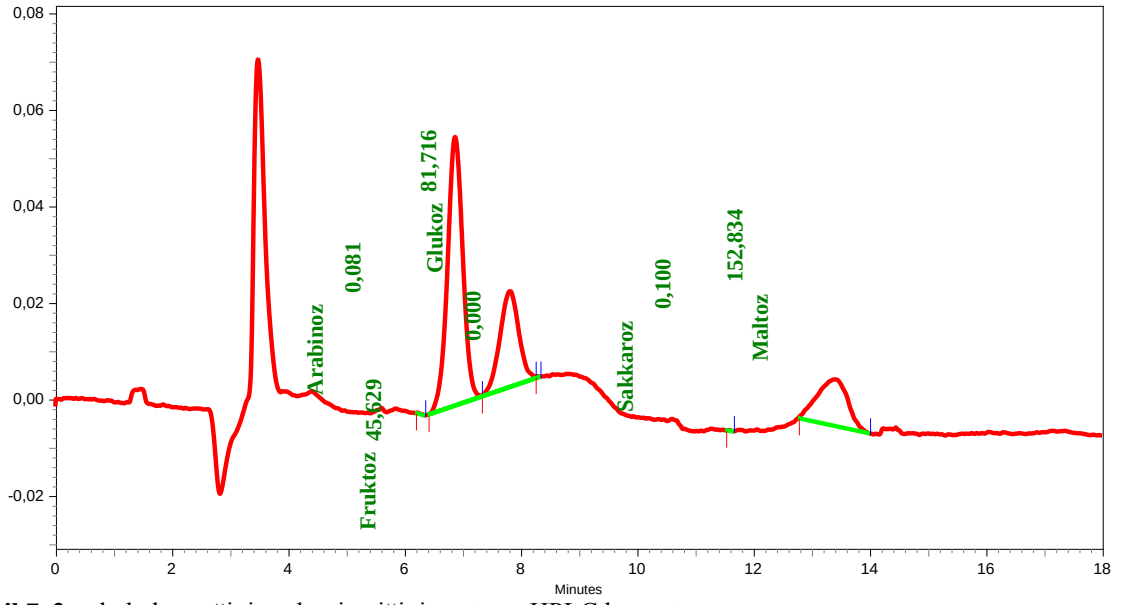
Bal örnekleri	Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	Sakkaroz	Maltoz
Bal 1	0.026	55.01	26.55	0.015	18.38
Bal 2	0.043	55.99	24.77	0.025	19.29
Bal 3	00.0	59.60	22.84	00.0	17.75
Bal 4	0.012	58.31	24.02	00.0	17.64
Bal 5	0.00	89.190	9.64	1.12	0.012
Bal 6	0.00	60.20	24.3	0.03	16.93
Bal 7	0.00	84.64	14.61	0.73	0.010



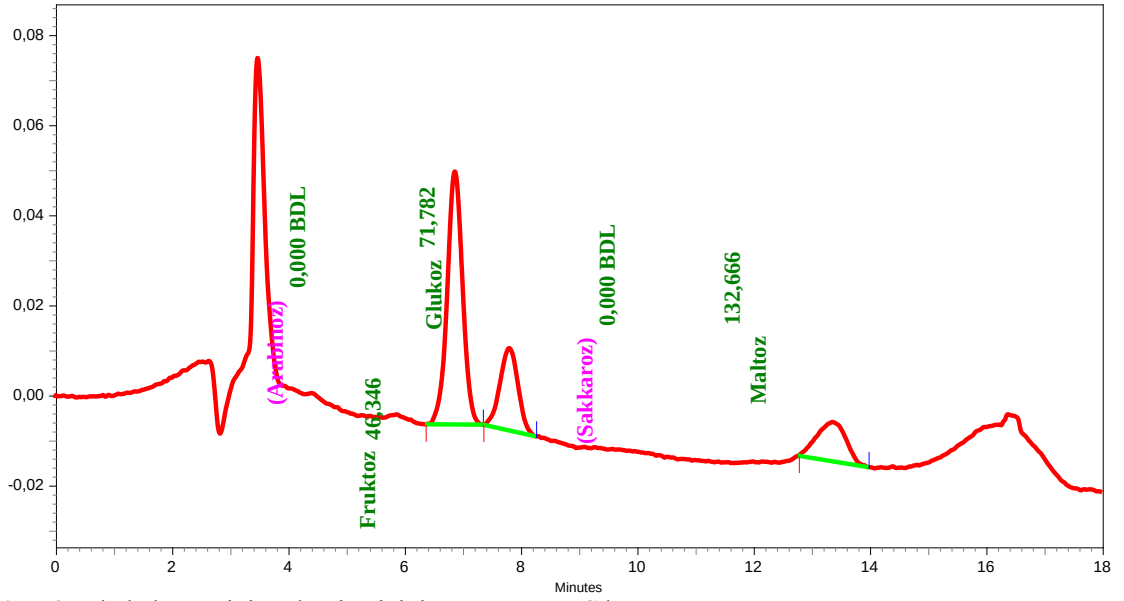
Şekil 5. Şekerlerin Standart HPLC kromatogramı



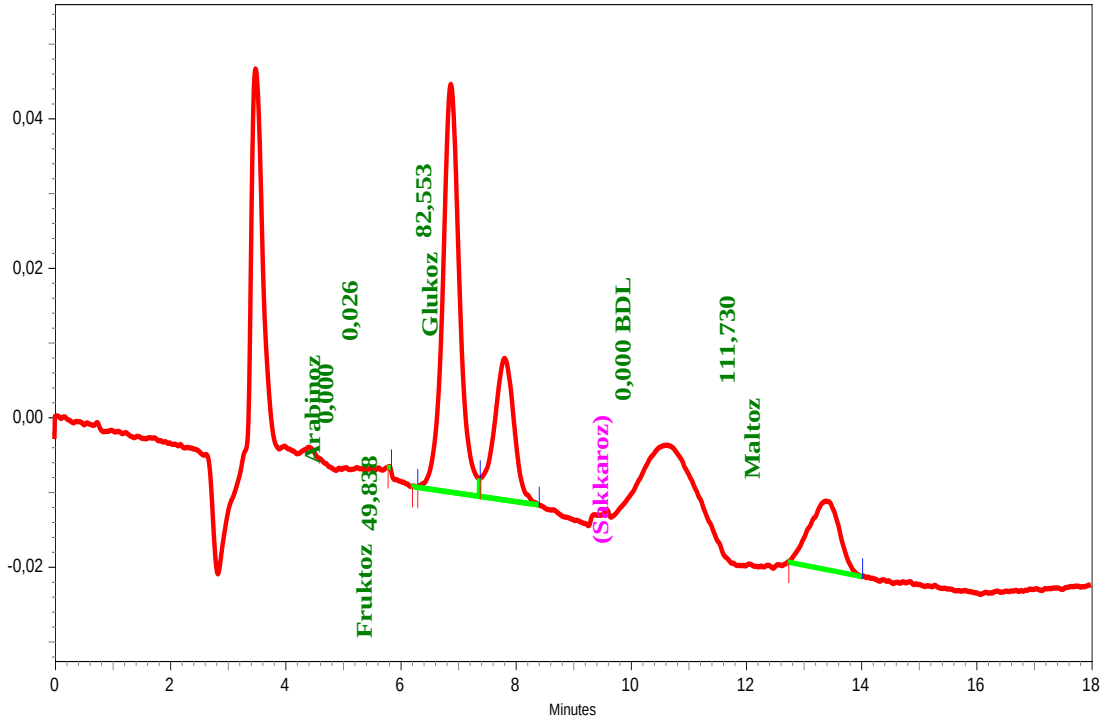
Şekil 6. 1 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı



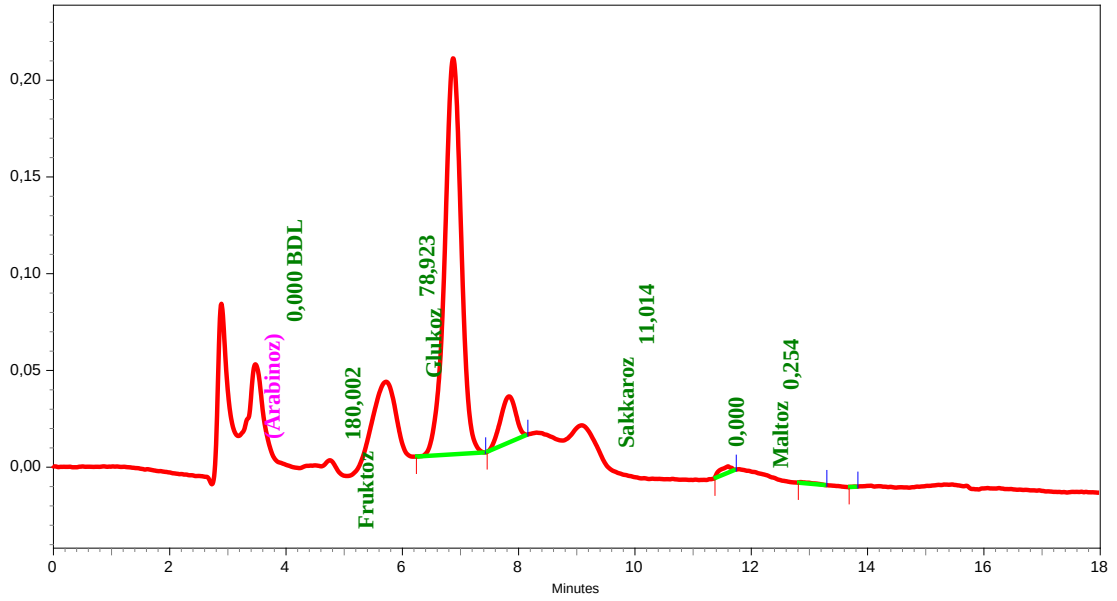
Şekil 7. 2 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı



