



T.C

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ**

**TOTAL AMİNOASİT VE HİDROKSİ METİL
FURFURAL ÖLÇÜMLERİYLE BALIN TAZELİĞİNİN
VE DOĞALLIĞİNİN TESPİTİ**

Ali İmran DAĞTAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EKİM/2019



T.C

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ**

**TOTAL AMİNOASİT VE HİDROKSİ METİL
FURFURAL ÖLÇÜMLERİYLE BALIN TAZELİĞİNİN
VE DOĞALLIĞİNİN TESPİTİ**

Ali İmran DAĞTAN

Doç. Dr. Fatih ÖZÇELİK

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EKİM/2019

BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ali İmran DAŞTAN

22.11.2019



ÖZET

TOTAL AMİNOASİT VE HİDROKSİ METİL FURFURAL ÖLÇÜMLERİYLE BALIN TAZELİĞİNİN VE DOĞALLIĞININ TESPİTİ

Amaç: Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen 10 farklı bal eskitmeye maruz bırakılarak tazeliği, doğallığı ve kalitesini değerlendirmeyi amaçladık. Amaca yönelik olarak değerlendirmede amino asit profili, 5-hidroksi metil furfural (HMF), invertaz enzim aktivitesi ve şeker profilinin analizlerini hedefledik.

Gereç ve Yöntem: Araştırma, Kasım 2018-Temmuz 2019 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yapıldı. Çalışmada 10 farklı bölgeden gelen bal kullanıldı. Eskitme işlemine maruz kalan tüm balaların 0., 1., 4. ve 7. aylardaki amino asit profili ve konsantrasyonu GC-MS ile şeker (glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz ve rafinoz) ve HMF konsantrasyonları HPLC ile ve invertaz enzim aktivitesi kolorometrik yöntemle spektrofotometre cihazı ile ölçüldü.

Bulgular: Eskitme işlemine maruz kalan ballarda kalite göstergesi olarak kullanılan prolin ve fenilalanin konsantrasyonlarının zamanla azaldığı gözlemlendi ($P<0.05$). Aromatik amino asitlerden tirozin ve esansiyel amino asitlerden de lösin, treonin ve metiyoninin ortalama konsantrasyonlarının zamanla azaldığı saptandı (sırasıyla $P=0.0009$, $P<0.0001$, $P=0.0025$ ve $P=0.0078$). Ayrıca sarkozin azalırken glisin zamanla arttığı tespit edildi ($P<0,05$). Aynı ballarda HMF konsantrasyonlarının saklama süresiyle orantılı arttığı, invertaz aktivitesinin ise azaldığı saptandı ($P<0.0001$). HMF konsantrasyonlarının valin, asparagin ve fruktoz/glukoz oranı ile orta derecede negatif korelasyon gösterdiği saptandı (sırasıyla $Sp\ r= -0.4220$ $P=0.0067$, Pearson $r= -0.4206$ $P=0.0069$ ve $Sp\ r= -0,5150$ $P<0,0001$). Aynı şekilde invertaz aktivitesinin tirozin, alanin, serin ve aspartik asitle zayıf derecede korelasyon gösterirken (sırasıyla $Sp\ r= 0.4408$ $P= 0.0044$, $Sp\ r=0.3634$ $P=0.0212$, $Sp\ r=0.3933$ $P=0.0120$, $Sp\ r= 0.3245$ $P=0.0411$ ve $Sp\ r=0.3904$ $P=0.0127$), glutamik asit ile orta derecede pozitif bir korelasyon gösterdiği saptandı (sırasıyla $Sp\ r= 0.5048$ $P= 0.0009$).

Sonuç: HMF düşüklüğü, prolin, fenilalanin, sarkozin ve invertaz aktivite yüksekliği kalite unsurları olan tazelik ve doğallığın bir göstergesi olarak birlikte kullanılmalıdır. Ayrıca eskitmeye bırakılan ballarda zamanla fruktoz ve aminoasit gibi

besleyici bileşenlerin azalması, HMF gibi toksik bileşenlerin artması; balların uzun süre saklanmadan tüketilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Amino asit, Bal, Fruktoz, HMF, İnvvertaz, Kalite



ABSTRACT

DETERMINATION OF HONEY FRESHNESS AND NATURALNESS BY TOTAL AMINO ACID AND HYDROXY METHYL FURFURAL ANALYSIS

Aim: We procured to 10 different honey from different regions of Turkey. We aimed to evaluate freshness, naturalness and quality of this honeys by being exposed to aging. We aimed to analyze the amino acid profile, 5-hydroxy methyl furfural (HMF), invertase enzyme activity and sugar profile for purpose oriented.

Material and Method: The research was conducted between November 2018 and July 2019 in Sultan Abdulhamid Han Training and Research Hospital at the University of Health Sciences. 10 different honeys from different regions of Turkey was used in the research. All the honeys exposed to aging process at months 0, 1, 4, and 7; the amino acid profile and concentration were measured by GC-MS. Sugar (glucose, fructose, maltose, sucrose and raffinose) and HMF concentrations were measured by HPLC. Invertase enzyme activity were measured with colorimetric method by spectrophotometer.

Results: It was detected that proline and phenylalanine concentrations used as a quality indicator in honeys exposed to aging process decreased with time ($P < 0.05$). The average concentrations of tyrosine from aromatic amino acids, and leucine, threonine and methionine from essential amino acids were found to decrease with time ($P = 0.0009$, $P < 0.0001$, $P = 0.0025$ and $P = 0.0078$, respectively). In addition, it was observed while sarcosine decreased, glycine increased with time ($P < 0.05$). It was found that HMF concentrations increased proportionally to storage time and invertase activity decreased in the same honeys ($P < 0.0001$). HMF concentrations were found to have a moderately negative correlation with valine, asparagine and fructose / glucose ratio (Sp $r = -0.4220$ $P = 0.0067$, Pearson $r = -0.4206$ $P = 0.0069$ and Sp $r = -0.5150$ $P < 0.0001$, respectively). In addition, tyrosine, alanine, serine and aspartic acid were weakly correlated with invertase activity (Sp $r = 0.4408$ $P = 0.0044$, Sp $r = 0.3634$ $P = 0.0212$, Sp $r = 0.3933$ $P = 0.0120$, Sp $r = 0.3245$ $P = 0.0411$ and Sp $r = 0.3904$ $P = 0.0127$) and moderately positive correlation with glutamic acid (Sp $r = 0.5048$ $P = 0.0009$, respectively).

Conclusion: Low levels of HMF and high levels of proline, phenylalanine, sarcosine and invertase activity should be used together as an indicator of freshness and naturalness which are quality properties for honeys. In addition, in honeys exposed to aging process decreasing in the nutrients such as fructose and amino acid and increasing in the toxic components such as HMF, this shows that honeys should be consumed without storage for a long time.

Key Words: Amino Acids, Fructose, HMF, Honey, Invertase, Quality



TEŞEKKÜR

Tıbbi biyokimya yüksek lisans öğrenciliğim süresince bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, Uluslararası Tıp Fakültesi Dekanı ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fatih Gültekin hocama, tez danışmanım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Fatih Özçelik'e, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Macit Koldaş, Prof. Dr. Ebru Kale, Doç. Dr. Alev Kural, Doktor Öğretim Üyesi Dr. Halime Hanım Pençe, Dr. Memet Zahit Çıracı, birlikte öğrenim yapma imkânı bulduğum doktora ve yüksek lisans öğrencilerine, benden yardımlarını esirgemeyen Sultan Abdülhamid Han EAH Tıbbi Biyokimya bölümünde görevli tüm hekim, teknisyen ve hemşirelere teşekkür ederim.

Desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve eğitimin boyunca her türlü fedakârlığı gösteren babam Selahaddin Daştan, annem Nezahat Daştan, ablam Şeyma Nur Daştan ve kardeşim Sevdener Daştan'a minnettarım.

Ali İmran DAŞTAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. BALIN TARİHÇESİ VE GENEL KULLANIMI.....	3
2.2. BALIN BESİNSEL KOMPOZİSYONU	5
2.2.1. Balın Karbonhidrat İçeriği.....	5
2.2.2. Amino Asit, Protein ve Enzim İçeriği	6
2.2.3. Vitamin, Mineral ve Eser Element İçeriği.....	6
2.2.4. Balın Polifenol, Aroma Verici Bileşik ve Tatlandırıcı Bileşik İçeriği	7
2.2.5. Baldaki Toksik Bileşikler ve Kirlenici Maddeler (Kontaminantlar)	7
2.2.6. Baldaki Glisemik İndeks, Glukoz ve Fruktoz	8
2.3. BALDAKİ AMİNO ASİTLERİN ÖNEMİ.....	9
2.4. 5-HİDROKSİ METİL FURFURAL (HMF) VE MAİLLARD REAKSİYONU	10
2.4.1. HMF Moleküler Yapısı ve Oluşum Mekanizması	12
2.4.2. Balda HMF Oluşumunu Etkileyen Faktörler	13
2.5. BALLARDAKİ İNVERTAZ (SUKRAZ) AKTİVİTESİ	15
2.6. BALIN BEBEK BESLENMESİNDEKİ ÖNEMİ	16
2.7. BALIN BÜYÜME VE GELİŞMEDEKİ ÖNEMİ.....	16
2.8. BALIN NUTRASÖTİK ÖZELLİKLERİ	17
2.9. BALIN ANTİOKSİDAN ÖZELLİĞİ	18
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21

3.1. ÇALIŞMANIN YAPILACAĞI YER VE ÇALIŞMA PLANI...	21
3.2. BALLARIN TEMİN EDİLMESİ VE SAKLANMASI	21
3.3. AMİNO ASİT PROFİLİ ANALİZİ	21
3.4. 5-HİDROKSİ METİL FURFURAL (HMF) ANALİZİ	23
3.5. İNVERTAZ (SUKRAZ) AKTİVİTESİ ANALİZİ	24
3.6. ŞEKER PROFİLİ ANALİZİ	26
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	69
5.1. HMF KONSANTRASYONU DEĞERLENDİRMESİ.....	69
5.2. ŞEKER PROFİLİ VE KONSANTRASYONU DEĞERLENDİRMESİ.....	72
5.3. AMİNO ASİT PROFİLİ VE KONSANTRASYONU DEĞERLENDİRMESİ	73
5.4. İNVERTAZ AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRMESİ	75
6. SONUÇ.....	77
7. KAYNAKLAR	79
EKLER	89
ÖZGEÇMİŞ VE İLETİŞİM BİLGİLERİ.....	93

