

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

BİYOAKTİVİTELERİ YÖNÜNDEN TÜRKİYE FLORASINA AİT BASKIN
BALLAR İLE MANUKA BALLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Zehra CAN

HAZİRAN 2014
TRABZON

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

BİYOAKTİVİTELERİ YÖNÜNDEN TÜRKİYE FLORASINA AİT BASKIN
BALLAR İLE MANUKA BALLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Zehra CAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“DOKTOR (KİMYA)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09.06.2014
Tezin Savunma Tarihi : 25.06.2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI

Trabzon 2014

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Ana Bilim Dalında

Zehra CAN Tarafından Hazırlanan

**BİYOAKTİVİTELERİ YÖNÜNDEN TÜRKİYE FLORASINA AİT BASKIN BALLAR
İLE MANUKA BALLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 10 / 06 / 2014 gün ve 1557 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
DOKTORA TEZİ
olarak kabul edilmiştir.**

Jüri Üyeleri

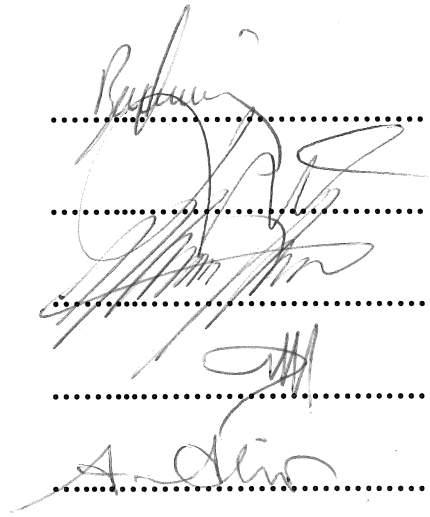
Başkan :Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR

Üye :Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI

Üye :Prof. Dr. Murat KÜÇÜK

Üye :Doç. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU

Üye :Doç. Dr. Ahmet ALVER



Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yapılan bu doktora tezi Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırma ve Politakalar Genel Müdürlüğü Ar-Ge projeleri destekleme birimi tarafından (TAGEM-ARGE-15-2011) 140,00000 TL bütçe ile desteklenmiştir. Proje ile satın alınan UV-RID-HPLC cihazı ile analizlerin büyük bir kısmı gerçekleştirilmiştir. Projeyi destekleyen ilgili bakanlığa ve projede emeği geçen tüm araştırmacılara teşekkür ederim.

Her güzel şeyin bir sonu olduğu gibi bu yorucu ama bir o kadarda zevkli olan çalışmanın sonuna gelmiş bulunmaktayım. Siz değerli hocalarıma ve dostlarıma çalışmamı sunmaktan gurur duyarım. Doktora süresi boyunca bilgisiyle, hoşgörüsüyle hocadan ziyade bir anne şefkatiyle her daim yanımda olan ve bundan sonrada her daim yanımda olacağını bildiğim danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI'ya sonsuz şükranlarımı sunarım. Yine tezimin ilerleyişinde emeklerini esirgemeyen tez jüri üyeleri, Sayın Prof. Dr. Murat KÜÇÜK'e ve Sayın Doç. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU'ya gönülden teşekkür ederim.

Tezime büyük katkıları olan ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Oktay YILDIZ'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine AKYÜZ TURUMTAY'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer Ertürk'e teşekkürü bir borç bilirim. Aynı zamanda Manuka ballarının temin edilmesini sağlayan Sayın Doç. Dr. Laid BOUKRAA'ya ve Dr. Timuçin ATAYOĞLU'na teşekkür ederim. Balların botanik karakterizasyonunu proje kapsamında değerlendiren Erciyes Üniversitesi öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Sibel SİLİCİ'ye teşekkür ederim.

Bu meşakatli yolda beraber yürüdüğüm, zaman zaman umutsuzluklara kapıldığımız, ama bu umutsuzluklara rağmen her daim birbirimiz destekçisi olduğumuz ve olacağımız kader birliği yaptığım kardeşlerim Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ŞAHİN'e ve Zeynep İSKEFİYELİ'ye teşekkürlerin en yücesinin sunarım. Son olarak laboratuvar arkadaşım Sayın Hilal Ebru HOTAMAN'a teşekkür ederim.

Canım anneme, babama, ablam Derya'ya ve umutsuzluğa kapıldığım her anımda beni cesaretlendiren ablam Nuray'a ve kardeşim Murat'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Zehra CAN
Trabzon 2014

TEZ BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Biyoaktiviteleri Yönünden Türkiye Florasına Ait Baskın Ballar İle Manuka Ballarının Karşılaştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI’nın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri ve örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ve analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

09/06/2014

Zehra CAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	IX
SUMMARY	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Balın Genel Özellikleri ve Kimyasal Bileşimi	1
1.3. Balın Sınıflandırılması.....	4
1.4. Balın Önemi ve Apiterapik Özelliği.....	8
1.5. Antioksidan Bileşenler	10
1.6. Fenolik Bileşikler	10
1.6.1. Fenolik Asitler	11
1.6.2. Flavonoidler.....	12
1.6.3. Antosiyanidinler	13
1.6.4. Flavonlar ve Flavonollar.....	14
1.6.5. Flavononlar	15
1.6.6. Kateşinler ve Löykoantosiyanidinler.....	16
1.6.7. Protoantosiyanidinler.....	17
1.7. Kromatografi	17
1.7.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	19
1.7.1.1. Ultraviyole (UV) Dedektör.....	21
1.7.1.2. Fotodiyot Dizisi (DAD) Dedektör	22
1.7.1.3. Refraktif İndeks (RID) Dedektör.....	22
1.8. Balın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	23
1.8.1. Karbon İzotop Oranı	23
1.8.2. Nem İçeriği	24
1.8.3. Elektriksel İletkenlik.....	24

1.8.4.	CIE-Lab Renk Değeri	24
1.8.5.	Optik Çevirme Açısı (α -rotation).....	25
1.8.6.	Mineral İçeriği	25
1.8.7.	Prolin İçeriği	26
1.8.8.	Diastaz Aktivitesi	26
1.8.9.	5-Hidroksimetil Furfural (HMF)	27
1.8.10.	Şeker İçeriği.....	27
1.9.	Balın Biyoaktif Özellikleri	28
1.9.1.	Antioksidan Tayin Yöntemleri	28
1.9.1.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarı	28
1.9.1.2.	Toplam Flavonoid Madde Miktarı	28
1.9.1.3.	Demir (III) İndirgeme/Antioksidan Güç-FRAP	29
1.9.1.4.	Serbest Radikal Temizleme Antioksidan Tayini	29
1.9.1.4.1.	DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi.....	29
1.9.2.	Antimikrobiyal Aktivite	30
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	32
2.1.	Çalışmada Kullanılan Cihazlar	32
2.2.	Kimyasal Madde ve Malzemeler	32
2.3.	Çözeltiler	33
2.4.	Numunelerin Temini ve Saklama Koşulları	36
2.5.	Balların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analizleri	37
2.5.1.	Balların Palinolojik Testi.....	37
2.5.2.	Balda $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Oranları ve % C4 Şeker Analizi	38
2.5.3.	Nem Tayini	39
2.5.4.	Elektriksel İletkenlik.....	39
2.5.5.	Renk Tayini	39
2.5.6.	Optik Çevirme Açısı (α -rotation)	39
2.5.7.	Mineral İçeriği	40
2.5.8.	Prolin Tayini	41
2.5.9.	Diastaz Aktivite Tayini.....	41
2.5.10.	HMF Tayini	42
2.6.	HPLC-RI Dedektörü ile Şeker Tayin	42
2.7.	Numunelerin Ekstraksiyon Şartları	43
2.8.	HPLC-UV ile Fenolik Bileşenlerin Tayini	43

2.8.1.	RP-HPLC-UV Koşulları.....	43
2.8.2.	Standartlar ve Kalibrasyon	44
2.9.	Antioksidan Analizler.....	44
2.9.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarı	44
2.9.2.	Toplam Flavonoid Madde Miktarı	45
2.9.3.	Demir (/III) İndirgeme Antioksidan Güç-Frap Tayini.....	46
2.9.4.	DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini	47
2.9.4.1.	SC ₅₀ Değerlerinin Bulunması	47
2.10.	Antimikrobiyal Analiz.....	48
2.10.1.	Besiyerleri.....	48
2.10.2.	Mikroorganizmalar	48
2.10.3.	Bal Ekstraktlarının Hazırlanması.....	48
2.10.4.	Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Antimikrobiyal Aktivite	49
2.11.	İstatistiksel Analiz	50
3.	BULGULAR	51
3.1.	Palinolojik analiz sonucu.....	51
3.2.	Balların Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları.....	52
3.2.1.	¹³ C/C4 Analiz Sonucu	52
3.2.2.	Nem Analiz Sonucu.....	53
3.2.3.	Renk Analiz Sonucu	54
3.2.4.	Elektriksel İletkenlik Analiz Sonucu	55
3.2.5.	Optik Çevirme Açısı (α -rotasyon) Sonucu	56
3.2.6.	Mineral Madde Sonucu	56
3.2.7.	Diastaz Aktivite Sonucu	59
3.2.8.	HMF Analiz Sonucu.....	60
3.2.9.	Prolin Analiz Sonucu.....	60
3.2.10.	Şeker Analiz Sonuçları	61
3.3.	RP-HPLC-UV ile Fenolik Bileşenlerin Metot Optimizasyonu ve Kromatogramları	64
3.4.	Balların Fenolik Bileşen Sonuçları.....	66
3.5.	Balların Antioksidan Sonuçları	69
3.5.1.	Toplam Polifenol Testi Sonucu	69
3.5.2.	Toplam Flavonoid Testi Sonucu.....	70
3.5.3.	FRAP Testi Sonucu	70

3.5.4.	DPPH• Testi Sonucu.....	71
3.6.	Antimikrobiyal Aktivite Sonucu	72
4.	TARTIŞMA.....	74
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	91
6.	KAYNAKLAR.....	93
7.	EKLER	109
ÖZGEÇMİŞ		

Doktora Tezi

ÖZET

BİYOAKTİVİTELERİ YÖNÜNDEN TÜRKİYE FLORASINA AİT BASKIN BALLAR
İLE MANUKA BALLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Zehra CAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI
2014, 108 Sayfa, 38 Sayfa Ek

Bal insanoğlu tarafından yüksek gıda ve tıbbi özellikleri nedeniyle en çok tercih edilen doğal kaynaklardan biri olmuştur. Türkiye, bulunduğu coğrafik konum ve iklim özellikleri nedeniyle bal üretimi ve bal çeşitliliği bakımından dünyanın önde gelen gelen ülkelerinden biridir. Barındırdığı zengin floral kaynaklardan üretilen ballar, Anadolu insanı için binyıllardır ilaç olmuştur. Planlanan çalışmanın amacı, Türkiye florasına ait baskın ballar ile Manuka ballarının fiziksel, kimyasal ve biyoaktif özellikleri bakımından karakterizasyonun sağlanması ve antioksidan, antimikrobiyal aktivite yönünden karşılaştırılmasıdır. Yapılan çalışmada, Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerinden toplanan 60 adet bal numunesinin otantik karakterizasyonu palinolojik test ile belirlendi. Kestane, püren, çam, akasya, lavanta, çalpa, hayıt, geven, meşe, ayçiçeği, ıhlamur, üçgül ve manuka ballarının monofloral ballardan olduğu ve 9 adet balın ise karışık floralı bal olduğu tespit edildi. Balların fiziksel karakterizasyonu olarak ¹³C/C4 izotopları, nem, renk, elektriksel iletkenlik, optik çevirme parametreleri belirlendi. Balların kimyasal karakterizasyonunda 10 adet şeker bileşeni RID-HPLC ile belirlendi. Prolin değerleri, HMF, mineral madde içerikleri ileri araştırma yöntemleri ile belirlendi. Balların biyolojik aktif özellikleri in vitro olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivite testlerine göre belirlendi. Balların biyo-aktivitesinden sorumlu 18 adet fenolik bileşen RP-HPLC-UV ile test edildi. Elde edilen değerlere göre farklı floral özelliklere sahip balların farklı fiziksel, kimyasal ve biyoaktif bileşenlere sahip olduğu, ancak koyu renkli balların daha yüksek biyo-aktif bileşenlere ve ona bağlı olarak daha yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu bulundu. Çalışma ile Türkiye florasına ait kestane, meşe, püren, çam, akasya, geven, ayçiçeği, çalpa, hayıt, lavanta, ıhlamur ve üçgül ballarının antioksidan ve antimikrobiyal yönden Manuka ballarına eşdeğer tıbbi potansiyele sahip olduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: Flora, RP-HPLC-UV, RID-HPLC, HMF, Prolin, Fenolik, Antioksidan, Antimikrobiyal, Biyo-aktivite

PhD. Thesis

SUMMARY

MANUKA HONEYS WITH TURKEY'S DOMINANT HONEYS COMPARISON IN TERMS OF BIOACTIVITY

Zehra CAN

Karadeniz Technical University
The Graduate of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI
2014,108 Pages, 38 Pages Appendix

The honey, has been one of the most important preferred natural resources due to its higher nutrients and medical characteristics by mankind. Turkey is one of the leading countries of the world in terms of honey production and honey diversity due to its geographical location and climatic characteristics. The honey produced from its rich floral sources has been medication for Anotolian people for millennia. The aim of this study is to provide a characterisation of the dominant honey which belongs to the flora of Turkey and Manuka honey in terms of their chemical and bioactive properties and to compare them in terms of their antioxidant and antimicrobial activities. In the study, 60 samples of honey which collected from different geographic regions of Turkey was determined by polynanojic testing. Chestnut, heather, pine, acacia, lavender, calbee, vitex, astragalus, oak, sunflower, lime, clover and manuka honeys were determined to be monofloral honeys and 9 of the honey types were determined to be mixed floral honey. For the physical characterization of honey types; $^{13}\text{C}/\text{C4}$ isotopes, moisture, color, electrical conductivity, optical flip parameters were determined. In the chemical characterization of honey, 10 sugar components were determined by RID-HPLC. Proline levels, HMF, mineral matter content were determined by advanced research methods. The biological active properties of honey types were determined as in-vitro according to antioxidant and antimicrobial activity tests. 18 phenolic compounds which are responsible for the bioactivity of the honey were tested by RP-HPLC-UV. According to the results obtained, the honey types which have different proopies have different physical, chemical and bioactive components, but the dark-colored honey types possess higher bio-active components and accordingly they possess higher biological activity properties. The results of our study indicate that chestnut, oak, heather, pine, acacia, astragalus, sunflower, calbee, vitex, lavender and clover honeys which belong to the flora of Turkey are equivalent to Manuka honey types in terms of medical potential for their antioksidants and antimicrobial features.

Key Words: Flora, RP-HPLC-UV, RID-HPLC, HMF, Proline, Phenolic, Anti-oxidant, Anti-microbial, Bio-activite

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Leptospermum scoparium</i>	8
Şekil 2. <i>Leptospermum polygalifolium</i>	8
Şekil 3. Flavonoidlerin genel yapısı.....	13
Şekil 4. Antosiyanidinlerin genel yapısı	14
Şekil 5. Flavonoller ve flavonların genel yapısı	15
Şekil 6. Flavanonların genel yapısı	15
Şekil 7. Kateşinlerin genel yapıları	16
Şekil 8. Proantosiyanidinlerin kimyasal yapısı	17
Şekil 9. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu	29
Şekil 10. DPPH• (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) radikalın formülü.....	30
Şekil 11. RID ile şeker standartlarının kromatogramı	62
Şekil 12. HPLC-UV tarafından 280 nm'deki kromatogramı	64
Şekil 13. HPLC-UV tarafından 315 nm'deki kromatogramı	64
Şekil 14. Toplam polifenolik madde tayini için gallik asit standardı kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiği	69
Şekil 15. Toplam flavonoid madde tayini için kuersetin standardı kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiği	70
Şekil 16. FeSO ₄ 7H ₂ O kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği.....	71

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Bazı fenolik asitlerin kimyasal yapıları	12
Tablo 2. Bazı antosiyanidinlerin fonksiyonel grupları ve renkleri	14
Tablo 3. Bazı flavonol ve flavon fonksiyonel grupları	15
Tablo 4. Bazı flavanonların fonksiyonel grupları	16
Tablo 5. Bazı kateşinlerin fonksiyonel grupları	16
Tablo 6. Balda en sık görülen şeker türleri	27
Tablo 7. Kullanılan cihazlar ve marka/modelleri	32
Tablo 8. Kullanılan kimyasallar ve satın alınan firma	32
Tablo 9. Çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları	34
Tablo 10. Analizler için temin edilen balların alındığı yer/yılı ve Latince isimleri	36
Tablo 11. Mikrodalga fırın programı	40
Tablo 12. Diastaz aktivite tayini için pipetleme işlemi	41
Tablo 13. RP-HPLC-UV gradient programı	43
Tablo 14. Toplam polifenolik tayininde yapılan pipetleme işlemi	45
Tablo 15. Toplam flavonoid tayininde yapılan pipetleme işlemi	46
Tablo 16. FRAP tayininde yapılan pipetleme işlemi	47
Tablo 17. DPPH yöntemi için deney koşulları	47
Tablo 18. Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan mikroorganizmaların gram özellikleri	49
Tablo 19. Bal örneklerinin polen sonuçları	52
Tablo 20. Bal örneklerinin C13/C4 analiz sonucu	53
Tablo 21. Bal örneklerin optik çevirme, nem, iletkenlik ve renk sonuçları	54
Tablo 22. Bal örneklerinin mineral analiz sonuçları mg.kg ⁻¹	58
Tablo 23. Bal örneklerin Diastaz, HMF ve Prolin değeri sonuçları	59
Tablo 24. Şeker standartlarının validasyonu (LOD ve LOQ) değerleri	61
Tablo 25. RID ile bal örneklerinin şeker sonuçları (mg/g)	63
Tablo 26. Optimize edilen HPLC-UV metodunun parametreleri	65
Tablo 27. RP-HPLC-UV ile bal örneklerinin fenolik bileşen sonuçları	67
Tablo 28. RP-HPLC-UV ile bal örneklerinin fenolik bileşen sonuçları	68
Tablo 29. Toplam polifenol, toplam flavonoid, FRAP ve DPPH testleri sonucu	72

Tablo 30.	Bal örneklerinin antimikrobiyal aktivite sonucu	72
Tablo 31.	Bal örneklerin DU ve HMF değeri arasındaki korelasyon	79
Tablo 32.	Bal örneklerin F/G oranı ile K, Ca, Mg ve Na değerleri arasındaki korelasyon.....	80
Tablo 33.	Bal örneklerinin iletkenliği ile K, Ca ve Na mineralleri arasındaki korelasyon.....	81
Tablo 34.	Bal örneklerinin F/G oranı ile Hunter (L, a, b) değerleri arasındaki korelasyon.....	82
Tablo 35.	Bal örneklerin TP ve FRAP korelasyonu	83
Tablo 36.	Bal örneklerin TP ve TF korelasyonu.....	84
Tablo 37.	Bal örneklerin TP ve DPPH korelasyonu	86
Tablo 38.	Bal örneklerin TF ve DPPH korelasyonu	86
Tablo 39.	Bal örneklerin antioksidan korelasyon tablosu	86
Tablo 40.	Bal örneklerin L, a, b renk değerleri ile TP, FRAP ve DPPH korelasyonu.....	87

SEMBOLLER DİZİNİ

<i>a</i>	: Sarılık- mavilik
Al	: Aliminyum
As	: Arsenik
<i>b</i>	: Kırmızılık- yeşillik
<i>C</i>	: Eğim çizgisi kesim noktası
Ca	: Kalsiyum
Cd	: Kadmiyum
CH ₃ COONa.3H ₂ O	: Sodyum asetat trihidrat
Cl	: Klor
CIE- Lab	: CIE tarafından 1976 yılında tanımlanan formül
Cu	: Bakır
cm	: Santimetre
CV	: Varyasyon katsayısı
C ₆ H ₅ O ⁻	: Fenolat anyonu
CUPRAC	: Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
DAD	: Diyot serili spektrofotometreler
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil
DU	: Diastaz ünitesi
ΔE	: Toplam renk farkı
F	: Flor
F/G	: Fruktoz/ Glukoz
Fe	: Demir
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan kapasitesi
g	: Gram
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GC	: Gaz kromatografisi
GC-NPD	: Gaz kromatografisi azot-fosfor dedektörü

GSH	: Redükte glutatyon
GST	: Glutatyon-S-transferazlar
HCl	: Hidroklorik asit
Hg	: Civa
HMF	: 5- Hidroksimetilfurfural
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ICP-OES	: İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi
IS	: İç standart
K	: Potasyum
Kg	: Kilogram
KI	: Potasyum iyodür
<i>L</i>	: Açıklık- koyuluk
L	: Litre
LC	: Likit kromatografisi
LC-MS/MS	: Likit Kromatografisi/Kütle/Kütle Spektrometresi
LOD	: Dedeksiyon limiti
LOQ	: Tayin limiti
m	: Metre
<i>m</i>	: Kalibrasyon eğrisinin eğimi
<i>m</i> -	: Meta pozisyon
mM	: Milimolar
M	: Molar
Mg	: Magnezyum
MGO	: Metilglioksal
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mL	: Mililitre
MS	: Kütle spektroskopisi
N	: Normalite
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
Na ₂ CO ₃	: Sodyum karbonat
NH ₂	: Amin

NH ₄ CH ₃ COO	: Amonyum asetat
NaOH	: Sodyum hidroksit
nm	: Nanometre
NPC	: Normal faz kromatografisi
<i>o</i> -	: Orto pozisyon
<i>p</i> -	: Para pozisyon
P	: Fosfor
Pb	: Kurşun
pH	: Hidrojenin gücü
ppm	: Milyonda bir birim
R ²	: Korelasyon katsayısının
RID	: Refraktif indeks dedektörü
RP-HPLC-UV	: Ters faz- Yüksek performanslı sıvı kromatografisi- Ultra viyole
RPC	: Ters faz kromatografisi
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
RSD	: Bağlı standart sapma
RT	: Alıkonma zamanı
SC ₅₀	: % 50 İnhibisyon konsantrasyonu
SD	: Kalibrasyon eğrisinin en düşük seviyesindeki standart sapma
Se	: Selenyum
SFC	: Süper akışkan kromatografisi
sn	: Saniye
SPE	: Katı faz ekstraksiyonu
SPSS	: Statistical package for social sciences
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TF	: Toplam flavonoid madde
TP	: Toplam polifenolik madde
TPTZ	: Tripridiltiazin
TRAP	: Toplam radikal tutucu antioksidan parametre
Troloks [®]	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
TSE	: Türk standartları enstitüsü
ORAC	: Oksijen radikal absorplama kapasitesi
UMF	: Özgün manuka faktör

UV	: Ultraviyole
UV-Vis	: Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi
v/v	: Hacim/hacim
Zn	: Çinko
-H	: Hidrojen iyonu
-OCH ₃	: Metoksi
-OH	: Hidroksil iyonu
α	: Alfa
β	: Beta
°C	: Santigrat derece
μ	: Mikro
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
%	: Yüzde
•	: Radikal

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bal, aromatik ve viskoz bir madde olup insan tüketimi için oldukça önemli bir besin maddesidir. Enerji değeri bakımından oldukça yüksek bir besin değerine sahip olan bal, insanların beslenmesinde kullanılmaktadır. Balın insan sağlığını korumadaki rolü onun saflığı ve bileşimi ile yakından ilişkili olup üretildiği bölgenin coğrafik özellikleri, bitki florası, hasat zamanı ve üretim şekli gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir (Özbalcı, 2013). Balın bu kompleks yapısına bakıldığında ana bileşen olarak karbohidrat ve suyun yanında organik asitler, aminoasitler, proteinler, uçucu bileşenler, enzimler ve fenolik bileşenler de içermektedir.

Türkiye bulunduğu coğrafik konum ve iklim şartlarından dolayı çok çeşitli ve zengin ballı bitkilere sahiptir. Çin ve Arjantin'den sonra Türkiye dünya bal üretiminde üçüncü sırada yer almaktadır. Ayrıca Türkiye yılın en az 6 ayı bal üretimi yapılan ve bal çeşitliliği bakımından da dünyanın önde gelen ülkelerinden biri konumundadır. Türkiye kestane, orman gülü, çam balı gibi bal türlerinin de dünyada en fazla üreticisi konumunda olup bunun yanında henüz tam olarak yapısı aydınlatılmamış değişik monofloral bal türlerine de ev sahipliği yapmaktadır.

Ağırlıkça tek tip floradan beslenen arılardan elde edilen ballar monofloral ballar ve çeşitliliği fazla olan çiçeklerden üretilen ballara ise heterofloral ballar denilmektedir. Türkiye'de her iki bal türüne yönelik üretimler yapılmaktadır, ancak son yıllarda gıda güvenliği bakımından kovandan sofraya izlenebilirlik bakımından monofloral ballar ön plana çıkmaktadır. Heterofloral ballarda nektar kaynağına göre balların özellikleri salınım yapacağından ballarda taşışın tespitinde karşılaştırma yapılan standartlarda monofloral balların değerleri ile kıyas yapılması oldukça verimli sonuç vermektedir.

1.2. Balın Genel Özellikleri ve Kimyasal Bileşimi

Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarların veya bitkilerin canlı kısımlarının salgılarından bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından üretilen bir gıda maddesidir. Çiçek

nektarları veya bitki salgıları bal arıları tarafından toplandıktan sonra vücutlarında bileşimlerinin değiştirilmesi, özel maddeler ile birleştirilmesi ve petek gözlerinde depo edilmeleri sırasında olgunlaşması sonucunda meydana gelen besin değeri yüksek, tatlı, zararsız, dayanıklı, yüksek biyolojik aktiviteli, etkili ve kolay sindirilebilen bir besin maddesidir (Martin, 1979; Ötleş, 1995). Doğal olarak üretilen bal, hiçbir işlem yapılmadan, tatlandırıcı madde olarak insanlar tarafından kullanılan tek gıda maddesidir.

Balın bileşimine bakıldığında, yaklaşık olarak % 70- 80 oranında karbohidrat olup ve bu karbohidratların büyük çoğunluğu fruktoz ve glukoz olduğu az miktarda mono-, di- ve oligo- sakkaritler içermekte olup, % 18- 20 oranında su ve % 1- 2 oranında ise proteinler, organik asitler, fenolik bileşikler ve mineral maddelerden oluşmaktadır (Saxena vd., 2010). Çiçek balları ve salgı ballarında kuru maddenin çoğunluğunu oluşturan fruktoz ve glukoz monosakkaritleri oluşturmaktadır. Yapılan çeşitli bal çalışmalarında miktar açısından fruktozun glukozu göre daha çok olduğu pek az balda (*Brassica napus*) balı gibi glukoz miktarı daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Cavia vd., 2002; Devillers vd., 2004). Balın şeker içeriği balın çeşitine göre ve florasına göre değişim göstermektedir. Sorkun ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada çiçek ballarında şeker bileşimi % 34,29 fruktoz ve % 27,04 glukoz, salgı ballarında ise, % 37,49 fruktoz ve % 31,55 glukoz içeriği belirlenmiştir (Sorkun vd., 2002).

Bal, yapısında bulunan organik asitlerin ve asidik tuzların etkisiyle, zayıf asidik özellik göstermektedir. Balın pH'sı 3,5- 5,5 arasında değişim göstermekte olup balda bulunan asit bileşeni, glukoz oksidaz enzim faaliyeti sonucu meydana gelen glukonik asittir. Diğer asitler ise formik asit, bütirik asit, sitrik asit, laktik asit ve tartarik asittir. Balda bulunan asitler balın lezzetine etki etmekte, olgunlaşmasına katkı sağlamakta ve aynı zamanda balı mikroorganizmalara karşı dayanıklı hale getirmektedir (Molan, 1995; Bogdanov vd., 2004; Ulusoy, 2010). Bal, enzimler bakımından oldukça zengin olup başlıca bilinen enzimleri diastaz (amilaz), invertaz (sakkaroz), katalaz, fosfataz ve ayrıca glukoz oksidaz ve fosfatazların bir kısmı, nektardan ve yaprak bitkilerinin yaprak üstüne salgıdan, büyük bir kısmı ise arıların tükrük bezi salgılarından meydana gelmektedir. İnvertaz (sakkaroz) enzimi, nektarın bala dönüşmesindeki kimyasal değişimlerin çoğundan sorumludur. Bu enzim nektardaki sakkarozun, fruktoza ve glukozu dönüşümünü sağlamaktadır. Önemli olan diğer bir enzim olan glukoz oksidaz enzimi glukozu okside ederek hidrojen peroksit ve glukonolakton oluşmaktadır. Oluşan hidrojen peroksit bala antibakteriyal aktivite kazandırmaktadır (Molan, 1992; Roderick, 1999). Balda bulunan

diğer bir enzim ise asit fosfataz enzimidir. Bu enzim organik fosfatları inorganik fosfatlara dönüştüren bir hidrolaz enzimidir. Asit fosfataz nektarın kompozisyonunda bulunmasına rağmen daha çok polende bulunmaktadır.

Eskiden bal içerisinde vitamin olmadığı veya çok az miktarda olduğu düşünülürken son yıllarda yapılan çalışmalarda balda çeşitli vitamin içerdiği tespit edilmiştir. Balda A vitamini bulunmazken daha çok B, C, E ve K vitaminleri bulunmaktadır. Bunlar tiamin, riboflavin, askorbik asit, pridoksin, pantotenik asit, niasin, biyotin ve folik asit belirlenmiştir (White, 2003; Krell, 2001).

Bal, genellikle saydam renkten başlayıp, koyu kırmızıya kadar kahverengi hatta siyaha kadar uzanan farklı renklere sahiptir (Bogdanov vd., 2004). Balın rengi balda bulunan polifenoller ve minarelerden kaynaklanmaktadır. Balın rengi dünya piyasasında bal fiyatlarını tayin eden faktörlerden biri olup balın tüketici tarafından kabul edilmesi ile ilişkilidir (Gonzales vd., 1999). Salgı balları ve koyu renkli ballar da mineral içeriği açık renkli ballara göre daha zengindir (Kolaylı vd., 2008). Balın mineral bileşimi % 0,02- 1 arasında değişim göstermekte ve başlıca K, Ca, P, Mg, olmak üzere iz miktarda Fe, Cu, Zn, Se, F ve Cl bulunmaktadır (Rashed ve Soltan, 2004; Yao vd., 2004a; Chudzinska ve Baralkiewicz, 2010).

Bal, proteince zengin bir besin maddesi olmamasına rağmen çok sayıda bünyesinde aminoasit içermektedir. Çiçekli ballarda aminoasit içeriği % 0,3 iken salgı ballarında % 1 civarında olduğu rapor edilmektedir. Balda yaklaşık olarak 17 tane aminoasit tespit edilmiştir. Başta prolin olmak üzere lizin, histidin, arginin, aspartik asit, treonin, glutamik asit, glisin, alanin, sistin, valin, metionin, izolösin, lösin, tirozin, fenilalanin, triptofan aminositleri içerdiği belirlenmiştir. Balda miktarı en yüksek olan prolin, kollagen ve elastinin yapısında bulunan hidroksiprolinin ön maddesidir (Kalaycıoğlu vd., 2006). Prolin bitkilerde çeşitli miktarlarda bulunmasından dolayı şeker grubu ile beslenen arılardan elde edilen bal ile, nektardan elde edilen balın ayrılmasında kriter olarak kullanılmaktadır (Guler vd., 2007).

Bal bünyesinde olgunlaşma durumuna göre farklılık göstererek yaklaşık olarak % 17 kadarında su bulundurmaktadır. Balın su içeriği, balın olgunluğunu ve raf ömrünün değerlendirilmesinde en önemli kriterdir. Baldaki su oranının yüksek olması balın daha kolay bozunmasına sebep olmaktadır. TGK Bal Tebliğine göre, baldaki su oranı % 20'den az olmalıdır (Bal Tebliği 2005).

1.3. Balın Sınıflandırılması

Üretildiği bölgenin coğrafik özellikleri ve üretim biçimine göre çeşitlenen bal türleri bulunmaktadır. Monofloral ve heterofloral ballar, çiçek balları ve salgı balları, saf ballar ve hileli ballar gibi bal tanımlamaları çok sıkça kullanılan terminolojilerdir. Bal kompleks bir karışım olmasından dolayı tağşişi oldukça kolay, bunun tespiti ise oldukça zordur.

Günümüzde balın saflığı gıda kodekslerine (TSE, CEU, IHC vb.) göre su içeriği, iletkenlik, asitlik, pH, renk değeri, şeker oranları (% C4/C13), prolin miktarı, diastaz aktivitesi, hidroksimetilfurfural (HMF) değeri ve çözünmeyen maddeler gibi kriterler kullanılarak belirlenmektedir (Molina, 1989; White, 1978). Bu kriterler balın sadece doğallığını ve saflığını tespit etmeye yaramaktadır. Test edilen balın biyoaktivite potansiyeli hakkında bilgi vermemekte ve dolayısıyla balın gerçek kalitesini yansıtmamaktadır. Balın biyolojik aktivite kriterleri olarak ise anti-mikrobiyal (bakteriyal, fungal ya da viral), anti-oksidan, anti-enflamatuar ve anti-tümöral özellikleri ön plana çıkmaktadır. Bu özelliklerin temelini ise bal arısının ırkı, coğrafi bölgesi ve nektar temin ettiği bitki florası oluşturmaktadır (Molan, 2000).

Ballar kaynağına göre bitki nektarlarından elde edilen “çiçek balları” ve bitkiler üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin (Hemiptera) salgılarından elde edilen “salgı balları” olmak üzere iki kaba gruba ayrılırken, üretilip pazara sunulmuş şekillerine göre petekli, süzme, petekli süzme, sızma, pres, filtre edilmiş bal olarak tiplendirilirler. Bu kaba gruplandırmaya ilaveten balların orijinlerine göre sınıflandırılması da büyük önem arz eder (Türk Gıda Kodeksi 2012).

Çiçek balı (blossom) arıların bitki çiçeklerindeki nektarlardan topladıkları şekerli maddeleri midelerinde dönüşüme uğratarak oluşturdukları bal olup halk arasında daha çok bilinen ballar bu tür ballardır. İhlamur, kestane, yonca, geven, lavanta, kekik, üçgül, narenciye, akasya, orman gülü gibi ballar çiçek ballarıdır.

Salgı balları (honeydew) ise iki şekilde oluşmaktadır. İlki bazı böceklerin bitkilerin özsularını (fleom) emerek elde ettikleri şekerli karışımları daha sonra çıkarmak suretiyle oluşan şekerlerin bal arıları tarafından tüketilmesi ile oluşan ballardır. Çam balı (*Pinus L.*) bu şekilde oluşmuş bir salgı balı olup çam ağaçlarının yapraklarında bulunan yaprak bitki veya koşnil (*Marchalina hellenica*)’lerin ifrazlarından oluşan sıvının arılar tarafından değerlendirilmesi ile oluşmaktadır. Çam balının da dahil olduğu salgı balının kaynağını balçığı (balözü) oluşturmaktadır. Balçığı, floem özsuğu ile beslenen böceklerin, yoğun

şeker içeriğine sahip rektal salgılarıdır (Zander ve Koch, 1994). Böcekler kendileri için gerekli besin maddelerini aldıktan sonra, geri kalan şekerli maddeyi (böceğin çıkartısını) dışkı olarak dışarı atarlar. Arılar bu yoğun şekerli maddeyi alarak kovana getirir ve bala dönüştürür. Bu şekilde meydana gelen bal, salgı balı olarak adlandırılır (Zander ve Koch, 1994).

Türkiye dünyada en fazla çam balı (*Pinus L.*) üreten ülke olup Ege, Batı Marmara ve Akdeniz bölgesinde üretim yapılmaktadır. Avrupa birliği en önemli çam balı ithal eden ülkelerdendir. Türkiye’de çam balı üretimi böceğin en yaygın ve yoğun olarak bulunduğu Muğla ve çevresindeki illerde en yüksektir (Tanakani vd., 2007; Tornuk vd., 2013). Ancak dünya çam balı üretiminin yaklaşık % 90’nını elinden bulunduran Türkiye’de üretilen çam ballarının kalite parametreleri hakkında detaylı araştırmalar mevcut değildir. Ülkemize özgü bu balın dünyada daha çok tanınması ve ihracatımızın artırılması için bilimsel çalışmalara ihtiyaç vardır.

İkinci salgı balı ise bazı bitkilerin çeşitli stres koşulları altında yapraklarından çıkardıkları şeker maddelerinin arılar tarafından alınması ve işlenmesi ile oluşan ballar olup meşe, ladin, köknar balları bu tür bal grubu girmektedir.

Meşe balı (*Quercus spp. L.*) bir çiçek balı olmayıp meşe ağacının yapraklarından stres şartlarına bağlı olarak çıkan çeşitli maddelerden oluşan bir salgı balıdır. Oldukça koyu renkli, kolay kristalize olmayan bir bal olup kendine has aroması, tadı bulunur. Ülkemizin Batı Trakya ve özellikle Kırklareli bölgesinde yoğun olarak üretilen bir orman balıdır. Literatürde yapılan çalışmalarda Bulgaristan ve Balkanlarda yoğun şekilde üretildiği bir salgı balı olduğu ve yüksek fenolik madde miktarına ve ona bağlı antioksidan kapasiteye sahip bal olduğu rapor edilmektedir (Simova vd., 2012; Tuberoso vd., 2013). Koyu renkli bir bal meşe balı polifenolik madde miktarı bakımından zengin bir baldır.

Ülkemiz dünyadaki ballı bitkilerin 3/4’ünün üretilbildiği ender coğrafyalardan biridir. Bu nedenle bal çeşitliliği bakımından da ülkemiz zengin coğrafyalar arasında sayılabilmektedir. Farklı çeşitliliğe sahip balların birlikte bulunduğu ballara literatür de heterofloral veya karışık ballar adı verilmektedir.

Üretim biçimine göre arıcılar bazen tek floralı balları bazende çok floralı balları üretirler. Bir balın üretiminde % 45’den daha fazla tek flora kullanılmışsa bu bal tek floralı veya monofloral (unifloral) bal olarak tanımlanmaktadır. Dünyada bal tağşişinin önüne geçmek ve coğrafik işaretli ballar üretmek, markalaşmak ve tıbbi değeri daha yüksek ballar üretebilmek maksadıyla monofloral bal üretimi ve tüketimi son yıllarda bir hayli artmıştır.

Monofloral ballar hem çiçek ve hemde salgı ballarından oluşabilmektedir. Ülkemizde de son 10 yılda balın tıbbi ve biyoaktif değeri hakkında farkındalık oluşmuş olup bazı monofloral balların ekonomik değeri artmıştır ve artmaya devam etmektedir. Türkiye coğrafyasında sıkça tükettiğimiz monofloral balların bazıları şöyledir; çam, orman gülü, kestane, ayçiçeği, çam, geven, püren, narenciye, akasya, ıhlamur ve sıkça tükettiğimiz karışık floralı (heterofloral) ballar ise Anzer, Gümüşhane, Bayburt, Erzurum, Van, Bitlis, Erzincan gibi karışık ve ovalık alanlardan toplanan binlerce değişik çiçeklerin nektarlarından oluşan ballardır. Daha az olmakta birlikte Türkiye’de ökaliptus, deve diken, biberiye, karabaş, kocayemiş balları da monofloral veya heterofloral ballar olarak üretilmektedir. Maydanoz, ayçiçeği, pamuk, korunga gibi sanayi bitkileri balları olup monofloral ballar sınıfında daha çok üretilmektedir. Bu ballara ilaveten dünyada ender bulunan bazı balları da üretebilmekteyiz. Dünyada sayıları birkaç tane olan ve toksik etkisi bilinen türlerden orman gülü, Ericaceae familyasından olup (Rhododendron, azalea, arbutus, andromeda ve kalmia) ülkemizin kuzey bölgelerinde orman altı bitkisi olarak yayılış gösteren bir türdür. İlkbahar aylarında açan mor renkli (*R.ponticum*) ve sarı renkli (*R.luteum*) çiçeklerinden arılar nektar ve polen kaynağı olarak yararlanırlar. Orman gülünün yapısında bulunan grayanotoksin adı verilen bir takım diterpenoidler toksik etkiye sahip olup ani tansiyon düşürücü, kusma, bilinç kaybı gibi semptomlara neden olabilmektedir (Şahin, 2014).

Püren veya süpürge çalısı olarak da bilinen (*Calluna vulgaris*) (İngilizce; heather honey) ülkemizde Batı Ege, Çanakkale, Akdeniz bölgesinin bitki türüdür ve yoğun olarak sonbahar aylarında bal üretimi yapılmaktadır. Literatürde püren balına ait çalışmalar mevcut olup balın yanık şeker kokusu ve tadında olduğu ve balkanlardan İtalya, Portekiz ve İspanya’ya kadar yayılım göstermektedir. Yapılan çalışmalarda püren balının yüksek fenolik madde içerdiği ve antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu bildirilmektedir (Castro-Vázquez vd., 2009; Alves vd., 2013; Jasicka-Misiak vd., 2012). Püren balı koyu renkli bir bal olup balın renginin yapısında bulunan çeşitli polifenolik ajanlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ülkemiz florasına ait püren balları üzerine detaylı çalışma bulunmazken literatürde daha çok balkanlar, İtalya, İspanya, Portekiz, Slovenya gibi ülkelerde püren ballarının yüksek polifenolik madde miktarı ve ona bağlı yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu bildirilmektedir (Jasicka-Misiak vd., 2012; Alves vd., 2013).

Kestane balı (*Castanea sativa mill.*) Karadeniz Bölgesi ve Marmara ve Trakya bölgesini içine alan geniş bir havzada üretilen bir baldır. Mayıs, harizan aylarında açan çiçekleri arılar için çok iyi nektar ve polen kaynağı olup koyu renkli bir baldır. Kolay kristalize olmayan bal halk arasında ilaç olarak tüketilmektedir. Türkiye florasına özgü ballardan en fazla üzerinden araştırma yapılan ballardan bir olan kestane (Küçük vd., 2007; Tezcan vd., 2011; Sarıkaya vd., 2009) balının tıbbi ve biyolojik aktif değerinin dünyada öne çıkan ballardan daha yüksek olduğuna inanılmaktadır, ancak bir karşılaştırma çalışması mevcut değildir (Kropf vd., 2010; Andrade vd., 1997; D’Arcy, 2005).

Ayçiçeği balı (*Heianthus annuus*) ülkemizde daha çok Trakya bölgesinde üretimi yapılan bir sanayi bitkisi balıdır. Kendine özgü kokusunun yanında çok çabuk kristalize olma özelliğine sahip bir bal olup daha çok otel balı olarak tüketilmektedir. Yapılan çalışmalarda ayçiçeği balı flavonoid içeriği bakımından oldukça zengin olup toplam fenoliklerin % 42’sini oluşturmaktadır (Amiot vd., 1989; Sabatier vd., 1992).

Akasya balı (*Robinia pseudoacacia*) ülkemizde en çok üretilen ballardan olup oldukça geniş bir dağılım göstermektedir. Daha çok Karadeniz Bölgesinde olmak üzere sahil bölgelerine yakın alanlarda üretilmektedir. Akasyanın çiçekleme dönemi bölgelere ve yüksekliğe bağlı olarak Nisan- Haziran ayları arasındadır. Akasya balı hoş kokuyu açık renkli bir bal olup erken kristallenir. Literatürde akasya balı ile ilgili yapılan çalışmada polen içeriği % 59 olan akasya balının toplam fenolik miktarının 93,43 mgGAE/100 g, SC₅₀ değerinin 10,53 mg/mL, toplam favonoid miktarının 6,14 mgQE/100 g ve aynı zamanda prolin mikarının 790,4 mg/kg olduğu tespit edilip, baldaki antioksidan aktivite ile prolin içeriği arasında korelasyon olduğu bulunmuştur (Meda vd., 2005).

Dünyada tıbbi değeri çok yüksek olan bazı ballar mevcut olup Yeni Zelanda’nın Manuka balı (*Leptospermum*) bu tür balıdır. Bu tür daha çok Yeni Zelanda, Avustralya Malezya gibi güney bölgelerinde bulunmaktadır. *Leptospermum* türünün altı farklı türü bulunmaktadır. Bunların en yaygın olanları *Leptospermum polygalifolium*, *Leptospermum scoparium* türleridir. Manuka bitkisinin çiçek özsularından üretilen Manuka balı yüksek antibakteriyal ve antifungal özelliğe sahiptir. Hafif kahverengimsi renge sahip olan manuka balı acımtırak bir tadı olmakla birlikte aynı bölgede arılar tarafından üretilmesine karşın ballardaki antibakteriyal aktivite aynı değildir.



Şekil 1. *Leptospermum scoparium*



Şekil 2. *Leptospermum polygalifolium*

Dr. Peter Molan, Yeni Zelanda'nın Manuka balının antibakteriyal özelliklerini öne çıkarmış ve Özgün Manuka Faktörü (UMF) tanımını yaparak bu alanda bir adım öne geçmiştir. Antibakteriyal aktiviteye göre diğer bir notlandırma yöntemi ise bal örneklerinin içerisindeki metilglioksal (MGO) içeriğini ölçme şeklindedir. Diğer ballarda antibakteriyal aktivite hidrojen peroksit miktarı ile ilişkili iken manuka balındaki yüksek antibakteriyal aktiviteye en büyük katkı sağlayan ara ürün glikolitik yolun son ürünü olarak oluşan metilglioksaldır (Adams vd., 2008; Majtan vd., 2012). Metilglioksal glukoz metabolizmasıyla ilişkili olup çeşitli yollarla enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla oluşmaktadır (Adams vd., 2009). Yapılan çalışmalarda manuka balında 1,2-dikarbonil bileşik olan metilglioksal manuka balına yüksek antibakteriyal aktivite kazandırmaktadır (Majtan vd., 2012). Bu gibi çalışmalar ışığında, bal günümüzde "yeniden keşfedilen şifa kaynağı" olarak alternatif ve tamamlayıcı tıp alanında kanıta dayalı uygulamalar ile klinisyenler tarafından kullanılmaktadır. Manuka balının çok yüksek antibakteriyal etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya çıkmaktadır (Weston vd., 1999).

1.4. Balın Önemi ve Apiterapik Özelliği

Apiterapi arı ürünleri ile yapılan tedavi yöntemi başta bal olmak üzere, propolis, polen, arı sütü ve arı zehri bu amaçlar için kullanılmaktadır. Arı ürünleri geçmişten günümüze kadar insanlar tarafından kullanılmaktadır. Antibiyotik keşfi yapılmadan önce yaraların tedavisinde bal en sık kullanılan doğal ilaç idi. Son yıllarda sentetik ilaçların yan etkilerinin bir hayli fazla olması, alerjik durumlar ve antibiyotiklere olan direnç gibi

nedenlerden insanoğlunu doğal yöntemlerle tedavi yollarına sevk etmiştir. Bitkisel yollarla tedavi fitoterapi, ve arı ürünleri ile tedavi apiterapi gibi yeni alternatif tedavi yöntemleri gelişmiştir. Çin, Romanya, Mısır gibi ülkelerde hastalıkları yalnızca arı ürünleriyle tedavi eden klinikler ve apiterapi merkezleri gitgide yaygınlaşmaktadır. Dünyanın değişik laboratuvarlarında yürütülen hayvan araştırmalarında ve klinik çalışmalarda balın tedavi edici potansiyeli açısından son derece umut verici gelişmeler sergilediği gözlemlenmektedir. Aralarında ABD, İngiltere, Yeni Zelanda, Avustralya ve bazı Avrupa ülkeleri gibi gelişmiş ülkelerde hali hazırda hastalar tarafından kullanılmak üzere "Tıbbi Sınıf Bal" satışa sunulmaktadır. Bu ballar ağırlıklı olarak antibakteriyal aktiviteleri esas alınarak notlandırılmakta ve sadece belirli laboratuvarlar tarafından sertifikalandırıldığı için tüketicilere yüksek kaliteli ve saf bal sunumu güvence altına alınmaktadır.

Balın yapısında bulunan ve tamamen doğadan gelen, sekonder metabolit ajan olarak da adlandırılan yüzlerce polifenolik bileşikler, vitaminler, enzimler ve mineraller onun antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, anti-İnflamatuvar, anti-tumoral vs. gibi balın biyolojik aktif özelliklerinden sorumludur (Russel, 1983; Bogdanov, 1984; Cook ve Saman 1996). Balın gerçek değeri ve tıbbi özellikleri ve onu oluşturan bu ikincil metabolitlerin varlığından ileri gelmektedir. Balın en önemli özelliğinden biri antimikrobiyal özelliğinin olmasıdır. Balın bu özelliği yapısında bulunan glukoz oksidaz enzimi tarafından glukozunun oksidasyonu ile oluşan hidrojen peroksittir (Roderick, 1999).

Bunun yanı sıra bal, yanık, yara tedavisinde, mide bağırsak bozukluğunda, deri ülseri, katarakt, göz rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (Castoldo ve Capasso 2002; Marcucci, 1995; Molan, 1992; Orhan vd., 2003). Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda enfekte olmuş yaralarda, ülser tedavilerinde balın kullanımıyla birlikte etkin sonuçlar ortaya çıkmaktadır (Molan, 2006; Jull vd., 2008). Özellikle son yıllarda Yeni Zelanda'da yapılan klinik çalışmalarda yanık merkezlerinde tedavi amaçlı bal kullanılmaktadır. Bal aynı zamanda son zamanlarda günümüzün popüler hastalığı haline gelen kanser tedavisinde de önemli yer teşkil etmekte olup birçok hastalığa şifa kaynağı olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Dustmann, 1993; FAO, 1996; Mundo vd., 2004; Ulusoy, 2010).

Balın tedavi edici rolü yapısında bulunan fenolik bileşiklerden ileri gelmektedir ve bu bileşiklerin her geçen gün yeni bir biyo-aktif özelliği ortaya çıkarılmaktadır (Aljedi ve Kamaruddin 2004; Beretta vd., 2005; Lachman vd., 2010; Stanciu vd., 2008; Cook ve Sammon, 1996; Ulusoy, 2010). Dolayısıyla farklı botanik orjinli ballarda bu bileşikler değişik oranlarda bulunmaktadır (Frankel vd., 1998).

1.5. Antioksidan Bileşenler

Oksijen canlılar için vazgeçilmez bir molekül olup alınan tüm besin molekülerinin yakılmasında kullanılan tek moleküldür. Canlı organizmalar sürekli olarak gerek oksijenli solunum ve gerekse başka yollarla alınan oksijenin oksitleyici etkisi altında kalırlar ve bu yaşlanmanın temel nedenidir. Oksijenli solunum sırasında oksijenin tam olarak indirgenmesi ile su molekülü oluşurken eksik indirgenme ürünleri olan serbest oksijen radikalleri (süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri) oluşmaktadır. Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunduran yüksek oranda reaktif ve kısa ömürlü atom veya moleküllerdir. Aktif yapılarından dolayı hücrede protein, lipid ve DNA gibi birçok biyolojik materyale zarar vermekle birlikte yaşlanma, kanser, damar tıkanıklığı, şeker hastalığı gibi birçok hastalığın patolojisinde ilgili olduğu tespit edilmiştir (Tsao ve Deng, 2004; Halliwell, 1992; Ulusoy, 2010).

Serbest radikallerle reaksiyona girerek zararlı etkiyi durduran veya azaltan her türlü moleküle antioksidan adı verilmektedir (Young ve Woodside, 2001). Radikallerin zararlı etkisinden korunabilmek için canlıların sahip oldukları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar bulunmaktadır (Thomas, 1995; Blomhoff, 2005). Endojen (organizma tarafından sentezlenen) antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılır (Jerry vd., 2000). Enzimatik olanlar, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve hidroperoksidaz olup, enzimatik olmayan antioksidanlar ise, redükte glutatyon (GSH), bilirubin, ferritin, albumin, seruloplazmin, melatonin, sistein, metiyonin, laktoferrin, transferrin, haptoglobülin ve ürik asit verilebilir. Eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) antioksidan ise daha çok bitkiler tarafından sentezlenen çeşitli vitamin (α - tokoferol, β -karoten, askorbik asit, folik asit) ve fenolik maddeler olup dışarıdan organizmaya alınıp etkinlik göstermektedirler (Saral, 2013; Kolaylı ve Keha 1999; Şahin, 2014).

1.6. Fenolik Bileşikler

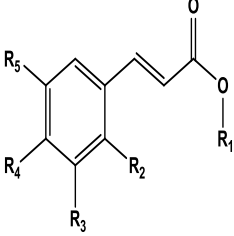
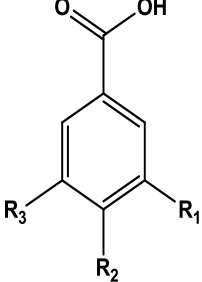
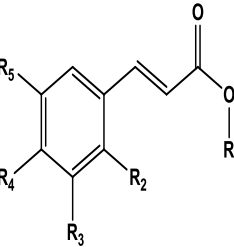
Bitkiler kendilerini her tür zararlı etkiye karşı korumak amacıyla pek çok sekonder metabolit ajan üretebilme potansiyeline sahip canlılardır (Saldamlı, 2007). Bitkiler aleminde en fazla üretilen metanolik ajanların başında yer alan temel bileşenler fenolik bileşikler veya polifenoller olup ayrıca besinlerin organoleptik özelliklerinden de

sorumludurlar (Fabre vd., 2001; Borbálan vd., 2003; Fang vd., 2007). Fenolik bileşikler yapısal olarak aromatik halkaya bir hidroksil grubu (-OH) olanlara fenol, daha fazla hidroksil grubu bağlı olan yapılara ise, polifenol olarak adlandırılmaktadır. Aromatik halkaya bağlı olan fenolik hidroksillerin hidrojeninin kararsız olması bu yüzden hidroksil grubundan bir hidrojen kaybetmeye meyilli olmalarından dolayı zayıf asidiktirler. Fenolik yapıdan bir hidrojenin kopmasıyla oluşan fenolat anyonunun ($C_6H_5O^-$) sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir (Vermerris ve Nicholson, 2006). Fenolik ya da polifenolik bileşikler bitkilerde en önemli bileşen olup, bitki aleminde 5000'den fazla fenolik yapının olduğu bilinmektedir (Pyrzynska, 2009). Polifenoller, bitkilerde, sebze, meyve, tohum, çiçek, kök ve gövde kısımlarında doğal olarak sentezlenen maddelerdir (Wollgast ve Anklam, 2000). Bitkisel materyallerde bulunan fenolik bileşikleri başlıca, fenolik asit ve flavonoid olarak iki gruba ayrılabilir.

1.6.1. Fenolik Asitler

Benzen halkası içeren organik maddeler genel olarak fenolik bileşik olarak adlandırılmakta olup, bitkiler aleminde bulunan ikincil metabolitlerdir (Akalin, 2011). Fenolik asitler, fenolik bileşiklerin alt grubu olup, bitkilerin özellikle taç kısımlarında bulunur ve antioksidan karaktere sahiptir. Bitkilerde, fenolik asitler serbest halde bulunmazlar, organik asitler ve şekerlerle esterleşmiş halde bulunurlar. Fenolik asitler, hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asit şeklindedirler. Hidroksi benzoik asitler C₆-C₁ iskeletine fenil metan yapısında bileşiklerdir. Bunlardan bir kaç; *m*-hidroksibenzoik, gallik, vanilik, salisilik, şiringik asitdir. Hidroksisinnamik asitler ise, C₆-C₃ fenilpropan yapısında olup bitkilerde çok yaygın bir şekilde bulunurlar. Fenilpropan halkasına bağlanan -OH grubunun konumu ve sayısına göre farklılık gösterirler. Hidroksisinnamik asitler çok az miktarda serbest halde bulunmaktadır. Genellikle asit türevleri şeklinde bulunmaktadır. Özellikle kaffeik asit ile onun esteri olan klorojenik ve ferulik asit gibi sinnamik asit türevleri çok yaygındır (Tablo 1).

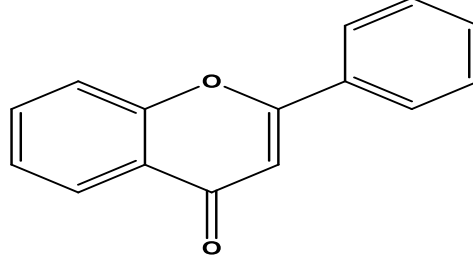
Tablo 1. Bazı fenolik asitlerin kimyasal yapıları

Fenolik Asitler						
Hidroksisinamik Asitler (C ₆ -C ₃)		-R ₁	-R ₂	-R ₃	-R ₄	-R ₅
	Kafeik Asit	-H	-H	-H	-OH	-OH
	Ferulik Asit	-H	-H	-H	-OH	-OCH ₃
	İzoferulik Asit	-H	-H	-H	-OCH ₃	-OH
	<i>p</i> -Kumarik Asit	-H	-H	-H	-OH	-H
	<i>o</i> -Kumarik Asit	-H	-OH	-H	-H	-H
	Sinapik Asit	-H	-H	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃
Hidroksibenzoik Asitler (C ₆ -C ₁)		-R ₁	-R ₂	-R ₃		
	Gallik Asit	-OH	-OH	-OH		
	Protokatekuik Asit	-OH	-OH	-H		
	<i>p</i> -OH Benzoik Asit	-H	-OH	-H		
	<i>m</i> -OH Benzoik Asit	-OH	-H	-H		
	Vanilik Asit	-OCH ₃	-OH	-H		
	Şiringik Asit	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃		
Hidroksisinamik Asit Türevleri		-R ₁	-R ₂	-R ₃	-R ₄	-R ₅
	Klorojenik Asit	Kuinik Asit	-H	-H	-OH	-OH
	İzoklorojenik Asit	Kuinik Asit	-H	-OH	-OH	-H
	Kaftarik Asit	Tartarik Asit	-H	-H	-OH	-OH
	Kutarik Asit	Tartarik Asit	-H	-H	-OH	-H
	Fertarik Asit	Tartarik Asit	-H	-H	-OH	-OCH ₃

1.6.2. Flavonoidler

Bitkilerin ikincil metabolitlerinden olan flavonoidler bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler renk, tat ve koku gibi organoleptik özelliklerden sorumlu oldukları için, analizleri önemli derecede ilginç yapan bu tür ürünlerin kalitesiyle yakından ilgilidirler (Fabre vd., 2001; Borbálan vd., 2003; Ulusoy, 2010). Flavonoidler bir aromatik A halkası, bir oksijen içeren heterosiklik orta halka ve birde aromatik B halkasından oluşan flavan iskeleti olarak tanımlanır ve (C₆-C₃-C₆) karbon iskeletine sahip

bileşiklerdir yapısındaki -OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999; Tsiogiannis ve Oreopoulou, 2006; Plochmann vd., 1997). Flavonoidlerin genel yapısı difenilpropan ($C_6-C_3-C_6$) yapısındadır (Şekil 3).



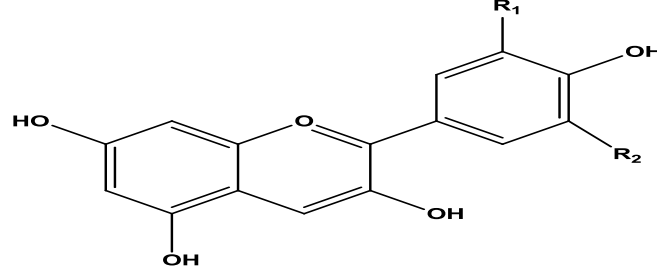
Şekil 3. Flavonoidlerin genel yapısı

Flavonoidler büyük çoğunluğu bitkiler tarafından üretilen 4000'den fazla bileşiği içeren geniş bir familyadır (Casagrande ve Darbon, 2001). Bu bileşikler bitkinin büyüme ve gelişmesini etkiledikleri gibi, hastalık etmenlerine karşı savunma sistemin de bir parçasını oluştururlar. Ayrıca farmakolojik, antimikrobiyal, antioksidan, antikanserojen özellikleri olduğunda bilinmektedir (Havsteen, 2002). Flavonoidler yapısındaki heterosiklik halkanın oksidasyon derecesine bağlı olarak farklı gruplar içermektedir (Halaç Türk, 2009; Şahin, 2014). Yaklaşık olarak 6500 farklı flavonoid türü bulunmakla birlikte yapısal olarak 5 farklı gruba ayrılır. Bunlar antosiyanidinler, flavonlar ve flavonollar, flavanonlar, kateşinler ve löykoantosiyanidinler ve proantosiyanidinler olmak üzere 5 farklı başlık altında toplanmaktadır.