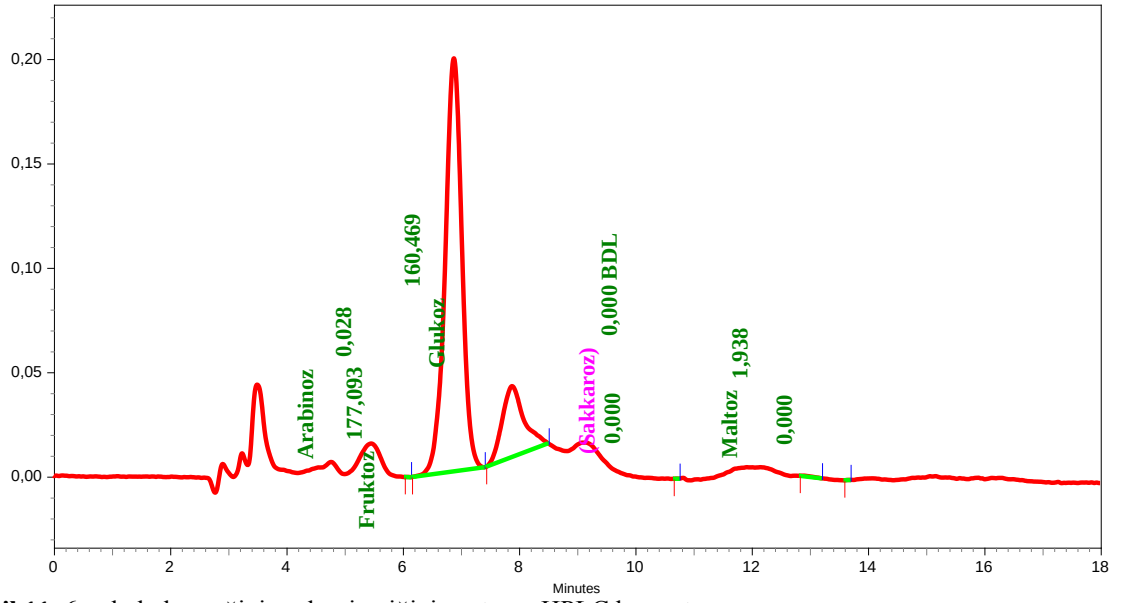
Şekil 8. 3 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı



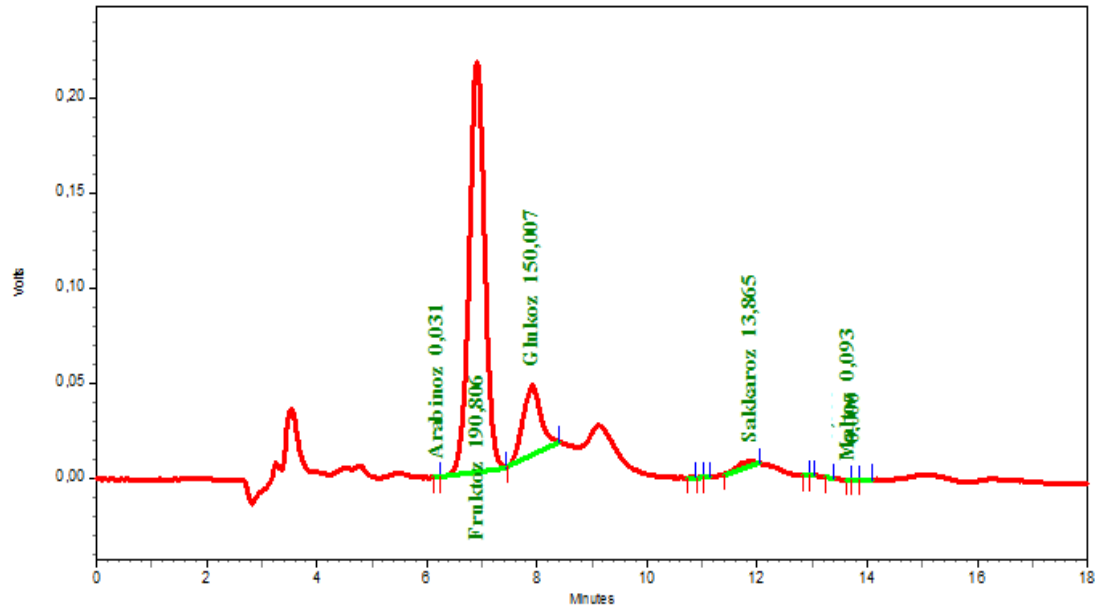
Şekil 9. 4 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı



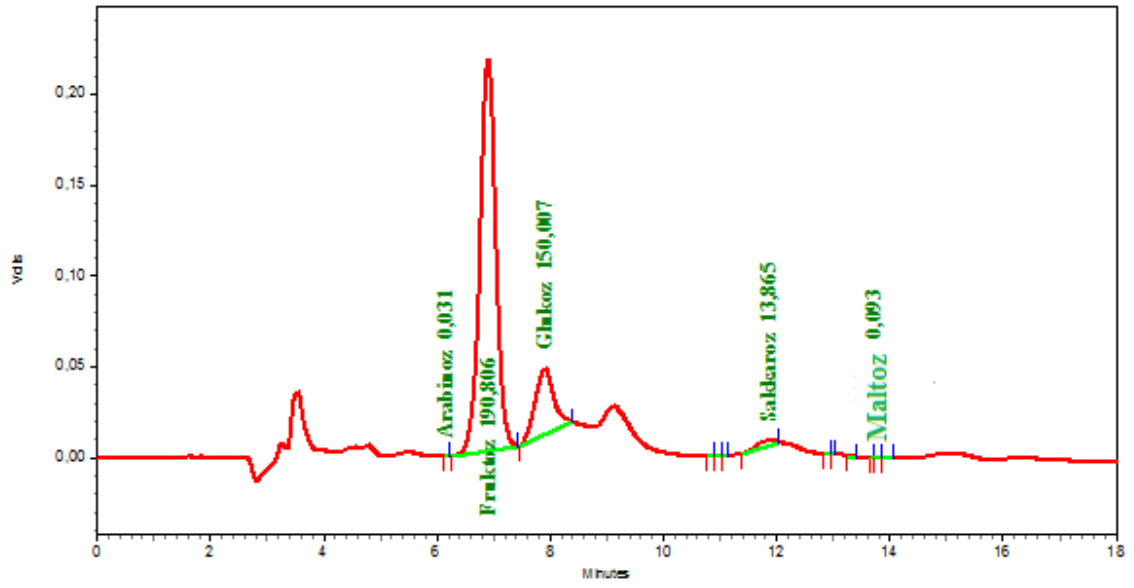
Şekil 10. 5 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı



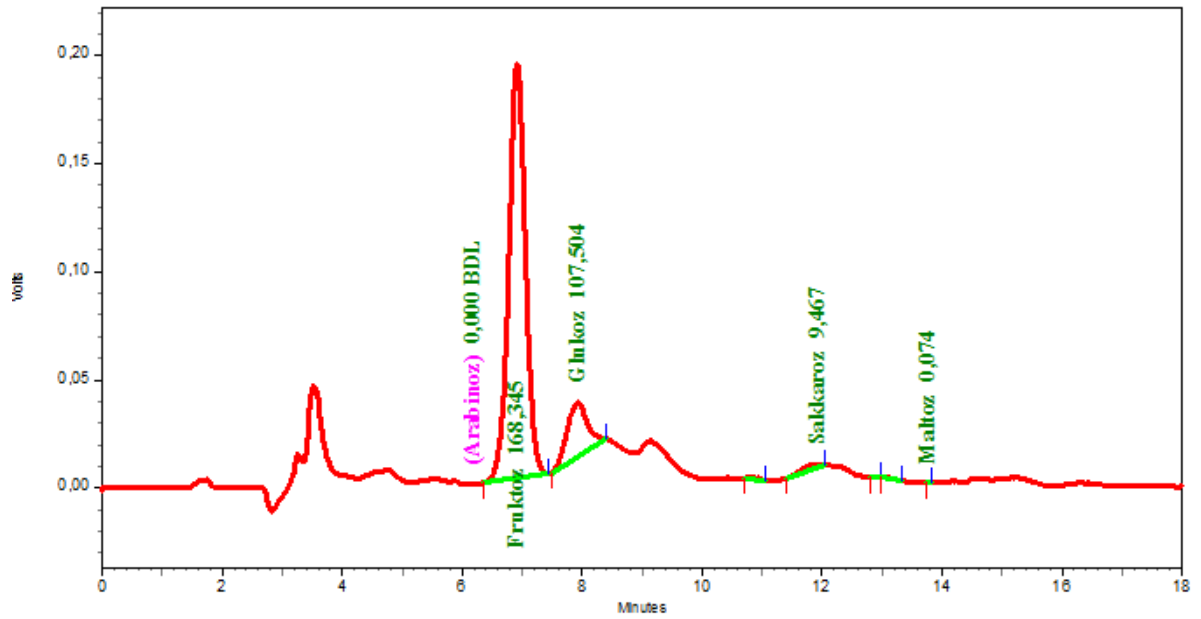
Şekil 11. 6 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı