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 3.1. İvertaz aktivitesi ölçüm prosedürü	25
Çizelge 4.1. Bal türlerine göre renk ve görünüm skalası	29
Çizelge 4.2. Bal türlerine göre ortalama prolin miktarları	30
Çizelge 4.3. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballardaki amino asit konsantrasyonlarının (nmol/ml) aylara göre değişimi.....	31
Çizelge 4.4. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballardaki 5-hidroksi metil furfural (HMF) konsantrasyonlarının (mg/L) aylara göre değişimi	54
Çizelge 4.5. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballarda invertaz aktivitesinin (IU/kg) aylara göre değişimi	55
Çizelge 4.6. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballardaki şeker konsantrasyonlarının (g/L) aylara göre değişimi ve bal türlerine göre FGO'ları	59
Çizelge 4.7. Bal türlerine göre ortalama şeker konsantrasyonları	60
Çizelge 4.8. Eskitme işlemine maruz bırakılan ballara ait tüm veriler kullanılarak esansiyel amino asitler, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasında yapılan korelasyon matris analizi	65
Çizelge 4.9. Eskitme işlemine maruz bırakılan ballara ait tüm veriler kullanılarak non-esansiyel amino asitler, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasında yapılan korelasyon matris analizi.....	66
Çizelge 4.10. Eskitme işlemine maruz bırakılan ballara ait tüm veriler kullanılarak modifiye amino asitler, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasında yapılan korelasyon matris analizi.....	67
Çizelge 4.11. Balların tüm verileri kullanılarak glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz, rafinoz, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon matris analizi	68
Çizelge 4.12. HMF konsantrasyonlarını tahmin için 5 bağımsız değişken modeli	68
Çizelge 4.13. HMF konsantrasyonlarını tahmin için 2 bağımsız değişkenli model	68

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. HMF kimyasal yapısı	12
Şekil 2.2. HMF oluşum mekanizması	13
Şekil 4.1. Farklı bal türlerine göre prolin konsantrasyonları	35
Şekil 4.2. Farklı bal türlerine göre fenilalanin konsantrasyonları	36
Şekil 4.3. Farklı bal türlerine göre tirozin konsantrasyonları	36
Şekil 4.4. Farklı bal türlerine göre triptofan konsantrasyonları	37
Şekil 4.5. Farklı bal türlerine göre histidin konsantrasyonları	38
Şekil 4.6. Farklı bal türlerine göre valin konsantrasyonları	38
Şekil 4.7. Farklı bal türlerine göre lösin konsantrasyonları	39
Şekil 4.8. Farklı bal türlerine göre izölösün konsantrasyonları	40
Şekil 4.9. Farklı bal türlerine göre metiyonin konsantrasyonları	40
Şekil 4.10. Farklı bal türlerine göre treonin konsantrasyonları	41
Şekil 4.11. Farklı bal türlerine göre lizin konsantrasyonları	41
Şekil 4.12. Farklı bal türlerine göre alanin konsantrasyonları	42
Şekil 4.13. Farklı bal türlerine göre glisin konsantrasyonları	43
Şekil 4.14. Farklı bal türlerine göre α -aminobutirik asit konsantrasyonları ..	44
Şekil 4.15. Farklı bal türlerine göre allo-izölösün konsantrasyonları	44
Şekil 4.16. Farklı bal türlerine göre α -aminoadipik asit konsantrasyonları ..	45
Şekil 4.17. Farklı bal türlerine göre asparagin konsantrasyonları	45
Şekil 4.18. Farklı bal türlerine göre aspartik asit konsantrasyonları	46
Şekil 4.19. Farklı bal türlerine göre β -aminoizobutirik asit konsantrasyonları	46
Şekil 4.20. Farklı bal türlerine göre glutamik asit konsantrasyonları	47
Şekil 4.21. Farklı bal türlerine göre hidroksiprolin konsantrasyonları	48
Şekil 4.22. Farklı bal türlerine göre sarkozin konsantrasyonları	48
Şekil 4.23. Farklı bal türlerine göre tiyoprolin konsantrasyonları	49
Şekil 4.24. Farklı bal türlerine göre serin konsantrasyonları	49
Şekil 4.25. Farklı bal türlerine göre glutamin konsantrasyonları	51
Şekil 4.26. Farklı bal türlerine göre hidroksilizin konsantrasyonları	51
Şekil 4.27. Farklı bal türlerine göre ornitin konsantrasyonları	52

Şekil 4.28. Farklı bal türlerine göre prolin-hidroksiprolin konsantrasyonları	52
Şekil 4.29. Farklı bal türlerine göre 5-hidroksimetil furfural (HMF) konsantrasyonları	53
Şekil 4.30. Farklı bal türlerine göre invertaz aktivitesi düzeyleri	53
Şekil 4.31. Farklı bal türlerine göre glukoz konsantrasyonları	56
Şekil 4.32. Farklı bal türlerine göre fruktoz konsantrasyonları	57
Şekil 4.33. Farklı bal türlerine göre maltoz konsantrasyonları	57
Şekil 4.34. Farklı bal türlerine göre sukroz konsantrasyonları	58
Şekil 4.35. Farklı bal türlerine göre rafinoz konsantrasyonları	58
Şekil 4.36. HMF konsantrasyonları ile glukoz, sukroz ve rafinoz konsantrasyonları arasındaki korelasyon grafiği	62
Şekil 4.37. Fruktoz/glukoz oranı ile HMF ve invertaz aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

- AOD:** Aylık ortalama değişim
- APA:** Amerikan pediatri akademisi
- AYB:** Ankara bölgesi yayla balı
- BAP:** Bilimsel araştırmalar ve projeler
- BÇB:** Bozdoğan bölgesi çam balı
- CAS:** Codex alimentarius standard
- CVD:** Kardiovasküler hastalıklar
- DMG:** N-dimetil glisinin
- EÇB:** Eskiköy bölgesi çiçek balı
- FGO:** Fruktoz/glukoz oranı
- GC-MS:** Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi
- GÇB:** Gürün bölgesi çiçek balı
- GI:** Glisemik indeks
- GİS:** Gastrointestinal sistem
- HMF:** 5-hidroksi metil furfural
- IHC:** International honey commission
- KÇB:** Konya bölgesi çiçek balı
- KYB:** Koyulhisar bölgesi yayla balı
- NÇB:** Niğde bölgesi çiçek balı
- NO:** Nitrik oksit
- p-NPG:** p-nitrofenil- α -D-glukopiranozit
- ROS:** Reaktif oksijen ürünleri
- Sp:** Spearman

SPE: Sorbent

SYB: Sivas bölgesi yayla balı

YYB: Yılanlıdağ bölgesi yayla balı

ZÇB: Zara bölgesi çiçek balı



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde önemli gıda maddelerinin başında gelen ve değerli bir enerji kaynağı olan çiçeklerden nektar olarak toplanan bal, doğal hayvansal bir üründür. Tatlı ve lezzetli viskoz sıvı olan bal sindirime uğramadan doğrudan kana karışması nedeniyle tüketilme koşulları insan sağlığı bakımından önem arz etmektedir. Yüksek besin değeri, sağlık üzerine önemli faydaları ve tatlandırıcı olarak kullanılabilmesi nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılması, balın kalitesini gösteren tazelik ve doğallığı konusunu gündeme getirmiştir. Bu konu, üreticinin temel sorumluluğu olmakla birlikte bilinçli tüketicilerde de merak uyandırmıştır. Bugün balların üretimi ve sunumu yönünde geliştirilen yerli ve yabancı standartlar bulunmaktadır. Ballara özgü bu ayırt edici standartlar, sağlıklı beslenmeye yönelik katkıları yanı sıra balın terapötik etkileriyle tedavi edici besinsel (nutrasötik) bir madde olarak kullanılmasını sağlamıştır (1-5). Üretilen balların bu özelliklere sahip olup olmadığı ve sağlık etkileri, laboratuvarlarda ölçülen bazı biyobelirteçlerin analizleriyle ortaya konabilmektedir. Ancak halen hangi analizlerin yapılması gerektiği, tamamlayıcı tıbbi katkısı ve yeni standartlara ihtiyaç konusunda tartışmalar devam etmektedir.

Balın kuru ağırlığının yaklaşık % 95'ini fruktoz ve glukoz oluşturmaktadır. Bitkisel kökenli çeşitlilikle değişmekle birlikte daha az miktarda 22-25 farklı disakkarit ve trisakkarit bulundurmaktadır. Ayrıca balın lakton, azotlu bileşikler, proteinler, antibiyotik özellik gösteren inhibitörler, enzimler, fenol antioksidanları, aroma verici bileşikler, amino ve organik asitler, glukonik asit, fenolik asitler, flavonoidler, mineraller, vitaminler, 5-hidroksi metil furfural (HMF) ve diğer birçok fitokimyasalları içeren kompleks bir biyokimyasal karışıma sahip olduğu belirtilmiştir (2, 6-10).

Balda bulunan temel enzimlerden diastaz (amilaz) nişasta veya glikojen gibi polisakkaritleri oligosakkarit, disakkarit veya monosakkaritlere, invertaz (sukraz, α -glukosidaz) ise sukrozun fruktoz ve glukoz dönüşümünü sağlar. Invertaz balların tazelik ve doğallığını yani kalitesini tespit etme standartlarında yer alan parametrelerin en önemlilerinden birisidir. Bir diğeri prolin ve fenilalanin amino asit konsantrasyonlarıdır (2). Balda amino asit konsantrasyonları açısından en yüksek prolin yer alırken daha sonra fenilalanin gelmektedir.

