

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI KAYNAKLARDAN ALINAN BALLARIN
BAKTERİYOLOJİK, FİZİKOKİMYASAL VE
MELİSSOPALİNOLOJİK ANALİZLERİ**

NAİME NUR BOZBEYOĞLU

DENİZLİ, HAZİRAN - 2014

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**FARKLI KAYNAKLARDAN ALINAN BALLARIN
BAKTERİYOLOJİK, FİZİKOKİMYASAL VE
MELİSSOPALİNOLOJİK ANALİZLERİ**

NAİME NUR BOZBEYOĞLU

DENİZLİ, HAZİRAN - 2014

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 101461021 nolu öğrencisi Naime Nur BOZBEYOĞLU tarafından hazırlanan "Farklı Kaynaklardan Alınan Balların Bakteriyolojik, Fizikokimyasal ve Melissopalinojik Analizleri" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN (PAÜ)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Aykut GÜVENSEN (EÜ)
(Jüri Başkanı)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Nazime MERCAN DOĞAN (PAÜ)

Jüri Üyesi : Yard.Doç.Dr. Gülümser ACAR DOĞANLI (PAÜ)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25.07/2014 tarih ve 31/14 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. Orhan KARABULUT

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İmza

: 

Öğrenci Adı Soyadı : Naime Nur BOZBEYOĞLU

ÖNSÖZ

2012-2014 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN'ın danışmanlığı altında yürütülen bu çalışma, yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmamın başından sonuna kadar, maddi ve manevi yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen, kendisiyle çalıştığım için her zaman şanslı hissettiğim, titiz ve disiplinli çalışmasını örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN'a,

Fizikokimyasal analiz çalışmalarım sırasında bana yol gösterip yardımcı olan, sahip olduğu imkanları her zaman benimle paylaşan hocam Yard. Doç. Dr. Seher KAYA ARSLAN'a

Kendisiyle çalışmaktan mutluluk duyduğum melissopalinolojik analizleri yapan hocam Prof. Dr. Aykut GÜVENSEN'e,

Rutubet tayini ve briks çalışmalarım sırasında laboratuvarını bana açan Yard. Doç. Dr. Erdal Kaçan'a,

Bal örneklerinin temininde bana destek veren Arş. Gör. Merve TEPE'ye ve M. Buğra ÇALIŞKAN'a,

İyi günümde, kötü günümde bana destek olan, bilgisi ve deneyimiyle bana her zaman yol gösteren, bir abla olarak gördüğüm çok değerli hocam Yard. Doç. Dr. Gülümser ACAR DOĞANLI'ya,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardım ve desteklerini gördüğüm Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Bakteriyoloji Laboratuvarında yüksek lisans yapan ve yapmakta olan değerli arkadaşlarım Göksel DOĞAN'a, Dicle ARAR'a ve Tuğba ŞENSOY'a,

Ayrıca eğitimim süresince maddi ve manevi yardımlarını eksik etmeyerek beni bugünlere özenle getiren çok değerli aileme, her zaman manevi olarak yanımda olan ananem Sacide DÜZYOL'a ve özellikle de hem manevi olarak hem de ev hanımı olmasına rağmen deneylerimde bana yardımcı olan biricik annem Mine BOZBEYOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Haziran 2014

NAİME NUR BOZBEYOĞLU

İÇİNDEKİLER

ÖZET	XIV
SUMMARY	XV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Bal	4
2.2. Balın Antimikrobiyal Özellikleri	4
2.3. Balın Mikrobiyolojik İçeriği	10
2.3.1.Primer kontaminasyon kaynakları	11
2.3.2.Sekonder kontaminasyon kaynakları	11
2.4. Balın Fizikokimyasal Özellikleri	12
2.4.1.Balda karbonhidratlar	12
2.4.2.Balda mineraller.....	13
2.4.3.Balda pH	13
2.4.4.Balda asitlik	13
2.4.5.Balda nem	14
2.4.6.Balda Hidroksimetilfurfural (HMF)	14
2.4.7.Balda diyastaz aktivitesi	14
2.5. Balın polen içeriği	15
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Materyal	16
3.1.1.Materyal örnekleri	16
3.2. Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	18
3.2.1.Bal örneklerinin hazırlanması	18
3.2.2.Bakteri izolasyonu	19
3.2.2.1. <i>Salmonella</i> spp. izolasyonu	19
3.2.2.2. <i>Shigella</i> spp. izolasyonu	19
3.2.2.3. <i>Bacillus</i> spp. izolasyonu	19
3.2.2.4.Toplam mezofilik bakteri sayımı.....	19
3.2.2.5.Koliform grubu bakteri sayımı	20
3.2.2.6. <i>Clostridium</i> spp. izolasyonu	20

3.2.2.7. <i>Paenibacillus larvae</i> izolasyonu	20
3.2.3. İdentifikasyon testleri	21
3.2.3.1. Mannitol kullanımı	21
3.2.3.2. Esculin hidrolizi	21
3.2.3.3. Jelatin hidrolizi	21
3.2.3.4. Nişasta hidrolizi	21
3.2.3.5. Katalaz testi	22
3.2.3.6. Nitrat redüksiyonu	22
3.2.3.7. Glukozdan gaz oluşumu	22
3.2.3.8. Hidrojen sülfür testi	22
3.2.3.9. Gram boyama.....	23
3.2.3.10. Voges-Proskauer testi	23
3.2.3.11. İndol testi	23
3.3. Fizikokimyasal Analizler	23
3.3.1. Hidroksimetil Furfural (HMF) tayini.....	23
3.3.2. Rutubet tayini.....	24
3.3.3. Kül tayini	24
3.3.4. Protein tayini.....	25
3.3.5. pH tayini	25
3.3.6. Diyastaz sayısı tayini	26
3.3.7. Asitlik tayini	27
3.3.8. Elektriksel iletkenlik	28
3.3.9. Suda çözünmeyen katı madde (Briks) tayini	28
3.3.10. Renk tayini	28
3.3.11. İnvvert şeker tayini	28
3.3.12. Şeker bileşenleri tayini	30
3.4. Melissopalnolojik Analizler.....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	32
4.1. Bakteri İzolasyonu	32
4.1.1. <i>Salmonella</i> sp. izolasyonu	32
4.1.2. <i>Shigella</i> sp. izolasyonu	32
4.1.3. <i>Bacillus</i> sp. izolasyonu	32
4.1.4. Toplam mezofilik bakteri sayımı	32
4.1.5. Koliform grubu bakteri izolasyonu.....	34

4.1.6. <i>Clostridium</i> sp. izolasyonu	34
4.1.7. <i>Paenibacillus larvae</i> izolasyonu	34
4.2. Bakterilerin İdentifikasyonu	35
4.3. Fizikokimyasal testler	40
4.3.1.Hidroksimetilfurfural içeriği	40
4.3.2.Rutubet içeriği	40
4.3.3.Kül miktarı	41
4.3.4.Protein içeriği	42
4.3.5.pH değerleri	43
4.3.6.Diyastaz sayısı	43
4.3.7.Asitlik	44
4.3.8.Elektriksel iletkenlik	45
4.3.9.Suda çözünmeyen kuru madde (Briks)	45
4.3.10.Renk	46
4.3.11.İnvert şeker	48
4.3.12.Şeker bileşenleri	49
4.4.Melissopalinojik analiz	52
5. TARTIŞMA	65
5.1. Bakteri İzolasyonu Çalışmaları	66
5.1.1. <i>Bacillus</i> sp. izolasyonu	66
5.1.2.Toplam mezofilik bakteri varlığı	67
5.1.3. <i>Paenibacillus larvae</i> izolasyonu	69
5.1.4. <i>Clostridium</i> spp. izolasyonu	70
5.1.5. <i>Salmonella</i> spp. izolasyonu	72
5.1.6. <i>Shigella</i> spp. izolasyonu	72
5.1.7.Koliform grubu bakteri sayısı	73
5.2. Bakterilerin identifikasyonu	74
5.3. Fizikokimyasal testler	74
5.3.1.Hidroksimetilfurfural miktarı	74
5.3.2.Rutubet miktarı	76
5.3.3.Kül miktarı	78
5.3.4.Protein miktarı	79
5.3.5.pH değeri	80
5.3.6.Diyastaz sayısı	81

5.3.7.Asitlik miktarı	82
5.3.8.Elektriksel iletkenlik	84
5.3.9.Briks miktarı	85
5.3.10.Renk	86
5.3.11.İnvert şeker miktarı	87
5.3.12.Şeker bileşenleri	88
5.4. Melissopalinojik analizler	89
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	95
KAYNAKLAR	97
EKLER.....	108
ÖZGEÇMİŞ.....	115

SİMGELER VE KISALTMALAR

dk	: Dakika
g	: Gram
kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
kob	: Koloni oluşturan birim
l	: Litre
meq	: Miliequivalent
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mS	: MiliSiemens
nm	: Nanometre
sn	: Saniye
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
BS	: Bismuth sulfite agar
BSA	: Bovine serum albumine
GNB	: Gram negative bacteria broth
HE	: Hectoen enteric agar
HMF	: Hidroksimetilfufural
HPLC	: High performance liquid chromatography
JA	: J-agar
M	: Molarite
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
NA	: Nutrient agar
NB	: Nutrient broth
LB	: Laktoz broth
PBS	: Phosphate-buffered dilution water
PCA	: Plate count agar
SCB	: Selenite cystine broth
SFS	: Serum fizyolojik su
SPS	: Sulfite polymyxcin sulfadiazin agar

TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
TSI	: Triple sugar iron agar
TTB	: Tetrathionate broth
ve diğ.,	: Ve diğerleri
VRB	: Violet red bile agar
VRSA	: Vankomisine dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>

TABLO LİSTESİ

Tablolar

Tablo 2.1: Balın antimikrobiyal aktivitesine neden olan özellikleri	5
Tablo 2.2: Bala duyarlı mikroorganizmalar	7
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan doğal bal örnekleri	17
Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan ticari bal örnekleri	18
Tablo 4.1: İzolasyon sonuçları (log kob/g)	33
Tablo 4.2: İzolatların biyokimyasal özellikleri	36
Tablo 4.3: Yıllara göre bal örneklerindeki HMF miktarları	40
Tablo 4.4: Yıllara göre bal örneklerinin rutubet miktarları.....	41
Tablo 4.5: Yıllara göre bal örneklerindeki kül miktarları	42
Tablo 4.6: Yıllara göre bal örneklerinin protein miktarları.....	42
Tablo 4.7: Yıllara göre bal örneklerinin pH değerleri.....	43
Tablo 4.8: Yıllara göre bal örneklerinin diyastaz sayıları.....	44
Tablo 4.9: Yıllara göre bal örneklerinin asitlik değerleri.....	44
Tablo 4.10: Yıllara göre bal örneklerinin elektriksel iletkenlik değerleri.....	45
Tablo 4.11: Yıllara göre bal örneklerinin briks değerleri	46
Tablo 4.12: Bal örneklerinin renk değerleri.....	47
Tablo 4.13: Yıllara göre balların renk değerleri.....	48
Tablo 4.14: Yıllara göre bal örneklerinin invert şeker miktarları	48
Tablo 4.15: Bal örneklerinin şeker bileşenleri	49
Tablo 4.16: Fizikokimyasal test sonuçları	50
Tablo 4.17: Yıllara göre balların toplam polen ve polen çeşidi sayıları	52

Tablo 4.18: 2012 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri	53
Tablo 4.19: 2013 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri	57
Tablo 4.20: 2012 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları	59
Tablo 4.21: 2013 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları	63

ŞEKİL LİSTESİ

Şekiller

- Şekil 1: Bal örneklerinin alındığı bölgeler 16
- Şekil 2: Çalışmada varlığı belirlenen *Clostridium* sp. petri görüntüsü 34
- Şekil 3: Baldan izole edilen bazı izolatların Voges Proskauer ve nişasta hidrolizi görüntüleri. (A) NB66 VP negatif, NB 58 VP pozitif; (B) NC6 nişasta negatif, NC5 nişasta pozitif 35
- Şekil 4: Toplam protein tayini kalibrasyon grafiği 114

ÖZET

FARKLI KAYNAKLARDAN ALINAN BALLARIN BAKTERİYOLOJİK, FİZİKOKİMYASAL VE MELİSSOPALİNOLOJİK ANALİZLERİ

Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden 40 adet bal örneği temin edilmiştir. Bu örneklerin *Bacillus* sp., *Paenibacillus larvae*, *Clostridium* sp., *Salmonella* sp., *Shigella* sp. türlerine ait bakteri içerikleri ile toplam mezofilik ve koliform grubu bakteri sayıları araştırılmıştır. Araştırma sonucunda örneklerin hiçbirisinde *Salmonella* sp., *Shigella* sp. ve koliform grubu bakterilere rastlanmazken örneklerin %95'inde mezofilik, %82,5'inde *Bacillus* sp. ve *Paenibacillus larvae*, %87,5'inde *Clostridium* sp. türü bakteri varlığı gözlenmiştir. Bal örneklerinde varlığı belirlenen kolonilerden 101 tanesi (64'ü *Bacillus* sp., 19'u *P. larvae*, 18'i *Clostridium* sp.) stoklara alınmıştır. İzolatların biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla mannitol kullanımı, eskulin hidrolizi, jelatin hidrolizi, nişasta hidrolizi, katalaz testi, nitrat redüksiyonu, glikozdan gaz oluşumu, hidrojen sülfür testi, voges proskauer testi, indol testi ve gram boyama analizleri yapılmıştır. Örneklerin fizikokimyasal özelliklerini belirlemek için HMF, rutubet, kül miktarı, toplam protein, pH, diyastaz sayısı, asitlik, elektriksel iletkenlik, briks, invert şeker, renk ve şeker bileşenleri tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar; HMF 0,71-175,18 mg/kg; rutubet %11,9-19,43; kül miktarı %0,03-1,17; toplam protein %0,13-0,19; pH 3,14-5,17; diyastaz sayısı 3-533,33; asitlik 21,87-49,22 meq/kg; elektriksel iletkenlik 0,19-2,17 mS/cm; briks 79,09-86,02; invert şeker %49,7-71,52; renk L:5,39-42,39, a:0,64-14,22 ve b:1,82-20,52; şeker bileşenleri g/100 g: sakkaroz 0,14-0,21; fruktoz 31,38-41,99; glikoz 24,27-31,91 ve maltoz 1,50-2,40 aralıklarında bulunmuştur. Çalışılan örneklerin bazılarının TSE'ye uygun olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca bal örneklerinin elde edilmesinde şeker şurubu kullanılmadığı belirlenmiştir. Çalışmamızda melissopalinojistik analizler de yapılarak, bal örneklerinin bitkisel orijinleri ve polen içerikleri tespit edilmiştir. Analiz sonucunda örneklerdeki polen çeşitliliğinin en az 8 en fazla 29 olduğu bulunmuştur. Ayrıca, bölgelere göre dominant polen tiplerinde farklılık da gözlenmiştir (Ege bölgesinde *Centaurea*, Cruciferae, Leguminosae, Compositae, Labiatae; Doğu Anadolu bölgesinde Compositae, Cruciferae, Leguminosae; Karadeniz bölgesinde *Castanea sativa*, Compositae, Cruciferae; İç Anadolu bölgesinde *Astragalus*, Leguminosae, Labiatae, Compositae). Melissopalinojistik analiz sonucunda incelenen örneklerden ikisinin sahte isimlerle piyasaya sürüldüğü saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bal, Bakteriyolojik analizler, Fizikokimyasal analizler, Melissopalinojistik analizler

SUMMARY

BACTERIOLOGIC, PHYSICOCHEMICAL AND MELISSOPALLINOLOGIC ANALYSIS OF HONEYS OBTAINED FROM DIFFERENT SOURCES

In this study, forty honey samples is provided from different regions of Turkey. Bacteria content belong to *Bacillus* sp., *Paenibacillus larvae*, *Clostridium* sp., *Salmonella* sp., *Shigella* sp. species and the number of total mesophilic and coliform bacteria of these samples were investigated. In conclusion, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. and coliform weren't detected in any of samples. However, 95% of the samples the mesophilic, 82.5% of the samples the *Bacillus* sp. and *Paenibacillus larvae*, 87.5% of the samples the *Clostridium* sp. was observed. 101 colonies (64 *Bacillus* sp., 19 *P. larvae*, 18 *Clostridium* sp.) determining the presence in honey samples were taken in stocks. In order to determined the biochemical properties of the isolates, the bacteria were analyzed the use of mannitol, esculin hydrolysis, gelatin hydrolysis, starch hydrolysis, catalase test, nitrate reduction, gas formation from glucose, hydrogen sulfite test, voges proskauer test, indole test and gram staining. Also, we determined the physicochemical properties of the samples with HMF, moisture, ash content, total protein, pH, the number of diastase, acidity, electrical conductivity, brix, invert sugar, color and sugar components. The results were found in the following ranges; HMF 0.71-175.18 mg/kg; moisture 11.9-19.43%; ash content 0.03-1.17%; total protein 0.13-0.19%; pH 3.14-5.17; diastase number 3-533.33; acidity 21.87-49.22 meq/kg; electrical conductivity 0.19-2.7 mS/cm; brix 79.09-86.02; invert sugar 49.7-71.52%; color L: 5.39-42.39, a: 0.64-14.22 ve b: 1.82-20.52; sugar components g/100 g: sucrose 0.14-0.21; fructose 31.38-41.99; glucose 24.27-31.91 ve maltose 1.50-2.40. Some of the samples were found to not be suitable in TSE. Furthermore, it was found which in the preparation of honey isn't used sugar syrup. Our studies also made melissopalynologic analysis, vegetable origin and pollen content of honey samples were determined. As a result of analysis, pollen varieties and numbers of examples was showed in the minimum of 8 and maximum of 29. Also, dominant pollen types of samples which harvested from different regions have been determined diversity (*Centaurea*, Cruciferae, Leguminosae, Compositae, Labiatae in Aegean region; Compositae, Cruciferae, Leguminosae in Eastern Anatolia region; *Castanea sativa*, Compositae, Cruciferae in the Black Sea region; *Astragalus*, Leguminosae, Labiatae, Compositae in Central Anatolia region). Thanks to this analysis, two of the examined samples was determined that sold in the market with fake names.

Key words: Honey, Bacteriological analysis, Physicochemical analysis, Melissopalynologic analysis

1. GİRİŞ

TSE'de bal, "Bitkilerin çiçeklerinde ya da diğer canlı kısımlarında bulunan nektar bezlerinden salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı böceklerin, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı tali maddelerin, bal arıları tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerinde depolanması ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir ürün" şeklinde tanımlanmaktadır (TS 3036, 2002).

Bal, doğal ürün olarak tedavide yaygın olarak kullanılmakla birlikte, bilimsel araştırmaların eksikliği nedeniyle günümüzde modern ilaç endüstrisinde çok az kullanılmaktadır. Balın insan sağlığı üzerine etkileri ile ilgili olarak yapılan birçok çalışmada, özellikle hastalıklara karşı etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Balın antimikrobiyal etkisinin, yüksek molarite, düşük rutubet ve asidik karakterde olmasının yanı sıra yapısında bulundurduğu hidrojen peroksit, flavanoidler ve fenolik asitten kaynaklandığı bilinmektedir. Bu özellikleri sayesinde bal, insanlarda hastalık oluşturan birçok bakteri için uygun olmayan bir ortam oluşturmaktadır. Antibiyotiklere karşı dirençli olduğu bilinen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bakterisinin bal içerisinde gelişemediği araştırmalar sonucunda tespit edilmiştir (Dixon, 2003; Voidarou ve diğ., 2011; Kwakman ve diğ., 2011). Özellikle *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi çok sayıda Gram pozitif ve Gram negatif patojen bakteriye karşı inhibe edici etkisi olduğu bilinmektedir (Ertürk ve diğ., 2009; Alvarez-Suarez ve diğ., 2010; Mohapatra ve diğ., 2010; Gulfrac ve diğ., 2011). Balda mikroorganizmaların vejetatif formları yaşamamakla birlikte botulinizm denilen hastalık etkeni olan ve immun sistemi gelişmemiş bebeklerin ölümüne yol açan *Clostridium botulinum* gibi spor oluşturan patojen bakterilere rastlamak mümkündür. Bu nedenle balın 1 yaşını doldurmamış bebeklere verilmemesi gerekir. Bakterilerin gelişemediği bir ortamda potansiyel hastalık etkenlerinin bulunması balın primer

ve/veya sekonder kontaminasyon kaynakları ile kirlenmesinin bir sonucudur. Bu kontaminasyon yollarının kontrol edilmesi baldaki mikroorganizma çeşitliliğinin belirlenmesiyle sağlanabilir. Bu açıdan balın mikrobiyolojik analizi, önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır.

Bal, yüzyıllardır insanoğlu için önemli bir besin kaynağıdır (Al-Waili, 2012). Besin değerinin yüksek olması (303 kcal/ 100 g bal) nedeniyle beslenmedeki yeri tartışılmaz (Haroun, 2006).

Bu önemli besin, % 99'u şeker ve suyla iyice doymuş bir solüsyondur. Geriye kalan %1'lik kısım enzimler, aroma içerikleri, organik asitler, mineraller ve diğer maddelerden oluşmaktadır. Baldaki şeker içeriği balın su içeriğinin 4,5 katıdır. Bu nedenle yüksek konsantrasyondaki şeker miktarı balın yüksek viskozitesinden ve kalitesinden sorumludur (Crane, 1990). Bu kadar zengin olan bal içeriği ve balın ısıtma işlemi görüp görmediği balın kalitesini belirler. Bu nedenle balın içeriğinin kimyasal testlerle belirlenmesi çok önemlidir.

Türkiye çok zengin bir bitki örtüsüne ve farklı iklim kuşaklarına sahiptir. Ayrıca ülkemiz dünya üzerindeki bal veren nektarlı bitkilerin 3/4'ünü bulundurmaktadır. Türkiye'deki bu zengin flora'ya bağlı olarak da onlarca çeşit bal üretilmektedir. Bu nedenlerden dolayı Türkiye, bal üretimi ve kovan sayısı bakımından dünyada 2. sırada yer almaktadır (Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2012).

Zengin bitki örtüsüne rağmen ülkemizde bal üretiminin, son yıllarda piyasanın ihtiyaç duyduğu seviyenin altında kalmasıyla birlikte ucuz olan yüksek-früktozlu mısır şurubu, dekstroz ve galaktoz gibi şekerlerin arıcılıkta kullanımını arttırmaktadır. Bu da doğal yapısı bozulmuş ballarla karşılaşma olasılığımızı arttırmaktadır. Bu nedenle, bitkisel kaynağının belirlenmesi ile, balın orijinalliğinin kanıtlanması için önemlidir. Balın doğal olup olmadığının anlaşılması aslında çok güçtür ve bu balın bileşiminin saptanmasına bağlıdır. Bu amaçla farklı yöntemler uygulanmaktadır. Kullanılan yöntemlerin çoğunluğunda balların bölgesel veya bitkisel orijini tanımlanmaktadır. Balın bitkisel kaynağı genelde polen analizi ile belirlenmektedir. Bu yöntem, polenin mikroskop altında incelenmesine dayanmaktadır. Polenin kimyasal yapısı, rengi, tadı, kokusu ve şekli bitki türüne göre değişmektedir. Çoğunlukla sarı renkli olup siyah, mor, pembe renkli polenlere de rastlamak mümkündür.

İnsan sağlığı ve ÷lkemiz ekonomisi için bu kadar çok öneme sahip olan bu besin maddesinin piyasaya sunulmadan önce her t÷rl÷ analizinin yapılması her yönden faydalı olacaktır. Bu çalışmanın da başlıca amacı farklı kaynaklara sahip bal örneklerinin mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve melissopalinolojik analizleri yapılarak bu konudaki eksikliği tamamlamak ve bu t÷r çalışmalara nc÷l÷k etmektir. Çalışmamızda T÷rkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen doğal ballar ile marketlerden temin edilen ticari ballar üzerinde mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve melissopalinolojik analizler yapılarak bal numunelerinin içerikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada hedeflenen başlıca amaçlar şunlardır:

1. Çeşitli kaynaklardan temin edilen 40 adet bal örneklerinden bakteri izolasyonunu yapmak,
2. Bu izolatların biyokimyasal testler ile karakterizasyonunu yapmak,
3. Balların polen içeriğinin belirlenmesiyle balın coğrafik ve botanik orijinlerini belirlemek,
4. Polen analizi ile balın doğal olup olmadığını belirlemek,
5. Balların bileşenlerini ve kimyasal özelliklerini belirlemek,
6. Bal rneklerinin ısıl işlem gr÷p görmediği, bekletilme s÷releri ve depolama koşullarıyla ilgili bilgi sahibi olmak,
7. Coğrafik ve botanik orijin farklılıklarının ballar üzerindeki etkisi ve balın bakteriyolojik içeriğine olan etkisi hakkında bilgi edinmek,
8. Bal rneklerinin kimyasal ve bileşen farklılığının, baldaki bakterilerin sayısı ve çeşitliliği üzerindeki etkisini belirlemek.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bal

Avrupa Birliği Mevzuatı (DLgs 179/2004) ve Codex Alimentarius (CODEX STAN 12-1981) göre bal, bitkilerin çiçeklerinden ya da canlı kısımlarından salgılanan nektarın veya bitki emici böceklerin bitkilerin canlı kısımlarını emerek ürettiği salgıların *Apis mellifera* tarafından toplanması, sahip olduğu özel maddelerle karıştırarak dönüştürmesi, depolaması ve peteklerde olgunlaşmasıyla oluşan doğal tatlı bir maddedir (Sinacori ve ark., 2014). Nektar bala çevrilirken bal arıları sahip oldukları invertaz enzimi ile sakkarozu parçalayarak fruktoz ve glukoz gibi basit şekerleri oluştururlar, bozulmayı önlemek için suyun fazlasını uururlar (Kapucu, 2007).

Kaynaklarına göre ballar iki gruba ayrılmaktadır. Bunlar; iek balları, salgı balları ve besleme ballardır. iek balları, arıların bitki ieklerindeki nektarlardan yaptıkları ballardır. Örneğin; ıhlamur balı, yonca balı, turunçgil balı, pamuk balı, gl balı, kekik balı, pren balı, akasya balı ve funda balı iek ballarına verilebilecek örneklerdir. Salgı balları ise, bazı böceklerin genellikle bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı salgılardan arıların yaptıkları ballardır. am balı, meşe balı, köknar balı ve yaprak balı, salgı ballarına örnek olarak verilebilir (TS 3036, 2002).

Tiplerine göre ise ballar çerçeveli petek bal, tabii petekli bal, parça petekli bal, bölme petekli bal, süzme bal, kristalleşmiş süzme bal, krema süzme bal, pres balı ve karışım bal olmak üzere dokuz tipe ayrılmaktadır (TS 3036,2002).

2.2. Balın Antimikrobiyal zellikleri

Bilindiği üzere bal yüzyıllardır hastalıkların ve enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Balın insan sağlığı üzerine etkileriyle ilgili olarak yapılan pek çok çalışmada özellikle antimikrobiyal aktivitesi üzerinde durulmuştur. Bu

çalışmalar sonucunda çok sayıda kuvvetli patojen bakteri üzerine antimikrobiyal etkisi bu konuda yapılmış birçok çalışma ile gözlemlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda balın antibakteriyal aktivitesine duyarlı oldukları kanıtlanmış bakteriler Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Balın mikroorganizmalara karşı göstermiş olduğu antimikrobiyal aktivite, sahip olduğu eşsiz özellikler sayesinde gerçekleşmektedir. Bu özellikler Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1: Balın antimikrobiyal aktivitesine neden olan özellikleri (Snowdon,1996)

Yüksek ozmotik basınç

Düşük su aktivitesi

Düşük pH-asitlik

Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Düşük protein içeriği

Yüksek şeker oranı

Yüksek karbon/azot oranı

Düşük redoks potansiyeli

Yüksek viskozite

Kimyasal ajanlar

-Pinocembrin

-Lizozim

-Fenolik asitler

-Terpenler

-Benzil alkol

-Uçucu bileşenler

Baldaki antimikrobiyal aktiviteden özellikle sorumlu olan hidrojen peroksit glukoz oksidaz sistemi ile enzimatik olarak ortaya çıkmaktadır. Glukoz oksidaz enzimi, su ve oksijen varlığında glukozu glukonik asit ve hidrojen peroksit parçalar. Oluşan hidrojen peroksit ve asidik ortam olgunlaşma sırasında balı korur ve antimikrobiyal özellik kazandırır. Ancak glukoz oksidaz enzimi ısı ve ışık etkisi ile bozulmaktadır. Bu nedenle tedavi amaçlı kullanılacak balların hiç ısı işlem görmemiş ve karanlıkta

saklanmış olması gerekmektedir (Snowdon, 1996, Özmen ve Alkın, 2006, Lee ve ark., 2008).

Balın temel bileşeni şekerdir. Orijinine göre farklılık gösterse de balda yaklaşık % 95 oranında şeker bulunmaktadır. Şeker içeriğinin bu kadar yoğun olması balın antimikrobiyal aktivitesinde oldukça etkili olan yüksek osmotik basınç özelliğini kazandırmaktadır (Bogdanov, 1997; Lee, 2007). Çünkü osmotik basıncın fazla olması mikroorganizmanın içindeki suyun dışarı çıkması ile büzüşüp ölmesini sağlamaktadır (Snowdon ve Cliver, 1996).

Balın mikroorganizmalar üzerinde etkili olmasını sağlayan diğer bir özelliği ise antibakteriyel bir ajan olduğu iyi bilinen lizozim enzimini içermesidir (Bogdanov, 1997). Bu enzim bakterilerin hücre zarındaki β -1,4-glukozidik bağları hidrolize ederek hücre zarının yapısal bütünlüğünü bozmak suretiyle antimikrobiyal etki göstermektedir (Gill ve Holley, 2000).

Balın düşük protein içeriği, yüksek karbon/azot oranı ve asidik karaktere sahip olması mikrobiyal gelişim için elverişli bir ortam olmamasını sağlamaktadır (Snowdon ve Cliver, 1996).

Balın düşük redoks potansiyeline sahip olması, yapısında yüksek miktarda indirgen şeker olmasından kaynaklanmaktadır. Viskozitesinin fazla olması ise bala çözülmüş oksijen girişini sınırlamaktadır. Bu nedenlerden dolayı balın düşük redoks potansiyeli ve yüksek viskozitesi özellikle aerobik bakterilerin gelişimini engellemektedir (Snowdon ve Cliver, 1996).

Tablo 2.2: Bala duyarlı mikroorganizmalar

Bakteri Adı	
<i>Acinetobacter</i> sp.	Nasir ve diğ. , 2010
<i>Actinomyces viscosus</i>	Badet ve diğ., 2011
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Mundo ve diğ., 2004
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Silici ve diğ., 2010
<i>Bacillus cereus</i>	Mundo ve diğ., 2004; Mercan ve diğ., 2006; Lee ve diğ., 2008; Ertürk ve diğ., 2009; Silici ve diğ., 2010; Voidarou ve diğ., 2011; Mohapatra ve diğ., 2011
<i>Bacillus subtilis</i>	Bogdanov, 1983; Kolaylı ve diğ., 2007; Lee ve diğ., 2008; Ertürk ve diğ., 2009; Alvarez-Suarez ve diğ., 2010; Silici ve diğ., 2010; Voidarou ve diğ., 2011; Mohapatra ve diğ., 2011; Brudzynski ve diğ., 2011; Kwakman ve diğ., 2011
<i>Burkholderia cepacia</i>	Kwakman ve diğ., 2011
<i>Bacillus licheniformis</i>	Ertürk ve diğ., 2009
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Mundo ve diğ., 2004
<i>Cromobacterium violaceum</i>	Truchado ve diğ., 2009
<i>Escherichia coli</i>	Malika ve diğ., 2004; Mulu ve diğ., 2004; Mundo ve diğ., 2004; Mercan ve diğ., 2006; Küçük ve diğ., 2007; Lee ve diğ., 2008; Ertürk ve diğ., 2009; Alvarez-Suarez ve diğ., 2010; Agbagwa ve diğ., 2010;; Silici ve diğ., 2010; Mandal ve diğ., 2010; Voidarou ve diğ., 2010; Mohapatra ve diğ., 2010; Kwakman ve diğ., 2011; Brudzynski ve diğ., 2011; Gulfraz ve diğ., 2011
<i>Enterococcus faecalis</i>	Küçük ve diğ., 2007; Mohapatra ve diğ., 2010
<i>Enterococcus faecium</i>	Kwakman ve diğ., 2011
<i>Enterobacter cloacae</i>	Küçük ve diğ., 2007; Nasir ve diğ., 2010
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Badet ve diğ., 2011
<i>Helicobacter pylori</i>	Küçük ve diğ., 2007; Manyi-Loh ve diğ., 2010
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Mercan ve diğ., 2006; Ertürk ve diğ., 2009; Nasir ve diğ., 2010; Gulfraz ve diğ., 2011
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Mulu ve diğ., 2004

<i>Listeria monocytogenes</i>	Mundo ve diğ., 2004; Lee ve diğ., 2008; Ertürk ve diğ., 2009; Silici ve diğ., 2010
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Badet ve diğ., 2011
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Mundo ve diğ., 2004
<i>Morganella morganii</i>	Mercan ve diğ., 2006
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Küçük ve diğ., 2007
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Silici ve diğ., 2010
MRSA	Dixon, 2003; Voidarou ve diğ., 2011; Kwakman ve diğ., 2011
<i>Micrococcus luteus</i>	Mercan ve diğ., 2006; Ertürk ve diğ., 2009; Mohapatra ve diğ., 2010
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mulu ve diğ., 2004; Mercan ve diğ., 2006; Ertürk ve diğ., 2009; Agbagwa ve diğ., 2010; Alvarez-Suarez ve diğ., 2010; Mandal ve diğ., 2010; Küçük ve diğ., 2010; Mohapatra ve diğ., 2010; Kwakman ve diğ., 2011; Gulfraz ve diğ., 2011;
<i>Pseudomonas sp.</i>	Malika ve diğ., 2004; Nasir ve diğ., 2010
<i>Proteus vulgaris</i>	Mulu ve diğ., 2004; Ertürk ve diğ., 2009
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Badet ve diğ., 2011
<i>Proteus mirabilis</i>	Mulu ve diğ., 2004; Agbagwa ve diğ., 2010
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Mundo ve diğ., 2004
<i>Salmonella enterica</i>	Mundo ve diğ., 2004; Lee ve diğ., 2008; Mandal ve diğ., 2010
<i>Salmonella typhimurium</i>	Mulu ve diğ., 2004; Mohapatra ve diğ., 2010; Silici ve diğ., 2010; Voidarou ve diğ., 2011
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Voidarou ve diğ., 2011
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bogdanov, 1983; Garcia ve diğ., 2001; Mundo ve diğ., 2004; Mulu ve diğ., 2004; Malika ve diğ., 2004; Mercan ve diğ., 2006; Küçük ve diğ., 2007; Lee ve diğ., 2008; Ertürk ve diğ., 2009; Agbagwa ve diğ., 2010; Alvarez-Suarez ve diğ., 2010; Mohapatra ve diğ., 2010; Nasir ve diğ., 2010; Silici ve diğ., 2010; Gulfraz ve diğ., 2011; Voidarou ve diğ., 2011
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kwakman ve diğ., 2011
<i>Streptococcus sp.</i>	Nasir ve diğ., 2010
<i>Streptococcus salivaris</i>	Ertürk ve diğ., 2009;
<i>Salmonella enteridis</i>	Ertürk ve diğ., 2009;

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ertürk ve diğ., 2009;
<i>Streptococcus mutans</i>	Ertürk ve diğ., 2009; Badet ve diğ., 2011
<i>Streptococcus sobrinus</i>	Badet ve diğ., 2011
<i>Shigella shigo</i>	Mulu ve diğ., 2004
VRSA	Voidarou ve diğ., 2011
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Lee ve diğ., 2008
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Silici ve diğ., 2010

2.3. Balın Mikrobiyolojik İçeriği

Bal sahip olduğu bakterisidal ve bakteriyostatik özelliklere rağmen içerisinde çeşitli türlerde mikroorganizmalar barındırmaktadır. Bu mikroorganizmalar genellikle spor oluşturabilen mikroorganizmalar (özellikle *Bacillus* spp.) olmasına rağmen nadiren sporsuz bakterilere de rastlanmaktadır. Bu vejetatif formdaki patojen bakteriler balda düşük sıcaklık altında ve kısa sürede yaşayabilmektedirler. Ayrıca baldaki mikroorganizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri balın tipine ve nem içeriğine de bağlıdır (Snowdon ve Cliver, 1996).