1.6.3. Antosiyanidinler

Antosiyaninler bir aglikon (antosiyanidin), şeker ve bazen minör organik asitlerden oluşur. Şeker kısımları ise genellikle ramnoz, galaktoz, ksiloz ve arabinozdan oluşur. Ayrıca *p*-kumarik, kafeik ve ferulik asit gibi asitlerle açillenmiş olabilir (Shahidi, 1995; Fennema, 1985; Kurlıç, 2005). Antosiyaninler, suda çözünabilir niteliğinin yanında, sebze ve meyvelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini vermeden sorumlu renk pigmentleridir (Hulme, 1971). Antosiyaninlerin aglikon kısmını oluşturan fenolik bileşiklerin yapısında -OH grubu arttıkça rengin maviye döndüğü, -OCH₃ grubu arttıkça kırmızı rengin arttığı gözlemlenmektedir (Akalin, 2011). Antosiyaninler şekerlerle

bağlanma pozisyonlarına göre farklı formlarda bulunurlar. Şekil 4’de antosiyanidinlerin genel yapıları ve Tablo 2’de bazı üyelerinin fonksiyonel gruplarına yer verilmiştir (Belitz ve Grosch, 1999).



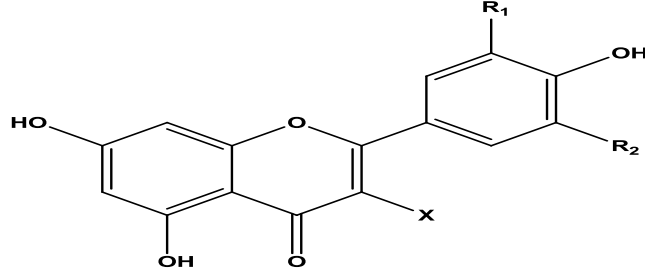
Şekil 4. Antosiyanidinlerin genel yapısı

Tablo 2. Bazı antosiyanidinlerin fonksiyonel grupları ve renkleri

Antosiyanidinler	Kısaltması	-R ₁	-R ₂	Renkliliği
Delfinidin	Dp	-OH	-OH	Koyu Mavi
Malvinidin	Mv	-OCH ₃	-OCH ₃	Mor
Pelargonidin	Pg	-H	-H	Turuncu
Peonidin	Pn	-OCH ₃	-H	Açık Kırmızı
Petunidin	Pt	-OCH ₃	-OH	Mavi-Mor
Siyanidin	Cy	-OH	-H	Kırmızı

1.6.4. Flavonlar ve Flavonollar

Flavon ve Flavonolların kimyasal yapıları arasındaki farklılık, orta halkanın 3. pozisyonundaki karbon atomuna bağlı -H ve -OH grubundan ileri gelmektedir (Cemeroğlu vd., 2001; Şahin, 2014). Şekerlerle glikozit halinde bağlanmış olarak bulunan flavonollerin, monosakkarit ve disakkarit formlarının yanında trisakkarit formlarında bulunmaktadır. Şekil 5’de flavonlar ve flavonolların genel yapıları ve Tablo 3’de bazı üyelerinin fonksiyonel gruplarına yer verilmiştir (Cemeroğlu, 2004).



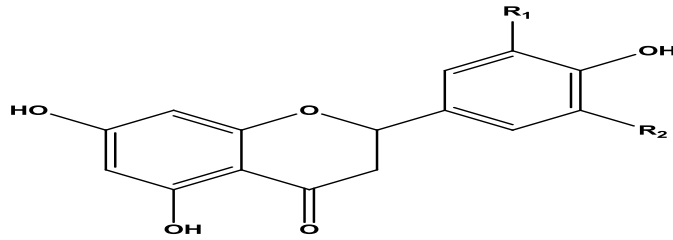
Şekil 5. Flavonollar ve flavonların genel yapısı

Tablo 3. Bazı flavonol ve flavon fonksiyonel grupları

Flavonollar			Flavonlar		
X= -OH			X=-H		
	-R ₁	-R ₂		-R ₁	-R ₂
İsoramnetin	-OCH ₃	-H	Apigenin	-H	-H
Kamferol	-H	-H	Krisoeriol	-OCH ₃	-H
Kuersetin	-OH	-H	Luteolin	-OH	-H
Mirisetin	-OH	OH	Trisin	- OCH ₃	-OCH ₃

1.6.5. Flavanonlar

Flavanonların flavonlardan farklı olarak ortadaki halkada çift bağ bulunmamasıdır. Şekil 6’da flavanonların genel yapıları ve Tablo 4’de bazı yapıların fonksiyonel gruplarına yer verilmiştir (Nibbs ve Scheidt, 2012). Flavonlar da doğada genellikle glikozit şeklinde bulunurlar. Bu glikozitler özellikle turunçgillerde yaygın olarak bulunurlar (Cemeroğlu, 2004).



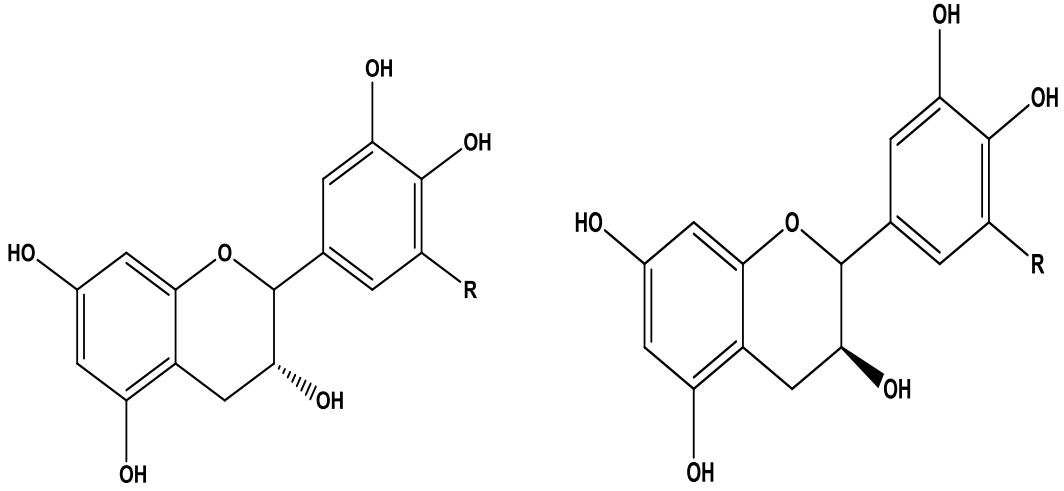
Şekil 6. Flavanonların genel yapısı

Tablo 4. Bazı flavanonların fonksiyonel grupları

	-R ₁	-R ₂
Naringenin	-H	-OH
Eriodictyol	-OH	-OH
Hesperetin	-OH	-OCH ₃

1.6.6. Kateşinler ve Löykoantosiyanidinler

Kateşinler, üçüncü karbon atomunda bir -OH grubu içermekte olup, kimyasal yapıları flavon-3-ol şeklindedir. Kateşinler, gıdalarda çok yaygın olarak bulunmakta flavonoid biyosentezinde ara ürün olarak bulunan renksiz bileşiklerdir. Kateşinlerin yapılarında iki tane asimetrik karbon atomu bulunduğundan 4 tane izomeri bulunmaktadır. Şekil 7’de kateşinlerin genel yapıları ve Tablo 5’de bazı üyelerinin fonksiyonel gruplarına yer verilmiştir (Shahidi ve Nacz, 1995; Ulusoy, 2010; Şahin, 2014).



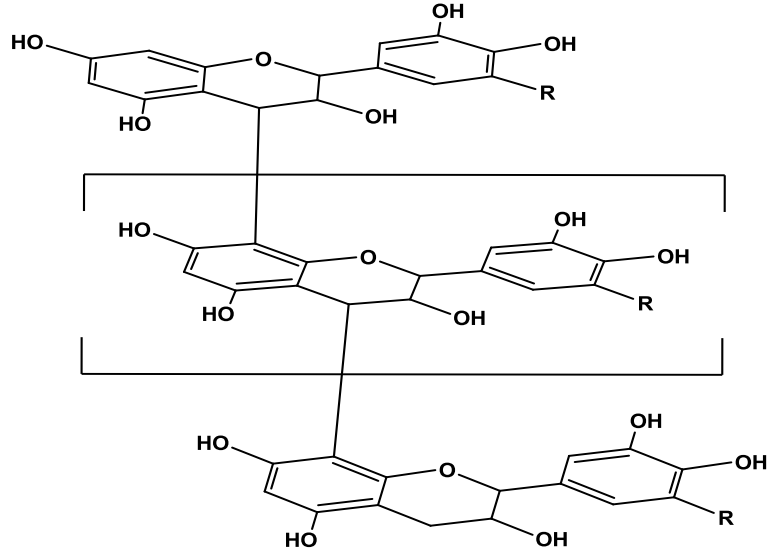
Şekil 7. Kateşinlerin genel yapıları

Tablo 5. Bazı kateşinlerin fonksiyonel grupları

Form A		Form B	
	-R		-R
(-)-Epikateşin	-H	(-)-Epigallokateşin	-H
(-)-Epigallokateşin	-OH	(+)-Gallokateşin	-OH

1.6.7. Protoantosiyanidinler

Kateşinler hem kimyasal hem de enzimatik olarak hava oksijeni ile kolaylıkla reaksiyona girerler. Reaksiyon sonunda kondanse olarak proantosiyanidinleri oluştururlar (Saldamlı, 2007). Proantosiyanidinler, kateşinlerin flavan-3-ol yapısının kimyasal veya enzimatik olarak dimer, oligomer ve polimerlere kondensasyonu ile oluşan bileşiklerdir. Sadece epikateşin/kateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prosiyanidin, kateşin/gallokateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prodelfinidin denir (Şekil 8). Bitkisel gıdalarda daha çok proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonları şeklinde bulunur (Nizamlioglu ve Nas, 2010; Şahin, 2014).



Şekil 8. Proantosiyanidinlerin kimyasal yapısı; R=H: Prosiyanidin, R=OH: Prodelfinidin

1.7. Kromatografi

Kromatografinin ilk uygulamasını Rus botanikçi Mikhail Tswett (1903) yılında bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini ayırımında kullanmıştır. Kullandığı kolonda renkli bandlar olduğundan Tswett bu yönteme yunancada renk anlamına gelen “chromatography” adını vermiştir (Skoog vd., 1998; Gündüz, 2001; Ettre, 2003; Ulusoy, 2010).

Kromatografi, bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit faz diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı sistemde ayrılması, tanınması ve saflaştırılması yöntemlerinin genel adıdır. Bu bileşenlerden sabit faz bir kolon içersine doldurulmuş veya düz bir zemin üzerine yayılmış herhengi bir katı veya katı üzerine emdirilmiş bir sıvı, hareketli faz ise sıvı, gaz veya süperkritik bir akışkan olabilir (Ulusoy, 2010). Bütün kromatografik metodlarda numune içersindeki maddelerin sabit ve hareketli faza etkileşimi sonucu ayrışması esasına dayanır. Bu ayrışmanın nedeni, maddelerin içinde bulunan bileşenlerinin hareketli veya sabit faz olan farklı ilgileridir. Numune içindeki farklı bileşenler sabit fazdaki dolgu maddesi ile etkileşim sonucunda değişik hızlarda hareketliliği sonunda numunenin bileşenleri kalitatif veya kantitatif olarak ayırt edilebilen ayrı bantlar içinde ayrılırlar (Skoog vd., 1998; Akyüz, 2011). Kromatografi hareketli fazın özelliğine bağlı olarak değişim göstermektedir. Bunlar; eğer hareketli faz sıvı ise, sıvı kromatografisi (LC), hareketli faz gaz ise, gaz kromatografisi (GC), kritik sıcaklığın üzerindeki sıcaklığa kadar ısıtılıp, basınç ile gerçekleştirilen kromatografiye süper-kritik akışkan kromatografisi (SFC) denir (Skoog vd., 1998; Ulusoy, 2010; Şahin, 2014).

Kromatografik yöntemler ayrılma mekanizmalarına göre:

- Adsorpsiyon (Sıvı- Katı) kromatografisi
- Dağılma (paylaşım) (Sıvı-Sıvı) kromatografisi
- İyon değişimi kromatografisi
- Jel filtrasyon (moleküler eleme) kromatografisi

olarak sınıflandırılabilir.

Adsorpsiyon kromatografisi: Ayrılacak olan bileşen sabit katı faz üzerinde tersinir olarak adsorblanmaları esasına dayanmaktadır. Burada hareketli faz, adsorban üzerinde sıvı olarak hareket eder ve bileşenler birbirlerinde katı yüzeye olan farklı ilgilerine göre ayrılır. Bir maddenin tutunma gücü, moleküllerdeki fonksiyonel grup türüne ve sayısına göre değişimine bağlı olarak kalma sürelerinde kolonu terk etmektedir (Trathnigg vd., 2004).

Dağılma (paylaşım) kromatografisi: Örnekteki madde ya da bileşenler, durgun sıvı ile çözücü arasındaki dağılma oranı ayrılmanın ne kadar başarılı olacağını belirler. Destek katası üzerine kaplanan bir sıvı sabit fazı oluştururken, diğer sıvıda hareketli fazı oluşturmakta oluşturur. Sabit fazda çözünürlüğü yüksek olan bileşenler kolonda uzun süre kalırken, çözünürlüğü düşük olanlar daha kısa süre kalır. Dağılma kromatografisinde sistemin ayırma gücü sabit faz, hareketli faz ve maddenin polaritelerine göre değişim

gösterir. (Skoog vd., 2004). Hareketli fazın sabit fazdan daha az polar olduğu sistemler normal faz kromatografisi; tersi durumunda ters faz kromatografisi denir.

İyon değişim kromatografisi: İyonların iyon yüklerine göre yüzeye tutturulmuş başka bir iyonun yerini alma olayıdır. İyonların (katyon-anyon) yer değiştirmesine dayanan bu kromatografide, sabit fazda bulunan iyonlarla numunedeki aynı yüklü iyonlar yer değiştirir. İyonik halde veya iyonlaşabilen madde ya da pH'ya bağlı olarak iyonlaşabilen moleküllerin ayrımı için kullanılan bir yöntemdir. İyon değiştirici dolgu maddeleri silika üzerine iyonik fonksiyonel grupların bağlanmasıyla elde edilir. İyon değiştirme mekanizmasında hareketli fazın pH'sı ve iyonik gücü alıkonma süresi üzerinde, hareketli fazın organik çözücü içeriğine oranla daha fazla etkilidir. Ayrılacak madde ile sabit faz arasında ne kadar kuvvetli bağ ve elektrostatik çekim olursa alıkonma o kadar güçlü olur (Meyer, 1988; Snyder vd., 1988).

Jel filtrasyon (moleküler eleme) kromatografisi: Bu yöntem özellikle yüksek mol kütesine sahip türlerde uygulanan bir yöntemdir. Kolon, jel boncuklar polisakkarid veya poliakrilamid polimerleri ile doldurulur. Gözenekler içinde moleküller, etkin bir şekilde yakalanır ve hareketli faz akımı ile uzaklaştırılır. Moleküllerin matriksteki porlara takılma yüzdesi, büyüklüğü ile ters orantılıdır. Porlara takılanlar daha yavaş yürümüş ve kolonda daha uzun süre kalmış olurlar. Bu şekilde dolgu maddesinin por büyüklüğü ve örnekte bulunan moleküllerin boyutu alıkonma süresini etkiler (Skoog vd., 1998).

1.7.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, özellikle biyolojik, farmakolojik, besinsel, çevresel ve endüstriyel örneklerdeki numunelerde organik ve anorganik bileşiklerin ayrılması ve belirlenmesi için uygulanan bir tekniktir (Ulusoy, 2010). Ayrımı gerçekleştirilecek olan bileşenler, bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile farklı etkileşimlere girerek, kolon içinde farklı hızlarda ilerler. Kolonu farklı zamanlarda terk eder ve böylelikle birbirinden ayrılmış olurlar. HPLC enstrümanları bir mobil faz rezervuarı, pompa, enjektör, bir ayırma kolonu (seçimli ön-kolon), ayırım için uygun dedektör, kolon fırını ve kaydedici (bilgisayar) içerirler.

Genelde HPLC çalışma prensibi tek bir çözücü veya karıştırılan iki veya daha fazla çözücünün karıştırılmasıyla gerçekleştirilir. Çözücülerin değişikliği ve ilaveler ayırmanın seçiciliğini optimize etmek için kullanılır. Mobil fazın akış hızı ayırma işlemi süresince

aynı olmalı ve çözücü sisteminde herhangi bir hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmeli, hassasiyet için olası hava kabarcıklarını ve çözünmüş gazların giderilmesi için HPLC cihazlarında pompa ünitesinden önce degaz üniteleride mevcuttur (Skoog vd., 1998). Pompa yüksek basınçta mobil fazın akışını sağlar ve ayırma esnasında çözücülerin çeşitli oranlarda karıştırılmasına programlanabilir. HPLC sisteminin en önemli kısmını oluşturan pompa, yüksek basınçta mobil fazın sabit akışını sağlar ve ayırma esnasında çözücülerin çeşitli oranlarda karıştırılmasıyla programlanabilir. Akış hızı kolonun iç çapına bağlıdır; kolonda küçük iç çapı küçük akış hızı gerektirmektedir. Analitik HPLC için tipik olarak 0,5- 5 mL/dk akış hızı 400 bar'a kadar çalışan pompalar üretilebilir (Akyüz, 2011).

HPLC'de numune enjeksiyon sistemi analiz edilecek karışımın sisteme verildiği parçadır. HPLC cihazlarında numune iki farklı şekilde sisteme enjekte edilebilir. Bunlar, manuel (elle kumanda edilen) ve bilgisayar kumandalı oto-enjektörler (auto sampler) şeklinde yapılabilir. Manuel olan bir sistemde örnek enjeksiyonu işleminin kolaylıkla yapılabilmesi ve çözücü akışının enjeksiyondan etkilenmemesi için analiz edilecek örnek çok uçlu bir valfe gönderilir. Bu valf yardımıyla örneğin bulunduğu hareketli fazın kolana doğru taşınması sağlanır (Dursun, 2011).

HPLC ile numune bileşenlerinin ayrımı farklı kromatografik teknikler kullanılarak yapılabilmekte ve bu özel uygulama için seçilen teknik, ayrılacak analitlerin özelliklerine göre değişiklik gösterir (Lindsay, 1987). Çoğu HPLC ayırmalar dağılma tiplerine göre çalışır. Dağılma kromatografisi hareketli ve sabit fazın bağıl polarlığına dayalı olarak iki temel forma ayrılır (Skoog, 1998). Normal faz sıvı kromatografisinde maddeler polar kolonda adsorpsiyon prensibiyle ayrılacaksa, sabit faz olarak genellikle polar katılar kullanılırken, hareketli faz çözücülerini apolar veya çok az polar sıvılar olmalıdır (hekzan, pentan, kloroform, ksilen vb. ya da bunların karışımları). Analitin tutunması hareketli fazın polaritesi arttıkça azalır. Ters faz kromatografisi en yaygın kullanılan sıvı kromatografisidir. Burada sabit faz apolar iken hareketli faz polardır. Analitler yüzeye apolar fonksiyon gösteren gruplarıyla bağlanırlar. En polar analit kolonu ilk önce terk eder. Ters faz kromatografisi orta- yüksek polarlılığa sahip olan analitlerin ayrımı için oldukça uygundur. Ters faz kolonlar silikondan modifiye edilmiş olup, silika jelde modifiye olan oktil (C8) ve oktadesil (C18) en çok kullanılan fazlardır. Ters faz sıvı ve normal faz sıvı kromatografisinde madde, polaritesinin sabit faz polaritesine yakınlığına göre kolondan alıkonulur ve hareketli fazın polaritesine yakın olan maddeler kolonu ilk önce terk eder.

HPLC sistemlerinin dört temel bileşenlerinden olan dedektör, kolonda birbirinden ayrılan maddelerin bileşenlerinden alınan cevap doğrultusunda sinyallerin kromatogram üzerinde pik olarak ifade edilmesini sağlayan ünedir ve kolondan sonrasına monte edilir. Uygulanmaya başlandığı günden bu yana HPLC sistemlerinde çok sayıda farklı ölçüm ilkelerine dayanan dedektörler geliştirilmiştir. Yaklaşık on iki tane dedektör LC analizlerinde kullanılabilmesine rağmen yaygın olarak dört tanesi kullanılmaktadır. Bunlar; UV dedektör (sabit ve değişebilen dalga boyu), refraktif indeks dedektörü, floresans dedektör ve kütle spektrometresidir (Skoog vd., 2007).

1.7.1.1. Ultraviyole (UV) Dedektör

HPLC sistemlerinde ideal bir dedektör; geniş konsantrasyon aralığında, yüksek duyarlılığa, düşük gürültü seviyesine, bilinen seçiciliğe sahip olmalı ve kromatografik rezolüsyona kötü etki yapmaksızın kolon akıntısındaki bileşiklere duyarlı olmalıdır. Böyle bir dedektör analiz yapılacak numunenin cinsine uygun olmasının yanında sıcaklık ve basınçtaki değişimlerde duyarsız olmalıdır. Bu özellikleri sahip olan ve sıvı kromatografisinde yaygın olarak kullanılan dedektörlerden biri ultraviyole dedektörüdür.

Pek çok organik molekül ve fonksiyonel grup 190- 800 nm aralığında ultraviyole (UV) ve/veya görünür (Vis) alanda elektromagnetik enerji absorplar. Çözeltiden sürekli olarak ışın demeti geçerken analitler tarafından ışığın bir kısmı adsorbe edilebilir. Böylece analiz edilmek istenen bileşiğin kalitatif veya kantitatif tayini yapılmış olur (Harvey, 2000).

Lambert-Beer kanuna göre zamana karşı absorbans ölçülür. Genellikle tek veya en fazla iki dalga boyunda eş zamanlı ölçüm yapabilmektedir. Diğer dedektörlerin sahip oldukları uygulanabilirlik kısıtlamaları nedeniyle LC sistemlere duyarlı UV dedektörlerin, hem organik hem de inorganik sistemlere uygun, 10^{-4} - 10^{-5} M aralığında tipik duyarlılık değerine sahip olamasından dolayı çalışmalarda en yaygın dedektör tipi olduğu bilinmektedir.

Zamanla UV dedektörü geliştirilerek modifiye edilmiş ve çalışmalar sonucunda, döteryum veya tungsten lambalı ışık kaynaklı diyot serili spektrofotometreler (DAD) kullanılmaya başlanmıştır. UV dedektörü ile aynı çalışma prensibine sahip yani zamana karşı absorbans ölçülür.

Fotodiyot dizisi dedektörün (Photodiode array dedector- DAD) UV dedektöründen farkı, 512 elementten oluşan bir yüzeyde ayrı bir dalga boyundaki absorbansı eş zamanlı olarak spektrum alabilme özelliğine sahiptir. Bu özelliği nedeniyle kromatogramda yer alan tüm piklerin arzu edilen dalga boyu aralığındaki spektrumlarının da gösteren üç boyutlu (x, y ve z) kromatogramlarına sahip olamsından ötürü karışık örneklerde pik teşhislerinin daha sağlıklı bir şekilde yapılabilmesine olanak sağlar.

1.7.1.2. Fotodiyot Dizisi (DAD) Dedektör

Fotodiyot dizisi dedektörü UV-Vis dedektörünün daha gelişmiş bir modelidir. Bu sistemin UV-Vis dedektöründen farkı, 512 diyotdan oluşan bir yüzeyde, her diyodun ayrı bir dalga boyundaki absorbansı eş zamanlı ve anlık spektruma alabilme özelliğine sahiptir. Bu sayede 3 boyutlu kromatogramlar almak ve istenilen her pikin çok hızlı spektrum taramasını görebilmek olasıdır. Ayrıca istenilen dalga boyu aralığında çalışılabilmesi bu dedektörün sağladığı bir diğer önemli avantajdır. Kullanılan ışık kaynağı döteryum veya tungsten lambadır (Yıldız ve Genç, 1993). HPLC-DAD kombine sistemi ile analitlerin HPLC ile alıkonma zamanlarına ilave olarak eş zamanlı alınabilen spektrumları sayesinde doğru tanımlanmaları mümkündür.

1.7.1.3. Refraktif İndeks (RID) Dedektör

Işın fiziksel yoğunlukları farklı olan bir ortamdan diğerine geçerken, bu iki ortamdaki hız farkı nedeniyle aniden yön değiştirir. Bir maddenin refraktif indeksi, bir ortamdan diğerine geçen paralel ışın demetinin yönündeki değişikliğin (kırılma) Kırılma indisi ölçülür. Örnek bileşenlerinin bulunduğu ortamda yoğunluk artacağından gelen ışık kırılarak hücreyi terk eder. Refraktif indeksleri farklı olan iki ortam arasına giren ışının bir bölümü yansımaya uğrar ve ortamlar arasındaki refraktif indeks farkı ne kadar büyük olursa ışının yansıyan bölümüde o kadar büyük olur. Işığın ölçülen kırılma oranından (kırılma indisi) kanitatif tayin yapılabilir. LC uygulamalarında refraktif indeks dedektörü en az hassasiyette olan dedektördür. Çevre sıcaklığı, basınç, akış hızı değişikliğinde dedektörün algılamada değişmektedir. Noniyonik, UV bölgede absorpsiyon yapamayan maddeler ve flüoresans olmayan bileşikler için uygun olan

RID'leri; diferansiyel indeks, frensel metodu, christiansen etki, interferometre ve dielektrik sabiti gibi dedektör çeşitleri bulunmaktadır.

LC sistemlerde konsantrasyon hassasiyeti ayrımı için RID genellikle kullanılmaktadır (Kenmore, 1997). Normal faz sıvı kromatografisinde kullanılan RID kolon dolgu maddeleri silika veya alümina, kullanılan hareketli fazlar ise daha düşük polariteli çözücülerdir. Silika üzerine farklı polaritelerdeki -CN, -NO₂ ve -NH₂ gibi gruplar bağlanarak farklı sabit fazlar elde edilebilir RID'de daha çok NH₂ kolonu kullanılmaktadır. Refraktif indeks dedektörü sıcaklık ve dalga boyundaki değişimlere karşı hassas olduğundan belirli bir sıcaklık (20 °C) ve dalga boyu (589,3 nm) aralığında çalışılmaktadır. Refraktif indeks dedektörü kantitatif tayinlerde kullanılmakta olup yaygın olarak karbohidrat miktarı tayinleri için RID kullanılmaktadır.

1.8. Balın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

1.8.1. Karbon İzotop Oranı

Bal, hileye açık bir ürün olup, ekonomik kaygılar ucuz şeker kaynaklarından bal üretilmesinin hilelerinin de beraberinde getirmektedir. Dünyada şeker kamışı ve mısır şurubundan elde edilen şekerler nispeten ucuz şekerler olup (White, 1992) arıların bu şeker şurupları ile beslenmesi ile yüksek verimde ve fakat hileli ballar üretilip ticareti yapılmaktadır. Baldaki hileyi tespit etmenin önemli bir yoluda coğrafik karbon izotoplarının analizidir. Balda kamış şekeri veya mısır bazlı şeker katkısının tespiti için günümüzde en yaygın yöntem olan ¹³C analizidir. Bu yöntem ilk kez 1978 yılında uygulanmıştır (Kerkvliet ve Meijer, 2000). Bu amaçla baldaki ve balın protein fraksiyonu arasındaki karbon izotop farklı (¹³C/¹²C) balın saflığının kalitatif ve kantitatif bir göstergesidir. ¹³C analizi şeker beslemeli balların tespitinde kullanılan izotopik teknik olup; bitkilerin bünyelerinde doğal olarak fotosentez sebebiyle bulundurduğu C3 ve C4 arasındaki izotop oranı farklılıklarına dayanır.

1.8.2. Nem İçeriği

Balın nem içeriği iklim koşulları ile ilişkili bir parametre olup, üretim yılı veya üretim mevsimi ve olgunluk derecesine bağlıdır (White, 1978). Balın nem içeriği, depolama sırasında fermentasyon olayının önlenmesi ve balın stabilitesinin devamı açısından önemlidir. Bazı mayalar (ozmofilik maya), yüksek oranda nem içeren ballarda canlı kalabilmekte, balın bozulmasına neden olmaktadır. Buna karşın, olgunlaşmış balın nem içeriği herhangi bir mikroorganizmanın gelişimine olanak vermeyecek kadar düşüktür. Balın nem içeriği % 17'den düşük ise hiç bir şekilde fermentasyon gerçekleşmemektedir (Amor, 1978; Molan, 1992; Singh ve Bath, 1997).

1.8.3. Elektriksel İletkenlik

Elektriksel iletkenlik bir maddenin elektriksel akışı yani elektronların akışını taşıma yeteneğidir. Ballarda elektriksel iletkenliği esas olarak balın mineral madde içeriğine dayanmaktadır (Andrade vd., 1997). Bal standartlarına göre ballarda elektriksel iletkenlik değeri çiçek balı ve fırıncılık balında 0,8 milli Siemens /cm² den fazla olmamalıdır. Salgı balı ve kestane balında ise bu değerin en az 0,8 milli Siemens /cm² olması gerektiği vurgulanmıştır.

1.8.4. CIE-Lab Renk Değeri

Bal, genellikle saydamdan başlayıp, koyu kırmızıya kadar; sarı, kehribar, kahverengi yeşilimsi ve kırmızımsı renklerde olmaktadır. Ballar renklerine göre; su beyazı, ekstra beyaz, ekstra açık amber, koyu renk olarak dört gruba ayrılmaktadır. Bala renk veren maddeler; klorofil, karoten, ksantofil ve bileşimi bilinmeyen sarı ve yeşil rengi meydana getiren bitki pigmentleridir.

Balın rengi dünya piyasasında bal fiyatlarını tayin eden faktörlerinden biri olup balın tüketici tarafından kabul edilmesi ile ilişkilidir. Açık renkli balların tadı yumuşaktır ve koyu renkli ballardan daha yüksek ticari değere sahiptir (White vd., 1978). Balın renk, aroma ve tat gibi özellikleri, iklim, üretim koşulları ve floral kaynağına bağlı olarak değişmektedir.

Balın rengi iki farklı şekilde ölçülebilmektedir, PFUND skalasına göre ki bu yöntem spektrofotometrik bir yöntemdir. Diğer yöntem CIE $L^*a^*b^*$ tristimulus methodu (Aubert ve Gonnet 1983; Ortiz vd., 1990; Bogdanov vd., 2004; Gonzalez-Miret vd., 2005; Tezcan vd., 2011) olup yine basit geliştirilmiş bir renk okuyucudan ibaret olup gıdaların renginin tayinden sıklıkla kullanılmaktadır. Hunter L , a ve b renk değerleri olarak da tanımlanmaktadır. Bu yöntemle göre renk değerleri L , koyuluk/açıklık (0: siyah; 100:beyaz); a ($-a$, yeşillik; $+a$, kırmızılık); ve b ($-b$, mavilik; $+b$, sarılık) olarak ifade edilmektedir (Yıldız ve Alpaslan 2011).

1.8.5. Optik Çevirme Açısı (α -rotation)

Balın polarize ışığı çevirme yönü ve miktarı bal çeşitlerine göre değişim göstermekte olup, çiçek balları ışığı sola çevirirken, salgı balları ışığı sağa çevirir. Bu ayırım sayesinde balın salgı balı mı yoksa çiçek balı mı olduğu tespit edilmiş olur. Normal ve olgunlaşmış baldan hazırlanan taze solüsyonlar polarize ışığı sola çevirirken, sakkarozun fazlası yani olgunlaşmamış veya tağşiş edilmiş olanlar ise ışığı sağa çevirmektedir (Berretta vd., 2005; White, 1989).

1.8.6. Mineral İçeriği

Balda mineral madde miktarı % 0,02- 1,0 arasında değişim göstermektedir. Balın içerdiği mineral maddeleri başlıca K, Ca, Na ve P olup bunları takiben Fe, Cu, Zn, Se, F, Cl bulunmaktadır (Ötleş, 1995). Balın mineral içeriği besin değerinin değerlendirilmesinde önemli bir özellik olduğu yapılan birçok çalışmayla tespit edilmiştir (Almeida-Silva vd., 2011; Ferna'ndez-Torres vd., 2005; Lachman vd., 2007; Silici vd., 2008; Vanhanen vd., 2011). Koyu renkli ballar ile açık renkli balların mineral içeriği % 0,04- 0,2 arasındadır (Vanhanen vd., 2011). Koyu renkli balların açık renkli ballara göre mineral içeriği fazladır. Koyu renkli ballarda aminoasit, şeker miktarı ile mineral maddelerden özellikle demir, bakır, manganez miktarlarının fazla olduğunu ve baldaki mineral maddeler arttıkça rengin koyulaştığı bildirilmiştir (White, J.W., 1975). Salgı balları çiçek ballarına göre daha zengin olup, bu özelliklerinden dolayı tedavi amaçlı olarak kullanılmakta ve kristalize olmadıkları için bazı tüketiciler tarafından tercih edilmektedir.

1.8.7. Prolin İçeriği

Bal, yapısından % 0,20 oranında protein içerir, bu protein bir kısmı arıdan bir kısmı ise polenlerden ileri gelmektedir (Komanine, 1960; Anklam, 1998; Hermosín et al. 2003). Bal, 20 aminoasidi bünyesinde bulundurmakta, bu aminoasitlerden en fazla bulunan prolin (% 50- 85) olup, onu fenil alanin, tirozin, lizin, arginin, glutamik asit, histidin ve valin takip etmektedir. Ayrıca balda bazı esansiyel olmayan amino asitler (γ -aminobutirik asit, amino izobutirik asit, butirik asit, ve ornitin) de yer almaktadır (Cotte vd., 2004). Prolin bitkisel kaynaklı değil hayvansal kaynaklı olduğu bildirilmektedir (Cotte vd., 2004). Yapılan bir çalışmada prolin değerinin arının çalışma kapasitesinin bir ölçüsü olduğu gösterilmiştir. Arılar şeker şurupları verildiği zaman arının çalışma performansı düşmekte ve bunu takibende prolin değeride azalmaktadır. Prolin miktarının ballardaki konsantrasyonları bitki florasına göre de değişim göstermekle birlikte saf ballarda 300-1200 mg/kg arasında değişim göstermektedir. Avrupa birliğinin bal gıda kodekslerine göre balın prolin değeri 180 mg /kg üzerinde ve Türk Gıda Kodeksine göre bu 300 mg/kg'ın üzerinde bulunmalıdır (Bogdanov, 1997).

1.8.8. Diastaz Aktivitesi

Diastaz aktivitesi, deney koşullarında, 40°C'de, bir saat içinde % 1'lik nişastayı belirlenen son noktaya (0,235 absorbansa ulaşmak için gereken süre) dönüştürecek enzimin miktarı olarak tanımlanır. Bir gram başına Schade birimi veya Gothe birimi şeklinde ifade edilmektedir (Bogdanov, 2002). Diastaz enzimi (amilaz), nişastanın maltoza dönüşmesini sağlamaktadır. Diastaz aktivitesi, depolamadan etkilenmekte olup sıcaklığın artmasına karşı duyarlıdır. Bu nedenle, balın tazeliğinin bir işareti ve ne kadar hangi koşullarda depolandığının da bir göstergesidir. Flora kaynağına bağlı olarak ballarda farklı düzeylerde bulunmakla birlikte, diastaz aktivitesinin beklenen düzeyinden az çıkması, ballarda kalitenin önemli bir işaretidir. Avrupa Birliği Direktifleri ve Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (Anonymous 2002, Anonim 2005)'e göre balın diastaz aktivitesi, 8 birim düzeyinden daha az olmamalıdır. Narenciye ballarında ise, 3 birim düzeyinden daha az olmamalıdır.

1.8.9. 5-Hidroksimetil Furfural (HMF)

5-hidroksimetilfufural (HMF) enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının bir ürünü olup gıdalarda şeker ve proteinlerin kondensasyon reaksiyonu sonucu oluşur. Balda HMF balın tazeliği ve ısıtılma maruz kalıp kalmadığının bir indikatörü olarak kullanılmaktadır. Balda düşük çıkması balın tazeliğinin göstergesidir. HMF kristalize olmuş balın ısıtılma sonucu çözündürülmesiyle artış göstermektedir. HMF şekerler ile amino asitler gibi yapısında amin grubu içeren biyomoleküller arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonları ürünlerinden biridir. Ballardaki HMF miktarı zaman ve sıcaklığa bağlı olduğu gibi pH, nem, indirgen şeker oranı, botanik özellik gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu nedenle çoğunlukla balların tazeliğinde ve ısıtılma uygulamasının bir indikatörü olarak HMF miktarına bakılır.

1.8.10. Şeker İçeriği

Fruktoz ve glukoz başta olmak üzere balda yaklaşık olarak yaklaşık 15- 20 değişik mono- di ve trisakkarit varlığı belirlenmiş olup bunların miktarı ve oranları balın floral kaynağına, üretim biçimine bağlı olarak değişim göstermektedir. Ballarda en sık tespit edilen bal türleri Tablo 6'daki gibidir (Kolaylı vd., 2012). Fruktoz ve glukoz oranı balın türüne göre değişim göstermektedir ve glukoz oranı yüksek ballar oda sıcaklığında kristalleşmeye eğilimlidir (Cavia vd., 2002).

Tablo 6. Balda en sık görülen şeker türleri

Monosakkaritler	Disakkaritler	Trisakkaritler
Glukoz	Sukroz (max.%5)	Melesitoz
Fruktoz	Maltoz (0,5-3,5)	Isomaltotrioz
Arabinoz	Isomaltoz	Rafinoz
	Turanoz	Theanderoz
	Trehaloz	Isopanoz
	Neotrehaloz	Erloz
	Melibioz	Panoz
	Maltuloz	Maltotrioz
	Kojibioz	Laminaritrioz
	Gentiobioz	Kestoz
	Palatinoz	Neokestoz (Fruktoz trisakkarit)
	Nigeroz	Sellobioz
	Laminaribioz	
	Difruktoz Anhidrid	

1.9. Balın Biyoaktif Özellikleri

1.9.1. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Literatürde doğal ürünlerin ve balın antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılan pek çok antioksidan yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemlerin esasları çeşitli yollarla oluşturulmuş oksidasyonu önlemek, durdurmak, oluşumunu önlemek, radikalik zincir reaksiyonları durdurmak veya bir dereceye kadar azaltabilmektir.

In vitro olarak yapılan antioksidan aktivitenin ölçülmesi iki temel unsura dayanmaktadır. Bunlardan ilki, tek elektron transferine dayalı olan yöntemler (Toplam fenolik madde miktarı, FRAP, TEAC, DPPH, CUPRAC vb.) ikincisi; hidrojen atomunun transferine dayalı yöntemler (TRAP, ORAC vb.) (Büyüktuncel, 2013; Şahin, 2014).

1.9.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Yöntem ballarda bulunan fenolik maddelerin Folin Ciocalteu reaktifi ile renkli kompleks oluşturması esasına dayanan Folin (Singleton ve Rossi, 1965; Singleton vd., 1999) metodu doğal ürünlerde toplam fenolik madde ölçümü için en çok kullanılan yöntemdir. Oluşan mor menekşe renkli kompleks 765 nm’de maksimum absorbans oluşturur. Bu rengin spektrofotometrik ölçümü ile toplam polifenolik madde miktarı tespit edilir.

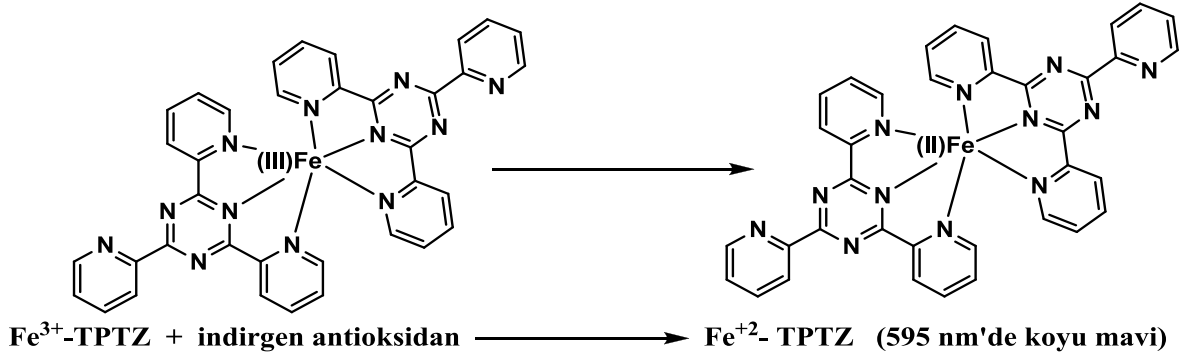
1.9.1.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Fenolik bileşiklerden flavonollerin tayini Fukumoto ve Mazza (2000)’ya göre yapıldı. Hazırlanmış metanol bal ekstraktları çalışmada kullanıldı. Aynı zamanda standart olarak kuarsetinin 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125; 0,015625 mg/mL’lik bir seri çözeltisi metanol içerisinde hazırlandı. Çalışmada numune ve standartlara ait pipetlemeler numune değişen konsantrasyonlarda 0,5 mL ilave edilmiştir, mutlak metanol 4,3 mL %10’luk $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 0,1 mL, 1 M $\text{NH}_4.\text{CH}_3\text{COO}$ 0,1 mL ilave edilerek 40 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır ve 415 nm’de absorbans değerleri ölçülür.

Konsantrasyona karşılık bulunan absorbans değerleri ile grafik çizilir. Çizilen grafiğe göre bal ekstraktlarının toplam flavonol miktarı bulundu, seyreltme faktörleri de dikkate alınarak asıl numunenin mg Kuersetin eşdeğeri/ g bal olarak flavonol miktarı bulunur.

1.9.1.3. Demir (III) İndirgeme/Antioksidan Güç-FRAP

FRAP yöntemi, doğal ürünlerin antioksidan kapasitelerinin tayininde en sık kullanılan yöntem olup antioksidan maddelerin Fe(III)- TPTZ kompleksinde bulunan demir (III) iyonunun indirgenmesi esasına dayanan ve hidrojen transferi ne dayanan bir yöntemdir (Şekil 9). Metodu ilk olarak Oyaizu (1986) tarafından geliştirilmiş ve sonra (Benzie ve Strain, 1999) tarafından modifiye edilmiştir. Çözeltide bulunan antioksidan maddeler tarafından indirgenen Fe(III) 760 nm’de absorbas verir, absorbans ne kadar yüksek olursa antioksidan aktivite o kadar yüksektir. Sonuçlar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ değeri cinsinden ifade edilir.



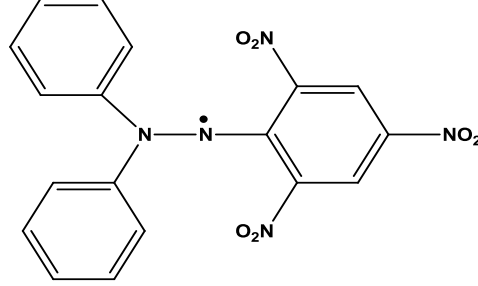
Şekil 9. Demir (III)’ün indirgenme reaksiyonu

1.9.1.4. Serbest Radikal Temizleme Antioksidan Tayini

1.9.1.4.1. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi

DPPH• (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) sentetik olarak üretilen bir radikal olup 517 nm’de maksimum absorbans oluşturur (Cuendet vd., 1997) (Şekil 10). Antioksidan madde veya maddelerle muamele edildiğinde DPPH•’tan kaynaklanan mor rengin şiddeti azalarak absorbansın düşüşüne sebep olmaktadır. Gerek standartlarla gerekse numunelerle

reaksiyona giren DPPH• reaktifinin oluşturduğu absorbands değişimi 517 nm’de ölçülüp absorbandlara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilir.



Şekil 10. DPPH• (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) radikalın formülü

1.9.2. Antimikrobiyal Aktivite

19. yüzyılın ikinci yarısında enfeksiyon hastalıkların etkenlerinin araştırılmasıyla birlikte antibiyotikler hakkındaki bilgide gelişmeye başlamıştır. Eski zamanlarda enfeksiyon tedavisi için ya enfekte olmuş vücut bölgeleri kesilir yada hastaya arsenik içirilirdi. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar neticesinde birçok antibiyotik bulup, günümüze kadar tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Genel olarak bakteri ve mantar türlerini öldüren veya üremelerini önleyen bileşiklere antimikrobiyal madde denilir. Antimikrobiyal maddeler etkili olabildikleri mikroorganizma cins sayısının az ya da çok olmasına bağlı olarak dar ya da geniş spektrumlu şeklinde tanımlanır.

Balın besin içeriğinin insan sağlığına etkisinin yanı sıra olağanüstü bir özelliği vardır ki buda antimikrobiyal aktivitesidir. Balın antimikrobiyal özelliği bileşimindeki benzil alkol, 1,4-dihidroksibenzen, terpenler ve 2-hidroksibenzoik asit gibi maddelerin varlığından kaynaklandığı bilinmesine karşı, bilim adamlarına göre balın antimikrobiyal etkisi arıdan mı yoksa nektardan mı bala geçtiğinin henüz bilinmediğini ifade etmektedir (Anonim, 2003b). Eski zamanlardan günümüze kadar yapılan birçok çalışmada balın antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. Yaklaşık olarak 60 tane bakteri türü olup bunlar aerobik, anerobik ve gram pozitif ve gram negatif bakterilerine karşı balın inhibitör etkisi olduğu bilinmektedir (Taormina vd., 2001; Liu vd., 2013). Balın antimikrobiyal aktivitesi onun asitliğine, düşük pH değeri, osmotik basıncına, glukoz oksidaz aracılığıyla enzimatik olarak hidrojen peroksit üretimine ve non-peroksit aktivite gibi karakteristik özelliklere bağlıdır. Balda non-preoksit antimikrobiyal faktör lizozim,

fenolik asitler ve flavonoidler antimikrobiyal aktiviteye bütün olarak katkıda bulunabilir (Taormina vd., 2001). Çeşitli bal örneklerinde gözlenen antimikrobiyal aktivite nedeni, yüksek şeker konsantrasyonuna (düşük su aktivitesi) bağlı inhibisyon, hidrojen peroksit oluşumu, proteinli antimikrobiyal bileşenlerin varlığını belirler (Mundo vd., 2004). Balın içerdiği glukozoksidaz enzimi su ve oksijen varlığında, glukozu glukonik asit ve hidrojen peroksit parçalamaktadır. Oluşan hidrojen peroksit ve asidik ortam, olgunlaşma sırasında balı korumakta ve antimikrobiyal özellik kazandırmaktadır. Baldaki esas antimikrobiyal bileşen hidrojen peroksittir.

Yeni Zelanda manuka ağacının üretilen manuka (*Leptospermum scoparium*) balı farklı bakteri türlerine karşı çok yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Lee vd., 2008; Sherlock vd., 2010). Manuka balında bulunan dihidroksiasetonun metilglioksale dönüşmesi manuka balına diğer ballarda olmayan non-peroksit aktivite kazandırmakta ve buda yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olmasını sağlamaktadır (Al-Hasbi, vd., 2012). Hastalık ve enfeksiyonlara neden olan birçok mikroorganizmanın gelişimi bal tarafından inhibe edilmektedir. Mundo vd. (2004) yılında yapmış olduğu çalışmada balın *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella enterica* gibi bakterilere karşı etkili olduğunu tespit etmiştir. Balın antimikrobiyal özellik göstermesinin insan sağlığı açısından önemi, gıda patojeni ve bozulma yapan mikroorganizmaların gelişmesine izin vermemesi ve enfeksiyonların iyileşmesine yardımcı olmasından ileri gelmektedir.

Günümüzde antimikrobiyal aktivite belirlemede iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, bir antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türüne karşı *in vitro* etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir. Bunlar, dilüsyon (seri seyreltme) yöntemidir. Bu yöntem antibiyotiklerin sıvı ya da katı bir şekilde (agar dilüsyon) besiyerlerinde bir seri halinde seyreltmesi ve duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonunda aynı oranda ilave edilmesi esasına dayanmaktadır. Difüzyon yöntemi ise, belirli konsantrasyonlardaki antibiyotiklerin katı besi yerine difüze olması esasına dayanmaktadır. Bu yöntem disk difüzyon yöntemi olarak ifade edilmektedir. Disk-difüzyon yöntemine benzeyen, minimum inhibitör konsantrasyonu belirlemesini sağlayan E-testi (dereceli antibiyotik şeridi yöntemi) kantitatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Yapılan analizlerde kullanılan cihazlar marka/model olarak Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Kullanılan cihazlar ve marka/modelleri

Cihaz Adı	Marka/Model
LC-UV	Thermo Scientific Surveyor™, San Jose, CA, USA
LC-UV	Elite LaChrom, Hitachi, Japonya
LC-RID	Elite LaChrom, Hitachi, Japonya
UV-vis spektrofotometre	Spectro UV-Vis Double Beam PC LaboMed Inc., Los Angeles, CA, USA
pH metre	Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland
Hassas Terazi	Presica LX 320 A, Dietikon, Switzerland
Saf Su Cihazı	Human, Zeneer Navi UP, Song Pa-Ku, Seoul, Korea
Refraktometre	Atago
Polarimetre	Beta PPP7 Optical Activity, England
İletkenlik Ölçüm Cihazı	WTW inoLab Cond / 720, Germany
Renk Ölçüm Cihazı	CM_2500 c portatif spektrofotometre konica minolta China
Vorteks karıştırıcı	Labnet VX100, MO BIO Laboratories, Inc., NJ, USA
Etüv	Nüve, EN 400, Ankara, Türkiye
Magnetik karıştırıcı	Heidolph MR HEI-Standard, Schwabach, Germany
Rotary evaporatör	IKA®-Werke, RV 05 Basic, Staufen, Germany
Vakum Pompası	Buchi Vacuum Pump V-700, Flawil, Switzerland
Yarı otomatik pipetler	Eppendorf Research® Plus Hamburg, Germany

2.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler

Çalışmada kullanılan temel kimyasal madde ve malzemeler Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Kullanılan kimyasallar ve satın alınan firma

Kullanılan Kimyasal	Satın Alındığı Firma
Gallik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Protokatekuik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
p-OH benzoik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Kateşin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Klorogenik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany

Tablo 8'in devamı

Vanilik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Kaffeik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Şiringik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Epikateşin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
<i>p</i> -kumarik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Ferulik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Rutin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Myrisetin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Fisetin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Kuersetin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Asetonitril-LC Saflıkta	Merck, Darmstadt, Germany
Metanol-LC Saflıkta	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Asetik Asit	Merck, Darmstadt, Germany
HCl	Merck, Darmstadt, Germany
Folin-Ciocalteu's phenol reaktifi	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
% 3'lük Ninhidrin	Merck, Darmstadt, Germany
FeSO ₄ 7H ₂ O	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Riboz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Arabinoz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Fruktoz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Glukoz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Galaktoz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Sukroz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Maltoz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Teraloz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Melebioz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Melezitoz	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany

2.3. Çözeltiler

Çalışmada kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
HPLC-UV İle Fenolik Bileşen Analizleri İçin	
Gallik asit	%50-50 metanol-saf suda hazırlanan 1000 ppm’lik stok çözeltiden, 1- 2- 5- 10- 20- 30 ppm olacak şekilde çözücüsüyle (%50-50 metanol-saf su) seyreltilir.
Protokatekuik asit	
<i>p</i> -OH benzoik asit	
Klorojenik asit	
Vanilik asit	
Kaffeik asit	
Şiringik asit	
<i>p</i> -Kumarik asit	
Ferulik asit	
Kateşin	%100 metanolle hazırlanan 1000 ppm’lik stok çözeltiden, 1- 2- 5- 10- 20- 30 ppm olacak şekilde çözücüsüyle (%100 metanol) seyreltilir.
Epikateşin	
Rutin	
Myrisetin	
Fisetin	
Kuersetin	
Apigenin	
Kaemferol	
İsorhametin	
Propilparaben	% 100 metanolle 1000 ppm’lik stok çözelti hazırlanır.
% 2’lik Asetik Asit	20 mL glasiyel asetik asit balon jojede saf su ile 1000 mL’ye tamamlanır.
%70-30 Asetonitril- Saf Su	700 mL asetonitril balon jojede saf su ile 1000 mL’ye tamamlanır.
HPLC- RID İle Şeker Bileşen Analizi İçin	
Riboz	%100 saf su ile hazırlanan 100 mg/mL’lik stok çözeltiden, 1,25- 2,5- 5- 10- 20 mg/mL olacak şekilde (%100 su) seyreltilir.
Arabinoz	
Fruktoz	
Glukoz	
Galaktoz	
Sukroz	
Maltoz	
Teraloz	
Melebioz	
Melezitoz	
HMF Analizi İçin	
5-Hidroksimetil-2- Furfural	1,3125- 2,625- 5,25- 10,5- 21- 42- 105 mg/L olacak şekilde saf su içersinde hazırlandı.
Toplam Fenolik Madde Miktarı İçin	
0,2 N Folin- Ciocalteu	2 N Folinden 1:10 oranında saf suyla seyreltilerek kullanılır.
% 10’luk Na ₂ CO ₃	10 g Na ₂ CO ₃ 90 mL suda çözülür, 100 mL’ye tamamlanır.
Gallik Asit (1 mg/mL)	Metanolle hazırlanan stok çözeltiden, 0,5- 0,25- 0,125- 0,0625- 0,03125 mg/mL olacak şekilde metanolle seyreltilerek hazırlanır.

Tablo 9'un devamı

Toplam Flavonoid Madde Miktarı İçi	
1 M $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$	7,7 g $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ 100 mL saf suda çözülür.
%10 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$	1 g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 10 mL saf suda çözülür.
Kuersetin (1 mg/mL)	Metanolle hazırlanan stok çözeltiden, 0,5- 0,25- 0,125- 0,0625- 0,03125 mg/mL olacak şekilde metanolle seyreltilerek hazırlandı.
Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç -FRAP İçin	
HCl (40 mM)	Yaklaşık 20 mL saf suyun üzerine % 37'lik HCl'den 340 µL ilave edilir ve saf suyla 100 mL'ye tamamlanır.
TPTZ (10 mM)	234,249 mg TPTZ stok maddeden tartıldı, 75 mL 40 mM'lık HCl içinde çözülür.
FeCl_3 (20 mM)	324,4 mg FeCl_3 destile suyla 100 mL'ye tamamlandı.
Asetat Tamponu (300 mM, pH 3,6)	2,325 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ üzerine 12 mL glasiyel asetik asit ilave edildi. 750 mL'ye saf suyla tamamlandı.
FRAP Reaktifi	300 mM pH 3,6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl_3 (10:1:1) oranında karıştırılarak taze hazırlanır.
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1000 µM)	27,8 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ suyla 100 mL'ye tamamlanır. 500, 250 ve 100 µM'lık konsantrasyonlara destile su ile seyreltilerek kullanılır.
DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi İçin	
DPPH Reaktifi (0,1 mM)	100 mL'si için; 3,94 mg DPPH tartılır, 90 mL metanolle çözülür ve 100 mL'ye tamamlanır.
Troloks® (0,02 mg/mL)	10 mg troloks 10 mL metanolde çözülerek stok çözeltisi hazırlanır. 0,02 mg/mL'lik ara stok çözelti metanolle seyreltilerek kullanılır.
Diastaz Aktivitesi İçin	
İyot Stok Çözeltisi	2,2 g I ve 4,4 g KI 40 mL saf suda çözülür 24 saatin sonunda 100 mL'ye saf su ile tamamlanır.
Seyreltik İyot çözeltisi	50 mL'si için; 2 g KI tartılır, stok iyot çözeltisinden 200 µL ilave edilir 50 mL'ye saf su ile tamamlanır.
Asetat Tamponu (0,5 M, pH 5,3)	500 mL'si için; 87 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ üzerine 10,5 mL glasiyel asetik asit ilave edildi. 500 mL'ye saf suyla tamamlandı.
NaCl (0,5 M)	500 mL'si için; 14,5 g NaCl 500 mL'de çözülür.
Nişasta çözeltisi	100 mL'si için; Kaynamış yaklaşık 90 mL saf suya 2 g nişasta konulur, soğuduktan sonra üzerine 2,5 mL asetat tamponu ilave edilerek hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.
Optik Çevirme İçin	
Karez I (0,25 M)	100 mL'si için; 10,56 g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ tartılarak hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.
Potasyumferrosiyonür	
Karez II (0,1 M)	100 mL'si için; 21,94 g $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.
Çinkoasetat dihidrat	

2.4. Numunelerin Temini ve Saklama Koşulları

Türkiye florasına ait 12 değişik türe sahip 60 bal örneği ile Yeni Zelanda'nın UMF değeri farklı 2 tane Manuka balı temin edildi. Manuka balları 2010 yılına ait olup türk balları 2011-2013 bal sezonunda temin edildi. Türkiye balları Türkiye Arıcılar Birliğine bağlı birlikler ve arıcılardan temin edildi. Manuka balları ise yurt dışından satın alındı. Temin edilen numunelerin kodları ve bilgileri Tablo 10'daki gibidir. Çalışılan ballara verilen kodlar ve hasat edildikleri bölgeyi gösteren veriler Tablo 10'daki gibidir. 2011, 2012 ve 2013'ün ilk aylarında toplanan bal örnekleri analizler için 3 kısma ayrılarak laboratuarda +4°C'de ve karanlık ortamda muhafaza edildi.