Bitkisel çeşitliliğe bağlı olarak ballarda farklı miktarda bulunan polifenoller (flavonoid, fenolik asit ve türevleri) (11-14); balın tat, görünüm ve fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir. Bu bileşiklerin antioksidan özelliklere sahip olduğu da bildirilmektedir. Ayrıca ballardaki aromanın, mevcut organik ve amino asitlerin miktarı ve türüne bağlı olduğu da bilinmektedir (2). Balların aroması, gıda endüstrisindeki uygulamalar ve tüketicinin seçimi için önemli bir kalite kriteridir. Günümüzde sanayi üretimi tatlandırıcılar yanısıra yüksek fruktoz içerikli ballar (akasya balı) da tatlandırıcı olarak önerilmektedir (2).

Diğer gıdalarda olduğu gibi balların kimyasal içerikleri doğal kaynaklı olarak ve çevre tarafından kirlenebilir. Bu toksik bileşik ve kirleticiler arasında HMF, ağır metaller, tarım ilaçları, antibiyotikler yer almaktadır (2, 15, 16). HMF, balın gıda işleme sürecinde (özellikle ısıtma işlemi) ya da uzun süre saklanma koşullarına bağlı olarak reaktif monosakkaritlerin çeşitli mineral varlığında (Fe, Cu, Mg gibi) amino ve organik asitlerle reaksiyonu (Maillard reaksiyonu) yoluyla şekerin degradasyonu ile oluşmaktadır (17-19). Ballardaki HMF konsantrasyonu, balın tazeliğini ve doğallığını etkileyen bir parametre olarak kullanılmaktadır. Codex Alimentarius Standard (CAS) komisyonu (gıda kodeksi komisyonu), balların işleme sırasında yoğun bir şekilde ısınmasını önlemek amacıyla HMF'nin balda müsaade edilebilen maksimum düzeyini 40 mg/kg olarak belirlemiştir (20).

HMF'nin deri, mukozalara ve üst solunum yollarına zarar verdiği, mutajenite ve kanserojenite gibi olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (21-23). Mekanizması kesin olarak bilinmemekte birlikte HMF'nin antioksidan, antialerjik, antiinflamatuvar gibi etkilere sahip olduğu da belirtilmiştir (24-28).

Yukarıdaki bilgilerin ışığında planlanan bu çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen 10 farklı bal 20-25 °C'de eskitmeye maruz bırakılarak tazelik ve doğallığını dolayısıyla kalitesini bazı biyokimyasal belirteçler kullanarak değerlendirmeyi amaçladık. Amaca yönelik olarak değerlendirmede balların amino asit ve şeker profilleri, HMF konsantrasyonları, invertaz enzim aktivitesi analizleri yapıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BALIN TARİHÇESİ VE GENEL KULLANIMI

Bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından üretilen birçok doğal hayvansal ürünlerden birisi olan bal; geçmişten günümüze tüm nesiller ve medeniyetler tarafından besin ve ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bal, bal arılarınca çiçeklerden nektar olarak toplanan ve bu toplanan nektarın çeşitli salgılarla besleyici besine dönüştürüldüğü doğal tatlı bir ürün olarak tanımlanabilir. Yüksek besin değeri ve sağlık üzerinde önemli faydaları bulunan bal, tatlı ve lezzetli viskoz sıvı bir besindir (1-3). Bal arıları; çiçek nektarları toplayıp salgılarıyla işleyerek çiçek ballarını, nektar yanısıra bitki emici böceklerin (*Aphids*) salgısal atıklarını da toplayıp kendi salgılarıyla işleyerek salgı ballarını (çam balı, orman balı gibi) üretirler. Ballara özgü bu ayırıcı durum yanısıra sağlıklı beslenmeye yönelik katkıları ve terapötik etkileriyle balın tedavi edici besinsel (nutrasötik) bir madde olarak kullanılmasını sağlamıştır. Arşiv kayıtlarına göre birkaç milyon yıl dünya genelinde balın neredeyse tek tatlandırıcı olarak kullanıldığı saptanmıştır. Bu nedenle bal, en eski tatlandırıcı kabul edilmiştir (4, 5). Ayrıca tüm dini ve kültürel inançlarca tüketimi teşvik edilen bal; bebeklik dönemi (1 yaşından sonra) dâhil her yaş grubuna uygun olduğu düşünülmektedir. Balın sağlıklı beslenmedeki yeri ve önemi; kullanıcılarında gözlemlenen sağlık etkileri, bu sağlık etkilerinin biyobelirteçlerle değerlendirilebilmesi ve bebek ve çocuk beslenmesinde de kullanılabilmesiyle açıklanmaktadır. Günümüzde balın geleneksel ve tamamlayıcı tıbbi katkısı halen merak konusu olmaya devam etmektedir (5).

Tarihsel kaynaklar arılar ve insan arasındaki ilişkinin, Taş Devri kadar erken dönemde başladığını ifade etmektedir (29). Milattan önce 2100-2000 yıllarına dayanan bal ile ilgili ilkyazı bir Sümer tabletinde bulunmuştur. Bu tablette balın bir ilaç ve merhem olarak kullanımından bahsedilmektedir (4). Eski kültürlerin çoğunda bal hem beslenme hem de tıbbi amaçlar için kullanılmıştır (4, 30-32). Balın besin maddesi yanısıra, bir ilaç ve bir merhem olarak kullanımı hikâyesi geçmişten günümüze kadar uzanmaktadır. Bal insanlık tarihinde önemli bir karbonhidrat kaynağı olmuştur. Geçmişte bal, sadece tıbbi amaçlı kullanımından değil, aynı zamanda

besinlerde tatlandırıcı, tamamlayıcı besin ve doğal güzellik ürünü olarak da kullanılmıştır. 19 ncı asırdan sonra başlayan endüstriyel şeker üretimi, balın yerini almaya başlamıştır. Bu tarihten sonra bal artık tek tatlandırıcı olmaktan çıkmış, yerini sanayi üretimi tatlandırıcılara bırakmıştır (4). Ayrıca bu tarihten sonra ilgi, balın tedavi edici özelliği konusunda yoğunlaşmıştır. Son yıllarda apiterapi adı verilen bir alanda; bal ve diğer arı ürünlerinin birçok hastalığa karşı tedaviler sunmakta olduğu belirtilmiştir (2).

Bal; genel olarak sudan (% 10-15) ve iki farklı monosakkaritten (kuru ağırlılığının yaklaşık % 95'i fruktoz ve glukoz) oluşmaktadır. Daha az olmakla birlikte içeriğinde en az 22-25 farklı şekerden (disakkarit ve trisakkarit) daha bulundurmaktadır (% 80-85) (1, 2, 6). Ayrıca balın lakton, azotlu bileşikler, proteinler, antibiyotik özellik gösteren inhibitin, enzimler, fenol antioksidanları, aroma verici bileşikler, amino ve organik asitler, glukonik asit, fenolik asitler, flavonoidler, mineraller, vitaminler, HMF ve diğer birçok fitokimyasalları içeren kompleks bir biyokimyasal karışıma sahip olduğu belirtilmiştir (2, 7, 8). Bitkisel kökenli çeşitlilikten dolayı ballar; görünüm, organoleptik (duyusal algı)  zellikleri ve biyokimyasal bileşenler bakımından farklılık göstermektedir. Ballar; yüksek karbonhidratlı besinler olmasına rağmen, balların glisemik indeksi (GI) 32-85 aralığında değişkenlik göstermektedir. Akasya balı,  am balı gibi fruktoz bakımından zengin ballarda düşük GI bulunmaktadır. Ayrıca, ballar az miktarda da olsa protein, enzim, amino asit, mineral, eser element, vitamin, aroma verici bileşikler ve polifenoller içermektedir (2). Ayrıca, yüksek karbonhidrat içeriği ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle bal, sporcular için m kemmел bir enerji kaynağı olarak tercih edilmektedir.

Günlük olarak ortalama 50-80 g gibi oldukça yüksek miktarlarda bal tüketilmesi halinde, çeşitli olumlu beslenme ve sağlık etkileri görüldüğünü belirtmektedir. Birçok araştırmada, balın antimikrobiyal, antiviral, antiparaziter, antienflamatuvar, antioksidan, antimutagenik ve antitümör etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (2, 5). Fonksiyonel tıpta, fonksiyonel besin olarak değerlendirilen bal arısı ürünlerinin (bal, polen, arı sütü gibi) kullanımını günden güne artmaktadır. Ancak bazı araştırmalarda, ballarda da doğal olarak toksik madde oluşabileceği,

kontaminasyona uğrayabileceği belirtilmekte ve bu olumsuz sonuçlardan korunmaya yönelik çareler araştırılmaktadır. Özellikle kontamine olmamış (yani kalıntı içermeyen) balın, sağlıklı bir beslenme ürünü olarak tüketimi teşvik edilmektedir (5).

Sağlıklı beslenme amacıyla balın tüketim profili yükselmekle birlikte, bala olan bu artmış talebin temel nedeni, balın sahip olduğu zengin besin içeriği ve çeşitli tıbbi kullanımlarından dolayı olduğu belirtilmektedir (5). Bal; geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulayıcıları tarafından birçok faydalı sağlık etkisi için çoğu kez kullanılmıştır. Yakın geçmişte birçok araştırmacı, balın özellikle yara iyileşmesi sürecindeki tedavilere destek amacıyla kullanımını araştırmıştır (33, 34). Balın beslenme ve sağlık yönleriyle ilgili farklı birçok araştırma yapılmıştır (34-39). Yapılan bu çalışmalarda balın besinsel değeri ve tıbbi etkilerinin sınırlı olmadığını ve daha birçok tespit edilememiş özelliğinin bulunabileceği bildirilmiştir.