Baldaki mikroorganizma varlığı son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Iurlina ve Fritz (2005), 70 adet bal örneğini araştırmışlar ve örneklerin 28'inde *P. larvae* subsp. *larvae*, 40 tanesinde de *Bacillus* spp. rapor etmişlerdir. Ballarda fekal koliformlara, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve sülfite indirgeyen *Clostridium* spp. türüne rastlanmadığı bildirilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada ise aerobik bakterilerden *Bacillus subtilis*, *B. alvei*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. brevis* ve *Nocardia* spp.; anaerobik bakterilerden *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. ve *Clostridium* spp. tanımlenmiştir (Shakoori ve diğ., 2003).

Sinacori ve diğ. tarafından 2014'de yapılan çalışmada 38 adet nektar ve salgı ballarından 12 bakteri türü (*Aerococcus viridans*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus simplex*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*) izole edilmiştir.

İstanbul'un çeşitli yerlerinden temin edilen 500 adet bal örneğinin 80 tanesinde koliform grubu bakteri, 18 tanesinde *E. coli*, 67 tanesinde *S. aureus*, 16 tanesinde *P. larvae* ve 29 tanesinde *M. pluton* bulunmuştur (Dümen ve diğ. 2013).

Nijerya ballarının mikrobiyolojik değerlendirilmesi üzerine yapılan bir çalışmada ise örneklerden *Klebsiella edwardsii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri izole edilmiştir (Adebayo ve Davies, 2012).

Fransız ballarının bakteriyolojik içeriğinin belirlenmesi için Tysset ve diğ. (1970) tarafından yapılmış çalışmada 12 adet bal örneğinde *Bacteridium*, *Bacterium*,

Bacillus, *Brevibacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Neisseria*, *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* türleri saptanmıştır.

Ballarda toplam mezofilik aerobik bakteriler ile endospor oluşturan aerobik ve anaerobik bakteriler de bulunmaktadır (Jo ve diğ., 2005; Erdoğan ve Erbilir, 2007; Saxena ve diğ., 2009; Sereia ve diğ., 2010; Sereia ve diğ., 2011; Rozanska, 2011; Rozanska ve Osek, 2012; Tornuk ve diğ., 2013).

Balda bulunan bu mikroorganizmaların iki çeşit kaynaktan geçtiği öne sürülmektedir. Bunlar primer ve sekonder kontaminasyon kaynaklarıdır (Snowdon ve Cliver, 1996).

2.3.1. Primer kontaminasyon kaynakları

Balın mikrobiyal kontaminasyonuna neden olan primer kaynaklar; polen, bal arılarının sindirim yolları, tozlar, hava, toprak ve nektarlardır. Balı kontamine eden bu kaynakları kontrol altında tutmak oldukça zordur (Snowdon ve Cliver, 1996).

Actinobacter, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter* ve *Vagococcus* türlerinin kontaminasyon kaynağı topraktır (Snowdon ve Cliver, 1996). Hava ve toz ise *Bacillus*, *Clostridium* ve *Micrococcus* türlerinin önemli kaynaklarıdır (Snowdon ve Cliver, 1996). *Brochothrix*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Listeria* ve *Pediococcus* türleri ise bitki nektarlarından kaynaklanan kontaminantlardır (Snowdon ve Cliver, 1996).

Arılarının larvalarının dışkılarından izole edilen bakteriler genellikle *Bacillus* spp.'dir. Yetişkin arıların sindirim mikroflorasında ise %1 oranında maya, %29 oranında gram pozitif bakteriler (*Bacillus* spp., *Bacteridium* spp., *Streptococcus* spp. ve *Clostridium* spp.) ve %70 oranında gram negatif bakteriler (*Achromobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Proteus* ve *Pseudomonas* türleri) bulunmaktadır (Tysset ve Durand, 1968; Tysset ve diğ., 1970; Shimanuki ve Knox, 1991; Snowdon ve Cliver, 1996).

2.3.2. Sekonder kontaminasyon kaynakları

Literatürde çok nadir rastlansa da baldaki mikroorganizmaların sekonder kaynakları ise insanlar, ekipmanlar, saklama kapları, rüzgar, ortamdaki toz, böcekler, hayvanlar

ve sulardır (Snowdon ve Cliver, 1996). Balın işlenmesi sırasında gerçekleşen hapşırma, öksürme gibi faaliyetlerin yanısıra çalışanlardaki deri enfeksiyonları insan kaynaklı kontaminasyonların yaygın nedenlerindedir (Snowdon ve Cliver, 1996).

Ancak primer kaynakların aksine, sekonder kontaminasyon kaynakları standart sanitasyon ve iyi imalat şartları ile kontrol edilebilmektedir (Snowdon ve Cliver, 1996).

2.4. Balın Fizikokimyasal Özellikleri

Bir enerji kaynağı olarak bal, yüksek besin değerine sahiptir ve içerdiği karbonhidratlar hızlı emilmektedir (Feas ve diğ., 2010). Ayrıca deri, ağız, sindirim sistemi, kanser ve göz hastalıklarında alternatif tedavi olarak kullanımı oldukça fazladır (Sönmez, 2004). Ancak bu tedavi edici ve besin maddesi olarak kullanımında, kalitesini belirlemede balın fiziksel ve kimyasal özellikleri çok önemlidir.

Bu amaçla yapılmış pek çok çalışmada kül miktarı, nem miktarı, pH değeri, balın asitliği, diastaz sayısı, hidrosimetil furfural miktarı, balın elektriksel iletkenlik özelliği, protein içeriği, fruktoz, glukoz, sakkaroz ve invert şeker miktarı, antioksidan özellikleri belirlenmektedir (Anupama ve diğ., 2003; Azeredo ve diğ., 2003; Şahinler ve diğ., 2004; Silici, 2004; Meda ve diğ., 2005; Iurlina ve Fritz, 2005; Ünal ve diğ., 2006; Özcan ve diğ., 2006; Castro-Vaquez ve diğ., 2010).

2.4.1. Balda karbonhidratlar

Balın yaklaşık %95'i temelde fruktoz ve glukoz olmak üzere karbonhidratlardan oluşmaktadır (Lee, 2008). Genellikle de miktar olarak balda fruktoz glukozdan daha fazla bulunmaktadır (Cavia ve diğ., 2002; Devillers ve diğ., 2004). Bu karbonhidratların %5-10 ise oligosakkaritlerdir. Oligosakkaritlerin oranı az olmasına rağmen balda yaklaşık 25 farklı çeşidi (disakkaritler, trisakkaritler ve tetrasakkaritler) bulunmaktadır (Anklam, 1998; Bogdanov ve ark., 2004; Bogdanov, 2008).

Baldaki karbonhidrat miktarı ile içeriği, balın çeşidi ve orijinine göre farklılık göstermektedir. Ribeiro ve diğ. (2014) tarafından 80 adet Brezilya balı üzerine yapılan çalışmada 100 g balda bulunan invert şekerin 66,2-80,1 g; toplam şekerin ise 66,7-85,4 g aralığında olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Brezilya ballarının %2,2-3,9g

sukroz içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Türkiye'nin Marmara ve Doğu Anadolu bölgelerinden toplanan 70 adet bal örneğinin fizikokimyasal özelliklerini belirlemek için yapılan çalışmada, Marmara bölgesi ballarının sırasıyla invert şeker ve sukroz oranları, %72,2 ve %3,81; Doğu Anadolu bölgesine ait örneklerin ise %71,6 ve %3,80 olarak tespit edilmiştir (Kahraman ve diğ., 2010).

2.4.2. Balda mineraller

Bal yakıldığında az miktarda da olsa mineral içeren kül oluşur (Özkök, 2009). TSE'ye göre kül miktarı oranı çiçek ballarında kütlece en fazla %0,6, salgı ballarında %1,2 olmalıdır (TS 3036, 2002).

Baldaki toplam mineral içeriğinin balın orijiniyle ilgisi olduğu kadar rengiyle alakalıdır. Anklam (1998)'a göre koyu renkli ballar açık renkli olanlara göre daha yüksek miktarda mineral içermektedir.

Baldaki mineraller potasyum, sodyum, kalsiyum, magnezyum, demir, bakır, manganez, klor, fosfor, kükürt ve silistir (D'Arcy, 2007). Bu mineraller arasında da en fazla fosfor (yaklaşık oranı %33-35) bulunmaktadır (Crane, 1980).

2.4.3. Balda pH

Bal asidik ortama sahip şekerli bir çözeltilidir. pH değeri 3,20-4,50 arasında çeşitlilik göstermektedir (White, 1975). Balların pH değerlerinin farklı olmasını içindeki asitlerin miktarı ve çeşidi ile mineral madde içeriğinden kaynaklanmaktadır. Lawless ve diğ. (1996)' e göre genellikle mineral madde miktarı yüksek olan ballar yüksek pH değerine sahiplerdir.

2.4.4. Balda asitlik

Baldaki asitlik serbest asitlik, laktonik asitlik ve toplam asitlik olmak üzere üç terim ile ifade edilmektedir. Bu değerlerden toplam asitliğin TSE'ye göre en fazla 50 meq/kg, Ulusal bal komisyonuna göre ise 8,7-46,8 meq/kg aralığında olması gerekmektedir (TS 3036, 2002; International honey comission, 2002). Balın asitlik değerinin bu değerlerin üstünde olması fermantasyona uğradığını yani bozulduğunu göstermektedir (Çubuk, 2008). Bu nedenle asitlik balda kaliteyi belirleyen önemli bir parametredir (Haroun, 2006).

Baldaki asitliğin temel kaynağı yapısındaki organik asitlerdir. Bu asitlerden en fazla bulunanlar glukozoksidaz enzim aktivitesi sonucu oluşan glukonik asit ve arıların balı olgunlaştırmak için ilave ettikleri formik asittir (Çubuk, 2008).

2.4.5. Balda nem

Baldaki nem miktarı iklim şartlarına bağlıdır ve balın olgunlaşma derecesiyle ilgili bilgi veren bir özelliktir (White, 1978). TS 3036 (2002)'ya göre balda en fazla %20 oranında nem bulunmalıdır. Çünkü nem oranı yüksek olan ballarda mikroorganizmalar kolay çoğalabilmekte ve balın fermentasyonuna neden olmaktadır (Bogdanov, 2002).

2.4.6. Balda Hidroksimetilfurfural (HMF)

Kimyasal adı 5-Hidroksimetil-2-furaldehit olan HMF, pek çok gıda maddesinde monosakkaritlerin (heksoz şekerler; glukoz ve fruktoz) asidik olarak bozunmasıyla ortaya çıkan bir bileşiktir (Özkök, 2009). Balda ise HMF, bala yapılan ısıl işlemler, uzun süre depolama ve uygun olmayan saklama koşulları sonucu meydana gelmektedir (İpek, 2012). Bundan dolayı HMF, balda kaliteyi belirleyen önemli bir parametredir. TS 3036 (2002)'ya göre balda en fazla 40 mg/kg olmalıdır.

Ülkemiz ve diğer ülkelerin ballarının HMF içeriğiyle ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Kahraman ve diğ. (2010) tarafından ülkemiz balları üzerine yapılan çalışmada 70 bal örneğinin 7,68-52,6 mg/kg aralığında HMF değerlerine sahip olduğu saptanmıştır. İtalyan balları kullanılarak yapılan çalışmada örneklerin HMF miktarları 0,8-25,3 mg/kg aralığında bulunmuştur (Esti ve diğ., 1997).

2.4.7. Balda diyastaz aktivitesi

Diyastaz (amilaz) nişastanın maltoza dönüşmesini sağlayan bir enzimdir ve aktivite miktarı diyastaz sayısı ile gösterilmektedir (Haorun, 2006).

Diyastaz sayısı, 100 g balda bulunan diyastaz enzimlerinin 38-40 °C'de bir saat içerisinde parçaladığı nişasta miktarını belirtmektedir (Karadal ve Yıldırım, 2012).

Diyastaz enzimi aktivitesi ısı ile düşmektedir. Bu nedenle balın tazeliğinin, depolanma koşulları ve süresinin göstergesidir. Ayrıca balın diyastaz aktivitesi orijinine göre de değişmektedir. Narenciye balları gibi sıcak iklim ballarında diyastaz

aktivitesi oldukça düşüktür (Haorun, 2006). TSE bal standartlarına göre diyastaz sayısı narenciye balları için en az 3, diğer ballar için ise en az 8 olmalıdır (TS 3036, 2002).

2.5. Balın polen içeriği

Melissopalinojji, baldaki polenlerin analizi ve analiz sonuçlarına göre bölgenin nektarlı bitki potansiyelinin tespiti, balın isimlendirilmesi ve bal kalitesinin belirlenmesini amaçlayan palinolojinin alt dalıdır (Terzi, 2009).

Balın kalitesini belirlemede sahip olduğu polen içeriği oldukça önemli bir parametredir. Çünkü ballardaki polenler hem kovanın bulunduğu bölgenin florası hem de balın çeşidi hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle melissopalinojji analizler balda mutlaka yapılması gereken analizler arasında yer almaktadır (Terzi, 2009).

Bu amaçla dünyada ve ülkemizde yapılmış pek çok çalışma bulunmaktadır. 2004 yılında Soria ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada Madrid'ten temin edilen 46 örnekte dominant olan polenlerin *Quercus* sp., Rosaceae, *Echium* ve Labiatae olduğu tespit edilmiştir. Corbella ve Cozzolino (2008) tarafından 45 adet Uruguay balının polen içeriğini belirlemek için yapılan çalışmada ise 10 örnekte *Eucalyptus* sp., 12 örnekte *Lotus* sp., 5 örnekte *Salix* sp., 12 örnekte Myrtaceae ve 10 örnekte *Scutia* sp. türlerine ait polenler dominant olarak bulunduğu rapor edilmiştir. Ülkemizde Karadeniz ballarında yapılan çalışmada 46 örnekte bulunan dominant taksonlar; *Castanea sativa*, *Rhododendron ponticum*, *Tilia rubra*, Fagaceae, Ericaceae, Compositeae ve Criciferae'dir (Kelez, 2008). Bilecik ballarının polen içeriği belirlemek için Terzi (2009) tarafından yapılan çalışmada kullanılan 5 farklı bal örneğinde Acanthaceae ve Aceraceae familyalarının polenlerinin dominant olarak bulunduğu tespit edilmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Materyal örnekleri

Bu çalışmada Türkiye'nin çeşitli illerinden toplam 40 adet bal örneği temin edilmiştir. Bu bal örnekleri farklı kaynaklardan sağlanmıştır. Bunlardan 22 adeti doğal bal olup üreticilerinden, 18 adeti ticari bal olup marketlerden 2012 ve 2013 yıllarında toplanmıştır. Bütün bal numuneleri laboratuarda oda sıcaklığında, amber renkli şişelerde ve karanlık ortamda muhafaza edilmiştir. Bal örneklerinin çeşidi, toplandığı yıllar ve illeri Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de verilmiştir. Örneklerin alındığı bölgeler Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1: Bal örneklerinin alındığı bölgeler

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan doğal bal örnekleri

DOĞAL BALLAR			
Örnek No	Kaynak	Çeşidi	Dönemi
D1	Mesudiye/DATÇA	Çiçek balı	2012-Bahar
D2	Mesudiye/DATÇA	Kekik balı	2012-Bahar
D3	Güzelçamlı/KUŞADASI	Çam balı	2012-Bahar
D4	Mesudiye/DATÇA	Çam balı	2012-Bahar
D5	Marmaris/MUĞLA	Karakovan petek balı	2012-Bahar
D6-A	Çelikhan/MALATYA	Kır (çiçek) balı	2012-Bahar
D7	Marmaris/MUĞLA	Okaliptus balı	2012-Bahar
D8	ORDU	Acı (deli) bal	2012-Bahar
D9-A	Datça/MUĞLA	Çam balı	2012-Bahar
D10	Babadağ/DENİZLİ	Kekik balı	2012-Bahar
D11	Burhaniye/AYDIN	Hayıt balı	2012-Bahar
D12	Kuyucak/AYDIN	Narenciye balı	2012-Bahar
D13-A	Şeyh Köyü/KASTAMONU	Çam balı	2012-Bahar
D14	Datça/MUĞLA	Kekik balı	2012-Bahar
D15	Datça/MUĞLA	Kekik balı	2012-Bahar
D6-B	Çelikhan/MALATYA	Kır (çiçek) balı	2013-Bahar
D17	Datça/MUĞLA	Kekik balı	2013-Bahar
D9-B	Datça/MUĞLA	Çam balı	2013-Bahar
D13-B	Şeyh Köyü/KASTAMONU	Çiçek balı	2013-Bahar
D20	BARTIN	Çiçek balı	2013-Bahar
D21	BARTIN	Kestane balı	2013-Bahar
D22	SİVAS	Çiçek balı	2013-Bahar

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan ticari bal örnekleri

TİCARİ BALLAR*		
Örnek No	Çeşidi	Dönemi
T1-A	Çam balı	2012-Bahar
T2-A	Çiçek balı	2012-Bahar
T3-A	Çiçek balı	2012-Bahar
T4-A	Yayla (çiçek) balı	2012-Bahar
T5	Çam balı	2012-Bahar
T6	Çam balı	2012-Bahar
T7-A	Çiçek balı	2012-Bahar
T8-A	Çiçek balı	2012-Bahar
T9-A	Çam balı	2012-Bahar
T10-A	Çam balı	2012-Bahar
T1-B	Çam balı	2013-Bahar
T2-B	Çiçek balı	2013-Bahar
T8-B	Çiçek balı	2013-Bahar
T3-B	Çiçek balı	2013-Bahar
T9-B	Çam balı	2013-Bahar
T4-B	Yayla (çiçek) balı	2013-Bahar
T10-B	Çam balı	2013-Bahar
T7-B	Çiçek balı	2013-Bahar

*Marka adları tarafımızca gizli tutulmaktadır.

3.2. Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu

3.2.1. Bal örneklerinin hazırlanması

Bal örneklerinin her birinden yaklaşık 1,0 g alınarak, 9,0 ml steril Butterfield fosfat-buffered dilüsyon water (PBS) ile 3 dk sirkulatörde homojenize edilmiştir (Butterfield, 1932). Ondalık dilüsyonları (10^{-1} - 10^{-10}) ise 9,0 ml %0,85 serum fizyolojik suda süspanse edilerek hazırlanmıştır (Iurlina ve ark., 2005).

3.2.2. Bakteri izolasyonu

3.2.2.1. *Salmonella* spp. izolasyonu

Salmonella spp. izolasyonu, Bacteriological Analytical Manual (BAM, 2001)'in önerdiği standart metoda göre yapılmıştır. 25,0 g bal örneği 225,0 ml steril Lactose broth (LB, pH=7,2±0,1)'a ön zenginleştirme için ilave edilmiş ve kültürler 35 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra kültürlerden 5,0 ml steril tetrathionate (TTB, pH 8,4±0,2) ve selenite cystine (SCB, pH 7±0,2) broth' lara %2'lik ekim yapılmış ve 35±2 °C'de 24±2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 3 paralel olacak şekilde Hektoen enteric (HE) ve Bismuth sulfite (BS) agarlara %2 oranında bakteri ekimi yapılmış ve 35±2°C'de 24±2 saat inkübatörde bekletilmiştir (Iurlina ve Fritz, 2005).

3.2.2.2. *Shigella* spp. izolasyonu

Shigella spp. bakteri izolasyonu, Pascual Anderson ve Calderon Garcia (2000) ve Iurlina ve Fritz (2005) tarafından önerilen metoda göre yapılmıştır. 25,0 g bal örneği 225,0 ml Gram-negative bacteria (GNB, pH =7,0±0,2) broth'da 35±2 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Kültürler daha sonra 3 paralel halinde Hektoen Enteric (HE) agara %2 oranında yayma ekim yapılarak 35±2 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir.

3.2.2.3. *Bacillus* spp. izolasyonu

Yaklaşık 1,0 g bal örneği 9,0 ml PBS'de çözülmüştür. Hazırlanan örnek 80 °C'de 15 dk sıcak su banyosunda bekletildikten sonra 10^{-1} - 10^{-10} oranlarında seyreltmeler yapılarak 3 paralel J- agara (Alippi, 1995; Nordstrom ve Fries, 1995) 100 µl olacak şekilde ekim yapılmıştır ve petrilere 35±2 °C'de 46 saat inkübe edilmiştir (Gordon ve ark., 1973; Priest ve ark., 1988; Iurlina ve ark., 2005).

3.2.2.4. Toplam mezofilik bakteri sayısı

Seyreltilerek (10^{-1} - 10^{-10}) hazırlanan bal örneklerinden 0,1 ml alınıp ve 3 paralel standart Plate Count Agar'a (PCA) ekim yapılmıştır. Örnekler 30 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan koloniler sayılmış ve toplam mezofilik bakteri sayısı hesaplanmıştır. Bakteri sayısı, balın 1 g başına düşen "koloni oluşturan birim" (kob/g) olarak ifade edilmiştir (ICMSF, 1983; Iurlina ve ark., 2005).

3.2.2.5. Koliform grubu bakteri sayımı

Seyreltilerek (10^{-1} - 10^{-10}) hazırlanan bal örneklerinden 0,1 ml alınıp 3 paralel olan Violet red bile (VRB) agara ekim yapılmıştır. Daha sonra ekim yapılan petriler, 35°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besi yerlerinde üremiş olan koloniler sayılmıştır. Bakteri sayısı, 1 g balda koloni oluşturan birim (kob/g) olarak ifade edilmiştir (ICMSF, 1983; Iurlina ve ark., 2005).

3.2.2.6. *Clostridium* spp. izolasyonu

Bunun için Midura ve ark.'nın geliştirdiği dilusyon-santrifüj yöntemi kullanılmıştır (Midura ve ark., 1979). Bal örnekleri, 37 °C'de (kristalleşmiş olanlar ise 52-53 °C'de) ısıtılmış ve her bal örneğinden 20 g alınarak 100 ml steril distile su ile seyreltilmiştir. Oluşan karışım iyice çalkalanıp sonra 30 dk 20 °C'de 8000-10000x rpm'de santrifüj edilmiştir. Tüpteki supernatant kısmı dikkatlice atıldıktan sonra pellet kısmına yaklaşık 2,0 ml distile su eklenerek süspansiyon oluşturulmuştur. Süspansiyonu içeren tüp 80 °C'de 15 dk sıcak su banyosunda bekletilip 3 paralel olan SPS agar içeren petrilere %2 oranında inoküle edilmiştir. Daha sonra petriler anaerobik şartlarda 30 °C'de 7-10 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında besiyerindeki koloniler sayılmış ve bakteri sayıları kob/g cinsinden kaydedilmiştir (Monetto ve ark., 1999).

3.2.2.7. *Paenibacillus larvae* izolasyonu

Hornizky ve Clark (1991) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu yöntemde, 5,0 g bal tartılıp 10,0 ml PBS ile iyice karıştırılıp süspansiyon oluşturulmuştur. Oluşan bu karışımdaki *P. larvae'* nin vejetatif formlarını veya ısıya duyarlı olan bakteri kontaminasyonlarını öldürmek amacıyla örnekler 80 °C'de, 15 dk sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Örnekler daha sonra nalidiksik asit (6 µg/mL) ve pipemidik asit (10 µg/mL) içeren seçici MYPGP agara (3'er paralel) %2 oranında inoküle edilmiştir (Dingman ve Stahly, 1983; Alippi, 1995). Plaklar 37 °C'de %8-10 CO₂ bulunan bir ortamda 7 günlük inkübasyon sonunda küçük, düz, yuvarlak, düzenli, gri-beyazımsı renkteki tipik *P. larvae* kolonileri sayılmış ve kob/g cinsinden kaydedilmiştir (Graff ve ark., 2001). Gelişen koloniler stoklanıp izolatların karakterizasyonu için biyokimyasal testler yapılmıştır (Iurlina ve ark., 2005).

3.2.3. İdentifikasyon testleri

3.2.3.1. Mannitol kullanımı

Nutrient Broth (NB) besiyerinden çıkarılan beef extract yerine %1 oranında mannitol ilave edilmiştir. İndikatör boya olarak 0,02 g/l bromo cresol purple kullanılmıştır. Önceden aktifleştirilmiş kültürlerden %2 oranında inoküle edilip, 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mannitolü kullanarak üreyen suşlar, mor renkli olan besi ortamının rengini asit oluşumu nedeniyle sarı renge dönüştürmüştür (Buchanon ve Gibbons, 1974; Temiz, 2000).

3.2.3.2. Esculin hidrolizi

Esculin hidrolizi için öncelikle 1,0 g Esculin, 0,5 g Ferrik sitrat, 10,0 g pepton ve 5,0 g NaCl 1000 ml saf su ilave edilerek hazırlanmıştır. Aktif suşlar % 2 oranında ortama inoküle edilerek 37°C' de 1-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda esculin hidrolizi ile brothda kömür renginin oluşup oluşmadığı kontrol edilmiştir (Arda, 1997).

3.2.3.3. Jelatin hidrolizi

NB besi yerine %10 oranında jelatin ilave edilmiştir. Elde edilen karışım ısıtılarak homojenize edilip test tüplerine 5'er ml olarak dağıtılmıştır. Her bir izolat, 121 °C'de 15 dk steril edilen besi ortamına %2 oranında inoküle edilmiş ve 37 °C'de 15 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda ortamın sıvı hale dönüşümü veya katı halinin devamlılığı kontrol edilmiştir (Arda, 1997).

3.2.3.4. Nişasta hidrolizi

Nutrient agar besi ortamına %1 oranında nişasta ilavesi yapılmıştır. Besi ortamı 121 °C'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir. Aktif kültürlerden besi ortamına öze ile çizgi şeklinde ekim yapılmış ve kültürler 37 °C'de 2-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde ortama lugol ilave edilip koloni etrafında renksiz zonların var olup olmadığı kontrol edilmiştir (Arda, 1997).

3.2.3.5. Katalaz testi

Katalaz enziminin ortamdaki hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırdığı bilindiğinden bakteriler 5 ml'lik steril nutrient broth'a %2 oranında aşılanarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültürler üzerine %3 oranında H₂O₂ ilave edilip, gaz oluşumu kontrol edilmiştir (Temiz, 2000; Arda, 1997).

3.2.3.6. Nitrat redüksiyonu

Nitrat Buyyon besi ortamı hazırlanıp pH 7,0'a ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir. Aktif kültürler ortama %2 oranında inoküle edilip 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde kültürler üzerine 1 ml A ayıracı (α -naftolamin 0,5 g ve %30 asetik asit 100 ml) ve 1 ml B ayıracı (sülfanilik asit 0,8 g ve %30 asetik asit 100 ml) ilave edilmiştir. 30 sn içinde kültürlerde gözlenen kırmızı renk oluşumu pozitif bir reaksiyon yani nitratın nitrite redükte olması olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra kırmızı renk oluşumu gözlenmeyen kültürlerdeki nitratın varlığının kanıtlanması için çinko tozu ilavesi yapıp ortam kırmızı-pembe bir renk aldığında sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 1995; Arda, 1997).

3.2.3.7. Glukozdan gaz oluşumu

Bu testte hazırlanan nutrient broth besi yeri, durham tüpü içeren test tüplerine 5'er ml dağıtılıp 121 °C'de 15 dk steril edilmiştir. Daha sonra aktif kültürlerden besi yerine %2'lik ekim yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda deney tüplerinde bulunan durham tüplerindeki gaz (H₂ ve CO₂) varlığı incelenmiştir (Temiz, 2000).

3.2.3.8. Hidrojen sülfür testi

Bu test için TSI (Triple sugar iron agar) (pH 7,4±0,2) katı besi yeri kullanılmıştır. Aktif kültürler besi yerine öze ile inoküle edilmiştir. Hazırlanan örnekler anaerobik şartlarda 37 °C'de 21 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kolonilerin renginin siyahlaşması gözlemlenmiştir. Besi yerindeki siyahlaşmanın oranı süşun H₂S üretim düzeyi hakkında kalitatif bir bilgi vermiştir (Lee ve Simard, 1984; Arda, 1997).

3.2.3.9. Gram boyama

Öncelikle inceleyeceğimiz kültürden lam üzerine bir öze dolusu alınarak kuruması beklenmiştir. Daha sonra fikse edilen preparat kristal violet ile kaplanmış ve 1 dk beklenmiştir. Süre sonunda preparat distile suyla yıkanıp lugol ile kaplanarak 1 dk beklenmiş ve tekrar distile suyla yıkanmıştır. Preparat %96'lık etil alkolde 10-15 sn bekletilmiş ve distile suyla yıkandıktan sonra bazik fuksin ile 30 sn muamale edilmiştir. Süre sonunda distile suyla yıkanan preparat kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnek mikroskopta immersiyon objektifte incelenmiştir (Temiz, 2000).

3.2.3.10. Voges-Proskauer testi

İzolatlar, 5,0 ml'lik MR-VP broth besiyerine inoküle edilip ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüpe %5'lik Barritt ayırıcı (1 ml %40 KOH çözeltisi ve 3 ml %5'lik α -naftol çözeltisi) damlatılmış ve tüp iyice karıştırılmıştır. Kültürdeki renk değişimi gözlemlenmiştir. Eğer kültürde turuncu-kırmızı bir renk gözlemleniyorsa reaksiyon pozitif, eğer sarı renk gözlemleniyorsa reaksiyon negatif olarak kaydedilmiştir (Temiz, 2000; Çotuk, 2003).

3.2.3.11. İndol testi

İncelenecek bakteri kültüründen Pepton water veya Tryptone water besiyerine %2 oranında ekim yapılarak 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüplere 0,5 ml Kovaks ayırıcı damlatılıp tüp iyice çalkalanmıştır. Tüplerde kırmızı halka oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir (Temiz, 2000; Çotuk, 2003).

3.3. Fizikokimyasal Analizler

3.3.1. Hidroksimetil Furfural (HMF) tayini

Hidroksimetil Furfural içeriği, spektrofotometre kullanılarak 284 nm ve 336 nm'de ölçülerek belirlenmiştir (Bogdanov, 2002). Örnekler 3 paralel halinde aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır:

1. 50 ml'lik beher içine 5 g bal tartılır. 25 ml suda çözülür ve 50 ml'lik balon jolenin içine transfer edilir.
2. 0,5 ml Carrez çözeltisi I (15 g Potasyum hexacyanoferrate suda çözülerek 100 ml'ye tamamlanır) eklenir ve karıştırılır.

3. 0,5 ml Carrez çözeltisi II (30 g Zinc Acetate suda çözülerek 100 ml' ye tamamlanır) eklenir ve karıştırılır.
4. Whatman No 1 filtre kağıdıyla süzülür.
5. 18x150 mm' lik 2 test tüpünün her birine 5 ml örnek konur.
6. Örnek tüpüne 5 ml su eklenir ve iyice karıştırılır.
7. Körü hazırlamak için tüpe 5 ml %0,2'lik sodyum bisülfid çözeltisi konulur ve iyice karıştırılır.
8. 1 saat içinde 10 mm' lik quartz küvetlerde 284 ve 336 nm' de köre karşı örnek çözeltinin absorbanı UV- Spektrofotometrede belirlenir.
9. $HMF (mg/kg) = \frac{(Absorbans\ 284 - Absorbans\ 336) \times 149,7 \times D}{Ağırlık\ (W)}$

Ağırlık (W)

formülünden HMF değerleri hesaplanır.

3.3.2. Rutubet tayini

Baldaki rutubet miktarı, Bogdanov (1997)'un uyguladığı metoda göre refraktometre (Mettler Toledo, RM 40 Refractometer) ile ölçülmüştür. Bunun için, analiz numunesinden alınan yeteri kadar bal, refraktometrenin prizmaları arasına konmuştur. Balın optik kırılma indisi okunmuş ve kaydedilmiştir (Anonymous, 1995; Bogdanov ve ark., 1997; Anonim, 2005). Eğer bal örneği kristallenmişse balın seker granüllerini çözündürmek amacıyla, kırılma indisi okunmadan önce, balın az bir kısmı cam tüpe alınıp 40-50 °C'deki sıcak su banyosunda 30-45 dakika süreyle ısıtılmıştır.

3.3.3. Kül tayini

Porselen krozelerde 3 g bal tartılıp üzerine 5-6 damla zeytinyağı damlatılır ve yakma fırınında 600 °C'de beyaz kül oluşuncaya kadar yakılmıştır. Beyaz kül oluştuğunda krozeler fırından çıkartılarak desikatöre alınır ve oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Önceden darası alınmış olan krozeler tartılarak örneklerdeki kül miktarı belirlenmiştir. % kül değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Anonymous, 1995; Bogdanov ve ark., 1997).

$$\% \text{ Kül} = (\text{Yakma sonucunda oluşan kül} / \text{Tartılan bal miktarı}) \times 100$$

3.3.4. Protein tayini

Bal örneklerindeki toplam protein tayini modifiye Lowry metodu ile yapılmıştır (Hartree, 2004). Örneklerdeki protein miktarı sığır serum albumini (BSA) (Sigma, P0834) ile oluşturulmuş standart eğri (Bkz Şekil 2) aracılığıyla hesaplanmıştır.

Bu metod aşağıda belirtilen basamaklar takip edilerek yapılmıştır;

- Öncelikle 1,0 g bal örneği 10 ml saf suda çözülerek deney çözeltisi hazırlanmıştır.
- 1 ml bal çözeltisi 10 dk 50 °C'de su banyosunda bekletilmiştir.
- Çözelti üzerine 0,9 ml reaktif A eklenip 50 °C'de su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir.
- Süre sonunda çözeltiler su banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığına kadar karanlık bir ortamda soğumaya bırakılmıştır.
- Soğuduktan sonra örnek üzerine 0,1 ml reaktif B eklenip iyice karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- Süre sonunda 3 ml reaktif C ilave edilip karıştırıldıktan sonra 50 °C su banyosunda 10 dk daha bekletilmiştir.
- Daha sonra örnek oda sıcaklığına gelinceye kadar karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir.

Örnekler distile su ile hazırlanan kör çözeltiye karşı 650 nm dalga boyunda yapılan ölçümlerle spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

3.3.5. pH tayini

Bal örneklerinin pH'sını belirlemek üzere 10 g bal örneği 75 ml suda çözülmüştür. Hazırlanan çözeltiye dijital pH metrenin (WTW Inolab) elektrodu daldırılarak, bal örneklerinin pH değerleri belirlenmiştir (Anonymous, 1995; Bogdanov ve ark., 1997; Anonim, 2005).

3.3.6. Diyastaz sayısı tayini

Diyastaz sayısı tayini Schade metodu ile esas alınarak yapılmıştır. Bu metod 1 g baldaki diyastaz enziminin tamamen hidroliz edebildiği nişasta çözeltisi hacminin spektrofotometrik olarak ölçümüyle hesaplanmasına dayanmaktadır (Bogdanov, 2002).

Bu analizde kullanılan nişasta çözeltisinin kalibrasyonunun iyi ve dikkatli yapılması çok önemlidir. Çünkü nişasta çözeltisinin kalibrasyonu ile deneyde kullanılacak saf su miktarı belirlenmektedir. Bu işlem şöyle yapılmıştır;

- Öncelikle 6 adet test tüpüne 20, 21, 22, 23, 24 ve 25 ml distile su ile 5 ml seyreltilmiş iyot çözeltisi eklenmiştir.
- Daha sonra test tüplerine 10 ml saf su ve 5 ml nişasta çözeltisi içeren karışımdan 0,5 ml ilave edilip iyice karıştırılmıştır.
- Hazırlanan bu çözelti vakit kaybedilmeden 660 nm'de suya karşı okunmuştur.
- Absorbans aralığı 0,770-0,745 olan test tüpünü buluncaya kadar işlem devam ettirilmiştir.
- Bu şekilde deneyde kullanılacak saf su miktarı belirlenmiştir (24 ml).