Tablo 10. Analizler için temin edilen balların alındığı yer/yılı ve Latince isimleri

Bal tipi	Toplandığı Bölge /yılı	Latince İsimleri
Kestane1	Giresun- Eynesil/2011	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Kestane2	Kastamonu /2012	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Kestane3	Artvin /2011	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Kestane4	Borçka /2011	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Kestane5	Araklı /2011	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Kestane6	Fındıkoba-Of /2013	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Kestane7	Zonguldak /2012	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Kestane8	Antalya/2012	<i>Castanea sativa</i> Mill.
Püren Balı1	Biga /2011	<i>Calluna vulgaris</i>
Püren Balı2	Çanakkale /2011	<i>Calluna vulgaris</i>
Püren Balı3	Eceabat /2012	<i>Calluna vulgaris</i>
Püren Balı4	Antalya /2011	<i>Calluna vulgaris</i>
Püren Balı5	Çanakkale /2013	<i>Calluna vulgaris</i>
Meşe Balı1	Tekirdağ/2011	<i>Quercus</i> sps. L.
Meşe Balı2	Tekirdağ/2012	<i>Quercus</i> sps. L.
Meşe Balı3	Tekirdağ/2011	<i>Quercus</i> sps. L.
Ihlamur Balı1	Kastamonu/2011	<i>Tilia</i> sps.
Ihlamur Balı2	Kastamonu/2012	<i>Tilia</i> sps.
Ihlamur Balı3	Kastamonu/2011	<i>Tilia</i> sps.
Akasya Balı1	Ordu /2011	<i>Robinia pseudoacacia</i>
Akasya Balı2	Ordu/2011	<i>Robinia pseudoacacia</i>
Akasya Balı3	Ordu/2012	<i>Robinia pseudoacacia</i>
Geven Balı1	Eceabat /2012	<i>Astragalus microcephalus</i> Willd
Geven Balı2	Biga/2013	<i>Astragalus microcephalus</i> Willd
Geven Balı3	Elazığ/2012	<i>Astragalus microcephalus</i> Willd
Geven Balı4	Eceabat /2012	<i>Astragalus microcephalus</i> Willd
Geven Balı5	Diyarbakır /2012	<i>Astragalus microcephalus</i> Willd
Geven Balı6	Erzurum/2012	<i>Astragalus microcephalus</i> Willd
Geven Balı7	Gümüşhane/2012	<i>Astragalus microcephalus</i> Willd

Tablo 10'un devamı

Hayıt1	Çanakkale/2012	<i>Vitex agnus castus</i>
Hayıt2	Çanakkale/2012	<i>Vitex agnus castus</i>
Hayıt3	Çanakkale/2012	<i>Vitex agnus castus</i>
Hayıt4	Çanakkale/2012	<i>Vitex agnus castus</i>
Çam Balı1	Gelibolu /2012	<i>Pinus L.</i>
Çam Balı2	Muğla /2012	<i>Pinus L.</i>
Çam Balı3	Tekirdağ/2013	<i>Pinus L.</i>
Çam Balı4	İzmir/2013	<i>Pinus L.</i>
Lavanta Balı1	Isparta /2012	<i>Lavandula sp..</i>
Lavanta Balı2	Antalya/2012	<i>Lavandula sp..</i>
Lavanta Balı3	Antalya /2012	<i>Lavandula sp..</i>
Lavanta Balı4	Isparta/2012	<i>Lavandula sp..</i>
Üçgül(Tirfil Balı)1	Eceabat /2013	<i>Trifolium compestre</i>
Üçgül(Tirfil Balı)2	Çanakkale /2012	<i>Heianthus annuus</i>
Üçgül(Tirfil Balı)3	Ayvacık /2012	<i>Heianthus annuus</i>
Çalba Balı1	Mersin/2012	<i>Phlomis pungens willd.</i>
Çalba Balı2	Mersin/2013	<i>Phlomis pungens willd.</i>
Çalba Balı3	Mersin /2013	<i>Phlomis pungens willd.</i>
Ayçiçek Balı1	Çanakkale /2012	<i>Heianthus annuus</i>
Ayçiçek Balı2	Tekirdağ/2013	<i>Heianthus annuus</i>
Ayçiçek Balı3	Tekirdağ/2013	<i>Heianthus annuus</i>
Karışık Balı1	Erzurum/2012	<i>Fagaceae, fabaceae, asteraceae</i>
Karışık Balı2	Ardahan/2012	<i>Fabaceae, lamiaceae, A. microcephalus</i>
Karışık Balı3	Borçka/2012	<i>Fagaceae, ericaceae, fabaceae</i>
Karışık Balı4	Kastamonu /2012	<i>Fabaceae, lamiaceae, asteraceae</i>
Karışık Balı5	Hatay /2012	<i>Fagaceae, fabaceae, asteraceae</i>
Karışık Balı6	Kars-Digor/2013	<i>Fabaceae, lamiaceae, A. microcephalus</i>
Karışık Balı7	Lapseki /2012	<i>Fabaceae, trifolium, rubus</i>
Karışık Balı8	Genek, Gümüşhane/2012	<i>Lamiaceae, asteraceae, Phacelia</i>
Karışık Balı9	Erzincan/2012	<i>Fagaceae, fabaceae, asteraceae</i>
Manuka Balı	Yeni Zelenda/Comvita/2010	<i>Leptospermum scoparium</i>
Süper Manuka Balı	Avustralya/Berringa/2010	<i>Leptospermum polygalifolium</i>

2.5. Balların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analizleri

2.5.1. Balların Palinolojik Testi

Balların melissopalinojik analizleri Prof. Dr. Sibel Silici tarafından Erciyes Üniversitesinde yapıldı. Bal polenleri mikroskopik olarak tespit edildi. Sayım sonucuna göre bala kaynak oluşturan bitkilerin polen oranları (> % 45) ve üzerinde olanlar

monofloral bal olarak kabul edildi ve analiz sonuçları onların ortalamalarına göre değerlendirildi.

Bunun için 10 gram bal örneği üzerine 20 mL distile su ilave edilerek tamamen homojen hale getirildi ve 3000- 4000 rpm’de 30- 40 dakika süre ile santrifüj edildi. Elde edilen pellet bir kurutma kağıdı üzerine ters çevrilip tüpteki suyun iyice süzülmesi sağlandı. Bir diseksiyon iğnesi ile gliserin jelâtinden bir parça alınarak tüpün dibine çöken kısma değdirilip, çökelti ile bulaşık gliserin jelâtin lam üzerine konularak ve üzerine lamel kapatıldı ve mikroskop altında sayım yapıldı. Balların monofloral orijinleri bu sayımlara göre yapıldı (Şahin, 2014).

2.5.2. Balda $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Oranları ve % C4 Şeker Analizi

Arıların nektar kaynaklarından elde ettikleri nektarları işleyerek ürettikleri ballar ile ticari şekerleri işleyerek ürettikleri balları ayırmak için kullanılan bir analiz yöntemidir.

^{13}C analizi şeker beslemeli balların tespitinde kullanılan izotopik teknik olup; bitkilerin bünyelerinde doğal olarak fotosentez sebebiyle bulundurduğu C3 ve C4 arasındaki izotop oranı farklılıklarına dayanır. Genellikle C4 bitkileri, örneğin mısır, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ izotop oranı % -8 den -20’ye değişiklik gösterirken, nektar bulunduran C3 bitkilerinde bu oran % -22 ve -35’dir. Dışarıdan C4 şekeri katılarak üretilen veya C4 şekeri ile beslenen arılardan elde edilen ballarda hileyi tespit etmeye yarayan bu analiz yönteminde, ham bal ile bu baldan elde edilen protein çözeltisi tam olarak yakıldıktan sonra ortaya çıkan CO_2 gazının bünyesindeki C atomunun $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ oranının kütle spektroskopisi ile tespit edilmesine dayanır ve bu değerden % C4 şeker oranı hesaplanır.

$$\% \text{ C4 şeker} = (\delta^{13}\text{C}_{\text{protein}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{bal}}) / (\delta^{13}\text{C}_{\text{protein}} - (-9,7)) * 100$$

$$\% \text{ C4 şeker} = \text{bal içerisindeki C}_4 \text{ şeker yüzdesi}$$

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{bal}} = \text{bal numunelerinin düzeltilmiş } ^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ değerinin ortalaması}$$

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{protein}} = \text{Protein numunelerinin düzeltilmiş } ^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ değerinin ortalaması}$$

$$(-9,7) = \text{Mısır şurubunun ortalaması } ^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ değerinin ortalaması}$$

Çiçek balında protein ve ham bal delta ^{13}C değerleri arasındaki fark -1 veya daha pozitif C4 % en fazla 7 olmalıdır.

C4 şeker miktarı:

$$^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = \text{C4 şeker miktarı tespit edilebilir.}$$

C4 bitkileri mısırdaki $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ izotop oranı -8 den % 20'yi gösterirken nektarda bulunan ^{13}C bitkilerinde bu oran % -22- 35 dir.

2.5.3. Nem Tayini

Refraktometre (Atago, Germany) kullanılarak ölçülen kırılma indisleri sıcaklığına göre düzeltilere % nem değerleri olarak ifade edildi (AOAC, 1990).

2.5.4. Elektriksel İletkenlik

Elektriksel iletkenlik ölçümü 10 gram balın 100 mL saf suda çözülerek hazırlanan çözelti EC metreler (Elektriksel iletkenlik ölçer) otomatik olarak ölçülen değerleri 25 °C sıcaklığa çevirerek, balın elektriksel iletkenliği 25 °C'de mS/cm (milli Siemens/ cm²) ifade edilir.

2.5.5. Renk Tayini

Bal numunelerinin rengi, Hunter (*L, a, b*) renk ölçüm sisteminde Minolta aygıtı ile ölçülmüştür. Bal numunesi küvete konulmadan önce, 50°C sıcaklıktaki su banyosunda 30 – 45 dakika ısıtılmıştır (Anupama vd., 2003). Bu işlemin amacı şeker kristallerini çözündürmek ve balın viskozitesi düşürmektir. Üç tekrarlı okuma yapılarak sonuçların ortalaması alınıp renk değerleri belirlendi.

2.5.6. Optik Çevirme Açısı (α -rotation)

Bu metod tüm bal örneklerine uygulanabilmektedir. Bu yöntemle birlikte salgı ballarının optik çevirme açısı sağa yani pozitif değer verirken çiçek balların ki ise sola yani negatif değer vermektedir (Junk ve Pancoast; Battaglini ve G.Bosi, 1973). Örnekleri optik çevirme açısı bir polarimetre kullanılarak (Beta PPP7 Optical Activity, England) tayin edildi. 12 g bal tartılıp saf suda çözüldü. Üzerine 10 mL Karrez reaktifi (I ve II) ilave edildi ve 30 dakika karıştırıldı. Hacmi 100 mL tamamlandıktan sonra 24 saat süre sonunda

süzülerek elde edilen süzöntü polarimetre ile ölçüm yapılarak balların optik çevirme açıları belirlendi.

2.5.7. Mineral İçeriği

Balda mevcut birçok element bulunmaktadır. Bunların başında Ca, K, Mg ve Na elementleri bulunmaktadır (Yücel, 2013). Ballarda mineral maddelerin tayini Trabzon İl Kontrol Laboratuvarının standart çalışma yöntemine göre yapıldı. Balda mineral analizi için İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) kullanıldı.

Aliminyum (Al) 396,152, arsenik (As) 193,696, kalsiyum (Ca)'da 396,847, kadmiyum (Cd) 228,802, civa (Hg) 253,652, demir (Fe)'de 238,204, kurşun (Pb)'da 283,305 dalga boylarında en yüksek piki vermektedir. Söz konusu durum belirtilen dalga boylarında Al, As, Ca, Cd, Hg, Fe, Pb için spesifiktir.

Kalibrasyon çözeltisini hazırlamak için 1000 mg/kg'lık Al, As, Ca, Cd, Hg, Fe, Pb standart çözeltilerinden 1 mL alınarak saf su ile 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti her aşamada 2 kat seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda 0,625 mg/kg, 1,25 mg/kg, 2,50 mg/kg, 5,00 mg/kg, 10,00 mg/kg Al, As, Ca, Cd, Hg, Fe, Pb olacak şekilde kalibrasyon çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan ICP kalibrasyon çözeltileri ICP-OES cihazına okutuldu.

Bal örnekleri homojenize edildi ve mikrodalga sisteminde yakıldı. Yakma tüpünün içine 0,2- 0,5 g kuru numune tartılmış, her bir çevrim için bir kör numune koyuldu. Yakma tüpünün içine 5 mL nitrik asit ve 2 mL hidrojen peroksit eklendi. Vessel tüpü kapatılıp mikrodalga fırın içine yerleştirildi ve Tablo 11'e göre fırın programı ayarlanarak program başlatıldı.

Tablo 11. Mikrodalga fırın programı

Adım	Güç, Watt	Süre, dakika: saniye
1	250	3:00
2	630	5:00
3	500	22:00
4	0	15:00

Devamında yakma tüpleri mikrodalga fırından alındı ve ağızlarını açmadan önce soğumaları beklendi. Çözeltini hacmi 10 mL'ye tamamlandı. Uygun dalga boyu seçilerek ICP-OES cihazında okumalar yapıldı.

2.5.8. Prolin Tayini

Ballarda prolin tayini Trabzon Gıda Kontrol laboratuvarından hizmet alımı şeklinde yapıldı. Tayin spektrometrik yöntem kullanılarak gerçekleştirildi.

Prolin ninhidrin ile renkli kompleks oluşturur. 2-propanol ilavesinden sonra örnek çözelti etkisizleştirilir ve referans bir çözeltinin maksimum dalga boyu tayin edilmektedir. Prolin içeriği değerler arasındaki ilişkiden tayin edilmektedir (Ough, 1960).

Kurutulmuş prolinin 40 mg tartılır 50 mL’de çözülür. Hazırlanmış stok prolin çözeltisinden 0,25 mL- 0,5 mL- 1,0 mL ve 2,0 mL alınarak balon jojelerde 25 mL’ye seyreltilerek standart prolin çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden 0,5’er mL alınarak cam tüplere konuldu. Üzerlerine 1 mL formik asit ve 1 mL % 3’lük ninhidrin çözeltisi ilave edilip tüpler dikkatlice ve kuvvetlice 15 dak. çalkalandı. Çalkalama bitiminde kaynayan su banyosunda 15 dak. bekletildi. Sonra 70°C’lik su banyosunda 10 dak. tutuldu. Sürenin hemen bitiminde tüplere 5 mL % 50’lik 2-propanol çözeltisi ilave edildi. Tüpler alt üst edilerek spektrofotometrede 510 nm’de okundu.

2.5.9. Diastaz Aktivite Tayini

Diastaz aktivitesi, deney koşullarında, 40°C’de, bir saat içinde % 1’lik nişastayı belirlenen son noktaya (0,235 absorbansa ulaşmak için gereken süre) dönüştürecek enzimin miktarı olarak tanımlandı. Sonuçlar bir gram bal başına Schade birimi veya Gothe birimi şeklinde ifade edildi (Bogdanov, 2002). Baldan 1 g tartılır 2 mL saf suda çözülür 0,5 mL pH:5,3 asetat tamponu 0,5 M 0,3 mL NaCl çözeltisi koyulduktan sonar son hacim 5 mL tamamlanır. 40 °C su banyosuna ayrı ayrı tüplerde 2 mL bal+ 1 mL nişasta 15 dk. bekletilir. Süre sonunda 1 mL bal üzerine 0,5 mL nişasta ilave edilir ve karışımdan Tablo 12’de ki gibi pipetleme işlemi yapılır.

Tablo 12. Diastaz aktivite tayini için pipetleme işlemi

Zaman (dk)	Karışım (µL)	Seyreltik iyot çözeltisi (mL)	Saf su (mL)
0	50	0,5	2
3	50	0,5	2
5	50	0,5	2
10	50	0,5	2
15	50	0,5	2

660 nm’de absorbans değerleri ölçölür. 0,235 absorbansa denk gelen süre tespit edilir. 300/tx değeri balın diastaz sayısını verir.

2.5.10. HMF Tayini

HMF değeri ters faz RP-HPLC metodu kullanılarak tayin edildi. Sulu ortamda standart HMF kullanılarak (5-hydroxymethylfurfural, Sigma-Aldrich, Milan) kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve analizi için ters faz C₁₈ kolonu LiChroCART ® 250- 4 RP (10 µm) kullanılarak izokratik program uygulanarak 285 nm’de okumalar gerçekleştirildi (Jeuring vd., 1980). Mobil faz olarak % 10 metanol- % 90 su kullanılarak akış hızı 1 mL/ dk ve enjeksiyon hacmi 25 mL olarak optimizasyon sağlandı.

2,5 g bal örneği alınarak 25 mL saf suda çözölerek üzerine 50 µL Karez I ve 50 µL Karez II reaktifi eklenerek, hazırlanan çözelti 0,45 µm filtreden geçirilerek viallere alındı ve şartlanmış olan HPLC sistemine enjekte edildi.

2.6. HPLC-RI Dedektörü ile Şeker Tayin

Bu metot ile ballarda 10 farklı şeker parametresi (fruktoz, glukoz, sakkaroz, maltoz, arabinoz, riboz, trehaloz, galaktoz, melesitoz, melebioz) tayin edildi. Bu yöntemin esası, filtre edilmiş bal çözeltisinin şeker içeriği RI-dedektör ile HPLC’de tayinine dayanmaktadır. Geliş zamanlarına göre pikler belirlenmektedir (Bogdanov ve Baumann, 1998).

Öncelikle cihazın kalibrasyonu için bu şekerlerin standart çözeltileri hazırlandı. Standart çözeltileri 0,45 µm filtreden geçirilip viallere alındı. Bu standart çözeltileri HPLC cihazında RI- detektöründe okutarak geliş zamanlarına göre kalibrasyon grafikleri oluşturuldu. Ballardan 1 g tartılarak 10 mL ultra saf suda çözölme işleminden sonra 0,45 µm filtreden geçirelerek viallere alındı. Analiz için Elite LaChrom, Hitachi HPLC cihazı kullanıldı. Analizler ters faz -NH₂ kolonu (200/ 4,6 Nucleosil 100-5 NH₂) kolonu kullanılarak ve % 79 asteinitril ve % 21 saf su izokratik program uygulanarak gerçekleştirildi. Numune ve standartların enjeksiyon hacmi 25 µL’ye, mobil faz akış hızı 1,5 mL.dk⁻¹’ya ve kolon sıcaklığı kolon fırınında 80 °C’ye ayarlanarak çalışma optimizasyonu sağlandı.

2.7. Numunelerin Ekstraksiyon Şartları

Bal numuneleri analizi için 24 saat süreyle oda sıcaklığında metanolik ekstraktlar magnetik karıştırıcı kullanarak hazırlandı, mevcut olası katı partiküllerden, safsızlıklardan kurtulma ve ileri homojenlik sağlama adına çözeltiler mavi bant süzgeç kâğıdı yardımıyla süzüldü. Elde edilen ekstraktların son konsantrasyonunu belirledikten sonra 10 mL'lik kısım antioksidan analizlerine ayrıldı, 10 mL'lik kısım antimikrobiyal analiz için ayrıldı. Geri kalan ekstrak çözücüsü 60°C'deki döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve kalıntı pH'sı 2 olan 10 mL saf suda çözüldü. Daha sonra 3'er defa 5 mL'lik önce dietileter sonra etilasetat ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen ekstraktlar evaporatör balonları alındı ve çözücüler 60°C'deki döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Balon içeriği 2 mL metanolle çözülen ekstraktlar HPLC-UV ile fenolik bileşen analizleri yapıldı.

2.8. HPLC-UV ile Fenolik Bileşenlerin Tayini

2.8.1. RP-HPLC-UV Koşulları

HPLC-UV analizleri iki dalga boyunda (280 ve 315 nm) aynı anda cevap alınabilen UV-Vis dedektör ile donanımlı Thermo Finnigan Surveyor HPLC sisteminde yapıldı. Analizler ters faz C₁₈ kolonu (150 mm x4.6 mm, 5µm; Fortis) kullanarak ve asetronitril, su ve asetik asitle gradient program uygulanarak gerçekleştirildi (De Villers vd., 2004). A rezervuarında % 2 asetik asit (saf suda) ve B rezervuarında % 70- 30 asetronitril-saf su bulunan gradient program Tablo 13'de verilmiştir. Ayrıca numune ve standartların enjeksiyon hacmi 25 µL'ye, mobil faz akış hızı 1,2 mL.dk⁻¹'ya ve kolon sıcaklığı kolon fırınında 30 °C'ye ayarlanarak çalışma optimizasyonu sağlandı (Öztürk vd., 2007).

Tablo 13. RP-HPLC-UV gradient programı

Zaman (dk)	A	B
	% 2 asetik asit (saf suda)	% 70-30 asetronitril-saf su
0,01	95,00	5,00
3,00	95,00	5,00
8,00	85,00	15,00
10,00	80,00	20,00

Tablo 13'ün devamı

12,00	75,00	25,00
20,00	60,00	40,00
30,00	20,00	80,00
35,00	95,00	5,00
50,00	95,00	5,00

2.8.2. Standartlar ve Kalibrasyon

Benzoik asit türevlerinden; gallik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, vanilik asit, şiringik asit, flavanollardan; kateşin, epikateşin ve hidroksinamik asit üyesi olan *o*-kumarik asit 280 nm'de, sinamik asit türevlerinden; klorojenik asit, kaffeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve flavonollardan; rutin, myrisetin, fisetin, kuersetin, apigenin, kaempferol, isorhametin, rhametin 315 nm'de analiz edildi. Ayrıca 280 nm'de normal kalibrasyon metodu öncülüğünde propil paraben iç standart (Internal Standard-IS) olarak kullanıldı.

20 standarttan on tanesi; gallik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kaffeik asit, şiringik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve *o*-kumarik asitin % 50- 50 metanol-saf suda hazırlanan 1000 ppm'lik stok çözeltisinden 1- 2- 5- 10- 20- 30 ppm'lik, diğer kalan on tanesi; kateşin, epikateşin, rutin, myrisetin, fisetin, kuersetin, isorhametin, rhametin apigenin % 100 metanolle hazırlanan 1000 ppm'lik stok çözeltiden, 1- 2- 5- 10- 20- 30 ppm'lik ara stok çözeltileri kalibrasyon eğrileri için kullanıldı.

Propil parabenin stok çözeltisinden her bir kalibrasyon çözeltisine son konsantrasyonu 10 ppm olacak şekilde eklendi. Çalışılan her bir standardın konsantrasyonuna karşı, oluşan pik alanları iç standardın pik alanına bölünüp hesaplanan oran üzerinden kalibrasyon eğrileri elde edildi.

2.9. Antioksidan Analizler

2.9.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Analiz Slinkard vd. (1977)'ne göre yapılmıştır. Toplam fenolik madde tayininin esası fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Folin-Ciocalteu ayracı burada oksitleyici bileşik olarak rol almaktadır. Reaksiyon sonucunda indirgenmiş

ayracın oluşturduğu mavi rengin fotometrik olarak ölçülmesiyle, analizi yapılan örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarlarının hesaplanması mümkün olmaktadır. Oluşan kompleksin renk şiddeti fenolik maddelerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olup, 760 nm’de absorbands verir.

Çalışmada, standart grafiğin hazırlanmasında, fenolik bir madde olan gallik asit standardı kullanılmıştır (Slinkard vd., 1977; Singleton ve Rossi, 1965). Gallik asitin farklı konsantrasyonları (0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125 ve 0,015625 mg/mL) hazırlanıp, absorbandsları okunmuştur. Konsantrasyona karşılık bulunan absorbands değerleri ile grafik çizilmiştir. Çizilen grafiğe göre bal ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı bulunmuş, seyreltme faktörleri de dikkate alınarak asıl numunenin mg GAE (Gallik asit eşdeğeri)/ 100 g bal olarak fenolik madde miktarı bulunmuştur. Yapılan çalışmada pipetleme işlemi Tablo 14’deki gibidir.

Tablo 14. Toplam polifenolik tayininde yapılan pipetleme işlemi

	Kör	Standart	Numune
Distile su	700 µL	680 µL	680µL
Standart (Değişik konsantrasyonlarda)	-	20 µL	-
Bal numunesi	-	-	20 µL
0,2 N Folin Reaktifi	400 µL	400 µL	400 µL
Tüpler vorteks ile karıştırılır ve 3 dakika sonra			
%10 Na ₂ CO ₃	400 µL	400 µL	400 µL
760 nm’de köre karşı absorbands okunur.			

2.9.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Fenolik bileşiklerden flavonollerin tayini Fukumoto ve Mazza (2000)’ya göre yapıldı. Metanollük olarak hazırlanan bal ekstraktları çalışmada kullanıldı. Aynı zamanda standart olarak Kuarsetinin 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125; 0,015625 mg/mL’lik farklı konsantrasyonları hazırlanıp absorbands değerleri okunmuştur. Konsantrasyona karşılık bulunan absorbands değerleri ile grafik çizilmiştir. Çizilen grafiğe göre bal ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı bulunmuş, seyreltme faktörleri de dikkate alınarak asıl numunenin mg QAE (Kuarsetin eşdeğeri)/ 100 g bal olarak flavonoid madde miktarı bulunmuştur. Yapılan çalışmada pipetleme işlemi Tablo 15’deki gibidir.

Tablo 15. Toplam flavonoid tayininde yapılan pipetleme işlemi

	Kör	Renk Körü	Standart	Numune
Numune Değişen konsantrasyonlarda	-	0,5 mL	-	0,5 mL
Standart Değişen Konsantrasyonlarda (0,5- 0,25-0,125-0,0625-0,03125-0,015625 mg/mL)	-	-	0,5 mL	-
Mutlak Metanol	4,8 mL	4,5	4,3	4,3
%10 Al(NO ₃) ₃	0,1 mL	-	0,1	0,1
1 M NH ₄ .CH ₃ COO	0,1 mL	-	0,1	0,1
40 dk. Oda Sıcaklığında İnkübe edilir ve 415 nm’de absorbens okunur.				

2.9.3. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Güç-Frap Tayini

FRAP metodu (Fe(III)-TPTZ- 2,4,6-tris (2-pyridlyl)-S-triazin) kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşması ve bu kompleksin 593 nm’de maksimum absorbens vermesi esasına dayanmaktadır (Benzie and Strain, 1999). FRAP yöntemi nispeten basit bir yöntem olup, kolaylıkla standardize edilebilmektedir. Bal ekstraktlardaki antioksidan kapasitenin ölçülmesinde FRAP (Fe (III) indirgeme gücü (Ferric reducing antioksidan power)) metodu geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Benzie and Strain, 1996).

Kalibrasyon için FeSO₄7H₂O’un değişen konsantrasyonları (31,25- 62,5- 125- 250- 500- 1000 µM) kullanılarak çalışma eğrisi hazırlandı. Devamında 3 mL FRAP reaktifi [300 mM pH 3,6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl₃ (10: 1: 1)] ile 100 µL numune karıştırıldı. 4 dakika 593 nm’de absorbensler okundu. Çalışma eğrisi için de numune yerine FeSO₄7H₂O’un değişen konsantrasyonları kullanılarak absorbensler okundu. Sonuçlar aynı şartlarda test edilmiş standart FeSO₄7H₂O’la karşılaştırılmalı olarak bulundu ve µM FeSO₄7H₂O eşdeğeri antioksidan güç olarak ifade edildi. Pipetleme işlemi Tablo 16’daki gibidir.

Tablo 16. FRAP tayininde yapılan pipetleme işlemi

	Kör_{MeOH}	Test (Numune)	Renk Körü_(MeOH)	FeSO₄7H₂O
FRAP Reaktifi	3 mL	3 mL	-	3 mL
Numune	-	100 µL	100 µL	-
FeSO ₄ 7H ₂ O (Değişen kons.)	-	-	-	100 µL
Saf Su	-	-	-	-
Metanol	100 µL	-	3 mL	-
4. dakikada 593 nm’de absorbans okunur.				

Renk Körü_{test(met)} : Metanolde çözünen numune için renk körü

2.9.4. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini

DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup denemelerde satın alınan bu radikalin 100 µM’lık metanolik çözeltisi kullanıldı. Bal numunelerin metanolik ekstraktları kendi çözümleri ile seyreltilerek değişik konsantrasyonlarda hazırlandı. Eşit hacimde (750 µL) DPPH• çözeltisi ve numune çözeltileri karıştırılıp oda sıcaklığında 50 dakika bekletildi. Süre sonunda DPPH•’ın maksimum absorbans verdiği 517 nm’de absorbanslar okundu. Tanık olarak DPPH• çözeltisi ve numunenin çözüldüğü çözücü kullanıldı. Bulunan absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek SC₅₀ değerleri hesaplandı. Pipetleme işlemi Tablo 17’deki gibidir.

Tablo 17. DPPH yöntemi için deney koşulları

	Numune Tanık Tüpü	Reaktif Tanık Tüpü	Numune Tüpü
Numune (Değişik konsantrasyon)	750 µL	-	750 µL
Metanol	750 µL	750 µL	-
DPPH• (100 µM)	-	750 µL	750 µL
50 dk. Süre sonunda 517 nm’de absorbans okunur.			

2.9.4.1. SC₅₀ Değerlerinin Bulunması

SC₅₀ radikal miktarını yarıya indiren numune konsantrasyonudur. SC₅₀ değerinin bulunması için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gerekir. Bu nedenle çalışmalarda 6 farklı konsantrasyonda ölçüm yapıldı. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonu hazırlanıp absorbans ölçümleri yapıldı ve absorbanslar konsantrasyona karşı grafiğe

geçirildi. Maksimum absorbansın yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı SC_{50} değerini vermektedir ve mg/mL ya da g/mL cinsinden hesaplanmaktadır.

2.10. Antimikrobiyal Analiz

2.10.1. Besiyerleri

Bakterilerin çoğaltılması için Mueller Hinton Broth (Merck) ve mantarların çoğaltılması için Sabouraud Dextrose Broth (Difco) kullanıldı. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kullanılan disk difüzyon ve agar dilüsyon yönteminde; bakteriler için Mueller Hinton Agar (Oxoid), mantarlar için Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid) besiyerleri kullanıldı.

2.10.2. Mikroorganizmalar

Çalışmamızda kullanılan bakteri ve mantar suşları ATCC (American Type Culture Collection)'den elde edildi. Bal numunelerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan bakteriler; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®10145, *Bacillus subtilis* ATCC®6633, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Proteus vulgaris* ATCC®13315, *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Micrococcus luteus* ATCC®9341, *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883, *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729 olup gram özellikleri Tablo 17'deki gibidir. Antifungal aktivitenin belirlenmesinde kullanılan maya ve küfler; *Aspergillus niger* ATCC®9642 ve *Saccharomyces cereviasea* ATCC®9763'dür.

2.10.3. Bal Ekstraktlarının Hazırlanması

Ballar analiz için 24 saat süreyle oda sıcaklığında metanolik ekstraktlar magnetik karıştırıcı kullanarak hazırlandı ve daha sonra süzme işlemi gerçekleştirildi. Homojenlik sağlama adına 0,45 µm'lik membran filtreden geçirildi. Elde edilen ekstraktlarda nihai konsantrasyon belirlendi ve analiz yapılabilecek kadar +4°C'de muhafaza edildi.

Tablo 18. Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan mikroorganizmaların gram özellikleri

Mikroorganizma	Gram Özelliği
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®10145	Gram (-)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC®6633	Gram (+)
<i>Escherichia coli</i> ATCC®25922	Gram (-)
<i>Potus vulgaris</i> ATCC®13315	Gram (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC®25923	Gram (+)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC®13883	Gram (-)
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC®9341	Gram (+)
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC®27729	Gram (-)
<i>Aspergillus niger</i> ATCC®9642	Küf
<i>Saccharomyces cereviasea</i> ATCC®9763	Maya

2.10.4. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Antimikrobiyal Aktivite

Balların antimikrobiyal aktivite testi Yrd. Doç. Dr. Ömer Ertürk tarafından Ordu Üniversitesinde yapıldı. Çalışmada kullanılan besiyerleri çalışmaya başlamadan önce otoklavda (Nüve OT 4060) sterilize edildi (15 dk, 1.5 atm ve 121°C) ve sonrasında 45-50 °C'ye kadar soğuması beklendi. Daha sonra Mueller Hinton Agar besiyerleri 10 cm çapındaki steril petri kutularına steril pipetler ile 20 mL kadar döküldü. Besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanarak donması beklendi.

Tüm bakteri suşları Mueller Hinton Broth (Merck) içerisinde 37°C'de bir gece büyütüldü. İçerisinde 10^8 hücre/ mL bakteri olacak şekilde 200 µl bakteri süspansiyonu agar üzerine bırakılmış ve cam bagetle yayma ekimi yapıldı. Daha sonra hazırlanan bal ekstraktlarından, petriye hafifçe bastırılarak yerleştirilen steril diskler (6 mm çapında) üzerine, 15'er µl damlatıldı. +4 °C'de 1 saat bekletilip 37 °C'de 24 saat süreyle inkübe edildikten sonra inhibisyon zonları ölçüldü.

Saccaromyces cereviasea ve *Aspergillus niger*, Sabouraud Dextrose Broth (Difco) içerisinde 27°C'de 48 saat büyütülmüş ve yoğunluğu 10^7 hücre/mL olacak şekilde ayarlandı. Petri kaplarına 20 mL Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid) dökülmüş ve yukarıdaki işlemler aynen uygulandı. İnhibisyon zonları mm cinsinden 27°C'de 48 saat sonra ölçüldü.

2.11. İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 for Windows® istatistik paket programı ve Microsoft® Excel (for windows XP) kullanıldı. İki bağımsız grup arasında ilişki olup olmadığı Pearson korelasyon testine göre ve önemlilik testleri $p<0.05$ seviyesinde incelendi.

3. BULGULAR

3.1. Palinolojik Analiz Sonucu

Çalışmada Türkiye'nin değişik bölgelerinde üretilen 12 değişik türe monofloral bal numuneleri, Yeni Zelanda ve Avustralya'dan UMF değerleri farklı iki tane manuka balları ve bu balların yanı sıra karşılaştırmak yapmak için karışık (heterofloral) ballar olmak üzere toplamda 60 tane bal numunesi çalışmada kullanıldı. Monofloral bal olarak üreticilerden toplanan balların otantik yapısının belirlenmesi maksadıyla palinolojik analizler yapıldı ve bu analizlerde ballar polen şekillerine göre mikroskopik olarak değerlendirildi (Tablo 19).

Çalışmada kullanılan tüm ballar üreticiden kendi beyanları doğrultusunda monofloral bal olarak toplandı. Yapılan polen analizleri sonucu balların bir kısmı monofloral olarak tespit edilirken bir kısmı da çok düşük polen %'sine sahip olarak bulundu. Balların monofloral polen %'deleri % 1- % 99 arasında değişim gösterdiği tespit edildi. Çalışılan tüm ballara ait veriler Tablo 19'da yer almaktadır. Literatürdeki bilgilere göre baskın olan polen içeriği % 40 ve yukarısında bulunan ballar monofloral ballar olarak kabul edilmektedir. Fakat son zamanlarda monofloral polen oranı daha düşük olan ballarda (örneğin % 30) monofloral bal olarak da sınıflandırılabilir.

Çalışmada polen %'si en yüksek olan ballar sırasıyla, kestane, manuka, püren, süper manuka, geven, lavanta, ıhlamur ve çalba ballarının tamamı monofloral ballar olarak tespit edilirken diğer balların polen içerikleri örnekten örneğe değişim gösterdiği tespit edildi. Ayçiçeği, üçgül, hayıt ve akasya ballarının monofloral polen oranlarının düşük olduğu bulundu. Meşe ve çam balları birer salgı balı olup hif içerikleri sayıldı, ayrıca bu balların farklı monofloral polen oranları da tespit edildi. Toplanan 9 adet değişik floralı karışık (heterofloral) balının da polen oranları tespit edildi.

Bal üreticilerinden monofloral olarak topladığımız balların polen analiz sonuçlarına göre bir sınıflandırma yapıldığında monofloral bal olarak kestane, püren, geven, lavanta, çam, meşe, manuka balı, ıhlamur, geven, ayçiçeği, akasya, hayıt, çalba, üçgül balı kimliklendirildi. Ayrıca çalışmada karşılaştırma yapmak maksadıyla değişik floralı karışık (heterofloral) balları kullanıldı. Polen sayım sonuçları Tablo 19'da verilmiştir.

Tablo 19. Bal örneklerinin polen sonuçları

Numune/Sayısı	%Polen, HIF, Total Polen
Kestane (n=8)	96,29±2,16
Püren(n=5)	71,28±25,08
Ayçiçek(n=3)	31,03±8,07
Lavanta(n=4)	46,10±5,78
Meşe(n=3)	10,94±5,84
Üçgül(n=3)	30,24±5,70
Çalba(n=3)	39,21±13,31
Çam(n=4)	3433
Hayıt(n=4)	33,01±6,13
Geven(n=7)	49,23±7,77
Karışık(n=9)	23660-1197 Fabaceae-lamiaceae-asteraceae,fagaceae
Akasya(n=3)	34,70±8,21
Ihlamur (n=3)	41,15±3,62
Manuka (n=1)	81,45±1,52
Super manuka(n=1)	63,71±2,14

Hif: salgı ballarında ağaçların yapraklarında bulunan selülozik madde.

3.2. Balların Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

3.2.1. $^{13}\text{C}/\text{C4}$ Analiz Sonucu

Çalışılan monofloral balların ^{13}C bal ve ^{13}C protein değerleri Tablo 20’de özetlenmektedir. Bu sonuçlara göre monofloral karaktere sahip balların ^{13}C bal ve ^{13}C protein değerleri -23 ile -26 arasında değişim göstermektedir. Bal ve protein arasındaki ^{13}C fark değeri ise lavanta, çam, üçgül ve ayçiçeği ballarında sıfırdan büyük ve pozitif bir değere sahip olduğu bulundu. Benzer şekilde değişik floralı karışık (heterofloral) ballarının da ^{13}C değerleri benzer şekilde -23 ile -26 arasında bulundu.

White, (1992)’e göre uygun fiyatları ve aromalarından dolayı, mısır şurubu ve şeker kamışından elde edilen şekerler balın taşıdığı sıklıkla kullanılmaktadır. Ballarda şeker beslemesi ile yapılan hilelerin tespitinde kullanılan bu teknik günümüzün kabul gören yöntemlerinden olup tekniğin esası bitkilerin bünyelerinde doğal olarak fotosentez sebebiyle bulunduğu C3 ve C4 çevrimlerindeki izotop oranı farklılıklarına dayanır. Genellikle C4 bitkileri, örneğin balda hile amaçlı şeker kullanılan mısırdaki, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ izotop oranı % -8’den - 2’ye değişiklik gösterirken, nektar bulunduran, C3 bitkilerinde mesela çiçek ballarında bu oran % -22 ve -35’dir. Balların ^{13}C analiz sonuçları Tablo 20’de yer

almaktadır. Gıda kodeksine göre C4 şeker oranı % 7'nin üzerinde bulunan ballar hileli ballar olarak nitelendirilmektedir. Çalışmada ise lavanta ballarında % 3,35 çam ballarında % 3,33 oranında C4 bulundu. Tüm ballarda C4 oranının 7'nin altında bulunması nedeniyle kodekse uygun ballar olarak nitelendirilebilir.

Tablo 20. Bal örneklerinin C13/C4 analiz sonucu

Numune /sayısı	C13(Bal)	C13 (Protein)	%C4
Kestane(n=8)	-25,94±0,70	-26,09±0,63	1,15±0,80
Püren(n=5)	-26,18±0,76	-25,70±0,58	0,06±0,13
Ayçiçek(n=3)	-25,03±0,56	-25,28±0,29	2,62±2,67
Lavanta(n=4)	-25,93±1,05	-25,93±0,51	3,35±2,74
Meşe(n=3)	-24,78±0,59	-25,12±0,93	2,15±2,07
Üçgül(n=3)	-26,17±0,53	-26,34±0,14	1,84±1,95
Çalba(n=3)	-26,41±0,21	-25,46±0,32	0
Çam (n=4)	-25,04±0,71	-25,57±0,69	3,33±2,26
Hayt(n=4)	-24,94±0,10	-24,38±0,21	0
Geven(n=7)	-26,53±0,26	-26,13±0,17	0
Karışık(n=9)	-25,52±0,38	-25,43±0,42	0,47±0,89
Akasya(n=3)	-26,41±0,37	-25,41±0,46	0
Ihlamur(n=3)	-26,45±0,03	-26,45±0,05	0
Manuka1(n=1)	-24,16±0,36	-23,96±0,34	0
Süpermanuka(n=1)	-25,23±0,37	-24,53±0,27	0

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde ise $^{13}\text{C}/\text{C4}$ analizlerine göre balların hileleri tam olarak tespit edilememektedir. Bunun pek çok sebebi olabilir; hileli olarak ürettiğimiz ballarda kullanılan şekerlerin şeker pancarı şekeri olması durumunda $^{13}\text{C}/\text{C4}$ oranları normal değerler içinde kalmaktadır (Simsek vd., 2012). Literatürde de bildirildiği gibi ^{13}C ve C4 analiz sonuçları şeker kamışından üretilen şeker şurupları ile beslenen arılardan üretilen ballarda ortaya çıkmaktadır. Ayrıca arılar şeker şurubunu tüketirken aynı zamanda da dışarıdan nektar taşımaya devam ettikleri için baldaki protein oranları yüksek bulunmakta ve dolaylı olarak da C4 oranları normal değerleri göstermektedir.

3.2.2. Nem Analiz Sonucu

Balların nem içeriği, standart referans metot (TS 3036, 2002) ile refraktometre (Atago, Germany) kullanılarak balın kırılma indisine karşın % nem içeriği olarak belirlendi. Elde edilen değerler Tablo 21'de özetlenmiştir. Nem balların raf ömürlerinin

belirlenmesinde oldukça önemli olup yüksek nem balın olgunlaşmadığını aynı zamanda fermantasyon olmasına ve dolayısıyla erken bozunmasına neden olmaktadır. Ayrıca nem balın toplandığı bölgenin coğrafik özelliklerine, hasat zamanına ve biçimine göre de değişim gösterir (Persano Oddo ve Piro 2004; Bogdanov vd., 2004).

Türk gıda kodeksinde (TSE) ve diğer kodekslere (CEU, IHC vb.) göre balda nem içeriği çiçek ve salgı balında en fazla % 20 olmalıdır. Standartlar bu ballara ait istisnaları belirtirken çiçek ballarından püren balında ve bu değerin en fazla % 23'e kadar çıkabileceğini ifade etmiştir.

Tablo 21. Bal örneklerin optik çevirme, nem, iletkenlik ve renk sonuçları

Numune (sayısı)	Optik Çevirme [²⁰ α] D]	%Nem	İletkenlik (mS/cm ²)	RENK			ΔE
				$\underline{L}$	$\underline{a}$	$\underline{b}$	
Kestane(8)	-2,73±1,55	19,70±1,33	1,50±0,31	47,59±0,79	37,58±0,88	81,52±0,17	101,60
Püren(5)	-2,63±1,35	20,86±2,13	0,80±0,25	46,05±7,63	26,56±1,16	68,00±1,12	86,31
Ayçiçek(3)	-2,70±0,52	17,95±1,49	0,48±0,17	65,31±2,58	14,23±0,82	72,01±2,68	98,25
Lavanta (4)	-2,44±1,10	17,15±0,88	0,32±0,12	62,55±2,73	15,20±0,25	10,08±2,78	65,15
Meşe(3)	-0,74±0,25	17,07±1,27	1,09±0,06	42,85±0,19	34,59±0,06	71,65±0,1	90,37
Üçgül(3)	-2,57±0,45	19,47±2,44	0,32±0,03	70,35±1,82	20,14±1,55	5,89±4,80	73,41
Çalba(3)	-3,06±0,84	18,13±0,42	0,55±0,57	73,66±0,64	21,20±2,30	6,92±4,60	76,96
Çam (4)	1,38±1,40	17,22±0,96	0,99±0,32	54,38±4,39	26,80±2,63	89,45±4,93	108,06
Hayıt(4)	-2,26±0,29	17,20±0,40	0,26±0,03	46,79±0,28	27,28±0,20	69,00±0,34	87,72
Geven(7)	-1,99±0,63	17,00±0,76	0,48±0,59	74,80±1,95	9,58±0,62	5,11±1,98	75,58
Karışık(9)	-2,12±0,33	16,54±1,58	0,78±0,62	54,85±1,99	2,23±0,85	46,23±1,20	71,77
Akasya(3)	-3,46±0,64	20,80±2,55	0,20±0,05	88,50±1,92	-1,55±0,1	32,10±0,24	94,15
Ihlamur(3)	-1,58±0,01	19,80±0,01	0,42±0,01	78,50±0,03	3,10±0,02	62,20±0,05	100,20
Manuka(1)	-2,45±0,01	18,68±0,02	0,53±0,01	44,65±0,05	22,86±0,01	69,00±0,02	85,31
Süpermanuka (1)	-5,73±0,01	19,08±0,01	0,68±0,01	40,36±0,02	31,25±0,01	67,56±0,01	84,67

3.2.3. Renk Analiz Sonucu

Bal numunelerinin rengi, Hunter (L , a , b) renk ölçüm sisteminde MİNOLTA aygıtı ile ölçüldü. Bal nümunesi küvete konulmadan önce, 50°C sıcaklıktaki su banyosunda 30 - 45 dakika ısıtıldı (Anupama vd., 2003). Bu işlemin amacı şeker kristallerini çözündürmek ve balın viskozitesi düşürmektir. Üç okuma değerinin ortalaması alınarak renk değerleri belirlendi. Elde edilen değerler Tablo 20'de verilmektedir.

Balın rengi önemli bir fiziksel parametre olup bitki florasından, mineral madde miktarından, içerdiği vitamin, pigment ve fenolik madde miktarında ve ısıl işlem

etkisinden, balın uzun süre bekletilmesinden, içerdği HMF miktarından etkilenmektedir. Klorofil, karoten, ksantofil türü bileşenler sarı-yeşil renk verirler (Kolaylı vd., 2013).

Balın rengi iki farklı kategoride değerlendirilebilmektedir, PFUND skalasına göre ki bu yöntem spektrofotometrik bir yöntemdir. Diğer yöntem CIE $L^*a^*b^*$ tristimulus methodu (Aubert ve Gonnet 1983; Ortiz vd., 1990; Bogdanov vd., 2004; Gonzalez-Miret vd., 2005; Tezcan vd., 2011) olup yine basit geliştirilmiş bir renk okuyucudan ibaret olup gıdaların renginin tayinden sıklıkla kullanılmaktadır. Hunter L , a ve b renk değerleri olarak da tanımlanmaktadır. Bu yöntemde göre renk değerleri L , koyuluk/açıklık (0: siyah; 100:beyaz); a ($-a$, yeşillik; $+a$, kırmızılık); ve b ($-b$, mavilik; $+b$, sarılık) olarak ifade edilmektedir (Yıldız ve Alpaslan 2011).

Tüm bunlara göre tabloda verilen L değerlerine bakıldığında düşük L değeri balın siyaha yakınlığının ölçüsünü göstermektedir. Çalışılan ballar içinde en düşük L değerine sahip ballar en koyu renkli ballar olup kestane, püren, meşe ve manuka balları koyu renkli ballar olarak tespit edildi. Geven, lavanta, aksaya, ıhlamur, karışık balları ise açık renkli ballar olarak tespit edildi. b değeri balın sarılık karakterini ortaya koyarken koyu renkli ballarının b değeri yüksek (sarılık karakteri fazla) bulundu. a değeri balın kırmızılık karakterini ortaya koyarken koyu renkli olan kestane ve meşe balında en yüksek olarak bulundu.

Kestane, püren, meşe ve çam balları insan gözünün de ayırt edebileceği bir koyuluğa sahip olduğundan bu balların renklerinin koyulukları arttıkça balların monofloral karakteri de artmaktadır. Renklerin açılması monofloral karakterden uzaklaştığının bir ölçüsü olabilmektedir. Balın renginin belirlenmesinde HMF'nin rolü bulunurken püren ballarında HMF oranı arttıkça balın rengi de artmaktadır. Püren balı diğer ballardan farklı olarak taze püren balı nispeten açık renkli ve durdukça rengi koyulaşmaktadır. Bunun pek çok sebebi bulunabilir fakat özellikle püren balında bulunabilen bazı fenolik bileşenleri havanın oksijeni ve enzimatik (glukoz oksidaz) ve enzimatik olmayan kararma ürünleri meydana gelebilmektedir.

3.2.4. Elektriksel İletkenlik Analiz Sonucu

Elektriksel iletkenlik bir maddenin elektriksel akışı yani elektronların akışını taşıma yeteneğidir. Ballarda elektriksel iletkenliği esas olarak balın mineral madde içeriğine dayanmaktadır (Andrade vd., 1997). Bal standartlara göre ballarda elektriksel iletkenlik

değeri çiçek balı ve fırıncılık balında 0,8 milli Siemens /cm² den fazla olmamalıdır. Salgı balı ve kestane balında ise bu değerin en az 0,8 milli Siemens /cm² olması gerektiği vurgulanmıştır. Balların elektriksel iletkenlik değerleri Tablo 21’de verildi.

3.2.5. Optik Çevirme Açısı (α -rotasyon) Sonucu

Örneklerin optik çevirme açısı bir polarimetre kullanılarak (Beta PPP7 Optical Activity, England) tayin edildi (Junk ve Pancoast, 1973). Polarize ışığı çevirme açısı olan α -rotasyon değeri salgı balları ile çiçek ballarının ayırt edilmesinde kullanılan bir ayırt etme yöntemidir. Salgı balları pozitif ve çiçek balları negatif değere sahiptir (Beretta vd., 2005; White, 1989). Bulunan değerlerin ortalamaları Tablo 21’deki gibidir.

Bir salgı balı olduğu bilinen çam balında optik çevirme açısı 1,38 olarak tespit edildi. Çam balının optik çevirme açısı çam hifi ile doğru orantılı olduğu görülmektedir. Meşe balı bir salgı balı olmasına rağmen negatif optik çevirme açısına sahip olduğu görülmektedir. Bunun temel sebebi meşe balının saf meşe balından ibaret olmadığı içinde farklı çiçek nektarlarının da bulunduğunu göstermektedir. Geri kalan ballar ise çiçek ballı olduğu ve optik çevirme açılarının negatif olduğu tespit edildi.

3.2.6. Mineral Madde Sonucu

Balların mineral madde içerikleri mikrodalga fırında ve HNO₃ ile yakılmaları sonucu elde edilen asidik çözeltinin seyreltilerek ICP’de tayin edilmesi esasına göre tayin edildi. Balların mineral madde miktarları yanında eser elementler ve bazı ağır metal iyonları da tayin edildi. Elde edilen veriler Tablo 22’deki gibidir.

As, Cd, Co, Cr, Hg, Mo, Ni, Pb gibi ağır metal iyonlarının miktarları çalışılan ballarda tayin değerlerinin altında olduğu için tespit edilemedi. Potasyum tüm ballarda major alkali metal tuzu olup onu fosfor, kalsiyum, magnezyum izlemektedir. Potasyum kestane balı başta olmak üzere koyu renkli ballarda yüksek miktarda bulundu. Demir oranı en yüksek bal olarak püren balı tespit edilirken bakır miktarı meşe ve çam balında yüksek bulundu. Ayrıca mangan oranı yüksek bal olarak kestane, meşe ve çam balı olduğu görülmektedir. Fosfor oranı yüksek ballardan akasya, çalba, çam ve ıhlamur balı olduğu Tablo 22’de görülmektedir. Fosfor bala topraktan ve zirai ilaçlar olan organo-fosfatlı

pestisit ve gübrelerden de nufz etmektedir. Çinko akasya, am ve ayçiçeği balında yüksek miktarda bulundu, ancak yüksek miktardaki Zn, Cu ve Fe miktarları balda üst limit değerlerinin altında bulunduğu için toksik seviyelerde değildir.

Çalışma sonuçları balların floral kaynağına bağlı olarak farklı mineral içeriğine sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Yapılan çalışmada koyu renkli balların (kestane, püren, meşe, manuka) mineral madde içeriklerinin açık renkli ballardan daha yüksek olduğu bulundu. Benzer şekilde literatürde koyu renkli balların mineral içeriğinin yüksek olduğu belirtilmektedir (Nombre vd., 2010; Kolaylı vd., 2008).

Tablo 22. Bal örneklerinin mineral analiz sonuçları mg.kg⁻¹

Numune/sayısı	<u>Al</u>	<u>B</u>	<u>Ba</u>	<u>Ca</u>	<u>Cu</u>	<u>Fe</u>	<u>K</u>	<u>Mg</u>	<u>Mn</u>	<u>Na</u>	<u>P</u>	<u>Sr</u>	<u>Zn</u>
Kestane(8)	77,30 ±11,23	T.E.	2,54 ±1,24	749,21 ±35,69	2,74 ±1,03	12,55 ±7,63	1947 ±32,60	32,96 ±9,58	3,50 ±2,47	89,14 ±24,54	18,09 ±5,28	1,57 ±0,21	1,41 ±0,03
Püren(5)	69,47 ±12,70	7,08 ±0,60	0,33 ±0,11	264,50 ±20,40	0,56 ±0,04	27,42 ±8,96	1521 ±21,00	30,75 ±5,22	3,56 ±0,41	98,65 ±5,63	16,68 ±5,49	0,94 ±0,24	1,54 ±0,36
Ayçiçek(3)	7,03 ±1,21	T.E. ^a	0,12 ±0,03	62,80 ±0,17	1,90 ±0,50	11,40 ±1,06	690,27 ±10,32	30,40 ±8,95	1,40 ±0,24	176,80 ±21,30	29,45 ±12,70	T.E.	4,20 ±1,13
Lavanta(4)	8,62 ±2,80	T.E.	T.E.	35,44 ±4,58	2,68 ±1,11	11,43 ±2,68	171,10 ±6,16	95,30 ±30,45	2,15 ±0,27	51,09 ±3,89	16,78 ±2,09	0,36 ±0,04	1,79 ±0,81
Meşe(3)	25,56 ±5,13	T.E.	3,37 ±2,21	106,45 ±28,67	6,83 ±1,52	18,82 ±9,13	942,44 ±43,78	80,56 ±14,58	1,20 ±0,08	81,69 ±8,63	29,65 ±8,75	2,78 ±0,25	2,26 ±0,90
Üçgül(3)	4,99 ±2,10	2,79 ±2,14	T.E.	68,89 ±2,21	2,74 ±2,00	12,01 ±4,52	214,00 ±29,68	80,80 ±20,65	1,03 ±0,07	49,11 ±8,60	29,50 ±2,28	1,29 ±0,03	1,46 ±0,53
Çalba(3)	8,18 ±0,42	28,40 ±14,21	0,53 ±0,04	117,40 ±36,24	3,08 ±0,47	9,40 ±7,85	114,00 ±56,32	82,85 ±14,23	1,11 ±0,47	54,67 ±4,25	38,31 ±7,85	1,49 ±0,05	1,86 ±0,06
Çam(4)	9,03 ±4,99	29,10 ±7,09	0,28 ±0,24	51,48 ±27,76	4,57 ±0,02	23,36 ±5,91	115,97 ±28,19	27,81 ±7,09	3,06 ±0,77	44,46 ±20,71	31,94 ±10,69	1,68 ±1,13	5,60 ±1,75
Hayıt(4)	30,11 ±7,56	T.E.	0,24 ±0,004	60,75 ±32,12	1,90 ±0,07	0,89 ±0,09	160,00 ±42,58	61,80 ±8,59	0,45 ±0,08	32,53 ±14,52	19,82 ±0,08	1,20 ±0,04	1,64 ±0,06
Geven(7)	7,44 ±0,32	T.E.	0,32 ±0,10	63,65 ±30,41	2,44 ±1,95	8,16 ±1,21	132,08 ±71,13	11,40 ±3,33	1,62 ±0,06	42,49 ±22,62	22,00 ±3,25	1,48 ±0,06	1,50 ±0,07
Karışık(9)	13,99 ±0,09	T.E.	0,57 ±0,22	42,20 ±16,12	2,73 ±1,15	1,07 ±0,04	336,00 ±46,95	11,28 ±1,19	0,62 ±0,03	37,44 ±11,03	23,21 ±6,81	1,05 ±0,46	1,46 ±0,04
Akasya(3)	15,89 ±1,62	2,26 ±0,30	0,60 ±0,03	53,54 ±11,44	0,26 ±0,12	1,13 ±0,03	268,81 ±25,83	120,85 ±72,62	0,09 ±0,06	15,98 ±1,66	42,77 ±5,00	0,29 ±0,04	8,70 ±0,98
Ihlamur(3)	4,86 ±0,85	T.E.	0,37 ±0,05	105,69 ±24,85	21,6 ±0,15	0,84 ±0,06	298,48 ±35,68	125,90 ±0,35	0,25 ±0,14	37,90 ±14,25	30,73 ±6,36	0,71 ±0,08	7,81 ±0,03
Manuka(1)	10,20 ±0,25	T.E.	T.E.	97,20 ±0,84	0,22 ±0,08	1,34 ±0,07	389,12 ±11,20	164,20 ±11,20	0,12 ±0,04	26,30 ±0,45	27,19 ±8,25	1,20 ±0,02	2,10 ±0,09
Süpermanuka (1)	21,30 ±0,35	T.E.	T.E.	99,20 ±0,56	0,55 ±0,07	2,52 ±0,09	485,10 ±52,46	200,40 ±20,10	0,29 ±0,06	21,50 ±0,74	29,83 ±6,23	1,30 ±0,03	2,91 ±0,06

3.2.7. Diastaz Aktivite Sonucu

Balların tazeliği ve ısıt işlemlerden geçip geçmediği test etmede kullanılan ve karbohidratların sindiriminden sorumlu enzim diastazdır (Bogdanov 2002). Diastaz enzimi arının midesinden bala nüfuz etmektedir ve enzim yüksek sıcaklıkta denatüre olmaktadır. Diastaz enzimi bitkinin kaynağına bağlı olarak ballarda farklı düzeylerde bulunmakla birlikte, diastaz aktivitesinin beklenen düzeyin altında çıkmasının iki temel nedeni bulunmaktadır; bal ısıt işlem görmüştür veya zamanı geçmiş bir baldır. Genel olarak sıcak iklim kuşaklarındaki balların diastaz aktiviteleri düşük olmaktadır. Narenciye balları düşük miktarlarda diastaz aktivitesi göstermektedir (La Grange ve Sanders 1988). Avrupa Birliği direktifleri ve Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (Anonymous 2002)'ne göre balın Diastaz aktivitesi, 8 birim düzeyinden daha az olmamalıdır. Narenciye ballarında ise bu değer 3 birim düzeyinden daha az olmamalıdır.

Balların diastaz aktiviteleri Tablo 23'de verilmektedir. Yapılan çalışmada kestane, hayıt, çam, lavanta ve manuka ballarının diastaz aktivitelerin yüksek ve püren, ayçiçeği, akasya, süper manuka ve çalba ballarının düşük diastaz aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Tablo 23. Bal örneklerin Diastaz, HMF ve Prolin değeri sonuçları

Numune /sayısı	Diastaz Aktivitesi (DU)	HMF (mg/Kg)	Prolin (mg/kg)
Kestane(n=8)	9,1±2,99	9,28±7,13	799,84±178,94
Püren(n=5)	4,3±4,13	80,24±59,27	845,44±42,16
Ayçiçek(n=3)	7,8±3,64	3,90±2,36	455,53±1,48
Lavanta (n=4)	5,4±2,85	24,42±20,99	615,06±206,52
Meşe(n=3)	5,8±0,22	0,61±1,55	473,92±115,96
Üçgül(n=3)	7,9±1,30	10,92±7,95	509,85±63,57
Çalba(n=3)	4,1±0,90	8,48±13,25	532,25±138,49
Çam (n=4)	10,6±1,31	4,87±2,06	436,81±190,47
Hayıt(n=4)	13,2±1,38	12,17±2,91	797,02±129,99
Geven(n=7)	8,0±1,37	4,60±3,93	754,60±130,34
Karışık(n=9)	7,0±2,03	14,71±23,45	482,32±160,78
Akasya(n=3)	3,6±0,07	12,56±5,21	281,61±112,59
Ihlamur(n=3)	6,2±0,03	2,51±0,24	513,50±0,03
Manuka(n=1)	7,3±0,55	13,78±0,21	433,71±24,58
Süpermanuka (n=1)	2,0±0,64	23,30±3,51	228,42±11,45

3.2.8. HMF Analiz Sonucu

5-hidroksimetilfufural (HMF) enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının bir ürünü olup gıdalarda şeker ve proteinlerin kondensasyon reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. HMF şekerler ile aminoasitler gibi yapısında amin grubu içeren biyomoleküller arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonları ürünlerinden biridir Balda HMF miktarının tayini diastaz aktivitesinde olduğu gibi balın tazeliği ve ısıtma işlemine maruz kalıp kalmadığının bir indikatörü olarak kullanılmaktadır. Balda düşük çıkması balın tazeliğinin bir göstergesidir. HMF kristalize olmuş balın ısıtma işlemi sonucu çözündürülmesiyle artış göstermektedir. Ballardaki HMF miktarı zaman ve sıcaklığa bağlı olduğu gibi pH, nem, indirgen şeker oranı, botanik özellik gibi çeşitli faktörlerden de etkilenmektedir (Spana ve ark. 2006; Yıldız ve ark. 2010). Çalışmada balların HMF değeri RP-HPLC metodu kullanılarak tayin edildi. Sulu ortamda standart HMF kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve 285 nm'de dedeksiyon yapıldı (Jeuring, vd., 1980). Tablo 23'de çalışılan balların HMF sonuçları göstermektedir. En yüksek HMF değeri püren balında tespit edildi. HMF değeri püren balında 40 mg/kg daha yüksek çıkma sebebi balın 1 yıllık bekletilmiş ballar olduğundan HMF değeri yüksek bulundu.

3.2.9. Prolin Analiz Sonucu

Ballarda prolin tayini Trabzon Gıda Kalite kontrol laboratuvarından hizmet alımı şeklinde yapıldı. Tayin spektrofotometrik yöntem kullanılarak gerçekleştirildi. Prolin ninhidrin ile renkli kompleks oluşturur. 2-propanol ilavesinden sonra örnek çözelti etkisizleştirilir ve referans bir çözeltinin maksimum dalga boyu tayin edilmektedir. Prolin içeriği değerler arasındaki ilişkiden tayin edilmektedir (Ough, 1960). Balların prolin değerleri Tablo 23'de görüldüğü gibi verilmektedir. Balların prolin değerleri 228 mg/kg ile 845,44 mg/kg arasında değişim göstermektedir. Prolin değeri sonucuna göre en yüksek prolin değeri püren balında gözlemlenirken en düşük prolin değeri ise süper manuka balından gözlemlendi.

3.2.10. Şeker Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmada HPLC’de RI-dedektör kullanılarak 10 farklı şeker (fruktoz, glukoz, sakkaroz, maltoz, arabinoz, riboz, trehaloz, galaktoz, melesitoz, melebioz) ballarda tayin edildi. Bu yöntemin esası, filtre edilmiş seyreltik bal çözeltisinin şeker içeriği RI-dedektör ile HPLC’de tayinine dayanmaktadır. Geliş zamanlarına göre pikler belirlenmektedir (Bogdanov ve Baumann, 1998).