2.2. BALIN BESİNSEL KOMPOZİSYONU

Balın besinsel kompozisyonu; bitkisel, coğrafik ve entomolojik kaynaklarına bağlı olarak değişmektedir (40). Ayrıca mevsimsel ve çevresel faktörler, balın işlenmesi, saklanma süresi ve koşulları gibi dış etkenlerin de balın besinsel kompozisyonu üzerinde çok önemli etkileri bulunmaktadır (41-43). Bu besinsel kompozisyonda balın kuru ağırlığının yaklaşık %90- 95'ini oluşturan karbonhidratlar baldaki temel besinsel bileşendir. Bal karbonhidratların dışında; organik asitler, proteinler, amino asitler, mineraller, polifenoller, vitaminler ve aroma verici bileşikler gibi birçok besinsel bileşen içermektedir. Ancak, balın besinsel kompozisyonunun önerilen günlük alım miktarına katkısının özellikle organik asitler, proteinler, amino asitler, mineraller, eser elementler ve vitaminler açısından çok düşük olduğu sonucuna varılabilir (2). Bununla birlikte, balın beslenme açısından önemi çeşitli birçok fizyolojik etkilerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Balın besinsel kompozisyonunun, bölgesel bitki çeşitliliğine bağlı olarak da farklılık gösterdiği belirtilmektedir (44).

2.2.1. Balın Karbonhidrat İçeriği

Çiçek ballarındaki başlıca oligosakaritler; sukroz, maltoz, trehaloz, palatinoz ve turanoz gibi disakkaritlerin yanı sıra 1-kestoz, 6-kestoz, rafinoz, melezitoz ve

panoz gibi trisakkaritlerde ballara besleyici olma özelliği kazandırmaktadır (6, 45). Çiçek balına kıyasla salgı balları, oligosakaritler açısından daha fazla miktarda melezitoz ve rafinoz içermektedir. Bal alımından sonraki sindirim sürecinde temel karbonhidratlar olan fruktoz ve glukoz kana hızlı bir şekilde geçerek kanda taşınır; bu durumda fruktoz ve glukoz insan vücudu tarafından enerji ihtiyacının karşılanması için kullanılabilir. Balın 20 g/gün alımı günlük enerji ihtiyacının yaklaşık % 3'ünü karşılayabilmektedir (2).

2.2.2. Balın Amino Asit, Protein ve Enzim İçeriği

Balların yaklaşık % 0.5'i serbest amino asit, protein ve temel enzimleri içermektedir. Bu amino asit, protein ve enzim profilinin insan protein alımına katkısı çok düşük düzeyde olmaktadır. Ballardaki üç temel enzim sırasıyla; diastaz (amilaz), nişasta veya glikojen gibi polisakkaritlerin disakkarit veya monosakkarit gibi daha küçük birimli karbonhidratlara dönüşümünü sağlarken, invertaz (sükraz, α -glukosidaz), sukrozun fruktoz ve glukozla dönüşümünü sağlar (2). Ayrıca glukoz oksidaz da glukozdan hidrojen peroksit ve glukonik asit oluşumunu gerçekleştirmektedir.

Balların tazeliğini ve doğallığını yani kalitesini tespit etme standartlarında yer almakta olan parametrelerin en önemlilerinden birisi prolin bir diğeri ise fenilalanin amino asit konsantrasyonlarıdır (2). Bu bağlamda taze ve doğal ballarda amino asit konsantrasyonları açısından en yüksek prolin yer alırken daha sonra fenilalanin gelmektedir.

2.2.3. Balın Vitamin, Mineral ve Eser Element İçeriği

Ballar çok az miktarlarda vitamin, mineral ve eser element içermektedir. Bu yüzden balın vitamin, mineral ve eser elementler açısından önerilen günlük alımına katkısı da çok düşük düzeylerde gerçekleşmektedir. Farklı botanik çevrede üretilen balların farklı miktarlarda vitamin, mineral ve eser elementler içerdiği olmaktadır. Ayrıca balların; kardiyovasküler ve beyin fonksiyonu için olduğu kadar hücresel membran bileşimi ve onarımı için de esas olan kolin (0.3-25 mg/kg) ve nörotransmitter görevi gören asetilkolin (0.06-5 mg/kg) de içerdiği belirtilmektedir (2).

2.2.4. Balın Polifenol, Aroma Verici Bileşik ve Tatlandırıcı Bileşik İçeriği

Bitkisel çeşitliliğe bağlı olarak farklı tadı ve renkleri olan ballarda bulunan polifenoller (11), balın görünümünü ve fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir. Farklı bal türlerine göre polifenol miktarı 56 ile 500 mg/kg arasında değişebilmektedir (12, 13). Ballardaki polifenoller; esas olarak flavonoidler (kuarsetin, luteolin, kaempferol, apigenin, chrysin, galangin), fenolik asitler ve fenolik asit türevleridir (14). Bunların büyük çoğunluğunun antioksidan özelliklere sahip bileşikler olduğu bilinmektedir. Ballardaki flavonoidlerin miktarı ise 60 ile 460 mg/kg arasında değişebilmektedir. Ayrıca ballardaki flavonoid içeriğinin yüksek sıcaklıkta ve kuru bir mevsimde üretilen ballarda çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (46). Ayrıca ballardaki aromanın, mevcut organik asit ve amino asitlerin miktarına ve türüne bağlı olduğu belirtilmiştir. Son yıllarda ballardaki aroma verici bileşikler üzerine kapsamlı araştırmalar yapılmış ve farklı bitkisel çeşitliliğe bağlı bal türlerinde 500'den fazla farklı uçucu organik bileşen tanımlanmıştır. Aslında, aroma verici bileşiklerin çoğu, farklı bal türlerinde bitkisel çeşitliliğe bağlı olarak değişiklik göstermektedir (47). Balların aroması, gıda endüstrisindeki uygulamalar için önemli bir kalite kriteri olmakla birlikte tüketicinin seçimi için de önemli bir kriter olarak değerlendirilmektedir. Karbonhidratlar temel tatlandırıcı ve lezzet arttırıcı bileşikler olarak bilinmektedir. Günümüzde sanayi üretimi tatlandırıcıları yanı sıra ballar da tatlandırıcı olarak önerilmektedir. Yüksek fruktoz içerikli ballar (akasya balı), yüksek glukoz içerikli ballara (kolza balı) kıyasla çok daha tatlı oldukları yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (2).

2.2.5. Baldaki Toksik Bileşikler ve Kirletici Maddeler (Kontaminantlar)

Diğer doğal gıdalarda olduğu gibi balların da kimyasal içerikleri doğal kaynaklı olarak ve çevre tarafından kirlenebilir. Bu toksik bileşik ve kirleticiler arasında 5-hidroksi metil furfural (HMF), ağır metaller, tarım ilaçları, antibiyotikler yer almaktadır (15). Bal arıları tarafından uğranılan birkaç bitki türünün, doğal toksik maddeler içeren nektar ürettiği de bilinmektedir. Diterpenoidler ve pirazolidin alkaloidleri nektar ile ilgili iki temel toksik bileşen grubu olarak belirtilmektedir (2).

2.2.6. Baldaki Glisemik İndeks, Glukoz ve Fruktoz

Karbonhidratların insan sağlığı üzerindeki etkisi, bir besinin karbonhidrat içeriğinin, kan insülin ve glukoz seviyesini nasıl etkilediğine bağlı olarak değişir. Günümüzde karbonhidratların beslenmedeki önemi genellikle GI cinsinden ve glisemik yük üzerinden ifade edilmektedir (2). GI ifadesi, glukoz toleransının bozulduğu durumlarda faydalı olduğu varsayılarak, karbonhidratlı gıdaların sayısal bir sınıflandırmasını sağlamak için geliştirilmiştir. GI'yı etkileyen en etkili şeker olarak glukoz, bal türlerinin çoğunda temel şekerlerden birisi olarak görülmektedir. Düşük GI'ye sahip olan karbonhidratlar kanda daha az glukoz artışı sağlarken, yüksek GI'ye sahip olanlar yüksek kan glukozu seviyesine neden olmaktadır (2). Ballardaki GI ile ilgili kapsamlı bir çalışma, Avustralya'da yapılan farklı Avustralya ballarının verilerine dayanmaktadır. Yapılan çalışmada test edilen bal türlerindeki farklı fruktoz/glukoz oranlarından (FGO) dolayı fruktoz içeriği ile GI arasında önemli bir negatif korelasyon olduğu belirtilmektedir (48, 49). Unifloral balların değişken fruktoz içeriğine ve fruktoz/glukoz oranlarına sahip olduğu belirtilmektedir (44). Yapılan çalışmalarda akasya balı gibi bazı balların yüksek fruktoz konsantrasyonuna sahip olduğu, ancak diğer bal türlerine göre daha düşük GI'ye sahip olduğu bildirilmektedir. Düşük GI'ye sahip bal türlerinin tüketiminin, yararlı fizyolojik etkilere sahip olabildiğini ve diyabetikler tarafından tüketilebileceği belirtilmektedir. GI ile glukoz ve fruktoz konsantrasyonları arasında anlamlı bir ilişki mevcutken diğer bal şekerleri ile arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (2). Bir çalışmada kullanılan farklı 4 balın GI değerleri 69 ile 74 arasında değişirken, başka bir çalışmada botanik kökeni bilinmeyen balın GI değerinin 35 olduğu bulunmuştur (49, 50). GI'e ek olarak kullanılan glisemik yük ise bal türlerinin çoğunda düşük, bazı bal türlerinde ise orta düzeylerde olduğu bildirilmektedir (2). Sağlıklıların ve diyabetiklerin 50 g bal tüketmesi, aynı miktardaki glukoz veya bal benzeri bir şeker karışımının alımından daha az kan insülin ve glukoz konsantrasyonunda artışa yol açtığı belirtilmektedir (51, 52). Buna karşın başka bir çalışmada ise bal tüketiminin diyabetikler üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu ve kan glukozunda düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (53, 54). Günümüzde batı tarzı Amerikan diyetinde, özellikle yüksek fruktozlu mısır şurubu biçimindeki fazla miktarda fruktoz tüketiminin aşırı kilo problemlerinin ana nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (55). Diğer bir çalışmada fruktoz alımının; enerji düzenlemesi ve vücut ağırlığı üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olan de-novo

lipogenezisin yükselmesine neden olduğunu bulmuşlardır (2, 56). Sıçan beslenme deneylerinde, saf fruktoz alımı veya yüksek fruktozlu mısır şurubu alımından sonra gözlenen hipertrigliseritik etkinin sıçanlarda bal alımından sonra gerçekleşmediği belirtilmektedir. Aynı zamanda bal ile beslenen sıçanların, saf fruktozla beslenen sıçanlara kıyasla daha yüksek plazma α -tokoferol seviyelerine ve α -tokoferol / triaçilgliserol oranlarına sahip olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada bal ile beslenen sıçanların daha düşük plazma nitrik oksit (NO) konsantrasyonlarına ve kalbte daha düşük lipid peroksidasyonuna sahip oldukları bulunmuştur (56). Bu çalışma verileri, diyetlerle alınan balın günlük fruktoz ihtiyacının karşılanması açısından önemli potansiyel bir besinsel faydasını ortaya çıkarmaktadır (2).