Schade metodu: Öncelikle 10 g bal örneği tartılarak üzerine 15 ml saf su, 5 ml asetat tampon çözeltisi ve 3 ml sodyum klorid çözeltisi ilave edilip hazırlanan çözelti, saf su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan bal çözeltisinden 10 ml alınarak birinci erlene, ikinci erlene ise 10 ml nişasta çözeltisi eklenmiş ve her iki erlende 40 °C'de sıcak su banyosunda 15 dk bekletilmiştir. Süre sonunda nişasta çözeltisinden 5 ml alınarak bal çözeltisine ilave edilmiş ve kronometre başlatılmıştır. Belirli zamanlarda 0,5 ml bal çözeltisinden alınarak 5 ml seyreltilmiş iyot çözeltisi ve 24 ml saf su içeren deney tüpüne ilave edilmiştir. Oluşan karışım iyice karıştırılarak 660 nm'de suya karşı okunmuştur. Bu işlem belirli zaman aralıklarında 0,235 absorbans değeri belirlenene kadar devam ettirilmiştir. Bulunan zaman kaydedilmiş ve diyastaz sayısını belirlemek için aşağıdaki formülde yerine konulmuştur.

$$DN = \frac{300}{t_x} \quad t_x: \text{reaksiyon zamanı}$$

t_x

3.3.7. Asitlik tayini

Ballarda asitliği belirlemek için 3 farklı kavram bulunmaktadır. Bunlar serbest asitlik, lakton asitliği ve toplam asitliktir. Bu değerleri bulmak için Bogdanov (2002)'un geliştirdiği metot üzerinde değişiklikler yapılarak uygulanma yapılmıştır.

Balın bazik titrasyonu: Öncelikle 5 g bal tartılıp 50 ml saf suda iyice çözülmüştür. Bu çözeltilerden 25 ml alınmış ve başka bir erlene aktarılıp çözeltilerin pH değeri ölçülmüştür. İlk pH'sı ölçülen bu çözeltilere manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılarak 0,05 M NaOH çözeltilisinden pH 7,0'a ulaşıncaya kadar ilave edilerek çözeltilerin bazik titrasyonu yapılmıştır. Harcanan NaOH miktarı kaydedilmiştir. Daha sonra çözeltilere eklenen NaOH miktarı 10 ml'ye tamamlanmıştır.

Balın asidik titrasyonu: Bazik titrasyonun yapıldığı aynı erlen içerisindeki bal örneği bu kez, 0,025 M H₂SO₄ çözeltilisinden pH 7,0'a ulaşana kadar ilave edilerek titre edilmiştir. Harcanan H₂SO₄ miktarı formülden kullanmak için kaydedilmiştir.

Serbest asitlik: Bal örneğinin 0,05 M'lık NaOH ile yapılan bazik titrasyonunda, pH'nın 7,0 olduğu ilk dönüm noktasına kadar harcanan NaOH (V) miktarı aşağıdaki formülden yerine konularak hesaplanmıştır.

$$\text{Serbest asitlik(SA)} = M \times V \times 400 \text{ meq/kg}$$

M: NaOH'ın molaritesi

V: Harcanan NaOH ml'si

Lakton asitliği: Aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\text{Lakton asitliği (LA)} = [(10 - V_1) \times M] - [0,05 \times V_2] \times 400 \text{ meq/kg}$$

V₁: pH 7,0'a getirmek için harcanan NaOH hacmi

M: NaOH çözeltilisinin molaritesi

V₂: pH 7,0'a getirmek için harcanan H₂SO₄ hacmi

Toplam asitlik: Bu değer ise; "Toplam asitlik (TA) = LA + SA" eşitliğine göre hesaplanmıştır.

3.3.8. Elektriksel iletkenlik

Balların elektrik iletkenliğini belirlemek için Accorti ve ark. (1987), Bogdanov (2002) tarafından geliştirilen metotlar uygulanmıştır. Sonuç milliSiemens/cm cinsinden belirtilmiştir (mS/cm). Buna göre;

1. 1 g bal, porselen kroze içerisine tartılır ve sıcaklığı 600°C' ye ayarlanmış kül fırınına yerleştirilmiştir.
2. Kül fırınına yerleştirilen bal, beya kül oluşuncaya kadar yakılmıştır.
3. Krozeler desikatör içinde soğuduktan sonra tekrar tartılmıştır.
4. Sonuç yüzde ağırlık olarak ifade edilmiş (g/100g) ve aşağıdaki eşitlikte yerine konulmuştur.

$$C = 0,14 + 1,74 A$$

C: Elektriksel iletkenlik (mS/cm)

A: Yüzde kül miktarı

3.3.9. Suda çözünmeyen katı madde (Briks) tayini

Balın suda çözünür katı madde (Briks) miktarı, şeker kristalleri 40-50 °C'deki su banyosunda çözündürüldükten sonra 20 °C'de refraktometre ile tayin edilmiştir (Bogdanov, 2002).

3.3.10. Renk tayini

Bal numunelerinin rengi, Hunter (L, a, b) renk ölçüm sisteminde Hunter aygıtı ile belirlenmiştir. Kristallenmiş olan bal numuneleri küvete konulmadan önce, 50 °C sıcaklıktaki su banyosunda 30–45 dakika ısıtılmıştır. Bu işlemin amacı seker kristallerini çözündürmek ve balın viskozitesini düşürmektir. Üç okuma değerinin ortalaması alınıp numunenin renk değerleri belirlenmiştir (Anupama ve ark., 2003).

3.3.11. İnvirt şeker tayini

İnvirt şeker cinsinden eşdeğeri bilinen bakır (II) çözeltisinin belli bir hacmi, bazik ortamda balıdan hazırlanan sulu çözelti ile, metilen mavisi indikatörüne karşı titre edilir. Baldaki glikoz ve fruktoz (invirt şeker), molekül başına iki elektron vererek yükseltgenirken, bakır (II) iyonları da bakır (I) haline indirgenir. Bu titrasyonda

harcanan bal çözeltisi hacminden, baldaki indirgen şeker (invert şeker) yüzdesi hesaplanır (TS 3036, Mart 2002).

Bu deneyde kullanılan fehling çözeltilerinin ayarlanması oldukça önemlidir. Bu çözeltilerin ayarlanması şu şekilde yapılmıştır:

Uygun bir erlende 5 mL Fehling A ve 5 mL Fehling B çözeltisi, 10 mL su ve 15 mL invert şeker çözeltisi karıştırılmıştır. Karışım, bir ısıtma tablası üzerinde magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak kaynayınca kadar ısıtılmıştır. Kaynatmaya, kaynama görüldükten sonraki 2 dakika daha devam edilmiştir. Daha sonra karışıma, 10-12 damla metilen mavisi çözeltisi eklenmiştir. Metilen mavisi şekersiz ortamda mavi olduğu için bu safhada karışım mavileşir; çünkü karışımda halen indirgen şeker mevcut değildir (baştan konulan invert şekerin tamamı yükseltgenmiştir). Tam 5 ml Fehling A çözeltisinin eşdeğeri olan invert şeker miktarını bulmak için, metilen mavisi eklenen karışım, standart invert şeker çözeltisi ile, metilen mavisi ilavesinden sonra 3 dakikada titrasyon sonuna ulaşılacak şekilde, renk maviden kırmızıya dönünceye kadar titre edilmiştir. Titrasyon sonunu tespit etmek için, karışımın üstteki berrak kısmının rengine bakılmış, bu kısmın renginin maviden kırmızıya döndüğü an, eşdeğerlik noktası olarak alınmıştır. Titrasyonda harcanan standart invert şeker çözeltisi hacminin, baştan eklenen 15 ml ile toplanması sonucunda 5 mL Fehling A' nın eşdeğeri olan invert şeker çözeltisi hacmi (V) bulunmuştur. 5 mL Fehling A' nın eşdeğeri olan invert şekerin mg olarak miktarı (F), yani faktör; "F = V x 2,5" eşitliğinden hesaplanmıştır.

Deneyin uygulaması: 2 g bal, 100 ml suda çözülüp üzerine, 1 ml Carrez I ve 1 ml Carrez II çözeltileri ilave edilip çalkalanmıştır. Karışım, saf su ile 250 ml' ye tamamlanıp karıştırılmıştır. Carrez çözeltileri ilave edildiğinde oluşan çökelmeler, kaba gözenekli süzgeç kağıdıyla süzümüştür. Süzüntüden, 50 ml alınarak çözeltinin hacmi saf su ile 100 ml' ye tamamlanarak deney çözeltisi hazırlanmıştır.

Ön titrasyon basamağına gelindiğinde, bir erlene, 5 ml Fehling A ve 5 ml Fehling B çözeltisi, 10 ml su ve 5 ml deney çözeltisi konulup karıştırılmıştır. Karışım, bir ısıtma tablası üzerinde magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak kaynama anı tespit edilip kaynatmaya, kaynama anından sonraki 2 dakika daha devam edilmiştir. Süre sonunda karışıma, 10-12 damla metilen mavisi çözeltisi katılıp karıştırılmış ve deney çözeltisi ile, 3 dakikada titrasyon sona erecek şekilde, renk maviden kiremit

kırmızısına dönünceye kadar titre edilmiştir. Rengin maviden kırmızıya döndüğü an, eşdeğerlik noktası olarak alınmıştır. Ön titrasyonda harcanan toplam invert şeker çözeltisi hacmi, baştan konulan 5 ml ile, titrasyon için kullanılan deney çözeltisi hacminin toplamı olarak kaydedilmiştir (V_s).

Son titrasyon basamağında ise, ön titrasyonda baştan alınan 5 mL invert şeker çözeltisi hacmi yerine, V_s ' nin 3 ml eksiği alınarak, aynı titrasyon bir defa daha tekrarlanmış ve bu son titrasyondaki toplam standart invert şeker çözeltisi sarfiyatı (V_n) bulunmuştur.

Baldaki indirgen şeker toplamı, kütlece yüzde olarak invert şeker cinsinden aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\text{İ.Ş.} = \frac{250}{m \times V_n} \times \frac{100}{50} \times \frac{F}{1000} \times 100 = \frac{50 \times F}{m \times V_n}$$

Burada;

İ.Ş. = Numunedeki invert şeker (kütlece %),

F = Fehling A çözeltisinin faktörü (mg şeker/5 mL çözelti)

m = Bal numunesi (g),

V_n = Son titrasyonda harcanan standart invert şeker çözeltisi hacmi (ml) dir.

3.3.12. Şeker bileşenleri tayini

Bal örnekleri içerisindeki şeker bileşenlerinin miktarını belirlemek üzere HPLC analizi yapılmıştır. HPLC ölçümleri Tübitak Marmara Araştırma Merkezi Gıda Enstitüsü Enstrümantal Analiz Laboratuvarı'na yaptırılmıştır.

3.4. Melissopalinojik Analizler

Polen analizinde, 8 Avrupa ülkesinin Arıcılık Enstitü'lerinde çalışan uzmanlarca incelenmiş ve uluslararası ortak bir yöntem olarak kabul edilen metod kullanılmıştır (Maurizio, 1951; Loureaux ve ark., 1978).

Bu metoda göre; kavanozlardaki stok bal örnekleri iyice karıştırılmıştır. Eğer örnek kristalleşmiş ya da soğuk nedeniyle katılaşmış ise kavanozlar su banyosunda bir süre tutularak yumuşaması sağlanmıştır. İyice karıştırılıp polenlerin homojen bir şekilde

dağılması sağlandıktan sonra baldan 10 g alınarak deney tüpüne konulmuştur. Üzerine 20 ml distile su ilave edilmiştir. Dış etmenlerin sonuca müdahale etmemesi için deney tüpünün ağzı parafilm ile kapatılmıştır. Balın su içinde çözünmesi için tüpler yaklaşık 40-45 °C' lik su banyosunda 10-15 dakika bekletildikten sonra tüpler iyice çalkalanarak balın su içerisinde tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Deney tüpleri 10 dakika süreyle 5500-6000 rpm'de santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda tüplerdeki supernatant kısmı atılmıştır. İğne ucuyla alınan bir miktar gliserin-jelatin maddesi tüpün dibindeki çökeltiye sürülüp bir süre bekledikten sonra polen içeren bu madde lam üzerine aktarılmıştır. Lam, ısıtılarak gliserin-jelatin karışımının erimesi sağlanarak lam üzerine son olarak lamel kapatılmıştır. Böylelikle preparat mikroskopik incelemeye hazır hale getirilmiştir.

Polenlerin sayımı için preparat yapımında 24x24 mm' lik lameller kullanılmıştır. Her bir lamel 2 mm' lik 11 tarama alanına bölünmüş ve her iki tarama alanında polen sayımı ışık mikroskobu yardımıyla yapılmıştır. Toplam 6 tarama alanındaki polen sayısının aritmetik ortalaması 11 ile çarpıldığında preparattaki toplam polen sayısı bulunmuştur.

Polenlerin tanımlanması için yine ışık mikroskobuyla ancak bu sefer daha büyük bir büyütmedeki objektifle polenlerin morfolojisi incelenmiştir.

Ayrıca örneklerde tespit edilen polenler % oranlarına göre Louveoux ve ark. (1978)'nin belirttiği gibi aşağıda ifade edildiği şekilde değerlendirilmiştir.

%45 ve daha fazlası: Dominant polen

%15-44: Sekonder polen

%3-15: Minör polen

%3'ten az: Eser polen

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bakteri İzolasyonu

4.1.1. *Salmonella* sp. izolasyonu

Örneklerde *Salmonella* sp. varlığını belirlemek için öncelikle Laktoz, Tetrasyonat ve Selenit sistein buyyonlar kullanılmış daha sonra Hektoen enterik ve Bismuth sülfid agarlara ekim yapılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar sonucunda örneklerin hiçbirinde *Salmonella* ve/veya herhangi bir bakteri gelişmemiştir.

4.1.2. *Shigella* sp. izolasyonu

Balların *Shigella* sp. içeriğini belirlemek için ise Gram negatif bakteri broth ve Hektoen enterik agar kullanılmış olup çalışma sonucunda besi yerlerinin hiçbirinde bakteri gelişmemiştir.

4.1.3. *Bacillus* sp. izolasyonu

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 40 farklı bal örneğinden J-Agara yapılan ekimler sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.1'de verilmiştir. Örneklerin 7'sinde (D8, D10, D11, D12, D21, T2 ve T7) üreme olmamıştır. Diğer bal örneklerindeki hücre sayısı 0,48 log kob/g (D1) ve en yüksek 5,70 log kob/g (D4) olarak tespit edilmiştir. Gelişen bakteri kolonilerinden daha sonraki identifikasyon çalışmalarında kullanılmak üzere toplam 64 adet izolat, J-Agarda stoklanarak +4°C'de muhafaza edilmiştir.

4.1.4. Toplam mezofilik bakteri sayımı

Bal örneklerindeki mezofilik bakteri sayısını belirlemek için ise Plate Count Agar (PCA) kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda D8 ve D21 no'lu örneklerde koloni varlığı gözlenmemiştir. Diğer 38 adet örnekteki hücre sayısı en düşük 2,00 log kob/g (D9-B) ve en yüksek 5,44 log kob/g (D4) olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: İzolasyon sonuçları (log kob/g)

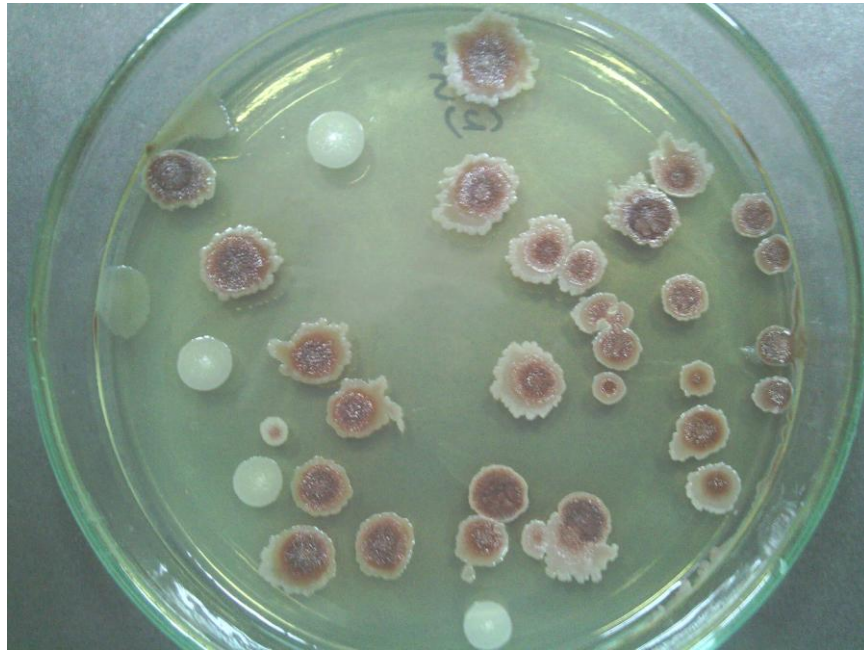
Doğal ballar	Toplam mezofilik	<i>Bacillus sp.</i>	<i>P. larvae</i>	<i>Clostridium sp.</i>	Ticari ballar	Toplam mezofilik	<i>Bacillus sp.</i>	<i>P. larvae</i>	<i>Clostridium sp.</i>
D1	5,00	0,48	1,00	2,46	T1-A	5,40	2,58	2,58	1,18
D2	4,30	4,03	1,48	2,38	T2-A	5,41	-	-	1,00
D3	4,83	4,53	1,70	1,35	T3-A	3,62	3,04	3,04	1,65
D4	5,44	5,70	5,70	1,44	T4-A	2,93	2,67	2,67	1,44
D5	3,75	3,70	3,70	1,40	T5	2,89	2,67	2,67	1,95
D6-A	4,78	4,45	4,45	-	T6	2,78	2,67	2,67	1,30
D7	3,00	2,57	2,57	0,88	T7-A	3,00	-	-	1,18
D8	-	-	-	-	T8-A	2,75	2,18	2,18	1,00
D9-A	3,00	3,04	3,86	1,00	T9-A	2,06	2,75	2,75	1,18
D10	3,88	-	-	0,70	T10-A	3,18	2,78	2,78	1,24
D11	3,83	-	-	-	T1-B	2,49	2,49	2,38	2,37
D12	4,15	-	-	1,44	T2-B	2,81	2,00	2,07	2,04
D13-A	4,31	4,45	4,45	1,63	T8-B	4,17	3,92	2,99	2,28
D14	3,83	3,04	3,04	0,70	T3-B	4,68	3,85	3,82	1,42
D15	3,77	2,80	2,80	0,70	T9-B	3,00	3,00	2,96	2,85
D6-B	3,90	3,60	3,39	-	T4-B	2,62	2,62	2,61	2,13
D17	3,00	3,00	2,34	2,27	T10-B	3,81	4,68	2,94	2,20
D9-B	2,00	2,00	1,92	1,48	T7-B	3,91	3,77	3,08	1,94
D13-B	5,45	4,17	2,48	2,34					
D20	3,52	2,99	2,15	1,65					
D21	-	-	-	-					
D22	3,95	3,58	2,76	2,25					

4.1.5. Koliform grubu bakteri izolasyonu

Escherichia, *Klebsiella*, *Enterobacter* türleri gibi patojen türlerden oluşan koliform grubu bakterileri belirlemek için besi ortamı olarak Violet red bile (VRB) agar kullanılmıştır. Deneyler sonucunda hiçbir örnekte koliform grubu bakterilere rastlanmamıştır.

4.1.6. *Clostridium* sp. izolasyonu

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin edilen bal numunelerindeki *Clostridium* türlerini tespit etmek için SPS (Sülfat polimiksin sülfadiazin) agar kullanılmıştır. Anaerobik şartlarda gerçekleşen inkübasyon sonunda besi yerinde üreyen koloniler sayılmıştır (Şekil 2). Ancak D6, D8, D11, D6-B ve D21 no'lu örneklerde koloniye rastlanmamıştır. Diğer örneklerde belirlenen koloni sayıları ise en az 0,70 log kob/g ve en fazla 2,85 log kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). Bu kolonilerden 18 tanesi Bakterioloji laboratuvarı bakteri stokları arasına dahil edilmiştir.



Şekil 2: Çalışmada varlığı belirlenen *Clostridium* sp. petri görüntüsü

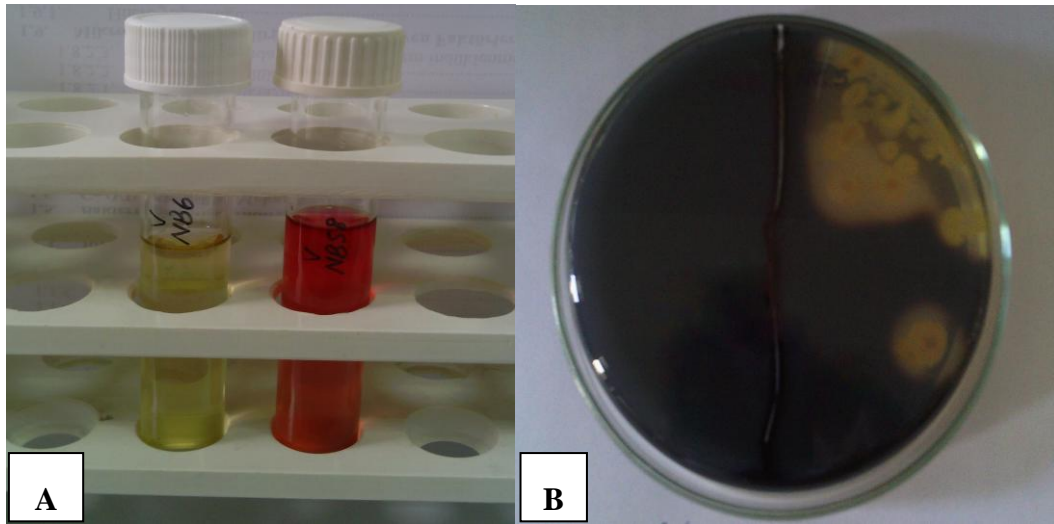
4.1.7. *Paenibacillus larvae* izolasyonu

Önemli bir arı patojeni olan *Paenibacillus larvae*'nin Türk ballarındaki varlığını belirlemek için ekimler nalidiksik asit ve pipemidik asit eklenmiş MYPGP agar'a yapılmıştır. Çalışmalar sonucunda D8, D10, D11, D12, D21, T2-A ve T7-A no'lu

örneklerde bakteri gelişimi gözlenmemiştir. Diğer tüm örneklerde ise koloni varlığı tespit edilmiştir. Koloni sayıları, en az 1,00 log kob/g (D1), en fazla 5,70 log kob/g (D4) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Bu kolonilerden ise 19 tanesi MYPGP agar'da stoklanmıştır.

4.2. Bakterilerin İdentifikasyonu

Stoklanan toplam 101 adet izolatın tanımlanması için biyokimyasal testlerden yararlanılmıştır. Bu testler mannitol kullanımı, eskulin hidrolizi, jelatin hidrolizi, nişasta hidrolizi, katalaz testi, nitrat redüksiyonu, glikozdan gaz oluşumu, hidrojen sülfür testi, voges proskauer testi, indol testi ve gram boyama'dır. Test sonuçları Tablo 4.2'de verilmiştir.



Şekil 3: Baldan izole edilen bazı izolatların Voges Proskauer ve nişasta hidrolizi görüntüleri. (A) NB66 VP negatif, NB 58 VP pozitif; (B) NC6 nişasta negatif, NC5 nişasta pozitif

Tablo 4.2: İzolatların biyokimyasal özellikleri

	Glikoz	Laktoz	Mannitol	Gram boyama	Katalaz testi	Esculin hidrolizi	Jelatin hidrolizi	Nişasta hidrolizi	Glukozdan gaz oluşumu	Nitrat redüksiyonu	H ₂ S testi	VP testi	İndol testi
NB1	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
NB2	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
NB3	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
NB4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
NB5	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+
NB6	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+
NB7	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
NB8	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
NB9	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
NB10	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
NB11	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
NB12	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB13	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NB14	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
NB15	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB16	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
NB17	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
NB18	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
NB19	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
NB20	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
NB21	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+
NB22	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+
NB28	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
NB29	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Tablo 4.2: İzolatların biyokimyasal özellikleri (devamı)

	Glikoz	Laktoz	Mannitol	Gram boyama	Katalaz testi	Esculin hidrolizi	Jelatin hidrolizi	Niçasta hidrolizi	Glukozdan gaz oluşumu	Nitrat redüksiyonu	H ₂ S testi	VP testi	İndol testi
NB30	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
NB31	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
NB32	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB33	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
NB34	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
NB35	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
NB36	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB37	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
NB38	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
NB39	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB40	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
NB41	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB42	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
NB43	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB44	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+
NB45	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+
NB46	-	-	+	+	-	+/-	-	+	-	+	-	+	-
NB47	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB48	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
NB49	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-
NB50	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
NB51	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
NB52	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB53	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
NB54	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-

Tablo 4.2: İzolatların biyokimyasal özellikleri (devamı)

	Glikoz	Laktoz	Mannitol	Gram boyama	Katalaz testi	Esculin hidrolizi	Jelatin hidrolizi	Nişasta hidrolizi	Glukozdan gaz oluşumu	Nitrat redüksiyonu	H ₂ S testi	VP testi	İndol testi
NB55	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
NB56	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
NB57	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
NB58	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NB59	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
NB60	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NB61	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NB62	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
NB63	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
NB64	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
NB65	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NB66	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NB67	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NB68	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB69	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
NP1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NP2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NP3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NP4	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NP5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NP6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NP7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NP8	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NP9	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NP10	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.2: İzolatların biyokimyasal özellikleri (devamı)

	Glikoz	Laktoz	Mannitol	Gram boyama	Katalaz testi	Esculin hidrolizi	Jelatin hidrolizi	Nişasta hidrolizi	Glukozdan gaz oluşumu	Nitrat redüksiyonu	H ₂ S testi	VP testi	İndol testi
NP11	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NP12	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NP13	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
NP14	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NP15	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NP16	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NP17	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
NP18	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NP19	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NC1	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NC2	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NC3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NC4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NC5	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
NC6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
NC7	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
NC8	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NC9	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NC10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-
NC11	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
NC12	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
NC13	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
NC14	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
NC15	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NC16	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NC17	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
NC18	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-

4.3. Fizikokimyasal testler

4.3.1. Hidroksimetilfurfural içeriği

Çalışmada kullanılan bal örneklerinin HMF miktarı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Kullandığımız 40 adet bal örneğinin HMF içerikleri Tablo 4.16'da gösterilmektedir. Yıllara göre örneklerdeki HMF içeriklerinin farklılığı Tablo 4.3'de bulunmaktadır.

Tablo 4.3: Yıllara göre bal örneklerindeki HMF miktarları

		HMF			HMF
2012	D6-A	13,15±0,30	2013	D6-B	1,17±0,01
	D9-A	8,36±0,44		D9-B	1,97±0,01
	D13-A	41,97±0,30		D13-B	2,68±0,02
	T1-A	20,93±0,05		T1-B	6,26±0,03
	T2-A	175,18±1,00		T2-B	10,88±0,01
	T3-A	85,93±1,91		T3-B	29,35±0,00
	T4-A	66,78±1,02		T4-B	32,12±0,03
	T7-A	88,84±0,05		T7-B	19,7±0,01
	T8-A	19,23±0,05		T8-B	13,13±0,01
	T9-A	35,13±0,10		T9-B	3,83±0,02
	T10-A	27,11±0,05		T10-B	3,13±0,01

4.3.2. Rutubet içeriği

Bu araştırmada kullanılan bal örneklerinin rutubet içerikleri en az %11,9±0 (D13-A), en fazla %19,43±0,03 (D22) olarak saptanmıştır (Tablo 4.16). Örneklerin yıllara göre içerdikleri rutubet miktarları ise Tablo 4.4'de gösterilmektedir.

Tablo 4.4: Yıllara göre bal örneklerinin rutubet miktarları

		Rutubet Miktarı (%)			Rutubet Miktarı (%)
2012	D6-A	13,1±0,1	2013	D6-B	14,3±0,0
	D9-A	15,4±0,1		D9-B	14,9±0,2
	D13-A	11,9±0,0		D13-B	15,9±0,1
	T1-A	16,1±0,1		T1-B	16,5±0,2
	T2-A	15,8±0,1		T2-B	16,2±0,2
	T3-A	15,2±0,2		T3-B	16,2±0,3
	T4-A	14,6±0,0		T4-B	16,8±0,0
	T7-A	17,7±0,1		T7-B	17,5±0,2
	T8-A	15,1±0,1		T8-B	16,5±0,1
	T9-A	16,7±0,1		T9-B	16,7±0,6
	T10-A	16,7±0,0		T10-B	16,1±0,2

4.3.3. Kül miktarı

Araştırmada kullanılan bal örneklerinin kül miktarları Tablo 4.16'da gösterilmektedir. Görüldüğü gibi, kül miktarı en az olan örnek kütlece %0,03±0,01 ile D12, en fazla olan örnek kütlece %1,17±0,06 ile D8'dir.

Genel olarak örneklerin kül miktarlarında yıllara göre önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 4.5); D9-A/D9-B (%0,33-0,14), D6-A/D6-B (%0,04-0,17), T1-A/T1-B (%0,37-0,51), T3-A/T3-B (%0,09-0,16), T7-A/T7-B (%0,17-0,06), T10-A/T10-B (%0,39-0,18).

Tablo 4.5: Yıllara göre bal örneklerindeki kül miktarları

		Kül Miktarı (%)			Kül Miktarı (%)
2012	D6-A	0,04±0,01	2013	D6-B	0,17±0,02
	D9-A	0,33±0,01		D9-B	0,14±0,04
	D13-A	0,24±0,01		D13-B	0,26±0,01
	T1-A	0,37±0,01		T1-B	0,51±0,01
	T2-A	0,13±0,01		T2-B	0,14±0,01
	T3-A	0,09±0,01		T3-B	0,16±0,07
	T4-A	0,18±0,01		T4-B	0,14±0,01
	T7-A	0,17±0,01		T7-B	0,06±0,01
	T8-A	0,30±0,01		T8-B	0,25±0,01
	T9-A	0,41±0,01		T9-B	0,43±0,01
T10-A	0,39±0,00	T10-B	0,18±0,02		

4.3.4. Protein içeriği

Balların protein içeriği Modifiye Lowry metodu ile belirlenmiştir ve örneklerin protein içerikleri Tablo 4.16'da verilmektedir. Örnekler arasında en düşük protein değeri %0,13 (T7-A), en yüksek protein değeri ise %0,19 (D9-A ve T1-B)'dur. Farklı yıllarda hasat edilen örneklerde de protein içerikleri ise Tablo 4.6'da gösterilmektedir.

Tablo 4.6: Yıllara göre bal örneklerinin protein miktarları

		Toplam Protein Miktarı (%)			Toplam Protein Miktarı (%)
2012	D6-A	0,16±0,01	2013	D6-B	0,16±0,01
	D9-A	0,19±0,00		D9-B	0,15±0,01
	D13-A	0,16±0,00		D13-B	0,18±0,01
	T1-A	0,18±0,00		T1-B	0,19±0,00
	T2-A	0,16±0,01		T2-B	0,17±0,01
	T3-A	0,16±0,01		T3-B	0,16±0,01
	T4-A	0,16±0,00		T4-B	0,16±0,00
	T7-A	0,13±0,00		T7-B	0,16±0,00
	T8-A	0,14±0,00		T8-B	0,17±0,00
	T9-A	0,14±0,00		T9-B	0,17±0,00
T10-A	0,14±0,01	T10-B	0,16±0,00		

4.3.5. pH değerleri

Balın pH değeri 3,2 ila 6,1 aralığında değişiklik göstermektedir. Sonuçlar Tablo 4.16'da verilmiştir. Yıllara göre örneklerin pH değerleri arasında değişimler ise Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7: Yıllara göre bal örneklerinin pH değerleri

		pH değerleri			pH değerleri
2012	D6-A	3,37±0,01	2013	D6-B	3,80±0,02
	D9-A	4,58±0,08		D9-B	4,63±0,01
	D13-A	3,40±0,02		D13-B	3,66±0,01
	T1-A	4,10±0,03		T1-B	4,68±0,02
	T2-A	3,52±0,05		T2-B	3,86±0,01
	T3-A	3,38±0,04		T3-B	3,52±0,01
	T4-A	3,76±0,05		T4-B	3,78±0,02
	T7-A	3,40±0,02		T7-B	3,96±0,02
	T8-A	3,84±0,05		T8-B	3,80±0,01
	T9-A	4,30±0,01		T9-B	4,23±0,02
	T10-A	4,27±0,01		T10-B	3,87±0,02

4.3.6. Diyastaz sayısı

Bu çalışmada kullanılan bal örneklerinin diyastaz sayıları arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir (Tablo 4.16). En yüksek diyastaz sayısı çiçek balında (D6-B), en düşük diyastaz sayısı ise narenciye balında (D12) tespit edilmiştir (sırasıyla, 533,33±66,67 ve 3±0,00).

Hasat edildikleri yıllara göre numuneler karşılaştırıldığında 5 örnekte büyük farklılıklar olduğu gözlenmektedir (Tablo 4.8). Bu örnekler; D6-A/D6-B (85,71-533,33), D13-A/D13-B (50,95-130), T2-A/T2-B (33,61-72,22), T7-A/T7-B (29,29-300) ve T10-A/T10-B (60-433,33)'dir.

Tablo 4.8: Yıllara göre bal örneklerinin diyastaz sayıları

		Diyastaz Sayısı				Diyastaz Sayısı	
2012	D6-A	85,71±0,00		2013	D6-B	533,33±66,7	
	D9-A	65,41±1,26			D9-B	69,45±2,78	
	D13-A	50,95±0,95			D13-B	130,00±10,00	
	T1-A	75,00±0,00			T1-B	100,00±0,00	
	T2-A	33,61±0,30			T2-B	72,22±2,80	
	T3-A	34,72±0,40			T3-B	43,96±1,10	
	T4-A	32,50±2,50			T4-B	45,05±1,10	
	T7-A	29,29±2,00			T7-B	300,00±0,00	
	T8-A	47,62±2,40			T8-B	66,67±0,00	
	T9-A	61,67±1,70			T9-B	51,52±1,50	
T10-A	60,00±0,00		T10-B	433,30±33,30			

4.3.7. Asitlik

Balların asitlik değerleri Tablo 4.16'da verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi en yüksek asitlik değeri çam balı olan T10-B (49,22±0,02 meq/kg)'de bulunurken, en düşük asitlik değeri karakovan petek balı olan D5 (21,87±0,13 meq/kg) nolu örnekte gözlenmiştir. Farklı yıllarda temin edilen balları kıyasladığımızda ise tüm örneklerin toplam asitliğinin 2013 yılında 2012'ye göre arttığı görülmektedir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Yıllara göre bal örneklerinin asitlik değerleri

		Asitlik (meq/kg)					Asitlik (meq/kg)		
		Serbest asitlik	Lakton asitliği	Toplam asitlik			Serbest asitlik	Lakton asitliği	Toplam asitlik
2012	D6-A	18,00±0,00	7,00±1,00	25,00±1,00	2013	D6-B	24,00±0,15	22,00±0,00	45,97±0,10
	D9-A	25,00±3,00	4,07±1,10	29,40±1,20		D9-B	20,00±0,10	25,60±0,10	45,88±0,10
	D13-A	28,00±2,00	5,87±1,90	34,20±0,20		D13-B	17,00±0,02	25,60±0,10	42,60±0,02
	T1-A	18,70±0,30	7,30±0,70	26,00±1,00		T1-B	16,00±1,00	31,70±1,30	48,00±1,00
	T2-A	17,90±0,50	14,90±3,70	32,80±1,40		T2-B	14,40±0,30	30,60±0,60	44,92±0,52
	T3-A	25,00±2,00	11,00±2,00	36,00±0,00		T3-B	20,90±0,14	25,00±0,50	45,90±0,46
	T4-A	19,00±2,00	9,90±1,30	28,93±0,27		T4-B	16,90±0,20	25,70±0,30	42,61±0,01
	T7-A	29,70±0,50	10,00±1,00	39,33±0,67		T7-B	16,40±0,03	27,50±0,10	43,93±0,04
	T8-A	21,00±1,00	6,00±0,00	27,33±0,67		T8-B	21,10±0,10	25,40±0,40	46,46±0,05
	T9-A	16,00±1,00	7,90±1,00	24,27±0,13		T9-B	16,70±0,10	25,20±0,10	41,86±0,13
T10-A	17,70±1,30	5,30±3,00	22,67±1,33	T10-B	25,00±0,15	24,20±0,10	49,22±0,02		

4.3.8. Elektriksel iletkenlik

Bu çalışmadaki örneklerin elektriksel iletkenlikleri incelendiğinde en az değere sahip olan D12 (narenciye balı) ($0,19\pm 0,01$ mS/cm), en yüksek değere sahip olan ise D8 (acı bal) ($2,17\pm 0,1$ mS/cm) örnekleri olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.16).