Öncelikle cihazın kalibrasyonu için bu şekerlerin standart çözeltileri hazırlandı. Standart çözeltileri 0,45 µm filtreden geçirilip viallere alındı. Bu standart çözeltileri HPLC cihazında RI- dedektöründe okutarak geliş zamanlarına göre kalibrasyon grafikleri oluşturuldu. Lineer ölçüm aralığında oluşturulan kalibrasyon grafiğinin denklem verisinden ve aşağıdaki formülden yararlanarak LOD ve LOQ hesaplandı. Hesaplanan bu verilere Tablo 24’de verildi. Tablo 242’de görüldüğü gibi alıkonma zamanlarının yüzde bağıl standart sapması en yüksek galaktoz (0,433) ve riboz (0,348) şekerlerinde elde edilmiştir. Diğer şeker bileşenlerin % RSD değerleri daha düşük yani tekrarlanabilirlikleri daha yüksek bulunmuştur. Pik alanlarının % RSD değerleri riboz ve glukozun 5’ in üstünde iken diğer şekerlerinki 5’den küçük bulunmuştur. Tekrarlanabilirler şeker bileşenleri bal ekstraktlarında analizleri için genel olarak uygun aralıktadır.

$$\text{Tayin Limiti (LOD)} = 3,3 \times \left(\frac{SD}{m} \right)$$

$$\text{Ölçüm Limiti (LOQ)} = 10 \times \left(\frac{SD}{m} \right)$$

SD = Kalibrasyon eğrisinin en düşük seviyesindeki standart sapma

m= Kalibrasyon eğrisinin eğimi

Tablo 24. Şeker standartlarının validasyonu (LOD ve LOQ) değerleri

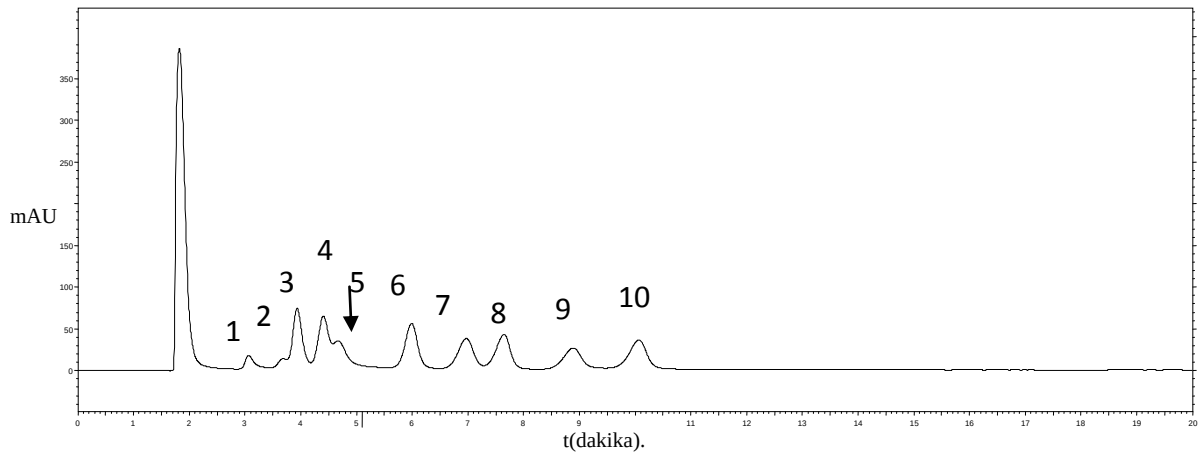
No	RT _{Ort} ^a	Bileşen	R ²	%RSD (Alıkonma Zamanı)	%RSD (Alan)	LOD ^d	LOQ ^d
1	2,88	Riboz	0,999	0,348	5,168	0,355	1,075
2	3,42	Arabinoz	0,996	0,131	3,133	0,145	0,440
3	3,63	Fruktoz	1,000	0,113	1,056	1,254	3,800
4	4,03	Glukoz	0,999	0,128	5,918	0,390	1,182
5	4,17	Galaktoz	0,999	0,433	1,930	0,678	2,054

Tablo 24'ün devamı

6	5,39	Sukroz	0,999	0,076	1,534	1,680	5,090
7	6,18	Maltoz	0,999	0,066	3,840	1,460	4,425
8	6,79	Teraloz	1,000	0,060	2,458	0,189	0,574
9	7,82	Melibioz	1,000	0,052	2,460	2,317	7,022
10	8,85	Melezitoz	0,994	0,058	3,649	2,019	6,119

^dDeğerler mg/mL cinsinden verilmiştir.

HPLC'de validasyonu yapılan 10 farklı şeker standardının validasyonu % 99 oranında gerçekleşmiştir. Şekil 13'de 10 tane şeker standardın kromatogramı verilmiştir.



Şekil 11. RID ile şeker standartlarının kromatogramı. (1) Riboz, (2) Arabinoz, (3) Fruktoz, (4) Glukoz, (5) Galaktoz, (6) Sukroz, (7) Maltoz, (8) Teraloz, (9) Melebioz, (10) Melezitoz

Çalışan ballarda 10 tane standart şekerle çalışılmış olup major monosakkarit olarak fruktoz ve glukoz şekerleri tespit edilirken diğer şekerlerde az miktarda değişik oranlarda ballarda bulundu. Sonuçlarda F/G oranı en yüksek çıkan ballar çalba, üçgül, kestane ve meşe olduğu tespit edildi. Kestane ballarının sadece bir tanesinde riboz şekeri tespit edildi (Tablo 25).

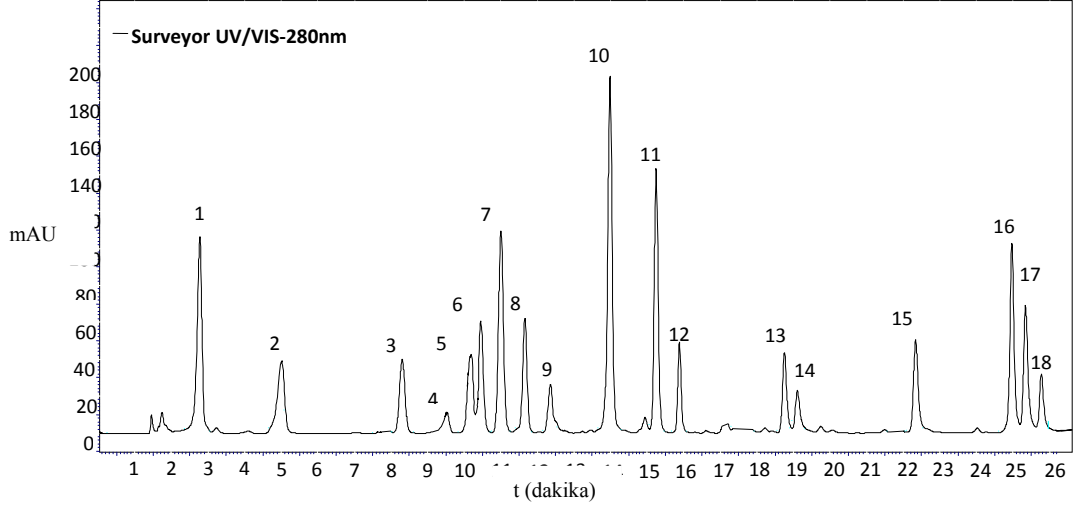
Tablo 25. RID ile bal örneklerinin şeker sonuçları (mg/g)

Numune/sayısı	Riboz	Arabinoz	Fruktoz	Glukoz	Galaktoz	Sukroz	Maltoz	Teraloz	Melibioz	Melezitoz	F/G
Kestane(n=8)	0,14±0,01*	T.E.	38,44±2,72	19,35±3,00	T.E.	1,32±1,41	0,53±0,12	0,09±0,01	0,40±0,40	0,56±0,22	2,25±1,26
Püren(n=5)	T.E.	T.E.	45,11±0,24	25,0±0,32	T.E.	T.E.	0,31±0,03	0,04±0,001	0,39±0,14	0,55±0,01	1,97±0,69
Ayçiçek(n=3)	T.E.	T.E.	41,85±5,66	21,83±0,70	T.E.	T.E.	0,38±0,01	T.E.	T.E.	0,50±0,003	1,96±0,56
Lavanta(n=8)	T.E.	T.E.	32,65±1,28	22,19±6,79	T.E.	T.E.	0,36±0,03	T.E.	0,36±0,03	0,52±0,01	1,49±0,33
Meşe(n=3)	T.E.	T.E.	43,28±2,18	21,73±2,40	T.E.	T.E.	0,19±0,44	T.E.	T.E.	0,94±0,07	2,04±0,38
Üçgül(n=3)	T.E.	T.E.	44,47±2,00	15,40±3,26	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	0,37±0,01	0,55±0,01	2,93±0,68
Çalba(n=3)	T.E.	T.E.	40,16±2,79	12,40±1,11	T.E.	T.E.	0,18±0,56	0,10±0,05	0,36±0,01	0,56±0,09	3,23±0,06,
Çam(n=4)	T.E.	T.E.	39,80±2,84	23,67±2,21	T.E.	T.E.	0,54±0,64	T.E.	0,35±0,01	0,62±0,34	1,86±0,78
Hayıt(n=4)	T.E.	T.E.	40,92±0,10	35,26±0,01	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	1,16±0,01
Geven(n=7)	T.E.	T.E.	32,62±10,176	25,34±7,624	T.E.	1,61±0,083	0,16±0,70	T.E.	0,36±0,07	0,65±0,47	1,48±0,43
Karışık(n=9)	T.E.	T.E.	30,35±5,65	22,07±6,59	T.E.	0,91±0,16	1,05±0,87	T.E.	0,36±0,01	0,52±0,04	1,44±0,38
Akasya(n=3)	T.E.	T.E.	46,28±1,39	28,28±6,66	T.E.	1,39±0,05	0,75±0,04	T.E.	T.E.	T.E.	1,69±0,54
Ihlamur(n=3)	T.E.	T.E.	45,92 ±0,07	23,64 ±0,07	T.E.	T.E.	0,13±0,04	T.E.	T.E.	0,43±0,02	1,94±0,01
Manuka(n=1)	T.E.	T.E.	36,23±0,47	27,93±3,33	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	0,36±0,02	0,50±0,01	1,30±0,01
Süpermanuka(n=1)	T.E.	T.E.	42,69±1,83	22,00±0,85	T.E.	T.E.	0,17±0,02	T.E.	T.E.	0,51±0,02	1,94±0,02

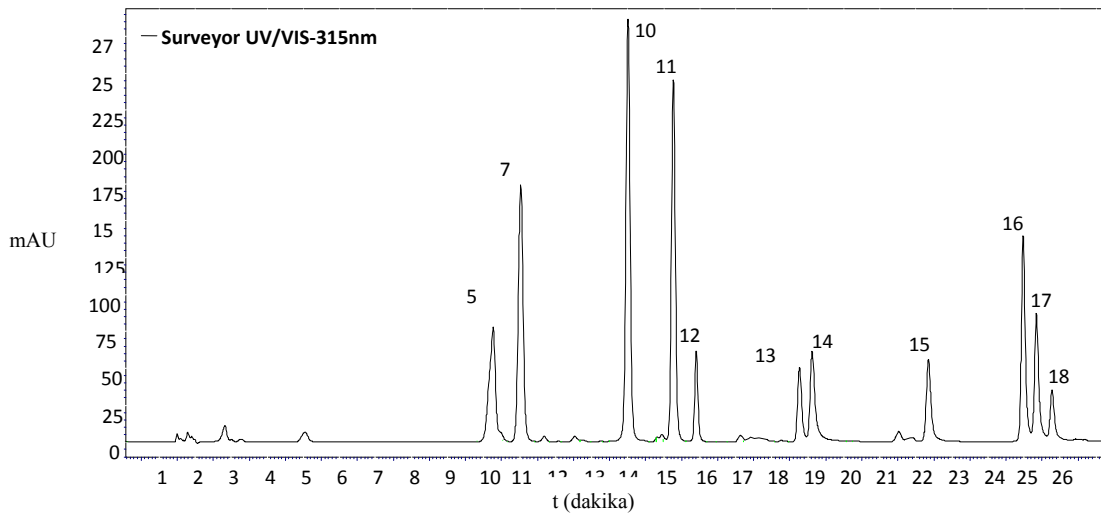
T.E: Tespit edilemedi.

3.3. RP-HPLC-UV ile Fenolik Bileşenlerin Metot Optimizasyonu ve Kromatogramları

Optimize edilen HPLC-UV metodu kullanılarak 18 standart fenolik bileşiğinin analizi iki farklı dalga boyu ile yapılan standart pik ayrımları Şekil 12 ve 13'deki kromatogramlarda verildi.



Şekil 12. HPLC-UV tarafından 280 nm'deki kromatogramı. (1) Gallik asit, (2) Protokatekuik asit, (3) *p*-OH benzoik asit, (4) Kateşin, (6) Vanilik asit, (7) Kafeik asit, (8) Şiringik asit, (9) Epikateşin, (10) *p*-Kumarik asit, (11) Ferulik asit, (12) Rutin, (13) Myrisetin, (14) Fisetin, (15) Kuersetin, (16) Apigenin, (17) Kaemferol, (18) İzoramnetin



Şekil 13. HPLC-UV tarafından 315 nm'deki kromatogramı. (5) Klorojenik asit, (7) Kafeik asit, (10) *p*-Kumarik asit, (11) Ferulik asit, (12) Rutin, (13) Myrisetin, (14) Fisetin, (15) Kuersetin, (16) Apigenin, (17) Kaemferol, (18) İzoramnetin

Tablo 26’da görüldüğü gibi alıkonma zamanlarının yüzde bağıl standart sapması en yüksek *p*-OH benzoik asit (0,65), katesin (0,58) ve rutin (0,53) bileşiklerinde elde edilmiştir. Diğer bileşenlerin % RSD (alıkonma zamanı) değerleri daha düşük yani tekrarlanabilirlikleri daha yüksek bulunmuştur. Pik alanlarının % RSD değerleri myrisetin ve isoramnetinde 5’e yakın iken diğer bileşenlerde 5’den küçük bulunmuştur. Tekrarlanabilirler fenolik bileşiklerin bal ekstraktlarında analizleri için genel olarak uygun aralıktadır. Kalibrasyon eğrilerinin doğrusallığı olan $R^2=0,99$ ’dan büyük bulunmuştur. Metodun kalitatif tespit sınırı LOD (<0,13) ve kantitatif tespit sınırı LOQ (<0,45) değerleri oldukça küçük olup bal ekstraktlarının fenolik bileşen analizi için uygun aralıktadır.

Tablo 26. Optimize edilen HPLC-UV metodunun parametreleri

No	RT _{Ort.}	Bileşik	%RSD (alıkonma zamanı)	%RSD (alan)	R ²	LOD*	LOQ*
1	2,78	Gallik asit	0,30	2,05	0,998	0,03	0,11
2	5,18	Protokatekuik asit	0,24	2,78	0,999	0,04	0,14
3	8,61	<i>p</i> -OH benzoik asit	0,65	1,19	0,999	0,02	0,06
4	9,66	Kateşin	0,58	2,10	0,999	0,12	0,39
5	10,28	Klorojenik asit	0,29	1,50	0,998	0,04	0,15
6	10,73	Vanilik asit	0,35	0,87	0,999	0,01	0,05
7	11,15	Kaffeik asit	0,24	0,83	0,999	0,03	0,09
8	11,87	Şiringik asit	0,36	1,49	0,999	0,02	0,07
9	12,46	Epikateşin	0,38	1,33	0,999	0,08	0,26
10	14,17	<i>p</i> -Kumarik asit	0,11	0,56	0,999	0,02	0,06
11	15,41	Ferulik asit	0,23	0,63	0,999	0,02	0,07
12	15,82	Rutin	0,53	1,15	0,999	0,03	0,11
13	18,88	Myrisetin	0,26	4,09	0,999	0,08	0,27
14	19,28	Fisetin	0,25	2,56	0,999	0,05	0,18
15	22,55	Kuersetin	0,21	1,78	0,999	0,04	0,13
16	25,54	Apigenin	0,15	1,49	0,999	0,05	0,17
17	26,08	Kamferol	0,14	2,68	0,999	0,07	0,22
18	26,66	Isoramnetin	0,14	6,34	0,998	0,13	0,45
19	26,92	Propilparaben (IS)	0,07	4,11		0,18	0,59

*: mg.L⁻¹

3.4. Balların Fenolik Bileşen Sonuçları

18 fenolik bileşenle gerçekleştirilen örneklerinin analizinde ballarda en çok bulunan bileşen *p*-OH benzoik asit, kafeik asit ve *p*-kumarik asittir. Myrisetin ve fisetin flavonoidi ise hiçbir bal örneğinde tespit edilemedi. Balların fenolik bileşen sonuçları Tablo 27-28'deki gibidir. Meşe balı fenolik bileşimi zengin bir bal olup gallik asit, protokatekuik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, kafeik asit ve *p*-kumarik asit bakımından zengin bir bal olarak tespit edildi. Süper manuka balında şiringik asit major fenolik bileşen olarak tespit edildi. Isoramnetin akasya balında gözlemlenirken diğer ballarda bu bileşik tespit edilmedi.

Tablo 27. RP-HPLC-UV ile bal örneklerinin fenolik bileşen sonuçları

Standartlar	Nunume µg (fenolik bileşen)/g numune							
	Kestane	Püren	Ayçiçek	Lavanta	Meşe	Üçgül	Çalba	Çam
Gallik Asit	0,98±0,32	0,61±0,04	T.E.	T.E.	82,49±4,38	T.E.	T.E.	T.E.
Protokatekuik Asit	9,18±1,67	19,43±2,15	3,58±2,76	4,80±0,07	744,6±5,41	2,75±0,03	T.E.	81,19±7,13
<i>p</i> -OH benzoik Asit	17,42±1,50	25,42±20,79	10,74±8,06	24,06±8,50	50,19±36,2	15,80±6,88	17,84±3,81	29,15±18,7
Kateşin	T.E.	23,07±0,05	T.E.	12,59±8,26	T.E.	T.E.	T.E.	21,75±15,4
Klorojenik Asit	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Vanilik Asit	1,90±0,79	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	9,47±7,44	20,00±0,21
Kafeik Asit	4,76±0,82	2,76±1,50	3,31±2,02	4,27±2,58	11,78±9,14	1,51±0,39	6,60±5,10	3,90±3,39
Şiringik Asit	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	4,60±0,11
Epikateşin	T.E.	T.E.	T.E.	15,63±12,6	10,32±0,50	T.E.	T.E.	T.E.
<i>p</i> -Kumarik Asit	5,52±3,26	2,98±1,60	1,91±1,34	2,43±1,60	5,95±2,22	T.E.	3,91±0,79	4,41±3,46
Ferulik Asit	1,19±0,92	T.E.	0,33±0,05	T.E.	4,19±3,00	T.E.	0,88±0,24	2,15±1,30
Rutin	T.E.	T.E.	T.E.	20,60±17,9	T.E.	T.E.	T.E.	11,64±6,92
Myrisetin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Fisetin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Kuersetin	3,50±0,07	21,05±0,05	24,26±0,41	T.E.	T.E.	T.E.	4,90±1,08	11,76±2,32
Apigenin	0,63±0,35	T.E.	7,95±0,23	T.E.	T.E.	T.E.	3,03±0,24	T.E.
Kaempferol	T.E.	T.E.	36,77±0,11	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	7,50±0,10
Isoramnetin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.

T.E: Tespit edilemedi.

Tablo 28. RP-HPLC-UV ile bal örneklerinin fenolik bileşen sonuçları

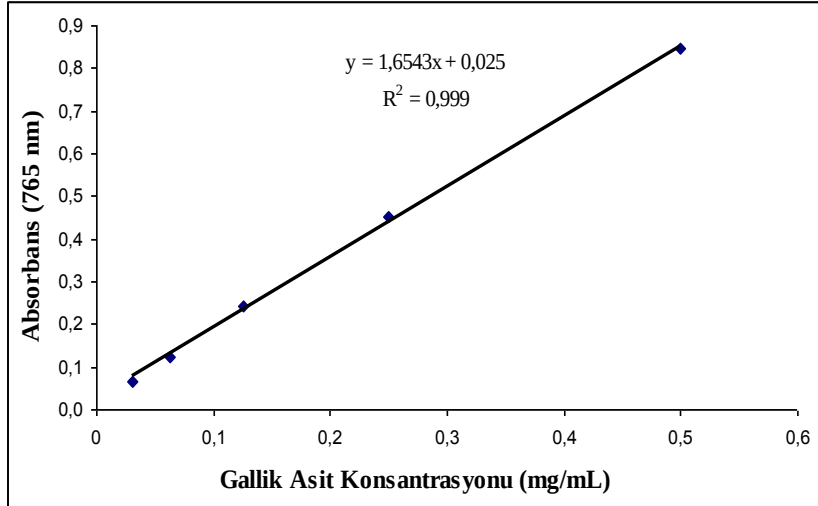
Standartlar	Nunume µg (fenolik bileşen)/ g numune						
	Geven	Karışık	Akasya	Hayıt	Ihlamur	Manuka	Süpermanuka
Gallik Asit	0,29±0,20	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	9,22±1,30	T.E.
Protokatekuik Asit	17,60±9,58	7,17±0,02	T.E.	T.E.	9,24±0,23	18,90±3,20	T.E.
<i>p</i> -OH benzoik Asit	29,86±14,18	14,98±10,04	11,59±0,35	24,68±1,1	55,26±9,98	32,38±4,40	T.E.
Kateşin	13,34±2,69	T.E.	T.E.	1,87±0,03	T.E.	T.E.	T.E.
Klorojenik Asit	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	35,50±3,03
Vanilik Asit	1,67±0,10	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	9,98±4,05
Kafeik Asit	5,56±4,61	5,23±0,65	1,35±0,07	3,67±1,40	8,80±1,01	17,30±11,20	T.E.
Şiringik Asit	T.E.	T.E.	17,14±2,25	T.E.	T.E.	T.E.	61,61±10,32
Epikateşin	T.E.	6,47±0,05	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
<i>p</i> -Kumarik Asit	4,87±0,56	5,83±3,39	1,99±1,01	2,21±0,46	4,66±0,11	8,15±0,04	T.E.
Ferulik Asit	0,80±0,55	T.E.	0,97±0,37	0,36±0,23	T.E.	T.E.	T.E.
Rutin	4,61±0,75	12,75±11,78	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Myrisetin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Fisetin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Kuersetin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Apigenin	1,82±0,21	T.E.	3,59±0,01	1,84±0,49	34,83±9,80	T.E.	T.E.
Kaempferol	T.E.	T.E.	0,44±0,13	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Isoramnetin	T.E.	T.E.	3,25±0,43	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.

T.E: Tespit edilemedi.

3.5. Balların Antioksidan Sonuçları

3.5.1. Toplam Polifenol Testi Sonucu

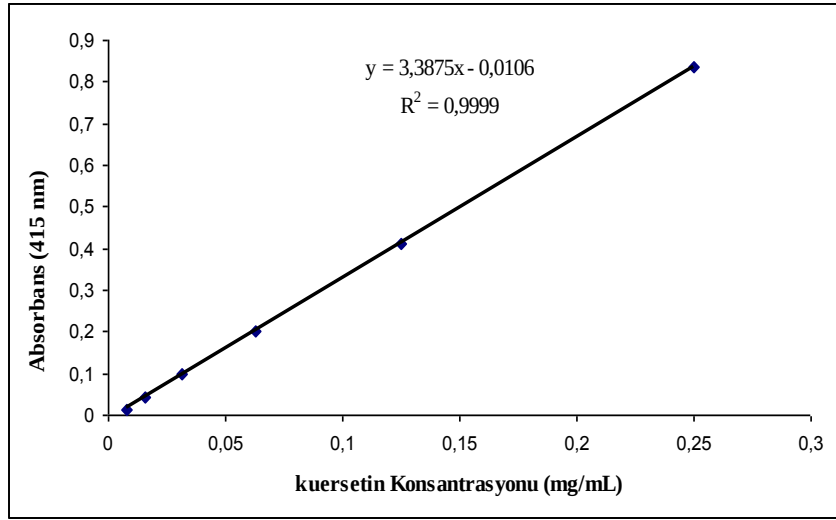
Analizler için bal örnekleri metanolik ekstraktları hazırlanarak gerekli seyreltme işlemleri yapıldıktan sonra toplam fenolik madde miktarı gallik standardına göre tayin edildi. Değişen konsantrasyonlarda hazırlanan (0,05- 0,0078 mg/mL'lik) standart gallik asit çözeltileri ile Bölüm 2.9.1.'de anlatılan metoda göre toplam fenolik madde miktarları tayin edildi. Elde edilen 765 nm'deki absorbans değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri x-ekseninde olacak şekilde bir standart çalışma grafiği hazırlandı. Elde edilen standart çalışma grafiğinde absorbans konsantrasyonla doğru orantılı olup, elde edilen doğru denklemi $y=1,6543x+0,025$ olarak tespit edildi (Şekil 14). Hazırlanan standart çalışma grafiği kullanılarak 1 g balın içerdiği mg cinsinden toplam fenolik madde miktarı belirlendi. Balların toplam fenolik madde miktarları Tablo 29'daki gibidir. Toplam fenolik madde miktarı 10,71-145,65 mg/100 g numune arasında değişim göstermektedir. En yüksek değer süper manuka balında tespit edilirken en düşük değer akasya balında tespit edildi.



Şekil 14. Toplam polifenolik madde tayini için gallik asit standardı kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiği

3.5.2. Toplam Flavonoid Testi Sonucu

Metanolik olarak hazırlanmış olan bal örnekleri gerekli seyreltme işlemi tamamlandıktan sonra toplam flavonoid madde miktarları kuersetin standardına göre tayin edildi. Değişen konsantrasyonlarda hazırlanan (0,25- 0,0078 mg/mL'lik) standart kuersetin çözeltileri ile Bölüm 2.9.2'de anlatılan metoda göre toplam flavonoid madde miktarları tayin edildi. Elde edilen 415 nm'deki absorbans değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri x-ekseninde olacak şekilde bir standart çalışma grafiği hazırlandı. Elde edilen doğru denklemi $y=3,3875x-0,0106$ olarak tespit edilip (Şekil 15), bu denklemden faydalanılarak 1 g balın mg cinsinden toplam flavonoid madde miktarı tespit edildi. Toplam flavonoid madde miktarı ballarda 0,52- 26,83 mg/100 g numune arasında değişim göstermektedir. En yüksek değer süper manuka balında en düşük değer ise üçgül balında tespit edildi. Sonuçlar Tablo 29'daki gibidir.

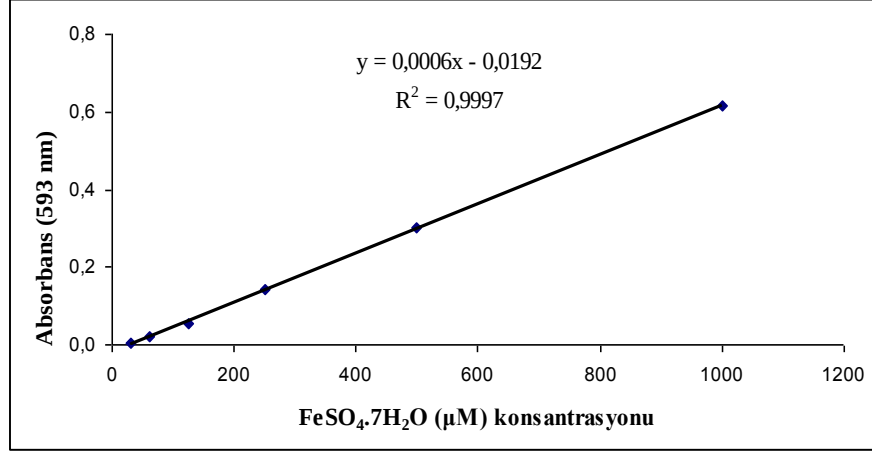


Şekil 15. Toplam flavonoid madde tayini için kuersetin standardı kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiği

3.5.3. FRAP Testi Sonucu

Bu yöntemin ilkesi; antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu, oksidan olarak kullanılan ferrik-tripiridiltriazin kompleksinin, renkli formdaki ferro (Fe^{2+}) formuna indirgenmesine dayanmaktadır. Bu yöntem ile 1 mmol L⁻¹ demir sülfata ($FeSO_4$) eşdeğer, ferrik indirgeme yeteneğine sahip antioksidanların konsantrasyonu belirlenir. Kalibrasyon

için $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ değişik konsantrasyonları (62,5- 1000 μM) kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiği aşağıda verilmektedir (Şekil 16). Balların FRAP sonuçları Tablo 29'daki gibidir. Frap değeri 0,59- 4,62 $\mu\text{molFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ numune arasında değişim göstermektedir. En yüksek değer süper manuka balında en düşük değer ise üçgül balında tespit edildi.



Şekil 16. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği

3.5.4. DPPH• Testi Sonucu

DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup, radikal temizleme aktivitesinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu radikal 100 μM 'lık metanolik çözeltisi hazırlandı. Metanolik bal ekstraktlarından 750 μL 5 farklı konsantrasyonlarda alınarak üzerlerine yine aynı hacimde 750 μL DPPH• çözeltisi koyularak 50 dakika inkübasyona bırakıldı ve süre sonunda 517 nm'de absorbans değerleri okundu. Artan numune konsantrasyonuna karşı absorbans değerleri grafiğe geçirildi ve bu grafikten faydalanılarak maksimum absorbansın yarıya düşüren numune konsantrasyonu SC_{50} değeri olarak ifade edildi. Buradan antioksidan aktivite, numunelerin SC_{50} mg/mL cinsinden değerleri belirlenerek karşılaştırılmıştır. DPPH• radikali temizleme tayininde küçük SC_{50} değeri yüksek radikal temizleme kapasitesini göstermektedir. Tablo 29'da numunelerin SC_{50} değerleri verilmiştir. Balların SC_{50} değerleri 13,75- 180,12 mg/mL arasında değişim göstermektedir. Sonuçlara göre en yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip bal olarak süper manuka balı olduğu bulundu. En düşük temizleme aktivitesine sahip bal ise akasya balının olduğu bulundu.

Tablo 29. Toplam polifenol, toplam flavonoid, FRAP ve DPPH testleri sonucu

Numune/sayısı	TP (mg GAE/100g numune)	TF (mg QE/100g numune)	FRAP ($\mu\text{molFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$)	DPPH-SC ₅₀ (mg/mL)
Kestane (n=8)	78,53±19,77	7,14±2,48	4,30±0,13	22,14±6,63
Püren (n=5)	90,64±38,62	4,72±1,56	1,35±0,15	39,23±14,61
Ayçiçek(n=3)	43,57±16,01	2,12±1,13	1,16±0,75	71,38±2,04
Lavanta (n=4)	53,39±23,34	2,03±1,54	0,67±0,25	74,97±34,52
Meşe(n=3)	93,20±26,00	2,85±0,14	3,07±1,24	13,75±1,39
Üçgül(n=3)	25,53±5,90	0,52±0,39	0,59±0,21	98,19±58,03
Çalba(n=3)	40,17±14,10	2,37±1,99	0,65±0,46	60,96±5,20
Çam (n=4)	60,42±22,47	1,50±1,18	1,48±0,83	54,46±30,05
Hayıt(n=4)	35,60±4,04	0,91±0,12	0,67±0,11	133,72±23,02
Geven(n=7)	43,63±20,66	0,86±0,49	0,66±0,25	139,88±28,88
Karışık(n=9)	29,54±12,71	1,57±1,89	0,77±0,62	54,76±22,06
Akasya(n=3)	16,02±1,70	1,37±0,16	0,64±0,04	180,12±87,32
Ihlamur(n=3)	41,20±0,01	0,91±0,12	0,87±0,02	78,61±1,91
Manuka(n=1)	66,35±0,05	8,4±0,18	1,99±0,02	54,15±0,01
Süpermanuka (n=1)	145,65±0,02	16,83±1,34	4,62±0,11	21,02±0,64
Std. Troluks* 0,004±0,01				

*mg/mL

3.6. Antimikrobiyal Aktivite Sonucu

Baldaki antimikrobiyal aktivitesi onun asitliğine, pH'sına, osmotik basıncına, glukoz oksidaz aracılığıyla enzimatik olarak hidrojen peroksit üretimine bağlıdır. Buna ek olarak aromatik asitler veya fenolik bileşenler, antimikrobiyal aktiviteye bütün olarak katkıda bulunabilir. Metanolik ekstraktlarla hazırlanmış olan bal örneklerinin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla gram negatif ve gram pozitif bakteri kullanılmış ve onların hangi bakteri kültürüne karşı antimikrobiyal etki oluşturduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar Tablo 30'daki gibidir. Akasya balının hem gram (-) hem de gram (+) karşı diğer ballara göre daha etkin olduğu tespit edildi.

Tablo 30. Bal örneklerinin antimikrobiyal aktivite sonucu

Mikroorganizmalar ve İnhibisyon Çapları (mm)										
Numune	Gram (-)				Gram (+)				Küf	Maya
	E.c.	P.v.	P.a.	Y.e.	K.p.	B.s.	M.l.	S.a.	A.n.	S.c.
Kestane	12,25	12,00	10,05	12,25	11,50	13,00	11,75	12,05	9,80	13,20
Püren	12,93	10,33	12,20	13,57	13,73	11,6	12,00	12,80	12,15	13,55

Tablo 30'un devamı

Ayçiçek	10,70	11,85	11,25	12,80	12,75	11,20	17,60	13,60	11,60	13,40
Lavanta	13,70	8,40	9,20	13,40	9,25	7,00	12,90	8,00	13,30	9,70
Meşe	13,05	9,7	T.E.	T.E.	11,60	14,3	13,55	10,30	10,10	15,10
Üçgül	11,80	11,80	10,50	11,85	10,95	T.E.	13,30	11,90	14,40	12,10
Çalba	12,05	18,60	10,30	10,10	9,90	13,40	15,55	8,00	T.E.	10,80
Çam	13,10	12,70	10,70	13,60	13,30	13,50	11,90	8,30	14,40	11,20
Hayıt	12,85	11,00	11,05	11,95	10,00	T.E.	10,80	T.E.	14,02	12,80
Geven	12,10	11,50	11,50	9,90	10,65	T.E.	8,25	12,75	9,85	10,20
Karışık	11,75	11,90	9,40	11,55	11,10	11,05	9,20	10,50	9,30	13,90
Akasya	14,30	12,50	9,10	12,00	12,65	17,50	14,70	9,30	12,50	14,15
Manuka	6,30	T.E.	T.E.	10,3	11,2	8,6	11,2	6,01	9,01	12,4
Süpermanuka	9,05	11,4	T.E.	13,0	T.E.	8,4	15,8	8,9	11,6	13,8

E.c. *Escherichia coli* B.s. *Bacillus subtilis* P. v. *Proteus vulgaris* M. l. *Micrococcus luteus* S.a. *Staphylococcus aureus* P.a. *Pseudomonas aeruginosa* Y.e. *Yersinia enterocolitica* K.p. *Klebsiella pneumoniae* A.n. *Aspergillus niger* S.c. *Saccharomyces cereviasea*

T.E: Tespit edilemedi

4. TARTIŞMA

Bal, arıları (*Apis mellifera*) tarafından çiçek ve salgılarından toplanan bal, insanoğlu tarafından hem şifa kaynağı hemde besin maddesi olarak geçmişden günümüze kadar kullanılmaktadır (Aparna vd., 1999; Kaskoenien vd., 2009). Balın bileşiminin büyük bir kısmını karbohidratlar oluşturmakla birlikte yapısında yaklaşık % 1 -2 oranında yer alan çeşitli biyo-aktif bileşikler (proteinler, enzimler, aminoasitler, vitaminler, organik asitler, flavonoidler, fenolik asitler, mineraller) onun biyolojik aktivitesinden sorumlu ajanlardır (White, 1999). Balın bileşiminin değişkenliği birçok faktöre bağlıdır. Bunlar nektarı sağlayan floraya, iklim koşullarına, coğrafik özelliklere, üretim biçimine ve bal arısı türüne göre değişim göstermektedir (Kaskoniene, 2010). Bu zengin ve kompleks bileşimi sayesinde bal, alternatif tıp uygulamalarının başında yer alır (Alvarez- Suarez vd., 2010).

Türkiye bal üretimi ve çeşitliliği bakımından dünyanın önde gelen şanslı coğrafik bölgelerinden biri olup bal çeşitleri, balların biyo-aktif özellikleri ve biyo-yararlılıkları konusundaki araştırmalar yeterli seviyede değildir. Ayrıca Türkiye ballarının biyo-aktif potansiyellerinin dünyadaki tıbbi ballara göre durumu bilinmemektedir.

Tüm bu sorulara cevap verebilmek için Türkiye florasına ait 12 değişik monofloral bal ve bu balların yanı sıra karşık (heterofloral) bal ile iki farklı Manuka balının fiziksel, kimyasal ve biyolojik aktif potansiyelleri araştırıldı ve karşılaştırmalar yapıldı.

İnsanoğlu için önemli bir besin kaynağı olan bal, coğrafik konuma ve floranın kimyasal içeriğinin farklılaşmasıyla değişmektedir (Izhar-ul-Haq vd., 2010). Bitki nektarının olgunlaşması esnasında coğrafik konum önemli bir yer tutmaktadır. Alves vd. (2013) yapmış olduğu çalışmada farklı bölgelere ait aynı tür monofloral ballarının coğrafik konumun değişimiyle birlikte mineral içeriğinin değişim gösterdiğini tespit etmiştir. Yine başka bir çalışmada bal mevcut olan mineral kompozisyonun botanik orjinine ve toprak türüne göre değişim gösterdiği bulunmuştur (Pohl, 2009).

Bal üreticilerinden monofloral bal olarak temin edilen balların monofloral olup olmadığı tespiti için palinolojik analizi yapılmış olup, bu polen oranının % 40 ve üzerinde çıkan balları monofloral olarak nitelendirmek mümkündür. Fakat son zamanlarda monofloral polen oranı daha düşük olan ballarda (örneğin % 30) monofloral bal olarak da sınıflandırılmaktadır (Escriche vd., 2014).

Bu orana göre kestane> manuka> püren> süper manuka> geven> lavanta> ıhlamur ballarının polen yüzdesinin % 40'ın üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Meşe ve çam balları salgı balı oldukları için polen sayımına ilave olarak hif yoğunluğuda saptanmaktadır. Diğer ballar ise Çalba balının polen içeriği % 39 olarak, ayçiçeği, üçgül, hayıt ve akasya ballarının polen yüzdesi % 30 ve üzerinde oldukları tespit edildi. Ayrıca çalışmada karşılaştırma yapma maksadıyla karışık (heterofloral) balda çalışıldı ve polen sayımı yapılarak yoğun olan türleri tespit edildi.

Vanhanen vd. (2011) Yeni Zelanda monofloral balların mineral analiz çalışmasında manuka (*Leptospermum scoparium*) balının palinolojik analizi yapmış polen yüzdesini % 45'in üzerinde % 91 olarak tespit etmiştir. Mevcut olan tez çalışmasında da aynı tür manuka balının polen yüzdesini % 81,45 olarak tespit edildi. Tuberoso vd. (2014) yapmış olduğu çalışmada yer alan kestane balı ıhlamur balının polen içeriğini kestane balının % 87- 98, ıhlamur balının % 11- 47 olarak belirlemiştir. Yayınlanmış olduğu bu bilimsel veri, mevcut çalışmada kullanılan bal örneklerin sonuçları arasında oldukça yakın olduğu görülmüştür.

Son zamanlarda balın önemi gittikçe artmakta olup tüketicilerin bal talebini üreticiler karşılayamamaktadır. Bu bakımdan bazı üreticiler doğal yolla olmayan sahte ya da tağşişli bal üretimi yapmaktadır. Bal tağşişini anlayabilmek için günümüzde çok popüler olan bir yöntem olan karbon izotop oranı tespit edilmektedir. Sahte bal tespitinde kullanılan izotopik teknik; bitkilerin bünyelerinde doğal olarak fotosentez sebebiyle bulundurduğu C3 ve C4 arasındaki izotop farklılığı dayanır. Padovan vd. (2007)'de yapmış oduğu çalışmada çam balının C3 döngüsünde C13/C12 oranı % -22 ile % -33, C14 döngüsünde ise % -10 ile % -20 arasında değişim göstermektedir. Çalışmada ise, monofloral karaktere sahip balların C13 bal ve C13 protein değerleri % -23 ile -26 arasında değişim göstermektedir. Şimşek vd. (2012) yapmış olduğu çalışmada Trabzon yöresine ait kestane balının C13 bal değerinin % -23,98 olarak, C13 protein değerini ise % -24,35 olarak tespit etmiştir. Mevcut olan çalışmada ise arıcılar tarafından temin edilen kestane ballarında C13 değeri -25,94 olarak, C13 protein değeri ise -26,09 olarak tespit edilmiştir. Çinar vd. (2014) Türkiye'nin Muğla ilinin 9 farklı bölgesinden toplanan çam ballarının C13 protein değerini % -23,7- 26,6 arasında C13 bal değerini % -22,7- 27 arasında bulmuştur. Bilimsel çalışmanın sonucuyla mevcut çalışmada kullanılan çam balının sonuçları arasında uyum olduğu görüldü. Sonuçlara göre, C13/C4 analizlerine göre balların hileleri tam olarak tespit edilememektedir. Bunun en önemli sebebi olarak Türkiye'de

şeker kamışı üretimi sınırlı sayıda olduğundan şeker üretiminde kullanılmamaktadır. Buda Türkiye’de üretilmekte olan balların tağışı tespitinde C13/C4 analizi çok uygun bir yöntem olmadığı sonucuna varıldı.

Balların nem içeriği, standart referans metot (TS 3036, 2002) ile refraktometre (Atago, Germany) kullanılarak balın kırılma indisine karşın % nem içeriği olarak belirlendi, balların nem içeriği sonucu Tablo 21’deki gibidir. Balın nem içeriği granülasyonu açısından çok önemlidir ve yüksek nem içeriğinin mikrobiyal bozunmaya hem de kristalizasyona neden olduğu bilinmektedir (Tosi vd., 2002). Nem miktarı balın toplandığı bölgenin coğrafik özelliklerine, ve hasat zamanı ve biçimine görede değişim gösterir (Persano Oddo ve Piro; Bogdanov vd., 2004).

Türk gıda kodeksinde (TSE) ve diğer kodekslere (CEU, IHC vb.) göre balda nem içeriği çiçek ve salğı balında en fazla % 20 olmalıdır. Standartlar bu ballara ait istisnaları belirtirken çiçek ballarından püren balında ve bu değerin en fazla % 23’e kadar çıkabileceğini ifade etmiştir. Marinova, (2008) Bulgaristan’a ait salğı ballarının nem içeriğini % 15,24- 17,88 olarak tespit etmiştir. Mevcut çalışmada da salğı balı olan çam ve meşe ballarının nem içeriği bilimsel çalışmada ki sonuçla uyum içersinde olduğu görüldü.

Mevcut çalışmada balların nem içerikleri % 17,00- 20,86 arasında değişim göstermekte olup, en yüksek nem içeriğine sahip balın püren balı olduğu tespit edildi. Püren balı nem oranı en yüksek ballardan biri olup ıhlamur, çam ve meşe ballarının nem oranları nispeten düşük bulundu. Literatüre göre de püren balı nem oranı yüksek ballardan biri olup çok akıcı ve fermantasyona karşı dayanıksız olarak nitelendirilmektedir (Castro-Vázquez vd., 2009). Benzer diğer bir çalışmada Escuredo vd. (2013) yapmış olduğu çalışmada kestane balının nem içeriği % 18,00 olarak bulmuş, mevcut çalışmada ise kestane balının nem içeriği % 19,70 olarak tespit edilmiştir. Alves vd. (2013) Portekiz ülkesine ait monofloral balların fiziksel özellikleri çalışmasında mevcut çalışmada da bulunan püren balının nem içeriğini % 17,8- 20,6 arasında iletkenliğini 0,41- 0,80 mS/cm olarak bulmuş, mevcut çalışmada da püren balının nem içeriğini % 20,86 olarak iletkenliğini 0,80 mS/cm olarak tespit edildi. Sonuçlarda uyumluluk olduğu gözlemlendi.

Elektriksel iletkenlik bir maddenin elektriksel akışı yani elektronların akışını taşıma yeteneğidir. Ballarda elektriksel iletkenliği esas olarak balın mineral madde içeriğine dayanmaktadır (Andrade vd., 1997; Ruoff 2006). Bal standartlara göre ballarda elektriksel iletkenlik değeri çiçek balı ve fırıncılık balında 0,8 milli Siemens /cm² den fazla olmamalıdır. Salğı balı ve kestane balında ise bu değerin en az 0,8 milli Siemens /cm²

olması gerektiği vurgulanmıştır. Balların elektriksel iletkenlik değerleri Tablo 21'deki gibidir.

Püren, kestane, meşe ve çam ballarında elektriksel iletkenlik değerleri diğer ballara göre 0,8 milli Siemens /cm²'nin üzerinde bulundu. Koyu renkli ballardan olan bu balların yüksek elektriksel iletkenlik değerleri yapılarında yer alan yüksek mineral madde ve fenolik madde miktarından kaynaklanmaktadır. Habib vd. (2014) yapmış olduğu çalışmada manuka ve akasya balının fiziksel ve kimyasal özellikleri tespiti çalışmasında manuka (*Leptospermum scoparium*) balının nem içeriğinin % 17,50 iletkenliğini 0,27 mS/cm olarak, akasya balının nem içeriği % 20,60 iletkenliği 0,34 mS/cm olarak bulunmuştur. Mevcut çalışmada ise süper manuka balının nem içeriği % 19,08 iletkenliği ise 0,68 mS/cm olarak akasya balının ise nem içeriği % 20,80, iletkenliği 0,20 mS/cm olarak tespit edildi. Süper manuka balının nem içeriğinin yüksek çıkması mineral madde ve fenolik madde içeriğinin miktarının fazlalığından kaynaklanmaktadır.

Lazarevic vd. (2012) Sırbistan'a ait 3 tane monofloral bal olan akasya, ıhlamur ve ayçiçeği ballarının fizikokimyasal özelliklerini incelemiştir. Ballarının nem ve iletkenlik sonuçları sırasıyla akasya % 16,12 ve 0,14 mS/cm, ıhlamur % 17,35 ve 0,67 mS/cm, ayçiçeği % 17,95 ve 0,48 mS/cm olarak bulunmuştur. Bu bilimsel çalışma ile mevcut çalışmada yer alan aynı tür ballarının nem ve iletkenlik sonuçları ile kıyaslandığında var olan küçük farklılığın, balların temin edildiği bölgelerin orjin farklılığından kaynaklandığı sonucuna varıldı. Benzer başka bir çalışmada da Karabagias vd. (2014) Yunanistan ülkesindeki çam balının iletkenliğini 1,103 mS/cm olarak bulmuştur. Bilimsel çalışma ile mevcut çalışmanın aynı türe ait olan baldaki sonuçlara bakıldığında uyum içersinde olduğu görüldü.

Bal, mono ve oligosakkaritler asimetrik karbon atomu içerdikleri için optikçe aktiftir. Başka bir ifadeyle polarize ışığı sağa (+) veya sola (-) doğru çevirebilmektedir. Balın polarize ışığı çevirme açısı olan α -rotasyon değeri bal tipine göre değişim göstermektedir. Salgı balları pozitif rotasyona sahipken çiçek balları negatif rotasyona sahiptir (Berretta vd., 2005; White, 1989). Balların optik çevirme açısı sonucu Tablo 21'deki gibidir. Bir salgı balı olan çam balı pozitif bir değere sahipken yine bir salgı balı olan meşe balında optik çevirme açısı negatif değere sahip olduğu tespit edildi. Bunun nedeni palinolojik analizi sonucu meşe balında çiçek polenlerinin varlığı bize meşe balına çiçek nektarlarının da karıştığının ve bunun saf meşe olmadığının ancak ağırlıkça meşe balı

olduğunu göstermektedir. Geri kalan tüm ballar ise optik rotasyonlarının negatif değer çıkması onların çiçek balı olduğunu göstermektedir.

Balın diğer bir özelliğide rengidir. Bala renk veren maddeler klorofil, karoten, ksantofil ve bileşimi bilinmeyen sarı ve yeşil rengi meydana getiren bitki pigmentidir. Balların renk sonuçları Tablo 21'deki gibidir. Balların renk değerlerindeki farklılık aroma ve tat gibi özellikleri, iklim, üretim koşulları ve floral kaynağına bağlı olarak değişim gösterir (Anupama vd., 2003). Koyu renkli olan ballarda L değeri açık renkli olanlara göre daha düşük olduğu tespit edildi.

Balda bulunan prolin, nektarın bala dönüşmesi sırasında temel olarak arı tarafından bala katılan aminoasit olup toplam aminoasitlerinin %50- 85'ini oluşturmaktadır (Hermosin vd., 2003). Çalışmada balların prolin değeri 228,42- 845,44 mg/kg arasında değişim göstermektedir. Sonuç Tablo 23'deki gibidir. Çalışmada ise prolin değeri açısından en yüksek değer püren balında ve bu değer $845,44 \pm 42,16$ mg/kg olarak bulundu. Manzanares vd. (2014) monofloral ballarının fizikokimyasal özellikleriyle ilgili çalışmada püren balının prolin değeri $741 \pm 1,71$ mg/kg olarak tespit edilmiştir. Truzzi vd. (2014) yapmış olduğu değişik türdeki monofloral ballarda prolin miktarı tespit edilmiş olup, bu balların prolin değerleri sırasıyla akasya balının 229 mg/kg, kestane balının 619 mg/kg, ıhlamur balının 388 mg/kg ve ayçiçeği balının 665 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada ise ayçiçeği balının prolin miktarı 455,53 mg/kg olarak, ıhlamur balının ise prolin miktarı 513,5 mg/kg olarak bulundu. Başka bir bilimsel çalışma Hermosin vd. (2003) farklı balların serbest aminoasit bileşimini belirlemesi ile ilgili çalışmada mevcut çalışmada da yer alan lavanta balının prolin miktarını 55,6 mg/100g olarak belirlemiş, çalışmada da lavanta balının prolin miktarını bilimsel çalışma ile uyum içinde olduğu görüldü.

Hidroksimetil furfural nektarın olgunlaşması sırasında şekerler ve aminoasitler arasında meydana gelen reaksiyon sonucu oluşur. Özellikle baldaki kristallenmeyi önlemek için ya da balı peteklerden süzme işlemi sırasında yüksek sıcaklık uygulaması sonucunda HMF miktarı yükselmekte bunu akabinde ise diastaz aktivitesi düşmektedir. Balda bulunan diastaz doğal bir enzim olup, balın coğrafyasına bitki orjinine göre değişmektedir (Gomes vd., 2010). Balın orjinin farklılığına göre diastaz aktivitesi ve iletkenliği değişim göstermektedir (Escriche vd., 2011). Ayrıca depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak da balın diastaz aktivitesi azalırken HMF miktarı artmaktadır (Tosi, 2002). Çalışmada balların HMF değerleri 0,61- 80,24 mg/kg arasında değişim göstermektedir (Tablo 23). Türk Gıda

Kodeksi Bal Tebliğine göre balların HMF değeri 40 mg/kg üstünde olmaması gerekir. Yapılan çalışmada sadece püren balında HMF değerinin standartların üstünde tespit edildi. Bunun sebebi püren ballarının 1 yıldan daha fazla bekletilmiş ballar olduğundan HMF değeri standartların üstünde tespit edildi. Diastaz aktivitesi ise beklenenin altında bundu. Bunun sebebi püren ballarının ya ısıtılma maruz kaldığı veya uzun süre bekletildiği için diastaz azalmış ve HMF miktarı yüksek olarak bulundu. Avrupa Birliği direktifleri ve Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre balın diastaz aktivitesi, 8 birim düzeyinden daha az olmamalıdır. Balda diastaz aktivitesinin azalması gibi, çok yüksek düzeyde bulunması da istenmeyen bir durumdur. Balda yüksek düzeyde diastaz bulunması yüksek asit oluşumuna dolayısıyla fermantasyona yol açabilmektedir (Crane, 1975). Haroun, (2006) çam ballarının diastaz aktivitesini 8,5- 13,85 arasında tespit etmiş, mevcut çalışmada da çam balının diastaz aktivite sonucu bu çalışma ile uyum içinde olduğu görüldü. Yapılan çalışmada süper manuka balının diastaz aktivitesi 2,0 bulundu. Balın tazeliği, depolama koşulları veya işletme sıcaklığı balın diastaz aktivitesinde değişim göstermektedir. Diastaz aktivite ve HMF değeri arasında negatif bir korelasyon gözlemlendi (Tablo 31).

Tablo 31. Bal örneklerin DU ve HMF değeri arasındaki korelasyon

		HMF	DU
HMF	Pearson Korelasyon	1	-0,348
	Anlamlılık (2yön)		0,204
	N	15	15
DU	Pearson Korelasyon	-0,348	1
	Anlamlılık (2yön)	0,204	
	N	15	15

** 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Besin değerinin belirlenmesi açısından mineral bileşiminin belirlenmesi önemli bir yer teşkil etmektedir (Alves, 2013). Balda mineral madde miktarı % 0,02- % 1,0 arasında değişim göstermektedir. Bal içersinde en fazla potasyum, kalsiyum, fosfor de daha az miktarlarda da sodyum, klor, kükürt, magnezyum, silis, mangan, bakır, iyot, demir ve çinko bulunmaktadır. Yapılan çalışmada koyu renkli olan balların açık renkli olanlara göre mineral madde miktarı daha fazla olduğu bulundu. Kestane, püren, meşe, süper manuka ve manuka ballarının potasyum miktarı açık renkli olan karışık, akasya, lavanta, çalba ve geven ballarından daha yüksek olduğu tespit edildi. Balların mineral madde miktarı ile

balların F/G oranı arasında korelasyon olduğu tespit edildi. Kalsiyum miktarı ile F/G oranı arasındaki korelasyon diğer minerallerden daha yüksek bulundu (Tablo 32).

Tablo 32. Bal örneklerin F/G oranı ile K, Ca, Mg ve Na değerleri arasındaki korelasyon

		F/G	K	Ca	Mg	Na
F/G	Pearson					
	Korelasyon	1	0,243	0,332	0,104	0,256
	Anlamlılık (2-yön)		0,383	0,227	0,713	0,358
	N	15	15	15	15	15
K	Pearson					
	Korelasyon	0,243	1	0,856(**)	-0,229	0,529(*)
	Anlamlılık(2-yön)	0,383		0,000	0,411	0,042
	N	15	15	15	15	15
Ca	Pearson					
	Korelasyon	0,332	,856(**)	1	-0,201	0,282
	Anlamlılık (2-yön)	0,227	0,000		0,473	0,308
	N	15	15	15	15	15
Mg	Pearson					
	Korelasyon	0,104	-0,229	-0,201	1	-0,479
	Anlamlılık(2-yön)	0,713	0,411	0,473		0,071
	N	15	15	15	15	15
Na	Pearson					
	Korelasyon	0,256	0,529(*)	0,282	-0,479	1
	Anlamlılık(2-yön)	0,358	0,042	0,308	0,071	
	N	15	15	15	15	15

** 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

* 0,05 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Vanhanen vd. (2011) monofloral Yeni Zelanda manuka balının mineral analizi çalışmasında manuka balının total mineral içeriği $1470 \pm 79,7$ mg/kg olarak bulunmuş, total mineral içeriğin % 73'ünü potasyum minerali içerdiği tespit etmiştir. Mevcut çalışmada ise süper manuka balının K içeriği 485,1 mg/kg olarak bulunup, total mineral içeriğin ise % 56,09 oluşturduğu bulundu. Bunun sebebi çalışmada kullanılan manuka balının UMF değerinin düşük olmasından dolayı mineral miktarı açısından daha düşük değere sahip olduğu kanıtına varıldı. Başka bir çalışmada Bilandzić vd. (2014) ise kestane balında K miktarını 2824,4, Ca 486,7, Mg 59,1mg/kg olarak en düşük mineral olarak As 24,1 ve Cd 2,52 mg/kg bulmuş, mevcut çalışmada ise kestane balının K 1947, Ca 749,21, Mg 32,96 mg/kg olarak bulundu. Yayınlamış olduğu bu bilimsel veri, mevcut tez çalışmasının mineral miktarları arasında yakın sonuçlar bulunduğu görülmüştür. Balların mineral miktarı ile iletkenliği arasında güçlü bir korelasyon tespit edildi. Özellikle K ve Ca

minerallerinin iletkenlik değeri arasındaki korelasyonun Na mineralinkinden daha yüksek olduğu bulundu (Tablo 33).

Tablo 33. Bal örneklerinin iletkenliği ile K, Ca ve Na mineralleri arasındaki korelasyon

		İletkenlik	K	Ca	Na
İletkenlik	Pearson Korelasyon	1	0,730(**)	0,721(**)	0,293
	Anlamlılık (2-yön)		0,002	0,002	0,289
	N	15	15	15	15
K	Pearson Korelasyon	0,730(**)	1	0,856(**)	0,529(*)
	Anlamlılık (2-yön)	0,002		0,000	0,042
	N	15	15	15	15
Ca	Pearson Korelasyon	0,721(**)	0,856(**)	1	0,282
	Anlamlılık (2-yön)	0,002	0,000		0,308
	N	15	15	15	15
Na	Pearson Korelasyon	0,293	0,529(*)	0,282	1
	Anlamlılık (2-yön)	0,289	0,042	0,08	
	N	15	15	15	15

** 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

* 0,05 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Bal karbohidratlı bir madde olarak katı maddesinin % 95’ni şekerler oluşturmaktadır. Balda genel olarak şekerlerin % 70’i monosakkarit türleri, % 10- 15’i disakkaritler ve geri kalanını ise oligosakkaritler oluşturmaktadır (Ouchemoukh vd., 2010). Çalışmada 10 tane standart şeker kullanıldı. Yapılan çalışmada tüm bal çeşitlerinin fruktoz miktarının glukoz miktarından yüksek bulunması literatürle uyumludur (Cavia vd., 2002; Devillers vd., 2004). Yapılan çalışmada sadece tek bir kestane balında riboz şekeri % 0,14 olarak tespit edilirken diğer hiçbir bal örneğinde riboz şekere rastlanmadı. Escuredo vd. (2014) monofloral balların şeker bileşenleri belirlenmesi çalışmasında F/G oranı kestane, püren ballarının ayçiçeği ve ıhlamur balından daha yüksek olduğu bulunmuş (Tablo 25). Koyu renkli ballarının F/G oranı 1,4’den büyük olduğu tespit edilmiş. F/G oranı düşük olan balların daha hızlı kristalize olmasına neden olduğu bildirilmektedir. Çalışmada kestane, püren, üçgül, çalba, meşe ballarının F/G oranı diğer ballara göre oldukça yüksek bulundu. Bu çalışma sonuçlarına göre ve literatürde yapılan diğer çalışmalardan elde edilen bilgilerden balın rengi (L, a, b) değeri ile F/G oranı arasında negatif güçlü bir korelasyon olduğu görüldü (Tablo 34).

Tablo 34. Bal örneklerinin F/G oranı ile Hunter (L, a, b) değerleri arasındaki korelasyon

		F/G	L renk	a	b
F/G	Pearson Korelasyon	1	-0,734(**)	0,130	-0,021
	Anlamlılık (2-yön)		0,002	0,644	0,941
	N	15	15	15	15
L	Pearson Korelasyon	-0,734(**)	1	-0,139	0,327
	Anlamlılık (2-yön)	0,002		0,620	0,235
	N	15	15	15	15
a	Pearson Korelasyon	0,130	-0,139	1	0,317
	Anlamlılık (2-yön)	0,644	0,620		0,249
	N	15	15	15	15
b	Pearson Korelasyon	-0,021	0,327	0,317	1
	Anlamlılık (2-yön)	0,941	0,235	0,249	
	N	15	15	15	15

** 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Fruktoz ve glukoz balın temel monosakkaritleri olup şimdiye kadar balda tespit edilen diğer şeker türleri sukroz, maltoz, arabinoz, isomaltoz, turanoz, kojibioz, trihaloz, nigeroz, melibioz, maltuloz, gentiobioz, maltoz, isomaltoz, kojibioz, turanoz, palatinoz, laminaribioz, melesitoz, izomaltotrioz, erler, tiandroz, maltotrioz, ksetoz, sellobioz ve riboz şimdiye kadar balda tespit edilen şekerlerdir (Bogdanov vd., 2009; White, 1975; Kaškonienė vd., 2010). Bir başka çalışmada Weston, (1999) Yeni Zelanda balı olan manuka, püren ve yonca ballarının HPAEC-PAD (Darbeli Amperometrik Algılama ile Yüksek Performanslı Anyon Değişim Kromatografisi) kullanılarak olisakkarit bileşenleri belirlemesinde manuka ve yonca balında maltoz, izomaltoz, turanoz, kojibioz ve nigeroz major bileşen olarak belirlenirken, püren balında ise izomaltoz major bileşen olarak belirlemiştir.