Şekil 12. 7 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı

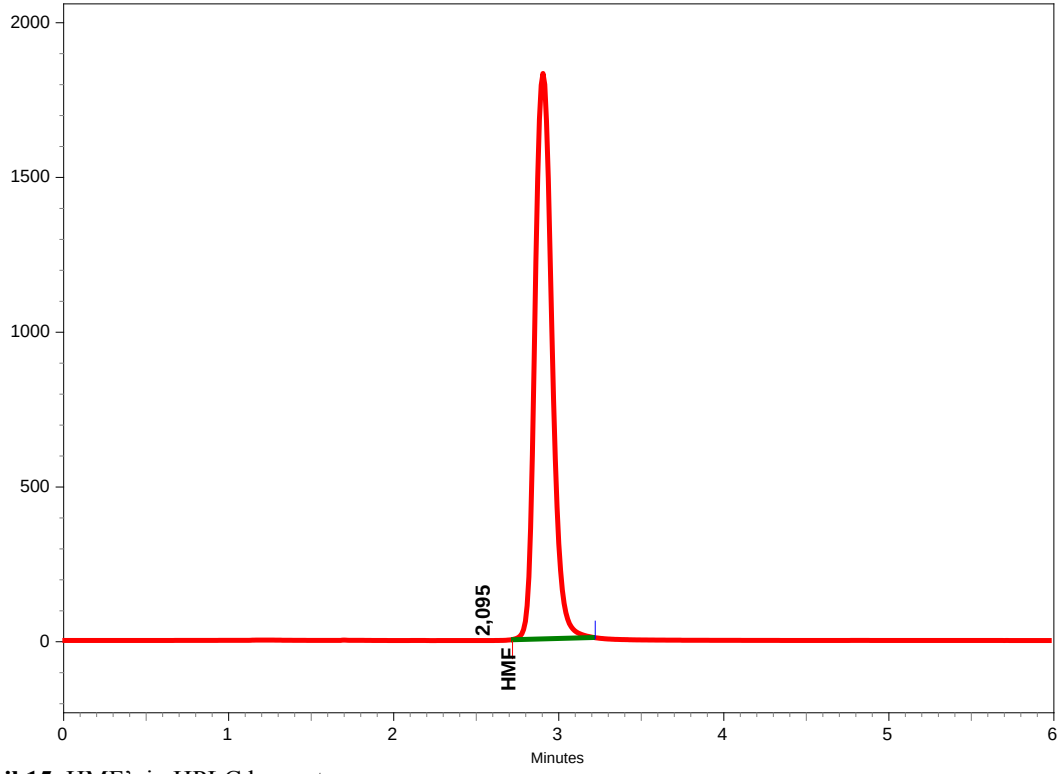


Şekil 13. 8 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı

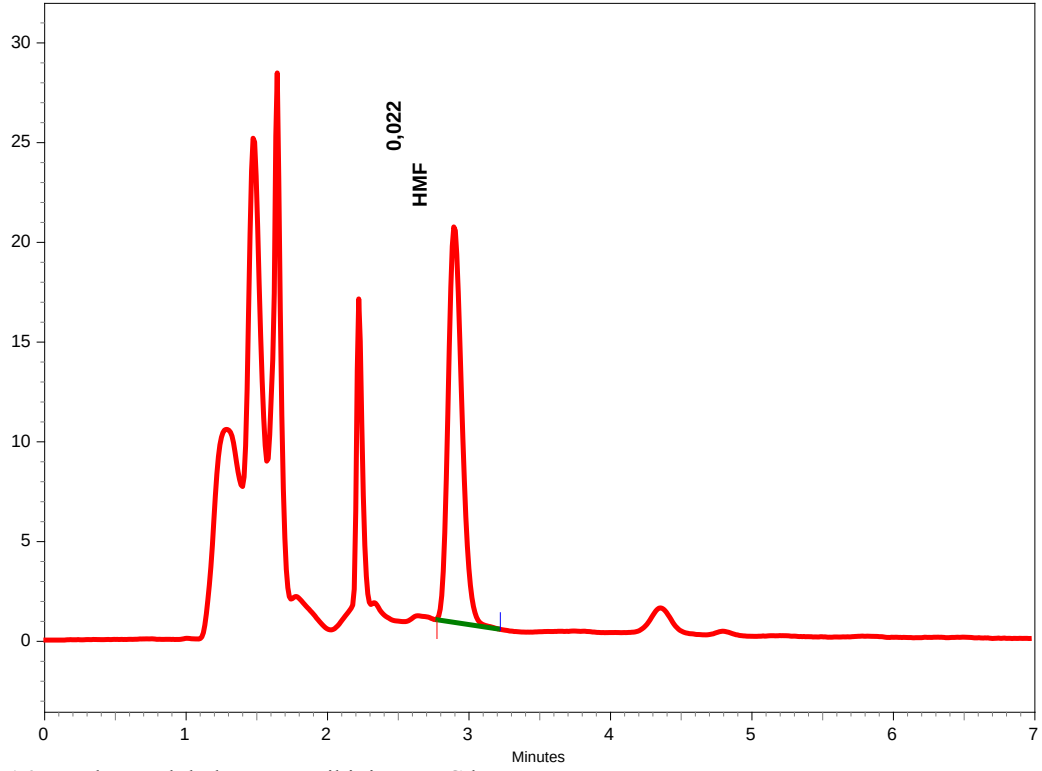


Şekil 14. 9 nolu bal örneğinin şeker içeriğini gösteren HPLC kromatogramı

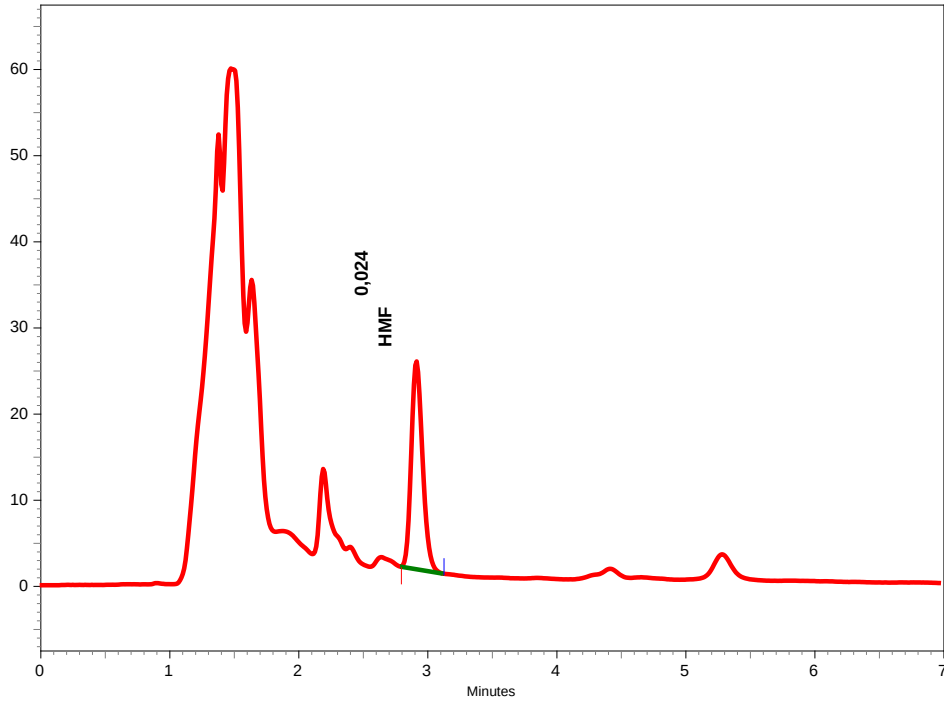
3.3. Bal Örneklerinin HMF Düzeyleri



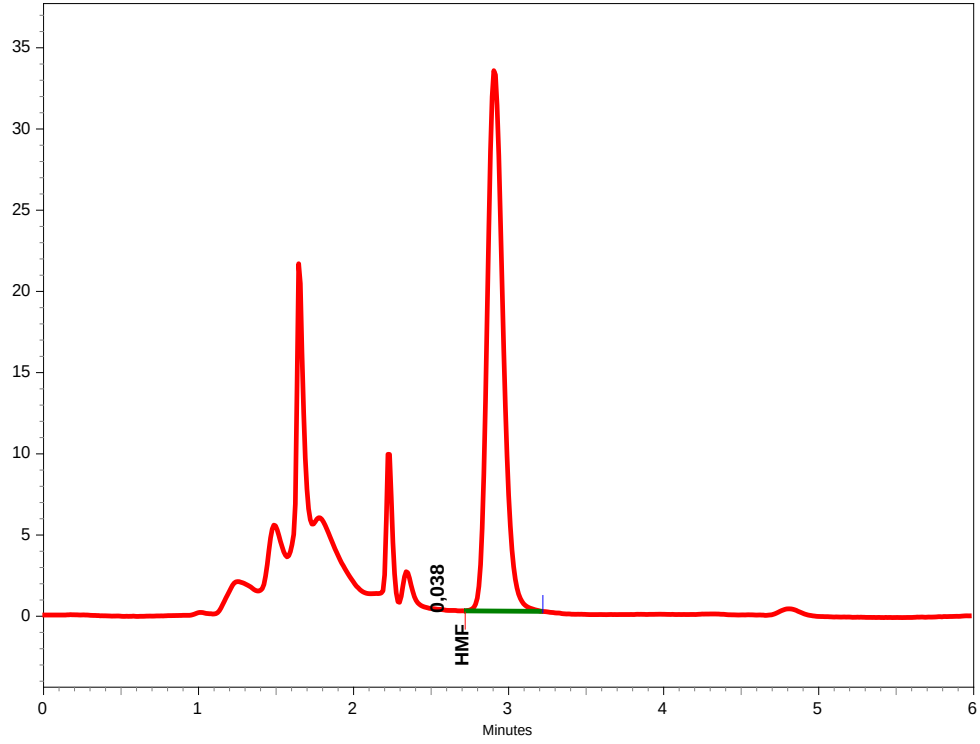
Şekil 15. HMF'nin HPLC kromatogramı



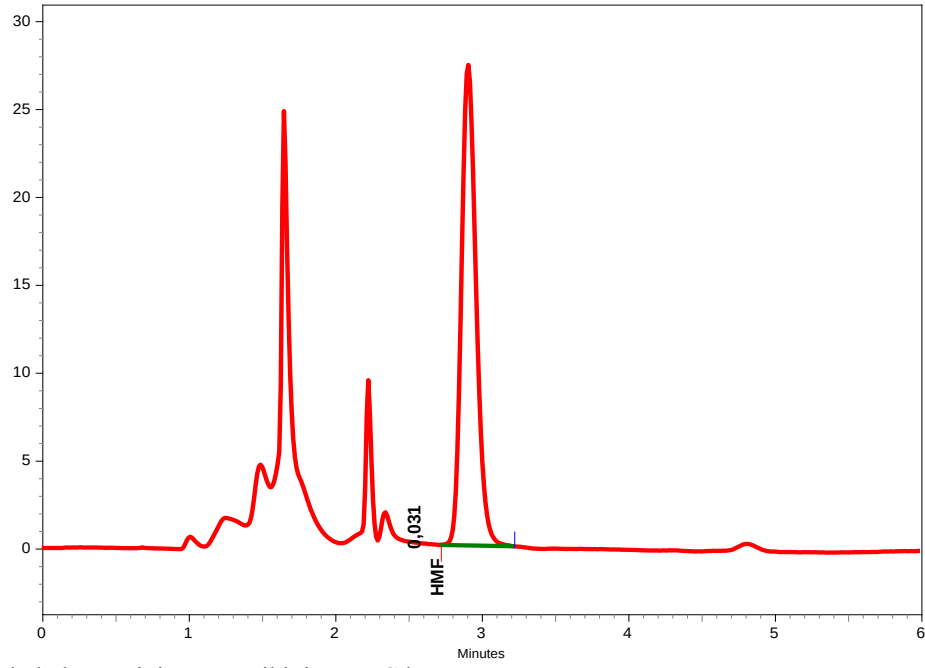
Şekil 16. 5 nolu örnek balın HMF pikinin HPLC kromatogramı