Örneklerin elektriksel iletkenlik değerlerinin yıllara göre değişimine baktığımızda ise D6-A/D6-B ($0,2-0,43$ mS/cm), D9-A/D9-B ($0,72-0,51$ mS/cm), T1-A/T1-B ($0,79-1,03$ mS/cm), T7-A/T7-B ($0,44-0,24$ mS/cm) ve T10-A/T10-B ($0,82-0,45$ mS/cm) örneklerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: Yıllara göre bal örneklerinin elektriksel iletkenlik değerleri

		Elektriksel İletkenlik (mS/cm)			Elektriksel İletkenlik (mS/cm)
2012	D6-A	$0,20\pm 0,01$	2013	D6-B	$0,43\pm 0,03$
	D9-A	$0,72\pm 0,01$		D9-B	$0,51\pm 0,06$
	D13-A	$0,55\pm 0,01$		D13-B	$0,60\pm 0,02$
	T1-A	$0,79\pm 0,03$		T1-B	$1,03\pm 0,02$
	T2-A	$0,36\pm 0,01$		T2-B	$0,38\pm 0,02$
	T3-A	$0,30\pm 0,01$		T3-B	$0,41\pm 0,01$
	T4-A	$0,45\pm 0,01$		T4-B	$0,39\pm 0,01$
	T7-A	$0,44\pm 0,02$		T7-B	$0,24\pm 0,02$
	T8-A	$0,66\pm 0,02$		T8-B	$0,58\pm 0,02$
	T9-A	$0,86\pm 0,01$		T9-B	$0,88\pm 0,01$
T10-A	$0,82\pm 0,00$	T10-B	$0,45\pm 0,04$		

4.3.9. Suda çözünmeyen kuru madde (Briks)

Çalışmada kullanılan örneklerin içerdiği briks değerleri Tablo 4.16'de verilmiştir. Değerler incelendiğinde en az değer acı bal olan D8'de, en yüksek değer ise çam balı olan D13-A'da saptanmıştır (sırasıyla; $79,09\pm 0,05$ ve $86,02\pm 0,02$).

Örneklerin briks değerlerinin yıllara göre değişimi ise Tablo 4.11'de verilmektedir.

Tablo 4.11: Yıllara göre bal örneklerinin briks değerleri

		Briks Değeri			Briks Değeri
2012	D6-A	85,08±0,04	2013	D6-B	83,74±0,04
	D9-A	82,77±0,08		D9-B	83,34±0,20
	D13-A	86,02±0,02		D13-B	82,34±0,06
	T1-A	82,11±0,09		T1-B	82,05±0,26
	T2-A	82,44±0,10		T2-B	82,68±0,44
	T3-A	83,05±0,02		T3-B	82,05±0,11
	T4-A	83,57±0,05		T4-B	81,51±0,03
	T7-A	80,57±0,07		T7-B	80,78±0,21
	T8-A	83,27±0,06		T8-B	82,39±0,45
	T9-A	81,57±0,05		T9-B	82,03±0,10
	T10-A	81,56±0,00		T10-B	82,15±0,17

4.3.10. Renk

Balların renk değerleri Hunter cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen sonuçlar Tablo 4.12'de verilmiştir. Ballardaki L değerleri 5,39-42,39; a değerleri 0,64-14,22; b değerleri 1,82-20,52 aralıklarında bulunmuştur.

Bal örneklerinin yıllara göre renklerinde meydana gelen değişimler ise Tablo 4.13'de gösterilmektedir.

Tablo 4.12: Bal örneklerinin renk değerleri

	Renk				Renk		
	L	a	b		L	a	b
D1	9,86±0,07	6,77±0,16	5,40±0,08	T1-A	8,71±0,05	8,93±0,19	5,27±0,10
D2	9,79±0,05	7,45±0,06	5,34±0,09	T2-A	8,44±0,08	10,00±0,27	5,11±0,10
D3	7,29±0,05	5,87±0,12	4,03±0,08	T3-A	10,11±0,03	11,77±0,26	6,43±0,10
D4	9,15±0,16	4,71±0,09	4,08±0,33	T4-A	9,51±0,02	10,07±0,13	5,82±0,07
D5	42,21±0,22	3,09±0,01	19,64±0,17	T5	9,61±0,01	7,84±0,38	5,43±0,23
D6-A	13,98±0,28	0,71±0,07	5,44±0,08	T6	6,85±0,05	2,01±0,21	2,88±0,32
D7	6,36±0,05	4,30±0,03	2,85±0,22	T7-A	6,97±0,08	7,68±0,36	4,14±0,07
D8	6,65±0,05	2,48±0,14	3,06±0,26	T8-A	12,74±0,16	3,63±0,18	7,12±0,23
D9-A	8,95±0,44	2,99±0,31	3,41±0,26	T9-A	11,13±0,56	10,00±0,71	6,32±0,26
D10	5,43±0,10	3,55±0,19	3,09±0,25	T10-A	11,74±0,06	10,72±0,37	7,32±0,01
D11	6,10±0,05	7,33±0,23	3,72±0,09	T1-B	12,55±0,13	10,32±0,43	7,35±0,02
D12	17,16±0,02	14,03±0,20	11,04±0,03	T2-B	21,61±0,18	12,44±0,39	13,83±0,02
D13-A	31,93±0,34	11,27±0,14	20,32±0,24	T8-B	15,31±0,34	10,24±1,18	9,23±0,52
D14	8,80±0,08	4,24±0,07	3,70±0,18	T3-B	12,23±0,17	12,77±0,24	7,60±0,16
D15	8,39±0,09	5,74±0,12	4,59±0,15	T9-B	11,15±0,11	10,92±0,13	6,76±0,11
D6-B	15,73±0,04	11,80±0,04	9,59±0,05	T4-B	12,11±0,06	11,67±0,25	7,29±0,08
D17	11,40±0,67	7,36±0,34	5,76±0,10	T10-B	15,26±0,39	9,14±0,61	9,48±0,34
D9-B	10,08±0,09	5,63±0,08	5,58±0,05	T7-B	14,88±0,03	13,43±0,15	9,44±0,06
D13-B	19,02±0,39	12,02±0,40	11,20±0,16				
D20	5,81±0,11	1,75±0,05	1,91±0,15				
D21	9,94±0,28	5,89±0,14	4,09±0,18				
D22	24,18±0,29	6,80±0,37	14,64±0,06				

Tablo 4.13: Yıllara göre balların renk değerleri

		Renk					Renk		
		L	a	b			L	a	b
2012	D6-A	13,98±0,28	0,71±0,07	5,44±0,08	2013	D6-B	15,73±0,04	11,80±0,04	9,59±0,05
	D9-A	8,95±0,44	2,99±0,31	3,41±0,26		D9-B	10,08±0,09	5,63±0,08	5,58±0,05
	D13-A	31,93±0,34	11,27±0,14	20,32±0,24		D13-B	19,02±0,39	12,02±0,40	11,20±0,16
	T1-A	8,71±0,05	8,93±0,19	5,27±0,10		T1-B	12,55±0,13	10,32±0,43	7,35±0,02
	T2-A	8,44±0,08	10,00±0,27	5,11±0,10		T2-B	21,61±0,18	12,44±0,39	13,83±0,02
	T3-A	10,11±0,03	11,77±0,26	6,43±0,10		T3-B	12,23±0,17	12,77±0,24	7,60±0,16
	T4-A	9,51±0,02	10,07±0,13	5,82±0,07		T4-B	12,11±0,06	11,67±0,25	7,29±0,08
	T7-A	6,97±0,08	7,68±0,36	4,14±0,07		T7-B	14,88±0,03	13,43±0,15	9,44±0,06
	T8-A	12,74±0,16	3,63±0,18	7,12±0,23		T8-B	15,31±0,34	10,24±1,18	9,23±0,52
	T9-A	11,13±0,56	10,00±0,71	6,32±0,26		T9-B	11,15±0,11	10,92±0,13	6,76±0,11
T10-A	11,74±0,06	10,72±0,37	7,32±0,01	T10-B	15,26±0,39	9,14±0,61	9,48±0,34		

4.3.11. İvert şeker

Bal örneklerinin invert şeker değerleri Tablo 4.16'de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde invert şeker değeri en düşük olan D9-A (çam balı), en yüksek olan ise T3-B (çiçek balı) olarak belirlenmiştir (sırasıyla; 49,7±0,14 ve 71,52±1,09).

Bal örneklerinin inver şeker değerlerinin yıllara göre değişimi ise Tablo 4.14'de gösterilmektedir.

Tablo 4.14: Yıllara göre bal örneklerinin invert şeker miktarları

		İvert Şeker (%)			İvert Şeker (%)
2012	D6-A	67,96±0,21	2013	D6-B	69,94±0,08
	D9-A	49,7±0,14		D9-B	54,68±0,13
	D13-A	67,21±1,94		D13-B	67,55±0,33
	T1-A	63,34±0,53		T1-B	53,59±0,19
	T2-A	63,02±0,23		T2-B	65,02±0,74
	T3-A	63,42±1,6		T3-B	71,52±1,09
	T4-A	59,67±0,39		T4-B	65,41±0,36
	T7-A	65,06±0,17		T7-B	66,34±0,51
	T8-A	59,7±0,45		T8-B	56,67±0,68
	T9-A	57,51±0,86		T9-B	61,06±0,05
T10-A	56,42±0,28	T10-B	59,64±0,03		

4.3.12. Şeker bileşenleri

Çalışmada kullanılan 3 adet bal örneğinin içerdiği şeker bileşenlerini saptamak için HPLC ile sakkaroz, fruktoz, glukoz ve maltoz şekerlerinin taraması DIN 10758 nolu yöntemle yapılmıştır. Analizde kullanılan bal örnekleri D6-A (Malatya/Kır balı-2012), D6-B (Malatya/Kır balı-2013) ve D14 (Muğla/Kekik balı-2012) nolu örneklerdir. Sonuçlar Tablo 4.15'de verilmiştir.

Tablo 4.15: Bal örneklerinin şeker bileşenleri

Örnek no	*Sakkaroz miktarı	*Fruktoz miktarı	*Glukoz miktarı	*Maltoz miktarı
D6-A (çiçek balı)	0,16 g	41,99 g	31,91 g	1,64 g
D6-B (çiçek balı)	0,21 g	41,71 g	31,74 g	1,50 g
D14 (kekik balı)	0,14 g	31,38 g	24,27 g	2,40 g

*100 g bal örneğindeki bulunan miktarlardır.

Tablo 4.16: Fizikokimyasal test sonuçları

(a)Doğal ballar

	HMF (mg/kg)	Rutubet (%)	Kül miktarı (%)	Toplam protein (%)	pH	Diyastaz sayısı	Asitlik (meq/kg)			Elektriksel iletkenlik (mS/cm)	Briks	İnvert şeker (%)
							Serbest asitlik	Lakton asitliği	Toplam asitlik			
D1	15,75±0,20	13,3±0,1	0,43±0,02	0,18±0,02	4,16±0,01	70,00±5,00	22,0±2,0	11,0±1,0	33,00±3,0	0,89±0,04	84,87±0,03	57,78±0,38
D2	36,40±2,68	13,9±0,1	0,17±0,01	0,17±0,01	3,85±0,01	75,00±0,00	29,0±1,0	16,0±4,0	45,33±3,0	0,44±0,02	84,28±0,05	59,04±0,76
D3	8,08±0,60	13,1±0,1	0,30±0,04	0,17±0,00	4,65±0,03	100,00±0,00	20,0±2,0	7,00±3,0	27,33±3,0	0,66±0,07	85,09±0,02	51,93±0,12
D4	7,93±0,30	14,5±0,1	0,54±0,01	0,17±0,01	4,43±0,02	75,80±0,80	27,0±1,0	10,0±2,0	37,00±3,0	1,07±0,01	83,69±0,02	55,47±0,17
D5	15,75±0,20	12,1±0,1	0,19±0,01	0,16±0,01	3,37±0,02	56,37±1,82	18,0±2,0	3,53±1,5	21,87±0,1	0,48±0,03	85,83±0,01	63,21±0,39
D6-A	13,15±0,30	13,1±0,1	0,04±0,01	0,16±0,01	3,37±0,01	85,71±0,00	18,0±0,0	7,00±1,0	25,00±1,0	0,20±0,01	85,08±0,04	67,96±0,21
D7	62,37±1,00	16,1±0,2	0,34±0,02	0,16±0,01	4,15±0,01	82,14±3,57	28,0±2,0	6,00±2,0	34,67±0,7	0,74±0,04	82,10±0,05	54,55±0,15
D8	-*	19,3±0,1	1,17±0,06	0,16±0,00	5,17±0,04	116,67±16,7	13,0±1,0	19,0±4,0	32,00±1,0	2,17±0,10	79,09±0,05	55,99±0,27
D9-A	8,36±0,44	15,4±0,1	0,33±0,01	0,19±0,00	4,58±0,08	65,41±1,26	25,0±3,0	4,07±1,1	29,40±1,2	0,72±0,01	82,77±0,08	49,70±0,14
D10	96,87±0,45	15,5±0,0	0,10±0,01	0,18±0,00	3,50±0,05	36,11±1,39	28,0±2,0	13,0±2,0	41,00±1,0	0,32±0,01	82,78±0,01	67,56±0,06
D11	36,38±0,40	13,9±0,1	0,09±0,00	0,15±0,00	3,38±0,02	54,85±0,30	22,0±2,0	4,67±0,3	26,33±0,3	0,30±0,00	84,33±0,03	67,10±0,07
D12	173,80±1,0	14,6±0,0	0,03±0,01	0,18±0,00	3,14±0,02	3,00±0,00	17,0±1,0	3,00±1,0	23,00±1,0	0,19±0,01	83,60±0,03	66,42±0,19
D13-A	41,97±0,30	11,9±0,0	0,24±0,01	0,16±0,00	3,40±0,02	50,95±0,95	28,0±2,0	5,87±1,9	34,20±0,2	0,55±0,01	86,02±0,02	67,21±1,94
D14	22,85±0,75	17,9±0,1	0,56±0,03	0,18±0,01	4,37±0,10	34,72±1,39	18,1±1,0	4,20±0,2	22,33±0,3	1,12±0,01	80,40±0,02	53,43±0,47
D15	24,23±0,05	18,2±0,0	0,60±0,01	0,17±0,00	4,23±0,03	35,00±2,50	20,2±1,0	6,20±0,2	26,40±0,2	1,18±0,02	80,11±0,04	55,20±0,38
D6-B	1,17±0,01	14,3±0,0	0,17±0,02	0,16±0,01	3,80±0,02	533,33±66,7	24±0,15	22,0±0,0	45,97±0,1	0,43±0,03	83,74±0,04	69,94±0,08
D17	2,19±0,01	14,7±0,4	0,39±0,02	0,16±0,00	4,78±0,01	100,00±0,00	17±0,02	26,6±0,1	43,60±0,1	0,82±0,04	83,38±0,14	54,91±0,65
D9-B	1,97±0,01	14,9±0,2	0,14±0,04	0,15±0,01	4,63±0,01	69,45±2,78	20,0±0,1	25,6±0,1	45,88±0,1	0,51±0,06	83,34±0,20	54,68±0,13
D13-B	2,68±0,02	15,9±0,1	0,26±0,01	0,18±0,01	3,66±0,01	130,00±10,0	17±0,02	25,6±0,1	42,6±0,02	0,60±0,02	82,34±0,06	67,55±0,33
D20	0,71±0,01	15,4±0,5	0,89±0,02	0,18±0,01	4,63±0,01	233,33±66,7	19±0,03	20,4±0,1	39,40±0,1	1,69±0,03	82,84±0,19	56,29±0,37
D21	-*	19,0±0,2	0,67±0,02	0,18±0,00	4,80±0,02	266,67±33,4	15±0,03	26,6±0,1	41,92±0,1	1,30±0,01	79,37±0,03	60,04±0,32
D22	2,68±0,03	19,4±0,1	0,08±0,01	0,17±0,01	3,35±0,01	300,00±0,00	19±0,04	25,3±0,1	44,4±0,02	0,28±0,02	83,07±0,23	65,50±0,16

(b) Ticari ballar

	HMF (mg/kg)	Rutubet (%)	Kül miktarı (%)	Toplam protein (%)	pH	Diyastaz sayısı	Asitlik (meq/kg)			Elektriksel iletkenlik (mS/cm)	Briks	İnvert şeker (%)
							Serbest asitlik	Lakton asitliği	Toplam asitlik			
T1-A	20,93±0,05	16,1±0,1	0,37±0,01	0,18±0,00	4,10±0,03	75,00±0,0	18,7±0,30	7,3±0,7	26,00±1,00	0,79±0,03	82,11±0,09	63,34±0,53
T2-A	175,18±1,0	15,8±0,1	0,13±0,01	0,16±0,01	3,52±0,05	33,61±0,3	17,9±0,50	14,9±3,7	32,80±1,40	0,36±0,01	82,44±0,10	63,02±0,23
T3-A	85,93±1,91	15,2±0,2	0,09±0,01	0,16±0,01	3,38±0,04	34,72±0,4	25,0±2,00	11,0±2,0	36,00±0,00	0,30±0,01	83,05±0,02	63,42±1,60
T4-A	66,78±1,02	14,6±0,0	0,18±0,01	0,16±0,00	3,76±0,05	32,50±2,5	19,0±2,00	9,9±1,3	28,93±0,27	0,45±0,01	83,57±0,05	59,67±0,39
T5	35,02±0,30	16,9±0,2	0,74±0,03	0,16±0,01	4,10±0,02	50,95±1,0	23,0±1,00	9,7±2,7	32,67±0,33	1,43±0,05	81,37±0,23	56,78±0,84
T6	53,40±0,00	15,8±0,1	0,60±0,01	0,15±0,01	4,19±0,01	34,72±1,4	24,5±1,50	10,5±0,5	35,00±1,00	1,19±0,02	82,40±0,10	56,57±0,36
T7-A	88,84±0,05	17,7±0,1	0,17±0,01	0,13±0,00	3,40±0,02	29,29±2,0	29,7±0,50	10,0±1,0	39,33±0,67	0,44±0,02	80,57±0,07	65,06±0,17
T8-A	19,23±0,05	15,1±0,1	0,30±0,01	0,14±0,00	3,84±0,05	47,62±2,4	21,0±1,00	6,0±0,0	27,33±0,67	0,66±0,02	83,27±0,06	59,70±0,45
T9-A	35,13±0,10	16,7±0,1	0,41±0,01	0,14±0,00	4,30±0,01	61,67±1,7	16,0±1,00	7,9±1,0	24,27±0,13	0,86±0,01	81,57±0,05	57,51±0,86
T10-A	27,11±0,05	16,7±0,0	0,39±0,00	0,14±0,01	4,27±0,01	60,00±0,0	17,7±1,30	5,3±3,0	22,67±1,33	0,82±0,00	81,56±0,00	56,42±0,28
T1-B	6,26±0,03	16,5±0,2	0,51±0,01	0,19±0,00	4,68±0,02	100,0±0,0	16,0±1,00	31,7±1,3	48,00±1,00	1,03±0,02	82,05±0,26	53,59±0,19
T2-B	10,88±0,01	16,2±0,2	0,14±0,01	0,17±0,01	3,86±0,01	72,22±2,8	14,4±0,30	30,6±0,6	44,92±0,52	0,38±0,02	82,68±0,44	65,02±0,74
T8-B	13,13±0,01	16,5±0,1	0,25±0,01	0,17±0,00	3,80±0,01	66,67±0,0	21,1±0,10	25,4±0,4	46,46±0,05	0,58±0,02	82,39±0,45	56,67±0,68
T3-B	29,35±0,00	16,2±0,3	0,16±0,07	0,16±0,01	3,52±0,01	43,96±1,1	20,9±0,14	25,0±0,5	45,90±0,46	0,41±0,01	82,05±0,11	71,52±1,09
T9-B	3,83±0,02	16,7±0,6	0,43±0,01	0,17±0,00	4,23±0,02	51,52±1,5	16,7±0,10	25,2±0,1	41,86±0,13	0,88±0,01	82,03±0,10	61,06±0,05
T4-B	32,12±0,03	16,8±0,0	0,14±0,01	0,16±0,00	3,78±0,02	45,05±1,1	16,9±0,20	25,7±0,3	42,61±0,01	0,39±0,01	81,51±0,03	65,41±0,36
T10-B	3,13±0,01	16,1±0,2	0,18±0,02	0,16±0,00	3,87±0,02	433,3±33,3	25,0±0,15	24,2±0,1	49,22±0,02	0,45±0,04	82,15±0,17	59,64±0,03
T7-B	19,70±0,01	17,5±0,2	0,06±0,01	0,16±0,00	3,96±0,02	300,0±0,0	16,4±0,03	27,5±0,1	43,93±0,04	0,24±0,02	80,78±0,21	66,34±0,51

-*Belirlenememiştir.

4.4. Melissopalinojik analiz

Çalışmada kullanılan bal örneklerinde yapılan melissopalinojik analiz sonucunda elde edilen polen türleri ve sayıları Tablo 4.18 ve 4.19'da verilmiştir. Örneklerde belirlenen polenlerin % oranları ve değerlendirilmesi Tablo 4.20 ve 4.21'de gösterilmiştir.

Örnekler polen çeşitliliğine göre kıyaslandığında en fazla polen çeşidini içeren çiçek balı olan D13-B (29 çeşit), en az polen çeşidi içeren çam balı olan D3 (8 çeşit) olarak belirlenmiştir. Diğer örneklerin polen çeşidi sayıları ise şu şekilde bulunmuştur; D1 (19), D2 (25), D4 (27), D5 (22), D6-A (16), D7 (21), D8 (12), D9-A (20), D10 (24), D11 (15), D12 (9), D13-A (26), D14 (19), D15 (18), D6-B (18), D17 (21), D9-B (23), D20 (11), D21 (14), D22 (13), T1-A (16), T2-A (22), T3-A (24), T4-A (19), T5 (14), T6 (23), T7-A (25), T8-A (16), T9-A (17), T10-A (18), T1-B (13), T2-B (17), T8-B (20), T3-B (23), T9-B (18), T4-B (21), T10-B (17), T7-B (16).

Hasat edildikleri yıllara göre toplam polen sayısı ve polen çeşidi karşılaştırılması ise Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17: Yıllara göre balların toplam polen ve polen çeşidi sayıları

		Toplam polen sayısı	Polen çeşidi sayısı		Toplam polen sayısı	Polen çeşidi sayısı	
2012	D6-A	3744	16	2013	D6-B	3894	18
	D9-A	10975	20		D9-B	8044	23
	D13-A	10216	26		D13-B	8592	29
	T1-A	4906	16		T1-B	3324	13
	T2-A	7972	22		T2-B	3805	17
	T3-A	6354	24		T3-B	3757	20
	T4-A	6744	19		T4-B	1805	21
	T7-A	5235	25		T7-B	1359	16
	T8-A	5653	16		T8-B	2561	20
	T9-A	7832	17		T9-B	2823	18
T10-A	4782	18	T10-B	1223	17		

Tablo 4.18: 2012 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri

Taksonlar	D1	D2	D3	D4	D5	D6-A	D7	D8	D9-A	D10	D11	D12	D13-A	D14	D15
<i>Anthemis</i>	118	144		321			134		109				985	268	
<i>Arbutus</i>													81		
<i>Calluna vulgaris</i>								321							
<i>Capparis</i>			233		309		167				621				277
<i>Castanea sativa</i>								2603		29			675		
<i>Centaurea</i>	1324	765		892	723	231	888	265	876	4568	788	165		587	1187
Chenopodiaceae		13								66				7	
<i>Cirsium</i>						13							57		
Cistaceae		34		16		45				2344			712		
<i>Cistus</i>	2435	1287	455	135	398		675	1234	2351	113			433	1115	765
<i>Citrus</i>	144	218		15	56		32		43					74	123
Compositae	654	1320	1465	1010	212	1113	987	345	1532	4211		123	782	654	766
<i>Cotoneaster</i>													324		
<i>Crateagus</i>													121		
Cruciferae	1786	700	347	1600	877	786	1115	900	1344	2356	1245	1200	1456	1634	733
<i>Daucus carota</i>		26		43		48	24	876					128		
<i>Diospyros lotus</i>													467		
<i>Echium</i>				14	56	28			24						
<i>Erica</i>	432	231		392					281					137	177
Ericaceae					120		231				1275				
<i>Eucalyptus</i>										102			23		
<i>Fagus orientalis</i>													345		
<i>Genista</i>					23		67								
Gramineae	46	21		18	177	17	13		23	125	344	24		66	32
<i>Helianthus</i>	234	111		321	168		170		44		231			190	55
<i>Jasminum</i>										413					
Labiatae	712	871	986	1272	336	432	665	765	1120	478			1308	566	1510
<i>Lamium</i>									23		887				
Leguminosae	2147	1211	1567	1623	1130	786	2243	214	1877	7230	560	176	467	1554	1100

Tablo 4.18: 2012 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri (devamı)

Taksonlar	D1	D2	D3	D4	D5	D6-A	D7	D8	D9-A	D10	D11	D12	D13-A	D14	D15
<i>Ligustrum</i>		11						76					67		
<i>Lonicera</i>							43						231		
<i>Morus</i>	965	239		323	165	30	453		256	1040				125	438
<i>Olea</i>										87					
<i>Papaver</i>		23		54	125		231			321	134	128			
<i>Phlomis</i>						21							77		
<i>Pinus</i>		5	167	204	178				143	123			138		
<i>Pistacia</i>	1341	422		311	233		430		409					171	89
<i>Plantago</i>	105	44		49	36	13	23		19		575			42	77
<i>Polygonum</i>										1245	127				
<i>Pyrus</i>													86		
<i>Ranunculus</i>		10		28	45					156	111				
<i>Rhododendron</i>								876					206		
<i>Rosa canina</i>				32	66			455	58				178		
Rosaceae	202	197	127	234	365	145	344			797	544	67		13	61
<i>Rubus canescens</i>									11				680		
<i>Rumex</i>		33		11	107		176			248					
<i>Salix</i>												52			
<i>Thymus</i>		23				21				274			177		
Umbelliferae	157	222		298					432	487	234			222	316
Urticaceae				16										10	
<i>Verbascum</i>	21					15				321			12		
<i>Vitex</i>	147			37						260	123	187		72	23
<i>Washingtonia</i>	13			11											64
Toplam	12983	8181	5347	9280	5905	3744	9111	8930	10975	27394	7799	2122	10216	7507	7793

Tablo 4.18: 2012 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri (devamı)

Taksonlar	T1-A	T2-A	T3-A	T4-A	T5	T6	T7-A	T8-A	T9-A	T10-A
<i>Anthemis</i>	81		58	33		34	49	67		
<i>Capparis</i>		58				55	24			10
<i>Castanea sativa</i>			128					25		109
<i>Centaurea</i>	1245	1184	1147	1108	1125	987	1124	1102	1404	455
Chenopodiaceae		57	127			24	31			14
<i>Cistus</i>		151	147	485	156	137	202		141	58
<i>Citrus</i>	422							33		21
Compositae		1587	1814	1801	1143	1175	1245	1184	1208	1241
Cruciferae	525	1154	844	1147	984	1145	1133	974	862	1117
Cyperaceae			124				28			
Dipsacaceae			57		21					15
<i>Echium</i>		124	22			14		120		
<i>Erica</i>				356	157	154	140			
Ericaceae	148							45		
<i>Eucalyptus</i>		108			21	88	11	111	21	57
<i>Geranium</i>		41								
Gramineae		111	57	121		55	63			
<i>Helianthus</i>		636	122	75		24	86	241	232	111
<i>Jasminum</i>			51				28			

Tablo 4.18: 2012 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri (devamı)

Taksonlar	T1-A	T2-A	T3-A	T4-A	T5	T6	T7-A	T8-A	T9-A	T10-A
Labiatae	420	305	114	365	118	218			1401	1220
<i>Lamium</i>		148				142			54	
Leguminosae	795	1354	200	415	1341	411	555	1324	1921	
<i>Morus</i>	116		41	124			21	21		
<i>Papaver</i>	217	187	407		122	159	56		58	
<i>Pinus</i>	179				158	61		39	28	68
<i>Pistacia</i>		133		120			84			
<i>Plantago</i>	164			128		23	56		85	
<i>Polygonum</i>			32							23
<i>Ranunculus</i>	143		124		222		59		44	
Rosaceae		128	152	58		56	46		16	139
<i>Rumex</i>		158	28				45			
<i>Salix</i>						21			73	
<i>Thymus</i>	134	23		146		111		143		
Umbelliferae	181	157	347	56	155	234	36	103	249	26
Urticaceae	58									
<i>Verbascum</i>		65	101	118			58			41
<i>Vitex</i>	78	103		65	14	47	35	121	35	57
<i>Xanthium strumarium</i>			110	23			20			
Toplam	4906	7972	6354	6744	5737	5375	5235	5653	7832	4782

Tablo 4.19: 2013 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri

Taksonlar	D6-B	D17	D9-B	D13-B	D20	D21	D22	T1-B	T2-B	T8-B	T3-B	T9-B	T4-B	T10-B	T7-B
<i>Achillea</i>						18	43	11	61	23	22		20		14
<i>Anthemis</i>	24	42	45	214								104		21	14
<i>Arbutus</i>				46	58	41				18	141			113	
<i>Astragalus</i>							2100			852	552		568	147	
<i>Capparis</i>		25							22		201	21	78	24	29
<i>Castanea sativa</i>				1386	1700	1540				17					
<i>Centaurea</i>	154	953	604	125	119	138	774		140	574	602	254	630	458	587
Chenopodiaceae				32		11		124	111	236	104			113	120
<i>Cirsium</i>	9		14	36	18	22					11				
Cistaceae	62		22	520	28	15			102		21			12	
<i>Cistus</i>	5	495	1522	56	17	11		28		25		14	47		25
Compositae	1450	1124	1177	868	921	1155	1024	784	862	125					
<i>Cotoneaster</i>				111						21		8			
Cruciferae	514	687	1013	955	866	587		521	230		235	321	114		45
<i>Daucus carota</i>	75		14	57	11	28				124	147	45	53	27	36
<i>Diospyros lotus</i>				156											
<i>Echium</i>	11			6			35	258	333		23	52	14	187	5
<i>Erica</i>			13			5									18
Ericaceae			48					535	665	321	36	147	100		124
<i>Eucalyptus</i>								144	211	11			23		22
<i>Fagus orientalis</i>				368	110	128									
Gramineae	20			4						8			7		11
<i>Helianthus</i>		41	11	41				144	210			28	12		
Labiatae	18	1243	869	1604			1420	630	521		201	718			

Tablo 4.19: 2013 yılına ait bal örneklerinin polen içerikleri (Devamı)

Taksonlar	D6-B	D17	D9-B	D13-B	D20	D21	D22	T1-B	T2-B	T8-B	T3-B	T9-B	T4-B	T10-B	T7-B
Leguminosae	1207	1436	1486	923			1725				1254	984			247
<i>Ligustrum</i>									41			11			
<i>Lonicera</i>			5	147					125	8					
<i>Morus</i>	38	69	140					123	147	11	35	18	11	7	
<i>Papaver</i>	5			11			10					11	18	15	14
<i>Pinus</i>			12	192					17	51			17		
<i>Pistacia</i>		52	404					14			24				48
<i>Plantago</i>	41	36	8	14			55				11		24		
<i>Ranunculus</i>		8		9			30			8	21			7	
<i>Rhododendron</i>				225	57	43									
<i>Rosa canina</i>				130									14	19	
Rosaceae	200	68	74				18				14				
<i>Rubus canescens</i>		16	33	241			847			87	69	33	21	27	
<i>Rumex</i>		6											6	18	
<i>Thymus</i>	33			55						25		29			
Umbelliferae		214	510				44				21	25	21	17	
Urticaceae		26		58						16				11	
<i>Verbascum</i>	28	14						8							
<i>Vitex</i>		55	14								8		7		
<i>Washingtonia</i>		34	6						7		4				
TOPLAM	3894	6644	8044	8592	3905	3742	8125	3324	3805	2561	3757	2823	1805	1223	1359

Tablo 4.20: 2012 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları

Taksonlar	D1	D2	D3	D4	D5	D6-A	D7	D8	D9-A	D10	D11	D12	D13-A	D14	D15
<i>Anthemis</i>	0,91-E	1,76-E		3,46-M			0,15-E		0,99-E				9,64-M	3,57-M	
<i>Arbutus</i>													0,79-E		
<i>Calluna vulgaris</i>								3,60-M							
<i>Capparis</i>			4,36-M		5,23-M		0,19-E				7,96-M				3,56-M
<i>Castanea sativa</i>								29,15-S		0,11-E			6,61-M		
<i>Centaurea</i>	10,20-M	9,35-M		9,61-M	12,24-M	6,17-M	0,98-E	2,97-E	7,98-M	16,68-S	10,10-M	7,78-M		7,82-M	15,23-S
Chenopodiaceae		0,16-E								0,24-E				0,09-E	
<i>Cirsium</i>						0,35-E							0,56-E		
Cistaceae		0,42-E		0,17-E		1,20-E				8,56-M			6,97-M		
<i>Cistus</i>	18,76-S	15,73-S	8,51-M	1,46-E	6,74-M		0,74-E	13,82-M	21,42-S	0,41-E			4,24-M	14,85-M	9,82-M
<i>Citrus</i>	1,11-E	2,67-E		0,16-E	0,95-E		0,04-E		0,39-E					0,99-E	1,58-E
Compositae	5,04-M	16,14-S	27,40-S	10,88-M	3,59-M	29,73-S	1,08-E	3,86-M	13,96-M	15,37-S		5,80-M	7,66-M	8,71-M	9,83-M
<i>Cotoneaster</i>													3,17-M		
<i>Crateagus</i>													1,18-E		
Cruciferae	13,76-M	8,56-M	6,49-M	17,24-S	14,85-M	20,99-S	1,22-E	10,08-M	12,25-M	8,60-M	15,96-S	56,55-D	14,25-M	21,77-S	9,41-M
<i>Daucus carota</i>		0,32-E		0,46-E		1,28-E	0,03-E	9,81-M					1,25-E		
<i>Diospyros lotus</i>													4,57-M		
<i>Echium</i>				0,15-E	0,95-E	0,75-E			0,22-E						
<i>Erica</i>	3,33-M	2,82-E		4,22-M					2,56-E					1,83-E	2,27-E
Ericaceae					2,03-E		0,25-E				16,35-S				
<i>Eucalyptus</i>										0,37-E			0,23-E		
<i>Fagus orientalis</i>													3,38-M		
<i>Genista</i>					0,39-E		0,07-E								
Gramineae	0,35-E	0,26-E		0,19-E	3,00-M	0,45-E	0,01-E		0,21-E	0,46-E	4,41-M	1,13-E		0,88-E	0,41-E
<i>Helianthus</i>	1,80-E	1,36-E		3,46-M	2,85-E		0,19-E		0,40-E		2,96-E			2,53-E	0,71-E
<i>Jasminum</i>										1,51-E					

Tablo 4.20: 2012 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları (devam)