Ouchemoukh vd. (2010) Cezayir ülkesinin farklı bölgesinden tek floralı 11 farklı türden 25 adet balın HPAEC-PAD kullanılarak şeker bileşimini incelediler ve fruktoz oranı % 35,99- 42,57 arasında glukoz oranının % 24,63- 35,06 arasında, melebioz ise hiçbir balda gözlenememişken, melezitoz çok düşük oranlarda bulunduğunu gözlemlediler.

Balın ikinci ana bileşeni glukoz olup baldaki glukoz miktarı diğer bileşenler gibi nektara bağlı olup ballardaki miktarı 25 ile 42 mg/100 g arasında değişim göstermektedir. Glukoz oda sıcaklığında kristallenmeye meyilli bir bileşik olup balın kristallenmesinden sorumludur (Anklam, 1998). Escuredo vd. (2014) akasya balının fruktoz oranını % 42,3 glukoz oranını % 29,8 olarak maltoz % 1,8 olarak, melezitozu ise gözlemlenememiş olarak

tespit edilmiş, mevcut çalışmada da akasya balının fruktoz, glukoz, maltoz ve melezitoz oranı sonuçları bilimsel çalışma ile uyum göstermektedir.

Bitkilerin çoğu çok geniş çapta polifenol ve flavonoid içermektedir ve her bitki türü tipik fenolik profile sahiptir. Polifenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve tipi balların floral orjiniyle alakalı olup, antioksidan, antimikrobiyal, antiviral ve antikanser aktiviteleri gibi birçok aktivitelerden sorumlu ana faktörlerdir. Bu çalışmada antioksidan kapasiteyi belirlemek için balların metanolik ekstraktları hazırlanarak spektrofotometrik *in vitro* antioksidan analizleri için Toplam Polifenol, Toplam Flavonoid, FRAP, DPPH radikal temizleme ve aktivite testleri uygulandı. Bal örneklerinin antioksidan korelasyon tablosu Tablo 39'daki gibidir. Numune ekstraktlarının, Toplam Polifenol ile FRAP testlerindeki uyumlu artış-azalışı Tablo 34'deki korelasyon tablosunda gösterilmektedir. Balların TP madde miktarı 25,53-145,65 mgGAE/100 g olarak değişim göstermektedir (Tablo 29).

Tablo 35. Bal örneklerin TP ve FRAP korelasyonu

		TP	Frap
TP	Pearson Korelasyon	1	0,843(**)
	Anlamlılık (2-yön)		0,000
	N	15	15
Frap	Pearson Korelasyon	0,843(**)	1
	Anlamlılık (2-yön)	0,000	
	N	15	15

** Korelasyon 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Metanolik bal ekstraktlarındaki Toplam Polifenol ve FRAP arasındaki güçlü bir korelasyonu ($R^2=0,843$, $p<0,01$) oluşturan sonuçlar literatürdeki çalışmalarla desteklendi. farklı bal gruplarının toplam fenolik madde miktarında farklılıklar gözlemlendi. Ferreira vd. (2009) koyu renkli balların püren gibi TP madde miktarını 727,77 mg GAE/kg açık renkli olan biberiye balının ise 226, 16 mg GAE/kg bularak koyu renkli olan balların açık renkli olanlara göre daha yüksek fenolik maddeye sahip olduğunu bildirmiş. Çalışmada da koyu renge sahip olan balların yüksek fenolik içerdiği bulundu. Yapılan bir başka çalışmada kestane ballarının toplam fenolik madde miktarının 33,37- 77,40 mg GAE/100 g arasında olduğu bulunmuş (Haroun, 2006). Alves vd. (2013) püren balının TP madde miktarını 1150,6 -1398,1 mg GAE/kg olarak bulmuş, çalışmamızdaki gibi püren balının yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu görülmektedir. Bu değerler çalışma bulgularımızla paralellik

göstermektedir. Escuredo vd. (2013) püren balı ve kestane ballarının TP madde miktarı kestane balında 131,8 mg/100 g numune, püren balında ise 181,0 mg /100 g numune olarak TF madde miktarını ise kestane balında 7,6 mg /100 g numune, püren balında 4,3 mg/100 g numune olarak bulmuş, mevcut çalışmayla kıyaslandığında sonuçlarda yakınlık olduğu görüldü.

Çalıştığımız balların toplam flavonoid miktarlarının oldukça değişkenlik gösterdiği ve 0,52- 16,83 mg QE/100 g arasında değişim gösterdiği bulundu. En yüksek TF madde miktarının süper Manuka balında olduğu tespit edildi. Chan vd. (2013) Yeni Zelanda Manuka (*L. scoparium*) balının total flavonoid madde miktarını 1,16 mg/100 g olarak bulmuş, flavonoid bileşenler luteolin, krisin, pinobanksin ve pinocembrin toplam flavonoid miktarının % 61'ini oluşturduğunu tespit etmiştir. Çalışmadaki manuka balının toplam flavonoid miktarını 8,4 mg/100 g olarak bulundu. Bilimsel çalışma ile mevcut çalışma arasında ki farklılık olduğu ve bu farklılığında balın UMF değerlerinden kaynaklandığı sonucuna varıldı. Benzer bir çalışmada da Akhmazillah vd. (2013) Yeni Zelanda Manuka (*L. scoparium*) balının total fenolik madde miktarını 63,85 mg GAE/ 100 g olarak bulmuş, çalışmamızdaki değer ile benzer olduğu görüldü. Balların TP madde miktarı ile TF madde miktarı arasındaki korelasyonun çok yüksek seviyede (Tablo 36) görüldü.

Ayçiçek ve akasya balları toplam fenolik madde miktarlarının çalışılan diğer ballardan nispeten düşük olmalarına rağmen bu balların flavanoid içerikleri püren balından daha yüksek bulundu.

Tablo 36. Bal örneklerin TP ve TF korelasyonu

		TP	TF
TP	Pearson Korelasyon	1	0,810(**)
	Anlamlılık (2-yön)		0,000
	N	15	15
TF	Pearson Korelasyon	0,810(**)	1
	Anlamlılık (2-yön)	0,000	
	N	15	15

** Korelasyon 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Alzahrani vd. (2012) Yeni Zelanda Manuka (*Leptospermum scoparium*) balının TP madde miktarını 89,9 mg GAE/100 g olarak bulmuş, mevcut çalışmada manuka balının TP madde miktarını 66,35 mg GAE/100 g olarak bulundu. Al vd. (2009) ıhlamur, ayçiçeği ve

karışık çiçek ballarının biyoaktivite çalışmasında TP madde miktarını ıhlamurda 38,00 ayçiçeği 45,00 karışık çiçek balında ise 23,00 mg GAE/100g olarak bulmuş, yapılan çalışmada da aynı türe ait olan ballarda ıhlamur 41,20 ayçiçeği 43,57 mg GAE/100 g olarak bulundu. Bilimsel çalışma ile yapılan çalışmada sonuçlar bakımından yakınlık olduğu görüldü. Benzer bir çalışma Alves vd. (2013) bazı monofloral olan balların antioksidan aktiviteleri belirleme çalışmasında farklı bölgelerden temin edilen monofloral ballarda biberiye ve portakal balının en düşük TP madde miktarı içerdiği, diğer monofloral bal olarak kocayemiş, keçiboynuzu ve püren balının yüksek TP madde miktarı içerdiği bulunmuş olup, püren ballarının TP madde miktarı 1150,6-1398,1 mg GAE/kg olarak tespit etmiştir. Escuredo vd. (2013) püren balı, kestane ballarının TP madde miktarı kestane balında 131,8 mg/100 g numune, püren balında ise 181,0 mg /100 g numune olarak TF madde miktarını ise kestane balında 7,6 mg /100 g numune, püren balında 4,3 mg/100 g numune olarak bulmuş, mevcut çalışmayla kıyaslandığında sonuçlarda yakınlık olduğu görüldü.

Kishorea vd. (2011) Malezya Tualang balı ile Gelam, Hint orman balı ve ananas balının antioksidan kapasiteleri yönünden karşılaştırması çalışmasında Tualang balının diğer ballara göre oldukça yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu, TP madde içeriği 83,96 mgGAE/100 g numune ve TF madde içeriği 50,45 mgGAE/100 g numune olarak, FRAP $\mu\text{molFe}^{+2} \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100$ g numunede 121,89 olarak ve DPPH aktivitesini 5,80 mg/mL olarak bulmuştur.

Bala dair antioksidan içeriğinin belirlenmesinde birçok yöntem olup, en yaygın kullanılan ve çalışmada da tercih edilen FRAP metodudur. Balların FRAP sonuçları 0,64-4,62 $\mu\text{molFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ arasında değişim göstermektedir. En yüksek değer süper manuka balında, en düşük değer ise üçgül balında bulundu. Kus' vd., (2014) bazı maonofloral ballarının biyoaktiviteleri belirlenmesi çalışmasında ıhlamur balının Frap değeri 1,4 $\text{mmolFe}^{+2}/\text{kg}$, püren balının 2,1 $\text{mmolFe}^{+2}/\text{kg}$ olarak bulmuş, çalışmada ıhlamur balının 0,87 püren balının ise 1,35 $\mu\text{molFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ olarak bulundu.

DPPH radikal temizleme aktivitesi testinin çalışılan bal ekstraktları açısından değerlendirilmesinde TP ile arasında negatif korelasyon $R^2 = -0,7$ TF ile arasında negatif korelasyon $R^2 = -0,43$ olarak bulundu (Tablo 37 ve 38). DPPH testinde en yüksek aktiviteye süper manuka balında bulunurken, en düşük aktiviteye ise akasya balında bulundu. Balların DPPH sonuçları %50 inhibisyon konsantrasyonu (SC_{50}) birimiyle sonuçlandırılan çalışmada sonuçlar; DPPH testinde 21,02- 180,12 mg/mL olarak ifade

edildi. Escuredo vd. (2013) yapmış olduğu antioksidan aktivite çalışmasında kestane balının SC₅₀ değerini 9,5 mg/mL olarak, püren balının SC₅₀ değerini 11,5 mg/mL olarak tespit etmiştir. Bu sonuçlar mevcut çalışmanın DPPH sonuçlarını desteklediği görüldü. Benzer bir çalışma Estevinho vd. (2008) açık ve koyu renkli balların antioksidan aktivite çalışmasında koyu renkli olan balların açık renkli olanlar göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu gözlemlenmiştir.

Tablo 37. Bal örneklerin TP ve DPPH korelasyonu

		TP	DPPH
TP	Pearson Korelasyon	1	-0,735(**)
	Anlamlılık (2-yön)		0,002
	N	15	15
DPPH	Pearson Korelasyon	-0,735(**)	1
	Anlamlılık (2-yön)	0,002	
	N	15	15

** Korelasyon 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Tablo 38. Bal örneklerin TF ve DPPH korelasyonu

		TF	DPPH
TF	Pearson Korelasyon	1	-0,432
	Anlamlılık(2-yön)		0,108
	N	15	15
DPPH	Pearson Korelasyon	-0,432	1
	Anlamlılık (2-yön)	0,108	
	N	15	15

** Korelasyon 0,01 düzeyinde korelasyon önemlidir (2-yön)

Tablo 39. Bal örneklerin antioksidan korelasyon tablosu

	TP	FRAP	DPPH	TF
TP	1,0	0,8	-0,7	0,8
FRAP	0,8	1,0	-0,7	0,7
DPPH	-0,7	-0,7	1,0	-0,
TF	0,8	0,7	-0,4	1,0

Aynı zamanda balların *L*, *a*, *b* renk değerleri ile toplam polifenol, FRAP ve DPPH arasındaki korelasyona bakıldı (Tablo 40). Düşük *L* değeri balın koyuluğunu yansıtırken,

koyu renkli balların antioksidanca daha etkili olduğu istatistiki olarak Tablo 40'da görülmektedir. Wilczyńska, (2014) ve Kuś vd. (2014) bazı monofloral balların renk değerleriyle fenolik madde miktarı arasındaki ilişkiyi incelemiş, çalışmamıza benzer sonuçlar bulmuşlar.

Tablo 40. Bal örneklerin L, a, b renk değerleri ile TP, FRAP ve DPPH korelasyonu

		TP	DPPH	FRAP	L	a	b
TP	Pearson Korelasyon	1	-0,735(**)	0,843(**)	-0,736(**)	0,673(**)	0,490
	Anlamlılık (2-tailed)		0,002	0,000	0,002	0,006	0,064
	N	15	15	15	15	15	15
DPPH	Pearson Korelasyon	-0,735(**)	1	-0,673(**)	0,705(**)	-0,630(*)	-0,517(*)
	Anlamlılık (2-tailed)	0,002		0,006	0,003	0,012	0,049
	N	15	15	15	15	15	15
FRAP	Pearson Korelasyon	0,843(**)	-0,673(**)	1	-0,652(**)	0,662(**)	0,490
	Anlamlılık (2-tailed)	0,000	0,006		0,008	0,007	0,064
	N	15	15	15	15	15	15
L *	Pearson Korelasyon	-0,736(**)	0,705(**)	-0,652(**)	1	-0,762(**)	0,649(**)
	Anlamlılık (2-tailed)	0,002	0,003	,008		0,001	0,009
	N	15	15	15	15	15	15
a *	Pearson Korelasyon	0,673(**)	-0,630(*)	0,662(**)	-0,762(**)	1	0,481
	Anlamlılık (2-tailed)	0,006	0,012	0,007	0,001		0,069
	N	15	15	15	15	15	15
b *	Pearson Korelasyon	0,490	-0,517(*)	0,490	-0,649(**)	0,481	1
	Anlamlılık (2-tailed)	0,064	0,049	0,064	0,009	0,069	
	N	15	15	15	15	15	15

**Korelasyon 0,01 düzeyinde önemlidir (2-yön)

* Korelasyon 0.05 düzeyinde önemlidir (2-yön)

Balların antioksidan özelliklerinden sorumlu bileşenlerin başında fenolik bileşikler yer almaktadır (Silici vd., 2013, Santos-Buelga vd., 2012). Çalışmada 18 farklı fenolik bileşen standardı kullanarak HPLC-RP-UV ile 280 ve 315 nm dedeksiyonlarında analizler yapıldı (Şekil 12-13).

Çalışmada iki farklı manuka balına türüne ait balların analizi yapıldı ve bu iki balın fenolik bileşenlerinin farklı olduğu bulundu (Tablo 27-28). Süper Manuka balının major bileşen olarak şiringik asit 61,61 µg/g bulunurken Manuka balında *p*-OH benzoik asit bulundu. Oysa süper Manuka balında *p*-OH benzoik asit tespit edilemedi. Benzer biçimde klorojenik asit süper Manuka balında oldukça yüksek seviyede bulunurken, Manuka balında tespit edilemedi. Bu sonuçlar bize Manuka balının fenolik kompozisyonunun Manuka türleri arasındaki farklılıklara ve balın üretildiği bölgenin coğrafik özelliklerine bağlı

olarak değiştiğini göstermektedir. Yeni Zelanda Manuka balında kaffeik asit, şiringik asit, metil şiringat, sinnamik asit, pinobanksin, pinokembrin, krisin ve galangin gibi fenolik bileşikler içerdiği ve metil şiringatın ise tek başına bu balın fenolik içeriğinin %70'i oluşturduğu bildirilmektedir (Weston vd. (1999b); Weston vd., 2000). Fenolik bileşim yönünden süper manuka balına en yakın Türk balının akasya balı olduğu ve şiringik asit miktarının akasya balında 17,14 $\mu\text{g/g}$ ve süper Manuka balında 61,61 $\mu\text{g/g}$ olarak bulundu. Stephens vd. (2010) Yeni Zelanda Manuka balı (*Leptospermum scoparium*) ve Kanuka (*Kunzea ericoides*) balının LC-MS/MS ile balların feneolik içeriği belirlenmiş, iki balda da yaygın olarak bulunan fenolik bileşen fenil laktik asit, metil şiringat, metoksi benzoik asit ve şiringik asit bileşenleri tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada şiringik asit bileşeni süper manuka balında major bileşen olarak bulunarak, bilimsel çalışma ile paralellik gösterdiği görüldü. Wilkins vd. (1993) Yeni Zelanda manuka balı (*L. scoparium*) fenolik bileşeni fenillaktik asit (2- hidroksi-3-fenilpropanoik asit) ve metil şiringatın (metil 4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzoat) major bileşenler olarak tespit etmiştir.

Andrade vd. (1997b) kapiler zon elektroforez tekniği kullanılarak farklı bitiksel kaynaklı Avrupa ballarının flavonoid profili belirlemiş ve çalışmada kestane balının fenolik açısından oldukça zengin olup, *p*-OH benzoik asit, protokatekuik asit, klorejenik asit, kaffeik asit, şiringik asit, *p*-kumarik asit, sinnamik ve ferulik asit içerdiğini tespit etmiştir. Bu değerlerin çalışmamızla paralellik gösterdiği görülmektedir. Benzer bir çalışmada Kenjerić vd. (2007) Hırvat akasya balının yıl farklılığına göre flavonoid bileşeni belirleme çalışmasında 6 tane flavonoid belirlemiş, apigenin, kaemferol, luteolin, krisin ve kuersetin tespit etmiş, mevcut çalışmada da bulunan akasya balında apigenin ve kaemferol bileşenleri tespit edildi.

Birer salgı balı olarak nitelendirilen am ve meşe ballarına ortak fenolik bileşen olarak protokatekuik, *p*-OH benzoik asit, kaffeik aist ve kumarik asit olduğu bulundu. Benzer bir çalışmada salgı ballarında protokateuik asit fenoliğinin miktarını 163,86 - 598,64 $\mu\text{g/ 100 g}$ numune olarak tespit edilmiştir (Haroun, 2006). Mevcut alışma ile bilimsel çalışma arasında sonuçlarda paralellik gözlemlendi.

Tomas- Barberan vd. (2001) ayçiçeği balında kuersetinin tanımlayıcı olduğunu bildirmiş olup, bu çalışmada kuersetin flavonoidine ilaveten kaempferol'inde önemli bir parametre olduğu görülmektedir. Sergiel vd. (2014) farklı monofloral balların LC-Tandem-MS ile 14 adet fenolik bileşenden püren balının major flavonoidinin kuersetin ve major

fenolik asidin *p*- OH benzoik asit olarak belirlenmişler. Bu çalışma verileri ile çalışmamızdaki püren balı fenolik markerlerinin benzer olduğu göze çarpmaktadır.

Karabagias vd. (2014) Yunanistan ülkesine ait bazı monofloral balların fenolik bileşenleri ile fiziksel özelliklerinin belirlenmesini amaçlamıştır. Bilimsel çalışmada monofloral olarak kullanılan ve tezde de mevcut olan çam balının fenolik içeriği bakımından kuersetin, şiringik asit, kaemferol, krisin ve myrisetin bileşenlerini tespit etmiş, mevcut çalışmada da aynı fenolik bileşenlerin yanı sıra diğer fenolik bileşenlerde çam balında tespit edildi.

Balın antimikrobiyal aktivitesi onun asitliğine pH'sına, osmotik basıncına, glukoz oksidaz aracılığıyla ile enzimatik olarak hidrojen peroksit üretimine ve peroksit olmayan bileşenlere bağlıdır. Nonperoksit antimikrobiyal ajanlar olarak başta fenolik bileşenler olmak üzere, fitoteroidler, Maillard Reaksiyonu ürünleri (HMF), ve pek çok organik asit yer almaktadır.

Yapılan bu çalışmada balların non-peroksit antimikrobiyal aktiviteleri yönünden, yani sadece balların bileşiklerinden kaynaklanan antimikrobiyal aktiviteler araştırıldı. Tablo 30'da mm-zone büyüklükleri verilen çalışma sonuçlarına göre çalışmada yer alan tüm ballar farklı oranlarda 10 değişik suş üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiler. *E.coli* üzerinde en yüksek aktiviteyi akasya balı gösterirken onu lavanta, meşe, püren balı takip etti. *Proteus vulgaris* üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi çalba balı gösterirken, çam, akasya ve kestane balı takip ettiği bulundu. *P. vulgaris*, gram-negatif bir bakteri olup daha çok idrar yolu enfeksiyonlarına yol açan bir bakteridir. Kestane, püren, ayçiçeği, lavanta, çam, akasya, üçgül, çalba, geven ve karışık balları tüm bakteri türlerine karşı aktivite gösterirken, meşe, manuka, süper manuka, hayıt balları bazı bakterilere karşı aktivite göstermedikleri tespit edildi (Tablo 30). Küçük vd. (2007) aynı bölgeye ait 3 farklı balın biyolojik aktivitesi ve kimyasal bileşimini tespiti ile ilgili olan çalışmasında çalışmada da yer alan kestane balının antimikrobiyal aktivitesinde *S. aureus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiş, mevcut çalışmada kullanılan aynı tür balında bu bakterilere karşı gösterdiği gözlemlendi.

Yeni Zelanda Manuka (*Leptospermum scoparium*) balı yapısında hidrojen peroksit bulunmadığı halde antimikrobiyal özellik gösteren bir baldır (Snow; Manley-Harris, 2004). Hidrojen peroksit içermeyen bu balın özellikle *S. aureus* ve *M. luteus* bakteri cinsine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiş. Mevcut çalışmada ise aynı tür balın *M.luteus* bakterisine karşı aktivite gözlemlenirken, diğer bakteri türüne karşı aktivite tespit edilmedi.

Benzer bir çalışma Lee vd. (2008) Yeni Zelanda Manuka balının antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş *B. subtilis* ATCC 6633 ve *B. cereus* F4552 bu bakteri türlerine karşı aktivite gözlemlenmiş, mevcut çalışmada da manuka balının *B. subtilis* bakterisine karşı yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi. Balların antimikrobiyal aktivite değerleri literatüre göre biraz düşük bulunmasının sebebi olarak, balların metanolik ekstraktların da antimikrobiyal aktiviteye bakıldı, dolayısıyla buda sadece fenolik bileşenlerden kaynaklanan antimikrobiyal aktivite gösterdiği sonucuna varıldı.

Çalışılan ballar içinde akasya balı en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip bal olarak tespit edidli. Akasya balının fenolik bileşimi diğer ballardan daha düşük bulunmasına rağmen, yüksek antimikrobiyal aktivitesinin kaynağı, yapısında bulunan şiringik asit ve falavanoidlerin türünden (apigenin, izoramnetin ve kamferol) den ileri gelebilir. Nitekim akasya balının apiterapik bir bal olduğu ve özellikle çeşitli sebeplerle ortaya çıkmış olan yaraların (yatak yarası) iyileşmesinde manuka balı kadar etkili olduğu bilimsel çalışmalarda bildirilmiştir (Havsteen, 2002; D'Arcy, 2005; Estevinho vd., 2008).

Lavanta balı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdi. Gram negatif bakteri *E.coli* gram pozitif *M. luteus* bakterilerine karşı yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi. Alvarez-Suarez vd. (2010) değişik türdeki monofloral Kuba balının iki tane gram pozitif ve iki tane gram negatif bakteriye karşı antimikrobiyal aktivitelerini incelemiş ve *S. aureus* bakterisine karşı en yüksek aktiviteye sahipken en düşük aktiviteye ise *P. aeruginosa* bakterisinde olduğunu bulunmuş. Mevcut çalışmada meşe balı ve manuka balının *P. aeruginosa* bakterisine karşı aktivite gözlemlenmedi. Benzer başka bir çalışmada da manuka balının *P. aeruginosa* bakterisine aktivite göstermediği bulunmuş (Cooper vd., 2000). Mevcut çalışmadaki sonuçlar bilimsel çalışma ile paralellik göstermektedir. Isla vd. (2011) Arjantin ülkesinin değişik türdeki monofloral (*Prosopis spp. and Citrus lemon*) balları ve karışık floralı balların fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri ile ilgili çalışmada balların, gram negatif bakterilere karşı, gram pozitif bakterilerden daha etkin olduğunu tespit etmiştir. Mevcut çalışmada da hayıt, geven, püren, lavanta, çam ve üçgül ballarının gram negatif bakterilere karşı etkin olduğunu tespit edildi. Başka bir çalışma Estevinho vd. (2008) Portekiz ülkesinin belirli bir bölgesinden arıcılar birliği tarafından temin edilen açık ve koyu renkli balların antimikrobiyal aktivite çalışmasında balların gram pozitif bakterinin gram negatif bakteriye karşı daha etkin olduğunu tespit etmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Türkiye zengin bitki örtüsünden dolayı, zengin bal çeşitliğine sahip bir ülkedir. Yılın üç mevsimi bal üretimi yapılmasına imkan sağlayan iklim ve floral çeşitliliği zengin apiterapik ürün varlığını ortaya koymaktadır. Yapılan bu doktora tezi ve projenin amacı Türkiye florasına ait bal çeşitliliği tanımak, özellikleri incelemek, apiterapik fonksiyonlarını ortaya çıkarabilmek ve dünyaya tanıtımlarını yapabilmektir. Bu çalışmada Türkiye'nin değişik bölgelerinden temin edilen, farklı bitkisel orjinli ballar ile iki farklı türdeki manuka balının biyoaktivite yönünden karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ana bal çeşidi olarak salgı ve çiçek ballarından oluşan toplamda 15 farklı türde bal numunesi kullanıldı. Salgı balları olarak çam (*Pinus L.*) ve meşe (*Quercus sp. L.*) balları kullanıldı, çiçek balları olarak kestane (*Castanea sativa Mill.*), püren (*Calluna vulgaris*), geven (*Astragalus microcephalus Willd*), çalba (*Phlomis pungens willd*), hayıt (*Vitex agnus castus*), üçgül (*Trifolium compestre*), lavanta (*Lavandula sp.*), ayçiçeği (*Heianthus annuus*), akasya (*Robinia pseudoacacia*), karışık (heterofloral) bal ve manuka türleri (*Leptospermum scoparium* ve *Leptospermum polygalifolium*) kullanıldı.

Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanan mono- ve hetero-floral balların karakterizasyonları bu çalışmada yapıldı. Balların biyo-aktif bileşenleri olan fenolik bileşiklerin identifikasyonları yapıldı ve balların antioksidan antimikrobiyal özellikleri *in vitro* testler yapılarak karşılaştırıldı. Elde edilen tüm veriler istatistiki olarak dünyada öne çıkan Manuka balları ile karşılaştırıldı.

Balların fenolik bileşenleri ile balların rengi arasında çok yakın bir ilişki olduğu ve ona bağlı olarak renginin koyulaştığı, balların toplam fenolik madde miktarlarına bağlı olarak antioksidan kapasitelerinin değişim gösterdiği bulundu. Meşe, püren, kestane ballarının en koyu renkli Türk ballarından olduğu ve bu balların Manuka balına eşdeğer antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulundu. Antimikrobiyal yönden çok aktif olduğu bildirilen manuka balları ile Türk balları karşılaştırıldığında Manuka balından daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bulundu. İlginç olarak akasya balının en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip ballardan olduğu tespit edildi. Akasya balının flavanoidleri tarafından bu aktivite ileri gelmiş olabilir ve bu balın yara ve yanık tedavilerinde kullanılabilecek apiterapik bir ürün olduğu tespit edildi. Akasya balı bir orman balı olup

meşe ve çam balından farklı çiçek balıdır. Sonuç olarak istisnalar hariç koyu renkli balların yüksek biyoaktif özelliklere sahip olduğu sonucuna varıldı.

Türkiye daha zengin bal çeşitliliğine sahip olan bir ülke olması sebebiyle daha çok çeşit ve örneğe ulaşılabilmesi halinde daha ayrıntılı bir çalışma ile bilinmeyen pek çok türü ortaya çıkarmak iyi olurdu.

Çalışmada kullanılan balların tarafımızdan ve kontrollü olarak üretilmesi ile daha iyi verilere ulaşmak mümkün olurdu. Balların karakterizasyon çalışmalarında uçucu bileşenleri GC-MS ile belirlenmesi durumunda balların ayırt edilmesi ve coğrafik işaretlerin bulunması yönünden markerler bulunabilirdi.

Yapılan çalışmada balların biyolojik aktif özelliği *in vitro* olarak antioksidan aktivite yönünden ve antimikrobiyal aktivite yönünden ele alındı. Ancak *in vivo* antioksidan, antikanserojen, antiinflatuar, antimetastatik etkisi yönünden ele alınarak tümörler üzerindeki etkisi deneysel hayvan çalışmasıyla bakılabilir. Balın antibakteriyal özelliği incelenerek diş plağı oluşumuna etkisi ve diş eti iltihabı hastalığını engelleyici özelliği incelenebilir.

Türkiye’de üretimi yapılmakta olan monofloral balların, manuka balında UMF değeri belirlenerek piyasada satışı ona göre belirlenmektedir. Bu bağlamda daha geniş bir çalışma ile Türkiye’deki ballarda da bir özgün faktör belirlenebilir. Anti-inflatuar etki, daha geniş kapsamlı antimikrobiyal aktiviteye bakılabilir. Manuka balındaki en önemli antibakteriyal bileşik kabul edilen 1,2- diaminobenzenden türevlendirilen metilglioksal (MGO) çok yüksek düzeyde bulunmaktadır. Balda MGO seviyesini belirleyebilmek için HPLC-UV, LC-MS/MS ve gaz kromatografisi azot-fosfor dedektörü (GC-NPD) gibi cihazlarla MGO seviyesi diğer monofloral ballarda da ölçülebilir. Ölçülen MGO seviyesi ile balların antibakteriyal özellikleri tespit edilebilir ve bu ballarda da bir özgün faktör değeri belirlenebilir.

Bal matriks bir karışıma sahip olmasından dolayı aromasından sorumlu uçucu bileşikler tespiti için gaz kromatografisi kütle spektroskopisinden (GC-MS) ve solid faz mikroekstraksiyonundan faydalanılabilir. Balların teşhis edilmesinde ve biyolojik değerinin tayininde kullanılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Adams C. J., Boulton C.H., Deadman B. J., Farr J. M., Grainger M. N. C., Manley-Harris, M. ve Snow M. J., 2008. Carbohydrate Research, 343, 651–659.
- Adams C.J., Manley-Harris M. ve Molan P.C., 2009. . The origin of methylglyoxal in New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey, Carbohydrate Research, 344, 1050-1053.
- Akalın A.C., 2011. Nar Şaraplarında Antioksidan Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akhmazillah M.F.N., Farid M.M. ve Silva F.V.M., 2013. High pressure processing (HPP) of honey for the improvement of nutritional value, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 20, 59- 63.
- Akkuş İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Akyüz E., 2011. *Digitalis ferruginea ssp. Schischkinii* ve Bazı Endemik Digitalis Türlerinin Ekstraktlarında Mevcut Kardiyak Glikozitleri ve Fenolik Bileşiklerin Kromatografik Yöntemlerle Belirlenmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü. Fen Bilimlerinin Enstitüsü, Trabzon.
- Al M.L., Adela Moise D.D., Bobis O., Laslo L. ve Bogdanov S., 2009. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania, 112, 863-867.
- Al-Hasbi N.A. ve Niranjana K., 2012. Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey, Food Chemistry, 135, 1448- 1454.
- Aljadi A.M. ve Kamaruddin M.V., 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys, Food Chemistry, 85, 513-518.
- Allen K.L., Molan P.C. ve Reid G.M., 1991. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys, The Journal of Pharmacy and Pharmacology, 43, 817–822.
- Almeida-Silva M., Canha N., Galinha C., Dung H.M., Freitas M.C. ve Siteo T., 2011. Trace elements in wild and orchard honeys, Applied Radiation Isotopes, 69, 1592–1595.
- Alvarez- Suarez J.M., Tulipani S., Díaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S. ve Battino M., 2010. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds, Food and Chemical Toxicology, 48, 2490-2499.

- Alvarez-Suarez J., Tulipani S., Romandini S., Bertoli E. ve Battino M., 2010. Contribution of honey in nutrition and human health: A review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3,1, 15–23.
- Alves A., Ramos A., Margarida M., Alves G., Bernardo M. ve Mendes B., 2013. Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of Portuguese monofloral honeys. *Journal of food composition and analysis*, 30, 130-138.
- Alzahrani H.A., Boukraa L., Bellik Y., Abdellah F., Bakhotmah B.A., Kolayli S. ve Sahin H., 2012. Evaluation of the Antioxidant Activity of Three Varieties of Honey from Different Botanical and Geographical Origins, *Global Journal of Health Science*, 4,6,192-196.
- Amiot M.J., Aubert S., Gonnet M. ve Tacchini M., 1989. The Phenolic Compounds in Honeys: Preliminary Study Upon Identification and Family Quantification, *Apidologie*, 20,2, 115-125.
- Amor D.M., 1978. Composition, properties and uses of honey- a literature survey. The British Food Manufacturing Industries Research Association, Leatherhead, UK., *Scientific and Technical surveys*, 108, 84.
- Andrade P., Federico Ferreres F., Gilb M.I. ve Tomás+Barberán F.A., 1997. Determination of phenolic compounds in honeys with different floral origin by capillary zone electrophoresis, *Food Chemistry*, 1,79-81.
- Andrade P.B., Amaral M.T., Isabel P., Carvalhoc J.C.M.F., Seabraa R.M. ve da Cunha A.P., 1999. Physicochemical Attributes and Pollen Spectrum of Portuguese Heather Honeys, *Food Chemistry*, 66,4, 503-510 .
- Anonim 2003b. Bal Yaraları iyilestiriyor. <http://www.hekimce.com/konu.php.konu=1833>.
- Anonymous, 2002. The Council of European Union, Council directive 2001/110/ec of 20 December 2001 relating to honey, *Official Journal of the European Communities*, L10, 47-52.
- Anupama D., Bhat K.K. ve Sapna V.K., 2003. Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey, *Food Research International*, 36, 183-191.
- Aparna A. R. ve Rajalakshmi D., 1999. Honey – Its characteristics, sensory aspects and applications, *Food Reviews International*, 15,4, 455–471.
- Bal Tebliği, 2005. www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2005-49.html; Erişim Tarihi: 4 Eylül 2011.
- Barbalán Á.M.A., Zorro L., Guillén D.A. ve Barroso C.G., 2003. Study of Polyphenol Content of Red and White Grape Varieties by Liquid Chromatography- Mass Spectrometry and Its Relationship to Antioxidant Power, *Journal of Chromatography A*, 1012, 31-38.

- Belitz H.D. ve Grosch W., 1999. Food Chemistry, Springer-Verlag Heidelberg, Berlin, 764-781.
- Benzie I.F.F. ve Strain J.J., 1999. Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, In Methods in Enzymology, 299, 15–27.
- Beratte G., Granata P., Ferrero M., Orioli M. ve Facino R.M., 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric / fluorimetric assays and chemometrics, Anal. Chim. Acta, 533, 185-191.
- Bilaloğlu G.V. ve Harmandar M., 1999. Flavonoidler. Aktif Yayınevi, İstanbul, 334-354.
- Bilandžić N., Gačić M., Dokić M., Sedak M., Šipušić D.I., Končurat A. ve Gajger I.T., 2014. Major and trace elements levels in multifloral and unifloral honeys in Croatia, Journal of food composition and analysis.
- Blomhoff R., 2005. Dietary antioxidants and cardiovascular disease, Current Opinion in Lipidology, 16,47-54.
- Büyüktuncel B., Yemenicioğlu A. ve Özkan M., 2001. Fenolik Bileşikler. Meyve ve Sebzelelerin Bileşimi, Soğukta Depolanmaları, Gıda Teknolojileri Derneği Yayınları, Ankara, 24, 78.
- Bogdanov S., 1984. Characterization of antibacterial substances in honey, Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 17,2, 74–76.
- Bogdanov S., Ruoff K. ve Oddo L.P., 2004. Physico-Chemical Methods for The Characterisation of Unifloral Honeys: A Review, Apidologie, 35,1, 4-17.
- Casagrande F. ve Darbon, J.M., 2001. Effects of Structurally Related Flavonoids on Cell Cycle Progression of Human Melanoma Cells: Regulation of Cyclin- Dependent Kinases. Biochemical Pharmacology, 61, 1205–1215.
- Castaldo S. ve Capasso F., 2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia, 73, 1–6.
- Castro- Vázquez L.M.C., González-Viñas M.A. ve Pérez-Coello M.S., 2009. Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis, Food Chemistry, 112, 1022–1030.
- Cavia M.M., Fernandez-Muino M.A., Gomez-Alonso E., Montes-Perez M.J., Huidobro J.F. ve Sancho M.T., 2002. Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation, Food Chemistry, 78,157–161.

- Cemeroğlu B., 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, 35, 77-88.
- Chan C.W., Deadman B.J., Manley-Harris M., Wilkins A.L., Alber D.G. ve Harry E., 2013. Analysis of the flavonoid component of bioactive New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey and the isolation, characterisation and synthesis of an unusual pyrrole, Food chemistry, 141, 1772-1781.
- Chudzinska M. ve Baralkiewicz D., 2010. Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP- MS) combined with chemometrics, Food and Chemical Toxicology, 48, 284-290.
- Crane E., 1975. Honey: a comprehensive survey, Marrson and Gibb Ltd. London 608p.
- Cook N.C. ve Samman S., 1996. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources, Journal of Nutritional Biochemistry, 7, 21, 66–76.
- Cooper R.P., Wigley N. ve Burton F., 2000. Susceptibility of multi- resistant strains of *Burkholderia Cepacia* to honey, Lett Appl. Microbiol 31, 20- 24.
- Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O. ve Dyatmiko W., 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, Helvetica Chimica Acta, 80, 1144-1152.
- Çinar S.B., Ekşi A. ve Coşkun İ., 2014. Carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of pine honey and detection of HFCS adulteration, Food Chemistry, 157, 10-13.
- D'Arcy B.R., 2005. Antioxidants in Australian floral honeys-identification of healthenhancing nutrient component. Australian Government, Rural Industrie Research and Development corporation (RIRDC), RIRDC publication No. 05 /040, RIRDC project No. UQ-102A, Australia, pp. 94.
- De Villiers A., Lynen F., Crouch A. ve Sandra P., 2004. Development of A Solid-Phase Extraction Procedure for the Simultaneous Determination of Polyphenols, Organic Acids and Sugars in Wine, Chromatographia, 59, 403–409.
- Dursun İ., 2011. *Butomus umbellatus* L. ve *Sparganium emersum* Rehmann Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Tayini ve Fenolik Asit İçeriklerinin HPLC-UV ile Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Dustmann J.H., 1993. Honey Quality and Its Control. Amer. Bee J., 133,9, 648-651.
- Eraslan G., Kanbur M., Silici S. ve Karabacak M., 2010. Beneficial effect of in honey on trichlorfon induced some biochemical alterations inmice, Ecotoxicolo Environ Safety, 73, 1084-1091.

- Ertük Ö., Katı H., Yaylı N. ve Demirbağ Z., 2006. Antimicrobial properties of *Silene multifida* (Adams) Rohrb. Plant Extracts. Turkish Journal of Biology, 30, 17-21.
- Escriche I., Kadar M., Juan-Borrás M. ve Domenech E., 2011. Using flavonoids, phenolic compounds and headspace volatile profile for botanical authentication of lemon and orange honeys, Food Research International, 44,5, 1504-1513.
- Escuredo O., Miguez M., Fernandez-Gonzalez M. ve Seijo M.C., 2013. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area, Food Chemistry, 138, 851–856.
- Escuredo O., Irina Dobre I., Fernández-González M. ve Seijo M.C., 2014. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon, Food Chemistry, 149,84-90.
- Ettre L.S., 2003. "M.S. Tsweet and the Invention of Chromatography " in Milestones in Chromatography, LCGC, 21, 458.
- Estevinho L., Pereira A., Moreira L., Dias L.G. ve Pereira E., 2008. Antioxidant and antimicrobial effect of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey, Food and Chemical Toxicology, 46, 3774-3779.
- Fabre N., Rustan I., Hoffmann D.E. ve Quetin-Leclercq J., 2001. Determination of Flavone, Flavonol and Flavanone Aglycones by Negative Ion Liquid Chromatography Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry, J. Am. Soc. Mass Spectrom., 12,707-715.
- Fang Z., Zhan M. ve Wang L., 2007. HPLC-DAD-ESI-MS Analysis of Phenolic Compounds in Bayberries (*Myrica rubra* Sieb. Et Zucc.), Food Chemistry, 100, 845-852.
- FAO, 1996. Value-Added Products From Beekeeping. FAO Agricultural Service Bulletin, Rome, Italy.
- Fennema O.R., 1985. Pigment and Other Colorants, Food Chemistry, 545-584.
- Fernández-Torres R., Pérez-Bernal J.L., Bello-López M.A., Callejo n-Mocho n M., Jimenez-Sánchez J.C. ve Guira'um-Pérez A., 2005. Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. Talanta, 65, 686–691.
- Ferreira I.C.F.R., Aires E., Barreira J.C.M. ve Estevinho L.M., 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract, Food Chemistry, 114, 14338-1443.
- Ferreres F., Andrade P. ve Tomas-Barberan F.A., 1994a. Flavonoids from Portuguese heather honey. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, 199,32–37.

- Ferrerres F., Ortiz A., Silva A., Garcia-Viguera C., Tomas-Barberan F.A. ve Tomas-Lorente F., 1992. Flavonoids of La Alcarria honey. A study of their botanical origin. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 194, 139–143.
- Frankel S., Robinson G.E. ve Berenbaum M.R., 1998. Antioxidant Capacity and Correlated Characteristics of 14 Unifloral Honeys, *Apicultural Research*, 37, 1, 27-31.
- Fukumoto L.R. ve Mazza G., 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48, 3597-3604.
- Gomes S., Dias L.G., Leandro L.M., Rodrigues P. ve Estevinho L., 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 544-548.
- Gonzales A.P., Burin L. ve Buera M.P., 1999. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color, *Food Research International*, 32, 185- 191.
- Guler A., Bakan A., Nisbet C. ve Yavuz O., 2007. Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (*Saccharum officinarum* L.) syrup, *Food Chemistry*, 105, 1119- 1125.
- Gunduz A., Türedi S. ve Ayaz A.F., 2011. Deli Balın İçindeki Zehir: Grayanotoxin, *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 95-96.
- Guyot C., Bousset A., Scheirman V. ve Collin S., 1998. Floral origin markers of chestnut and lime tree honeys, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46,2, 625–633.
- Guyot C., Scheirman V. ve Collin S., 1999. Floral origin markers of heather honeys: *Calluna vulgaris* and *Erica arborea*. *Food Chemistry*, 64, 3–11.
- Habib H.M., Al Meqbali F.T., Kamal H., Souka U.D. ve Ibrahim W.H., 2014. Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions, *Food Chemistry*, 153,35-43.
- Hallaç Türk F., 2009. Bazı Sofralık Üzüm Çeşitlerinde Farklı Dönemlerde Alınan Yapraklardaki Fenolik ve Mineral Madde Değişimlerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Halliwell B., Cross C.E. ve Gutteridge J.M.C., 1992. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease. Where are We Now?, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119, 598-620.
- Haroun M.I., 2006. Türkiye’de Üretilen Bazı Çiçek ve Salgı Ballarının Fenolik Asit ve Flavonoid Profilinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Harvey D., 2000. Modern Analytical Chemistry, Mc Graw Hill International Edition, USA.
- Havsteen B.T., 2002. The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids, Pharmacology ve Therapeutic, 96, 67-202.
- Hermosín I., Chicón R.M. ve Cabezudo M.D., 2003. Free amino acid composition and botonical origin of honey, Food Chemistry, 83, 263-268.
- Holopainen M., Jahodar L., Seppanen-Laakso T., Laakso I. ve Kauppinen V., 1988. Antimicrobial activity of some Finnish Ericaceous plants. Acta Pharm Fenn, 97, 197-202.
- Hulme A.C., 1971. The Biochemistry of Fruits and Their Products, A.R.C. Food Research Institute, Norwich, England., 2, 172–205.
- Isla M.I., Craig A., Ordoñez R., Zampini C., Sayago J., Bedascarrasbure E., Alvarez A., Salomón V. ve Maldonado L., 2011. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina, LWT - Food Science and Technology, 44,1922-1930.
- Izhar-ul-Haq M., Ahmad K.J., Ahmed S. ve Razzaq A., 2010. Characterization of Some Properties in Different Floral Honeys Collected by *Apis Mellifera* L., Pakistan Entomologist, 32,2, 77-81.
- Jasicka-Misiak I., Poliwoda A., Malgorzata Dereń M. ve Kafarski P., 2012. Phenolic compounds and abscisic acid as potential markers for the floral origin of two Polish unifloral honeys, Food Chemistry, 131, 1149-156.
- Jerry P., Liu L., Zeng M. ve Stamler J.S., 2000. An Apoptotic Model for Nitrosative Stress, Biochemistry, 39, 1040-1047.
- Jeuring J. ve Kupper, F., 1980. High performance liquid chromatography of furfural and hydroxymethylfurfural in spirits and honey, Journal Association Official Analitical Chemistry, 63, 1215.
- Jull A., Walker N., Parag V., Molan P. ve Rodgers A., 2008. Randomized clinical trial of honey-impregnated dressings for venous leg ulcers. Brit. J. Surgery, 95, 175-182.
- Junk W.R. ve Pancoast H. M., 1973. Handbook of sugars for processors, chemists and technologists. Westport : AVI Publishing, 327, ISBN 08-705-51337.
- Kalaycıoğlu L., Serpek B., Nizamlioğlu M., Başpınar N. ve Tiftik M.A., 2006. Biyokimya, 3. Basım. Ankara: Nobel Yayın, s. 373.
- Karabagias I.K., Vavoura M.V., Nikolaou C., Badeka A., Kontakos S. ve Kontaminas M.G., 2014. Floral authentication of Greek unifloral honeys based on the combination of phenolic compounds physicochemical parameters and chemometrics, Food Research International, 10.1016/ j.foodres.2014.04.015.

- Kaskoniene V., 2010. Floral markers in honey of various botanical and geographic origins: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9, 620- 634.
- Kaskoniene V., Maruška A. ve Kornýšova O., 2009. Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey, Chemine Technologija, 3, 74.
- Kenjeric D., Mandić M.L., Primorac L., Bubalo D. ve Perl A., 2007. Flavonoid profile of *Robinia* honeys produced in Croatia, Food Chemistry, 102, 683- 690.
- Kenmore C.K., Erskine S.R. ve Bornhop D.J., 1997. Refractive-index detection by interferometric backscatter in packedcapillary high-performance liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 762,1997, 219-225.
- Kishorea R.K., Halima A.S., Syazanaa M.S.N. ve Sirajudeenb K.N.S., 2011. Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources, Nutrition Research, 31,322-325.
- Kolaylı S. ve Keha E., 1999. A Comparative Study of Antioxidant Enzyme Activities in Freshwater and Seawater Adapted Rainbow Trout, Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 13, 6, 334-337.
- Kolaylı S., Aliyazıcıoğlu R., Ulusoy E. ve Karaoğlu Ş., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of selected Turkish honeys, Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 36, 163-172.
- Komanine A., 1960. Amino acids in honey. *Acta Chemica Fennicea*, 33, 185-187.
- Krell R., 1996. Value added products from beekeeping, FAO Agricultural Services Bulletin, 124, 85-94.
- Kropf U., Korošec M., Bertoncej J., Ogrinc N., Nečemer M., Kump P. ve Golob T., 2010. Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime, and chestnut honey, Food Chemistry, 121, 839- 846.
- Kurılıç A.C., Clevidence B.A., Britz S.J., Simon P.W. ve Novotny J.A., 2005. Plasma and Urine Responses Are Lower for Acylated vs Nonacylated Anthocyanins from Raw and Cooked Purple. J. Agric. Food Chem. 53,6537-6542.
- Kuś P.M., Congiu F., Sroka D.T.Z., Jerkovi I. ve Tuberosa C.I.G., 2014. Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types, LWT - Food Science and Technology, 55,124-130.
- Küçük M., Kolaylı S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C. ve Candan F., 2007. Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types from Anatolia, Food Chemistry, 100, 526-534.

- La Grange V. ve Sanders S.W., 1988. Honey in cereal-based new food products, Cereal Foods World, 33, 833–838.
- Lachman J., Kolihova' D., Miholova' D., Kosata J., Titera D. ve Kult K., 2007. Analysis of minority honey components: possible use for the evaluation of honey quality, Food Chemistry, 101, 973–979.
- Lachman J., Orsak M., Hejtmankova A. ve Kovarova E., 2010. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys, LWT – Food Science and Technology, 43, 52–58.
- Langseth L., 1995. Oxidants, Antioxidant and Disease Prevention . ILSI Press, Washington, Dc.
- Lazarevic' K.B., Andric' F., Trifkovic' J. ve Milojkovic'-Opsenica D., 2012. Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters, Food Chemistry, 132, 2060- 2064.
- Lee H.J., Churey J.J. ve Worobo R.W., 2008. Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey, International Journal of Food Microbiology, 126, 240–244.
- Lee H., Churey J.J. ve Worobo R.W., 2008. . Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey, International Journal of Food Microbiology, 126, 240–244.
- Lindsay S., 1987. HPLC Analytical Chemistry by Open Learning, 4th ed., New York: John Wiley & Sons., 54-72.
- Liu J-R., Ye Y-L., Lin T-Y., Wang Y-W. ve Peng C-C., 2013. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan, 139, 938-943.
- Louveaux J., Maurizio A. ve Vorwohl G., 1978. Methods of Melissopolynology, Bee World, 59, 139- 157.
- Madhavi D.L., Deshpande S.S. ve Salunkhe D.K., 1996. Food Atioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. Markel Dekker, Newyork.
- Majtan J., Klaudiny J., Bohova J., Kohutova L., Dzurova M., Sediva M., Bartosova M. ve Majtan V., 2012. Methylglyoxal-induced modifications of significant honeybee proteinous components in manuka honey: Possible therapeutic implications, Fitoterapia, 83, 671-677.
- Manzanares A.B., Hernández García Z., Rodríguez Galdón B., Rodríguez E. ve Romero C. D., 2014. Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain, LWT-Food Science and Technology, 55, 572-578.

- Marcucci M.C., 1995. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26, 83-99.
- Martin P.G., 1979. Manuals of Food Quality Control: 3- Commodities. Food and Agriculture.
- Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J. ve Nacoulma O. G., 2005. . Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity, Food Chemistry, 91, 517-577.
- Meyer V.R., 1988. Practical high performance liquid chromatography (V. Cottrell, Çev.): John Wiley and Sons.
- Miniati E., 2007. Assessment of Phenolic Compounds in Biological Samples, Phenolics in Biological Samples, 43,4, 362-368.
- Molan P.C., 1992. The antibacterial activity of honey. 1: The nature of antibacterial activity. Bee World, 73, 5-28.
- Molan P.C. ve Cooper R.A., 2000. Honey and sugar as a dressing for wounds and ulcer. Trop Doct, 30, 249-250.
- Molina C.L.H., 1989. Honey quality analysis. Alimentos, 14,4, 55-60.
- Marinova M., Gurgulova K., Kalinova G. ve Todorov M., 2008. Investigation on the honeydew honeys collected from the region of Strandja. 1st World Honeydew Honey Symposium, 26-27, Tzarevo, Bulgaria.
- Mundo M.A., Padilla-Zakour O.I. ve Worobo R.W., 2004. Growht Inhibition of Foodborne Pathogens and Food Spoilage Organisms by Select Raw Honeys, International Journal of Food Microbiology, 97, 1-8. Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Mundo M.A., Padilla-Zakour O.I. ve Worobo R.W., 2004. Growht Inhibition of Foodborne Pathogens and Food Spoilage Organisms by Select Raw Honeys, International Journal of Food Microbiology, 97, 1-8.
- Nanda V., Sarkar B.C., Sharma H.K. ve Bawa A.S., 2003. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants inNorthern India, Journal of Food Composition and Analysis, 16, 613-619.
- Nibbs A.E. ve Scheidt K.A., 2012. Asymmetric Methods for the Synthesis of Flavanones, Chromanones, and Azaflavanones, European Journal of Organic Chemistry. 3, 449-462.
- Nizamoğlu M.N. ve Nas S., 2010. The Phenolic Compounds in Vegetables and Fruit; Structures and Their Importance, Electronic Journal of Food Technologies, 5,1, 20-35.

- Nombre I., Schweitzer P., Boussim J.I. ve Rasolodimby J.M., 2010. Impacts of storage conditions on physicochemical characteristics of honey samples from Burkina Faso, African Journal Food Science, 4,7, 458 – 463.
- Oddo P. ve Piro R., 2004. Main European unifloral honeys: descriptive sheets, Apidologie, 35, 38-81.
- Orhan F., Sekerel B.E., Kocabas C.N., Sackesen C., Adalioglu G. ve Tuncer A., 2003. Complementary and alternative medicine in children with asthma. Annals of Allergy, Asthma, and Immunology, 90, 611–615.
- Ouchemoukh S., Schweitzer P., Bey M.B., Djoudad- Kadji H. ve Louaileche H., 2010. HPLC sugar profiles of Algerian honeys, Food Chemistry, 121, 561-568.
- Ough C., 1960. Rapid determination of proline in grapes and wines, Journal Food Science, 34, 228-230.
- Oyaizu M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, Japanese Journal of Nutrition, 44, 307-315.
- Ötles S., 1995. Bal ve Bal Teknolojisi (Kimyası ve Analizleri). Alasehir Meslek Yüksekokulu Yayınları, yayın No: 2.
- Özbalcı B., Boyacı I. H., Topcu A., Kadılar C. ve Tamer U., 2013. Rapid analysis of sugar in honey by processing Raman spectrum using chemometric methods and artificial neural Networks, Food Chemistry, 136, 1444-1452.
- Padovan G.J., Rodrigues L.P., Leme I.A., Jong D.D. ve Marchini J.S., 2007. Presence of C4 sugars in honey samples detected by the carbon isotope ratio measured by IRMS, Eurasian, Journal of Analytical Chemistry, 2,3, 134-141.
- Plochmann K., Korte, G., Koutsilieri E., Richling E., Riederer P., Rethwilm A., Schreier P. ve Scheller C., 2007. Structure-Activity Relationships of Flavonoid- Induced, Cytotoxicity on Human Leukemia Cells, Archives of Biochemistry and Biophysics, 460,1,1-9.
- Pohl P., 2009. Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries, Trends in Analytical Chemistry, 28, 117–128.
- Pyrzynska K., 2009. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey, Magdalena Biesaga Trends in Analytical Chemistry, 28, 7.
- Rashed M.N. ve Soltan M.E., 2004. Major and trace elements in different types of Egypt mono-floral and non-floral bee honeys, Journal of Food Composition and Analysis, 17, 725- 735.
- Roderick J. W., Kevin R. M. ve Kerry L. A., 1999. Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey, Food Chemistry, 64, 295-301.

- Russel K.M., 1983. The antibacterial properties of honey. M.Sc. Thesis, University of Waikato, New Zealand.
- Sabatier S., Amiot M.J. Tacchini M. ve Auberts S., 1992. Identification of flavonoids in sunflower honey, Journal of Food Science, 57,3, 773-775.
- Saldamlı İ., 2007. Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 463-492.
- Santos-Buelga C., Gonzalez-Manzano S., Dueñas M. ve Gonzalez-Paramas A.M., 2012. Extraction and Isolation of Phenolic Compounds, Natural Products Isolation, Eds. Sarker S.D. ve Nahar L., 864, 427-464. ISBN: 978-1-61779-623-4.
- Sarıkya A., Ulusoy E., Tunçel M., Öztürk N. ve Kolaylı S., 2009. Antioxidant Activity and Phenolic Acid Constituents of Chestnut (*Castania sativa* Mill.) Honey and Propolis, Journal of Food Biochemistry, 33,4, 470-481.
- Saxena S., Gautam, S. ve Sharma, A., 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys, Food Chemistry, 118, 391-397.
- Sergiel I., Pohl P. ve M., 2014. Characterisation of honeys according to their content of phenolic compounds using high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Food Chemistry, 145, 404-408.
- Shahidi F. ve Naczki, M., 1995. Food Phenolics. Technomic Publishing Company Book, Lanchester, USA, 199-225.
- Sherlock O., Dolan A., Athman R., Power A., Gethin G. ve Cowman S., 2010. Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 10, 1, 47.
- Silici S., Sarioglu K., Dogan M. ve Karaman K., 2013. HPLC-DAD Analysis to Identify Phenolic Profile of *Rhododendron* Honeys Collected from Different Regions in Turkey, International Journal of Food Properties, Accept Paper. DOI:10.1080/10942912.2012.698441.
- Silici S., Uluozlu O.D., Tuzen M. ve Soylak M., 2008. Assessment of trace element levels in *Rhododendron* honeys of Black Sea Region Turkey, Journal of Hazardous Materials, 156, 612-618.
- Simova S., Atanasov A., Shishiniova M. ve Bankova V., 2012. A rapid differentiation between oak honeydew honey and nectar and other honeydew honeys by NMR spectroscopy, Food Chemistry, 134,1706-1710.
- Simsek A., Bilsel M. ve Goren A.C., 2012. ¹³C/¹²C pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS, Food Chemistry, 130, 1115-1121.