Şekil 17. Kaliteli bal olarak belirtilen balın HMF pikinin HPLC kromatogramı



Şekil 18. 2 nolu bal örneğinin HMF pikinin HPLC kromatogramı

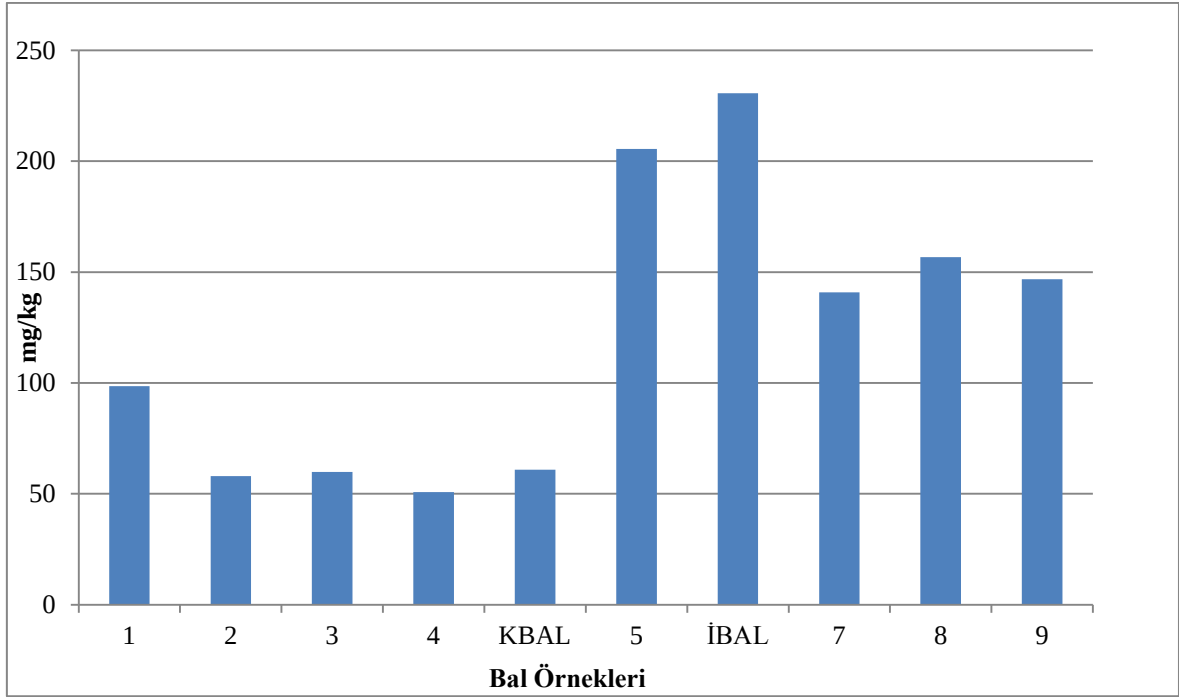


Şekil 19. 1 nolu bal örneğinin HMF pikinin HPLC kromatogramı

HMF miktarı açısından incelendiğinde, 5. grup balda oldukça düşük miktarda bulunup, diğer grup ballarda HMF miktarının belirli bir düzeyin üzerinde olduğu belirlendi (Tablo 4).

Tablo 4. Balların HMF düzeyler (µg)

Bal örnekleri	HMF
Bal 1	5.93±0.26
Bal 2	6.93±0.56
Bal 3	6.46±0.06
Bal 4	6.56±0.16
Bal 5	0.76±0.03
Bal 6	5.66±0.0.1
Bal 7	4.40±0.02



Şekil 20. Bal örneklerinin prolin içeriği (mg/kg)

KBAL: Katkı maddeli olan bal örneği

İBAL: Katkı maddesi bulunmayan bal örneği

3.4. Bal Örneklerinin DPPH Radikali Temizleme Etkisi

DPPH (α,α -diphenyl-b-picrylhydrazyl) serbest radikalini temizleme sonuçlarına göre; 200 μ l konsantrasyondan itibaren tüm bal örneklerinin antioksidan aktivite gösterdiği saptandı. 200 μ l'lik konsantrasyonda örnekler içerisinde 5. ve 7. bal örneklerinin diğer örneklere göre belirgin oranda radikal temizle etkisinin olduğu belirlendi. Konsantrasyona bağlı olarak gruplar karşılaştırıldığında her farklı konsantrasyonda 5 ve 7. örneklerin en yüksek radikal temizleme kapasitesine sahip olduğu gözlemlendi. Diğer bal örneklerinin de her farklı konsantrasyonda belirgin farklılık gözlenmedi (Tablo 5).

Tablo 5. Bal örneklerinin DPPH radikalini temizleme aktiviteleri (%)

Bal Örnekleri	200 µL	400 µL	800 µL
Bal 1	70,31±1,56	88,96± 5,23	72,37±0.62
Bal 2	63.80±0.36	89,52±0.16	70,09±1.54
Bal 3	61.82±0.91	84,69±0.76	71,82±3.12
Bal 4	61.74±3.07	83,80±0.20	70,12±3.29
Bal 5	78.01±1.48	94,36±1.37	78,55±4.65
Bal 6	59.55±1.33	80,33±0.44	68,42±0.62
Bal 7	81.14±1.35	90,96±2.25	72,37±0.75

3.5. Balların ABTS Radikali Temizleme Etkisi

ABTS radikalini temizleme sonuçlarına göre; 100µL konsantrasyonda 3, 5 ve 7. örneklerde belirgin oranda radikal temizle etkisinin olduğu belirlenip aralarında farklılık gözlenmediği halde 4. örnekte radikal temizleme etkisinin daha yüksek olduğu, diğer örneklerde ise azaldığı belirlendi. Konsantrasyona bağlı olarak gruplar karşılaştırıldığında her farklı konsantrasyonda 3, 5 ve 7. örneklerde belirgin miktarda radikal temizleme etkisi olup en yüksek miktarda 4. örnekte belirlendi. Diğerlerinin ise oldukça az radikal temizleme etkisinin olduğu saptandı (Tablo 6).

Tablo 6. Bal örneklerini ABTS Radikali Temizleme Etkisi

Bal Örnekleri	100 µL	200 µL	400 µL
Bal 1	0.86 ±0,06	0.766±0,03	14,66±0.63
Bal 2	1,53 ±0.03	0.613±0.03	13,31±1.43
Bal 3	15,94±0.32	30,07±0.25	68,73±1.52
Bal 4	21,29±0.00	39,96±0.00	79,44±1.56
Bal 5	17,98±1.19	30,04±4.06	68,35±2.51
Bal 6	1,53± 0.60	0.613±2.50	13,31±1.25
Bal 7	15,94±1.06	30,07±0.89	68,73±0.54

3.6. Balların Total Fenolik düzeyleri

Ballar total fenolik miktarı açısından değerlendirildiğinde; 5, 6 ve 7 de farklılık gözlenmediği halde, diğer örneklerde azalma saptanmıştır.

Tablo 7. Balların Total Fenolik düzeyleri

Bal Örnekleri	Total fenolik (μg)
Bal 1	0.0720
Bal 2	0.0400
Bal 3	0.0400
Bal 4	0.0500
Bal 5	0.1300
Bal 6	0.0900
Bal 7	0.1400

3.7. Balların *S. cerevisiae* Maya Hücresinin Yağ Asidi Profili Üzerine Etki

Balların *S. cerevisiae* mayasının yağ asidi profili üzerine etkisi incelendiğinde; miristik asit (14:0) miktarının kontrol grubuna göre 1, 2, 3, 4 ve 5. grup ballarda istatistiksel farklılık bulunmadığı halde, 6 ve 7. örnekte azalma gözlemlenmiştir. Miristoleik asit (14:1) düzeyinin kontrole göre 2, 4 ve 5. gruplarda önemli bir farklılık göstermediği halde, 1 ve 3. gruplarda arttığı, 6 ve 7 de ise azaldığı belirlendi. 15:1 yağ asidini kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında 1 ve 2. gruplarda istatistiksel açıdan önemli farklılık gözlenmediği halde 4 ve 5. gruplarda azaldığı fakat bu azalmanın 6 ve 7. örneklerde daha anlamlı olduğu bulundu. Ayrıca 3. örnekte ise kontrol grubuna göre artışın olduğu belirlendi (Tablo 8).

Palmitik asit (16:0) miktarının kontrol grubuna göre kıyaslandığında, 4 ve 5. bal örneklerinde istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Buna karşılık 1, 2 ve 3. bal örneklerinde kontrol grubuna göre azalma tespit edildi ($p<0.05$). Bu azalma 6 ve 7. örnekte ise daha belirgin olduğu saptandı ($p<0.001$). Palmitoleik (16:1, n-7) asidi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında 2, 4, 6 ve 7 de farklılık olmadığı halde, 1 ve 3 de arttığı 5. örnekte ise azaldığı tespit edildi (Tablo 8).