Taksonlar	D1	D2	D3	D4	D5	D6-A	D7	D8	D9-A	D10	D11	D12	D13-A	D14	D15
Labiatae	5,48-M	10,65-M	18,44-E	13,71-M	5,69-M	11,54-M	0,73-E	8,57-M	10,21-M	1,75-E			12,80-M	7,54-M	19,38-S
<i>Lamium</i>									0,21-E		11,37-M				
Leguminosae	16,54-S	14,80-M	29,31-S	17,49-S	19,14-S	20,99-S	2,46-E	2,40-E	17,10-S	26,39-S	7,18-M	8,29-M	4,57-M	20,70-S	14,12-M
<i>Ligustrum</i>		0,14-E						0,85-E					0,66-E		
<i>Lonicera</i>							0,05-E						2,26-E		
<i>Morus</i>	7,43-M	2,92-E		3,48-M	2,79-E	0,80-E	0,50-E		2,33-E	3,80-M				1,67-E	5,62-M
<i>Olea</i>										0,32-E					
<i>Papaver</i>		0,28-E		0,58-E	2,12-E		0,25-E			1,17-E	1,72-E	6,03-M			
<i>Phlomis</i>						0,56-E							0,75-E		
<i>Pinus</i>		0,06-E	3,12-M	2,20-E	3,01-M				1,30-E	0,45-E			1,35-E		
<i>Pistacia</i>	10,33-M	5,16-M		3,35-M	3,95-M		0,47-E		3,73-M					2,28-E	1,14-E
<i>Plantago</i>	0,81-E	0,54-E		0,53-E	0,61-E	0,35-E	0,03-E		0,17-E		7,37-M			0,56-E	0,99-E
<i>Polygonum</i>										4,55-M	1,63-E				
<i>Pyrus</i>													0,84-E		
<i>Ranunculus</i>		0,12-E		0,30-E	0,76-E					0,57-E	1,42-E				
<i>Rhododendron</i>								9,81-M					2,02-E		
<i>Rosa canina</i>				0,35-E	1,12-E			5,10-M	0,53-E				1,74-E		
Rosaceae	1,56-E	2,41-E	2,38-E	2,52-E	6,18-M	3,87-M	0,38-E			2,91-E	6,98-M	3,16-M		0,17-E	0,78-E
<i>Rubus canescens</i>									0,10-E				6,66-M		
<i>Rumex</i>		0,40-E		0,12-E	1,81-E		0,19-E			0,91-E					
<i>Salix</i>												2,45-E			
<i>Thymus</i>		0,28-E				0,56-E				1,00-E			1,73-E		
Umbelliferae	1,21-E	2,71-E		3,21-M					3,94-M	1,78-E	3,00-M			2,96-E	4,06-M
Urticaceae				0,17-E										0,13-E	
<i>Verbascum</i>	0,16-E					0,40-E				1,17-E			0,12-E		
<i>Vitex</i>	1,13-E			0,40-E						0,95-E	1,58-E	8,81-M		0,96-E	0,30-E
<i>Washingtonia</i>	0,10-E			0,12-E											0,82-E

*D:Dominant polen, S:Sekonder polen, M:Minör polen, E:Eser polen

Tablo 4.20: 2012 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları (devam)

Taksonlar	T1-A	T2-A	T3-A	T4-A	T5	T6	T7-A	T8-A	T9-A	T10-A
<i>Anthemis</i>	1,65-E		0,91-E	0,49-E		0,63-E	0,94-E	1,19-E		
<i>Capparis</i>		0,73-E				1,02-E	0,46-E			0,21-E
<i>Castanea sativa</i>			2,02-E					0,44-E		2,28-E
<i>Centaurea</i>	25,38-S	14,85-M	18,05-S	16,43-S	19,61-S	18,36-S	21,47-S	19,49-S	17,93-S	9,52-M
Chenopodiaceae		0,72-E	2,00-E			0,45-E	0,59-E			0,29-E
<i>Cistus</i>		1,89-E	2,31-E	7,19-M	2,72-E	2,55-E	3,86-M		1,80-E	1,21-E
<i>Citrus</i>	8,60-M							0,58-E		0,44-E
Compositae		19,91-S	28,55-S	26,71-S	19,92-S	21,86-S	23,78-S	20,95-S	15,42-S	25,95-S
Cruciferae	10,70-M	14,48-M	13,28-M	17,01-S	17,15-S	21,30-S	21,64-S	17,23-S	11,00-M	23,36-S
Cyperaceae			1,95-E				0,54-E			
Dipsacaceae			0,90-E		0,37-E					0,31-E
<i>Echium</i>		1,56-E	0,35-E			0,26-E		2,12-E		
<i>Erica</i>				5,28-M	2,74-E	2,87-E	2,67-E			
Ericaceae	3,02-M							0,80-E		
<i>Eucalyptus</i>		1,36-E			0,37-E	1,64-E	0,21-E	1,96-E	0,27-E	1,19-E
<i>Geranium</i>		0,51-E								
Gramineae		1,39-E	0,90-E	1,79-E		1,02-E	1,20-E			
<i>Helianthus</i>		7,98-M	1,92-E	1,11-E		0,45-E	1,64-E	4,26-M	2,96-E	2,32-E
<i>Jasminum</i>			0,80-E				0,54-E			

Tablo 4.20: 2012 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları (devam)

Taksonlar	T1-A	T2-A	T3-A	T4-A	T5	T6	T7-A	T8-A	T9-A	T10-A
Labiatae	8,56-M	3,83-M	1,79-E	5,41-M	2,06-E	4,06-M			17,89-S	25,51-S
<i>Lamium</i>		1,86-E				2,64-E			0,69-E	
Leguminosae	16,21-S	16,99-S	3,15-M	6,15-M	23,38-S	7,65-M	10,60-M	23,42-S	24,53-S	
<i>Morus</i>	2,37-E		0,65-E	1,84-E			0,40-E	0,37-E		
<i>Papaver</i>	4,42-M	2,35-E	6,41-M		2,13-E	2,96-E	1,07-E		0,74-E	
<i>Pinus</i>	3,65-M				2,75-E	1,14-E		0,69-E	0,36-E	1,42-E
<i>Pistacia</i>		1,67-E		1,78-E			1,61-E			
<i>Plantago</i>	3,34-M			1,90-E		0,43-E	1,07-E		1,09-E	
<i>Polygonum</i>			0,50-E							0,48-E
<i>Ranunculus</i>	2,92-E		1,95-E		3,87-M		1,13-E		0,56-E	
Rosaceae		1,61-E	2,39-E	0,86-E		1,04-E	0,88-E		0,20-E	2,91-E
<i>Rumex</i>		1,98-E	0,44-E				0,86-E			
<i>Salix</i>						0,39-E			0,93-E	
<i>Thymus</i>	2,73-E	0,29-E		2,17-E		2,07-E		2,53-E		
Umbelliferae	3,69-M	1,97-E	5,46-M	0,83-E	2,70-E	4,35-M	0,69-E	1,82-E	3,18-M	0,54-E
Urticaceae	1,18-E									
<i>Verbascum</i>		0,82-E	1,59-E	1,75-E			1,11-E			0,86-E
<i>Vitex</i>	1,59-E	1,29-E		0,96-E	0,24-E	0,87-E	0,67-E	2,14-E	0,45-E	1,19-E
<i>Xanthium strumarium</i>			1,73-E	0,34-E			0,38-E			

*D:Dominant polen, S:Sekonder polen, M:Minör polen, E:Eser polen

Tablo 4.21: 2013 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları

Taksonlar	D6-B	D17	D9-B	D13-B	D20	D21	D22	T1-B	T2-B	T8-B	T3-B	T9-B	T4-B	T10-B	T7-B
<i>Achillea</i>						0,48-E	0,53-E	0,33-E	1,60-E	0,90-E	0,59-E		1,11-E		1,03-E
<i>Anthemis</i>	0,62-E	0,63-E	0,56-E	2,49-E								3,68-M		1,72-E	1,03-E
<i>Arbutus</i>				0,54-E	1,49-E	1,10-E				0,70-E	3,75-M			9,24-M	
<i>Astragalus</i>							25,85-S			33,27-S	14,69-M		31,47-S	12,02-M	
<i>Capparis</i>		0,38-E							0,58-E		5,35-M	0,74-E	4,32-M	1,96-E	2,13-E
<i>Castanea sativa</i>				16,13-S	43,53-S	41,16-S				0,66-E					
<i>Centaurea</i>	3,96-M	14,34-M	7,51-M	1,46-E	3,05-M	3,69-M	9,53-M		3,68-M	22,41-S	16,02-S	9,00-M	34,90-S	37,45-S	43,19-S
Chenopodiaceae				0,37-E		0,29-E		3,73-M	2,92-E	9,22-M	2,77-E			9,24-M	8,83-M
<i>Cirsium</i>	0,23-E		0,17-E	0,42-E	0,46-E	0,59-E					0,29-E				
Cistaceae	1,59-E		0,27-E	6,05-M	0,72-E	0,40-E			2,68-E		0,56-E			0,98-E	
<i>Cistus</i>	0,13-E	7,45-M	18,92-S	0,65-E	0,44-E	0,29-E		0,84-E		0,98-E		0,50-E	2,60-E		1,84-E
Compositae	37,24-S	16,92-S	14,63-M	10,10-M	23,59-S	30,87-S	12,60-M	23,59-S	22,65-S	4,88-M					
<i>Cotoneaster</i>				1,29-E						0,82-E		0,28-E			
Cruciferae	13,20-M	10,34-M	12,59-M	11,12-M	22,18-S	15,67-S		15,67-S	6,05-M		6,26-M	11,37-M	6,32-M		3,31-M
<i>Daucus carota</i>	1,93-E		0,17-E	0,66-E	0,28-E	0,75-E				4,84-M	3,91-M	1,59-E	2,94-E	2,21-E	2,65-E
<i>Diospyros lotus</i>				1,82-E											
<i>Echium</i>	0,28-E			0,07-E			0,43-E	7,76-M	8,75-M		0,61-E	1,84-E		15,29-S	0,37-E
<i>Erica</i>			0,16-E			0,13-E									1,33-E
Ericaceae			0,60-E					16,10-S	17,48-S	12,53-M	0,96-E	5,21-M	5,54-M		9,12-M
<i>Eucalyptus</i>								4,33-M	5,55-M	0,43-E			1,27-E		1,62-E
<i>Fagus orientalis</i>				4,28-M	2,82-E	3,42-M									
Gramineae	0,51-E			0,05-E						0,31-E			0,39-E		0,81-E
<i>Helianthus</i>		0,62-E	0,14-E	0,48-E				4,33-M	5,52-M			0,99-E	0,67-E		

Tablo 4.21: 2013 yılına ait örneklerin polen yüzdeleri ve durumları (devam)

Taksonlar	D6-B	D17	D9-B	D13-B	D20	D21	D22	T1-B	T2-B	T8-B	T3-B	T9-B	T4-B	T10-B	T7-B
<i>Labiatae</i>	0,46-E	18,71-S	10,80-M	18,67-S			17,48-S	18,95-S	13,70-M		5,35-M	25,43-S			
<i>Leguminosae</i>	31,00-S	21,61-S	18,47-S	10,74-M			21,23-S				33,38-S	34,86-S			18,18-S
<i>Ligustrum</i>									1,08-E			0,39-E			
<i>Lonicera</i>			0,06-E	1,71-E					3,29-M	0,31-E					
<i>Morus</i>	0,98-E	1,04-E	1,74-E					3,70-M	3,86-M	0,43-E	0,93-E	0,64-E	0,61-E	0,57-E	
<i>Papaver</i>	0,13-E			0,13-E			0,12-E					0,39-E	1,00-E	1,23-E	1,03-E
<i>Pinus</i>			0,15-E	2,24-E					0,45-E	1,99-E			0,94-E		
<i>Pistacia</i>		0,78-E	5,02-M					0,42-E			0,64-E				3,53-M
<i>Plantago</i>	1,05-E	0,54-E	0,10-E	0,16-E			0,68-E				0,29-E		1,33-E		
<i>Ranunculus</i>		0,12-E		0,11-E			0,37-E			0,31-E	0,56-E			0,57-E	
<i>Rhododendron</i>				2,62-E	1,46-E	1,15-E									
<i>Rosa canina</i>				1,51-E									0,78-E	1,55-E	
<i>Rosaceae</i>	5,14-M	1,02-E	0,92-E				0,22-E				0,37-E				
<i>Rubus canescens</i>		0,24-E	0,41-E	2,81-E			10,43-M			3,40-M	1,84-E	1,17-E	1,16-E	2,21-E	
<i>Rumex</i>		0,09-E											0,33-E	1,47-E	
<i>Thymus</i>	0,85-E			0,64-E						0,98-E		1,03-E			
<i>Umbelliferae</i>		3,22-M	6,34-M				0,54-E				0,56-E	0,89-E	1,16-E	1,39-E	
<i>Urticaceae</i>		0,39-E		0,68-E						0,63-E				0,90-E	
<i>Verbasum</i>	0,72-E	0,21-E						0,24-E							
<i>Vitex</i>		0,83-E	0,17-E								0,21-E		0,39-E		
<i>Washingtonia</i>		0,51-E	0,08-E						0,18-E		0,11-E				

*D:Dominant polen, S:Sekonder polen, M:Minör polen, E:Eser polen

5. TARTIŞMA

Bal, bakteriler için uygun bir gelişim ortamı değildir. Yüksek şeker içeriği ve oldukça düşük rutubet seviyesi sayesinde mikroorganizmaların yaşamasını önler. Diğer taraftan çok sayıda bakteri türünün balda yaşayabildiği de bilinmektedir (Shakoori ve diğ., 2003). Bunun nedeni olarak balların üretimi, işlenmesi ve depolanması esnasında yapısında meydana gelen biyolojik, fiziksel ve kimyasal değişimler ya da bakterinin balda yaşayabilecek kadar dayanıklı formlar oluşturması gösterilmektedir. Çalışmamızda balda yaşayabilecek formları oluşturan *Bacillus* sp., *Clostridium* sp. ve *Paenibacillus larvae* türü bakterilerin ve özellikle balın işlenmesi sırasında balı kontamine eden *Salmonella* sp., *Shigella* sp. ve koliform grubu bakterilerin baldaki varlıkları araştırılmıştır (Bkz Tablo 4.1). Buna ilaveten izolatlarla biyokimyasal testler uygulanarak bakteri çeşitliliği hakkında bilgi edinilmesi hedeflenmiştir (Bkz Tablo 4.2).

Bal, kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından oldukça zengin bir besindir. Aynı zaman da, balın içeriği bal çeşitliliğine bağlı olarak farklı oran ve miktarlardadır. Bu oranlar ve miktarlar Türk Standartlar Enstitüsü ve Uluslararası Bal Komisyonu tarafından belirlenmiş olup balın kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Bu amaçla çalışmamızda literatürde belirtilen parametreler kullanılarak balın fiziksel ve kimyasal yapısı incelenmiştir (Bkz Tablo 4.16). Ayrıca balın bakteri içeriği ile kimyasal özellikleri arasında her hangi bir ilişki olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

Bal arısı (*Apis mellifera*) balın üretimi için belli bir sınır içinde dolaşır ve bu sırada çevrede bulunan bitki örtüsüne ait polenleri de toplar. Bu sayede balın kaynağı ve üretim yeri ortaya çıkmaktadır. Balın kaynağının ve üretim yerinin bilinmesi ise balın kalitesini, sahte olup olmadığını ve gerçek orijininin belirlenmesinde oldukça önemlidir. Bu nedenle çalışmamızın son aşamasında bal örneklerinin polen içerikleri araştırılmıştır.

5.1. Bakteri İzolasyonu Çalışmaları

5.1.1. *Bacillus* sp. izolasyonu

Bacillus cinsi balda öncelikle bulunan bakteri türüdür. Balın antimikrobiyal özelliklerine rağmen bu türün balda bulunma nedeni spor oluşturabilmesidir (Snowdon ve Cliver, 1996). *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei* türlerinin balda bulunduğu bilinmektedir (Kokubo ve diğ., 1984; Piana ve diğ., 1991; Snowdon ve Cliver, 1996; Monetto ve diğ., 1999; Migdal ve diğ., 2000; Shakoori ve diğ., 2003; Iurlina ve Fritz, 2005; Olaitan ve diğ., 2007).

Türkiye'nin çeşitli bölgelerine ait bal örneklerinin *Bacillus* sp. içerip içermediğini belirlemek için J-Agar kullanılmıştır. Seyreltmelerden 100 µl alınarak yapılan ekimler sonucunda doğal ballardan Ordu-acı bal (D8), Babadağ/DENİZLİ-kekik balı (D10), Burhaniye/AYDIN-hayıt balı (D11), Kuyucak/AYDIN-narenciye balı (D12), BARTIN-kestane balı (D21); ticari ballardan her ikisi de çiçek balı olan T2-A ve T7-A örneklerinde bakteri gelişimi gözlenmemiştir. Deneyde kullanılan 40 örnekten 33 tanesinde (%82,5) *Bacillus* sp. varlığı tespit edilmiştir. *Bacillus* sp. içeriği en fazla olan örnek Mesudiye/DATÇA-çam balı (5,70 log kob/g) iken, en az olan örnek ise Mesudiye/DATÇA-çiçek balı (0,48 log kob/g)'dir.

Çalışma sonunda elde edilen sonuçlara göre, *Bacillus* sp. içeriklerinin bölgelere göre ortalamaları alındığında oluşan sonuçlar şu şekildedir; Ege bölgesi (4,63 log kob/g), Doğu Anadolu bölgesi (4,21 log kob/g), Karadeniz bölgesi (4,16 log kob/g), İç Anadolu bölgesi (3,58 log kob/g). Buna göre *Bacillus* cinsi bakterileri açısından en kirli ballar Ege bölgesine aittir.

Doğal balların sonuçları salgı ve çiçek balı olarak değerlendirildiğinde ise salgı balları *Bacillus* sp. açısından çiçek ballarına göre daha kirlidir (sırasıyla, 4,96 log kob/g ve 3,77 log kob/g). Ticari ballarda ise salgı balları çiçek ballarına göre daha kirlidir (Sırasıyla, 4,71 log kob/g ve 3,37 log kob/g).

Çalışmada kullanılan ticari ve doğal balların *Bacillus* sp. içerikleri karşılaştırıldığında doğal balların daha zengin olduğu görülmüştür (sırasıyla, 4,46 log kob/g ve 3,62 log kob/g).

Elde ettiğimiz bu sonuçları Türk Standartları ile karşılaştırmak istediğimizde hiçbir verinin olmadığı görülmüştür (TS 3036, 2002).

Literatür taramalarına baktığımızda Türkiye'deki balların *Bacillus* sp. içeriklerinin diğer ülkelerin ballarına göre çok daha yoğun olduğu ortaya çıkmıştır. 70 adet Arjantin balının mikroorganizma içeriğini belirlemek için yapılan çalışmada örneklerin %23'ünde *Bacillus* cinsi bakterilere rastlandığı rapor edilmiştir (Iurlina ve Fritz, 2005). Pakistan'ın 5 farklı bölgesinden toplanan 5 adet bal örneğinde yapılan çalışmada ise örneklerin hepsinde *B. subtilis*; 3'ünde *B. circulans*, *B. brevis*, *B. coagulans*; 2'sinde *B. alvei* bakterilerinin varlığını göstermişlerdir (Shakoori ve diğ., 2003). *Bacillus* cinsi bakteriler toprak bakterisidir. Bu bakterilerin ballarda bu derecede yoğun olarak varlıkları genel olarak bal üreticilerinin aseptik koşullara uymadıklarını göstermektedir. Çünkü üreticiler peteklerden balları toplarken genelde açık havada çoğunlukla kovanların bulunduğu arazide ve çoğu zaman da rüzgarlı şartlarda tozlu ortamlarda yapmaktadırlar. Bu da balların toprak kaynaklı bakteri grubuyla kontaminasyonunu açıklamaktadır.

5.1.2. Toplam mezofilik bakteri varlığı

Balda bulunan bakteri türlerinden biri de mezofilik bakterilerdir. Balda mezofilik bakteri varlığı balın tazeliği, hasat zamanı, uygulanan işlemler ve balın cinsi ile ilgilidir (Snowdon ve Cliver, 1996; Iurlina ve Fritz, 2005).

Çalışmada kullanılan 40 bal örneğinden 38'inde (%95) mezofilik bakterilerin kolonilerine rastlanmıştır (Bkz Tablo 4.1). Koloni varlığın görülmediği bu ballar ORDU-acı bal (D8) ve BARTIN-kestane balı (D21)'dir. Mezofilik bakterileri içeren örneklerden ise bakteri içeriği en fazla olan örnek D13-B nolu Şeyh köyü/KASTAMONU-çiçek balı (5,45 log kob/g), en az olan örnek ise D9-B nolu DATÇA-çam balı (2,00 log kob/g)'dir.

Çalışma sonunda elde edilen sonuçlara göre, toplam mezofilik bakteri sayılarının bölgelere göre ortalamaları alındığında oluşan sonuçlar şu şekildedir; Ege bölgesi (4,56 log kob/g), Doğu Anadolu bölgesi (4,53 log kob/g), Karadeniz bölgesi (4,88 log kob/g), İç Anadolu bölgesi (3,95 log kob/g). Buna göre toplam mezofilik bakteri sayısı yönünden en zengin bal örnekleri Karadeniz bölgesinde bulunmaktadır.

Doğal balların sonuçları salgı ve çiçek balı olarak değerlendirildiğinde ise salgı balları mezofilik bakteri sayısı açısından çiçek ballarına göre daha kirlidir (Sırasıyla, 4,76 log kob/g ve 4,53 log kob/g). Ticari ballara baktığımızda ise aralarında önemli bir fark olmamasına rağmen çiçek ballarındaki toplam mezofilik bakteri sayısı daha fazladır (Sırasıyla, 4,52 log kob/g ve 4,51 log kob/g).

Çalışmada kullanılan ticari ve doğal balların toplam mezofilik bakteri sayıları karşılaştırıldığında ise aralarında dikkate değer bir farklılık olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, 4,52 log kob/g ve 4,59 log kob/g).

Türk Standartları bal tebliğine bakıldığında ballarda olması gereken toplam mezofilik bakteri sayısı ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır (TS 3036, 2002).

Literatürde birçok araştırmacı, ballardaki toplam mezofilik bakteri sayılarını araştırmaktadır. Bu araştırmalarla elde ettiğimiz sonuçları karşılaştırdığımızda Türk ballarının içerdiği toplam mezofilik bakteri sayısı çoğundan fazladır. Örneğin; Iurlina ve Fritz (2005)'in Arjantin balları üzerine yaptıkları çalışmada toplam mezofilik bakteri sayısı ticari ballarda 30-1200 kob/g ve arıcılardan temin edilen ballarda 60-1100 kob/g olarak bulunmuştur. Pakistan ballarında 0,27-13,07 kob/g olduğu saptanmıştır (Shakoori ve diğ., 2003). Jo ve diğ. (2005), 4 çeşit bal örneğinin 85-450 kob/g aralığında mezofilik bakteri içerdiğini rapor etmişlerdir. Kahramanmaraş pazarlarından temin edilen 21 adet bal örneklerinin içerdiği toplam mezofilik bakteri sayıları <10-210 kob/g olarak belirtilmiştir (Erdoğrul ve Erbilir, 2007). Saxena, (2009) da 7 adet bal örneğinin mezofilik bakteri sayılarını 30-200 kob/g olduğunu rapor etmiştir. Polonya'daki 7 çeşit ticari balların toplam mezofilik bakteri sayılarını belirlemek üzere Migdal ve diğerleri (2000) tarafından yapılan çalışmada $1 \times 10^1 - 46 \times 10^4$ kob/g olarak belirlenmiştir. 6 adet Nijerya balında yapılan araştırmada 100 ml örnekteki toplam mezofilik bakteri sayıları $1,0 \times 10^3 - 1,6 \times 10^6$ olarak bildirilmiştir (Adebayo ve Davies, 2012). Rozanska ve Osek (2011) tarafından yapılan çalışmada Polonya balları $1,0 \times 10^1 - 7,5 \times 10^4$ kob/g ve 2012' de yapılan çalışmada $1,9 \times 10^1 - 4,6 \times 10^3$ kob/g mezofilik bakteri içerdiği saptanmıştır. 20 adet Türk balında yapılan çalışmada da örneklerin toplam mezofilik bakteri sayıları 2,00-3,96 log kob/g olarak belirtilmiştir (Tornuk ve diğ., 2013).

5.1.3. *Paenibacillus larvae* izolasyonu

Balda bulunan bakterilerin çoğu bal arılarında hastalığa neden olanlardır. Bunlardan bir tanesi spor oluşturabilen *Paenibacillus larvae*'dir. Bu bakteri bal arılarında bulaşıcı bir hastalık olan Amerikan yavru çürüklüğü etkenidir. *P. larvae*, bal arıları üzerinde bulaşıcı olmasına rağmen insanlarda herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır (Iurlina ve Fritz, 2005).

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde temin ettiğimiz bal örneklerinin *P.larvae* içerip içermediğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda Ordu-acı bal (D8), Babadağ/DENİZLİ-kekik balı (D10), Burhaniye/AYDIN-hayıt balı (D11), Kuyucak/AYDIN-narenciye balı (D12), BARTIN-kestane balı (D21), çiçek balı (T2-A) ve çiçek balı (T7-A) örneklerinde koloni oluşumu tespit edilmemiştir. Deneyde kullanılan 40 örnekten 33 tanesinde ise (%82,5) *P.larvae* varlığı gözlenmiştir. Bu örneklerden ise *Bacillus* sp. içeriği en fazla olan örnek Mesudiye/DATÇA-çam balı (5,70 log kob/g), en az olan örnek ise Mesudiye/DATÇA-çiçek balı (1,00 log kob/g)'dir.

Çalışma sonunda elde edilen sonuçları salgı ve çiçek balı olarak değerlendirildiğinde ise doğal salgı balları *P. larvae* açısından doğal çiçek ballarından oldukça fazla kirlidir (Sırasıyla, 4,93 log kob/g ve 3,59 log kob/g). Ticari ballarda ise çiçek balları salgı ballarına göre daha fazla kirlidir (Sırasıyla, 3,05 log kob/g ve 2,75 log kob/g).

Doğal bal örneklerinin içerdiği *P. larvae* sayılarının bölgelere göre ortalamaları alındığında oluşan sonuçlar ise şu şekildedir; Ege bölgesi (4,56 log kob/g), Doğu Anadolu bölgesi (4,19 log kob/g), Karadeniz bölgesi (3,85 log kob/g), İç Anadolu bölgesi (2,76 log kob/g). Buna göre *P. larvae* açısından en kirliliği Ege bölgesine aittir.

Çalışmada kullanılan ticari (2,92 log kob/g) ve doğal (4,65 log kob/g) ballar karşılaştırıldığında ise doğal balların *P. larvae* içeriğinin oldukça zengin olduğu görülmüştür.

Elde ettiğimiz bu sonuçları Türk Standartları ile karşılaştırmak istediğimizde hiçbir verinin olmadığı görülmüştür (TS 3036, 2002).

Literatürdeki diğer çalışmalara bakıldığında Türkiye'deki balların *P. larvae* içeriklerinin diğer ülkelerin ballarına göre çok daha yoğun olduğu ortaya çıkmıştır.

Arjantin balının mikroorganizma içeriğini belirlemek için yapılan bir çalışmada ticari balların %17'sinde, üreticiden alınan balların %60'ında ve toptan olarak satılan balların %10'unda *P. larvae* cinsi bakterilere rastlamışlardır. Görüldüğü gibi bu çalışmadaki sonuçlar doğal balların kirliliği açısından çalışmamıza paralel özellik göstermiştir (Iurlina ve Fritz, 2005). Farklı ülkelerin ballarının *P. larvae* içerikleri oldukça farklılık göstermektedir. Örneğin; Lauro ve diğ. (2003) tarafından İtalyan balları üzerine yapılan çalışmada örneklerin %57,14'ünde, Gilmore ve diğ. (2012) çalışmasında 92 Amerikan bal örneğinin % 3,2'sinde, Belçika balında ise 328 adet örnekten 146 tanesinde (%11) *P. larvae* cinsi bakteriler gözlenmiştir.

Ülkemizde ise balların *P. larvae* içeriğini araştırmış iki adet çalışma bulunmaktadır. Bunlardan ilki Özakın ve diğ. (2007) Karadeniz ve Marmara bölgesinden topladıkları 26 adet örneğin hiçbirinde *P. larvae*'ye rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Diğer çalışmada ise İstanbul piyasasından toplanan 500 adet örneğin %3,2'sinde (16 örnekte) *P. larvae* cinsine ait kolonilerin bulunduğu rapor edilmiştir (Dümen ve diğ., 2013). Çalışmamızda elde ettiğimiz verileri bu çalışmalarla karşılaştırdığımızda ise örneklerimizin oldukça kirli olduğu açıkça görülmektedir.

5.1.4. *Clostridium* spp. izolasyonu

Patojen, spor oluşturabilen, anaerobik ve Gr (+) olan *Clostridium* spp. balda yaşayabilen bakteri türlerinden biridir. Balda yaşayabilmesinde spor oluşturmasının oldukça fazla etkisi vardır. Özellikle *Clostridium botulinum* bakterileri 1 yaşına kadar çocuklarda görülen yenidoğan botulunizmine neden olmaktadır. Bu bakterinin sporlarının kaynağı özellikle tozlar ve ballardır (Küplülü ve diğ., 2004).

Çalışmada kullanılan 40 bal örneğinden 35'inde (%87,5) *Clostridium* spp. cinsi bakterilerin kolonilerine rastlanmıştır (Bkz Tablo 4.1). Koloni varlığın görülmediği 5 bal örneği şunlardır; Çelikhan/MALATYA - kır (çiçek) balı (D6-A), ORDU - acı bal (D8), Burhaniye/AYDIN - hayıt balı (D11), Çelikhan/MALATYA - kır (çiçek) balı (D6-B) ve BARTIN - kestane balı (D21)'dir. *Clostridium* spp. içeriği en fazla olan örnek T9-B nolu çam balı (2,85 log kob/g), en az olan örnekler ise D10 nolu Babadağ/DENİZLİ - kekik balı, D14 ve D15 nolu DATÇA - kekik balı (0,70 log kob/g)'dir.

Çalışma sonunda elde edilen verilerin bölgelere göre ortalamaları alındığında ortaya çıkan sonuçlar şu şekildedir; Ege bölgesi (1,79 log kob/g), Doğu Anadolu bölgesi (0 log kob/g), Karadeniz bölgesi (1,88 log kob/g), İç Anadolu bölgesi (2,25 log kob/g). Buna göre *Clostridium* spp. içeriği yönünden en zengin ballar İç Anadolu bölgesinde bulunmaktadır.

Çalışmada kullanılan ticari ve doğal balların *Clostridium* spp. içerikleri karşılaştırıldığında ise ticari ballardaki kontaminasyonun daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla, 2,05 log kob/g ve 1,60 log kob/g).

Doğal salgı ve çiçek ballarının içerdikleri *Clostridium* spp. türü bakteri sayıları çiçek ballarında 1,78 log kob/g ve salgı ballarında 1,28 log kob/g olarak belirlenmiştir. Buna göre çiçek balları salgı ballarına göre daha kirlidir. Ticari ballardaki durum ise tam tersidir. Yani salgı balları (2,20 log kob/g), çiçek ballarına (1,81 log kob/g) göre daha fazla sayıda *Clostridium* spp. türü bakteri içermektedir.

Türk Standartları TS 3036 no'lu bal tebliğine (2002) baktığımızda özellikle yeni doğanlar için önemli olan *Clostridium* spp. türü bakterilerle ilgili herhangi bir sınırlama veya yasaklama bulunmamaktadır.

Literatürde çeşitli balların *Clostridium* spp. içerip içermediğini saptamak için pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazılarında göre elde ettiğimiz veriler ışığında Türk balları oldukça temizdir. Örneğin; Finola ve diğ. (2007)'nin yaptığı çalışmada 23 adet Arjantin balında bulunan *Clostridium* spp. türü bakteri sayısı 1×10^2 kob/g olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada Kore pazarından temin edilen 4 çeşit balın içerdiği *Clostridium* spp. sayısının 0-450 kob/g olduğu bildirilmiştir (Jo ve diğ., 2005). Polonya'daki ticari ballardaki bakteri içeriğini belirlemek için Migdal ve diğ. (2000) tarafından yapılan çalışmada ise 7 adet örneğin *Clostridium* spp. içeriğinin 1×10^1 - 1×10^3 kob/g aralığında olduğu rapor edilmiştir.

Ancak literatürdeki bazı çalışmalarda saptanan sonuçlara göre Türk balları *Clostridium* spp. tarafından yoğun bir şekilde kontaminasyona uğramıştır. Örneğin; Iurlina ve Fritz'in (2005) Arjantin ballarında yaptıkları çalışmada, Gilmore ve diğ. (2010) tarafından Amerikan ballarında yapılan araştırmada ve Gomes ve diğ. (2009)'da Portekiz ballarıyla yaptıkları çalışmada *Clostridium* spp. türü bakterilere rastlanmadığını belirtmişlerdir. Diğer çalışmalarda ise az da olsa koloni oluşumu

gözlenmiştir. Midura ve diğ. (1979)'nin belirttiği üzere 90 adet Polonya balından 9 tanesinde (%10) *Clostridium* spp. kolonileri bulunmaktadır. 45 adet Arjantin balında ise 3 örnekte 1-15 kob/g aralığında *Clostridium* spp. bakterileri tespit edilmiştir (Monetto ve diğ., 1999). Norveç, İsveç, Finlandiya ve Rusya'dan 2001, 2002 ve 2003 yıllarında temin edilen 280 bal örneğinden sadece 53'ünde (%18,93) *Clostridium* spp. türü bakterilere rastlandığı Nevas ve diğ. (2006) tarafından rapor edilmiştir.

Ülkemiz araştırmacıları tarafından bu konuda yapılmış bir çalışmada ise Ankara pazarından temin edilen 48 bal örneğinden sadece 6'sında (%12,5) *Clostridium* spp. türüne rastlanıldığı rapor edilmiştir (Küplülü ve diğ., 2004).

5.1.5. *Salmonella* spp. izolasyonu

Pek çok türü insan patojeni olan *Salmonella* spp. türü bakterilerin spor formları olmamasına rağmen belirli sıcaklıklarda bal içerisinde 30 gün ila 2 yıl 4 ay 12 gün süresince yaşayabilmektedirler (Tysset ve Durand, 1973 ve 1976; Snowdon ve Cliver, 1996). Balda bu bakterilerin bulunması bala uygulanan sanitasyon işlemlerinin kalitesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Tysset ve diğ., 1970; Snowdon ve Cliver, 1996).

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin ettiğimiz bal örneklerinin *Salmonella* spp. içerip içermediğini belirlemek için yaptığımız çalışmaların sonucu literatür ile paralellik göstermiştir (Rall ve diğ., 2003; Iurlina ve Fritz, 2005; Gomes ve diğ., 2009; Rozanska, 2011). Yani örneklerimizin hiçbirinde *Salmonella* spp. türü bakterilere rastlanılmamıştır.

5.1.6. *Shigella* spp. izolasyonu

Patojen bakteri türlerinden birisi de *Shigella* spp.'dir. Bu bakteri de 10 °C derece altında bal içerisinde 2 ay 22 gün boyunca hayatta kalabilmektedir (Tysset ve Durand, 1976). *Salmonella* spp. gibi bu tür de balın işlenmesi sırasında kullanılan ekipmanların ve ortamın temizliğinin belirtecidir (Snowdon ve Cliver, 1996).

Elde ettiğimiz verilere göre hiçbir bal örneğinde *Shigella* spp. türü bakterilerin varlığı gözlemlenmemiştir.

Sonuçlarımızı literatürle kıyasladığımızda benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür (Rall ve diğ., 2003; Iurlina ve Fritz, 2005).

5.1.7. Koliform grubu bakteri sayısı

Enterobacter, *Escherichia* ve *Klebsiella* gibi patojen bakterileri de kapsayan koliform grubu bakteriler fekal kontaminasyondan kaynaklanmaktadır. Bu bakterilerin balda var olması balın ticari ve temizlik kalitesinin bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Snowdon ve Cliver, 1996).

Çalışma sonunda elde ettiğimiz verilere göre örneklerimizin hiçbirinde koliform grubu bakterilere rastlanmamıştır.