- Singh N. ve Bath P.K., 1997. Quality evaluation of different types of Indian honey, Food Chemistry, 58, 1–2, 129–133.
- Singleton V.L. ve Rossi J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic–Phosphotungstic Acid Reagents, American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144–158.
- Singleton V.L., Orthofer R. ve 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.
- Skoog D.A., Holler F.H. ve Crouch S.R., 2007. Principles of Instrumental Analysis, Thompson Brooks, California, USA, 17–21.
- Skoog D.A., James Holler F. ve Nieman T.A., 1998. Principles of Instrumental Analysis, Fifth Edition, Kılıç E., Köseoğlu F. Ve Yılmaz H., Saunders College Publishing, USA, Bilim Yayıncılık, Ankara.
- Snow M. J. ve Manley–Harris M., 2004. On The Nature of Non– Peroxide Antibacterial Activity in New Zealand Manuka Honey, Food Chemistry, 84, 145–147.
- Snyder L.R., Glajch J.L. ve Kirkland J.J., 1988. Practical HPLC method development. New York: John Wiley and Sons.
- Sorkun K., Dogan N., Gümüş Y., Ergün K., Bulakeri N. ve Isık N. 2002. Türkiye’de üretilen doğal ve yapay balların ayırt edilmesinde fiziksel, kimyasal ve mikroskopik analizleri. <http://kackarbalı.blogcu.com>.2013. Mellifera, 2–4, 13–21.
- Stanciu O.G., Marghitas L. A., Bobis O., Popescu O., Victorita B. ve Maghear O., 2008. Correlation between the phenolic content and antioxidant capacity of declared honeydew honeys produced in Transylvania, Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 65, 249–254.
- Stephens J.M., Schlothauer R.C., Morris B.D., Yang D., Fearnley L., Greenwood D.R. ve Loomes K.M., 2010. Phenolic compounds and methylglyoxal in some New Zealand manuka and kanuka honeys, Food Chemistry, 120, 78–86.survey, Heinemann. London, 157–158.
- Şahin H., 2014. Ormangülü Balı ve Bitkisindeki GTX-III İzoforunun LC- MS/MS ile Aydınlatılması, Doktora Tezi, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Şimşek A., Bilsel M. ve Goren A.C., 2012. C13/C12 Pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS, Food Chemistry, 130, 1115–1121.
- Tananaki C., Thrasyvoulou A., Giraudel J.L. ve Montury M., 2007. Determination of volatile characteristics of Greek and Turkish pine honey samples and their

- classification by using Kohonen self organising maps, Food Chemistry, 10, 1687-1693.
- Taormina P.J., Niemira B.A. ve Beuchat L.R., 2001. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power, International Journal of Food Microbiology, 69, 217–225.
- Tezcan F., Kolaylı S., Şahin H., Ulusoy E. ve Erim F.B., 2011. Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys, Journal of Food and Nutrition Research, 50, 33-40.
- Thomas M.J., 1995. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working?, Critical Reviews in Food Science, 35, 21-39.
- Tomas-Barberan F.A., Martos I. F., F. Rodovic B.S. ve Anklam E., 2001.HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys, Journal of the Science of Food and Agriculture, 81,5,485- 496.
- Tornuk F., Karaman S., Ozturk I., Tokera O.S., Tastemur B., Sagdica O., Dogan M. ve Kayacier A., 2013. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile, Industrial Crops and Products, 46, 124-131.
- Torres R.F., Perez-Bernal J.L., Bello-Lopez M.A., Callejon-Mochon M., Jimenez-Sanchez J. C. ve Guiraum-Perez A., 2005. Mineral content and botanical origin of Spanish honeys, Talanta, 65, 686–691.
- Tosi E., Ciappini M., Re E. ve Lucero H., 2002. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content, Food Chemistry, 77, 71-74.
- Trathnigg B., Fradyl S. ve Veronik M., 2004. Thermodynamic Study of Retention in Liquid Exclusion- Adsorption Chromatography, Journal of Chromatography A, 1038, 43-52.
- Truzzi C., Annibaldi A., Illuminati S., Finale C. ve Scarponi G., 2014. Determination of proline in honey: Comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology, Food Chemistry, 150,477- 481.
- Tsao R. ve Deng Z., 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals, Journal of Chromatography B, 812, 85-99.
- Tsimogiannis D. I. ve Oreopoulou, V., 2006. The Contribution of Flavonoid C-Ring on The DPPH Free Radical Scavenging Efficiency. A Kinetic Approach for The 3',4'-Hydroxy Substituted Members, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 7,140-146.
- Tuberoso C.I.G., Boban M., Bifulco E., Danijela Budimir D. ve Pirisi F.M., 2013. Antioxidant capacity and vasodilatory properties of Mediterranean food: The case

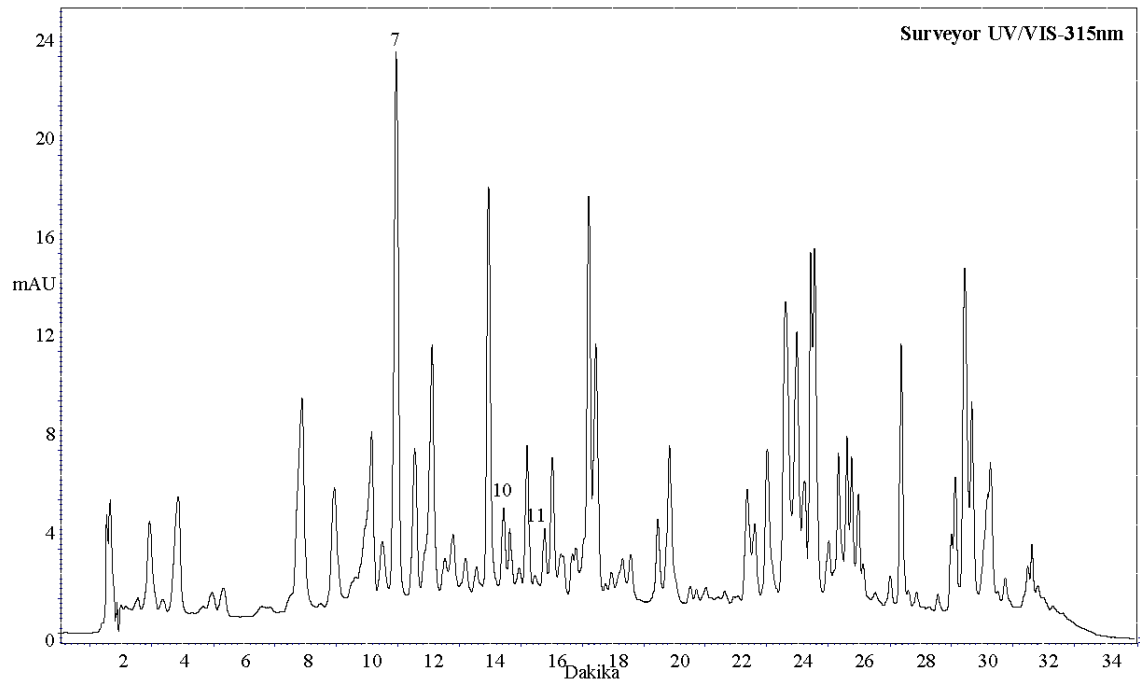
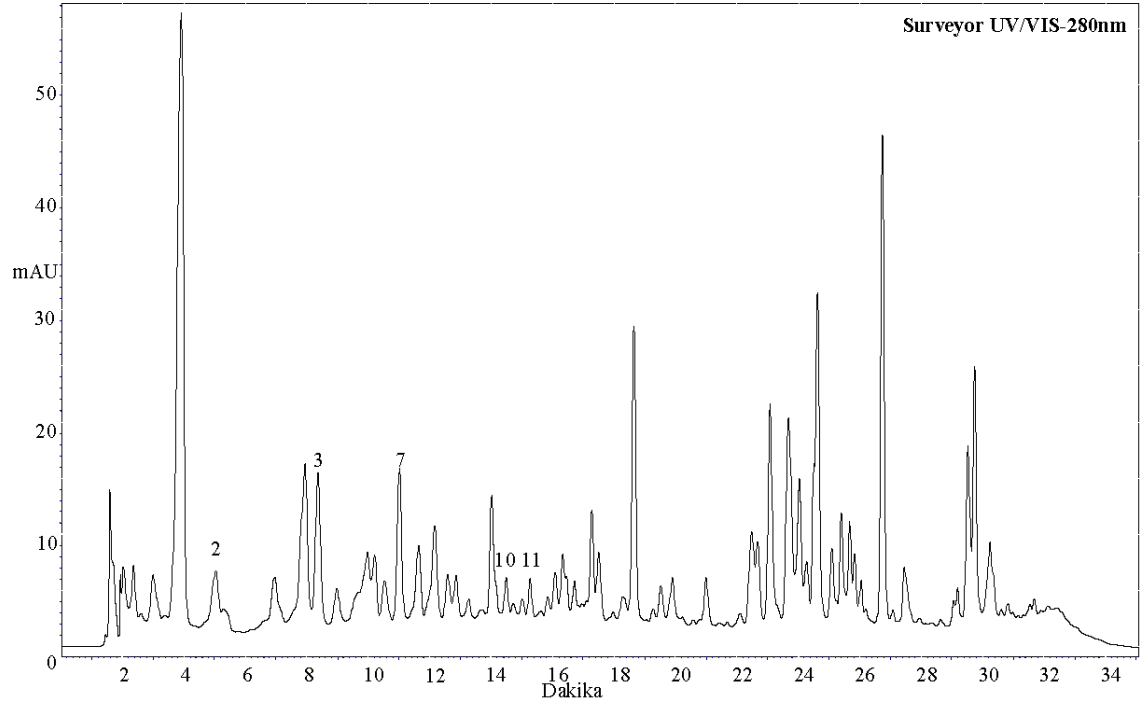
- of Cannonau wine, myrtle berries liqueur and strawberry-tree honey, Food Chemistry, 140, 686-691.
- Tuberoso C.I.G., Jerkovic' I., Sarais G., Congiu F., Marijanovic' Z. ve Kus' P.M., 2014. Color evaluation of seventeen European unifloral honey types by means of spectrophotometrically determined CIE L*C*ab h*ab chromaticity coordinates, Food Chemistry, 145, 284- 291.
- Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği, (Tebliğ No: 2012/58).
- Ulusoy E., 2010. Anzer Balı ve Poleninin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan Özellikleri, Doktora Tezi, K.T.Ü. Fen Bilimlerinin Enstitüsü, Trabzon.
- URL-1, [http:// www.food.hacettepe.edu.tr/ turkish/ oyuleri/gmu 428/ bileşenler_2_ fenolikler.pdf](http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/oyuleri/gmu428/bileşenler_2_fenolikler.pdf). 21 Aralık 2011.
- Vanhanen L.P., Emmertz A. ve Savage G.P., 2011. Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey, Food Chemistry, 128, 236–240.
- Vermerris W. ve Nicoloson R., 2006. Phenolic Compounds biochemistry, Springer, The Netherlands.
- Weston R.J., Brocklebank L.K. ve Lu Y., 2000. Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zealand honeys, Food Chemistry, 70,427–435.
- Weston R.J., Mitchell K.R. ve Allen K.L., 1999b. Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey. Food Chemistry, 64,3, 295-301.
- Weston R.J. ve Brocklebank L.K., 1999. The oligosaccharide composition of some New Zealand honeys, Food Chemistry, 64, 33-37.
- White J.W., 1979. Composition of honey. Crane E. (Ed.), Honey: A comprehensive.
- White J.W., 1978. Honey. Advances in Food Research, 24, 287–374.
- White J.W. ve Winters J.K., 1989. Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration of honey, J.Assoc. Off. Anal. Chem. Int. 72, 6, 907-911.
- White J.W., 1992. Quality evaluation of honey: Role of HMF and diastase assays. American Bee Journal, 132, 737-743.
- Wilczyńska A., 2014. Effect of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey, LWT Science and Technology, 57, 747-774.

- Wilkins A., Lu Y. ve Molan P.C., 1993. Extractable organic substances from New Zealand unifloral manuka (*Leptospermum Scoparium*) honey, Journal of Apicultural Research, 32,1, 3-9.
- Wollgast J. ve Anklam E., 2000. Rewiew on Polyphenols in Theobroma Cacao: Changes in Composition During the Manufacture of Chocolate and Methodology for Indentification and Quantification, Food Research Institutes, 33, 347- 423.
- Yao L., Jiang Y., Singanusong R., Datta N. ve Raymont K., 2004a. Phenolic acids and abscisic acid in Australian Eucalyptus honey and their potential for floral authentication, Food Chemistry, 86, 169-177.
- Yıldız A. ve Genç Ö., 1993. Enstrümenal Analiz, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, ISBN: 975-491-028-6, 421-438.
- Yıldız O. ve Alpaslan M.,2011. Properties of Rose Hip Marmalades (Jams), Food Technology and Biotechnology, (Accepted manuscript).
- Young I.S. ve Woodside J.V., 2001. Antioxidants in Health and Disease, Journal of Clinical Pathology, 54, 3, 176-186.
- Yucel Y. ve Sultanoglu P., 2013. Characterization of Hatay honeys according to their multi-element analysis using ICP-OES combined with chemometrics, Food Chemistry, 140, 231-237.
- Zander E. ve Koch A., 1994. Der Honig, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 201 p.

7. EKLER

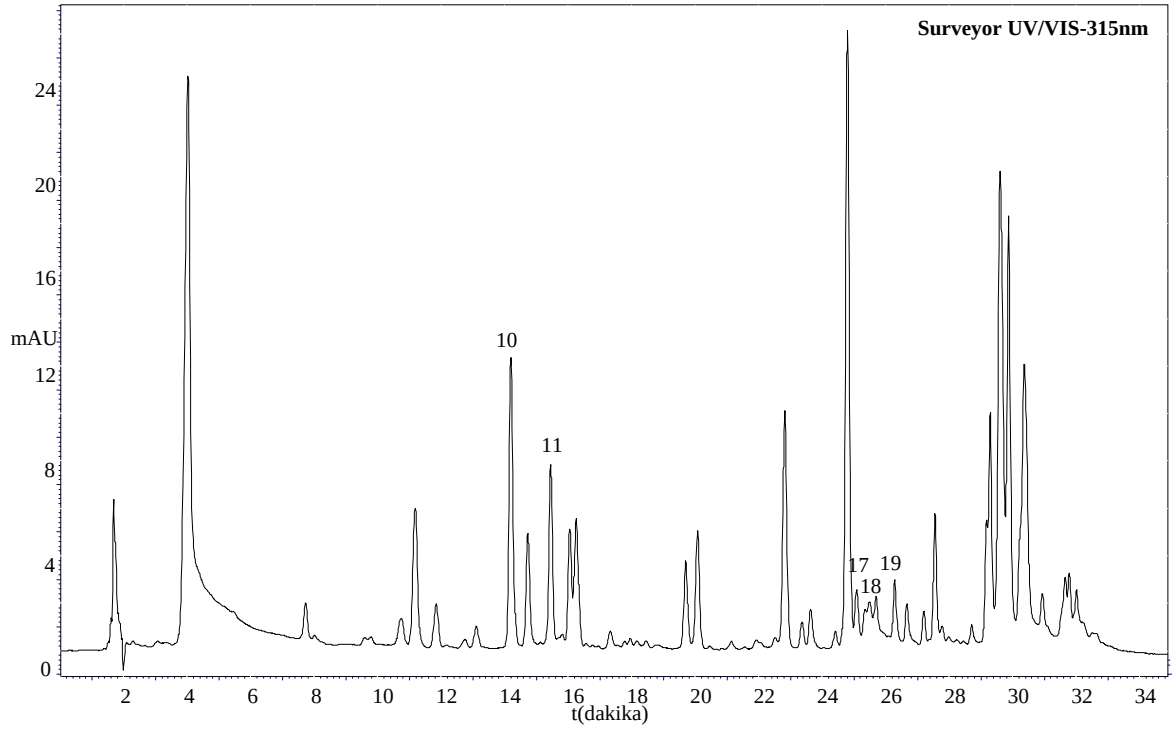
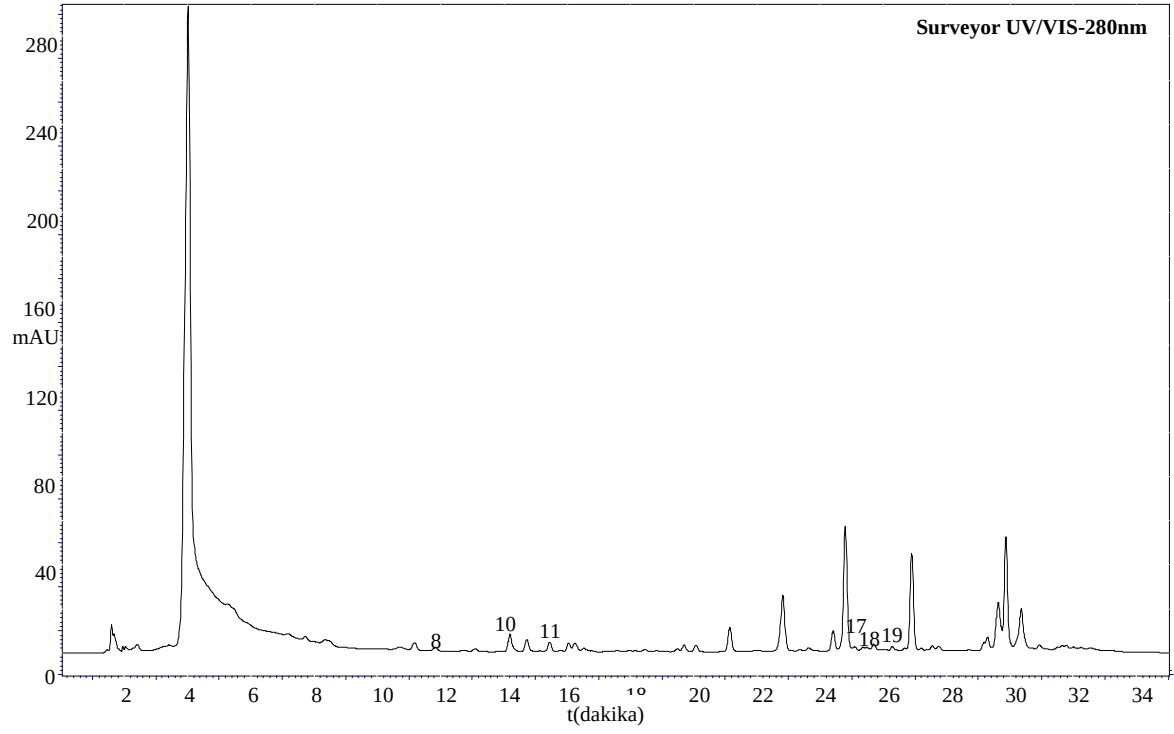
Ek 1. Bal Örneklerinden Bazılarının HPLC-UV ile Fenolik Bileşenleri Kromatogramları

- Ayçiçeği 2



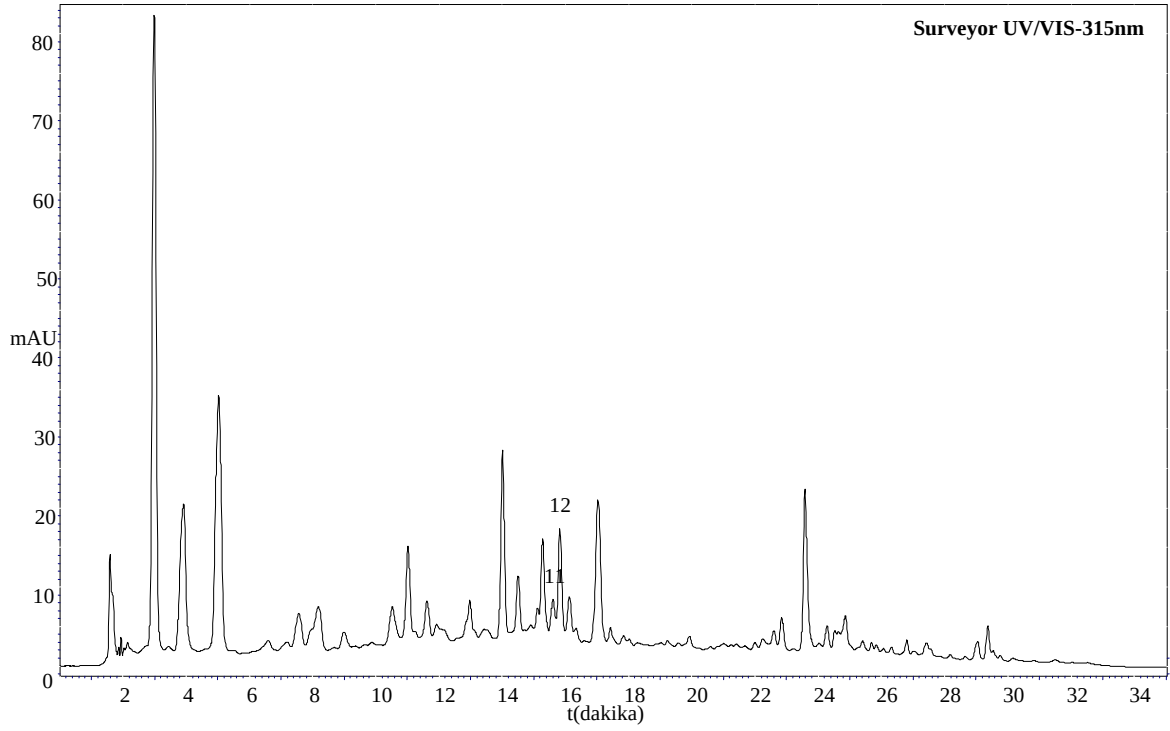
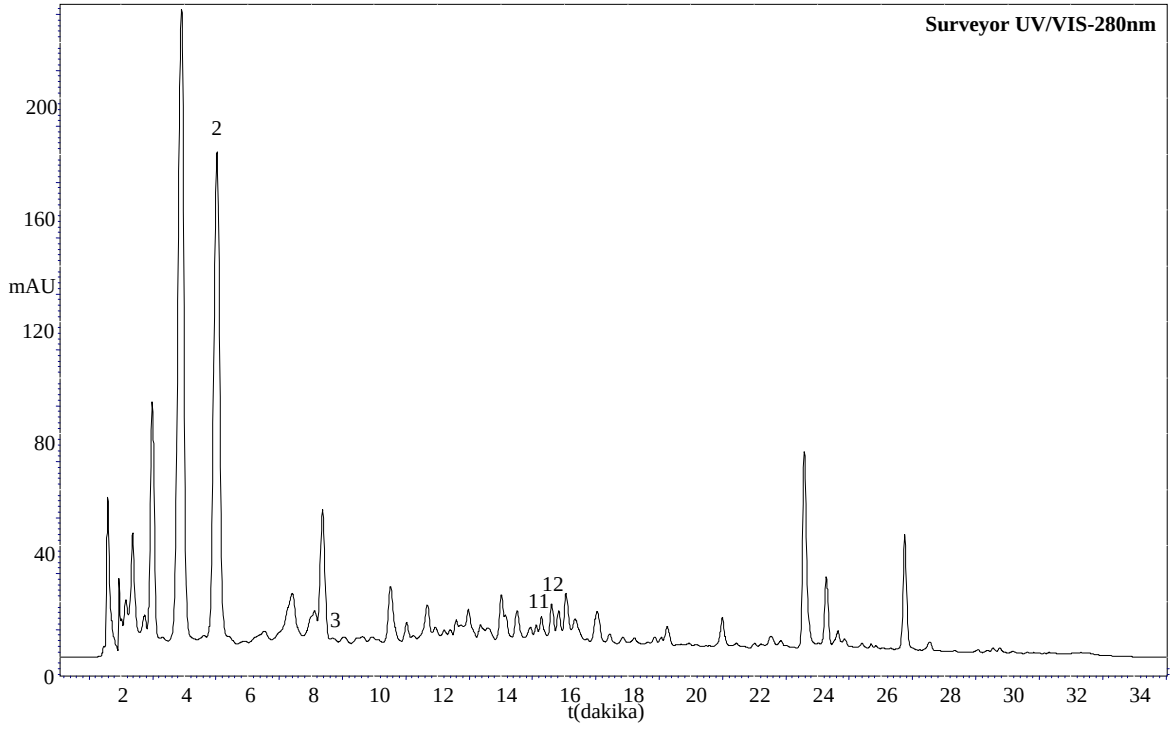
Ek 1'in devamı

- Akasya 1



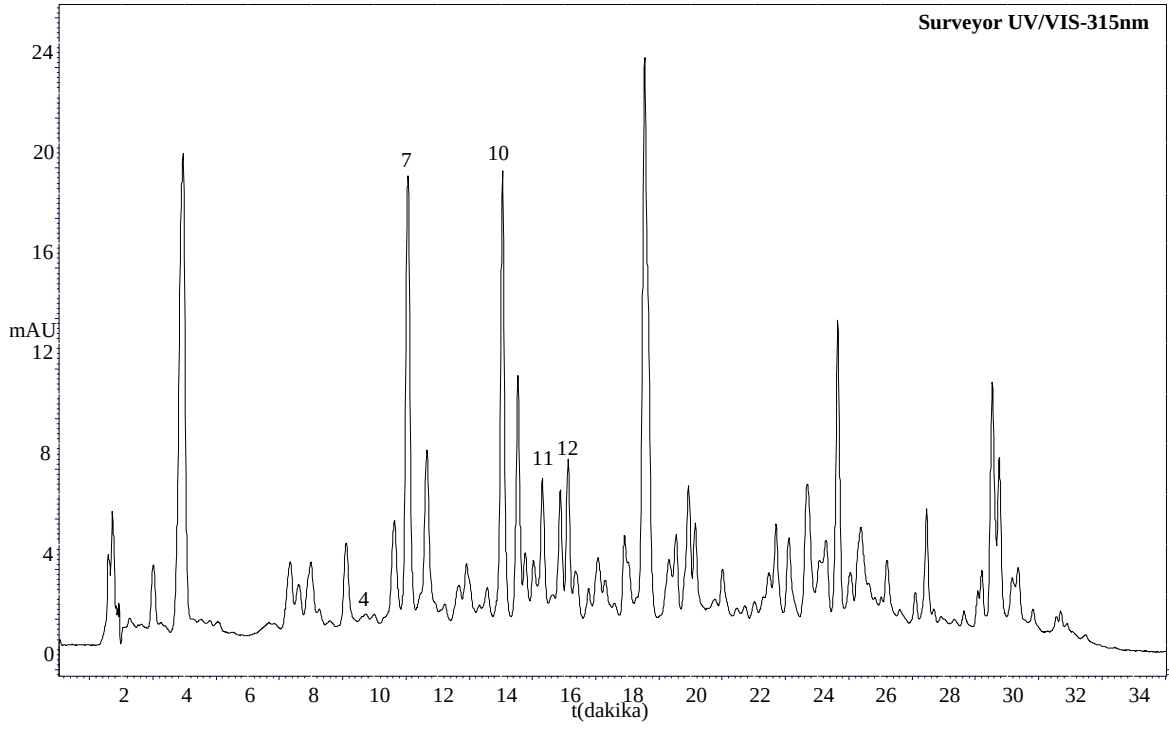
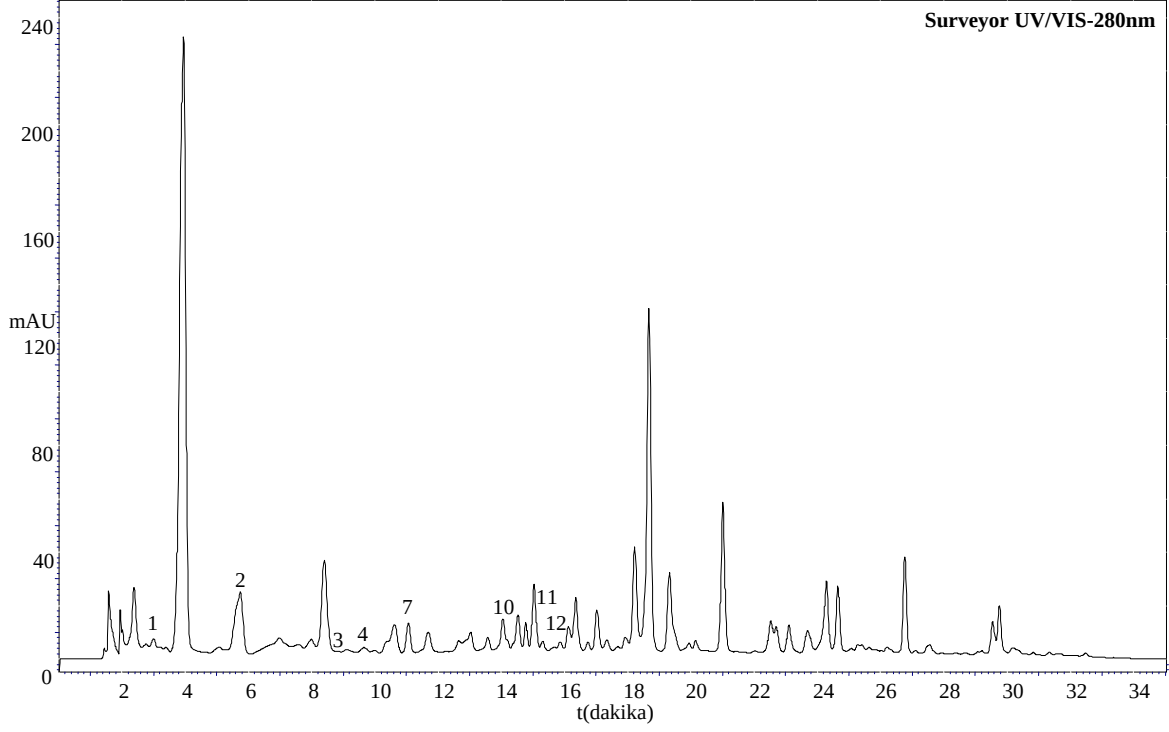
Ek 1'in devamı

- Çam 2



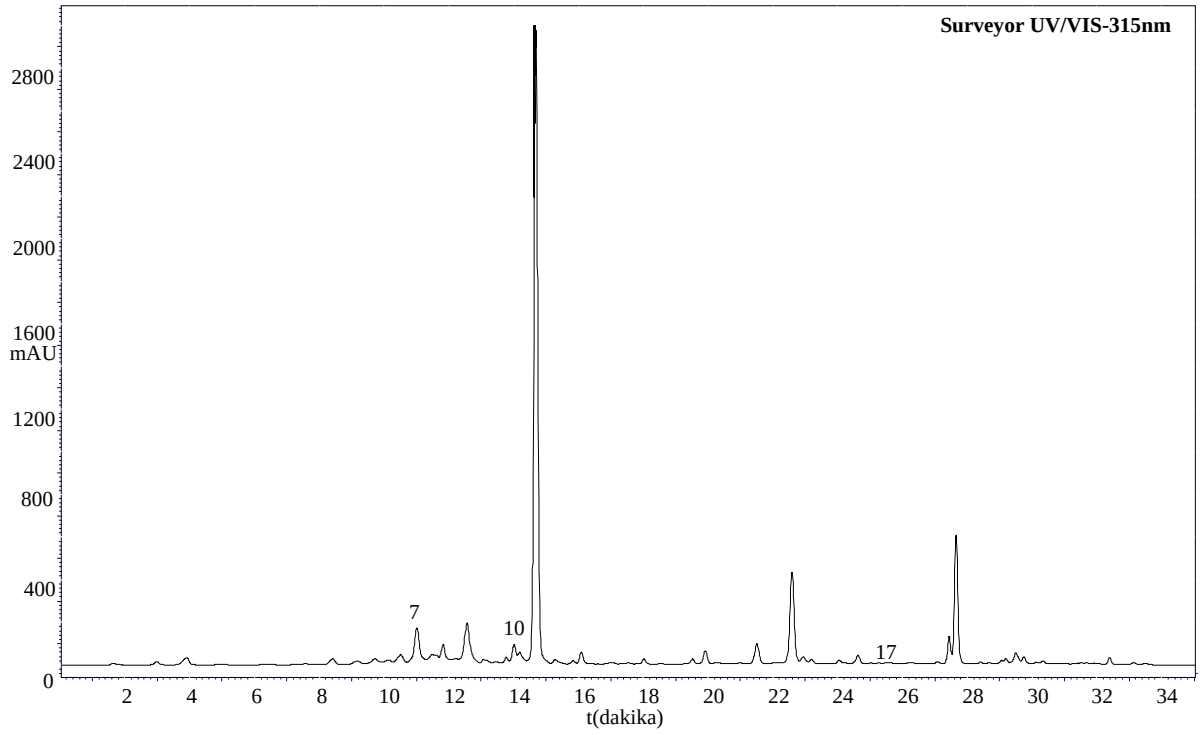
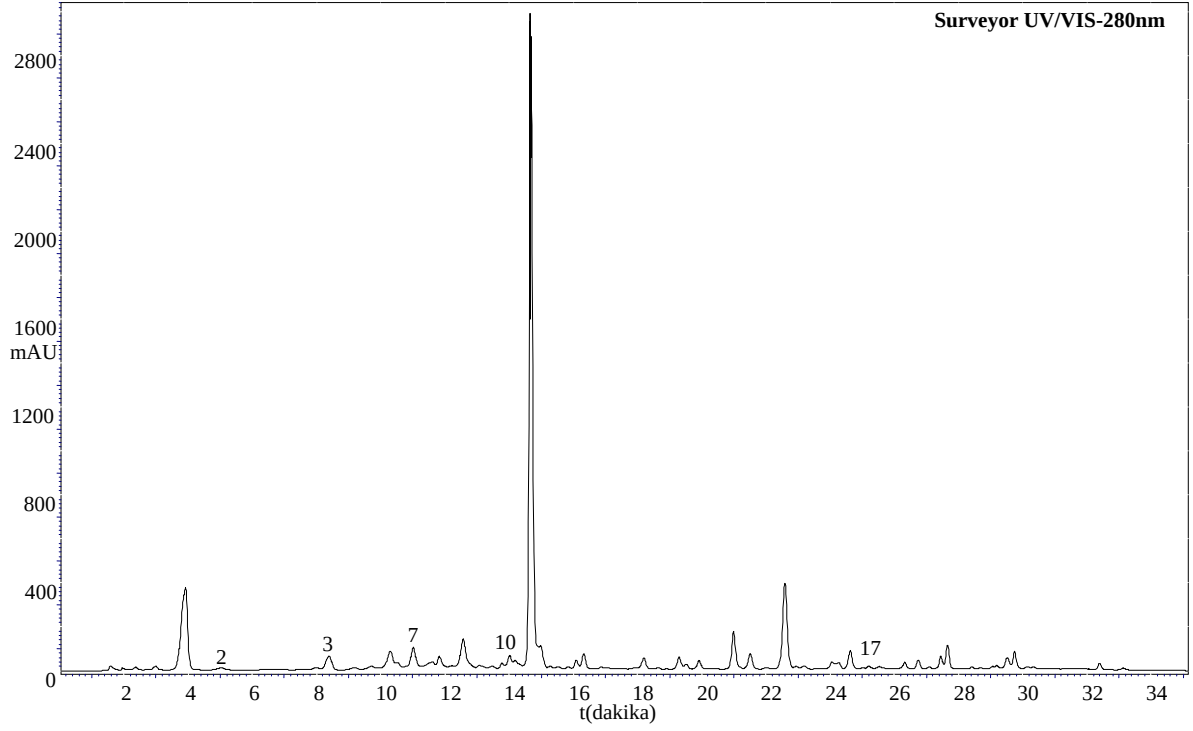
Ek 1'in devamı

- Geven 2



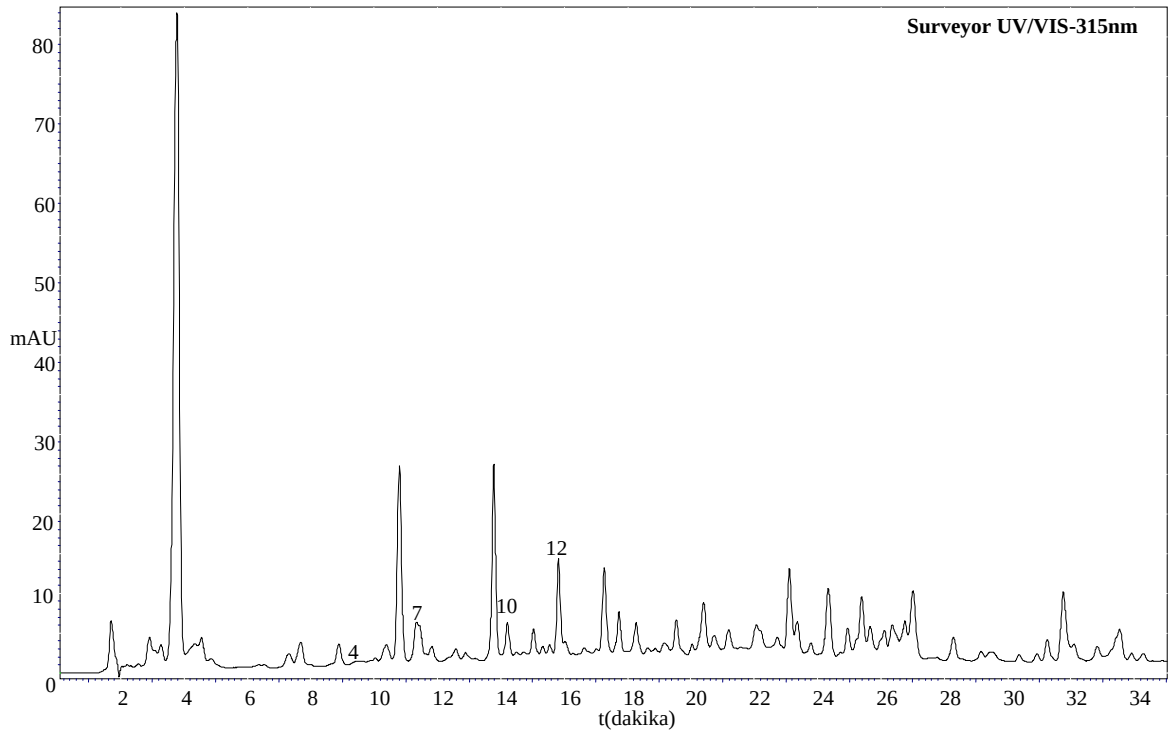
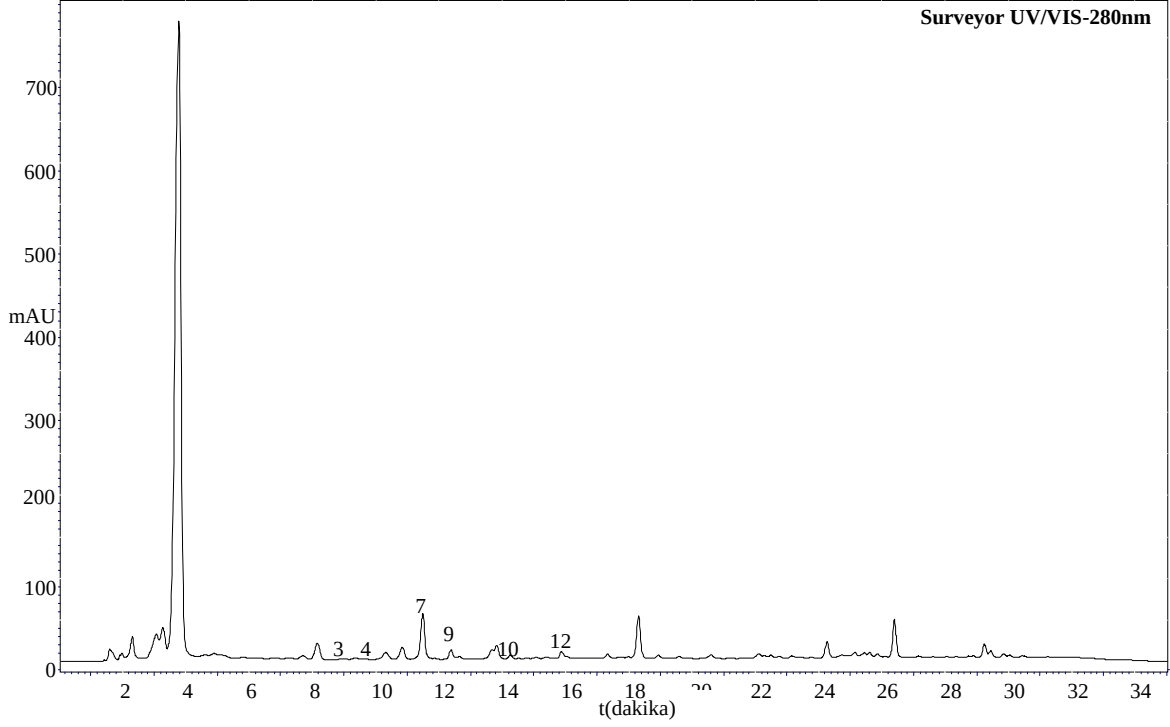
Ek 1'in devamı

- Ihlamur



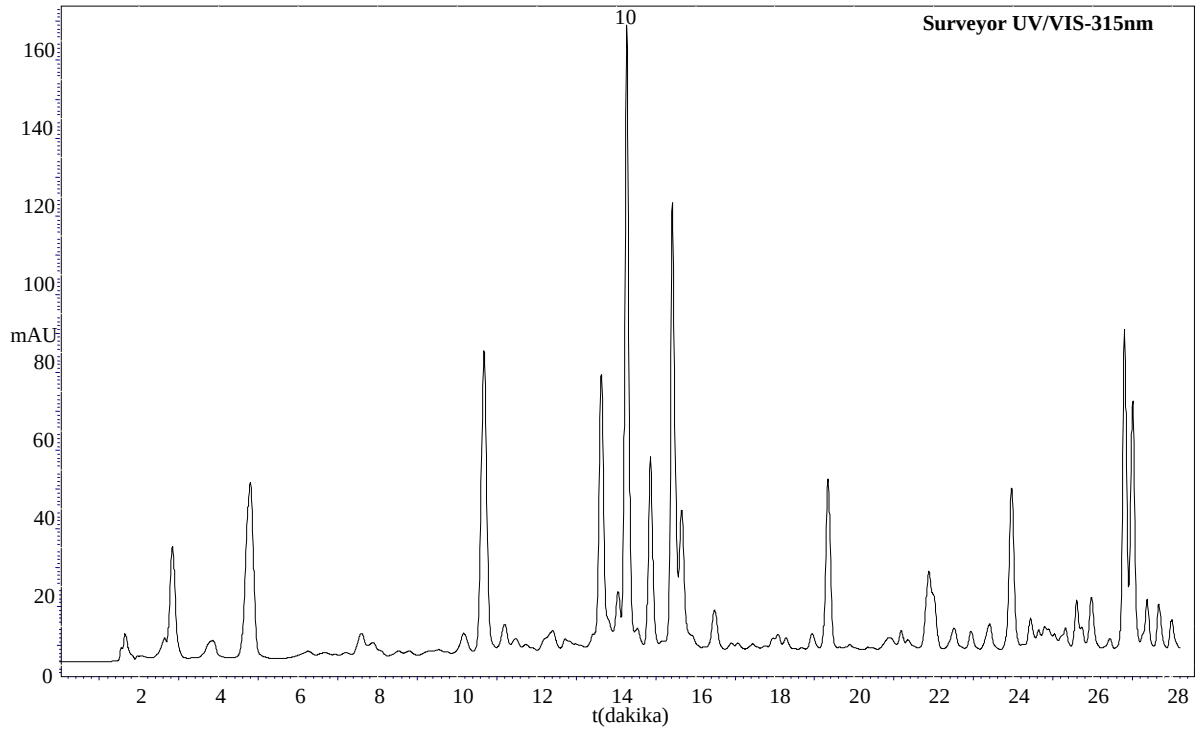
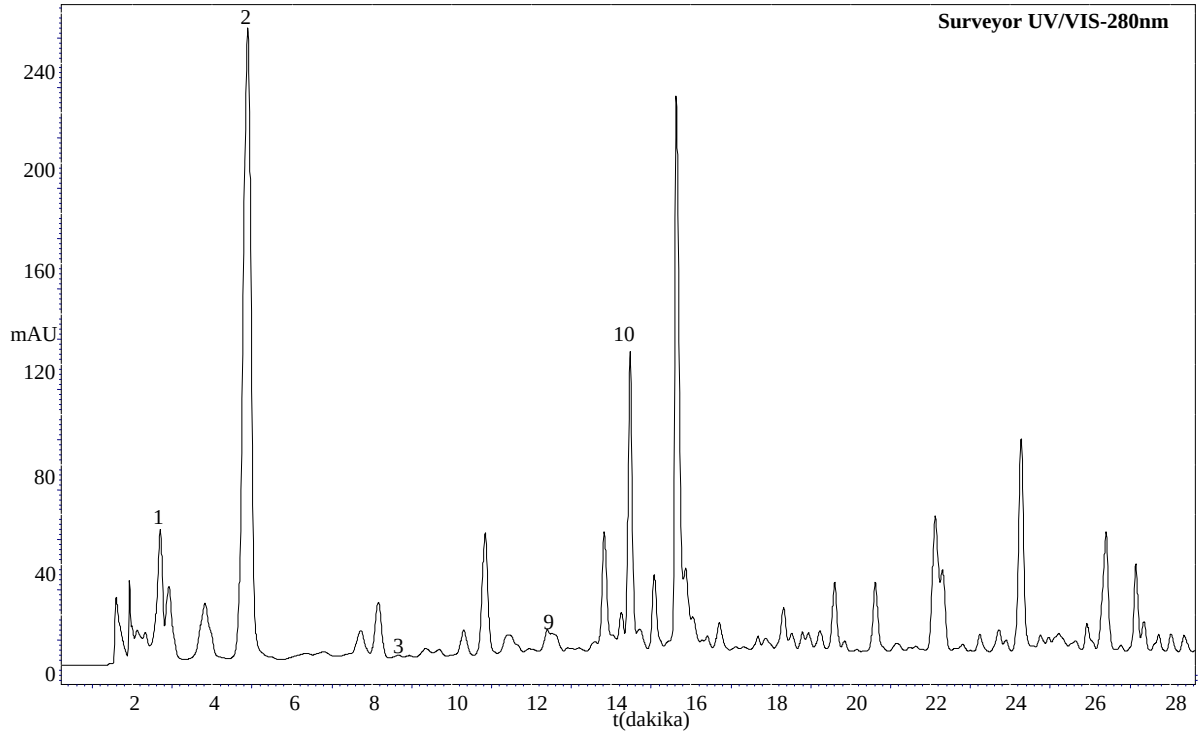
Ek 1'in devamı

- Lavanta 3



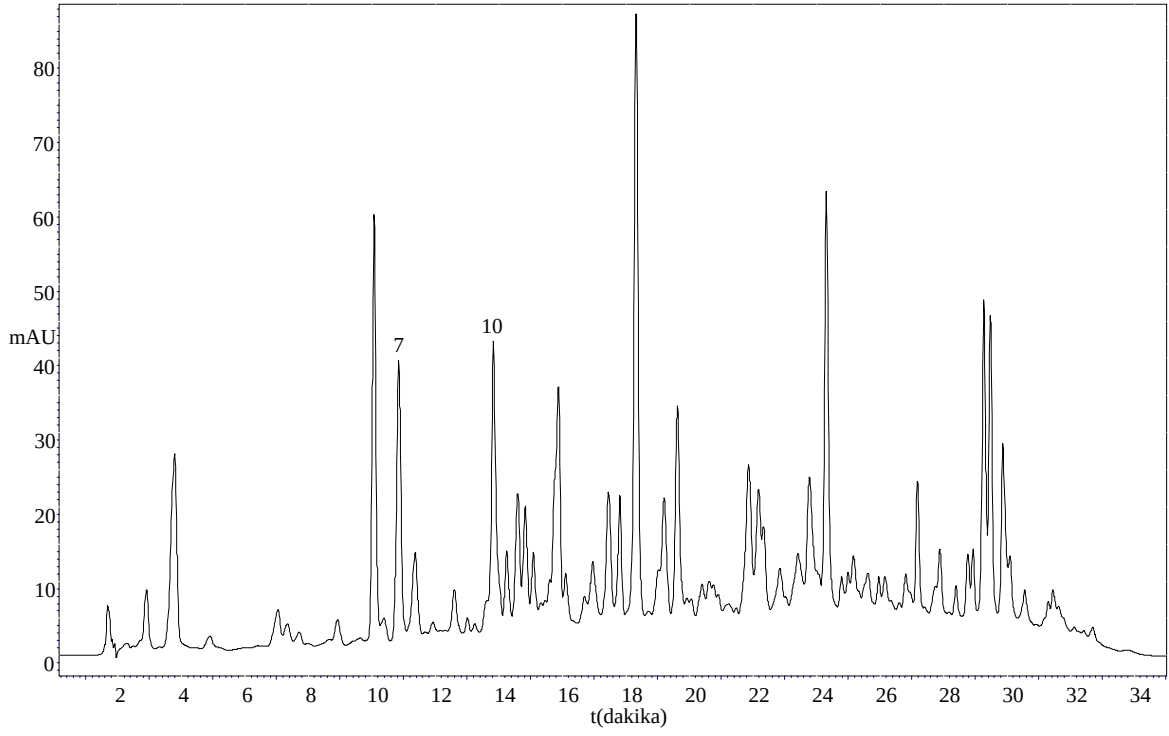
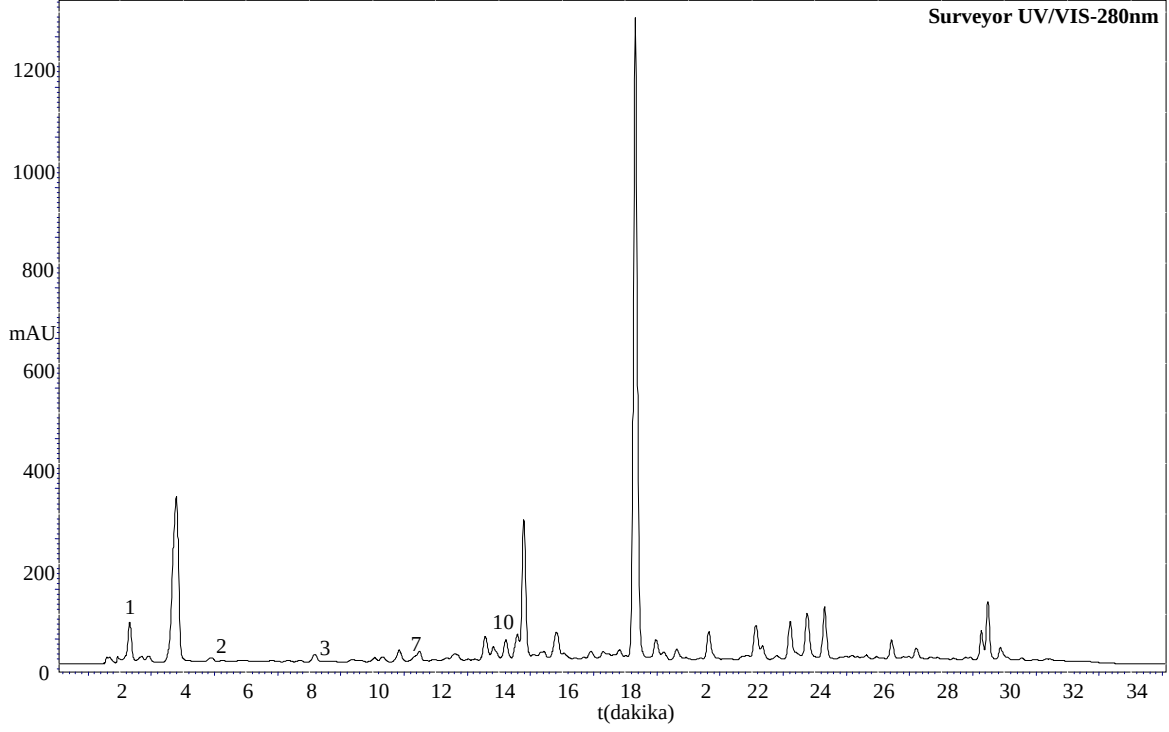
Ek 1'in devamı

- Meşel



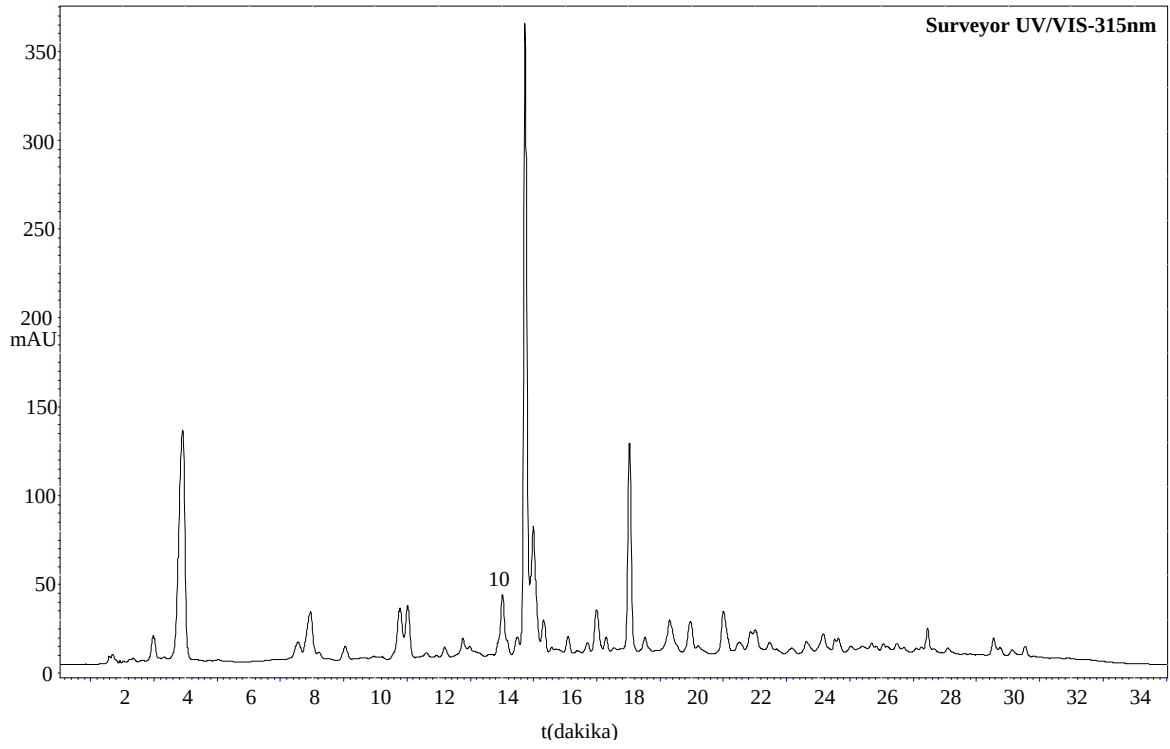
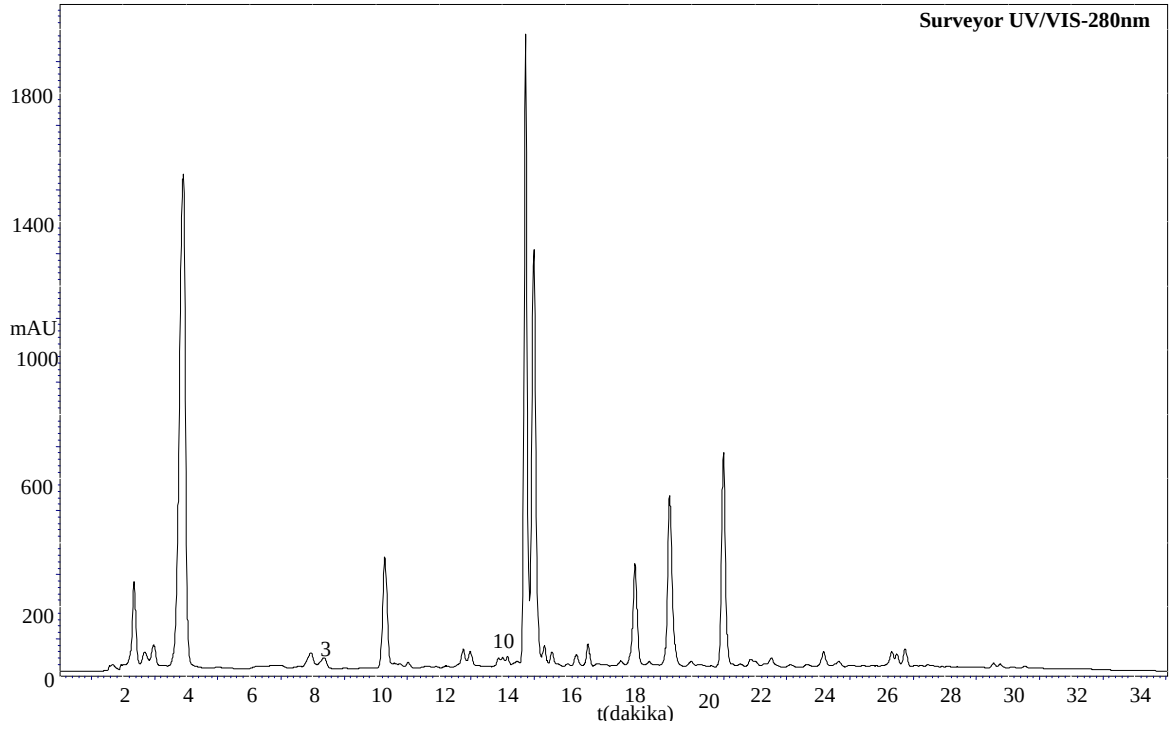
Ek 1'in devamı

- Manuka



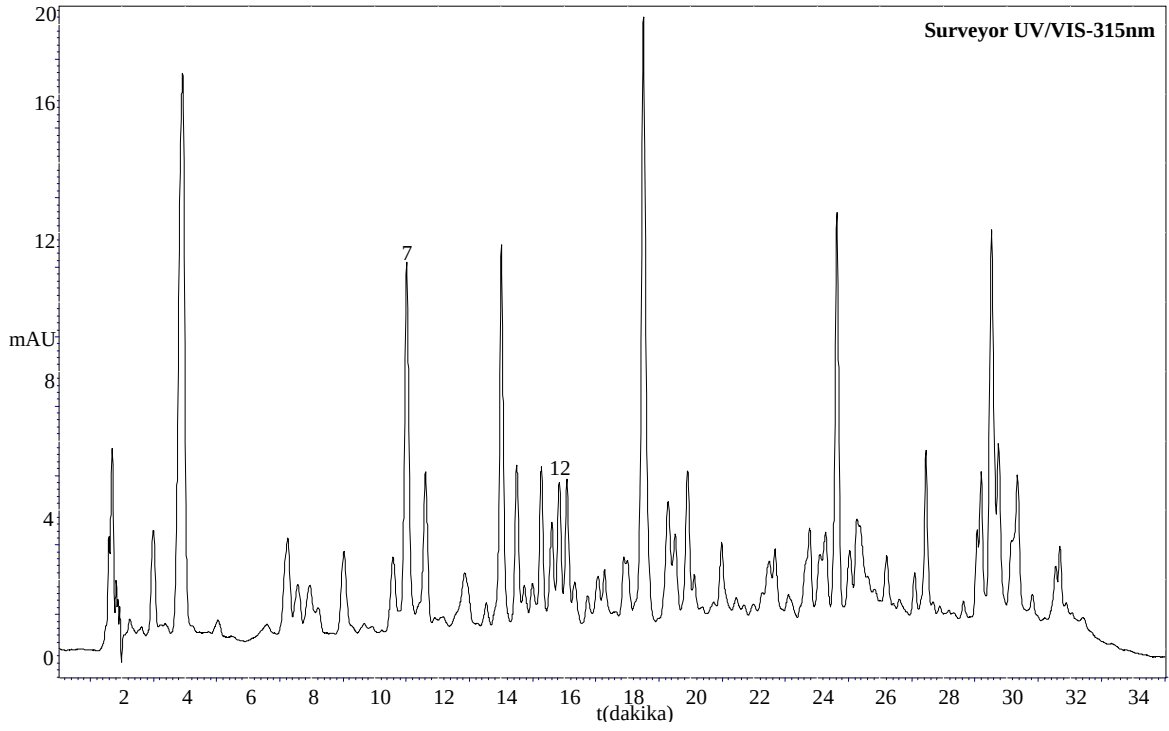
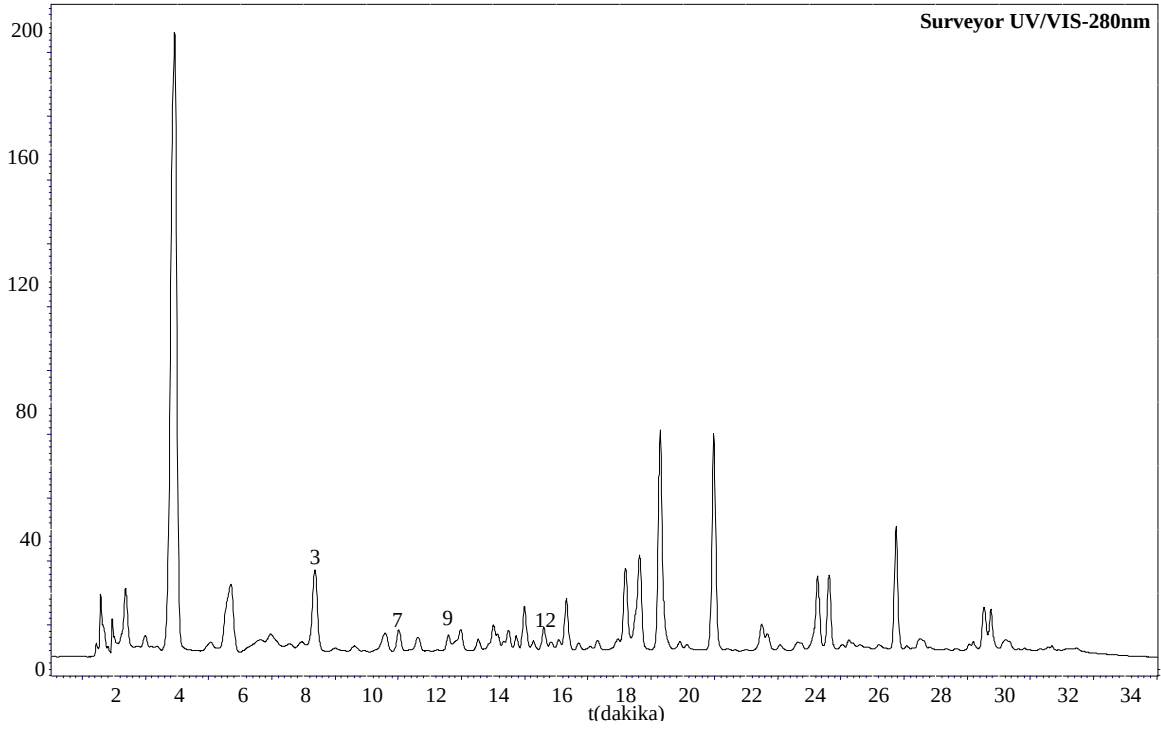
Ek 1'in devamı