Tablo 8. Bal örneklerinin *S. cerevisiae* 'nın yağ asidi profili üzerine etkisi (µg/g)

Bal örnekleri	14 : 0	14: 1	15: 1	16: 0	16: 1
Kontrol	4.25±0.33	7.66±0.36	7.32±0.25	54.25±0.93	3.84±0.30
Bal 1	3.76±0.21	10.40±0.34	8.99±0.32	40.39±1.51	7.89±0.34
Bal 2	3.80±0.24	8.51±0.74	8.08±0.53	40.73±8.10	4.37±0.54
Bal 3	3.61±0.07	10.04±0.28	9.60±0.44	46.04±1.20	6.90±0.11
Bal 4	3.27±0.31	6.51±0.70	6.87±0.72	53.27±4.57	3.11±0.42
Bal 5	3.57±0.07	6.30±0.17	6.52±0.17	50.57±0.83	2.89±0.10
Bal 6	1.65±0.23	5.21±0.60	3.81±0.49	25.81±3.11	4.31±0.48
Bal 7	1.15±0.00	4.19±0.62	3.59±0.48	19.01±3.27	3.57±0.44

Stearik asit (18:0) düzeyini kontrole göre karşılaştırıldığında 2 ve 5. örneklerde farklılık olmadığı halde, diğer bal örneklerinde arttığı saptandı. Bu artış 6. bal örneğinde ise daha belirgin olduğu belirlendi. Oleik asidin (18:1) kontrol grubuna göre kıyaslandığında 6. ve 7. örneklerde belirgin düzeyde azaldığı gözlemlendi ($p<0.0001$). Diğer gruplarda ise artış tespit edildi. Örnekler içinde en belirgin artışın 5. grup balda olduğu saptandı ($p<0.0001$). Linoleik asit (18:2) miktarının kontrole göre 2, 3 ve 5 de farklılık gözlenmeyip 4. örnekte artış gösterdiği belirlendi. 1, 6 ve 7. örneklerde ise azalma tespit edilmiş olup bu azalma 6 ve 7. örnekte daha belirgin olduğu belirlendi.

Tablo 8'in Devamı Balların *S. cerevisiae* 'nın yağ asidi profili üzerine etkisi (µg/g)

Bal örnekleri	18:0	18:1	18:2	22:6
Kontrol	5.38±0.25	4.81±0.54	4.00±0.90	2.97±0.25
Bal 1	6.33±0.72	7.35±1.46	2.79±0.33	3.94±0.36
Bal 2	5.57±0.43	8.62±3.17	3.21±0.58	3.21±0.61
Bal 3	6.68±0.43	5.70±0.60	3.53±0.66	4.00±0.51
Bal 4	6.96±1.58	6.39±2.97	6.93±4.27	2.84±0.94
Bal 5	5.71±0.33	12.21±0.45	3.68±0.19	2.48±0.24
Bal 6	9.03±0.90	1.08±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00
Bal 7	6.94±1.14	0.00±0.00	1.51±0.00	0.00±0.00

Bal örneklerinin *S. cerevisiae* 'nin vitamin profili üzerine etkisi incelendiğinde; D2 vitamini açısından kontrol grubuna göre, 1, 4 ve 5. bal örneklerinde istatistiksel farklılık

bulunmadı. Diğer gruplarda ise; kontrol grubuna göre azaldığı saptandı. α - tokoferol (Vitamin E) miktarı bakımından incelendiğinde kontrol grubuna göre; 2, 3, 5, 6 ve 7. örneklerde farklılık gözlenmezken ($p>0.05$) 1 ve 4. örneklerde arttığı belirlendi ($p<0.05$).

Ergosterol miktarı, kontrol grubuna göre; 3. bal örneğinde istatistiksel farklılık gözlenmediği halde, 2,4 ve 5. örneklerde yükseldiği gözlemlendi. Buna karşılık, 1, 6 ve 7. örneklerde ise azaldığı gözlemlendi. Stigmasterol açısından değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre, 6 ve 7. bal örneklerinde azalma gözlenirken diğer gruplarda kontrol grubuna göre belirgin farklılık gözlenmedi. β -sitosterol açısından incelendiğinde ise kontrol grubuna göre 6 ve 7. örneklerde artış gözlenirken diğer gruplarda belirgin farklılık gözlenmedi (Tablo 9).

Tablo 9. *S. cerevisiae* hücresinin vitamin profili üzerine etkisi ($\mu\text{g}/\text{lg}$)

Bal örnekleri	D2	α -tokoferol (E Vitamini)	Ergosterol	Stigmasterol	β -sitosterol
Kontrol	0.14 $\pm$ 0.03	8.17 $\pm$ 0.71	17.48 $\pm$ 3.06	19.18 $\pm$ 9.17	0.58 $\pm$ 0.20
Bal 1	0.18 $\pm$ 0.03	13.07 $\pm$ 6.00	9.55 $\pm$ 1.01	13.17 $\pm$ 1.83	0.31 $\pm$ 0.05
Bal 2	0.09 $\pm$ 0.04	6.80 $\pm$ 1.20	38.76 $\pm$ 6.85	13.08 $\pm$ 3.07	0.30 $\pm$ 0.09
Bal 3	0.09 $\pm$ 0.02	8.44 $\pm$ 1.25	15.36 $\pm$ 2.05	10.27 $\pm$ 2.23	0.30 $\pm$ 0.15
Bal 4	0.20 $\pm$ 0.07	10.25 $\pm$ 2.48	39.61 $\pm$ 4.61	11.01 $\pm$ 2.60	0.36 $\pm$ 0.11
Bal 5	0.21 $\pm$ 0.07	8.64 $\pm$ 1.18	38.99 $\pm$ 3.75	17.34 $\pm$ 4.18	1.20 $\pm$ 0.34
Bal 6	0.07 $\pm$ 0.04	4.62 $\pm$ 0.33	8.30 $\pm$ 1.24	5.83 $\pm$ 1.25	5.36 $\pm$ 1.22
Bal 7	0.02 $\pm$ 0.02	6.44 $\pm$ 1.28	9.84 $\pm$ 0.90	7.54 $\pm$ 1.84	5.45 $\pm$ 1.64

3.8. Balların *S. cerevisiae* Hücresindeki Total Protein, GSH ve MDA Miktarı Üzerine Etkisi

Bal örneklerinin maya hücresindeki glutatyon miktarı üzerindeki etkisi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında belirgin farklılık gözlenmezken, 1 ve 3. örnekte kısmen azaldığı belirlendi

Bal örneklerinin *S. cerevisiae* hücresindeki total protein miktarı üzerindeki etkisi kontrol grubuna göre kıyaslandığında 3, 4 ve 7. örneklerde arttığı belirlendi. Bu artışın 7. örnekte daha belirgin olduğu bulundu. 2. örnekte ise azaldığı saptandı. Diğer örneklerde farklılık tespit edilmedi.

Bal örneklerinin maya hücresindeki MDA miktarı üzerindeki etkisi kontrol grubuna

göre karşılaştırıldığında istatistiksel farklılık bulunmadığı halde, 4. Grup balda kısmen azaldığı tespit edildi.

Tablo 10. Bal örneklerinin *S. cerevisiae* 'nın total protein, GSH ve MDA miktarı üzerine etkisi

Bal örnekleri	Total Protein (mg/g)	GSH ($\mu\text{mol/g}$)	MDA (nmol/g)
Kontrol	5.98 $\pm$ 0.39	1.37 $\pm$ 0.17	27.40 $\pm$ 1.75
Bal 1	5.64 $\pm$ 1.02	0.93 $\pm$ 0.06	28.40 $\pm$ 1.08
Bal 2	4.78 $\pm$ 0.37	1.32 $\pm$ 0.06	26.40 $\pm$ 0.68
Bal 3	6.48 $\pm$ 0.48	0.94 $\pm$ 0.04	25.20 $\pm$ 1.52
Bal 4	6.54 $\pm$ 0.84	1.31 $\pm$ 0.08	20.60 $\pm$ 0.98
Bal 5	5.40 $\pm$ 0.86	1.42 $\pm$ 0.06	24.40 $\pm$ 1.02
Bal 6	5.81 $\pm$ 0.86	1.11 $\pm$ 0.08	24.40 $\pm$ 0.60
Bal 7	8.08 $\pm$ 1.06	1.41 $\pm$ 0.07	25.40 $\pm$ 0.60

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Ülkemiz sahip olduğu zengin bitki örtüsü, iklim ve coğrafi yapısının çeşitliliği bakımından arıcılığa son derece elverişli bir konumdadır. Bu bakımdan günümüzde çok çeşitli bal örnekleri mevcuttur. Fakat bunların içinde gıda açısından güvenli olanların sayısı az düzeydedir. Çünkü insanoğlu zaman zaman arılara arı keki olarak tabir edebileceğimiz yiyeceği sunarak onları kandırabilmekte ve sonuçta sahte ballar piyasaya sürülmektedir. Bunun ortaya konması ise ancak biyokimyasal çalışmalarla mümkün olmaktadır. Bu bakımdan çalışmamızda, Ardahan yöresinde üretilen ve değişik bölgelerinden toplanan bazı bal örneklerinin biyokimyasal olarak şeker içerikleri, bazı flavonoid türleri, total flavonoid, total protein, 5-hidroksimetilfurfural (HMF) miktarı ile yağ asidi analizleri yapıldı. Bu analizlerden sonra, DPPH ile ABTS radikallerine karşı antioksidan aktiviteleri belirlenip, *S. cerevisiae* kültür ortamında besinsel değerinin ve gıda güvenliliğinin belirlenmesi amaçlandı. Böylece ülkemizin önemli bal üretim merkezlerinden biri olan Ardahan yöresinin eşsiz florasından kaynaklanan bal türlerinin kalitesinin ortaya koyulmasında katkı sağlandı. Tabi değerli olan bal çeşidi ancak uygun şartlar yerine getirildiğinde ortaya çıkmaktadır. Dolayısı ile sahte ballar bu değeri yansıtmadığı gibi tüketiciyi de aldatmaktadır. Çalışmamız bu konuya açıklık getirmeyi de amaçlamıştır.

4.1. *In vitro* Ortamda Balların Etkisi

Çalışmamızda şeker analizlerini incelediğimizde araştırmamızda temin ettiğimiz bal örneklerinde fruktoz, glukoz, maltoz, sakaroz ve arabinoz içerikleri analiz edilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre fruktoz düzeyi 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7. örneklerde % olarak sırayla 55.01, 55.99, 59.60, 58.31, 89.190, 60.20 ve 84.64 değerlerinde bulunmuştur. Karkacier vd.(200) farklı bal gruplarıyla yaptığı fruktoz miktarlarını % 39-42 arasında bulmuştur. Bu sonuçlar çalışmamızdaki sonuçları destekler niteliktedir. Özellikle 5. ve 7. örneklerdeki fruktoz oranı diğerlerine göre daha yüksek olması kalite açısından daha iyi olduklarını gösterir.