2.3. BALDAKİ AMİNO ASİTLERİN ÖNEMİ

Ballardaki protein ve amino asitlerin temel kaynağının polen olduğu bilinmekle birlikte bunların hem hayvansal kaynaklı hem de bitkisel kaynaklı olabileceği belirtilmiştir. Balların amino asit profili üretildikleri yerin bitkisel çeşitliliğe bağlı olarak değişebilmektedir (57, 58). Ballardaki 26 amino asitten birisi olan prolin baldaki total amino asitlerin % 50-85'i içermektedir. Bu oransal farklılığın nedeninin balların üretildiği bitkisel çeşitlilikten ve bal türlerinden (çiçek balı, salgı balı gibi) kaynakladığı belirtilmiştir. Balda eşsiz amino asit olarak nitelendirilen prolin, bal arılarının bal üretiminde nektarın kendi salgularıyla işlendiği süreçten gelmektedir (59).

Beş farklı bölgenin bitkisel çeşitliliğinden elde edilmiş 31 çeşit İspanya ballarında bulunan temel amino asitler prolin, fenilalanin, tirozin ve lizin olarak saptanmıştır. Bu amino asitler dışında aynı ballarda arjinin, glutamik asit, histidin ve valinde bulunmuştur. Prolin ile birlikte bal arılarından gelen invertaz ve glukoz oksidaz enzim aktivite düzeyleri balların tazeliğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (59). Baldaki bazı amino asitlerin (özellikle aromatik olanlar) uçucu bileşiklerin öncül maddesi olduğu belirtilmektedir. Baldaki aroma ve renk oluşumu, amino asit profiline ve uçucu bileşiklerin konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık göstermektedir (60). Bu nedenle fenilalanin, tirozin ve triptofan gibi aromatik amino asitlerin konsantrasyonu baldaki renk oluşumunu etkileyen en önemli

faktörlerden biridir (61). Ayrıca baldaki amino asit profili ve konsantrasyonu HMF oluşum hızını ve miktarını da etkilemektedir (2).

2.4. 5-HİDROKSİ METİL FURFURAL (HMF) VE MAİLLARD REAKSİYONU

Organik bir bileşik olarak bilinen 5-hidroksi metil furfural (HMF); bal gibi çeşitli gıdalardaki indirgen şekerlerin hidrolizinden oluşabildiği gibi ısıtılma işlemi sırasında indirgen şekerler ve amino asitlerin etkileşiminden meydana gelen Maillard reaksiyonu aracılığıyla da oluşur. Maillard reaksiyonu enzimatik olmayan bir kahverengileşme reaksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Isıl işlenmeye ek olarak, saklama koşulları ve süresi de HMF oluşumunu etkilemektedir. Bu durum HMF'nin bal gibi çeşitli gıdaların kalite standartlarında önemli bir göstergeç olarak kullanımını sağlamıştır (17).

HMF, bal gibi besinlerden gastrointestinal sistem yoluyla kolayca emilir ve farklı türevlere metabolize edildikten sonra idrarla atılır. Ayrıca HMF, 5-sülfoksi metil furfural olarak adlandırılan zararlı bir bileşiğe dönüşebilmektedir. Bu bileşik mutajenik, genotoksik, organotoksik ve enzim inhibe edici zararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu bulguların tam aksine HMF'nin; antioksidan, antialerjik, antienflamatuar, antihipoksik, antiorak (eritrosit oraklaşması karşıtı) ve antihiperüremik gibi etkileri sağlayarak insan sağlığına faydalı olabileceği de belirtilmektedir (17). Bu nedenle, HMF konusunda tartışmalar bilim insanlarının ilgisini çekmekte ve yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Bal; hem besleyici hem de tıbbi bir ürün olarak kabul edilmekle birlikte ağır metaller, bazı alkaloidler, HMF ve HMF türevleri gibi bazı bileşenlerin varlığı nedeniyle toksisite gösterebileceği de bildirilmektedir (16, 62). HMF, balın gıda işleme sürecinde (özellikle ısıl işlem) ya da uzun süre saklanma koşullarına bağlı olarak Maillard reaksiyonu yoluyla şekerin degradasyonu ile oluşan siklik yapıya bir aldehittir (18). Ballardaki monosakkaritlerin (glukoz ve fruktoz) ve birçok amino ve organik asidin yanı sıra minerallerin varlığı da HMF'nin oluşumunu daha da arttırabilmektedir (19). Ballardaki HMF konsantrasyonunun balın tazeliğini ve doğallığını etkileyen bir parametre olarak kullanılmasının temel nedeni, normalde taze

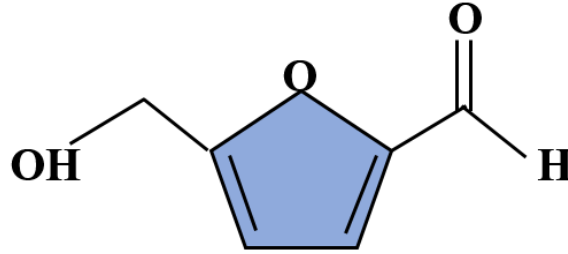
ve doğal ballarda çok düşük konsantrasyonlarda bulunması veya bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca HMF konsantrasyonunun balın işlenmesi sırasında veya eskitme (yaşlanma) nedeniyle de yükselme eğiliminde olduğu bilinmektedir (17).

Yapılan çalışmalar, düşük sıcaklıkta ve normal saklanma koşulları altında depolanan taze ve doğal balların düşük veya minimum HMF konsantrasyonlarına sahip olduğunu, yaşlı ve nispeten daha yüksek sıcaklıkta depolanan balların ise yüksek HMF konsantrasyonlarına sahip olduğunu bildirmiştir (16, 62). Depolama koşullarına ek olarak, saklamada metalik kapların kullanımıyla birlikte de ballardaki HMF konsantrasyonlarının arttığı belirtilmiştir. Ayrıca bal arılarının nektar topladığı çiçek kaynakları da HMF konsantrasyonlarını etkileyen diğer bir kritik faktördür (17). Balda saptanan yüksek HMF konsantrasyonunun, balın normal depolama koşullarının dışında saklandığının veya aşırı ısıtıldığının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (63, 64). Bu nedenle, Codex Alimentarius Standard (CAS) komisyonu (gıda kodeksi komisyonu), bal ürününün işleme sırasında yoğun bir şekilde ısınmasını önlemek amacıyla HMF'nin balda müsaade edilebilen maksimum düzeyi 40 mg/kg (tropikal bölgelerden gelen ballar için 80 mg/kg) olarak belirlemiştir (20).

Çalışmaların çoğunda, HMF'nin mukoza zarlarına, cilde ve üst solunum yollarına zararlı etkileri, sitotoksiste, mutajenite, kromozomal sapmalar ve insanlara ve hayvanlara karşı kanserojenite gibi insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (21-23). Ancak yakın tarihli bazı kapsamlı çalışmalarda, yukarıdaki bulguların tam aksine HMF'nin antioksidan, antialerjik, antienflamatuar gibi faydalı etkilere sahip olduğu da belirtilmiştir (24-28). İnsanların, bal gibi çeşitli besin ürünleri yoluyla günlük olarak ortalama 30-150 mg arasında HMF'ye maruz kalabilecekleri bildirilmiştir. Bununla birlikte, güvenli total HMF tüketimi seviyeleri konusu tamamıyla açıklığa kavuşturulmamıştır. Bunun temel nedeni, HMF metabolizması ve biyotransformasyonunun bireyin organ işlevine bağlı olması ve dolayısıyla HMF'nin vücuttan atılma oranının kişiye göre farklı olmasıdır. Dikkatlerin baldaki HMF içeriğine yönelmesi, bal yanısıra diğer besinlerdeki HMF içeriğinin daha geniş tartışılmasına neden olmuştur. Bu kapsamda yapılan çalışmalar sayesinde HMF'in tespiti, optimize edilmesi, miktarının hafifletilmesi ve besinlerden uzaklaştırılması sağlanmıştır (17).

2.4.1. HMF Moleküler Yapısı ve Oluşum Mekanizması

HMF, hem aldehit hem de alkol (hidroksimetil) fonksiyonel gruplara sahip altı karbonlu heterosiklik organik bir bileşiktir (Şekil 2.1). Halkasal yapı furan kısımları üzerine odaklanır, oysa iki fonksiyonel grup, yani formil ve hidroksimetil grupları sırasıyla ikinci ve beşinci pozisyonlardadır (17). Ayrıca düşük bir erime noktasına sahip olan HMF, suda ve organik çözücülerde oldukça çözünür olan katı, sarı bir madde olarak tanımlanmaktadır (65). HMF, iki farklı reaksiyon sırasında oluşan en önemli ara ürün olarak kabul edilmektedir (66). Bu reaksiyonlar sırasıyla hekzozun asit katalizörlü bozunması ve Maillard reaksiyonunda diheksozun ayrışması olarak belirtilmektedir.