Sonuçları literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda örneklerimizin koliform grubu bakteriler yönünden temiz oldukları tespit edilmiştir. Iurlina ve Fritz (2005) tarafından Arjantin balları üzerine yapılan çalışmada örneklerinde bulunan koliform grubu bakterilerin sayısı 10 kob/g olarak tespit edilmiştir. Arjantin balları üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise örneklerin koliform içeriklerinin 3 kob/g'dan az olduğu belirlenmiştir (Sereia ve diğ., 2011). Kore'deki 4 bal örneklerinde 10 kob/g'dan daha az sayıda koliform bakterilerinin bulunduğu rapor edilmiştir (Jo ve diğ., 2005). Portekiz ballarında ise koliform grubu bakterilerin miktarı yok denecek kadar azdır (<1 kob/g) (Gomes ve diğ., 2009). Adebayo ve Davies (2012)'in Nijerya ballarıyla yaptıkları çalışmada örneklerdeki koliform yükünün oldukça fazla olduğu belirtilmiştir (95-240 hücre/100 ml). Brezilya ballarında yapılan bir araştırmada ise 17 örnekte bulunan koliform bakterilerinin sayısı 3 kob/g'dan daha az olduğu tespit edilmiştir (Sereia ve diğ., 2010). Ülkemizde de bu konuda yapılmış iki çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan ilki Erdoğan ve Erbilir (2007) tarafından Kahramanmaraş'taki 21 ticari örnekte yapılmıştır. Çalışma sonucunda örneklerdeki koliform grubu bakterilerin sayılarının 10 kob/g'dan daha az olduğunu bildirmişlerdir. Diğer çalışmada ise İstanbul pazarından temin edilen 500 bal örneğinden 80 tanesinde (%16) koliform grubu bakteri varlığı rapor edilmiştir (Dümen ve diğ., 2013).

Literatürdeki bazı çalışmaların sonuçları ise çalışmamızla paralellik göstermektedir. Bu çalışmalar şunlardır; Rall ve diğ. (2003) 100 adet Brezilya balında, Malika ve diğ. (2005) 10 adet Fas balında ve Saxena ve diğ. (2010) 7 adet Hindistan balında koliform grubu bakterilere rastlamamışlardır.

5.2. Bakterilerin identifikasyonu

Test sonuçlarına bakıldığında (Bkz Tablo 4.2), tüm suşların glukoz, laktoz ve manitolü kullanma yeteneklerinde farklılık gösterdikleri tespit edilmiştir. İzolatların glukozdan gaz oluşturmadıkları ve H₂S negatif oldukları gözlenmiştir. Voges Proskauer pozitif olan 6 suşun indol negatif olduğu belirlenmiştir. 23 izolatın katalaz negatif oldukları görülmüştür. Bakterilerin denemeler sırasında mikroskopik görünüşleri ve gram boyamaları incelenmiştir. İdentifikasyonda kullanılan tüm izolatlar sporlu ve gram pozitif bakteri oldukları doğrulanmıştır.

Bacillus cinsi bakterilerinin biyokimyasal özellikler açısından çeşitlilik gösterdiği bilinmektedir. Hatta yapılan çalışmalarda aynı türün suşları arasında da farklılıklar olabilmektedir (Snowdon ve Cliver, 1996). Çalışmamızda, suşların şeker testlerinden elde edilen sonuçların da genel olarak farklı sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

Bacillus cinsi bakterilerin sınıflandırılmasında, aerobik, Gram-pozitif, çubuk ve endospor oluşturmaları önemli yer tutmasına rağmen, türlerin ayrımı güçtür ve yanlış tanımlamalar yapılabilmektedir. Bakterilerdeki yüksek derecedeki heterojenite standart testler ile tanımlamayı zorlaştırmaktadır. Geleneksel sınıflandırma yöntemleri, morfolojik yapı, biyokimyasal testler ve fenotipik özelliklere dayandığından suşların ayrımı için yeterli olmamaktadır. Biz de bu nedenle izolatların tür seviyesinde tanımlamasını yapmak yerine, biyokimyasal farklılıklarını belirlemeye odaklandık.

5.3. Fizikokimyasal testler

5.3.1. Hidroksimetilfurfural miktarı

Hidroksimetilfurfural (HMF), balda ısıtma işlem sonucu şekerler ve aminoasitlerin tepkimesiyle, uzun süre balın depolanmasıyla ve balın uygun olmayan saklama koşullarında saklanmasıyla oluşan bir bileşiktir. Bu nedenle balın kalitesini belirlemede kullanılan en önemli kriterdir (Yıldız ve diğ., 2010).

Çalışma sonunda elde ettiğimiz verilere göre (Bkz Tablo 4.16) örneklerimizdeki HMF değerleri $0,71 \pm 0,01$ - $175,18 \pm 1,0$ mg/kg aralığındadır.

Sonuçlar bölgelere göre değerlendirildiğinde Ege bölgesi ballarındaki HMF miktarı ortalama 36,64 mg/kg, Karadeniz bölgesinin ortalama 11,34 mg/kg, Doğu Anadolu bölgesinin ortalama 7,16 mg/kg ve İç Anadolu bölgesinin 2,68 mg/kg değerlerindedir. Buna göre ballarının içerdiği HMF miktarı en fazla olan bölge Ege bölgesidir.

Çalışmada kullandığımız doğal ve ticari balların HMF içerikleri kıyaslanırsa ticari balların HMF değerleri yaklaşık 38,61 mg/kg, doğal balların ise 22,37 mg/kg olduğu gözlenmiştir. Görüldüğü gibi ticari balların HMF içerikleri doğal ballara göre daha fazladır.

Doğal salgı ve çiçek ballarının HMF miktarlarını karşılaştırdığımızda ise çiçek ballarındaki HMF salgı ballarından yaklaşık 5 kat daha fazladır (çiçek: 37,72 mg/kg, salgı: 7,02 mg/kg). Ticari ballarda ise durum benzerdir. Bu ballarda çiçek ballarındaki HMF miktarı salgı ballarından 2 kat fazladır (çiçek: 54,11 mg/kg, salgı: 23,10 mg/kg).

Baldaki HMF'nin bulunması gereken en fazla değer Türk Standartları Enstitüsü tarafından TS 3036 (2002) nolu bal tebliğinde 40 mg/kg olarak belirtilmiştir. Buna göre çalışmada kullanılan örneklerden D7 nolu MARMARİS-okalıptus balı (62,37±1,0 mg/kg), D10 nolu Babadağ/DENİZLİ-kekik balı (96,87±0,45 mg/kg), D12 nolu Kuyucak/AYDIN-narenciye balı (173,80±1,02 mg/kg), D13-A nolu Şeyh köyü/KASTAMONU-çiçek balı (41,97±0,3 mg/kg), T2-A nolu çiçek balı (175,18±1,04 mg/kg), T3-A nolu çiçek balı (85,93±1,91 mg/kg), T4-A nolu yayla (çiçek) balı (66,78±1,02 mg/kg), T6-A nolu çam balı (53,40±0 mg/kg) ve T7-A nolu çiçek balı (88,84±0,05 mg/kg) Türk Standartlarına uygun değildir.

Çalışmamız sonunda elde ettiğimiz verilerin literatürdeki çoğu çalışmadan daha yüksek olduğu görülmüştür. Örneğin; Migdal ve diğ. (2000) tarafından yapılan çalışmada 7 adet Polonya balının HMF içeriği 9,6-11,5 mg/kg aralığında bulunmuştur. Fransız ballarıyla yapılan bir çalışmada örneklerdeki HMF miktarının ortalama 3,29 mg/kg olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Devillers ve diğ., 2004). 23 adet Arjantin balında yapılan çalışmada ise Finola ve diğ. (2007) örneklerin HMF değerlerinin 1,1-44,8 mg/kg aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ise 5 adet Portekiz balındaki HMF miktarının 18-94 mg/kg aralığında bulunduğu gösterilmektedir (Gomes ve diğ., 2010).

Türk ballarıyla yapılmış çalışmalara baktığımızda yine örneklerimizdeki HMF miktarları oldukça fazladır. Küçük ve diğ. (2007) tarafından 3 farklı Anadolu balı üzerine yapılan çalışmada örneklerin 19,2-28,6 mg/kg aralığında HMF içerdiğini tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise örneklerin HMF değerlerinin 2,49-20,5 mg/kg aralığında olduğu belirtilmiştir (Duman Aydın ve diğ., 2008). Kahraman ve diğ. (2010) tarafından Marmara ve Doğu Anadolu bölgelerinden toplanan 70 adet bal örneğinin HMF miktarları 7,68-52,6 mg/kg aralığında bulunmuştur. 20 adet salgı ballarıyla yapılan çalışmada ise örneklerin HMF sonuçları 0,03-4,12 mg/kg gibi oldukça düşük bir değer aralığında olduğunu Tornuk ve diğ. (2013) bildirmiştir.

Ancak literatürdeki bazı çalışmalarda ise bulunan HMF sonuçları bulgularımızdan oldukça fazladır. Bunlardan biri Saxena ve diğ. (2009)'nin 7 adet Hindistan balında yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmada örneklerin HMF değerleri 32 ila 220 mg/kg olarak bulunmuştur. Bir diğer çalışmada ise Portekiz ballarının içerdiği HMF miktarları 1,7-471 mg/kg aralığında olduğu tespit edilmiştir (Mendes ve diğ., 1998). Bu çalışmadaki sonuçlar normalin oldukça üstündedir.

5.3.2. Rutubet miktarı

Baldaki nem miktarı, balın olgunluğunu, raf ömrünü ve kalitesini belirleyen önemli parametrelerden biridir. Hasat anındaki iklim şartları ve uygun olmayan depolama koşullarıyla artmaktadır (Karadal ve Yıldırım, 2012). Bu da balın kalitesinin bozulmasına ve mikroorganizmaların içinde yaşayabilecekleri bir ortam haline gelmesine neden olmaktadır.

TS 3036 (2002)'ya göre balın rutubet içeriği en fazla %20 olmalıdır. Bu sonuçlara göre çalışmada kullandığımız örneklerin tümü Türk standartlarına uygundur.

Sonuçlar dikkate alındığında örneklerin rutubet içerikleri %11,9-19,4 aralığındadır. En düşük rutubet içeriği %11,9 ile D13-A nolu Şeyh köyü/KASTAMONU-çiçek balına ve en yüksek rutubet içeriği %19,4 ile D22 nolu SİVAS-çiçek balına aittir.

Elde ettiğimiz verileri temin edildikleri coğrafik bölgelere göre değerlendirdiğimizde rutubet içeriği en yüksek olan bölge İç Anadolu (%19,4) ve en düşük olan bölge Doğu Anadolu'dur. Ege bölgesi'nden temin edilen ballardaki rutubet oranı %14,86 iken, bu oran Karadeniz bölgesi'nde % 15,55 olmuştur.

Çalışmada kullandığımız örnekleri doğal ve ticari ballar olarak kıyasladığımızda ise ticari balların rutubet yönünden daha zengin olduğu ortaya çıkmıştır (ticari: %16,3 ve doğal: %15,15).

Aynı kaynaktan farklı yıllarda temin edilen örneklerin sonuçları Tablo 4.4'de gösterilmektedir. Buna göre sonuçlar kıyaslandığında 2012 ile 2013 yılları arasında artış gösterenler; D6-A/D6-B (%9,16), D13-A/D13-B (%33,61), T1-A/T1-B (%2,45), T2-A/T2-B (%2,53), T3-A/T3-B (%6,58), T4-A/T4-B (%15,07) ve T8-A/T8-B (%9,27) örnekleridir. Bu sonuçlara bakılarak 2013 yılındaki bu örnekler hasat edilirken iklim şartları 2012'ye göre daha nemli denilebilir. Azalma gözlemlenen örnekler ise; D9-A/D9-B (%3,25), T7-A/T7-B (%1,13) ve T10-A/T10-B (%3,59) nolu örneklerdir. Buna göre bu 6 örnek içinden 2013 yılında hasat edilenlerin bulunduğu ortamın nem durumu 2012'den daha düşüktür. T9-A/T9-B nolu örneklere baktığımızda ise iki yıl arasında rutubet içeriği yönünden farklılık gözlenmemiştir. Bu da hasat zamanındaki iklim şartlarının iki yılda da aynı olduğunu göstermektedir.

Baldaki rutubet miktarıyla bakteri sayısı arasında bir korelasyon olup olmadığına baktığımızda sadece bir örnekte bu görülmüştür. D14 nolu DATÇA-kekik balında hem rutubet oranı (%17,9±0,1) hem de içerdiği ortalama bakteri yükü ($2,23 \times 10^4$ kob/g) fazladır. Ancak D8 ve D21 nolu Karadeniz ballarında rutubet ile ortalama bakteri yükü arasında bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir. Bu örneklerin rutubet oranı yüksek olmasına rağmen hiç bakteri içermemektedirler.

Literatürdeki çalışmaları büyük çoğunluğu çalışmamızla paralel sonuçlar vermiştir. Arjantin ballarıyla yapılan çalışmada örneklerin nem içerikleri %15,8-21,8 aralığında bulunmuştur (Iurlina ve Fritz, 2005). Türk ballarında yapılan çalışmada nem oranı %16,3-17,9 olduğu tespit edilmiştir (Kayacier ve Karaman, 2007). Türk ballarıyla yapılan bir diğer çalışmada ise 70 adet bal örneğinin nem oranlarının %13,6-19,4 aralığında olduğu rapor edilmiştir (Kahraman ve diğ., 2010). Portekiz ballarında ise nem oranı %15,9-17,2 aralığında değişim gösterdiği bildirilmiştir (Gomes ve diğ., 2010). Rodriguez ve diğ. (2012) tarafından Meksika ballarının nem içerikleri %15,5-20,7 aralığında bulunmuştur. Riberio ve diğ. (2014) çalışmasında ise örneklerin nem oranları %16,44-19,76 olarak belirlenmiştir. Yunan çam ballarıyla yapılan bir

çalışmada ise 39 adet örneğin nem oranlarının %10,47-20,47 aralığında olduğu Karabagias ve diğ. (2014) tarafından rapor edilmiştir.

Literatürdeki diğer çalışmalara göre ise örneklerimiz nem içeriği bakımından oldukça kalitelidir. Örneğin, Chua ve diğ. (2012) Malezya ballarının nem oranının %20,62-37,31 aralığında değerler gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine aynı yılda başka araştırmacılar tarafından Brezilya ballarıyla yapılan çalışmada ise 27 adet örneğin %25,84-36,04 oranlarında nem içeriklerinin değiştiği belirtilmiştir (Lage ve diğ., 2012).

5.3.3. Kül miktarı

Baldaki toplam mineral miktarının belirlenmesi orijini hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlar. Bunu belirlemek için kül tayini yapılmalıdır.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler ışığında örneklerin kül değerlerinin %0,03 ile %1,17 aralığında olduğu bulunmuştur. Kül miktarı en az olan örnek D12 nolu Kuyucak/AYDIN-narenciye balı ve en fazla olan örnek D8 nolu ORDU-acı (deli) bal'dır.

TSE'ye göre balda bulunması gereken kül miktarı çiçek ballarında en çok kütlece %0,6, salgı ballarında ise en çok kütlece %1,2'dir. Buna göre BARTIN-çiçek balı olan D20 (%0,89±0,02) ve ORDU-acı (deli) bal olan D8 (%1,17±0,06) hariç tüm örnekler standartlara uygundur.

Sonuçları bölgelere göre değerlendirdiğimizde içerdiği kül oranı en az olan İç Anadolu bölgesi (%0,08) ve en fazla olan Karadeniz bölgesi (%0,52)'dir. Diğer bölgelerin kül oranları ise Ege bölgesi %0,3 ve Doğu Anadolu bölgesi %0,11'dir.

Doğal ve ticari balları birbirleriyle kıyasladığımızda arada çok büyük bir fark olmamakla birlikte doğal balların ortalama kül oranları daha fazladır (sırasıyla, doğal:%0,36 ve ticari:%0,31).

Doğal balları salgı ve çiçek balı olarak ayırıp sonuçlarını incelediğimizde ise hemen hemen aynı oldukları görülmüştür (salgı:%0,36 ve çiçek:%0,35). Ticari balları da aynı şekilde değerlendirdiğimizde ise salgı ve çiçek balları arasında dikkate değer bir fark olduğu tespit edilmiştir. Buna göre ticari salgı balları çiçek ballarına göre yaklaşık 3 kat daha fazla kül içermektedir (sırasıyla, %0,45 ve %0,16).

Farklı yıllarda aynı kaynaktan alınan örnekleri kıyasladığımızda ise 2013 yılında kül oranlarında artış görülen örnekler Çelikhhan/MALATYA-kır (çiçek) balı (D6-A/D6-B), Şeyh köyü/KASTAMONU-çiçek balı (D13-A/D13-B), çam balı (T1-A/T1-B) ve çiçek balı (T3-A/T3-B). Kül oranında azalma meydana gelen örnekler ise; DATÇA-çam balı (D9-A/D9-B), yayla (çiçek) balı (T4-A/T4-B), çiçek balı (T7-A/T7-B), çiçek balı (T8-A/T8-B) ve çam balı (T10-A/T10-B)'dir. Ticari çiçek balı olan T2-A/T2-B de ise farklı yılların değerleri hemen hemen aynıdır (Bkz Tablo 4.5)

Çalışmamızda elde ettiğimiz verileri literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda örneklerimizin kül oranının oldukça geniş bir değer aralığına sahip olduğu saptanmıştır. Esti ve diğ. (1997) İtalya ballarının %0,03 ila 0,39 oranında kül içerdiğini belirtmişlerdir. Yılmaz ve Yavuz (1999)'un Türk ballarıyla yaptıkları çalışmada ise örneklerin kül oranı % 0,06-0,41 olarak belirlenmiştir. Türk ballarıyla yapılan başka bir çalışmada bu oran %0,11-0,52 olarak bulunmuştur. Aynı yıl yapılan diğer çalışmada 3 farklı Anadolu balının kül oranları %0,2-0,5 aralığında değişmektedir (Küçük ve diğ., 2007). Arjantin ballarında ise kül oranı %0,015-0,179 aralığında belirlenmiştir (Finola ve diğ., 2007). Bu oran Portekiz ballarında %0,07-0,35 (Gomes ve diğ., 2010); Malezya ballarında % 0,19-0,27 (Chua ve diğ., 2012) ve Yunanistan ballarında %0,38-0,92 (Karabagias ve diğ., 2014) olarak araştırmacılar tarafından belirlenmiştir.

5.3.4. Protein miktarı

Bal proteince zengin bir besin maddesi değildir. Ancak içerisindeki az miktardaki protein balın orijini, saklama koşulları ve arının şeker şurubu ile mi yoksa nektarlarla mı beslendiğinin bir göstergesidir (Karadal ve Yıldırım, 2012).

Yaptığımız çalışmalar sonucunda örneklerimizin sahip olduğu toplam protein içeriği birbirine çok yakın olmakla birlikte %0,13-0,19 aralığında bulunmuştur. En düşük oran T7-A nolu çiçek balına ve en yüksek oran ise T1-B nolu çam balı ve D9-A nolu DATÇA-çam balına aittir.

Sonuçları hasat edildikleri bölgelere, salgı ve çiçek balı olmalarına, doğal ve ticari olmalarına göre ayrı ayrı değerlendirdiğimizde sonuçlar arasındaki farkların önemsizmeyecek kadar az olduğu tespit edilmiştir (Bkz Tablo 4.16).

Türk Standartları Enstitüsü bal tebliğinde (TS 3036, Mart 2002) balların protein içeriğiyle ilgili bir standart bulunmamaktadır. Ancak balın protein içeriğiyle ilgili yapılan çalışmalarda balda ortalama %0,2 oranında protein bulunduğu belirtilmektedir. Buna göre tüm bal örneklerinin protein değerleri normale yakın bulunmuştur.

Örnekler arasındaki hasat edildikleri yıl farkına bakıldığında ise dikkate değer bir artış veya azalma görülmemiştir (Bkz Tablo 4.6).

Literatürde Küçük ve diğ. (2007) tarafından yapılan çalışmada 3 Türk balının toplam protein içeriği %0,065-0,170 olarak belirlenmiştir. Saxena ve diğ. (2010) ise Hindistan ballarının 472,0-2258 µg/g protein içerdiğini tespit etmişlerdir.

5.3.5. pH değeri

Balın pH değeri yapısındaki asitlerden dolayı asidiktir. Balın antimikrobiyal etkisinin nedenlerindedir. Aynı zamanda enzimatik aktiviteye de etkisi vardır (Karadal ve Yıldırım, 2012). Balın pH aralığı ile ilgili TS 3036 (Mart 2002)'da bir bilgi bulunmamaktadır.

Çalışma sonucundaki verilere göre örneklerin pH değerleri 3,14-4,80 aralığında bulunmuştur. Bölgelerden ise ortalama pH değerlerinin en yüksek olduğu bölge Karadeniz (pH 4,12), en düşük olduğu ise İç Anadolu (pH 3,35)'dur. Diğer bölgeler ise Ege bölgesi pH 4,09 ve Doğu Anadolu bölgesi pH 3,59'dur.

Hem doğal hem de salgı ballarında, salgı ballarının pH'ı çiçek ballarından yüksektir (Doğal salgı: pH 4,41 ve çiçek: pH 3,93; Ticari salgı: pH 4,22 ve çiçek: pH 3,68). Doğal ballar ile ticari ballardan pH'ı en yüksek olan doğal ballardır (doğal pH 4,17 ve ticari pH 3,95).

Örneklerin pH değerlerini yıllara göre değişimine baktığımızda T8-A/T8-B ve T9-A/T9-B örnekleri dışındakilerin hepsinde bir artış gözlenmiştir (Bkz Tablo 4.7).

Diğer ülke ballarının pH değerlerini incelediğimizde Brezilya ballarının pH 3,17-5,67 (Lage ve diğ., 2012), Malezya ballarının pH 3,21-3,50 (Chua ve diğ., 2012), Yunanistan ballarının pH 4,38-5,27 (Karabagias ve diğ., 2014), Portekiz ballarının pH 3,7-4,3 (Gomes ve diğ., 2010) ve Meksika ballarında pH 3,5-5 (Rodriguez ve diğ., 2012) aralığında olduğu araştırmacılarca belirlenmiştir.

5.3.6. Diyastaz sayısı

Baldaki diyastaz aktivitesi diyastaz sayısı ile tanımlanmaktadır ve diyastaz sayısı balın kalitesini, ısıl işlem uygulanıp uygulanmadığını ve depolama koşulları hakkında bilgi veren önemli bir parametredir (Bogdanov, 2002). Çünkü diyastaz aktivitesi ısıl işlem sonucunda inaktive olmaktadır (Karadal ve Yıldırım, 2012). Özellikle 50 °C'nin üstündeki ısıtma işlemlerinde diyastaz sayısının azaldığı belirtilmektedir (Yıldız ve diğ., 2010). TSE'ye göre balda bulunması gereken en az değer ise narenciye balları (en az 3) hariç tüm ballarda en az 8 olmalıdır.

Bu bilgilere göre çalışmada kullandığımız bal örneklerinin hepsi TSE'ye uygundur. Örneklerin diyastaz sayıları 3,00-433,3 aralığındadır. Diyastaz aktivitesi en az olan örnek D12 nolu Kuyucak/AYDIN-narenciye balı ve en yüksek olan örnek T10-B nolu çam balıdır.

Sonuçları bölgelere göre incelediğimizde Doğu Anadolu bölgesi ballarının diyastaz aktiviteleri en yüksek (309,52) ve Ege bölgesi ballarının ise en düşük (65,60) olduğu belirlenmiştir. Diğer bölgelerden ise Karadeniz bölgesinin 170,24 ve İç Anadolu bölgesinin 300,00'dür. Bal örneklerini doğal ve ticari olarak değerlendirdiğimizde doğal balların diyastaz aktivitelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (sırasıyla, 113,46 ve 89,48). Doğal ve ticari balları kendi içinde salgı ve çiçek olarak ikiye ayırırsak doğal ballarda çiçek ballarının (salgı 105,62 ve çiçek 121,30), ticari ballarda ise salgı ballarının (salgı 108,40 ve çiçek 70,56) daha yüksek diyastaz aktivitesi gösterdiği saptanmıştır.

Farklı yıllarda aynı kaynaktan hasat edilen örnekleri kıyasladığımızda çam balı olan T9-A/T9-B dışında tüm örneklerin diyastaz sayılarında dikkate değer bir artış gözlenmiştir. Buna bakılarak 2012 yılında ya hasat zamanında hava sıcaklığının daha fazla olduğunu ya da ballara daha fazla ısıl işlem uygulandığını varsayabiliriz. Aynı zamanda 2013'de aktivitede meydana gelen bu artışın saklama koşullarının 2012'den daha iyi olduğu için kaynaklandığı da düşünülebilir.

Diğer çalışmalarda belirlenen diyastaz yüzdeleri şu şekildedir; Singh ve Bath (1997) Hindistan ballarında %8,5-32,5, Esti ve diğ. (1997) İtalya ballarında %17,0-84,0, Migdal ve diğ. (2000) Polonya ballarında %10,9-13,9, Küçük ve diğ. (2007) Türk

ballarında 17,7-23,0 ve Kahraman ve diğ. (2010) Türk ballarının %5,0-29,6 olduğunu bildirmişlerdir.

5.3.7. Asitlik miktarı

Balda asitlik, balın fermantasyona uğrayıp uğramadığının gösteren bir değerdir. Baldaki asitliği belirtmek için üç farklı kavram bulunmaktadır; Serbest, Lakton ve Toplam asitlik. Ancak bunlardan sadece toplam asitlik bal standartlarında kullanılmaktadır. Bu değer Türk Standartları Enstitüsünün belirttiği üzere en fazla 50 meq/kg olmalıdır. Bu değeri aşan ballar bozuk olarak nitelendirilmektedir.

Örnekleri TSE bal standartlarıyla kıyasladığımızda tüm örneklerin uygun asitlik değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışmalar sonunda örneklerin serbest asitlik değerleri 13,0-29,7 meq/kg, lakton asitliği değerleri 3,00-31,7 meq/kg ve toplam asitlik değerleri 21,87-49,22 meq/kg değer aralıklarında olduğu belirlenmiştir (Bkz Tablo 4.16).

Örneklerin hasat edildikleri bölgelere baktığımızda ortalama serbest asitlik Ege bölgesinde 22,24 meq/kg, Doğu Anadolu bölgesinde 21 meq/kg, Karadeniz bölgesinde 19,75 meq/kg ve İç Anadolu bölgesinde 19 meq/kg değerlerindedir. Lakton asitliğinin ortalama değerleri İç Anadolu bölgesinde 25,30 meq/kg, Karadeniz bölgesinde 19,62 meq/kg, Doğu Anadolu bölgesinde 14,50 meq/kg ve Ege bölgesinde 10,06 meq/kg 'dır. Toplam asitliğin bölgelere göre ortalama değerleri ise şu şekildedir; İç Anadolu bölgesi 44,40 meq/kg, Karadeniz bölgesi 39,53 meq/kg, Doğu Anadolu bölgesi 35,49 meq/kg ve Ege bölgesi 32,65 meq/kg.

Çeşitli kaynaklardan temin edilen doğal ve ticari balların ortalama değerlerinin birbiriyle kıyaslanması sonucunda serbest asitlikte doğal balların (doğal 21,02 meq/kg ve ticari 19,97 meq/kg), lakton ve toplam asitlikte ise ticari balların değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (lakton asitliği, doğal 13,15 meq/kg ve ticari 16,92 meq/kg; toplam asitlik, doğal 34,43 meq/kg ve ticari 36,89 meq/kg).

Doğal balları kendi içinde salgı ve çiçek balı olarak değerlendirdiğimizde çiçek ballarının serbest, lakton ve toplam asitlik değerlerinin üçü de salgı ballarından yüksektir (serbest asitlik, çiçek 21,21 meq/kg ve salgı 20,83 meq/kg; lakton asitliği, çiçek 13,49 meq/kg ve salgı 12,80 meq/kg; toplam asitlik, çiçek 34,95 meq/kg ve

salgı 33,90 meq/kg). Ticari ballarda da benzer durum vardır. Ticari çiçek ballarının serbest, lakton ve toplam asitlik değerlerinin üçü de salgı ballarından yüksektir (serbest asitlik, çiçek 20,23 meq/kg ve salgı 19,70 meq/kg; lakton asitliği, çiçek 18,60 meq/kg ve salgı 15,23 meq/kg; toplam asitlik, çiçek 38,82 meq/kg ve salgı 34,96 meq/kg).

Ayrıca asitlik baldaki fermentasyonun derecesini belirttiği için baldaki bakteri oranını hakkında da bilgi verebilmektedir. Buna göre örneklerin asitlik ve ortalama bakteri yüklerini incelediğimizde D2, D13-B, T3-B ve T10-B nolu örneklerde hem toplam asitlik değerleri (sırasıyla; 45,33±3,0 meq/kg, 42,6±0,02 meq/kg, 45,90±0,46 meq/kg ve 49,22±0,02 meq/kg) hem de ortalama bakteri yükleri (sırasıyla; 3,89 log kob/g, 4,87 log kob/g, 4,19 log kob/g ve 4,14 log kob/g) yüksektir. Ancak bazı örneklerde toplam asitlik değeri yüksek olmasına rağmen ortalama bakteri yükü azdır. Bu örnekler D6-B, D17, D9-B, D20, T1-A, T2-A ve T7-A nolu örneklerdir.

Literatüre baktığımızda ise Lage ve diğ. (2012) Brezilya ballarının serbest asitliğinin 1,0-122,50 meq/kg, lakton asitliğinin 1-17,50 meq/kg ve toplam asitliğinin 3,5-132,50 meq/kg olduğunu bildirmişlerdir. Meksika ballarında yapılan bir çalışmada serbest asitlik 12,5-44,4 meq/kg ve toplam asitlik 13,3-46,8 meq/kg aralıklarında bulunmuştur (Rodriguez ve diğ., 2011). Karabagias ve diğ. (2014) tarafından yapılan çalışmada Yunanistan ballarının serbest asitliğinin 18,08-41,54 meq/kg, lakton asitliğinin 1,59-5,67 meq/kg ve toplam asitliğinin 23,75-44,94 meq/kg olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlara göre araştırmacıların çalışmalarında kullandıkları ballar TSE bal standartlarına göre tüketime uygun değildir.

Literatürdeki bazı çalışmalar, çalışmamıza paralellik göstermekte olup TSE standartlarına da uygundur. Örneğin; Küçük ve diğ. (2007) Türk ballarının toplam asitliğini 29,4-36,7 meq/kg olarak bulmuşlardır. Portekiz ballarında ise bu değer 16-32 meq/kg olduğu bildirilmiştir (Gomes ve diğ., 2010). Arjantin ballarında toplam asitlik 11,5-33 meq/kg olarak tespit edilmiştir (Iurlina ve Fritz, 2005). Türk ballarıyla yapılan başka bir çalışmada ise toplam asitlik 6,94-29,6 meq/kg olarak belirlenmiştir (Kahraman ve diğ., 2010).

5.3.8. Elektriksel iletkenlik

Elektriksel iletkenlik balın fiziksel özelliklerinden biridir. Balın mineral madde içeriğine göre farklı değerler alır. Aynı zamanda çiçek ve salgı ballarının ayırımında kullanılan önemli bir parametredir (Karadal ve Yıldırım, 2012). TSE' ye göre balda olması gereken elektriksel iletkenlik miktarı çiçek balları için en fazla 0,8 mS/cm, salgı balları için en az 0,8 mS/cm 'dir (TS 3036, 2002).

Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin ettiğimiz 40 bal örneğinin elektriksel iletkenlik değerleri 0,19-1,69 mS/cm aralığında farklılık göstermiştir.

Örneklerin elektriksel iletkenlik sonuçları TSE'ye göre değerlendirildiğinde D1 (0,89±0,04 mS/cm), D3 (0,66±0,07 mS/cm), D8 (2,17±0,10 mS/cm), D9-A (0,72±0,01 mS/cm), D13-A (0,55±0,01 mS/cm), D14 (1,12±0,01 mS/cm), D15 (1,18±0,02 mS/cm), D9-B (0,51±0,06 mS/cm), D20 (1,69±0,03 mS/cm) ve T10-B (0,45±0,04 mS/cm) no'lu örneklerin standartlara uygun olmadığı saptanmıştır. Bu sonuca bakılarak ki standart dışında kalan bu örneklere farklı kaynaklı balların ilave edildiği tahmin edilebilir.

Elde ettiğimiz verileri üretildikleri coğrafik bölgelere göre kıyasladığımızda elektriksel iletkenliği en yüksek olan bölgenin Karadeniz (1,04 mS/cm) ve en düşük olan bölgenin İç Anadolu bölgesi (0,28 mS/cm) olduğu anlaşılmıştır. Diğer iki bölgenin sonuçları ise Ege bölgesi 0,67 mS/cm ve Doğu Anadolu bölgesi 0,32 mS/cm'dir.

Doğal ve ticari balları karşılaştırdığımızda büyük bir farklılık olmamakla beraber doğal balların elektriksel iletkenliği ticari ballardan daha yüksektir (sırasıyla, doğal 0,77 mS/cm ve ticari 0,68 mS/cm).

Doğal balların elektriksel iletkenliğini çiçek ve salgı olarak incelediğimizde büyük bir fark gözlenmemiştir. Ancak ticari ballarda salgı ballarının elektriksel iletkenliği çiçek ballarının yaklaşık iki katıdır.

Ballardaki elektriksel iletkenlik değerlerinin yıllara göre değişimi irdelendiğinde ise D6-A/D6-B, D9-A/D9-B, T1-A/T1-B, T7-A/T7-B ve T10-A/T10-B örneklerinde dikkate değer artma veya azalmalar gözlemlenmiştir (Bkz Tablo 4.10).

Literatürdeki elektriksel iletkenlik verilerine baktığımızda Portekiz ballarında 0,19-0,53 mS/cm (Gomes ve diğ., 2010), Malezya ballarında 1,07-1,80 mS/cm (Chua ve diğ., 2012), İspanya ballarında 0,17-1,00 mS/cm (Erichce ve diğ., 2012) ve Yunanistan ballarında 0,808-1,748 mS/cm (Karabagias ve diğ., 2014) olarak belirtilmiştir.

5.3.9. Briks miktarı

Baldaki suda çözünmeyen kuru maddenin miktarı, balda yabancı madde eklenip eklenmediğini gösteren bir değerdir. Bu nedenle balın kalitesinin anlaşılmasında oldukça etkilidir.

Uluslararası Bal Komisyonuna (2002) göre balda bulunması gereken briks miktarı en az %26,5 ve en fazla %84,4'dür. Buna göre çalışmada kullanılan örnekler incelendiğinde D1 (%84,87±0,03), D3 (%85,09±0,02), D5 (%85,83±0,01), D6-A (%85,08±0,04) ve D13-A (%86,02±0,02) örneklerinin standartların dışında olduğu saptanmıştır.

Çalışmada kullandığımız örneklerin Briks değerleri %79,09-86,02 aralığında değişmektedir.

Ballardaki briks değerlerinin bölgelere göre farkına baktığımızda dikkate değer bir farklılık gözlenmemiş ve değerlerin birbirine yakın olduğu görülmüştür (Doğu Anadolu %84,41, Ege %83,33, İç Anadolu %83,07 ve Karadeniz %82,64).

Sonuçları doğal ve ticari ballar açısından değerlendirdiğimizde ticari balların briks değerinin büyük bir fark olmamakla birlikte daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Ticari %82,07 ve doğal %80,71).

Doğal balları kendi içinde salgı ve çiçek olmak üzere iki gruba ayırıp ortalama briks sonuçlarını incelediğimizde salgı ballarının daha yüksek değere sahip olduğu bulunmuştur (salgı %83,35 ve çiçek %78,06). Aynı incelemeyi ticari ballarda yaptığımızda ise farklı bir sonuç ortaya çıkmıştır. Buna göre ticari ballarda çiçek ballarının (%82,23) briks içeriği salgı ballarına (%81,91) göre daha yüksek bir değerde olduğu fark edilmiştir.

2012 ve 2013 yıllarında aynı kaynaklardan temin edilen bal örneklerindeki briks miktarının değişimine bakıldığında ise yıllar arasında değerlerin çok değişmediği

görülmüştür (Bkz Tablo 4.11). Ayrıca 2012 yılında standartlara uygun bulunmayan D6-A ve D13-A örneklerinin, 2013 yılındaki hasatları olan D6-B ve D13-B örneklerinin standartlara uygun hale geldiği gözlenmiştir.