Glukoz sonuçları ise 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7. örneklerde % olarak sırayla 26.55, 24.77, 22.84, 24.02, 9.64, 24.3 ve 14.61 değerlerinde bulunmuştur. Doğal yollarla yapılan deneylerde baldaki glukoz oranı düşük bulunmuştur. Bu durum 5 ve 7. örneklerin diğer ballara oranla kaliteli olduğunu ortaya koymuştur.

Balların şeker kompozisyonu, bala yapılan hileler açısından bizlere ipucu veren parametrelerden biridir. Bu yüzden ballarda bulunan şeker miktarları oldukça önemlidir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde sakkaroz analizi için belirlenen en yüksek %5 olarak belirtilmiş olup çalışmamızda bulunan değerlerin tamamı Kodekse uygundur. Sakkarozun baldaki miktarı, balın olgunlaşma derecesine ve nektarın bileşimine göre değişir. Erken hasat edilen olgunlaşmamış ballar fazla miktarda sakkaroz ihtiva eder. Bal standardı'nda belirtilen sakkaroz miktarından fazla ise, hile yapıldığı akla getirilebilir (Tutkun, 2000; Köse, 1986).

Şahinler ve Gül (2001) yaptıkları araştırmalarda sakkaroz oranını ortalama % 1,9, Lazaridou (2004) yaptığı araştırmalarda sakkaroz oranını % 0,1–2,7 arasında, Merin vd. (1998) yaptıkları araştırmalarda sakkaroz oranını % 2,72–10,12 arasında bulmuşlardır. Ardahan yöresi ballarında yaptığımız çalışmalarda sakkaroz oranı ortalama %0.02-1.12 arasında bulunmuş olup, Şahinler ve Gül (2001) ile Lazaridou (2004)'nın yaptıkları çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Merin vd. (1998)'nin yaptığı çalışmanın sonuçları oldukça yüksektir.

Sakkaroz ve maltoz miktarının istenilen miktardan fazla oluşu arıların şeker veya nişasta şurubu ile beslenerek bal elde edildiği şeklinde yorumlanabilir. Çalışmamızda elde edilen maltoz miktarları 1, 2, 3, 4 ve 6. örneklerde % 16-19 arasında bulunmuş olup doğal ballarla yapılan çalışmalarda maltoz değerleri % 0.8-2.5 arasında bulunmuştur. Bu durum belirtilen balları yapan arılara şeker şurubu ya da arıların beslenmesinde kullanılan nişasta bazlı besinlerin verildiğinin bir sonucu olabilir. Aksine 5. ve 7. ballardaki maltoz oranı sırayla % 0.012 ve % 0.010 değerlerinde bulunmuştur.

Bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile literatür sonuçları 5 ve 7 nolu balların hileli bal olmadıklarını gösterir. Balın önemli kalite kriterlerinden biride ısıtma sonucu ortaya çıkan 5-hidroksimetilfurfural (5-HMF)'dur. Özellikle pH =5 ve altında fruktoz ve glukozun dehidrasyonu ile oluşmaktadır. 5-HMF miktarı, balın tazeliğinin en önemli göstergesidir (Turhan vd., 2008). 5-HMF, balda karbohidratların ısıtma işlem görmesi sonucu oluşmaktadır. Yüksek sıcaklık işlemlerinde heksoz dehidrasyonu 5-HMF oluşumuna yol açmakta olup, yüksek asitlik mevcudiyetinde 5-HMF oluşumu artmaktadır. Düşük sıcaklıklarda ise Maillard reaksiyonu sonucu 5-HMF oluşmaktadır (Gökmen, 2007). 5-HMF ısıtma işlem etkisiyle tepkimeye giren şeker ve aminoasitlerin oluşturduğu ve balda miktarı sınırlandırılmış olan bir maddedir. Türk Gıda Kodeksine göre balda en fazla 40 mg/kg 5-

HMF bulunabilir. Bu değerden daha fazla 5-HMF içeriği bala invert şeker katıldığıının belirtisidir. Balda 5-HMF oluşumu pH, sıcaklık, ısıtılma süresi ve şeker konsantrasyonuna bağlı olduğundan balın kalitesini belirlemede kullanılan en önemli kriterlerdendir (Ötleş, 1995).

Merin ve arkadaşlarının 1998 yılında siyah çaylara tat vermek için kullanılan ballarda yapılan bir araştırmada, 5-HMF oranını 0.32–1.8 mg/kg arasında, Yılmaz ve Küfrevioğlu (2000) ile Tolon (1999) çalışmalarında bal örneklerinin ortalama 5-HMF miktarını 3.3 ve 12.11 mg/kg, Silici ve Tolon (2002) çam (salgı) balı üzerinde yaptıkları bir çalışmada 5-HMF değerini 8.80 mg/kg, Şahinler vd. (2004) Hatay yöresinden toplanan 50 bal örneğinin biyokimyasal analizi sonucunda örneklerde ortalama 5-HMF değerini 10.71mg/kg, Sunay ve Boyacıoğlu'nun 2008 yılında yayla (çiçek) ballarının özelliklerine ilişkin yaptıkları çalışmada 5-HMF değerini 5.07-21.12 mg/kg arasında bulmuşlardır. Çalışmamızdaki edilen HMF verileri, Tolon'un (1999), Sunay ve Boyacıoğlu'nun (2008) ve Silici ve Tolon'un (2002) çalışmalarına ait değerlerin sınırları içinde kalmış ve benzer sonuçlar elde edilmiş olmakla birlikte Merin vd. (1998) ile Yılmaz ve Küfrevioğlu (2000)'nin buldukları değerlerden yüksek bulunmuştur. Ayrıca sonuçların, 19 Ocak 2010 tarihli TSE 3036 Bal Standardında 5-HMF için belirtilen üst sınır olan 40 mg/kg'dan aşağıda olup standarda uyduğu belirlenmiştir.

Araştırmamızda Ardahan yöresindeki balların toplam fenolik madde içeriği de belirlenmiştir. Balın toplam fenolik madde içeriği, bitkisel ve coğrafi orijini, indirgen şekerlerin etkileşiminin giderilmesinde izlenen yöntemle ilgili olarak değişmektedir. Mamary vd. (2002), Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak, indirgen şekerlerin girişimini gidermeden, Akasya, *Zizipus sp.* ve tropikal çiçeklerin ballarının toplam fenolik madde içeriğini tayin etmiştir. Elde edilen değerler 61,05–246,21 mg GAE / 100g arasında değişmektedir. Benzer bir şekilde, Meda vd. (2005), Burkina Fas (*Conbretaceae*, *Vitellaria* ve *Lannea sp.*) ballarının toplam fenolik madde içeriği belirlemişlerdir. Ortalama değerleri 32,59–114 mg GAE / 100 g arasında tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, salgı balları, çiçek ballarına kıyasla daha yüksek toplam fenolik madde içermektedir. Başka bir çalışmada, Beretta vd. (2005), bazı İtalyan ballarının toplam fenolik madde içeriklerini belirlemişlerdir. İndirgen şekerlerin etkileşiminin uzaklaştırılması amacıyla, Folin-Ciocalteu çözeltisi asidik koşulda (sodyum karbonatın ilave edilmemesinden) gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, Singleton vd. (1999)'a göre Folin-Ciocalteu çözeltisi

asidik koşulda, askorbik asit ve çok kolay oksitlenebilir bileşiklerinin tayin edilmesinde kullanılabilir. Bu nedenle, bu yöntem ile elde edilen değerlerin yalnız fenolik içeriğin bir göstergesi olduğu doğru değildir. Çünkü bu değerler, diğer değerlere kıyasla düşük görülmektedir. Bu araştırmada toplam fenolik madde içeriği 5,25 -78,96 mg GAE / 100 g aralığında bulunmuştur. Örneğin, çilek, kestane ve akasya ballarının toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 78,96, 21,21 ve 5,25 mg GAE / 100 g dolayındadır.

Blasa vd. (2005), meşhur İtalyan *Millefiori* ve akasya ballarının toplam fenolik madde içeriğini Folin-Ciocalteu çözeltisi kullanılarak belirlemiştir. Elde edilen değerler sıra ile 12,5 ve 17,5 mg GAE /100 g dolayındadır. Çalışmamızda elde edilen toplam fenolik madde sonuçları 40-140 mg arasındadır. Bu sonuçlar Mamary vd. (2002)'ın sonuçlarıyla uyumaktadır. Ayrıca, Bertoncelj vd. (2007) ıhlamur, akasya, ormangülü, köknar gibi çeşitli orijine sahip bal örneklerinin toplam fenolik madde içeriğini incelemiştir. Yaptıkları araştırma sonucunda en düşük (44.8 mg/100g) toplam fenolik madde akasya balında, en yüksek (241.4mg/100g) toplam fenolik madde köknar balında tespit etmişlerdir. Bu sonuçlarda çalışmamızı destekler niteliktedir.

Araştırmamızda kullanmış olduğumuz ballarda flavanoid analizleri de gerçekleştirildi. Araştırma sonuçlarında çalıştığımız bazı ballarda rutin, mirisetin, morin, kuersetin ve naringin flavanoidleri tespit edildi. Bu flavanoidlerin oranı 5 ve 7. bal örneklerinde diğerlerine göre yüksek oranda bulundu. Ballardaki flavanoidler üzerine yapılan bazı çalışmalarda Martos vd. (1997), Tunus okalıptüs ballarının fenolik profilini, kuersetin, 8-metoksikaempferol, kamferol, mirisetin -3, 7, 4', 5 metil ve ellajik asit olarak belirlemiştir. Ayrıca Avustralya *Leptospermum polygalifolium* balının fenolik profili, Yao vd. (2003) tarafından açıklanan Yeni Zelanda Manuka (*Leptospermum scoparium*) balının fenolik profiline benzemekte ve mirisetin, tirisetin, kuersetin, luteolin, pinobanksin ve kamferol flavonoidlerini içermektedir. Bu çalışmalarda kuersetin ve mirisetin içeriği bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Tüm bu analizlere ilaveten çalışmamızda balların antioksidan kapasitesi de araştırılmıştır. Bu amaçla örneklerin DPPH ve ABTS serbest radikalini temizleme özellikleri üzerinde durulmuştur. DPPH (α,α -Diphenyl-b-picrylhydrazyl) serbest radikalini temizleme sonuçlarına göre; 200 μ l konsantrasyondan itibaren tüm bal örneklerinin antioksidan aktivite gösterdiği saptandı. 200 μ l'lik konsantrasyonda örnekler içerisinde 5. ve 7. bal örneklerinin diğer örneklere göre belirgin oranda radikal temizle etkisinin olduğu

belirlendi. ABTS radikalini temizleme sonuçlarına göre de 5 ve 7. örneklerin yanı sıra her konsantrasyonda 3 ve 4. örneklerinde belirgin antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Aljadi vd. (2004) Malezya’da iki farklı orijinde bal örneğinin antioksidan aktivitelerini incelemeyi amaçlamışlardır. Radikal süpürücü etki DPPH ile belirlenmiştir. 0.22-0.36 mg/ml arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Toplam antioksidan aktivite ise 0.13-0.90 milimolTE/g değerleri arasında değiştiğini saptamışlardır.