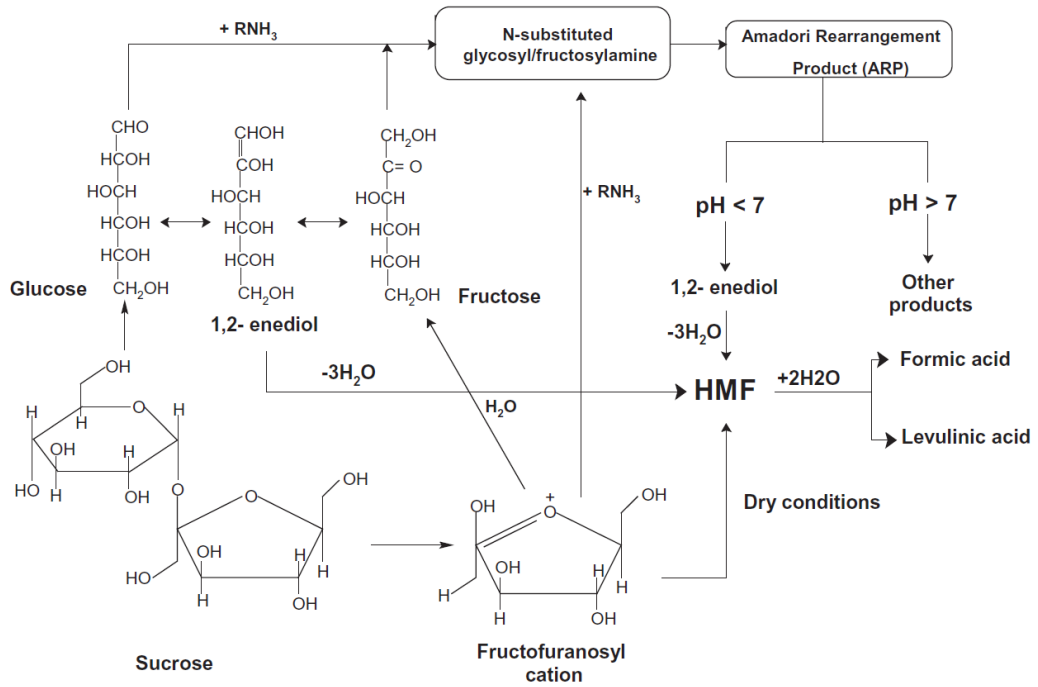


Şekil 2.1. HMF kimyasal yapısı

HMF oluşumu, toplanan bal örneklerinin çiçek kaynağıyla ilişkili olarak pH değeri, serbest amino asit içeriği, toplam asiditesi, lakton ve mineral içeriği gibi biyokimyasal özellikleriyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (17). Öncelikli olarak glukoz ve fruktoz gibi birçok şekerin ve birçok serbest amino asitin varlığının HMF üretimi için uygun ortam sağladığı bildirilmiştir (63).

Glukoz ve fruktoz bakımından zengin ballara benzer şekilde, şeker içeriği yüksek yiyeceklerin çoğunda da HMF oluşumu gözlenmiştir (67). Yüksek sıcaklıkta ısıl işlem uygulanması ve uzun süreli depolanma koşulları HMF oluşumunu daha hızlı arttırabilmektedir (17). Yapılan bir çalışmada, 4-5°C'de 2 ay boyunca depolanan Malezya ballarında ortalama HMF konsantrasyonunun 35,98 mg/kg olduğu bildirilmiştir (68). Buna karşılık, başka bir çalışmada ise 25-30°C'de bir yıldan fazla depolanan Malezya balındaki HMF konsantrasyonlarının çok yüksek seviyelere (118,47-1139,95 mg/kg) ulaşabileceğini tespit etmişlerdir (64). Bu çalışmalar ışığında

HMF oluşum mekanizması şekil 2.2’de verilmiştir (69). Oda sıcaklığında (20–25°C) bir yıldan fazla depolanan Bangladeş’teki bal örneklerinde ise HMF konsantrasyonu bal türlerine göre değişmekle birlikte yüksek (703,10 mg/kg) saptanmıştır (42). Bu nedenle, HMF konsantrasyonu sadece bal tazeliğinin ve doğallığının değil aynı zamanda depolanma süresi ve şartlarının da göstergesi olarak değerlendirilmektedir (17).



Şekil 2.2. HMF oluşum mekanizması-Kavousi’den, Mirhosseini’den, Ghazali’den, Ariffin’den (69)

2.4.2. Balda HMF Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Yüksek sıcaklıklarda veya asidik koşullar altında şeker ısıtılırken Maillard reaksiyonu ile heksozlar parçalanarak doğrudan HMF oluşur. Ayrıca şekerlerin hidrolizi sırasında heksoz türevlerine parçalanmış oligosakkaritler ve polisakaritlerden de HMF oluşmaktadır (17). HMF'nin glukoza karşın fruktoz gibi keto-heksozlardan daha çok oluştuğu bildirilmektedir (70). Bu durum ballarda aldozlara karşı ketozların daha yüksek miktarda HMF oluşturduğunu göstermektedir.

Balın birçok farklı türde şeker içerdiği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada balın yaklaşık % 40 fruktoz, % 28 glukoz, % 3 sukroz ve daha düşük oranlarda diğer

şeker türlerini içerdiği saptanmıştır (71). Ayrıca siklik aldehit yapıdaki HMF, tepkime eğilimi yüksek olan şekerlerin hidroliz yoluyla parçalanmasıyla ballarda üretilmektedir (64). Balın işlenmesi sırasında ısıtılması viskozitesini azaltır. Ancak bu durum ballarda kristalleşmeyi veya fermantasyonu önlerken HMF oluşum hızını ve miktarını arttırdığı tespit edilmiştir (72). Isıtılmaya ek olarak, balın biyokimyasal özellikleri (pH, toplam asitlik ve serbest amino asit, şeker, lakton ve mineral içeriği), su aktivitesi, termal ve fotokimyasal stres ve balların saklanması sırasında metalik kapların kullanımı gibi önemli faktörler de ballarda HMF oluşumunu etkilediği saptanmıştır (73). HMF; düşük pH'lı asidik koşullar, yüksek sıcaklık ve uzun saklama süresi nedeniyle kolayca oluşmakta ve konsantrasyonu yüksek miktarlara ulaşabilmektedir. HMF oluşum hızının ayrıca fruktoz/glukoz oranına bağlı olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni ise pH 4.6'da fruktozun karasız olduğu ve glukozdan 5 kat daha fazla reaktiviteye sahip olması ile açıklanmıştır (22). Özetle yüksek fruktoz/glukoz oranının HMF oluşumu hızıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Sıcaklığa ve pH'a ek olarak, balın viskozitesi ve nem oranının da baldaki HMF oluşum hızını etkilediği belirtilmiştir (74, 75). Bu nedenle, balın düşük nem içeriğini korumak için gama ışınması yöntemi ve nem oranını azaltmak için ise ısı işlemi de dâhil olmak üzere birçok yöntem geliştirilmiştir. Ancak ısı işlemi nem oranı içeriğine bağlı HMF oluşumunu engellerken işlemin kendisi HMF oluşumunu arttırmaktadır (17). Ancak HMF oluşumunda ısı işlemi mi nemin mi daha etkin olduğuna dair kesin kanıtlar içeren literatür verilerine rastlanmamıştır. Bu konunun açıklığa kavuşturulmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Türkiye'de ısı işlemi ve saklama süresinin ülkenin farklı yerlerinden toplanan balların HMF içeriği üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, HMF miktarının hem zamana hem de sıcaklık derecesine bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Bal örneklerinin 135 °C'de 100 saniye ve 150 °C'de 40 saniye ısıtılmasıyla birbirine oldukça yakın HMF miktarlarının olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgular ısı işlemi sıcaklığı yanısıra ısı işlemi süresinin de HMF oluşumunda belirleyici olduğunu göstermiştir (76). Başka bir çalışmada ise, ballarda depolanma süresi ile HMF seviyeleri arasında logaritmik bir ilişki olduğu belirtilmiştir (77). Malezya'da bal örnekleri üzerine yapılan başka bir çalışmada, 3-6 ay boyunca saklanan tropikal bal örnekleri için CAS tarafından belirlenen sınırının (<80 mg/kg) altında HMF konsantrasyonlarına sahip

olduğu gösterilmiştir. Ancak, aynı balların 12-24 ay boyunca saklanan numunelerinde ise, belirlenen sınır seviyelerinin üzerinde HMF konsantrasyonları saptanmıştır. Ayrıca aynı araştırma kapsamında balın biyokimyasal özellikleri ile HMF oluşumunun arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve HMF ile serbest amino asitler, glukoz ve fruktoz miktarı ve toplam asidite arasında güçlü bir korelasyon olduğunu, pH ve laktonlar arasında ise sadece orta düzeyde korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir (64). Dört farklı bal türleri örneğinde yapılan bir başka çalışmada, HMF konsantrasyonları ile asitlik, ısıtma süresi ve pH arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (63). Bulut ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada bu bulgulara benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar sıcaklık, nem içeriği ve su aktivitesindeki artışla paralel olarak ballarda HMF oluşumunun da arttığını bildirmişlerdir (78). Ayrıca, bal içeriğinde bulunan manganez, çinko, magnezyum ve demir gibi metalik iyonların yüksek konsantrasyonlarının da HMF oluşumunda etkili olduğu bildirilmiştir (79).

2.5. BALLARDAKİ İNVERTAZ AKTİVİTESİ

Ballar, başta diastaz (α -amilaz) ve invertaz (sukraz, α -glukosidaz) olmak üzere küçük miktarlarda glukoz oksidaz, katalaz ve asit fosfataz gibi farklı enzimler içermektedir (80). Özellikle invertaz, sukrozun baldaki temel şekerler olan fruktoz ve glukozu dönüştürülmesinden sorumlu olan enzimdir (81). Baldaki invertazın kökeni, bal arılarının salgılarıdır (81-83). Besleyici balın, bal arıları tarafından toplanan nektarların bal arılarının tükürük ve hipofarengeal bezlerinden salgılanan salgılarla karıştırılarak oluştuğu bildirilmiştir (80). Kovanda, nektarın salgı hücrelerinde depolanmadan önce arıdan arıya aktarılmasıyla, baldaki nektarın olgunlaşması için daha fazla salgı eklendiği de belirtilmiştir (84). Dolayısıyla ballara eklenen enzimlerin miktarı; yaş, diyet ve arıların fizyolojik evresi, koloninin yoğunluğu, sıcaklık, nektar akışının bolluğu, nem gibi çeşitli birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (85-90).