Literatürdeki diğer çalışmaları değerlendirdiğimizde Lage ve diğ (2012)'nin 27 bal örneğinin briks değerlerini %7,0-77,0 aralığında buldukları görülmüştür. Buna göre çalışmada kullanılan örneklerden bazılarının briks değerleri %26,5'den az olduğu için standartlara uygun olmadığı belirlenmiştir. Ticari ballar ile yapılan bir çalışmada ise örneklerin briks değerleri (%76-81,5) standartlara uygun bulunmuştur (Anupama ve diğ., 2003). Standartlara uygun sonuçların elde edildiği başka bir çalışmada ise Portekiz ballarının ortalama briks değeri %80,7 olarak tespit edilmiştir (Silva ve diğ., 2009).

5.3.10. Renk

Balın rengi ticari açıdan oldukça büyük bir öneme sahiptir. Özellikle açık renkli ballar tüketici tarafından daha çok tercih edilmektedir. Ayrıca balda renk iklim, üretim şartları ve floraya da bağlı olduğu için balın orijini hakkında da bilgi vermektedir (Anupama ve diğ., 2003). Bu nedenle TSE bal tebliğinde bir renk standardı bulunmaktadır. Buna göre çiçek ballarının rengi su beyazından koyu kahverengine kadar, salgı ballarının rengi ise genellikle koyu olmalıdır (TS 3036, 2002). Buna göre çalışmada kullanılan örnekler gözlendiğinde hepsinin standartlara uygun olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca çalışmamızda yaptığımız gibi balda renk objektif olarak Hunter cihazıyla da ölçülebilmektedir. Bu cihazda rengi tanımlamak için L, a, b olmak üzere üç farklı büyüklük kullanılmaktadır (Üren, 1999).

Buna göre örneklerdeki L değeri aralığı 5,43-42,21, a değeri aralığı 0,71-14,03 ve b değeri aralığı 1,91-19,64 olarak tespit edilmiştir (Bkz Tablo 4.12).

Salgı ballarının ortalama renk değerleri doğal ve ticari olarak incelediğimizde, doğal balların L ve b değerleri ticari ballardan, ticari balların ise a değerleri doğal ballardan daha yüksektir. Çiçek ballarında benzer bir değerlendirme yapıldığında doğal balların L değeri, ticari balların a ve b değerleri daha fazladır.

Salgı ballarının renk değerlerini bölgelere göre değerlendirdiğimizde L ve b değerleri en yüksek olan bölge Ege ve en düşük olan bölge Karadeniz'dir. a değeri en yüksek olan bölge Karadeniz ve en düşük olan Ege'dir. iek ballarında ise L ve b değerleri en yüksek bölge İç Anadolu ve en düşük bölge Ege'dir. a değeri en yüksek bölge Karadeniz ve en düşük olan bölge Doğu Anadolu'dur.

Literatürdeki diğer çalışmalarda belirlenen baldaki renk değerleri oldukça çeşitlilik göstermektedir. Meksika ballarında yapıla bir çalışmada belirlenen renk değerlerinin aralıkları şu şekildedir; L değeri 14,4-31,6, a değeri 0,1-15,6 ve b değeri 17,2-38,1 (Rodriguez ve diğer., 2012). Tornuk ve diğer. (2013) tarafından Türk salgı ballarında yapılan çalışmada örneklerin L değerleri 8,88-18,54 aralığında, a değerleri 2,64-8,04 aralığında ve b değerleri 11,50-23,56 aralığında bulunmuştur. Brezilya ballarında L değerleri 43,51-80,79, a değerleri 3,14-62,57 ve b değerleri 26,83-43,19 olarak Ribeiro ve diğer. (2014) tarafından belirlenmiştir. Yunanistan am ballarında ise L değerinin 60,78-72,74, a değerinin 1,95-5,46 ve b değerinin 12,78-30,30 aralıklarında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Karabagias ve diğer., 2014).

5.3.11. İvert şeker miktarı

Balda invert şeker, sakkarozun invertaz enzimi ile glukoz ve fruktoza parçalanmasıyla oluşur. Depolama süresi uzadıķa baldaki invert şeker oranı azalmaktadır (White ve diğer., 1962). Bu nedenle balın kalitesini belirlemede kullanılmaktadır. TS 3036 (2002) bal tebliğine göre balda bulunması gereken invert şeker oranı iek ballarında kütlece en az %65, salgı ballarında ise kütlece en az %60 olmalıdır.

Buna göre çalışmada kullanılan örneklerin invert şeker oranları değerlendirildiğinde 40 adet bal örneğinden 21 tanesi (D1, D2, D3, D4, D5, D7, D8, D9-A, D14, D17, D9-B, D20, T2-A, T3-A, T5, T6, T9-A, T10-A, T1-B, T8-B) standartlara uygun bulunmamıştır (Tablo 4.16). Buradan bu 21 örneğin depolama koşullarının kalitesinin düşük olduğunu ya da bu örneklerin çok uzun süre depolandığı varsayımı yapılabilmektedir.

Aynı coğrafik bölgeden hasat edilen balların invert şeker değerlerinin ortalaması alınıp diğer bölgelerle karşılaştırması yapıldığında en yüksek invert şeker yüzdesinin

Doğu Anadolu bölgesine (%68,95) ve en düşük yüzdenin ise Ege bölgesine (%57,93) ait olduğu görülmüştür.

Doğal ve ticari ballardaki invert şeker farkı dikkate alınacak derecede değilse de ticari balların doğal ballardan daha çok invert şeker içerdiği saptanmıştır (sırasıyla, %60,85 ve %58,75). Salgı ve çiçek balları olarak değerlendirme yapıldığında hem doğal hem de ticari ballarda invert şeker oranı çiçek ballarında salgı ballarına göre daha yüksektir (doğal salgı %55,84, çiçek %61,65; ticari salgı %58,11, çiçek %63,58).

Bal örneklerinin invert şeker değerlerinin yıllara göre değişimi incelendiğinde D9-A/D9-B, T1-A/T1-B, T3-A/T3-B ve T4-A/T4-B örnekleri arasındaki farklılıklar dikkate değer bulunmuştur (Bkz Tablo 4.14).

Literatürdeki invert şeker değerleri ise Hindistan ballarında %44,0-66,0 (Saxena ve diğ., 2009), 3 adet Anadolu balında %65,8-66,8 (Küçük ve diğ., 2007) ve Portekiz ballarında %67,7-73,7 (Gomes ve diğ., 2010) olarak araştırmacılarca tespit edilmiştir.

5.3.12. Şeker bileşenleri

Şekerler balın temel bileşenleridir. Bu şekerler glikoz, fruktoz, sükroz ve diğer karbonhidratlardır. Özellikle sükrozun bal içindeki oranı önemlidir. Çünkü balın olgunluk derecesi ile kökeni hakkında bilgi verir. Ayrıca balı daha erken hasat etmek için arıcılar tarafından kullanılan sükroz konsantrasyonu yüksek olan şeker şuruplarının kullanılıp kullanılmadığını da baldaki sükroz oranına bakılarak anlaşılabilir. Bu nedenle TSE ve CEU (Avrupa birliği komisyonu) tarafından baldaki sakkarozun çiçek ballarında en fazla %5 ve salgı ballarında en fazla %10 olması gerektiği bildirilmiştir (Küçük ve diğ., 2007; Kahraman ve diğ., 2010). Çiçek ballarında bulunan fruktoz oranı %30-45 g, glikoz oranı %24-40 g ve sükroz oranı %0,1-4,8 g; çam ballarında ise fruktoz oranı %28-40 g, glikoz oranı %19-32 g ve sükroz oranı %0,1-4,7 g olmalıdır (Karadal ve Yıldırım, 2012).

Tablo 4.15'de görüldüğü gibi diğer şekerlerin miktarlarının en fazla ve en az buldukları örnekler şu şekildedir; Fruktoz miktarı en yüksek D6-A nolu örnekte (%41,99 g), en düşük ise D14 nolu örnektedir (%31,38). Glikoz miktarı ise en fazla D6 nolu örnekte (%31,91 g), en az ise D14 nolu örnektedir (%24,27 g). Maltoz

miktarının ise en yüksek olduğu örnek D14 (%2,40 g) ve en düşük olduğu örnek D6-B (%1,50 g)'dir.

Çalışmamızda 3 bal örneğinde (D6-A, D6-B, D14) yapılan şeker bileşenleri analizi sonuçlarına göre sükroz oranı 3 örnekte de standartların dışında değildir (sırasıyla, %0,16 g, %0,21 g ve %0,14 g). Bu da gösteriyor ki bu 3 bal örneğinde de üretim esnasında şeker şurubu kullanılmamıştır.

Verileri Karadal ve Yıldırım (2012)'a göre değerlendirdiğimizde üçü de çiçek balı olan örneklerden hepsinin hem fruktoz hem de glikoz oranlarının olması gereken değerlerde olduğu tespit edilmiştir.

Aynı kaynaktan farklı yıllarda hasat edilen D6-A ve D6-B nolu örnekleri karşılaştırdığımızda 2012'ye göre 2013'de sükroz oranında artış, fruktoz, glikoz ve maltoz oranlarında düşüş olduğu gözlemlenmiştir (Bkz Tablo 4.15).

Literatürdeki çalışmalara baktığımızda; White ve diğ. (1962) kullandıkları bal örneklerinin fruktoz oranını %38,4 g, glikoz oranını %31,3 g ve sükroz oranını %1,3 g olarak bulmuşlardır. Polonya balları ile yapılan bir çalışmada sükroz oranı %0,42-2,56 g olarak saptanmıştır (Migdal ve diğ., 2000). Arjantin ballarının glikoz ve fruktoz oranları ise %24,0-39,47 g ve %33,0-48,4 g olarak bulunmuştur (Finola ve diğ., 2007). Bu sonuçlara göre çalışmada kullanılan örneklerden bazıları fruktoz oranı olarak uygun değildir. Saxena ve diğ. (2010) Hindistan ballarının sükroz oranını %0,2-9,0 g olarak bulmuşlardır ve sonuç olarak bu çalışmada kullanılan Hindistan balları standartlar dışındadır. Türk salgı ballarında yapılan çalışmada 20 örneğin glikoz oranları %25,93-35,98 g, fruktoz oranları %29,80-44,49 g ve sükroz oranları %2,85-8,44 g olarak bulunmuştur (Tornuk ve diğ., 2013). Bu sonuçlar değerlendirildiğinde fruktoz ve glikoz oranları açısından çalışmada kullanılan örneklerin bazılarının uygun olmadığı farkedilmiştir.

5.4. Melissopalinojistik analizler

Melissopalinojistik analizler ile baldaki polenlerin cins ve miktarları, balların kalitesi, botanik ve coğrafik orijini ile sahte olup olmadığı belirlenebilmektedir (Terzi, 2009). Bu nedenlerden dolayı melissopalinojistik analizler oldukça büyük öneme sahiptir.

2012 yılında örneklerdeki polenler % oranlarına göre durumları değerlendirildiğinde (Bkz. Tablo 4.20) dominant polenin sadece D12 nolu örnekteki Cruciferae A.L. de Russieu (%56,55) olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda tespit edilen polen türlerinden *Castanea sativa* P. Miller D8 (%29,15); *Centaurea* L. D10 (%16,68), D15 (%15,23), T1-A (%25,38), T3-A (%18,05), T4-A (%16,43), T5 (%19,61), T6 (%18,36), T7-A (%21,47), T8-A (%19,49) ve T9-A (%17,93); *Cistus* L. D1 (%18,76) ve D2 (%15,73); Compositae Giseko D2 (%16,14), D3 (%27,40), D6-A (%29,73), D10 (%15,37), T2-A (%19,91), T3-A (%28,55), T4-A (%26,71), T5 (%19,92), T6 (%21,86), T7-A (%23,78), T8-A (%20,95), T9-A (%15,42) ve T10-A (%25,95); Cruciferae D4 (%17,24), D6-A (%20,99), D11 (%15,96), D14 (%21,77), T4-A (%17,01), T5 (%17,15), T6 (%21,30), T7-A (%21,64), T8-A (%17,23) ve T10-A (%23,36); Ericaceae A.L. de Jussieu D11 (%16,35); Labiatae A.L. de Jussieu D15 (%19,38), T9-A (%17,89) ve T10-A (%25,51); Leguminosae A.L. de Jussieu D1 (%16,54), D3 (%29,31), D4 (%17,49), D5 (%19,14), D6-A (%20,99), D9-A (%17,10), D10 (%26,39), D14 (%20,70), T1-A (%16,21), T2-A (%16,99), T5 (%23,38), T8-A (%23,42) ve T9-A (%24,53) nolu örneklerde sekonder polen olarak belirlenmiştir.

Örneklerdeki minör polenler ise *Anthemis* L. (D4, D13-A, D14), *Calluna vulgaris* L. (D8), *Capparis* L. (D3, D5, D11, D15), *Castanea sativa* (D13-A), *Centaurea* (D1, D2, D4, D5, D6-A, D9-A, D11, D12, D14, T2-A, T10-A), Cistaceae A.L. de Jussieu (D10, D13-A), *Cistus* (D3, D5, D8, D13-A, D14, D15, T4-A, T7-A), *Citrus* L. (T1-A), Compositae (D1, D4, D5, D8, D9-A, D12, D13-A, D14, D15), *Cotoneaster* Medikus (D13-A), Cruciferae (D1, D2, D3, D5, D8, D9-A, D10, D13-A, D15, T1-A, T2-A, T3-A, T9-A), *Daucus carota* L. (D8), *Diospyros lotus* L. (D13-A), *Erica* L. (D1, D4, T4-A), Ericaceae (T1-A), *Fagus orientalis* Lipsky (D13-A), Gramineae A.L. de Jussieu (D5, D11), *Helianthus* L. (D4, T2-A, T8-A), Labiatae (D1, D2, D4, D5, D6-A, D8, D9-A, D13-A, D14, T1-A, T2-A, T4-A, T6), Leguminosae (D2, D11, D12, D13-A, D15, T3-A, T4-A, T6, T7-A), *Morus* L. (D1, D4, D10, D15), *Papaver* L. (D12, T1-A, T3-A), *Pinus* L. (D3, D5, T1-A), *Pistacia* L. (D1, D2, D4, D5, D9-A), *Plantago* L. (D11, T1-A), *Polygonum* L. (D10), *Ranunculus* L. (T5), *Rhododendron* L. (D8), *Rosa canina* L. (D8), Rosaceae A.L. de Jussieu (D5, D6-A,

D11, D12), *Rubus canescens* Wirtg. (D13-A), Umbelliferae Juss. (D4, D9-A, D11, D15, T1-A, T3-A, T6, T9-A), *Vitex* L. (D12) türleridir.

2012 yılına ait 25 bal örneğinde eser polen olarak belirlenen polen türleri ise şunlardır; *Anthemis* (D1, D2, D7, D9-A, T1-A, T3-A, T4-A, T6, T7-A, T8-A), *Arbutus* L. (D13-A), *Capparis* (D7, T2-A, T6, T7-A, T10-A), *Castanea sativa* (D10, T3-A, T8-A, T10-A), *Centaurea* (D7, D8), Chenopodiaceae Ventenat (D2, D10, D14, T2-A, T3-A, T6, T7-A, T10-A), *Cirsium* P. Miller (D6-A, D13-A), Cistaceae (D2, D4, D6-A), *Cistus* (D4, D7, D10, T2-A, T3-A, T5, T6-A, T9-A, T10-A), *Citrus* (D1, D2, D4, D5, D7, D9-A, D14, D15, T8-A), Compositae (D7), *Crataegus* L. (D13-A), Cruciferae (D7), Cyperaceae Juss. (T3-A, T7-A), Dipsacaceae Juss. (T3-A, T5, T10-A), *Daucus carota* (D2, D4, D6-A, D7, D13-A), *Echium* L. (D4, D5, D6-A, D9-A, T2-A, T3-A, T6, T8-A), *Erica* (D2, D9-A, D14, D15, T5, T6, T7-A), Ericaceae (D5, D7, T8-A), *Eucalyptus* L Heritier de Brutelle (D10, D13-A, T2, T5, T6, T7-A, T8-A, T9-A, T10-A), *Genista* L. (D5, D7), *Geranium* L. (T2-A), Gramineae (D1, D2, D4, D6-A, D7, D9-A, D10, D12, D14, D15, T2-A, T3-A, T4-A, T6, T7-A), *Helianthus* (D1, D2, D5, D7, D9-A, D11, D14, D15, T3-A, T4-A, T6, T7-A, T9-A, T10-A), *Jasminum* L. (D10, T3-A, T7-A), Labiatae (D7, D10, T3-A, T5), *Lamium* L. (D9-A, T2-A, T6, T9-A), Leguminosae (D7, D8), *Ligustrum* L. (D2, D8, D13-A), *Lonicera* L. (D7, D13-A), *Morus* (D2, D5, D6-A, D7, D9-A, D14, T1-A, T3-A, T4-A, T7-A, T8-A), *Olea* L. (D10), *Papaver* (D2, D4, D5, D7, D10, D11, T2-A, T5, T6, T7-A, T9-A), *Phlomis* L. (D6-A, D13-A), *Pinus* (D2, D4, D9-A, D10, D13-A, T5, T6, T8-A, T9-A, T10-A), *Pistacia* (D2, D14, D15, T2-A, T4-A, T7-A), *Plantago* (D1, D2, D4, D5, D6-A, D7, D9-A, D14, D15, T4-A, T6, T7-A, T9-A), *Polygonum* (D11, T3-A, T10-A), *Pyrus* L. (D13-A), *Ranunculus* (D2, D4, D5, D10, D11, T1-A, T3-A, T7-A, T9-A), *Rhododendron* (D13-A), *Rosa canina* (D4, D5, D9-A, D13-A), Rosaceae (D1, D2, D3, D4, D7, D10, D14, D15, T2-A, T3-A, T4-A, T6, T7-A, T9-A, T10-A), *Rubus canescens* (D9-A), *Rumex* L. (D2, D4, D5, D7, D10, T2-A, T3-A, T7-A), *Salix* L. (D12, T6, T9-A), *Thymus* L. (D2, D6-A, D10, D13-A, T1-A, T2-A, T4-A, T6, T8-A), Umbelliferae (D1, D2, D10, D14, T2-A, T4-A, T5, T7-A, T8-A, T10-A), Urticaceae Juss. (D4, D14, T1-A), *Verbascum* L. (D1, D6-A, D10, D13-A, T2-A, T3-A, T4-A, T7-A), *Vitex* L. (D1, D4, D10, D11, D14, D15, T1-

A, T2-A, T4-A, T5, T6, T7-A, T8-A, T9-A, T10-A), *Washingtonia* H. Wendland (D1, D4, D15), *Xanthium strumarium* L. (T3-A, T4-A, T7-A).

2013 yılında hasat edilen örneklerde varlığı kanıtlanan polenlerin % oranlarına göre değerlendirilmesiyle örneklerin tümünde dominant polene rastlanmazken sekonder, minör ve eser polenler belirlenmiştir. Belirlenen sekonder polenler; *Astragalus* L. (D22, T8-B, T4-B), *Castanea sativa* (D13-B, D20, D21), *Centaurea* (T8-B, T3-B, T4-B, T10-B, T7-B), *Cistus* (D9-B), Compositae (D6-B, D17, D20, D21, T1-B, T2-B), Cruciferae (D20, D21, T1-B), *Echium* (T10-B), Ericaceae (T1-B, T2-B), Labiatae (D17, D13-B, D22, T1-B, T9-B) ve Leguminosae (D6-B, D17, D9-B, D22, T3-B, T9-B, T7-B) taksonlarına aittir. *Anthemis* (T9-B), *Arbutus* (T3-B, T10-B), *Astragalus* (T3-B, T10-B), *Capparis* (T3-B, T4-B), *Centaurea* (D6-B, D17, D9-B, D20, D21, D22, T2-B, T9-B), Chenopodiaceae (T1-B, T8-B, T10-B, T7-B), Cistaceae (D13-B), *Cistus* (D1), Compositae (D9-B, D13-B, D22, T8-B), Cruciferae (D6-B, D17, D9-B, D13-B, T2-B, T3-B, T9-B, T4-B, T7-B), *Daucus carota* (T8-B, T3-B), *Echium* (T1-B, T2-B), Ericaceae (T8-B, T9-B, T4-B, T7-B), *Eucalyptus* (T1-B, T2-B), *Fagus orientalis* (D13-B, D21), *Helianthus* (T1-B, T2-B), Labiatae (D9-B, T2-B, T3-B), Leguminosae (D13-B), *Lonicera* (T2-B), *Morus* (T1-B, T2-B), *Pistacia* (D9-B, T7-B), Rosaceae (D6-B), *Rubus canescens* (D22, T8-B) ve Umbelliferae (D17, D9-B) polenleri minör polenlerdir. Örneklerdeki eser polenler ise şunlardır; *Achillea* L. (D21, D22, T1-B, T2-B, T3-B, T4-B, T7-B, T8-B), *Anthemis* (D6-B, D17, D9-B, D13-B, T7-B, T10-B), *Arbutus* (D13-B, D20, D21, T8-B), *Capparis* (D17, T2-B, T9-B, T10-B, T7-B), *Castanea sativa* (T8-B), *Centaurea* (D13-B), Chenopodiaceae (D13-B, D21, T2-B, T3-B), *Cirsium* (D6-B, D9-B, D13-B, D20, D21, T3-B), Cistaceae (D6-B, D9-B, D20, D21, T2-B, T3-B, T10-B), *Cistus* (D6-B, D13-B, D20, D21, T1-B, T8-B, T9-B, T4-B, T7-B), *Cotoneaster* (D13-B, T8-B, T9-B), *Daucus carota* (D6-B, D13-B, D20, D21, T9-B, T4-B, T10-B, T7-B), *Diospyros lotus* (D13-B), *Echium* (D6-B, D13-B, D22, T3-B, T9-B, T7-B), *Erica* (D9-B, D21, T7-B), Ericaceae (D9-B, T3-B), *Eucalyptus* (T8-B, T4-B, T7-B), *Fagus orientalis* (D20), Gramineae (D6-B, D13-B, T8-B, T4-B, T7-B), *Helianthus* (D17, D9-B, D13-B, T9-B, T4-B), Labiatae (D6-B), *Ligustrum* (T2-B, T9-B), *Lonicera* (D9-B, D13-B, T8-B), *Morus* (D6-B, D17, D9-B, T8-B, T3-B, T9-B, T4-B, T10-B), *Papaver* (D6-B, D13-B, D22, T9-B, T4-B, T1-B, T7-B), *Pinus* (D9-B, D13-B, T2-B, T8-B, T4-B),

Pistacia (D17, T1-B, T3-B), *Plantago* (D6-B, D17, D9-B, D13-B, D22, T3-B, T4-B), *Ranunculus* (D17, D13-B, D22, T8-B, T3-B, T10-B), *Rhododendron* (D13-B, D20, D21), *Rosa canina* (D13-B, T4-B, T10-B), Rosaceae (D17, D9-B, D22, T3-B), *Rubus canescens* (D17, D9-B, D13-B, T3-B, T4-B, T9-B, T10-B), *Rumex* (D17, T4-B, T10-B), *Thymus* (D6-B, D13-B, T8-B, T9-B), Umbelliferae (D22, T3-B, T4-B, T9-B, T10-B), Urticaceae (D17, D13-B, T8-B, T10-B), *Verbascum* (D6-B, D17, T1-B), *Vitex* (D17, D9-B, T3-B, T4-B), *Washingtonia* (D17, D9-B, T2-B, T3-B).

Yaptığımız analizler ile varlığını belirlediğimiz bu polenlerin özelliklerini incelediğimizde tümünün tozlaşma yöntemi olarak rüzgar, su gibi etkenleri değilde bal arısı gibi canlıları kullandığı fark edilmiştir.

Üretildikleri bölgelere göre doğal ballar incelendiğinde Ege bölgesi ballarındaki ortak polen türleri *Centaurea*, Cruciferae, Leguminosae, Compositae, Labiatae taksonlarından olduğu görülmüştür. Bu verileri literatürdeki çalışmalarla karşılaştırdığımızda Ege bölgesi ballarında Sunay (2006) tarafından yapılan çalışmada örneklerde ayçiçek poleni (%46,8) dominant polen olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada örneklerden birinde yüksek oranda kekik poleni (%56) bulunmuştur.

Çalışmada kullandığımız Doğu Anadolu bölgesi ballarındaki ortak polen türleri ise Compositae, Cruciferae ve Leguminosae'dir. Literatürde Doğu Anadolu bölgesi ballarıyla yapılan bir polen analizi ile örneklerde en sık rastlanan polen türlerinin beyaz üçgül, cehrilere, geven, yonca olduğu bildirilmiştir (Sunay, 2006). Gür tarafından 1993'de Doğu Anadolu illerinden olan Elazığ'da üretilen ballarla yapılmış çalışmada ise örneklerde en yoğun bulunan polen türlerinin Fabaceae (%44,60) ve Asteraceae (%31,10) familyalarına ait polenler olduğu belirtilmiştir.

Karadeniz bölgesi ballarının polen içeriklerine baktığımızda örneklerde sık rastlanan polen türlerinin *Castanea sativa*, Compositae ve Cruciferae taksonlarına ait olduğu belirlenmiştir. Verilerimizi literatürdeki diğer çalışmalarla kıyasladığımızda bir paralellik olduğu görülmektedir. Örneğin, Batı Karadeniz bölgesinin 5 farklı ilinden toplanan 50 bal örneğinde yapılan polen analizi sonucunda belirlenen dominant taksonlar *Castanea sativa*, *Rhododendron ponticum*, *Tilia rubra*, Fagaceae, Ericaceae, Compositae ve Cruciferae olarak bildirilmiştir (Kelez, 2009). Bir diğer

çalışmada ise Bartın ballarında dominant oranda bulunan polenlerin *Castanea sativa* ve *İlex colchic*, sekonder oranda bulunan polenlerin ise *Castanea sativa*, *Ligustrum vulgare*, *Pyrus*, *Prunus* ve Leguminosae taksonlarına ait olduğu Mısır (2011) tarafından tespit edilmiştir.

İç Anadolu bölgesi ballarında sık rastlanan polen taksonları ise *Astragalus*, Leguminosae, Labiatae ve Compositae olarak belirlenmiştir. Literatürde ise Sunay tarafından 2006'da yapılmış çalışmada İç Anadolu bölgesi illerinden olan Kayseri ilinin ballarında sıklıkla beyaz üçgül, geven ve peygamber çiçeği türlerine ait polenlerin bulunduğu belirtilmiştir.

Ticari ballarda sık rastlanan polen türleri ise *Centaurea*, Cruciferae, Leguminosae ve Compositae taksonlarıdır. Bu verileri literatürdeki çalışmalarla kıyasladığımızda bölgelere göre farklılıkların olduğu görülmüştür. Örneğin, Ankara piyasasından toplanan 30 bal örneğinde belirlenen dominant ve sekonder polenlerin Fabaceae, Aceraceae, Boraginaceae, Poaceae, Asteraceae, Apiaceae, Caryophyllaceae, Rosaceae, *Hedysarum* sp., Brassicaceae ve Fagaceae taksonlarına ait olduğu bildirilmiştir (Çam, 2006).

Ballardaki polenlerin balın cinsini belirlediği bilinmektedir. Buna göre D12 nolu Kuyucak/AYDIN narenciye balında *Citrus* ve *Washingtonia* familyalarına ait polen bulunması gerekirdi. Ancak Tablo 4.18'de görüldüğü gibi bu familyalara ait polenler örnekte bulunmamıştır. Bu nedenle bu balın piyasada sahte isimle satışı sunulduğu görülmüştür. Aynı şekilde D7 nolu MARMARİS okaliptus balında da *Eucalyptus* familyasından polenlerin bulunması beklenmektedir. Ancak görülmüştür ki örnek bu familyadaki polenleri içermemektedir. Buna göre bu örnek de piyasada sahte ad ile satılmıştır.

Çalışmada örneklerde belirlenen botanik ve coğrafik orijin farklılıklarının balın bakteriyolojik içeriğiyle ilişkisinin bazı örneklerde olduğu görülmüştür. Örneğin, *Castanea sativa* polenlerini yüksek oranda içeren Karadeniz bölgesi ballarından olan D8 ve D21 nolu örneklerde bakteri gelişimi görülmemiştir. Ancak yine yüksek oranda *Castanea sativa* içeren ve Karadeniz bölgesine ait bir bal olan D20 ve D13-B örneklerinde bakterilerin varlığı belirlenmiştir. Bu nedenle balların botanik ve coğrafik orijini ile bakteri içeriği arasında tam bir korelasyon bulunmamaktadır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının araştırma konusu olan Türkiye'de farklı kaynaklardan alınan balların bakteriyolojik, fizikokimyasal ve melissopalinolojik analizleri hakkında çok detaylı çalışmalar bulunmamaktadır.

Son yıllarda Türk ballarının bakteri yükünü belirlemek için yapılan çalışmalar belli bir bölgede ve genellikle az sayıdaki örneklerle yapılmıştır. Çalışmamız hem örneklerde incelenen bakteri çeşitliliği açısından hem de incelenen örneklerin bölge çeşitliliği ve örnek sayısı açısından literatüre büyük katkı sağlamaktadır.

Çalışmamız sonunda elde edilen verilere göre incelenen Türk ballarının bakteri yükünün oldukça fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca koliform grubu, *Salmonella* sp. ve *Shigella* sp. türü bakterileri içermemesi yönüyle literatürde çalışılan bazı ballardan daha kaliteli olduğu gösterilmiştir. Ancak diğer varlığı saptanan bakterilere göre az sayıda bulunan *Clostridium* sp. türü bakterilerin bulunması bir yaşından küçük çocukların beslenmesinde balın yer almaması gerektiği çalışmamızla bir kez daha vurgulanmıştır.

Yapılan fizikokimyasal analizlerle Türkiye'deki bazı balların TSE'ye uygun olmadığı ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla bu ballar tüketime çok uygun değildir. Bu sonuçlar ışığında bal üretim tesislerinin ve depolama yerlerinin yeterli denetlenmediği de görülmektedir. Fizikokimyasal ve bakteriyolojik analizlerin sonuçları birarada değerlendirildiğinde balda bulunan bakteri sayısı ile kimyasal özelliklerin ilişkisi bazı örneklerde gözlenmektedir. Ayrıca fizikokimyasal analizlerle balların üretimi sırasında daha erken hasat almak için kullanılan şeker şurubunun bal arılarına verilip verilmediği de anlaşılmaktadır. Buna göre örneklerimizin hiçbirinde şeker şurubuna rastlanmamıştır.

Çalışmadaki melissopalinolojik analizlerle üreticiden temin edilen doğal balların ticarilere göre çok daha fazla sayıda polen içerdiği ortaya çıkmıştır. Bu da göstermektedir ki doğal ballar ticari ballara göre beslenme açısından daha değerli ve

önemlidir. Polen analizi ile bal örneklerinden ikisinin sahte isimle satıldığı da ortaya çıkmıştır.

Sonuç olarak çalışmada kullanılan bal örneklerinin içerdiği bakteri sayısının ve çeşitliliğinin fazla olduğu belirlenmiştir. Sunulan bu tez çalışmasında Ege, Doğu Anadolu, İç Anadolu ve Karadeniz bölgelerine ait bal örnekleri kullanılarak bu bölgelerdeki balların bakteri içeriklerinin, fizikokimyasal özelliklerinin, içerdikleri polenlerin tür çeşitliliğinin ve sayısının belirlenmesine katkıda bulunulmuştur. Ayrıca doğal ve ticari ballar çalışılarak aralarındaki farklar belirlenmiştir. Literatür taramaları sonucunda ballarda bu kadar kapsamlı bir bakteri taraması yapılmamıştır. Dolayısıyla yapılan bu tez çalışması sonucunda literatürde görülen bir boşluk kapatılmıştır. Diğer taraftan ülkemizdeki bal üretiminin daha iyi denetlenmesi ve tüketim için ticari ballardan çok doğal ballar tercih edilmelidir.

KAYNAKLAR

- Accorti, M., Piazza, M.G.** 1987. La conductividad eléctrica y el contenido en cenizas de la miel. *Apiacta*, **22**, 19-20.
- Adebayo, A.A. and Davies, B.A.** 2012. Microbiological examination of honey marketed in southwestern Nigeria. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, **2**, 1701-1705.
- Agbagwa, O.E. and Frank-Peterside, N.** 2010. Short communication: Effects of raw commercial honey from Nigeria on selected pathogenic bacteria. *African Journal of Microbiology*, **4**, 1801-1803.
- Alippi, M.A.** 1995. Detection of Bacillus larvae spores in Argentinean honeys by using a semi-selective medium. *Microbiologia*, **11**, 343– 350.
- Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., 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.
- Al-Waili, N., Salom, K, Al-Ghamdi, A., Ansari, M.J.,** 2012: Antibiotic, Pesticide, and Microbial Contaminants of Honey: Human Health Hazards. The Scientific World Journal, *Reviews*, **Vol. 2012**, p. 9 .
- Anklam, E.** 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, **63**, 549–562.
- Anonim** 2005. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Bal Tebliği. Tebliği No 2005/49. Resmi Gazete 17.12.2005/26026
- Anonymous,** 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edn., ed. P. Cunniff. AOAC International, Arlington, Virginia, USA.
- Anonymous,** 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, 4th revision, ed. P. Cunniff. AOAC International, Arlington, Virginia, USA.
- Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna , V.K.** 2003. Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food research international*, **36**, 183-191.

- Arda, M.** 1997, Temel mikrobiyoloji, İkinci baskı, Medisan Yayın Serisi No 25., syf. 80-103
- Azeredo, C.L., Azeredo, M.A.A., de Souza, S.R., Dutra, V.M.L.,** 2003. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 80, 249–254.
- Bacteriological Analytical Manual (BAM),** 2001. In: FDA Bacteriological Analytical Manual online. Association of Official Analytical Chemists International, online.
- Badet, C. and Quero, F.** 2011. The *in vitro* effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria. *Anaerobe*, **17**, 19-22.
- Bilgehan, H.** 1995, Klinik mikrobiyolojik tanı. Şafak matbaacılık, Ankara.
- Bogdanov, S.** 2002. Harmonized methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Center, FAM, Liebefeld, CH–3003 Beren, Switzerland.
- Bogdanov, S.** 1997, Charakterisierung von schweizer sortenhonigen, *Agrarforschung*, **4**, 427-430.
- Bogdanov, S., Martin, P. and Lullmann, C.** 1997. Harmonized methods of the European honey commission. *Apidologie*, 1-59.
- Bogdanov, S., and Martin, P.** 2002. Honey authenticity: a review. *Swiss Bee Research Centre*, 1-22.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., Persano Oddo, L.** 2004. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a reiew. *Food Chemistry*, **35**, 4-17.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P.** 2008. Honey for nutrition and health: a review. *American Journal of the College of Nutrition*, **27**, 677-689.
- Brudzynski, K. and Linda, K.** 2011. Storage-induced chemical changes in active components of honey de-regulate its antibacterial activity. *Food Chemistry*, **126**, 1155-1163.
- Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E.** 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed..
- Butterfield, C.T.** 1931. The Selection of a dilution water for bacteriological examinations. *Journal of Bacteriology*, **23**, 355-368.
- Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M.C., de Torres, C., Pérez-Coello, M.S.** 2010. Effects of geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. *Food research international*, **43**, 2335-2340.