Bertonjelj vd. (2007) Slovenya ‘da yaygın 7 çeşit bal örneğini antioksidan aktivitesi yönünden incelemişlerdir. Yapılan araştırma sonunda acık renkli akasya ve ıhlamur balının antioksidan aktivitesinin düşük, koyu renkli ladin ve orman gülü balının ise antioksidan madde aktivitesinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Akasya balında bu değer 0.07 milimolTE/g, ladin ve orman gülü ballarının antioksidan aktivite değerleri ise 0.42-0.47 milimolTE/g arasındadır.

4.2. Anaerobik Kültür Ortamda Balların Etkisi

Balların *Saccharomyces cerevisiae*’nın biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkileri araştırılırken balların bu mikroorganizmada ki yağ asidi, vitamin, protein, glutatyon ve MDA üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Bal örnekleri *Saccharomyces cerevisiae*’nın yağ asidi profili üzerindeki etkileri incelendiğinde genel olarak bal gruplarında kontrol gruplarına göre miristik asit, miristoleik asitin önemli farklılık göstermediği, palmitik asit, palmitoleik asit ve 15:1 yağ asidinin ise genel olarak azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca stearik, oleik, linoleik ve dokosaheksaenoik asitte ise genel olarak kontrol grubuna göre artış belirlenmiştir.

Tüm bu yağ asitlerindeki artışlar ve azalışlar göz önüne alındığında *Saccharomyces cerevisiae*’nın gelişme ortamına ilave edilen farklı balların neden olduğu söylenebilir. Çünkü, farklı olan bu balların besin içeriğindeki karbon kaynaklarının oranları farklıdır ve Özşahin (2009)’un meyve ekstratları üzerinde yaptığı çalışmada belirttiği gibi özellikle farklı meyvelerde kullanılan karbon kaynağının farklı olması *Saccharomyces cerevisiae* sentezlenen bu yağ asitlerinin transkribinden sorumlu olan enzimlerin aktivitesini inhibe ya da stimüle ederek yağ asidi miktarlarında farklılığa yol açabilmektedir.

McDonough ve Roth (2004) mayadan yağ asidi sentezini araştırdıkları çalışmalarında *Schizosaccharomyces pombe*'nin iki farklı gelişme ortamında (20 °C ve 30 °C) palmitik asit, palmitoleik asit, oleik asit ve linoleik asit sentezi olduğunu belirlemişler ve çalışma sonucunda *Schizosaccharomyces pombe* hücrelerinde oleik asit (18:1) sentezinin stearyl CoA desaturaz'ın (Δ^9 desaturaz) kontrolüyle mümkün olduğunu saptamışlardır.

Abrodo vd. (2005) ise; *Saccharomyces cerevisiae*'nin geleneksel yöntemlerle elma suyunda uygulanan fermentasyonunun yağ asitleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Miristik asit, palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik ve linoleik asit sentezinin olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca bu yağ asitlerinden palmitik asidin fermentasyon teknolojisi için önemli bir değere sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Torija vd. (2002) *Saccharomyces cerevisiae*'nin yağ asidi bileşimi üzerine nitrojen kaynaklarının etkisini araştırdıkları çalışmalarında mayanın gelişme ortamının içeriğinin ve çevresel şartların hücre membran yağ asidi bileşimini etkilediğini belirtmişlerdir. Bu düşüncenin temelinde ise; plasma membranının mayanın içinde bulunduğu çevre ile temas kuran ilk hücre kısmı olmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Gurvitz vd. (2001) yaptıkları çalışmada; *Saccharomyces cerevisiae*'den sentezlenen linoleik asit izomerlerinin insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu izomerlerin özellikle antikarsinogenezis, antiarteriosklerotik ve yağlanmayı azaltıcı etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bulgularımız, bal örneklerinin *Saccharomyces cerevisiae*'nin vitamin bileşenlerini de farklı oranlarda etkilediğini gösterdi. Vitaminler üzerine mayanın gelişme ortamına glukoz yerine bal ilavesinin farklı oranlarda etkili olduğu tespit edildi. Özşahin vd. (2009) yaptığı çalışmalarla uyum içerisinde olduğu anlaşıldı. Onların çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişme ortamına glukoz yerine üzüm ve dut pekmezlerinin ilavesiyle mayanın lipofilik vitaminler ve yağ asidi sentezi üzerinde farklılıklara yol açtığı belirtmiştir. Bunun nedeni kullanılan farklı karbon kaynaklarına sahip besin içeriklerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Saccharomyces cerevisiae'nin bal içeren ortamdaki toplam protein düzeyleri kontrol grubuna göre kıyaslandığında artış olduğu belirlendi. Bu artış radikallere karşı savunma yapabilen antioksidan enzimlerin transkripsiyonundaki artışından ileri geldiği düşünülmektedir.

Lee vd. (2001) *Saccharomyces cerevisiae*'da iyon radyasyonuna karşı süperoksit radikalinin koruyucu etkisinin araştırdıkları çalışmalarında mayada radyasyon sonunda SOD'un yanı sıra katalaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinin düzeylerinin yüksek seviyede olduğunu gözlemlemişlerdir.

Saccharomyces cerevisiae'dan sentezlenen glutatyon miktarları üzerindeki etkiler kontrol gruplarına göre karşılaştırıldığında 5. grup dışındaki gruplarda kısmen azalma tespit edilmiştir. Gelişme ortamındaki MDA düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre azalmalar gözlenmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda inceledğimiz bal örnekleri arasında yalnızca iki bal örneğinin bir çok kriter bakımından kaliteli bal özelliğini taşıdığı görülmüştür. İncelediğimiz bal örnekleri içinde çok az düzeyde olması gereken maltoz düzeyinin çok yüksek olduğu bulunmuştur. Maltoz, biyokimyasal olarak bitki özsularında serbest olarak bulunmayan, sindirim sisteminde nişastanın amilaz enzimi tarafından sindirimini sonunda ortaya çıkan bir disakkarittir. Bal içinde maltozun yüksek oranda bulunması arıların beslenmesinde kullanılan arı kekinden kaynaklandığı söylenebilir. Çünkü arı keki yapımında soya ununun kullanıldığı belirtilmektedir. Bal numunelerinin kalite kontrollerinde kriterlerden biri olarak maltoz miktarı ölçü olarak dikkate alınabilir.

KAYNAKLAR

- Abrodo, P.A. Inmaculada, M.C. Juan, J.M.A. and Domingo, BG.,** 2005. Fatty acid composition of cider obtained either by traditional or controlled fermentation. *Food Chem.*, **92**, 183-187.
- Akaya, H.,** 2004. Arıcılık, Arıcın el kitabı. Temel Petek Yayınları, İstanbul.
- Al-Mamary, M.,** 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, **22**, 1041-1047.
- Americana,** 1993, USA, Vol 3 int Headqurtes, Danbury, Connetticult. 444.
- TS-3036,** 2002. Bal Standardı. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonymous,** 2006. Avaliable in: www.ekolojikbal.com.tr
- Anupama, D., Bhat, K.K. and Sapna, V.K.,** 2003. Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Research International*, **36**, 183 - 191.
- Aljadi, A.M. and Kamaruddin, M.V.,** 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Cemistry*, **85**, 513-518.
- Aruoma, O.I.,** 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chemistry and Toxicology*, **32**, 671-683.
- Azeredo, L. da C., Azeredo, M. A. A., de Souza, S. R. and Durta, V.M.L.,** 2003. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, **80**, 249 – 254.
- Babacan S, Pivarnik LF, Rand AG.,** 2002. Honey Amylase Activity and Food Starch Degradation. *J. Food Sci.*, **67**, 1625–1630.
- Babacan S, Rand AG.,** 2005. Purification of Amylase From Honey. *J. Food Sci.*, **70**, 413-418.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. and Facino, R.M.,** 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric / fluorimetric assays and chemometric. *Analytica Chimica Acta*, **91**, 185-191
- Bertonjelij, J., Dobersek, U., Jamnik, M.,** 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, **56**, 36-41.
- Blasa, M., Candiracci, M., Accorisi, A., Piacentini, M.P., Albertini, M.C. and Piatti, E.,** 2005. Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*, paper(in pres).