Yıllar boyunca birçok araştırmacı diastaz ve invertaz enzimlerini; taze, doğal ve yapay balları birbirinden ayırt etmede bir gösterge olarak kullanmışlardır (81). Günümüzde de bu enzimler dünya genelinde belirlenmiş olan CAS standartlarına göre balların doğallığının ve tazeliğinin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır. Bunun temel

nedeni ise yaşlanmaya maruz bırakılmış (eskitme işlemi) veya yüksek sıcaklıklarda ısıtılmış ballarda diastaz ve invertaz aktivitelerinin azalmış olmasından kaynaklanmaktadır (77, 91-93).

2.6. BALIN BEBEK BESLENMESİNDEKİ ÖNEMİ

Amerikan Pediatri Akademisi (APA) tarafından bal tüketiminin 1 yaşından daha büyük bebekler için uygun olabileceği belirtilmiştir. Bunun nedeni, doğal ve taze balların içerisinde Clostridium Botulinum ve toksin üreten sporların bulunma riskidir (94). Ayrıca yapılan çalışmalarla 1 yaşından sonra bebek beslenmesinde balın varlığının hafızayı geliştirdiği, büyüme ve gelişmeyi desteklediği bildirilmiştir (5). 2009 yılında yapılan bir çalışmada, 8 haftalık sıçanlar diyetlerinde bal alanlar ve diyetlerinde sukroz alanlar ve şekerli diyet alanlar olarak üç grupta sınıflandırılmışlardır. Bu çalışmada, 12 aylık deney süresi boyunca bal alan sıçanlarda, hafıza gelişiminin daha hızlı olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar, bal takviyeli diyetin sıçanlara erken uygulanmasının yararlı olduğunu ve yaşlanma ile ilişkili hafıza kaybını ve bilişsel zayıflamayı iyileştirebileceği sonucuna varmışlardır (95). 2001 yılında yapılan başka bir çalışmada, balın 1 yaşını geçmiş olan bebekler için iyi tolere edilebildiğini ve bebeklerin ağlama evrelerini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir (96). Aynı zamanda bebek mamalarına bal eklenmesiyle ortaya çıkan faydalı etkilerin, sindirim ve emilim işlemini içeren Gastrointestinal sistem (GİS) fonksiyonunun geliştirilmesindeki etkileriyle açıklanmaktadır. Bu açıklamanın temel sebebinin, ballardaki karbonhidrat bileşenlerinin ve özellikle de oligosakaritlerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi olduğu belirtilmiştir (97).

2.7. BALIN BÜYÜME VE GELİŞMEDEKİ ÖNEMİ

Beslenme; metabolik faaliyetlerin devamı, büyüme, gelişme ve sağlıklı yaşam için gerekli olan bileşiklerin dışarıdan besin tüketimiyle alınması olayıdır. Büyüme ve gelişme açısından bal tüketiminin önemine bakıldığında; düzenli olarak bal tüketiminin bu faydaların birçoğunu sağlayabileceği bildirilmiştir (5). Ancak yalnızca balın tek başına bir öğün olarak tüketilmesi sağlıklı ve dengeli beslenme yönünden uygun görülmemektedir.

Yapılan iki farklı çalışmada, sadece çiçek balıyla beslenen farelerin vücut ağırlığında artış gözlemlendiği bildirilmiştir (3, 98). 2008 yılında yapılan başka bir çalışmada ise kilo alımını değerlendirmek için 8 haftalık sıçanlara 52 hafta boyunca salgı balı verilmiş. Bu sıçanlarda saptanan kemik gelişimi ve mineralizasyondaki artış, balın kalsiyum, magnezyum ve potasyum içeriğine bağlanmıştır (99). Normal diyetine ek olarak bal verilen sıçanlar üzerinde yapılan son araştırmalardaki verilerde balın, büyüme ve gelişmedeki olumlu etkisini doğrulamıştır. Bu histolojik çalışmalarda balın hücre büyümesini uyararak yara iyileşmesine katkıda bulunduğu saptanmıştır (5). Kapsamlı bir derlemede; balın, büyüme ve gelişmeyi uyarıcı özelliği bulunduğu sonucuna varılmıştır (2).

2.8. BALIN NUTRASÖTİK ÖZELLİKLERİ

Balın bileşiminin önemli bir kısmını karbonhidratlar ve su oluşturmaktadır. Bunlara ek olarak, ballar B grubu vitaminler de dâhil olmak üzere birçok vitamin (askorbik asit, pantotenik asit, niasin ve riboflavin), mineral (sodyum, potasyum, demir, kalsiyum, bakır, magnezyum, manganez, fosfor ve çinko gibi), amino asitler, inhibitörler, proteinler, fenolik bileşikler ve antioksidanlar da içerir (2, 4, 5). Bu mikrobisiz beslenme ve sağlığın korunması açısından oldukça önemlidir. Baldaki karbonhidratlar balın çok daha tatlı olmasını sağlamakla birlikte aynı zamanda yapay tatlandırıcılardan daha fazla enerji de sağlamaktadır. Bu durum balın fruktoz içeriğinin daha yüksek olmasıyla ilişkilidir (1, 2, 4).

Çok çeşitli değerli besin öğelerini içermesi (yüksek besin değeri profili), balın önemli bir besin olarak tüketilmesini teşvik etmektedir. Balın protein ve amino asit gibi bazı temel besin öğelerinden fakir olması nedeniyle, yetişkinlerin arzu edilen beslenme ve sağlık yararlarından yararlanabilmeleri için yaklaşık olarak 70- 95 gr/gün bal almaları önerilmektedir (53, 100-103).

Balların; karbonhidratların sindirimini kolaylaştıran diastaz ve invertaz gibi çeşitli enzim içermeleri (2), özellikle mısır şurubu ve sukroz gibi yapay şekerlerin enerji kaynağı ve tatlandırıcı olarak yaygın kullanılmasını sınırlandırabilir. Ayrıca, baldaki başlıca şeker bileşenlerinin glukoz ve fruktozdan oluşuyor olması da enerji olarak tüketimini teşvik etmektedir (2, 4). Normal olarak tüketilen sukroz gibi rafine

şekerler emiliminden önce bağırsakta sindirim işlemlerinden geçerek daha basit formlara dönüşmektedir. Oysa ballardaki bu şeker moleküllerinin çoğunun önceden sindirilmiş formlarda bulunmasıyla doğrudan emilimin gerçekleşebileceği belirtilmektedir (5).

GİS önemli ve faydalı birçok bakteri yanı sıra, özellikle de yaşamın ve sağlığın korunması için önemli ve faydalı bir bakteri çeşidi olan Bifidobacteria türünü içermektedir (5). Bal tüketimi, GİS'teki Bifidobacteria yoğunluğunu, büyümesini ve biyolojik aktivitesini kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle bal önemli bir prebiyotik kaynağı besindir (104, 105). Balın, Bifidobacteria yönünden etkileri baldaki oligosakaritlerin bileşenlerine bağlı olabileceği belirtilmektedir (104-106). Hem in vitro hem de in vivo çalışmalar; bal içeren diyetlerin, GİS'teki prebiyotik etkileri nedeniyle faydalı bakterileri arttırdığını (özellikle Bifidobacterialar ve Laktobasillerin) ortaya koymaktadır (104-109). Bal ve yapay şeker (sukroz) kullanımı ile ilgili karşılaştırmalı bir çalışmada, balın in vitro ve in vivo olarak deney hayvanlarının kalın bağırsaklarındaki faydalı bakterileri arttırdığını, sukrozun ise böyle bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (110). Ancak çok nadir olarak bazı durumlarda 70 ila 95 gr arasında yüksek miktarlarda bal tüketiminin, fruktoz emilim bozukluğuna veya yetersiz fruktoz emilimine bağlı olarak GİS'te olumsuz etkilere yol açabileceği belirtilmektedir (111, 112).

Balın sindirim ve emilimine bağlı başka bir nutrasötik işlevi ise kalsiyum içeriğiyle ilişkilidir. Bal tüketimi, içerdiği kalsiyum miktarıyla orantılı olarak kolayca emilebilen, kemik kütlesi gelişimine ve mineralizasyonuna destek olan kalsiyumu sağlamaktadır. Balın bu etkisinin, yaşlı bireylerde osteoporoz veya düşük kemik kütlesi riskini azaltmaya yardımcı olabileceği belirtilmiştir (5). Deney hayvanı modellerinde yapılan araştırmalar, bal tüketiminin artmasıyla kalsiyum emiliminde aynı şekilde arttığını göstermektedir (113).

2.9. BALIN ANTIOKSİDAN ÖZELLİĞİ

Serbest radikallerin ve reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) varlığı; hücrel işlev bozukluğu, metabolik ve kardiyovasküler hastalık (CVD) patogenezi ve yaşlanma süreçlerinden sorumlu tutulmaktadır. Antioksidan bakımından zengin besinlerin ve

bileşenlerin tüketimi bu patolojik değişikliklere karşı korunma sağlayabilmektedir. Ayrıca metabolik, CVD ve diğer kronik hastalıkların patogenezini önleyebilmektedir (5). Yapılan çalışmalar, balın birçok antioksidan bakımından zengin biyokimyasal bileşikler içerdiğini göstermiştir (114, 115). Bal içeriğindeki antioksidan ve diğer fitokimyasal maddeler; balın çiçek kaynağının, üretilen bölgenin ikliminin ve bitki çeşitliliğinin önemli bir belirteci olarak kullanılmaktadır (5). Ayrıca bal renginin ve görünümünün aromatik amino asit yanı sıra antioksidan içeriğinden de etkilendiği ve koyu renkli balların açık renkli ballara kıyasla çok daha fazla miktarda antioksidan bileşiğe sahip olduğu bildirilmiştir (61).