- Püren 1



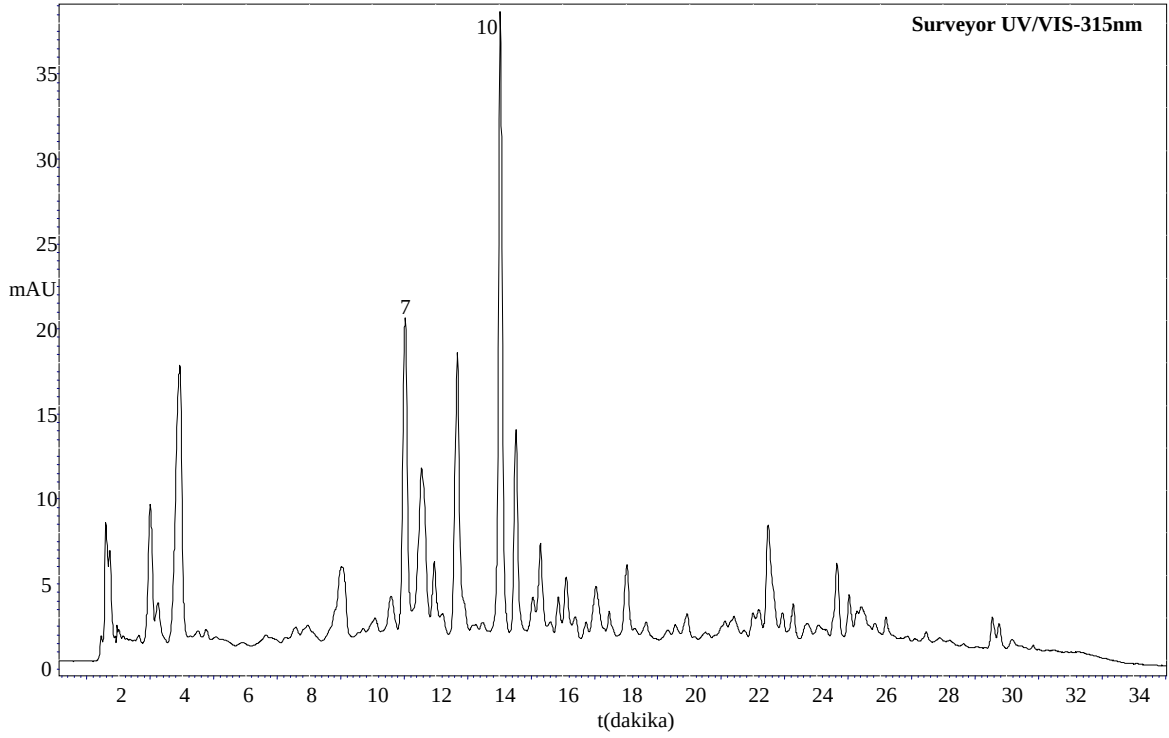
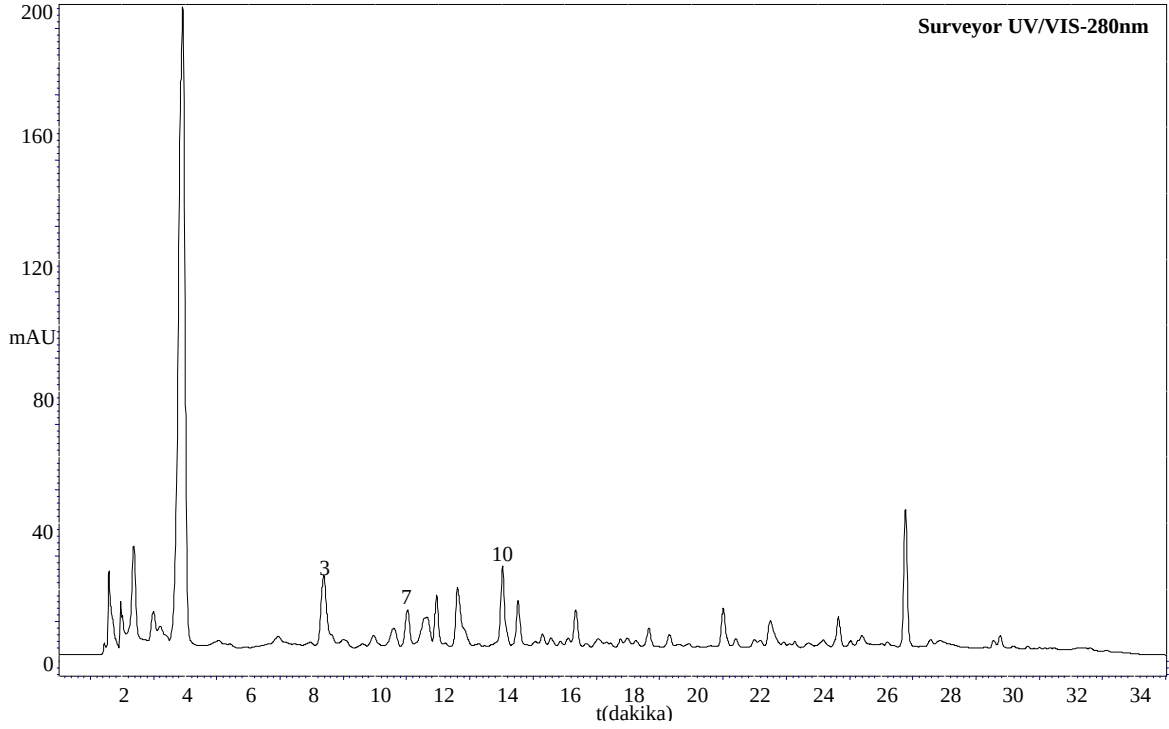
Ek 1'in devamı

- Karışık



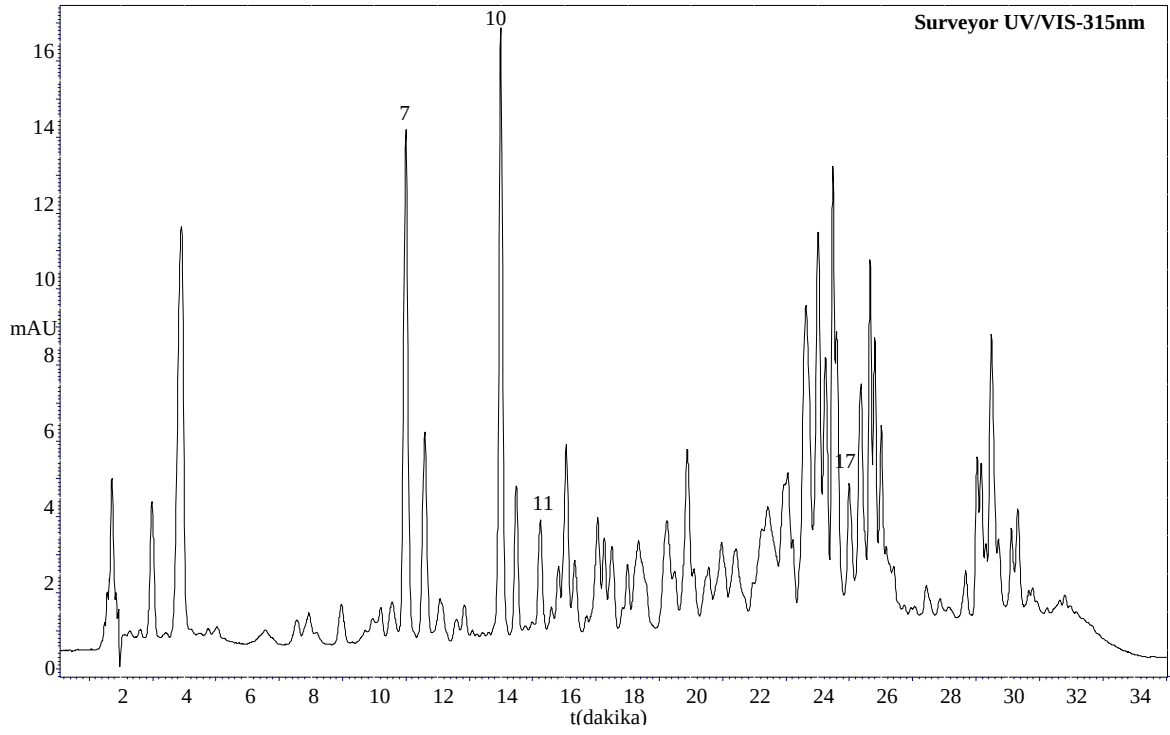
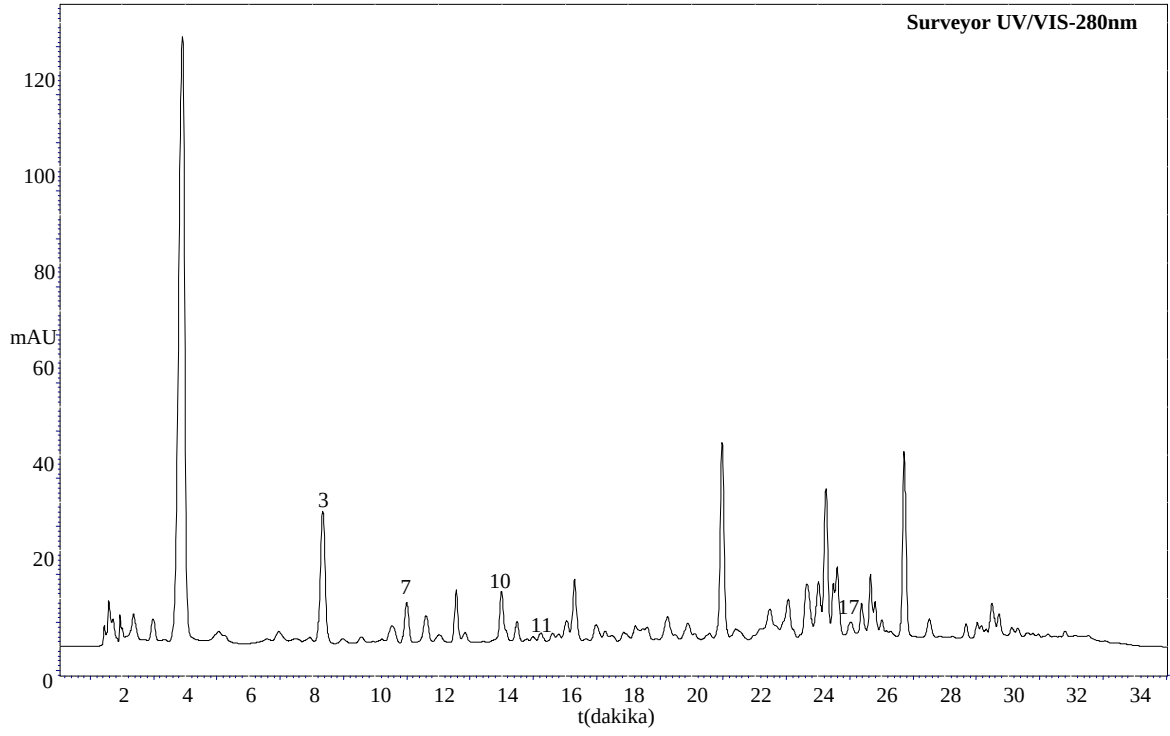
Ek 1'in devamı

• Çalba 2



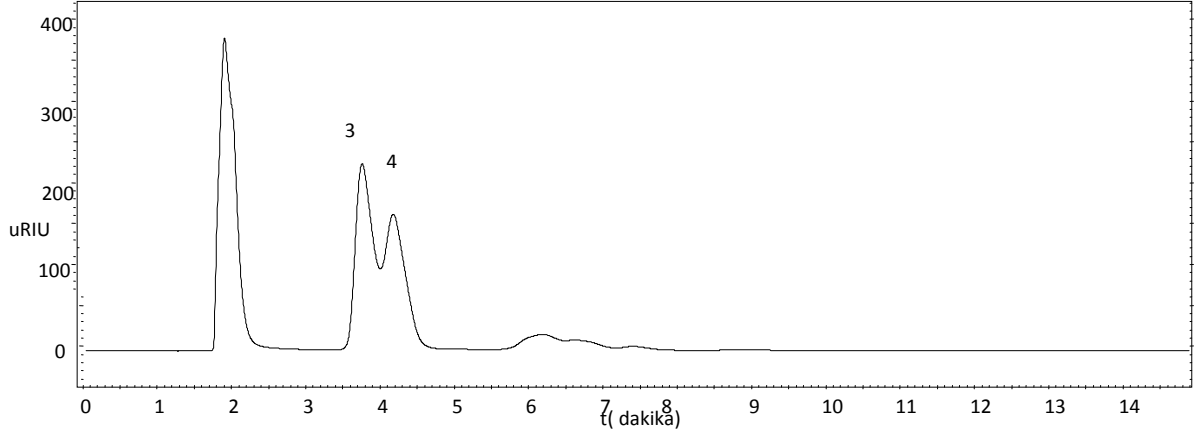
Ek 1'in devamı

- Hayıt 1

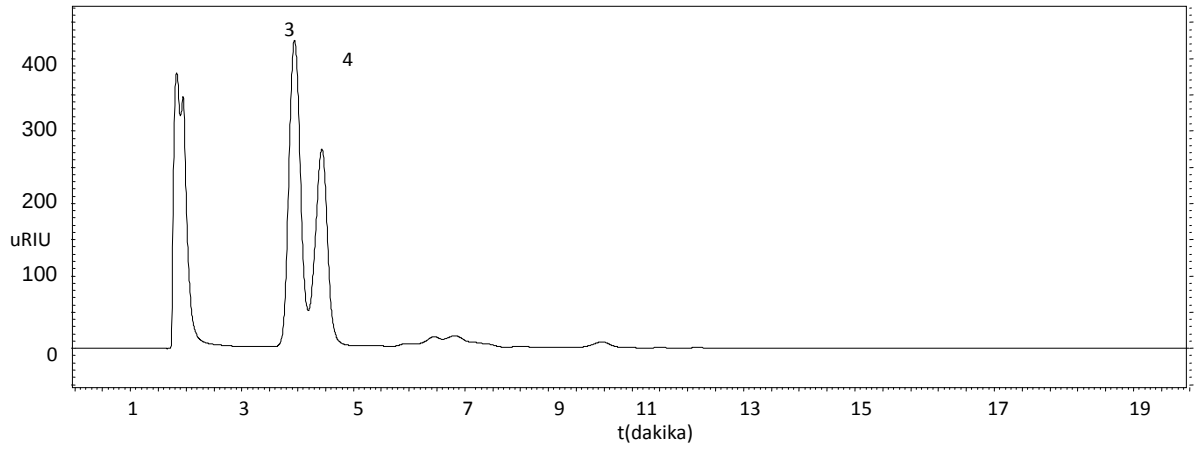


Ek 2. Bal Örneklerinin Bazılarının HPLC-RID ile Şeker Kromatogramları

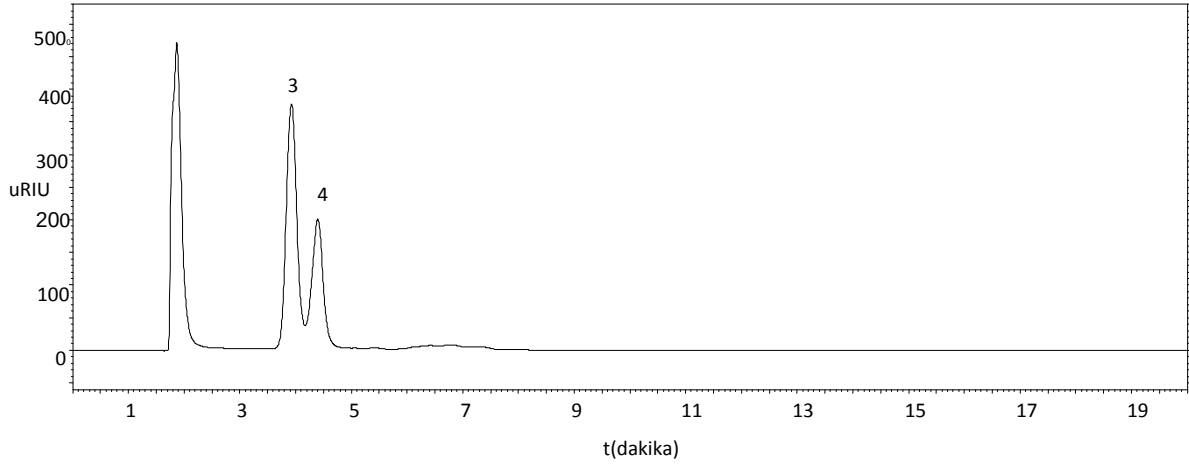
- Üçgül 3



- Akasya 2

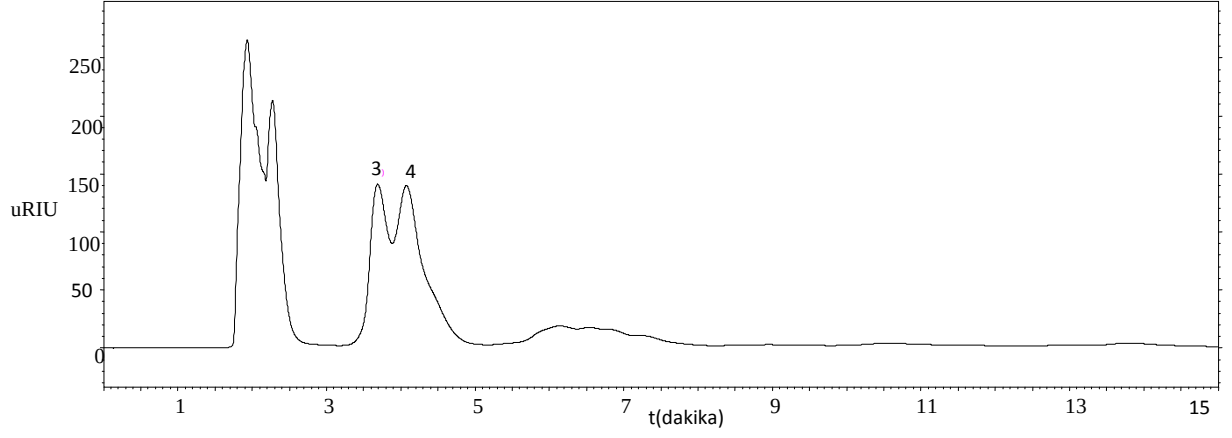


- Süper manuka

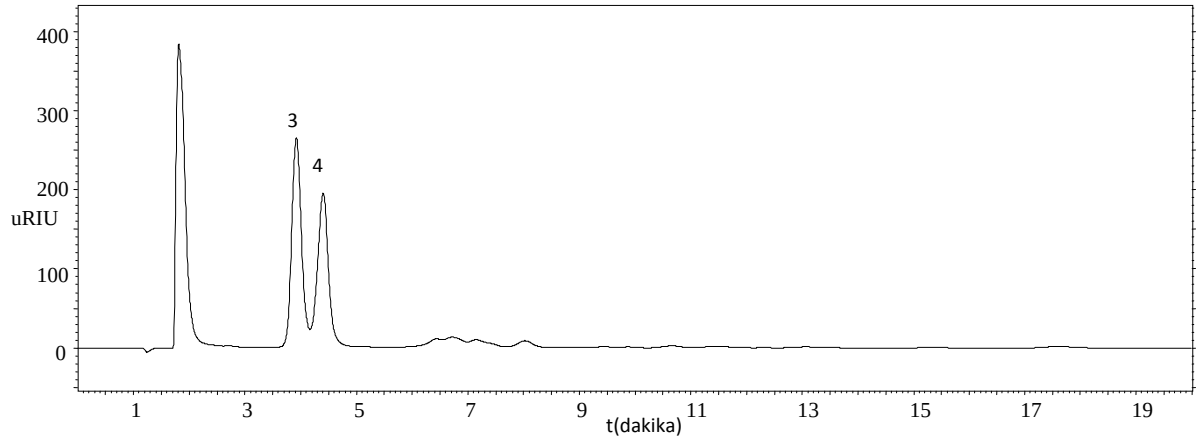


Ek 2'in devamı

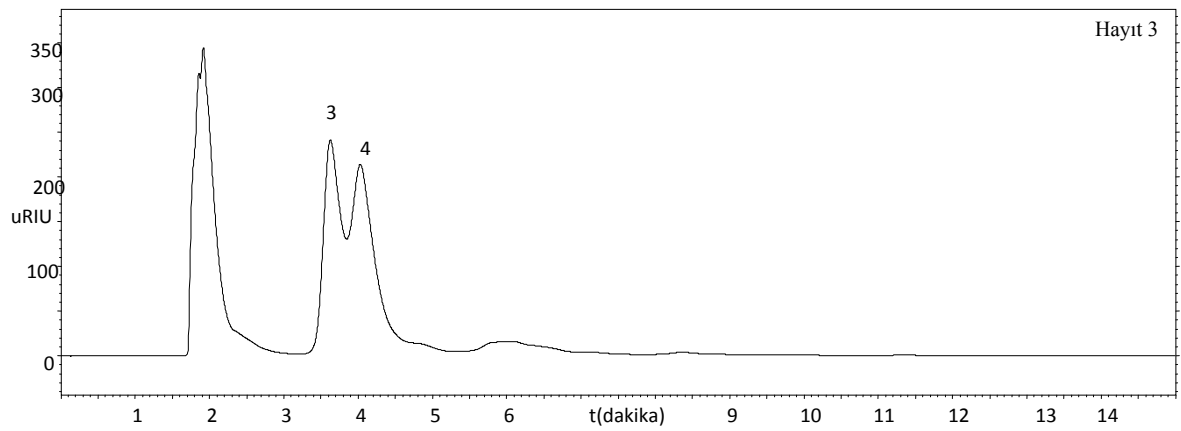
• Karışık 4



• Püren 3

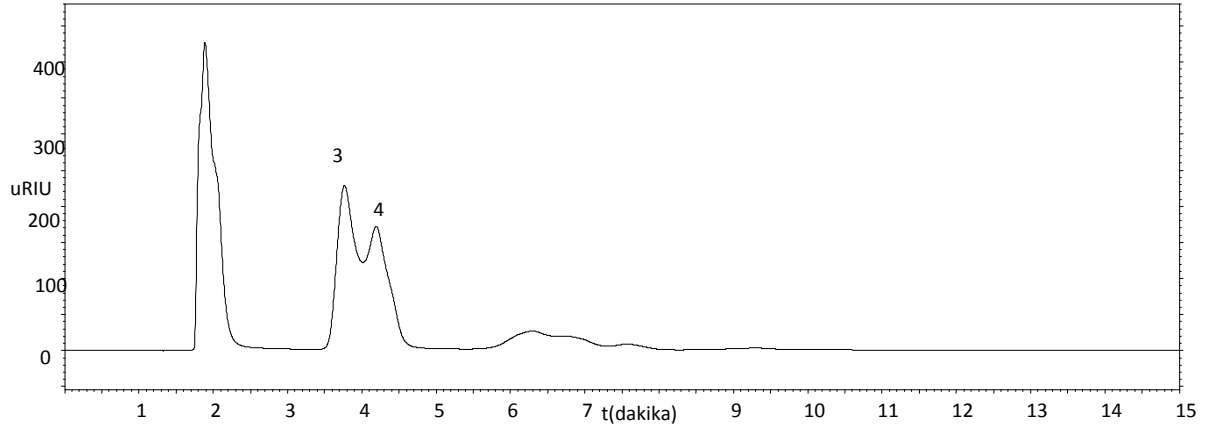


• Hayıt 3

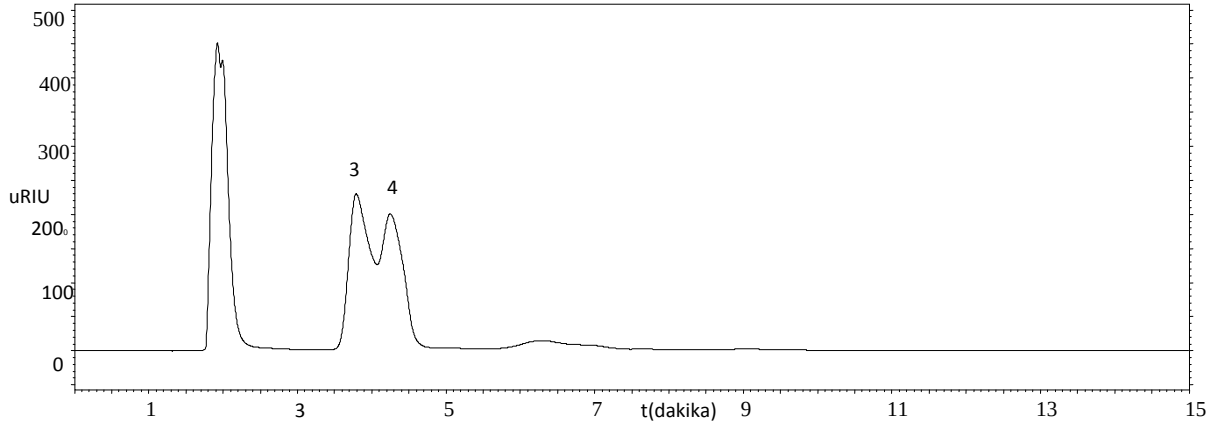


Ek 2'in devamı

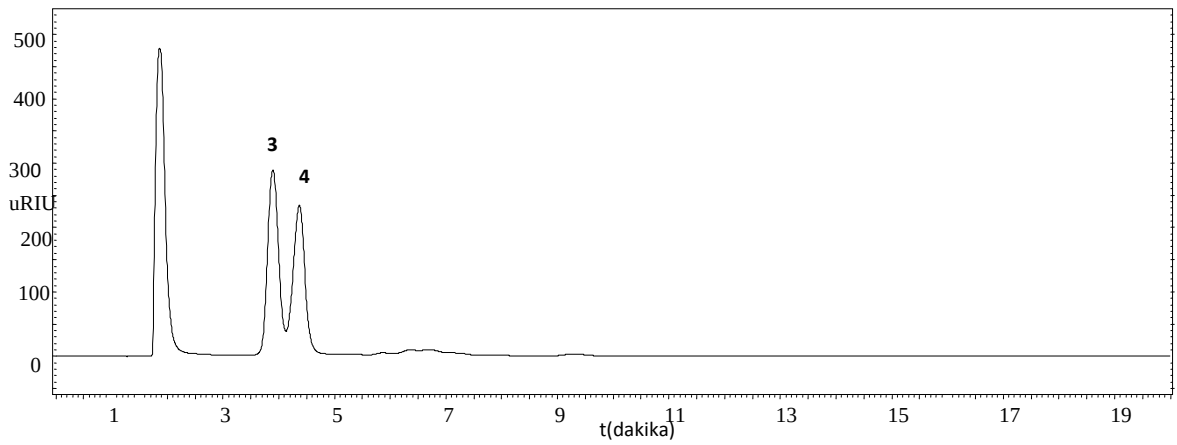
- Meşe 3



- Ayçiçeği 3

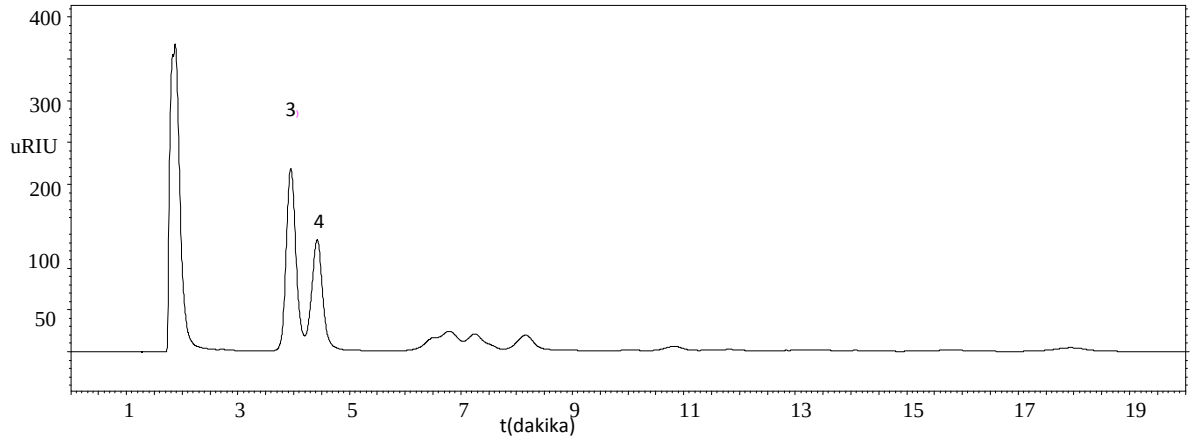


- Geven 1

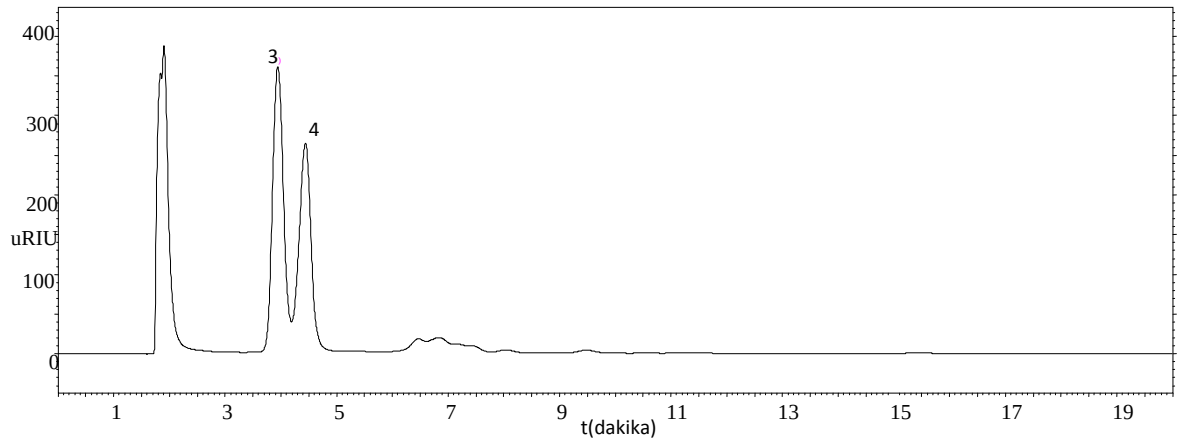


Ek 2'in devamı

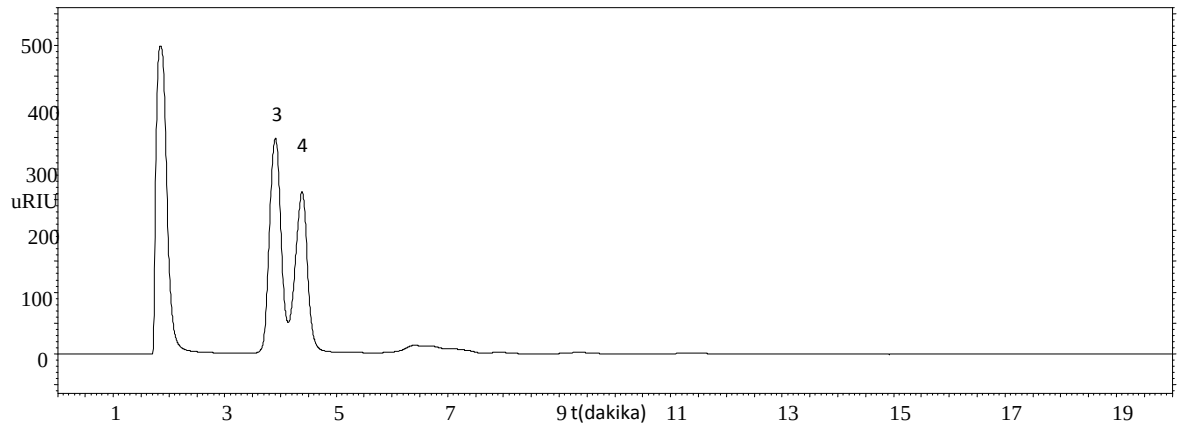
- Çam 2



- Lavanta 4

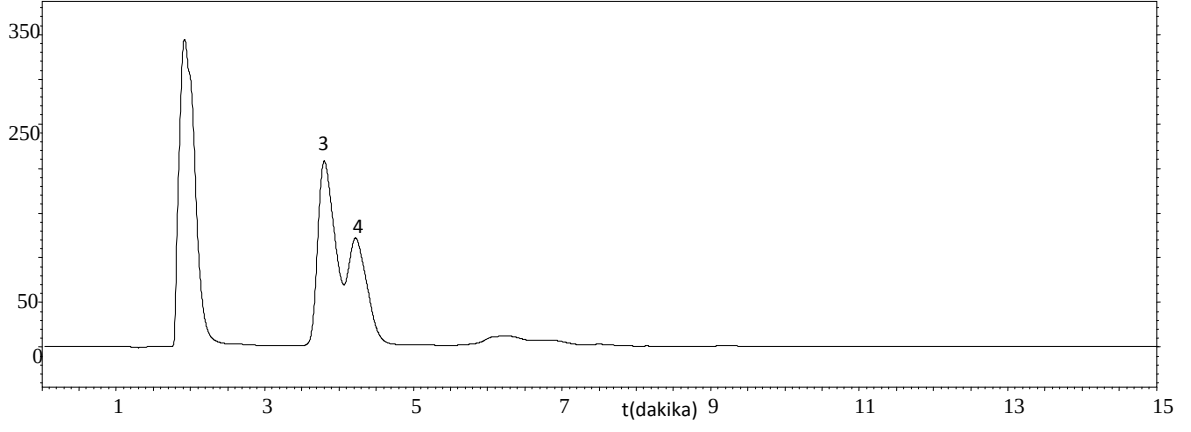


- Manuka

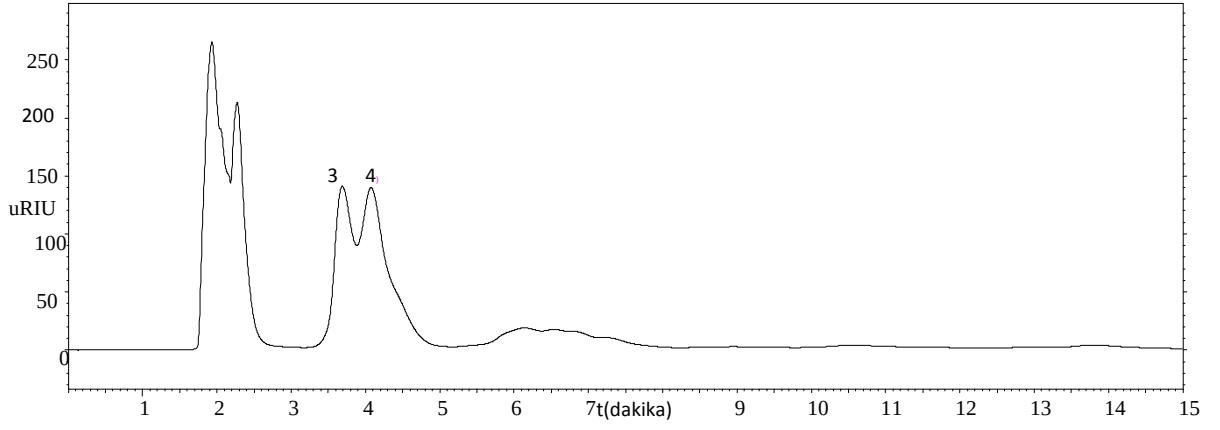


Ek 2'in devamı

- Çalba 3

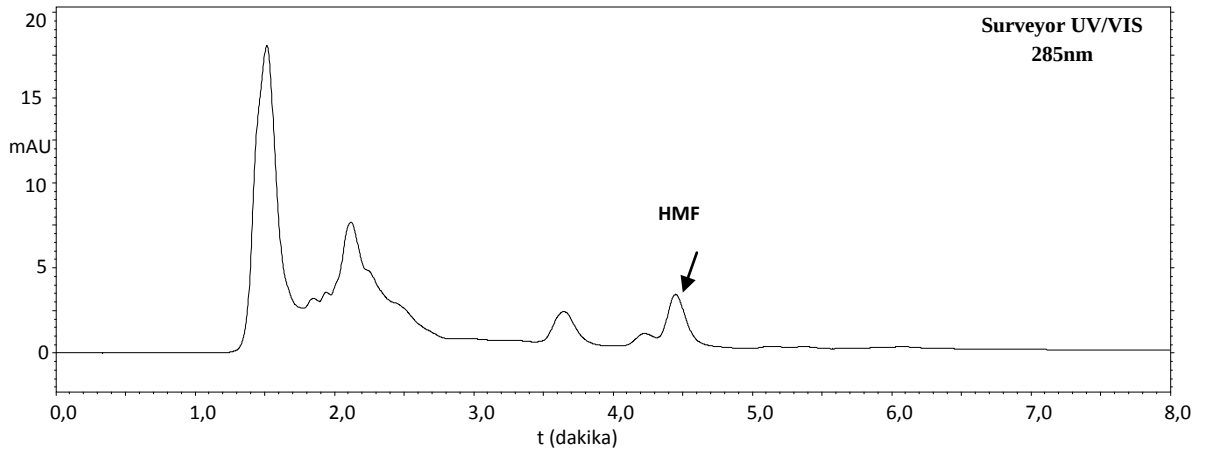


- Karışık 8

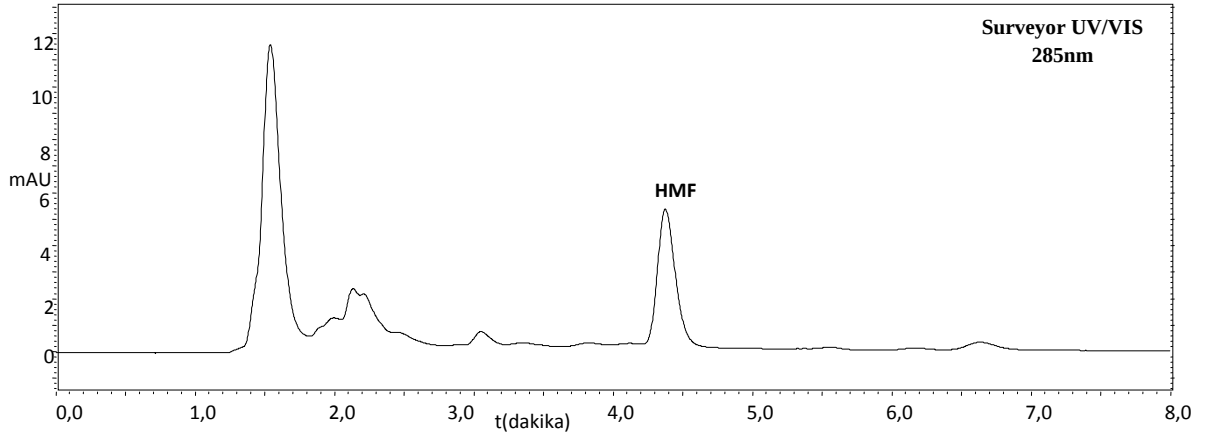


Ek 3. Bal Örneklerinden Bazılarının HPLC-UV ile HMF Kromatogramları

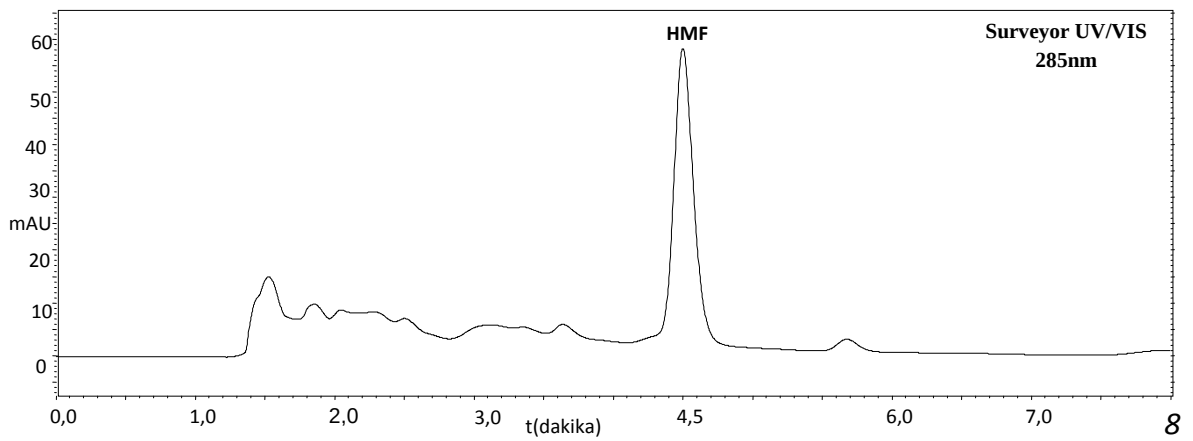
- Ayçiçeği 1



- Geven 1

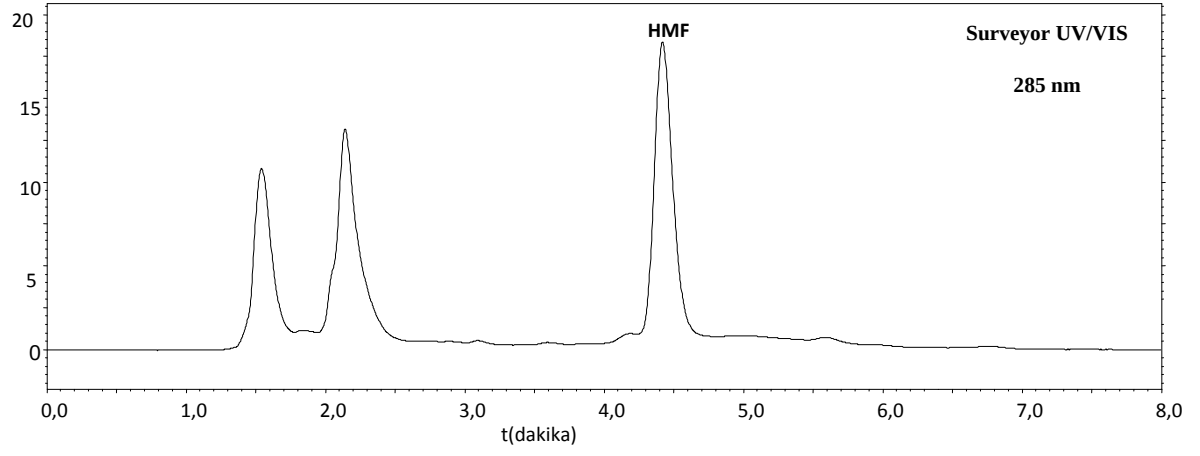


- Püren 1

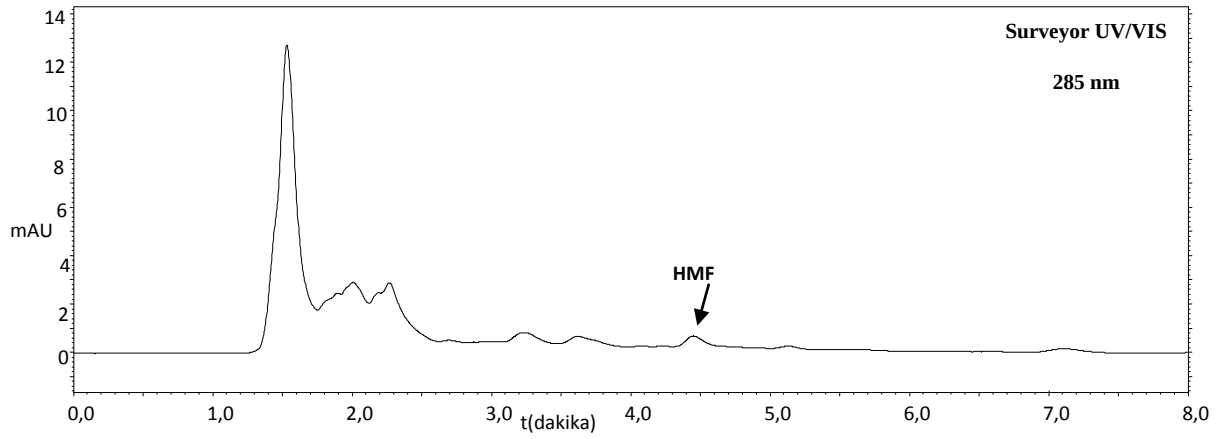


Ek 3'ün devamı

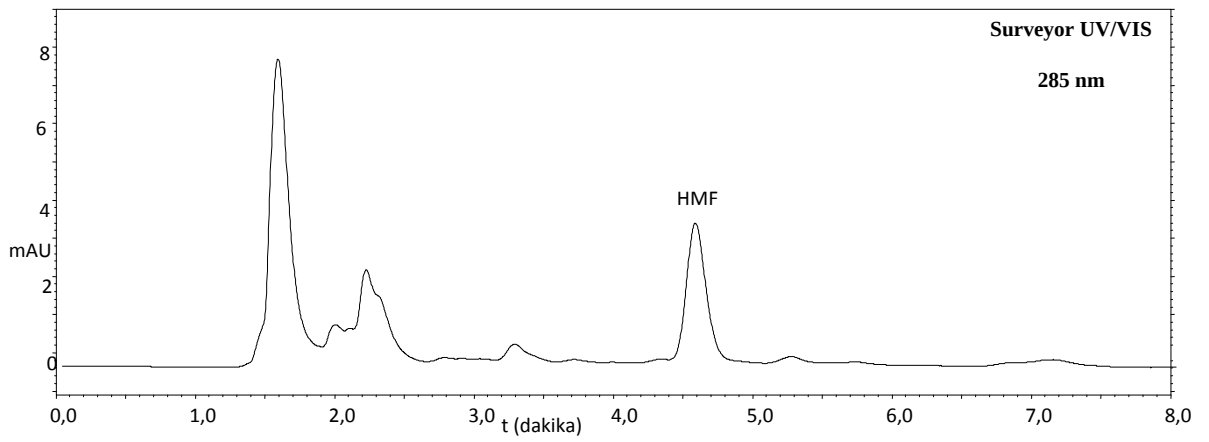
• Lavanta 1



• Çalba 1

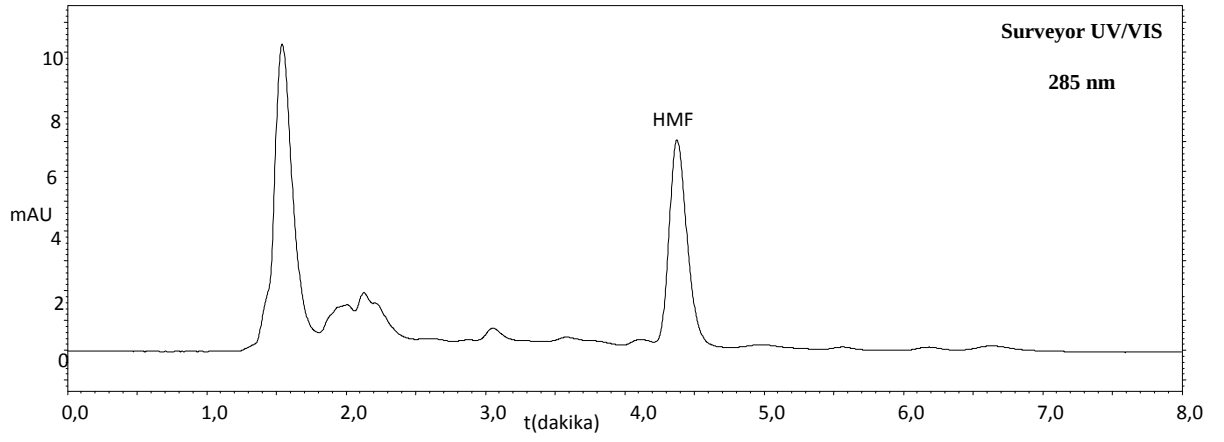


• Karışık 1

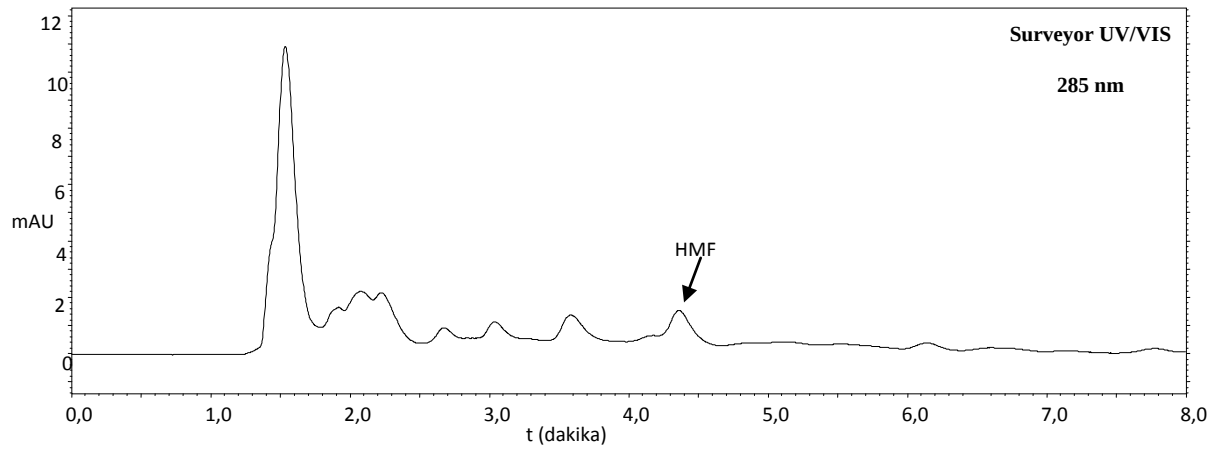


Ek 3'ün devamı

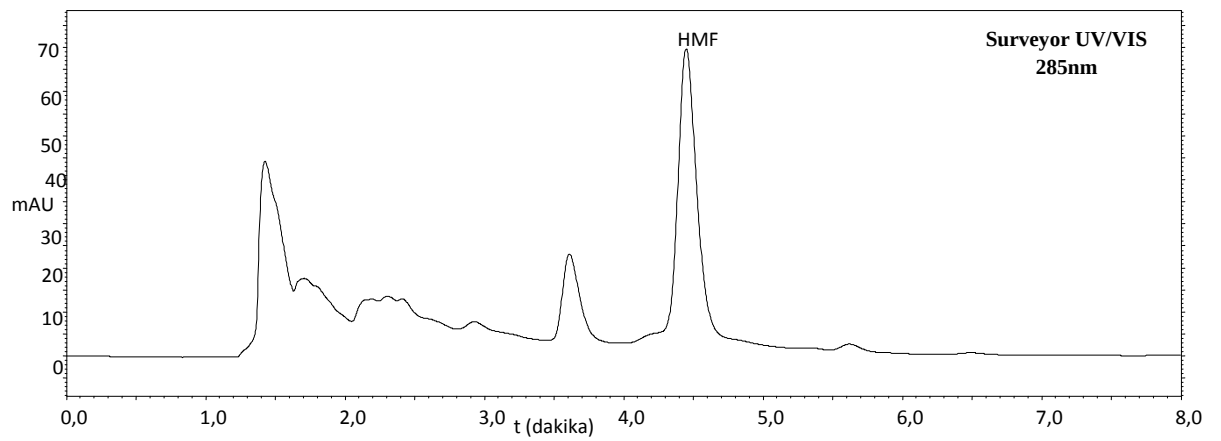
- Hayıt 3



- Ihlamur 2

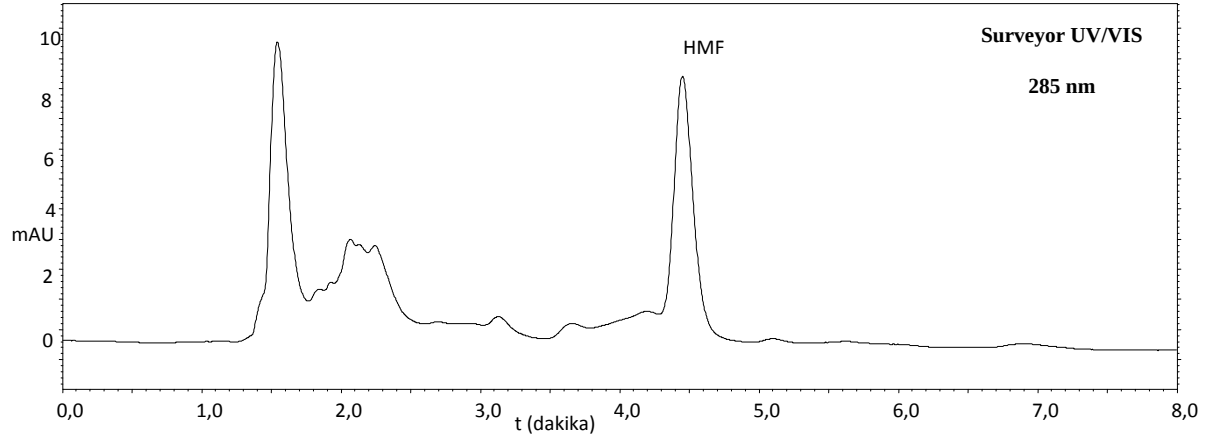


- Kestane 8

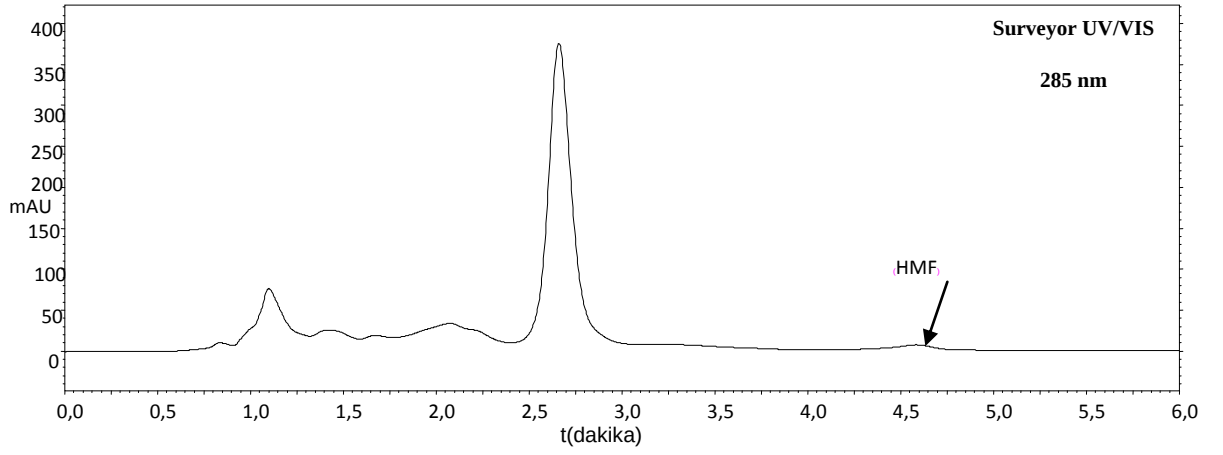


Ek 3'ün devamı

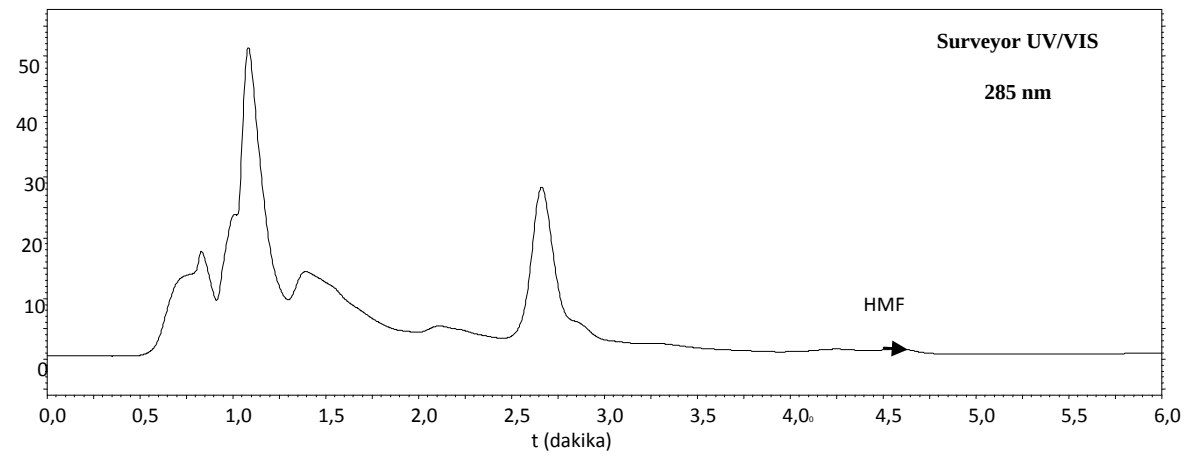
- Üçgül 1



- Süper manuka

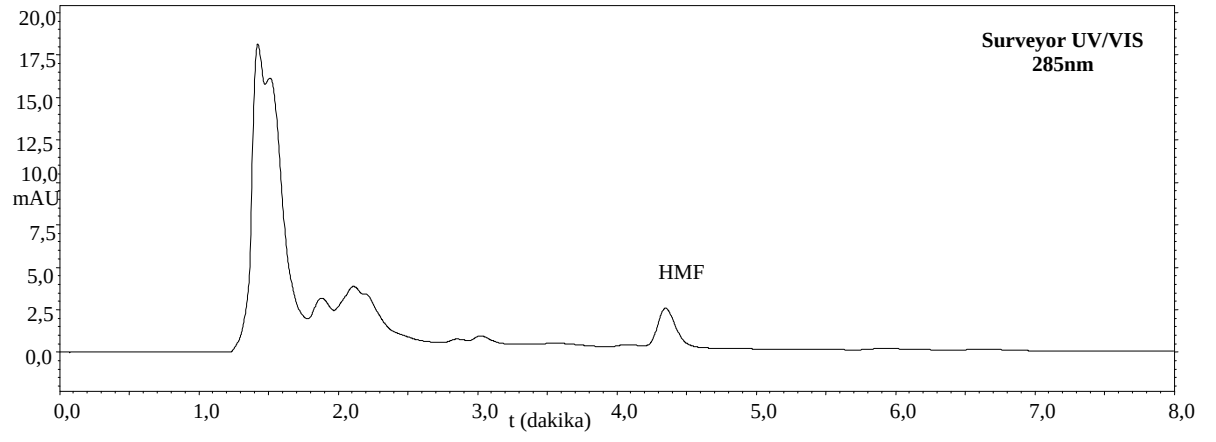


- Manuka

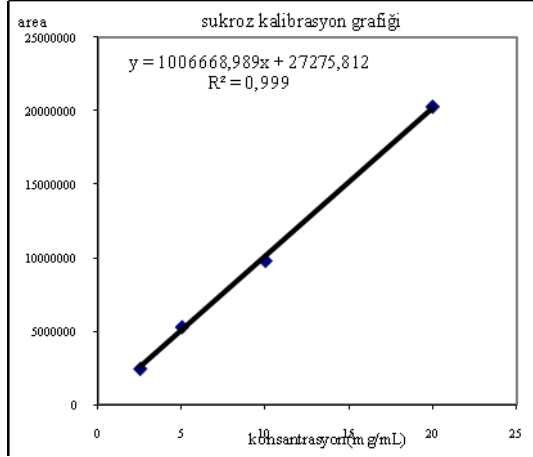
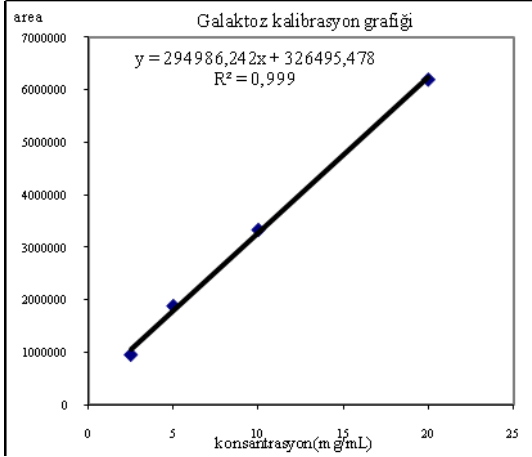
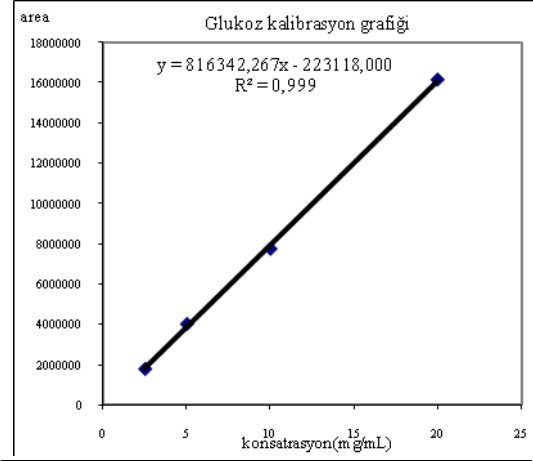
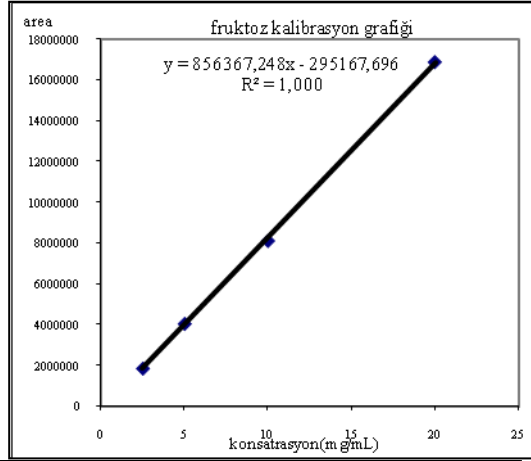
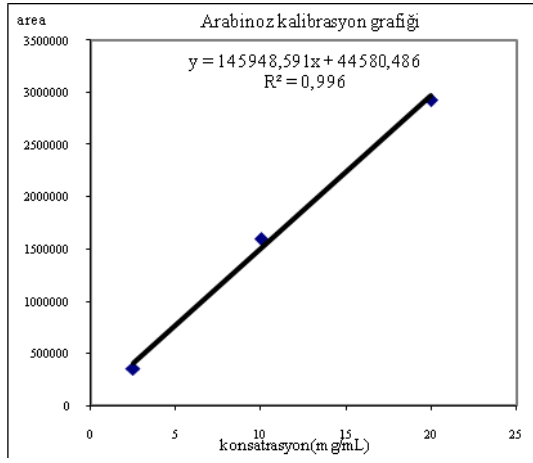
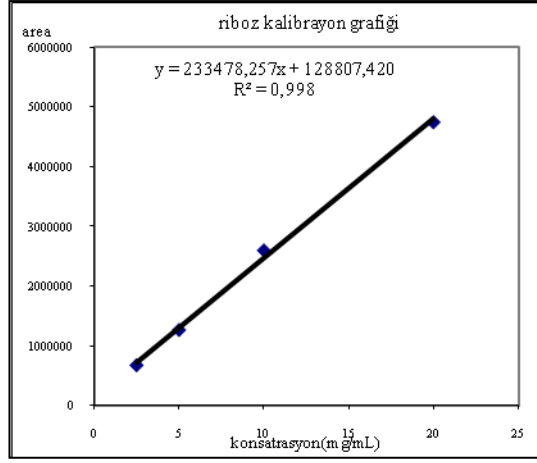