- Bogdanov, S.**, 2002. Harmonised Methods of The International Honey Commission, 1–62.
- Bogdanov, S., Haldimann, M.**, 2006. Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Res.* **46**, 269-275.
- Brackenbury, J.**, 1995. Insect and Flowers. UK. 12.
- Brand-Williams, W. Cuvelier, M.E. and Berset, C.**, 1995 Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol.*, **28**, 25-30.
- Chen, L.**, 2000. Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 4997-5000.
- Crane, E.**, 1975. Honey: A comprehensive survey, Morrison and Gibb, London, 608 p.
- Devillers, J. Morlot, M. Pham-Delégue, M.H. and Doré, J.C.**, 2004. Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chemistry*, **86**, 305-312.
- Doğaroğlu, M.**, 2004. Modern Arıcılık Teknikleri 2. Baskı. Doga Arıcılık Tic. Ltd. Sti. Tekirdağ.
- Downey, G. Hussey, K. Kell, J.D. Walshe, T.F. Martin, P.G.**, 2005. Preliminary Contribution To The Characterisation of Artisanal Honey Produced On The Island of Ireland By Palynological and Physico-Chemical Data. *Food Chemistry*, **91**, 347–354.
- Elman, G.I.**, 1959. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem.*, 70-77.
- Erdoğan, Y. Dodoloğlu, A. Zengin, H.**, 2004. Farklı Çevre Kosullarının Bal Kalitesi Üzerine Etkileri. 4. Ulusal Zootehni Bilim Kongresi, 223–227, Konya
- Erdoğan, A.T.**, 2008. Türk Gıda Kodeksine Göre Bal. <http://www.gidasanayii.com/modules.php?name = News&file = astrcle& sid= 7490>
- Esterbauer, G.H. Schaur, R.J. and Zollner, H.**, 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, **11**, 81-128
- Finola, M.S. Lasagno, M.C. Marioli, J.M.**, 2007. Microbiological and Chemical Characterization of Honeys From Central Argentina. *Food Chem.*, **100**, 1649–1653.
- Frankel, S.**, 1998. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *J. Apicultural Res.* **37**, 27-31

- Gheldof, N. Wang, X-H. and Engeseth, N.J.,** 2002. Identification and quantification of an antioxidant components of honeys from various floral sources. *J. Agriculture and Food Chemistry*, **50**, 5870–5877.
- Glavind, J. Hartmann, S. Clemmesen, J. Jesen, K.E and Dam, H.,** 1952. Studies on the role of lipo-peroxides in human pathology. II. The presence of peroxidized lipids in the atherosclerosis aorta. *Acta Pathology and Microbiology Scand*, **30**, 1–6.
- Gökmen, V.,** 2007. Analysis of HMF By HPLC. Cost Action 927 Training School. Building Skills on the Analysis of Thermal Process Contaminants in Foods, Ankara.
- Gurvitz, A. Hamilton, B. Ruis, H. Hartig, A. and Hiltunen, J.K.,** 2001. Degration of conjugated linoleic acid isomers in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. et Biophys. Acta*, 81–85.
- Halliwall, B.,** 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research, Community*. **9**, 1–32.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.,** 1989. Free radicals in biology and medicine. Oxford, UK: *Calendon Press*. 51–57.
- Hışıl, Y., Börekçioğlu, N.,** 1986. Balın Bilesimi ve Bala Yapılan Hileler. *Gıda*, **11**, 79-82.
- Hışıl Y.,** 1984. Baldaki Sekerlerin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisiyle Ayırımı. *E.Ü.Mühendislik Fakültesi Dergisi*. **2**, 1–16. İzmir.
- Hoyt M.,** 1965. The World of Bees. Coward Menann Inc. 181. New York.
- Hsu, B. Coupar, I. M. and Ng, K.,** 2006. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene thebaica*. *Food Chem.*, **98**, 317– 328.
- Huidobro JF, Santana FJ, Sanchez MP, Sancho MT, Muniategui S, Simal-Lozano J.,** 1995 . Diastase, Invertase and Alpha-Glucosidase Activities in Fresh Honey From North- West Spain. *J. Apicultural Res.* **34**, 39–44.
- Karkacier, M., Gürel, F. ve Özdemir, F.** 2000. Farklı balların HPLC yöntemi ile belirlenen şeker içerikleri kullanılarak tanımlaması. *Gıda*, **25**(1), 69–73.
- Kayral, N, Kayral, G.** 1984. Yeni Teknik Arıcılık. 425.
- Keskin H.,** 1975. Gıda Kimyası. İ.Ü. Kimya Fak., 21. İstanbul.
- Komanine, A.,** 1960. Amino acids in honey. *Acta Chemica Fennicea*. **33**, 185-187.
- Köse G.,** 1986. Balın Bileşim ve Özellikleri T.K.V. *Teknik Arıcılık*. **7**, 18-20.

- Lazaridou A, Biliaderis CG, Bacandritsos N, Sabatini AG.,** 2004. Composition, Thermal and Rheological Behaviour of Selected Greek Honeys. *J. Food Engin.* **64**, 9-21.
- Lawless, H.T., Horne, J. and Giasi, P.,** 1996. Astringency of organic acids in related pH. *Chemical senses*, **21**, 397–403.
- Lowry, O.H. Rosenbrough, N.J. Farr, A.L. and Randall, R.J.,** 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *The J. of Biochem.*, **193**, 265-277.
- Lee, J.H. Choi, I.Y. Kil, I.S. Kim, S.Y. Yang, E.S. and Park, J.,** 2001. Protective role of superoxide dismutases against ionizing radiation in yeast. *Biochim. et Biophys. Acta.* **1526**, 191–198.
- Lusby, P. E., Coombes, A. ve Wilkinson, J. M.,** 2002. Honey: A Potent Agent for Wound Healing?, *J. Wound Care.* **29**, 295-300.
- McDonough, V.M. and Roth, T.M.,** 2004. Growth temperature affects accumulation of exogenous Fatty acids and fatty acid composi in *Schizosaccharomyces pombe*. *Antonie Van Leewenhock*, **86**: 349–354.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G.,** 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honeys, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry.* **91**, 571–577.
- Merin U, Berstein S, Rosenthal I.,** 1998. A Parameter for Quality of Honey. *Food Chem.* **63**, 241–242.
- Molan, P.C.,** 1992. The antibacterial activity of honey 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World.* 59–76
- Martos, I., Cossentini, M., Ferreres, F. and Tomas-Barberan, F.A.,** 1997. Flavonoids composition of Tunisian honeys and propolis. *J. Agriculture and Food Chemistry.* **45**, 2824-2829.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.,** 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, **95**, 351-358.
- Ötleş, S.,** 1995. Bal ve bal teknolojisi. Alaşehir meslek yüksek okulu yayınları, No:2, İzmir.
- Özşahin, A.D. Güvenç, M. Yılmaz, O. Aslan, A. and Tuzcu, M.,** 2009. The effects of different sugar sources on fatty acid biosynthesis in the *Saccharomyces cerevisiae* cell culture. *J of Anm. and Vet. Adva.* **8**, 424-429.
- Percival, M.,** 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insight.* **31**, 1-4.

- Schade JW, Marsh GL, Eckert JE.,** 1958. Diastase Activity and Hydroxymethylfurfural in Honey and Their Usefulness in Detecting Heat Alteration. *Food Res.* **23**, 446–463.
- Silici, S., ve Tolon, B.,** 2002. Further chemical and palynological properties of some unifloral Turkish honeys. The First German Bee Products and Apitherapy Congress, Passau, Germany, March 23-27.
- Singleton, V.L., Orthofer, R and Lamuela-Raventos, R.M.,** 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology.* **299**, 152-178.
- Sorkun, K., Dogan, N., Gümüs, Y., Ergün, K., Bulakeri, N. ve Isık, N.,** 2002. Türkiye’de üretilen doğal ve yapay balların ayırt edilmesinde fiziksel, kimyasal ve mikroskopik analizleri. *Mellifera*, **2**, 13–21.
- Sunay, A.E., Boyacıoğlu, D.,** 2008. Türk çam balının belirleyici özellikleri. 1. *Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi.* Muğla, 25-27 Kasım 2008.
- Şahinler N, Gül A.,** 2004. Yayla ve Ayçiçeği Ballarının Biyokimyasal Analizi. 4. *Ulusal Zootekni Bilim Kongresi*, Konya, 217-218.
- Terrab, A., Diez, M.J. and Heredia, F. J.,** 2002. Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, **79**, 373-379.
- Terrab, A., Recamales, A.F., Hernanz, D. and Heredia, F.G.,** 2004. Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, **88**, 537-542.
- The National Honey Board,** 2003. Honey, health and therapeutic qualities. 390 p.
- Tolon, B.,** 1999. Muğla ve Yöresi Çam Ballarının Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. *Doktora Tezi*, Ege Üniv. Fen Bil. Enst., İzmir.
- Toriya, M.J. Beltron, G. Novo, M. Poblet, M. Guillaman, J.M. Mas, A. And Rozes, N.,** 2002. Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *Inter. J of Food Microbiol.*, **85**, 127-136.
- Tosi E, Martinet R, Ortega M, Lucero H, Ré E.,** 2008. Honey Diastase Activity Modified By Heating. *Food Chem.*, **106**, 883–887.
- Tosi, E., Ciappini, M., Lucero, H.,** 2001. Honey thermal treatment effects on HMF content. *Food Chemistry*, **77**, 71-74.
- Turhan I, Tetik N, Karhan M, Gürel F, Tavukcuoglu HR.,** 2007. Quality of Honeys Influenced By Thermal Treatment. Swiss Society of Food Sci. Technol., Antalya

- Tutkun E.**, 2000. Arı Ürünleri ve Özellikleri T.K.V. Teknik Arıcılık, **2**, 94-219.
- Velioğlu, S. ve Köse, G.**, 1983. Ülkemizde üretilen ayçiçeği ballarının standarda (TS 3036) uygunluğu üzerinde bir araştırma. *Beslenme ve Diyet Dergisi / J. Nutr. and Diet.*, **17**, 285-293.
- Wang, X.H, Gheldof, N., Engeseth, N.J.**, 2004. Effect of Processing and Storage on Antioxidant Capacity of Honey. *J. Food Sci.*, **69**, 96–101.
- Weston, R.**, 2000. Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zeland honeys. *Food Chemistry*, **70**, 427-435.
- White, J.**, 1975. Composition of honey. In Crane, E (ed) honey: a comperhensive survey. Heinemann, London, UK. 157-206.
- Yılmaz, H., and Küfrevioğlu, İ.**, 2000. Composition of honeys collected from eastern and south-eastern Anatolia and effect of storage on hydroxymethylfurfural content and diastase activity. *Türk J. Agric For.* **25**, 347-349.
- Yamaguchi, S. Sakurada, S. and Nagumo, M.**, 1994. Role of intracellular SOD in protecting human leukemic and cancer cells against superoxide and radiation. *Free Radic. Biol. Med.*, **17**, 389-395.
- Yao, L., Datta, N., Tomas-Barberan, F.A. Ferreres, F., Martos, I. and Singanusong, R.**, 2003. Flavonoids and phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chemistry*, **81**, 159–168.
- Young, I.S. and Woodside, J.V.**, 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, **54**, 176–186.

ÖZGEÇMİŞ

04.03.1988 yılında Ardahan'da doğdu. İlköğrenimini Ardahan'da, orta ve lise öğrenimini Kars'ta tamamladıktan sonra 2007 yılında Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2011 yılında mezun oldu ve aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji bölümünde yüksek lisansa başladı. Halen bu bölümde yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.