- Cavia, M.M., Fernandez-Muino, M.A., Gómez-Alonso, E., Mentés-Perez, M.J., Huidobro, J.F., Sancho, M.T.** 2002. Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. *Food Chemistry*, **78**, 157-161.
- Chua, L.S., Abdul-Rahaman, N.L., Sarmidi, M.R., Aziz, R.** 2012. Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chemistry*, **135**, 880-887.
- Corbella, E. and Cozzolino, D.** 2008. Combining multivariate analysis and pollen count to classify honey samples accordingly to different botanical origins. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **68**, 102-107.
- Crane, E.** 1990: Bees and Beekeeping. *Heinemann Newnes*, London.
- Çam, B.** 2006. Ankara piyasasında bulunan bazı ballarda polen analizleri ve bu balların antimikrobiyal özellikleri, (Yüksek Lisans Tezi), Gazi Üniversitesi Fen Bil. Enst., Ankara, Türkiye.
- Çotuk, A.** 2003, Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi.
- Çubuk, S.** 2008. Bal örneklerinde indoxacarb kalıntısı ve bozunma ürünlerinin tayini için yöntem geliştirilmesi, (Doktora Tezi), Marmara Üniversitesi Fen Bil. Enst., İstanbul, Türkiye.
- D'Arcy, B.R.** 2007. High-power ultrasound to control of honey crystallisation. *Rural Industries Research and Development Corporation*, Kingston.
- Devillers, J., Morlot, M., Pham-Delegue, M.H., Dore, J.C.** 2004. Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chemistry*, **86**, 305-312.
- Dixon, B.** 2003. Bacteria can't resist honey. *The Lancet Infectious Diseases*, **3**, 116.
- Duman Aydın, B., Sezer, C. and Oral, N. B.** 2008. Kars'ta Satışa Sunulan Süzme Balların Kalite Niteliklerinin Araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **14**, 89-94.
- Dümen, E., Akkaya, H., Öz, G.M., Sezgin, F.H.** 2013. Microbiological and parasitological quality of honey produced in İstanbul. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **37**, 602-607.
- Enriche, I., Kadar, M., Juan-Borras, M., Domenech, E.** 2014. Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. *Food Chemistry*, **142**, 135-143.

- Erdoğrul, Ö., Erbilir, F.** 2007. Kahramanmaraş'ta üretilen bal örneklerinin mikrobiyal kalitesi ve antibakteriyal etkilerinin araştırılması. *KSU Journal of Science and Engineering*, **10**, 1-5.
- Ertürk, Ö., Karakaş, F., Pehlivan, D., Nas, N.** 2009. The antibacterial and antifungal effects of *Rhododendron* derived mad honey and extracts of four *Rhododendron* species. *Turk. J. Biol.*, **33**, 151-158.
- Esti, M., Panfili, G., Marconi, E., Trivisonno, M.C.** 1997. Valorization of the honeys from the Molise region through physicochemical, organoleptic and nutritional assessment. *Food Chemistry*, **58**, 125-128.
- Feas, X., Pires, J., Iglesias, A., Estevinho, M.L.** 2010. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physicochemical data. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 3462-3470.
- Finola, M.S., Lasagno, M.C., Marioli, J.M.** 2007. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, **100**, 1649-1653.
- Garcia, M., Perez-Arquillue, C., Juan, T., Juan, M.I. and Herrera, A.** 2001. Note. Pollen analysis and antibacterial activity of spanish honeys. *Food Science and Technology International*, **7**, 155-158.
- Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı,** 2012. Türkiye, bal üretiminde dünyada 2. sırada. www.tarimtv.gov.tr
- Gilmore, D., Link, L. and Fell, R.** 2010. Analysis of bacterial pathogens in Virginia honeys. *Science of bee culture*, **2**, 11-14.
- Gill, A.O. and Holley, R.A.** 2000. Inhibition of bacterial growth on ham and bologna by lysozyme, nisin and EDTA. *Food Research International*, **33**, 83-90.
- Graff, D.C., Vandekerchove, D., Dobbelaere, W., Peeters, J.E., Jacobs, F.J.** 2001. Influence of the proximity of American fouldbrood cases and apicultural management on the prevalence of *Paenibacillus larvae* spores in Belgian honey. *Apidologie*, **32**, 587-599.
- Gomes, S., Dias, L.G., Moreira, L.L., Rodrigues, P., Estevinho, L.** 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 544-548.
- Gordon, R.E., Haynes, W.C., Pang, C.H.** 1973. The genus *Bacillus*. Agric. Handb. 427, ARS-USDA, Washington, syf 283.
- Gulfraz, M., Iftikhar, F., Imran, M., Zeenat, A., Asif, S., Shah, I.** 2011. Compositional analysis and antimicrobial activity of various honey types of Pakistan. *International Journal of Food Science and Technology*, **46**, 263-267.

- Gür, N.** 1993. Elazığ ilinde arıcılığın yoğun olduğu yörelerin ballarında polen analizleri, (Yüksek Lisans Tezi), Fırat Üniversitesi Fen Bil. Enst., Elazığ, Türkiye.
- Haroun, M.I.**, 2006. Türkiye'de üretilen bazı çiçek ballarının fenolik ve flavonoid profillerinin belirlenmesi, (Doktora Tezi), Ankara Üniv. Fen Bil. Enst., Ankara, Türkiye.
- Hartree, E.F.** 1972. Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.*, **48**, 422-427.
- Hornitzky, M.A.Z., Clark, S.** 1991. Culture of Bacillus larvae from bulk honey samples for the detection of American foulbrood. *J. Apic. Res.*, **30**, 13-16.
- ICMSF**, 1983. Metodos recomendados para el analisis microbiologico en alimentos. Microorganismos de los Alimentos I. Tecnicas de Analisis Microbiologicos, 2. ed., Acribia, Zaragoza, Espana, pp. 105- 280.
- IHC**, 2002. Harmonised methods of the international honey commission. 1-62.
- Iurlina, O., Fritz, R.** 2005. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology*, **105**, 297-304.
- İpek, C.**, 2012. Türkiye'deki bal numunelerinde bulunan hidroksimetilfurfural miktarı, stabilitesi ve hidroksimetilfurfural miktar tayini analitik metod validasyonu, (Yüksek Lisans Tezi), Marmara Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Jo, C., Kim, J.K., Kang, H.J., Lee, E.Y. and Byun, M.W.** 2005. Irradiation effects on the decontamination of microorganisms in honey. International Symposium "New Frontier of Irradiated food and Non-Food Products", 22-23 September, Bangkok, Thailand.
- Kahraman, T., Buyukunal, S.K., Vural, A., Altunatmaz, S.S.** 2010. Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. *Food Chemistry*, **123**, 41-44.
- Kapucu, H.K.** 2007. Bal örneklerinde carbosulfan kalıntısının ve bozunma ürünlerinin tayini için yöntem geliştirilmesi, (Doktora Tezi), Marmara Üniv. Fen Bil. Enst., İstanbul, Türkiye.
- Karabagias, I.K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., Kontominas, M.G.** 2014. Characterization and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry*, **146**, 548-557.
- Karadal, F. ve Yıldırım, Y.** 2012. Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, **9**, 197-209.

- Kayacier, A. and Karaman, S.** 2008. Rheological and some physicochemical characteristics of selected Turkish honeys. *Journal of Texture Studies*, **39**, 17-27.
- Kelez, A.** 2008. Batı Karadeniz Bölgesi Ballarının Polen Analizi, (Yüksek Lisans Tezi), E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova-İzmir.
- Kokubo, Y., Jinbo, K., Kaneko, S. and Matsumoto, M.** 1984. Prevalence of spore-forming bacteria in commercial honey. *Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. Pub. Health.*, **35**, 192-196.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F.** 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, **100**, 526-534.
- Küplülü, Ö., Göncüoğlu, M., Özdemir, H., Koluman, A.** 2006. Incidence of *Clostridium botulinum* spores in honey in Turkey. *Food Control*, **17**, 222-224.
- Kwakman, P.H.S., de Boer, L., Ruyter-Spira, C.P., Creemers-Molenaar, T., Helsper, J.P.F.G., Vandenbroucke-Grauls, C.M.J.E., Zaat, S.A.J., te Valde, A.A.** 2011. Medical-grade honey enriched with antimicrobial peptides has enhanced activity against antibiotic-resistant pathogens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **30**, 251-257.
- Lage, L.G.A., Coelho, L.L., Resende, H.C., Tavares, M.G., Campos, L.A.O. and Fernandes-Salomao, T.M.** 2012. Honey physicochemical properties of three species of the brazilian Melipona. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, **84**, 605-608.
- Lauro, F.M., Favaretto, M., Covolo, L., Rassu, M., Bertoloni, G.** 2003. Rapid detection of *Paenibacillus larvae* from honey and hive samples with a novel nested PCR protocol. *International Journal of Food Microbiology*, **81**, 195-201.
- Lawless, H.T., Horne, J. and Giasi, P.** 1996. Astringency of organic acids in related pH. *Chemical senses*, **21**, 397-403.
- Lee, B.H., Simard, R.E.** 1984. Evaluation of Methods for Detecting the Production of H₂S, Volatile Sulfides, and Greening by Lactobacilli. *Journal of Food Science*, **49**, 981-983.
- Lee, H., Churey, J.J., Worobo, R.W.** 2008. Short communication: Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey. *International Journal of Food Microbiology*, **126**, 240-244.
- Louveaux, J., Maurizio, A. and Vorwohl, G.** 1978. International Commission for bee botany of IUBS: Methods of melissopalynology. *Bee world*, **59**, 139-157.

- Malika, N., Mohamed, F. and Chakib, E.A.** 2004. Antimicrobial activities of natural honey from aromatic and medicinal plants on antibio-resistant strains of bacteria. *International Journal of Agriculture and Biology*, **6**, 289-293.
- Malika, N., Mohamed, F. and Chakib, E.A.** 2005. Microbiological and Physicochemical properties of Moroccan honey. *International Journal of Agriculture and Biology*, **7**, 773-776.
- Mandal, S., DebMandal, M., Pal, N.K., Saha, K.** 2010. Antibacterial activity of honey against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella enterica* serovar Typhi. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **2010**, 961-964.
- Manyi-Loh, C.E., Clarke, A.M., Munzhelele, T., Green, E., Mkwetshana, N.F., Ndip, R.N.** 2010. Selected south african honeys and their extracts possess *in vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity. *Archives of Medical Research*, **41**, 324-331.
- Maurizio, A.** 1951. Pollen Analysis of honey. *Bee World*, **32**, 1-5.
- Mendes, E., Brojo, P.E., Ferreira, I.M.P.L.V.O. and Ferreira, M.A.** 1998. Quality evaluation of Portuguese honey. *Carbohydrate Polymers*, **37**, 219–223.
- Meda, A., Lamien, C.E., Millogo, J., Romito, M., Nacoulma, O.G.** 2005. Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. *ACTA VET.*, **74**, 147-152.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G.** 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honeys, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, **91**, 571–577.
- Mısır, M.** 2011. Arıt bölgesi (Bartın) ballarında polen analizi, (Yüksek Lisans Tezi), Bartın Üniversitesi Fen Bil. Enst., Bartın, Türkiye.
- Midura, T.F., Snowden, R., Wood, R.M., Arnon, S.S.** 1979. Isolation of *Clostridium botulinum* from honey. *Journal of Clinical Microbiology*, **9**, 282-283.
- Migdal, W., Owczarczyk, H.B., Kedzia, B., Holderna-Kedzia, E., Madajczyk, D.** 2000. Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, **57**, 285-288.
- Monetto, A.M., Francavilla, A., Rondini, A., Manca, L., Siravegna, M., Fernandez, R.** 1999. A study of botulinum spores in honey. *Anaerobe*, **5**, 185–186.
- Mohapatra, D.P., Thakur, V., Brar, S.K.** 2011. Antibacterial efficacy of raw and processed honey. *Biotechnology Research International*, **Vol.2011**, 6 pages.

- Mulu, A., Tessema, B., Derbie, F.**, 2004. *In vitro* assessment of the antimicrobial potential of honey on common human pathogens. *Ethiop. J. Health Dev*, **18**, 107-111.
- Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I., Worobo, R.W.** 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *International Journal of Food Microbiology*, **97**, 1-8.
- Nasir, N.M., Halim, A.S., Singh, K.B., Dorai, A.A. and Haneef, M.M.** 2010. Antibacterial properties of tualang honey and its effect in burn wound management: a comparative study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **10**, 31-38.
- Nevas, M., Lindström, M., Hörman, A., Keto-Timonen, R. and Korkeala, H.** 2006. Contamination routes of *Clostridium botulinum* in the honey production environment. *Environmental Microbiology*, **8**, 1085-1094.
- Nordstrom, S., Fries, I.** 1995. A comparison of media and cultural conditions for identification of *Bacillus* larvae in honey. *J. Apic. Res.*, **34**, 97–103.
- Olaitan, P.B., Adeleke, O.E., Iyabo, O.O.** 2007. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, **7**, 159-165.
- Özakın, C., Çakmak, İ., Aydın, L., Wells, H.** 2007. Bacterial analysis of marketed and raw honey in Turkey. *Bee Science*, **Şubat**, 30-34.
- Özcan, M., Arslan, D., Ceylan, D.A.** 2006. Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chemistry*, **99**, 24-29.
- Özkök, A.**, 2009. Muğla bölgesinde üretilen çam balı ve propolisin mikroskopik, organoleptik ve kimyasal analizi, (Doktora Tezi), Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Özmen, N. ve Alkın, E.** 2006. Balın antimikrobiyal özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **Kasım 2006**, 155-160.
- Pascual Anderson, M.R., Calderon Garcia, V.** 2000. Investigacion de Shigella (Cap. 7): pp. 63–71, Investigacion recuento de Clostridium sulfito-reductores (Cap. 8): pp. 73–75. In: Microbiologia Alimentaria. Metodologia analytica para alimentos y bebidas. 2da Edicion. Madrid, Espana: Ed. Diaz de Santos, S.A.
- Piana, M.L., Poda, G., Cesaroni, D., Cuetti, L., Bucci, M.A. and Gotti, P.** 1991. Research on microbial characteristics of honey samples of Udine province. *Riv. Sot. Ital. Sci. Aliment.*, **20**, 293-301.
- Priest, F.G., Goodfellow, M., Todd, C.** 1988. A numerical classification of the genus *Bacillus*. *J. Gen. Microbiol.*, **134**, 1847– 1882.

- Rall, V.L.M., Bombo, A.J., Lopes, T.F., Carvalho, L.R., Silva, M.G.** 2003. Honey consumption in the state of Sao Paulo: a risk to human health?. *Anaerobe*, **9**, 299-303.
- Ribeiro, R.O.R., Marsico, E.T., Carneiro, C.S., Monteiro, M.L.G., Junior, C.A.C., Mano, S., Jesus, E.F.O.** 2014. Classification of Brazilian honeys by physical and chemical analytical methods and low field nuclear magnetic resonance (LF¹H NMR). *Food Science and Technology*, **55**, 90-95.
- Rodriguez, B.A., Mendoza, S., Iturriga, M.H. and Castano-Tostado, E.** 2012. Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys. *Journal of Food Science*, **71**, 121-127.
- Rozanska, H.** 2011. Microbiological quality of Polish honey. *Bull Vet Inst Pulawy*, **55**, 443-445.
- Rozanska, H. and Osek, J.** 2012. Effects of storage on microbiological quality of honey. *Bull Vet Inst Pulawy*, **56**, 161-163.
- Saxena, S., Gautam, S. and Sharma, A.** 2010. Microbial decontamination of honey of Indian origin using gamma radiation and its biochemical and organoleptic properties. *Food Microbiology and Safety*, **75**, M19-M27.
- Sereia, M.J., Toledo, V.A.A., Marchini, L.C., Alves, E.M., Faquinello, P., Toledo, T.C.S.O.A.** 2010. Microorganisms in organic and non organic honey samples of Africanized honeybees. *Journal of Apicultural Science*, **54**, 49-54.
- Sereia, M.J., Alves, E.M., Toledo, V.A.A., Marchini, L.C., Faquinello, P., Sekine, E.S., Wielewski, P.** 2011. Microbial flora in organic honey samples of Africanized honeybees from Parana River islands. *Clenc. Tecnol. Aliment.*, **31**, 462-466.
- Shakoori, F.R., Ali, N.M., Mughal, M.S. and Shakoori, A.R.** 2003. Microbiological analysis of honey of *Apis mellifera*. *Proc. Pakistan Congr. Zool.*, **23**, 237-242.
- Shimanuki, H. and Knox, D.A.** 1991. Diagnosis of Honey Bee Diseases. Agriculture Handbook No. AH-690, sayfa 53, U.S.
- Silici, S.** 2004. Türkiye'nin farklı bölgelerine ait bal örneklerinin kimyasal ve palinolojik özellikleri. *Mellifera*, **4-7**, 12-18.
- Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L.** 2010. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*, **121**, 238-243.
- Silva, L.R., Videira, R., Monteiro, A.P., Valentao, P., Andrade, P.B.** 2009. Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, **93**, 73-77.

- Sinacori, M., Francesca, N., Alfonzo, A., Cruciata, M., Sannino, C., Settanni, L. and Moschetti, G.** 2014: Cultivable microorganisms associated with honeys of different geographical and botanical origin. *Food Microbiology*, **38**, 284-294.
- Singh, N. and Bath, P.K.** 1997. Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, **58**, 129–133.
- Snowdon, J.A. and Cliver, D.O.** 1996. Review article: Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, **31**, 1-26.
- Soria, A.C., Gonzalez, M., Lorenzo, C., Martinez-Castro, I., Sanz, J.** 2004. Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. *Food Chemistry*, **85**, 121-130.
- Sönmez, B.** 2004. Balın insan sağlığındaki yeri ve önemi. *Uludag Bee Journal*, 127-130.
- Sunay, A. E.** 2006. Balda orijin tespiti, (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bil. Enst., İstanbul, Türkiye.
- Şahinler, N., Şahinler, S. ve Gül, A.** 2004. Biochemical Composition of Honeys Produced in Turkey. *J. of Apic. Res.*, **43**, 53-56.
- Temiz, A.** 2000, Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Üçüncü Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, s. 216–232.
- Terzi, E.** 2009. Bilecik ve çevresinde üretilen ballarda bulunan polenlerin araştırılması, (Yüksek Lisans Tezi), Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye.
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O.S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M., 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.
- Truchado, P., Lopez-Galvez, F., Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Allende, A.** 2009. Quorum sensing inhibitory and antimicrobial activities of honeys and the relationship with individual phenolics. *Food Chemistry*, **115**, 1337-1344.
- Türk Standardı, TS 3036**, 1. Baskı, Mart 2002.
- Tysset, C. and Durand, C.** 1968. Contribution to the study of the intestinal microbism of healthy foraging bees: inventory of the gram-negative bacterial populations, fourth report. *Bull. Apicole*, **2**, 107-118.

- Tysset, C., Durand, C., Taliergio, Y.P.** 1970. Contribution to the study of the microbial contamination and the hygiene of commercial honey. *Rev. Med. Vet.* **146**, 1471– 1492.
- Tysset, C. and Durand, C.** 1973. On the survival of some gram negative, non-sporulated bacteria in commercial honey. *Bull. Acad. Vet.*, **46**, 191-196.
- Tysset, C. and Durand, C.** 1976. Survival of enterobacteria in honey stored at 10°C. *Bull. Acdd. Vet.*, **49**, 417-422.
- Ünal, C., Küplülü, Ö.** 2006. Chemical quality of strained honey consumed in Ankara. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **53**, 1-4.
- Üren, A.** 1999. Üç boyutlu renk ölçme yöntemleri. *Gıda*, **24**, 193-200.
- Voidarou, C., Alexopoulos, A., Plessas, S., Karapanou, A., Mantzourani, I., Stavropoulou, E., Fotou, K., Tzora, A., Skoufos, I., Bezirtzoglou, E.** 2011. Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Anaerobe*, DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.03.012.
- Yıldız, O., Şahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö., Kolaylı, S.** 2010. Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. *Akademik Gıda*, **9**, 44-51.
- Yılmaz, H., and Yavuz, O.** 1999. Content of some trace metals in honey from south-eastern Anatolia. *Food Chemistry*, **65**, 475–476.
- White, J.W., Jr., Subers, M.H. and Schepartz, A.T.** 1962. The identification of inhibine the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochim. Biophys. Acta.*, **73**, 57-79.
- White, J.** 1975. Composition of honey: a comprehensive survey. *Heinemann*, London.

EKLER

EK A.1 Araştırmada kullanılan besi ortamları ve kimyasal maddeler

Nutrient Broth (NB) (Merck)

- Pepton 5,0 g
- Maya özütü 2,0 g
- Et özütü 1,0 g
- Sodyum klorür 5,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiştir. Besiyerinin pH değeri $7,0\pm 0,2$ 'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. NB besiyerine 17 g/L agar (Merck) ilave edilerek Nutrient Agar (NA) besiyeri hazırlanmıştır. NA besiyeri *Bacillus* cinsi bakterilerin stoklanması için kullanılmıştır.

Laktoz Broth (LB) (BD)

- Pankreatik jelatin 10,0 g
- Et özütü 6,0 g
- Laktoz 10,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiştir. Besiyerinin pH değeri $7,2\pm 0,2$ 'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Selenit sistein broth (SCB) (Acumedia)

- Enzimatik kazein özütü 2,5 g
- Enzimatik hayvan dokusu özütü 2,5 g
- Laktoz 4,0 g
- Sodyum fosfat 10,0 g
- Sodyum selenit 4,0 g
- L-sistein 0,01 g

Tetrathionate broth (TTB) (Acumedia)

• Enzimatik kazein özütü	2,5 g
• Enzimatik hayvan dokusu özütü	2,5 g
• Safra tuzları	1,0 g
• Kalsiyum karbonat	10,0 g
• Sodyum tiyosülfat	30,0 g
• Distile su	1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiştir. Besiyerinin pH değeri 8,4±0,2'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri sterilize edilmiştir.

Hektoen enterik agar (HEA) (Acumedia)

• Enzimatik hayvan dokusu özütü	16,5 g
• Maya özütü	3,0 g
• Safra tuzu karışımı	4,5 g
• Laktoz	12 g
• Sükroz	12 g
• Salisin	2 g
• Sodyum klorid	5 g
• Sodyum tiyosülfat	5 g
• Ferrik amonyum sitrat	1,5 g
• Brom timol mavisi	0,065 g
• Asit fuksin	0,1 g
• Agar	13,5 g
• Distile su	1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiştir. Besiyerinin pH değeri 8,4±0,2'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Bismuth Sülfat Agar (BSA) (Acumedia)

• Enzimatik kazein özütü	5,0 g
• Enzimatik hayvan dokusu özütü	5,0 g
• Et özütü	5,0 g
• Dekstroz	5,0 g
• Disodyum fosfat	4,0 g
• Demir sülfat	0,3 g

- Bismuth sülfid indikatörü 8,0 g
- Brilliant yeşili 0,025 g
- Agar 20 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisinde ilave edilmiştir. Besiyerinin pH değeri $7,5\pm 0,2$ 'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Gram-negatif bakteri broth (GNB) (Acumedia)

- Enzimatik kazein özütü 10,0 g
- Enzimatik hayvan dokusu özütü 10,0 g
- Dekstroz 1,0 g
- Mannitol 2,0 g
- Sodyum sitrat 5,0 g
- Sodyum deoksikolat 0,5 g
- Dipotasyum fosfat 4,0 g
- Monopotasyum fosfat 1,5 g
- Sodyum klorid 5,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisinde ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri $7,5\pm 0,2$ 'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

J-Agar (JA)

- Tripton 5 g
- Maya özütü 15 g
- Dipotasyum hidrojen fosfat 3 g
- Glikoz 2 g
- Agar 20 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisinde ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri $7,0\pm 0,2$ 'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Plate Count Agar (PCA) (Merck)

- Kazein peptonu 5,0 g
- Maya özütü 2,5 g
- D (+) Glikoz 1,0 g

- Agar 14,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri 7,0±0,2'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Violet red bile agar (VRB) (Merck)

- Et peptonu 7,0g
- Maya özütü 3,0 g
- Sodyum klorid 5,0 g
- Laktoz 10,0 g
- Nötral kırmızı 0,03 g
- Safra tuzları karışımı 1,5 g
- Kristal violet 0,002 g
- Agar 13,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri 7,4±0,2'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri sıcak su banyosunda veya manyetik ısıtıcıda kaynama başladıktan en fazla 2 dakika daha kaynatılarak steril edilmiştir.

Sülfat polimiksin sülfadiazin agar (SPS) (Difco)

- Tripton 15,0 g
- Maya özütü 10,0 g
- Ferrik sitrat 0,5 g
- Sodyum sülfat 0,5 g
- Sodyum tiyoglikolat 0,1 g
- Polisorbat 80 0,05 g
- Sülfadiazin 0,12 g
- Polimiksin B sülfat 0,01 g
- Agar 15,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri 7,0±0,2'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

MYPGP agar + Nalidiksik ve Pipemidik asit

- Müller-Hinton broth 10g
- Maya özütü 15 g
- Dipotasyum hidrojen fosfat 3 g

- Sodyum piruvat 1g
- Glikoz 2 g
- Agar 20 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiştir. Besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 6 µg/ml nalidiksik asit ve 10 µg/ml pipemidik asit filtreden geçirilerek ilave edilmiştir. Besiyerinin pH değeri 7,0±0,2' ye aseptik koşullarda 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır.

Nitrat buyyon

- Et özütü 3,0 g
- Pepton 5,0 g
- Potasyum nitrat 1,0 g

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri 7,0±0,2'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Triple sugar iron agar (TSI) (Acumedia)

- Enzimatik kazein özütü 5,0 g
- Enzimatik hayvan dokusu özütü 5,0 g
- Maya ile zenginleştirilmiş pepton 10,0 g
- Dekstroz 1,0 g
- Laktoz 10,0 g
- Sükroz 10,0 g
- Ferrik amonyum sitrat 0,2 g
- Sodyum klorid 5,0 g
- Sodyum tiyosülfat 0,3 g
- Fenol kırmızısı 0,025 g
- Agar 13,5 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiş ve besiyeri kaynatılarak pH değeri 7,3±0,2'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Daha sonra besiyeri deney tüplerine paylaştırılmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

MR-VP broth (Acumedia)

- Enzimatik kazein özütü 3,5 g
- Enzimatik hayvan dokusu özütü 3,5 g

- Dekstroz 5,0 g
- Potasyum fosfat 5,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri $6,9 \pm 0,2$ 'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Tripton water broth (LAB M)

- Tripton 10,0 g
- Sodyum klorid 5,0 g
- Distile su 1000 ml

Maddeler 1 litre distile su içerisine ilave edilmiş ve besiyerinin pH değeri $7,0 \pm 0,2$ 'ye 6 N HCl ve 6 N NaOH ile ayarlanmıştır. Besiyeri $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Toplam protein analizinde kullanılan çözeltiler

- Reaktif A:** - Sodyum potasyum tartarat.4 H₂O 2 g
- Na₂CO₃ 100g
 - NaOH (1N) 500 ml
 - H₂O 1000 ml

- Reaktif B:** - Sodyum potasyum tartarat.4 H₂O 2 g
- CuSO₄.5 H₂O 1 g
 - H₂O 90 ml
 - NaOH (1N) 10 ml

- Reaktif C:** - Folin-Ciocalteu reaktifi 1 hacim
- H₂O 15 hacim

İnvert şeker analizinde kullanılan çözeltiler

- Fehling A:** - CuSO₄.5 H₂O 69,28 g
- Distile su 1000 ml

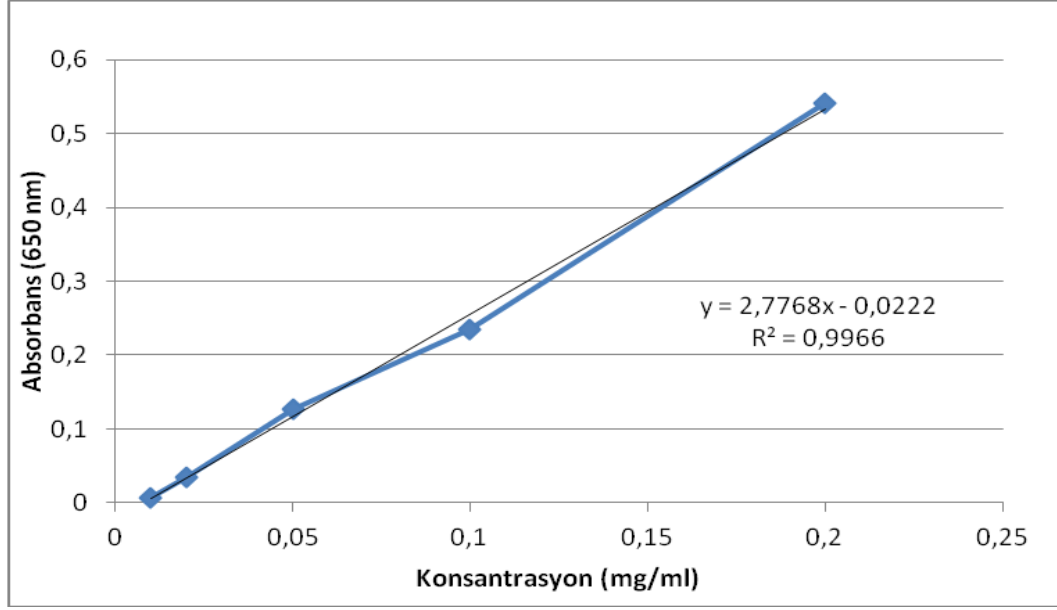
En fazla 24 saat süreyle kullanılabilen bu çözeltiyi hazırlamak için madde saf su içerisine eklenerek çözülmüştür.

- Fehling B:** - Sodyum potasyum tartarat.4 H₂O 346 g
- NaOH 100 g
 - Distile su 1000 ml

Maddeler 1 lt distile su içine konulup iyice çözülmüş ve 4 gün bekletilmiştir. Süre sonunda orta gözenekli süzgeç kağıdından geçirilerek renkli şişe içerisinde buzdolabında saklanmıştır.

<u>Carez 1:</u> - Potasyum ferrosiyandır trihidrat	105,6 g
- Distile su	1000 ml
<u>Carez 2:</u> - Çinko asetat dihidrat	219,4 g
- Distile su	1000 ml

EK A.2



Şekil 4: Toplam protein tayini kalibrasyon grafiği

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: NAİME NUR BOZBEYOĞLU

Doğum Tarihi: 5 Mayıs 1988

Lisans: Ege Üniversitesi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ağırlıklı Biyoloji Bölümü (2005-2010)

Projelerde Yaptığı Görevler:

Farklı Kaynaklardan Alınan Balların Bakteriyolojik, Fizikokimyasal ve Melissopalınolojik Analizleri, PAÜBAP, Proje No: 2012FBE025, Yardımcı Araştırmacı (Yüksek Lisans Tez Projesi), 2012-Devam Ediyor.

Denizli Tekstil Bölgesinden İzole Edilen Bacillus ve Paenibacillus Cinsi Bakteriler ile Reaktif Boyar Maddelerin Giderimi, PAÜBAP, Proje No: 2012KRM015, Yardımcı Araştırmacı, 2012-Devam Ediyor.

Bazı Propolis Örneklerinin Antibiofilm İndirgeme Özelliklerinin Araştırılması, PAÜBAP, Proje No: 2013BSP025, Yardımcı Araştırmacı, 2013-Devam Ediyor.

ESERLER

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

- A1.** Mercan Dogan, N., **Bozbeyoglu, N.**, Arar, D., Ardag Akdogan, H., Canpolat Topuz, M. and Beyatlı, Y. 2013. Investigation of reactive dye turquoise blue HFG removal with *Lysinibacillus fusiformis* B26 and detection of metabolites. **Fresenius Environmental Bulletin**. 22 (9), 2567-2575.
- A2.** Arar, D., Doganlı, G., Sensoy, T., **Bozbeyoglu, N.**, Dogan, N. 2014. Investigation of decolorization of reactive violet 5R and remazol brilliant orange 3R by *Bacillus* sp. DT16. **Journal of Applied Biological Sciences**. 8 (1), 68-72.

- A3. Dogan, N., Doganlı, G., Ulger, G., Habesoglu, D., Guzel, S., Yasar, Y., Arar, D., Sensoy, T., **Bozbeyoglu, N.** 2014. Antibiofilm effect of two propolis samples from Turkey. **Journal of Applied Biological Sciences.** 8 (2), 27-31.

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler :

- B1. Doğan N.M., Doğan G., Evgen E., **Bozbeyoğlu N.**, Acar G., Microbial Seconder Metabolites. **ISSMET-2011**, sayfa 98, 12-15 Eylül, Denizli.
- B2. Doğan N.M., **Bozbeyoglu N.**, Acar Doğanlı G., Arar D., Sensoy T., Production and partial characterization of bacteriocin-like peptides by *Bacillus* sp. R1. **ICOEST-2013**, sayfa 545-546, 18-21 Haziran, Ürgüp/Nevşehir.
- B3. **Bozbeyoglu N.**, Mercan Dogan N., A study on bacteriologic analysis of some natural honeys from Turkey. **ICOEST-2013**, sayfa 571-572, 18-21 Haziran, Ürgüp/Nevşehir.
- B4. **Bozbeyoglu N.**, Mercan Dogan N., Arslan Kaya S., Güvensen A., A study on bacteriologic, physicochemical and melissopllinologic analysis of commercial honeys from Turkey. **3rd Internatinal Molecular Biology And Biotechnology Congress-2014**, sayfa 195, 2-6 Haziran, Saraybosna/Bosna Hersek.
- B5. Dogan, N., Doganlı, G., Ülger, G., Habeşoğlu, D., Güzel, S., Yaşar, Y., Arar, D., Şensoy, T., **Bozbeyoglu, N.** Antibiofilm Effect of Two Propolis Samples from Turkey. **3rd International Molecular Biology and Biotechnology Congress-2014**, sayfa 158, 02-06 Haziran, Saraybosna/Bosna Hersek.
- B6. Arar, D., Doganlı, G., Sensoy, T., **Bozbeyoglu, N.**, Dogan, N. Investigation of Decolorization of Reactive Violet 5R and Remazol Brilliant Orange 3R by *Bacillus* sp. DT16. **3rd International Molecular Biology and Biotechnology Congress-2014**, sayfa 174, 02-06 Haziran, Saraybosna/Bosna Hersek.

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

- D1. **Bozbeyoğlu N.**, Arar D., Doğan N., Akdoğan H., Canpolat M., Şensoy T., Termofilik *Lysisibacillus fusiformis* B26 ile Boyar Madde Turkuaz Mavisi HFG'nin Dekolorizasyonu ve Biyodegradasyonu. **21. Ulusal Biyoloji Kongresi.** Bildiri Kitabı, sayfa 1187, 3-7 Eylül 2012, Ege Üniversitesi, İzmir.
- D2. Arar D., **Bozbeyoğlu N.**, Doğan N., Akdoğan H., Canpolat M., Doğanlı G., Termotolerant *Bacillus licheniformis* B22 ile Turkuaz Mavisi HFG Reaktif Boyar Maddenin Dekolorizasyonu ve Biyodegradasyonu. **21. Ulusal Biyoloji Kongresi.** Bildiri Kitabı, sayfa 1172-1173, 3-7 Eylül 2012, Ege Üniversitesi, İzmir.
- D3. Arar D., Şensoy T., Erdem C., Demir O.H., Mengeş S., Mercan Doğan N., Akdoğan H., **Bozbeyoğlu N.**, Acar Doğanlı G., Denizli tekstil atık suyundan izole edilen *Bacillus* sp. DT13 ile boyar madde reaktif red 123'ün biyotransformasyonu. **13. Ulusal Spektroskopi Kongresi**, sayfa 132, 15-18 Mayıs 2013, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur.

- D4.** Şensoy T., Arar D., Mengeş S., Demir O.H., Erdem C., Bozbeyoğlu N., Yıldız M., Mercan Doğan N., Ardağ Akdoğan H., Canpolat M., Tekstil (Denizli) atık suyundan izole edilen *Bacillus* sp. DT12 ile reaktif red 123'ün biyotransformasyonu üzerine bir alışma. **13. Ulusal Spektroskopi Kongresi**, sayfa 130, 15-18 Mayıs 2013, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur.
- D5.** Şensoy T., **Bozbeyoğlu N.N.**, Arar D., Acar Doğanlı G., Mercan Doğan N., Agar boncukları ile immobilize edilmiş *Lysinibacillus fusiformis* B26 bakterisi ile Turkuaz mavisi HFG'nin dekolorizasyonu. **22. Ulusal Biyoloji Kongresi**, sayfa 1572, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
- D6.** Arar D., Şensoy T., Acar Doğanlı G., **Bozbeyoğlu N.N.**, Mercan Doğan N. Reaktif violet-5R'nin *Bacillus* sp. DT9 kullanılarak renk giderimi. **22. Ulusal Biyoloji Kongresi**, sayfa 1553, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.