Ek 3'ün devamı

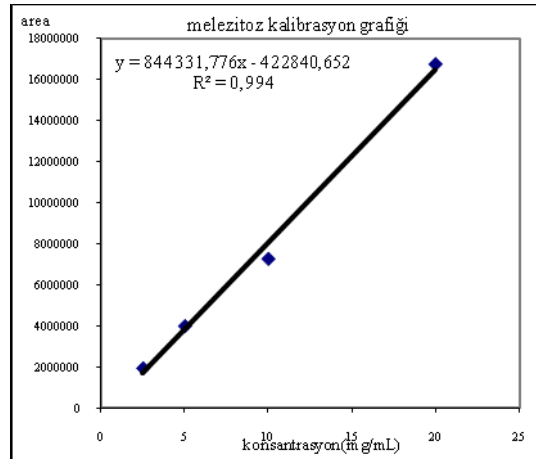
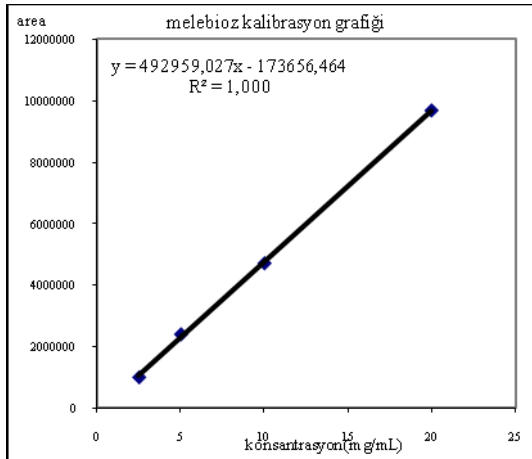
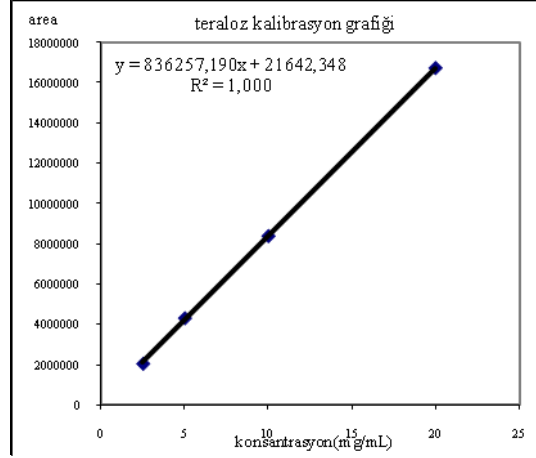
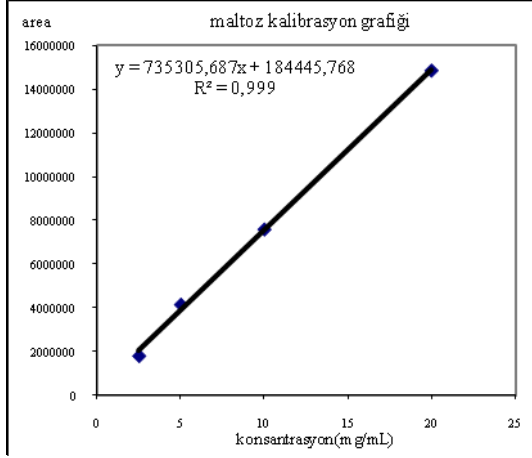
- Geven 4



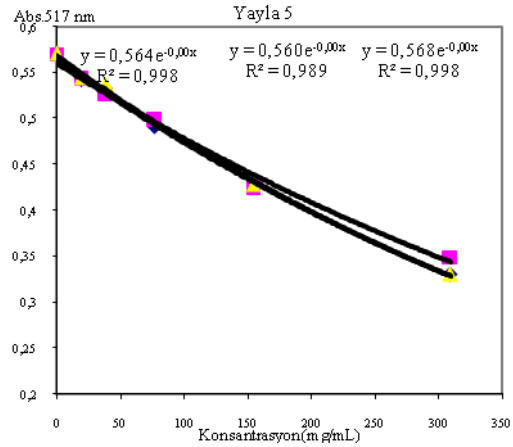
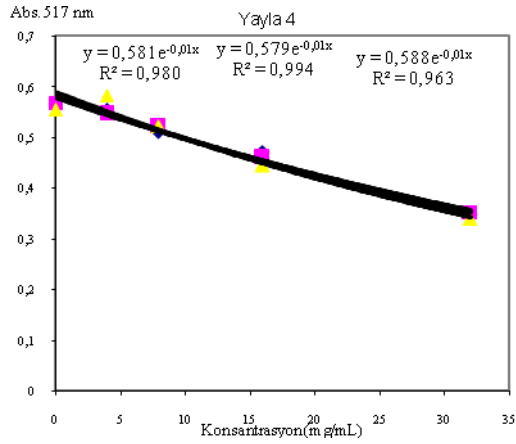
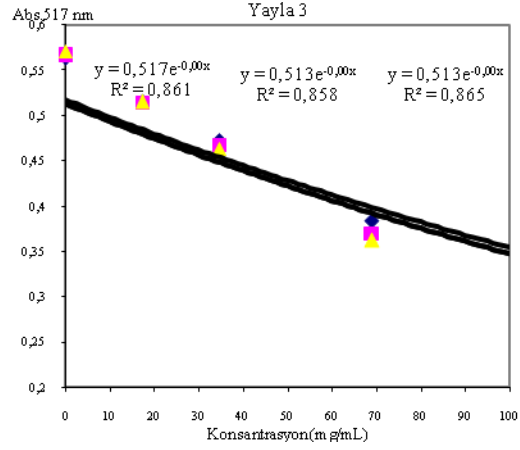
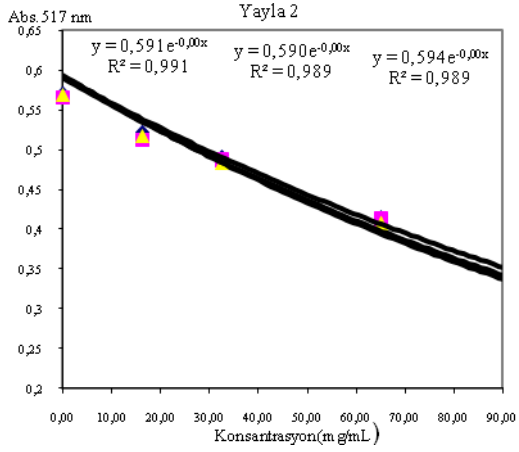
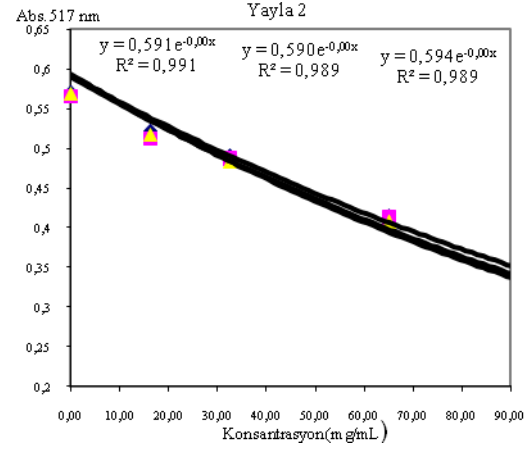
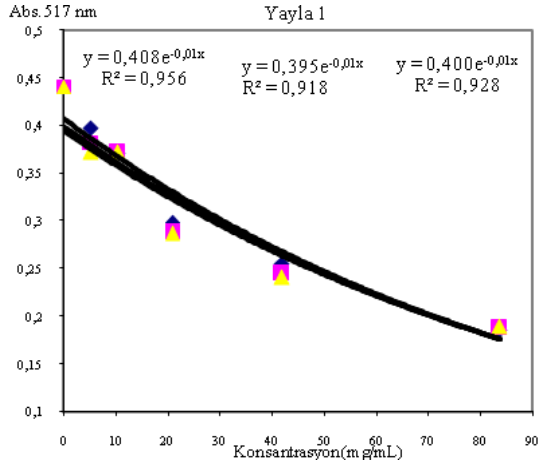
Ek 4. Şeker Bileşenleri İçin Kalibrasyon Grafikleri



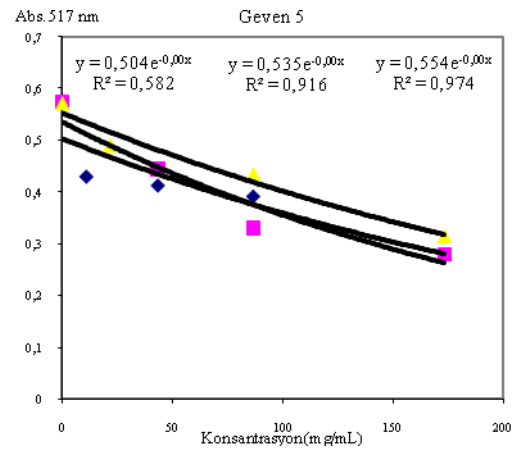
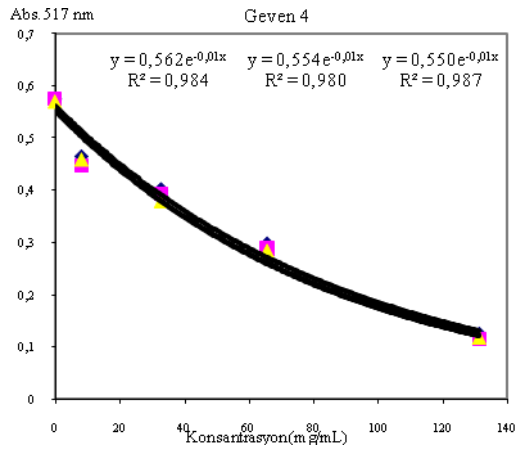
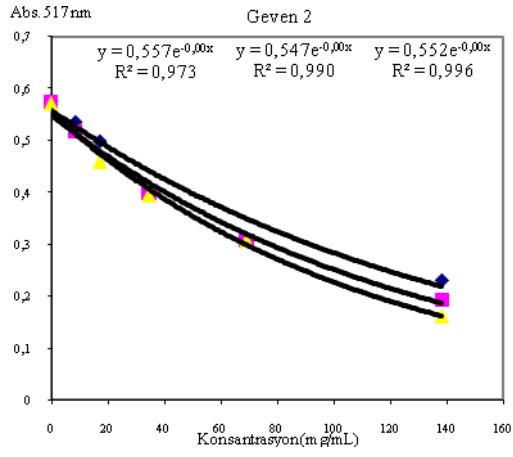
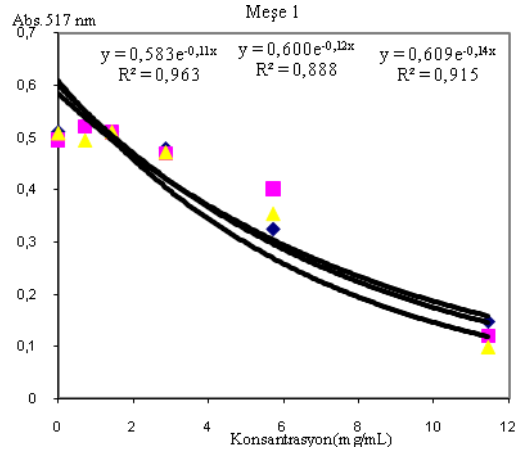
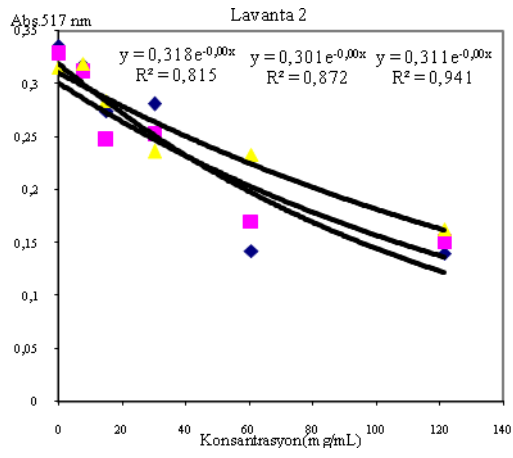
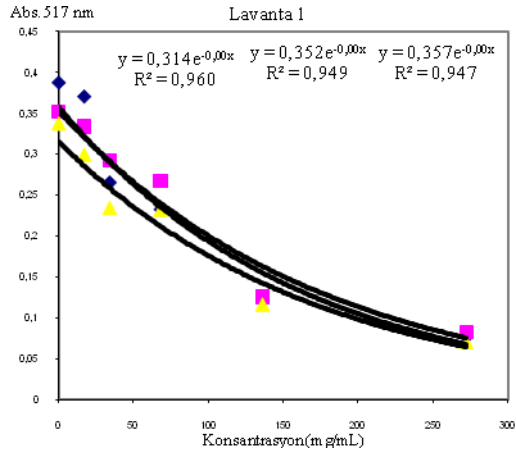
Ek 4'ün devamı



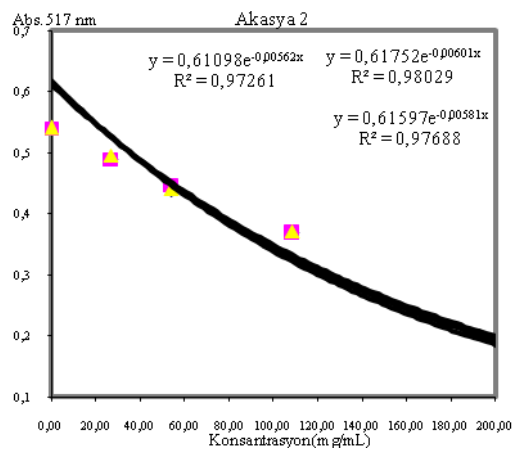
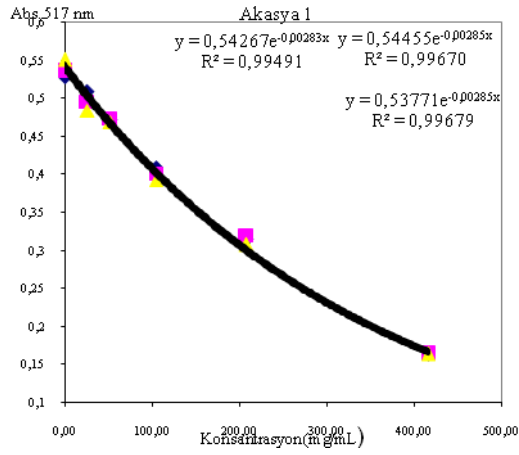
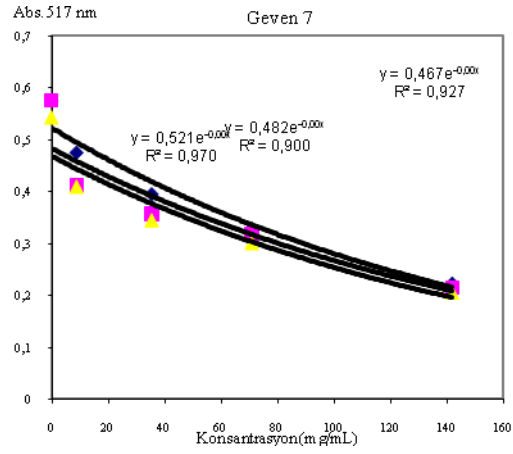
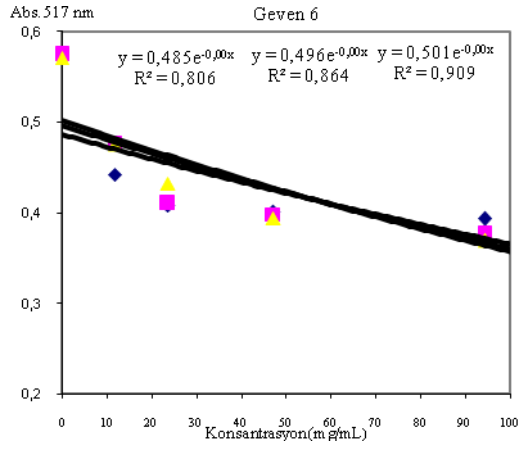
Ek 5. Bal Örneklerinden Bazılarının DPPH-SC₅₀ Grafikleri



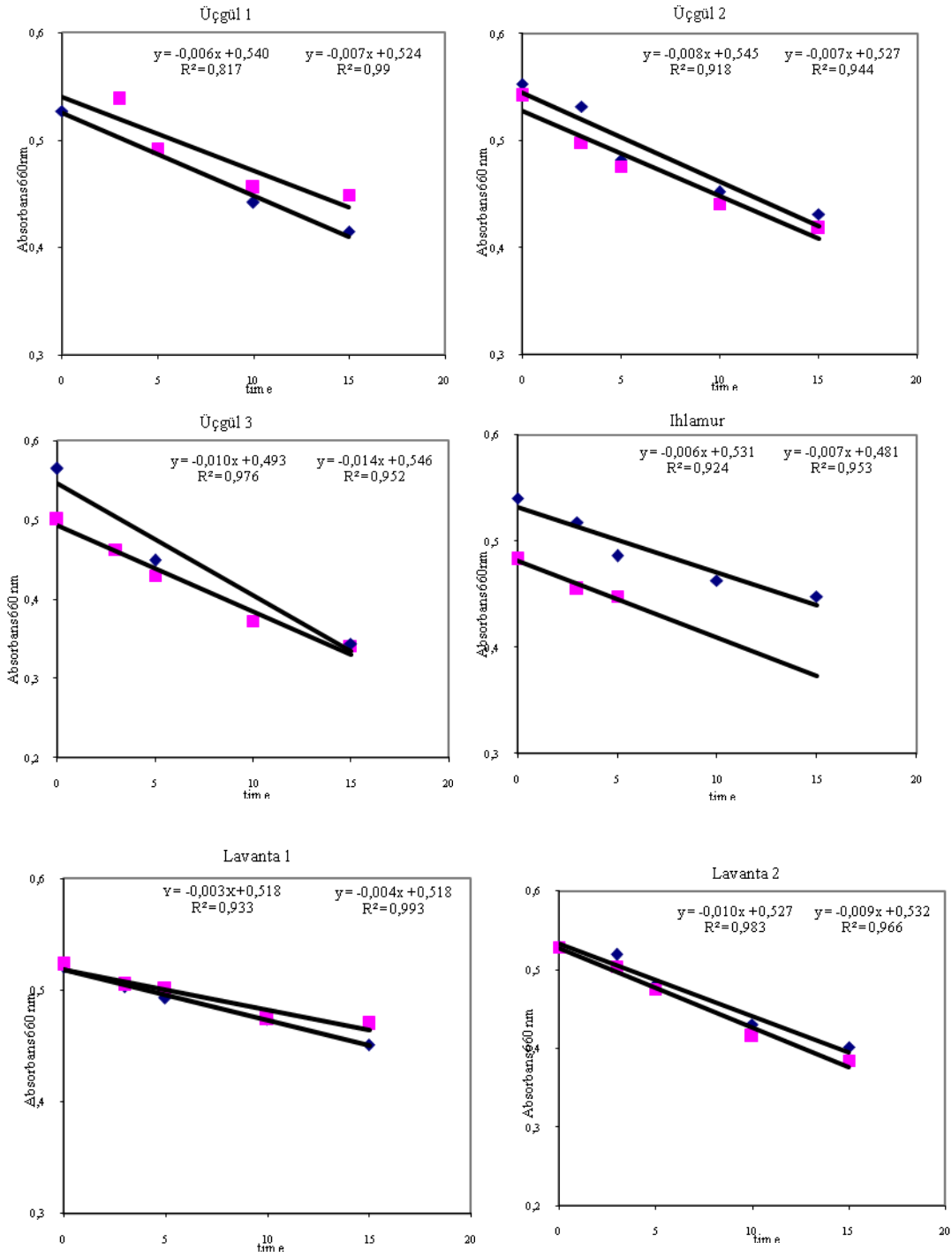
Ek 5'in devamı



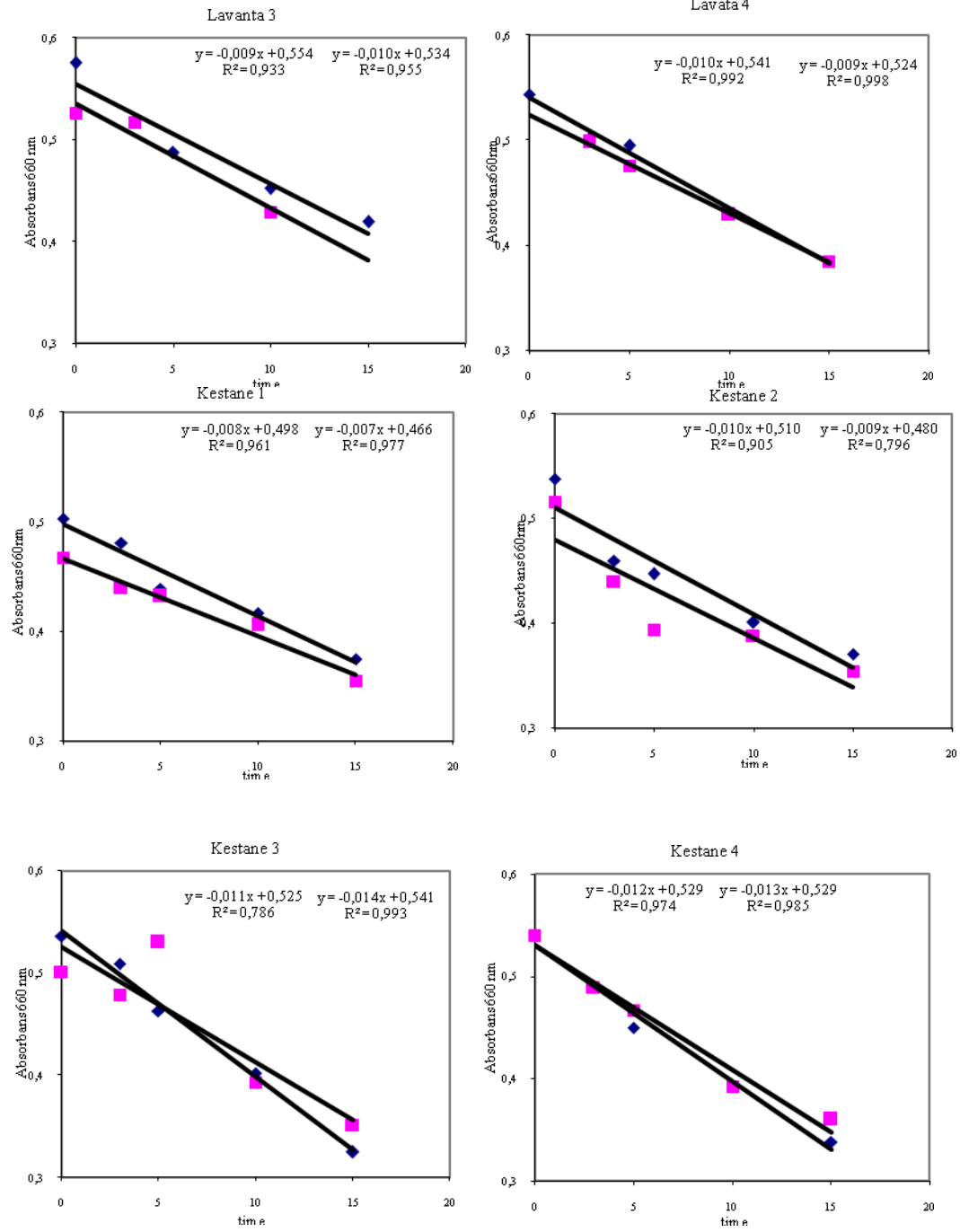
Ek 5'in devamı



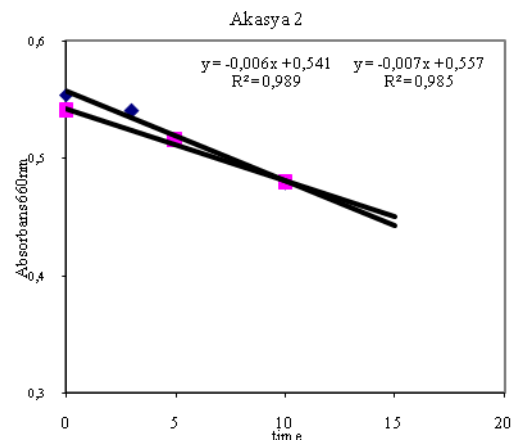
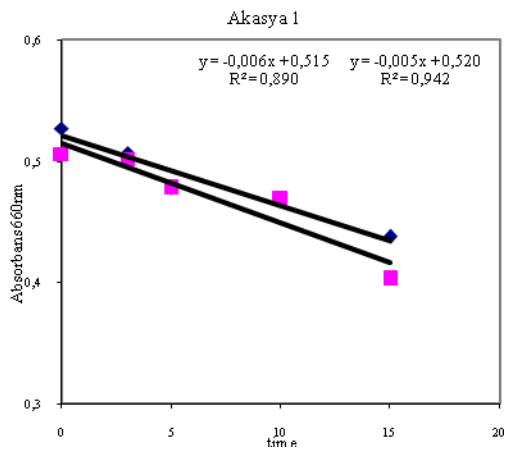
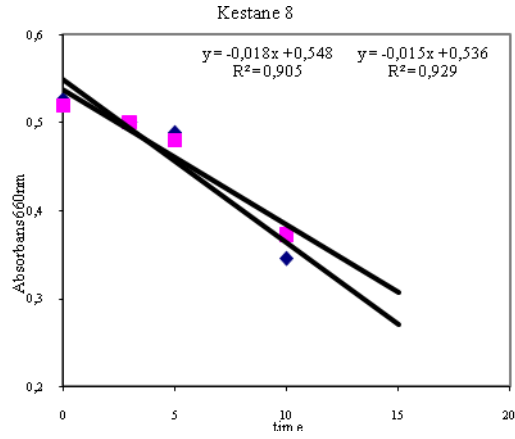
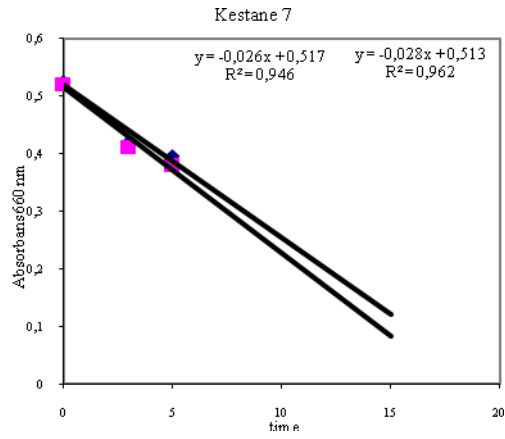
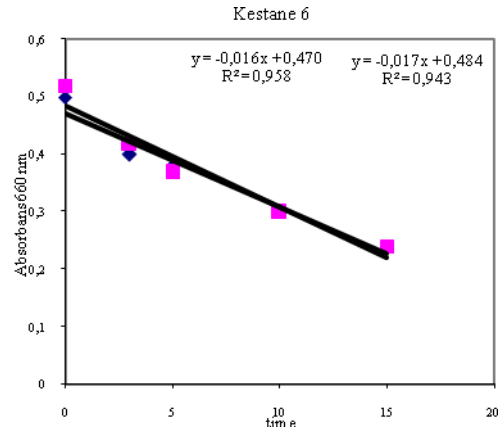
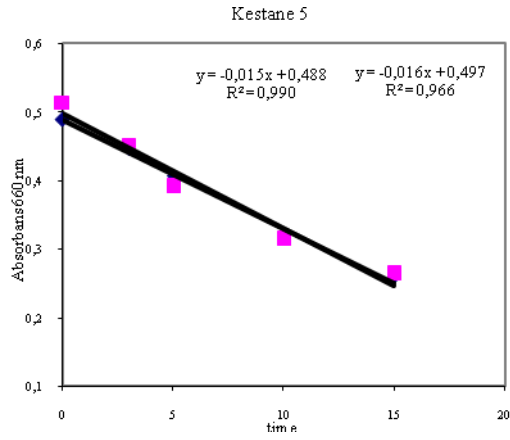
Ek 6. Bal Örneklerinden Bazılarının Diastaz Aktivite Grafikleri



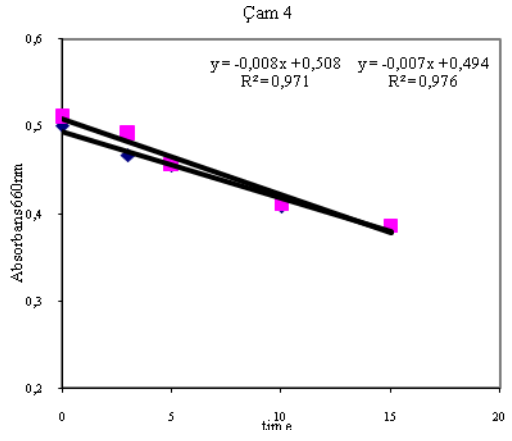
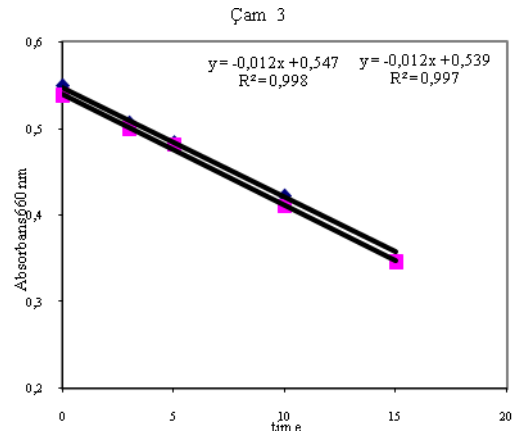
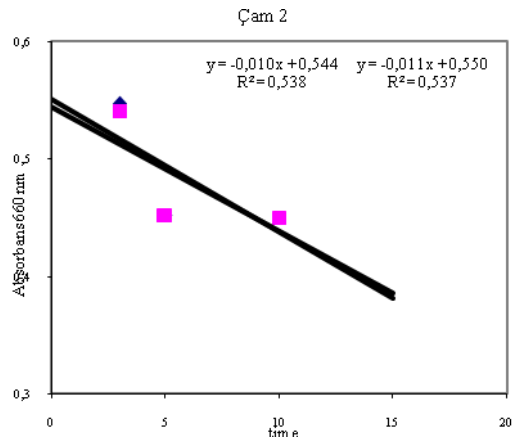
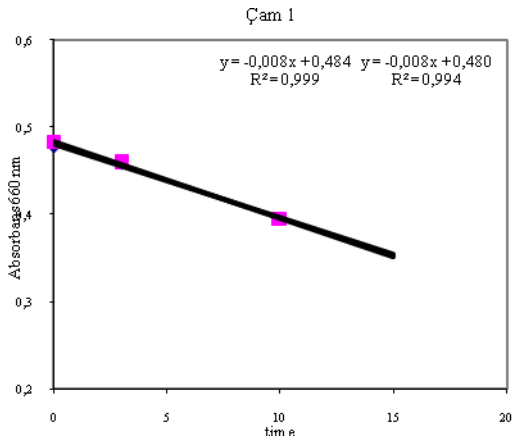
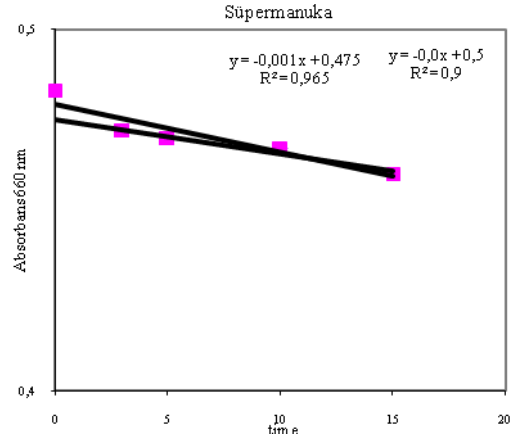
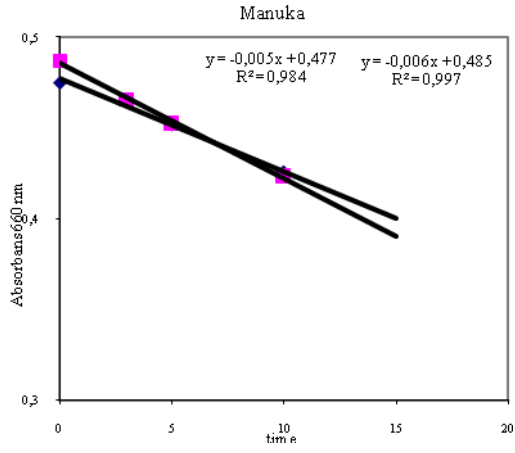
Ek 6'ın devamı



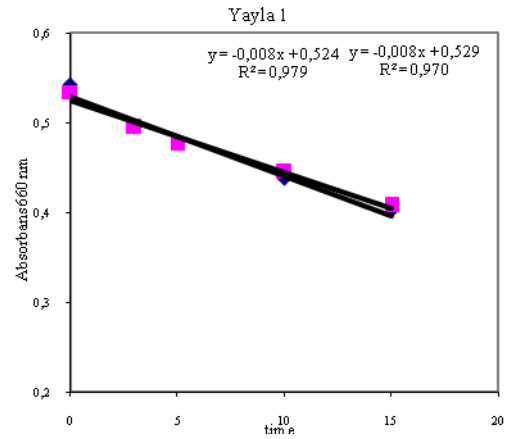
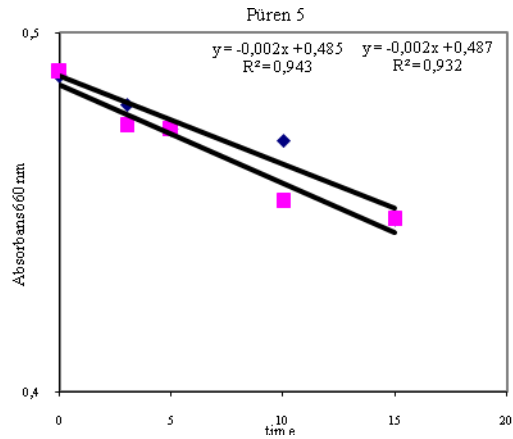
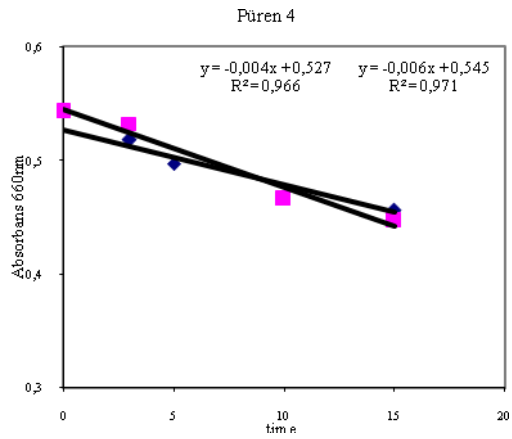
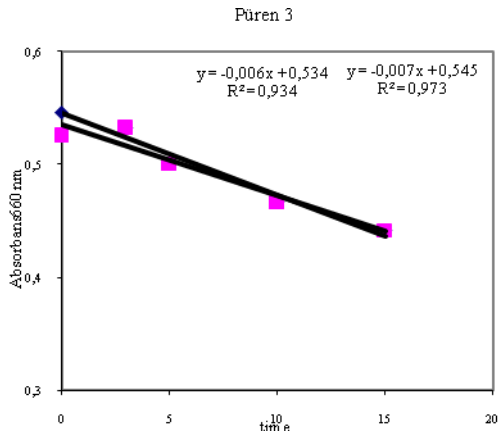
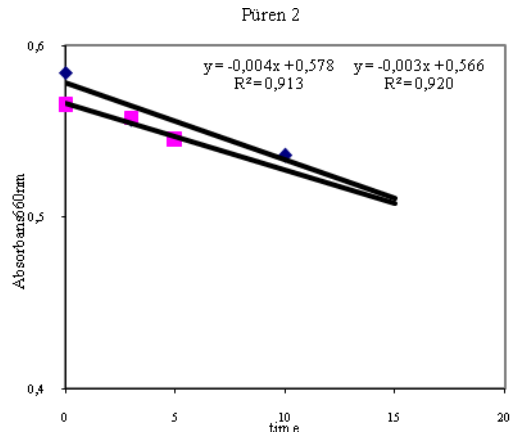
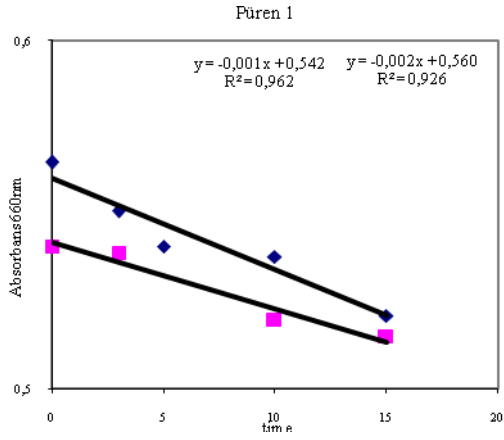
Ek 6'ın devamı



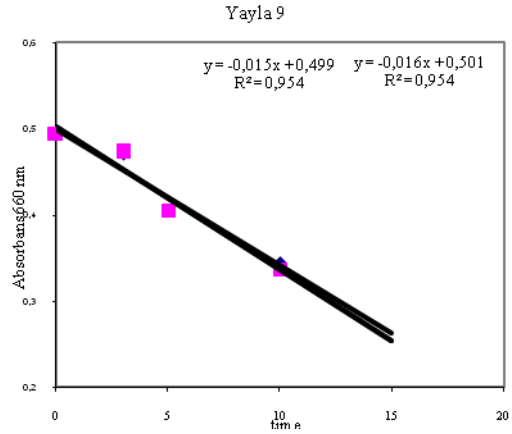
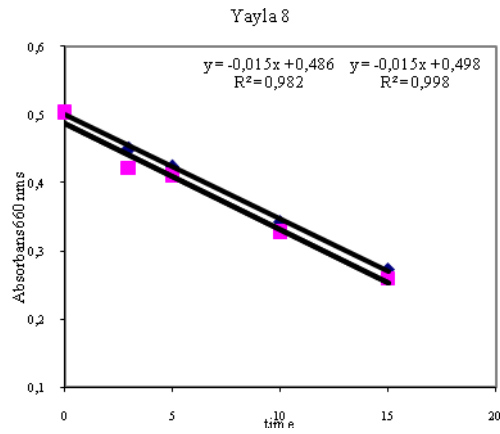
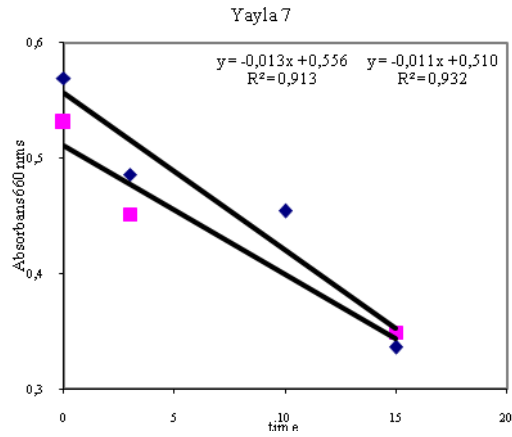
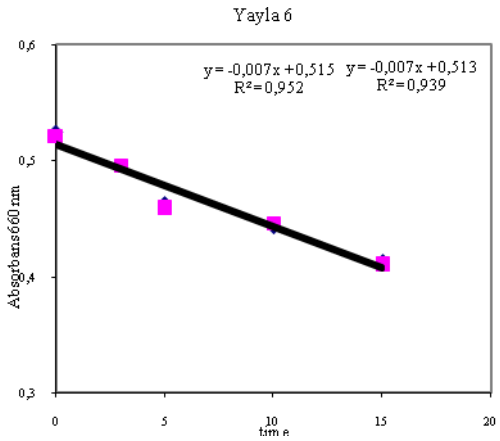
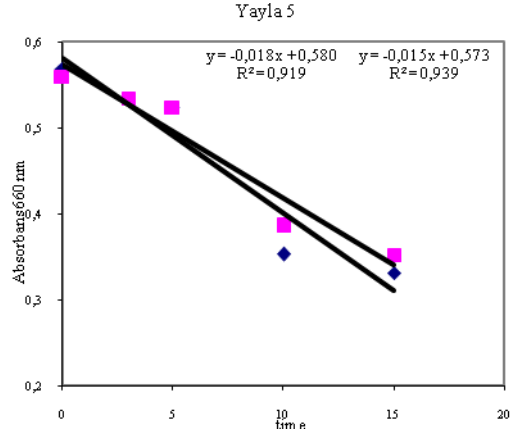
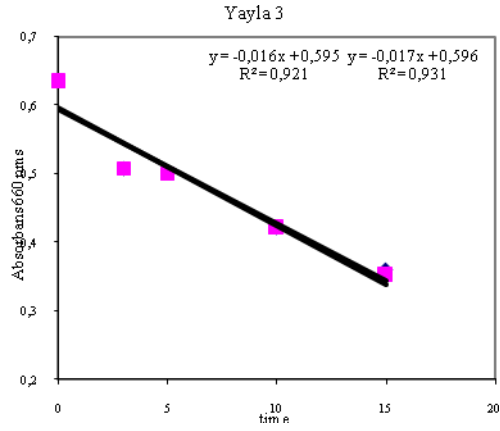
Ek 6'ın devamı



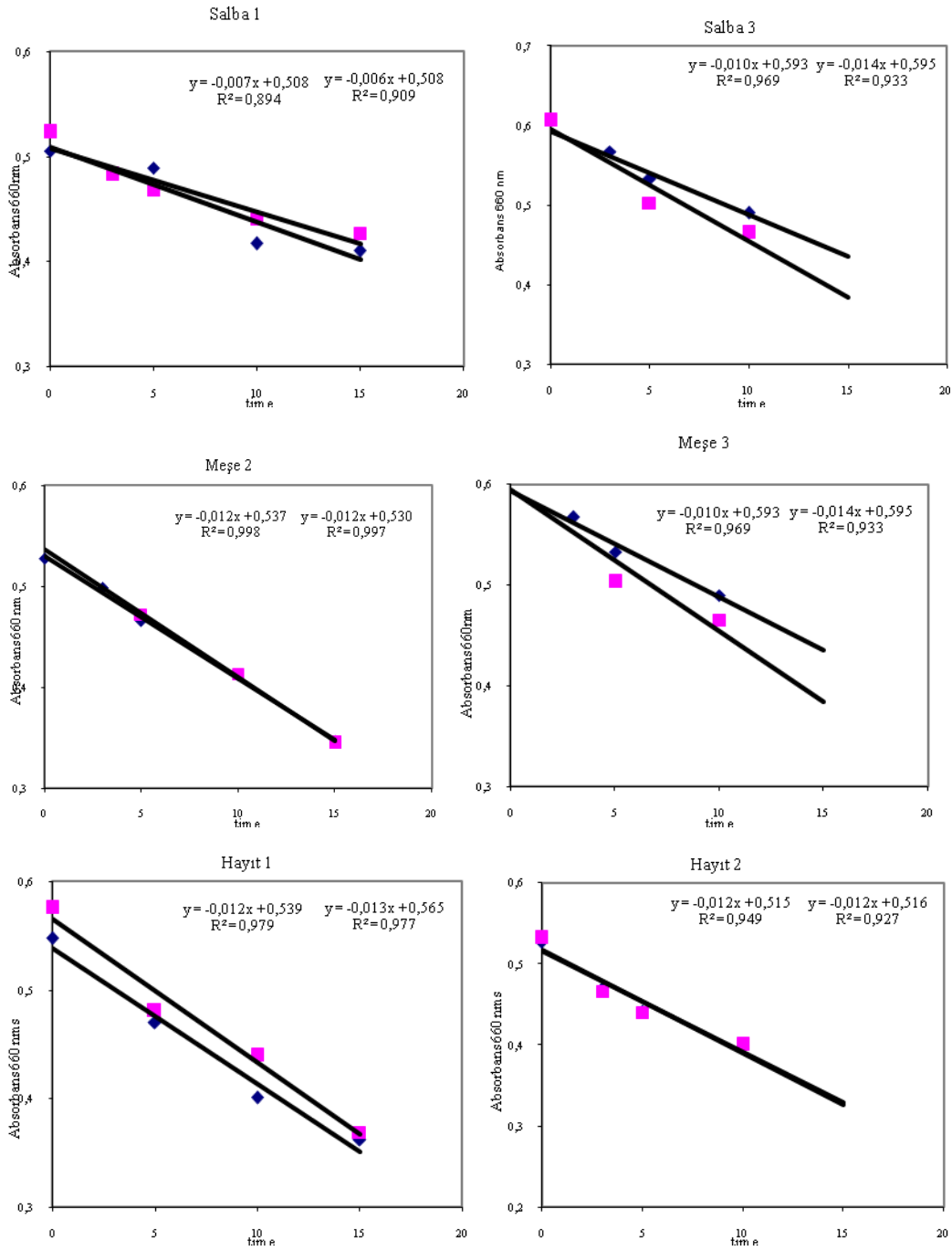
Ek 6'ın devamı



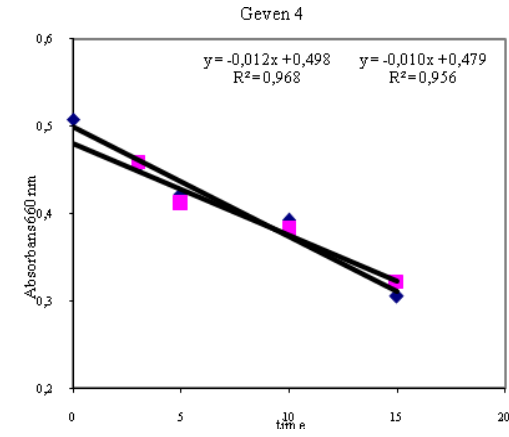
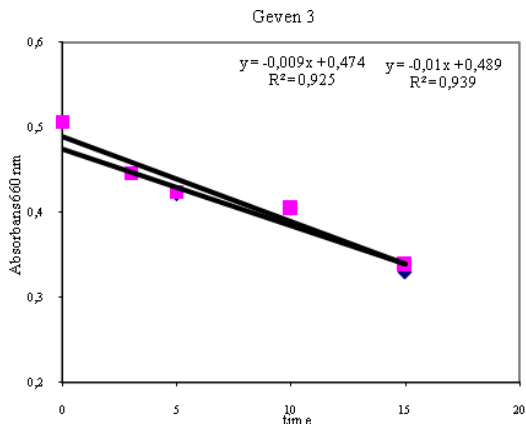
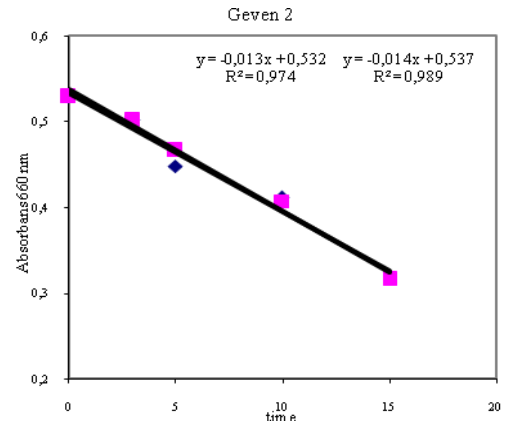
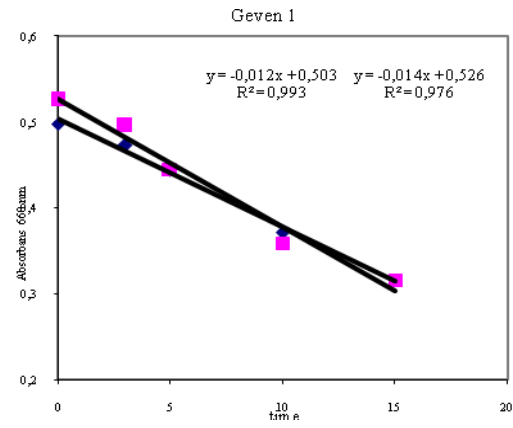
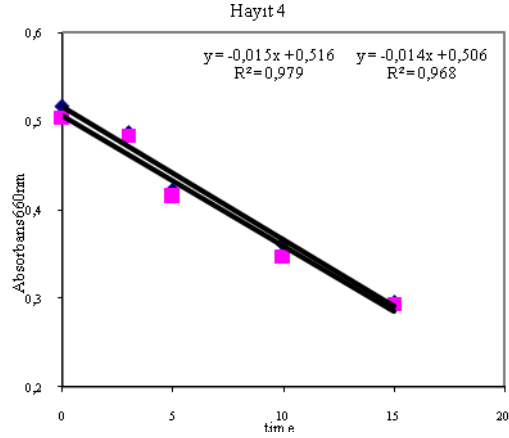
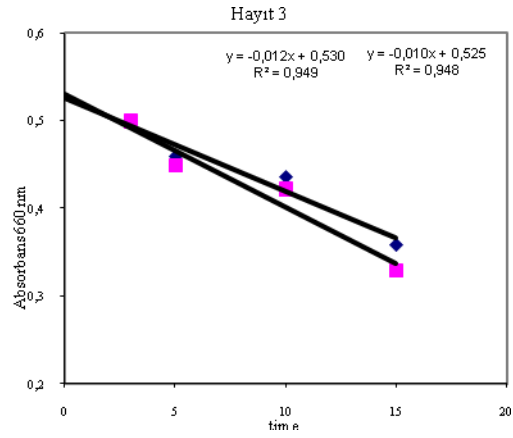
Ek 6'ın devamı



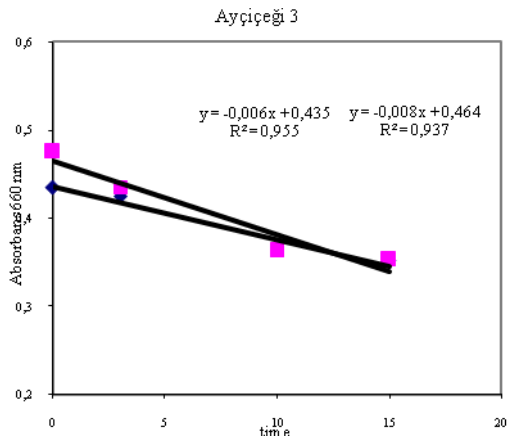
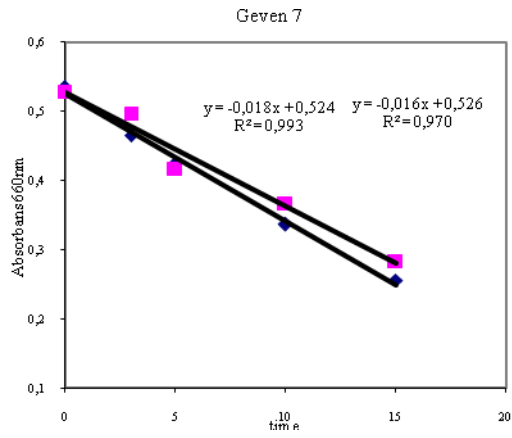
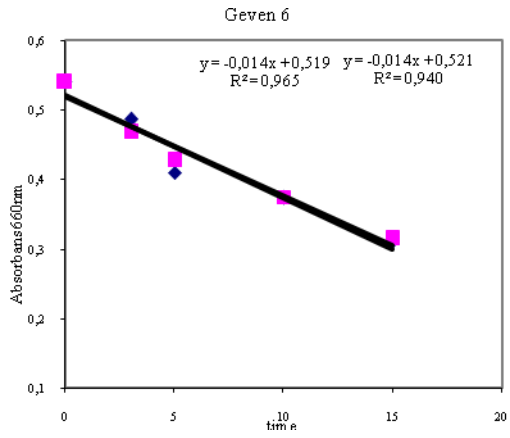
Ek 6'ın devamı



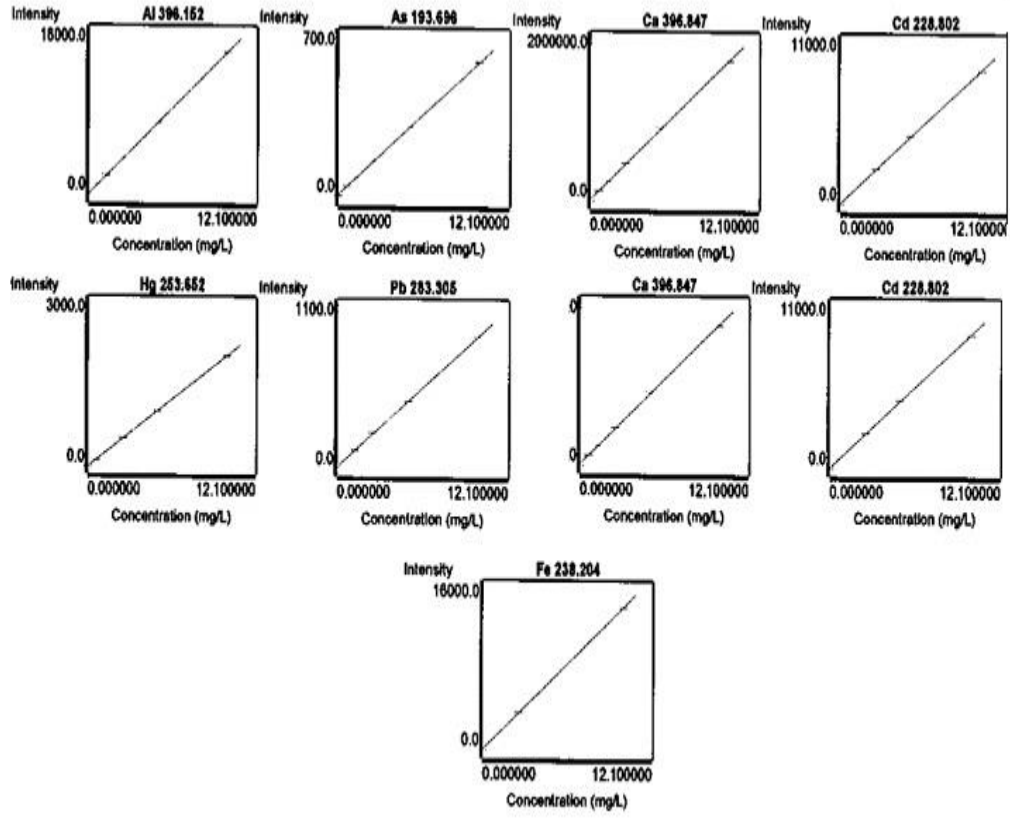
Ek 6'ın devamı



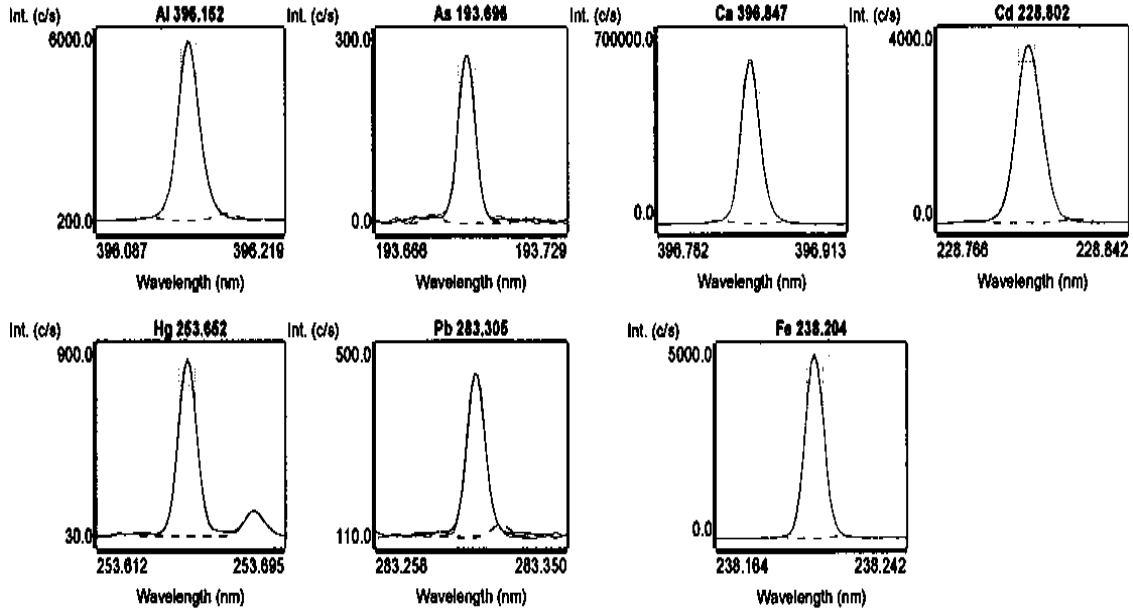
Ek 6'ın devamı



Ek 7. Mineral Madde Tayini İçin Kalibrasyon Grafikleri



Ek 8. Metallerin Maksimum Absorbans Verdiği Dalga Boyları ve Pikleri



ÖZGEÇMİŞ

25.02.1984 yılında Trabzon'un Çaykara ilçesinde doğdu. Lise öğrenimini Beşikdüzü Anadolu Öğretmen Lisesinde tamamladı. 2003-2007 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde öğrenimini tamamladı. Aynı yıl içersinde K.T.Ü. Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya bölümünde yüksek lisans eğitimini başladı. 2010 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladıktan sonra K.T.Ü. Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya bölümde doktora programına başladı. Yabancı dili İngilizce'dir.