Yapılan başka bir çalışmada; monofloral Küba ballarının fitokimyasal kompozisyonu incelenmiş ve Küba ballarının yüksek miktarda antioksidan kapasiteye sahip önemli fenolik, flavonoid ve karotenoid bileşik konsantrasyonları içerdiği sonucuna varılmıştır (116). Ayrıca balda bulunan antioksidan bileşiklerin, insanları serbest radikal ve ROS'un zararlı etkilerinden koruyabileceği bildirilmiştir (5). Kontrol grubu olarak 1,5 gr/kg mısır şurubu uygulanan 37 sağlıklı yetişkine karşı 1,5 gr/kg ballar uygulanan 37 sağlıklı yetişkinin kullanıldığı bir çalışmada, bal verilen grupta plazma total fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesinde anlamlı artış olduğu bildirilmiştir (116). Bu durum; ballardan elde edilen fenolik, antioksidan özellikteki bileşiklerin biyoyararlanımının yüksek olduğunu ve plazmanın antioksidan aktivitesini arttırabildiği hipotezini desteklemektedir. Bazı araştırmacılar, balın geleneksel tatlandırıcı olarak besinlerde kullanımının sağlıklı yetişkinlerde antioksidan savunma sisteminin gelişimine katkı sağlayabileceğini savunmaktadır (5, 116).

Yapılan çalışmalarda baldaki fruktozun ve daha da önemlisi çeşitli fitokimyasal bileşenlerin faydalı etkilerinden dolayı balın diyabetik deneklerde görülen hiperglisemiye karşı kan şekerini dengeleyebileceği bildirilmektedir (4, 54, 117-121). Yakın dönemde yapılan bazı çalışmalarda, balın hipoglisemik etkisinin baldaki fruktoz ve glukoz bileşenlerinin ortaklaşa etkisinden olduğu bu durumun da postprandial dönemde düşük glisemik yanıtta katkıda bulunabileceği ve balın iyi tolere edilebilen bir besin olduğu sonucuna varılmıştır (5, 122).

İnsanlar, fiziksel aktivite veya egzersiz sırasında enerji kaynağı olarak hızlı enerjiye dönüşebilen şekerleri kullanmayı tercih etmektedir. Bu nedenle balın, özellikle glukoz ve fruktoz içerdiğinden dolayı önemli bir karbonhidrat kaynağı olarak egzersiz öncesinde ve atletik performans açısından tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir (5). Ballardaki temel fruktoz ve glukozun, her ikisi de hızlı enerjiye dönüşme eğilimli monosakaritler olmasına rağmen sırasıyla ketoz ve aldoz şekerler olarak kimyasal ve yapısal farklılıklara ve farklı metabolizma yollarına sahip oldukları belirtilmiştir (5). Ballardaki fruktozun emilimi glukozu göre yavaş olduğundan glukoz daha önce enerjiye dönüşerek bireyin enerji ihtiyacını karşılamaktadır. Balın içerdiği çeşitli fitokimyasal bileşenlerin, fruktoz metabolizmasının yavaş ilerlemesine katkıda bulunabileceği de belirtilmektedir (4, 123). Ayrıca ballar, yavaş enerjiye dönüşebilen şekerler olarak diğer trisakaritleride içermektedir (5).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ÇALIŞMANIN YAPILACAĞI YER VE ÇALIŞMA PLANI

Çalışma; Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Projeler (BAP) Birim Koordinatörlüğü desteğiyle, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya İleri Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışmanın planlamasında ballar temin edildikten hemen sonra 0.ay olarak tanımladığımız zamanda ilk analizler yapıldı. Daha sonra 1.ay, 4.ay ve 7.ay olarak tanımladığımız zamanlarda diğer analizler yapıldı.

3.2. BALLARIN TEMİN EDİLMESİ VE SAKLANMASI

Çalışma kapsamına alınan ballar, Türkiye'nin farklı bölgelerinde 2018 Ekim ayı döneminde üretilen 10 çeşit bal üreticilerden temin edildi. Ballar 2018 Kasım ayında oda sıcaklığı koşullarında kargo aracılığıyla ulaştı. Ballar üretilen bölgeleri baz alınarak Konya bölgesi çiçek balı (KÇB), Sivas bölgesi yayla balı (SYB), Gürün bölgesi çiçek balı (GÇB), Ankara bölgesi yayla balı (AYB), Niğde bölgesi çiçek balı (NÇB), Yılanlıdağ bölgesi yayla balı (YYB), Zara bölgesi çiçek balı (ZÇB), Eskiköy bölgesi çiçek balı (EÇB), Koyulhisar bölgesi yayla balı (KYB) ve Bozdoğan bölgesi çam balı (BÇB) olarak sınıflandırıldı. Temin edilen ballar kuru, karanlık ortam ve oda sıcaklığı (20-25 °C) şartlarında çalışma yapılma sürecine kadar koyu renkli cam kavanozlarda güvenli bir şekilde saklandı.

3.3. AMİNO ASİT PROFİLİ ANALİZİ

Ballardaki amino asit konsantrasyonlarının tayin edilmesi ve profilinin çıkarılmasında standardize edilmiş olan gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) amino asit analiz yöntemi kullanıldı. Ballardaki amino asit konsantrasyonlarını tayin etmek ve profilini çıkarabilmek için türevlendirici kitle birlikte amino asit içeriği farklı olan standartlar (SD1, SD2, SD3 olarak tanımlanan) temin edildi. Her üç standart toplam 32 farklı amino asit içermekteydi (Phenomenex EZ:faast GC free amino acid analysis kit, CA, USA). Her standart içindeki amino asit konsantrasyonu 200 nmol/ml idi. Daha sonra analizi yapılacak ballardan alınan her 10 gr bal örneği

100 ml distile suyla seyreltildi (sulu bal karışımı). Hem standartlar hem de bal örnekleri türevlendirici kit kullanılarak kit prosedüründeki talimat sıralamasına uygun şekilde hazırlandı. Tüm balların amino asit düzeyi Agilent 5977B gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) (Agilent 7890B GC-MS, USA) cihazı ile çalışıldı.

Kullanılan yöntem, GC-MS ve kolon özellikleri aşağıdadır:

1. Stok çözelti hazırlamak için Reaktif 3A'dan (sodyum hidroksit) 1.8 ml ve Reaktif 3B'den (N-propanol) 1.2 ml cam tüpe alındı ve iyice karıştırıldı.
2. Otomatik pipet kullanılarak standart ve sulu bal örneklerinden 100 µl örnek cam tüpe alındı.
3. Standartların ve sulu bal örneklerinin bulunduğu cam tüpe, internal standart reaktif 1 (0.2 mM Norvaline, % 10 N-propanol)'den 100 µl eklendi ve iyice karıştırıldı.
4. 1.5 ml'lik şırınga ucuna sorbent (SPE) takıldı. Cam tüpteki karışımlar şırıngaya 2-3 dakikada yavaşça çekildi. Böylece karışımlar SPE'de hapsedi.
5. SPE cam tüpten çıkarılmadan cam tüp içerisine reaktif 2 (Sodyum karbonat çözeltisi)'den 200 µl eklendi. Reaktif 2 yavaşça şırıngaya çekildi. Tamamı şırıngaya çekildikten sonra şırınga ucundaki SPE çıkarıldı. Şırınga içinde kalan sıvı atıldı.
6. Reaktif 3A ve 3B'den hazırlanan stok çözeltiden 200 µl alınarak numune içeren cam tüplere eklendi.
7. 0.6 ml'lik şırınga boşken orta noktaya kadar çekildi. Çıkarılmış olan SPE 0.6'lık şırınga ucuna eklendi. Stok çözeltiden az miktarda şırıngaya çekildi (SPE ıslanacak kadar).
8. Ucunda SPE bulunan 0.6 ml'lik şırınga tüpten çıkarılmadan hızlı şekilde ileri itilerek SPE'de hapseden karışım cam tüpe boşaltıldı.
9. Cam şırınga (mikrodispenser) yardımıyla reaktif 4'ten (Kloroform) 50 µl sıvı alınarak karışım üzerine eklendi ve iyice karıştırıldıktan sonra reaksiyon için 3 dakika beklendi.
10. Tekrar karıştırıldıktan sonra 1 dakika daha beklendi. Daha sonra cam şırınga yardımıyla reaktif 5'ten (izo-oktan) 100 µl sıvı alınarak karışım üzerine eklendi ve iyice karıştırıldı. Reaksiyon için 1 dakika beklendi.

11. Reaktif 6'dan (%80 izo-oktan, %20 kloroform) 100 µl sıvı alınarak karışım üzerine eklendi ve iyice karıştırıldı.
12. Cam tüp içerisinde 2 farklı karışım oluştu. Üst kısımdaki karışımdan 100 µl süpernatant alındı. Standart ve sulu bal çözeltilerini içeren bu süpernatantlar cihazda çalışılması için "autosampler"a kondu.

GC-MS: Enjeksiyon: 1:15@250 °C, 1.5-2.0µL. Taşıyıcı Gaz: Helyum, 1.1ml/dk sabit akış. Fırın Ayarı: 30°C/dk, sıcaklık aralığı 110°C'den 320°C'e ayarlandı.

Kolon: Zebron ZB-AAA GC kolon (boyutları: 10m X 0.25mm)

Elde edilen standartların retansiyon zamanları ve konsantrasyonlarına bağlı kromatografik verileri cihaza tanıtılarak amino asit kütüphanesi oluşturuldu. Kütüphanedeki mevcut standart verileri baz alınarak her bir bal örneği için retansiyon zamanları ve amino asit konsantrasyonlarına yönelik kromatografik pikleri değerlendirilmeye alındı.

3.4. 5-HİDROKSİ METİL FURFURAL (HMF) ANALİZİ

Ballardaki HMF miktarlarının tayin edilmesinde 2009 yılında Uluslararası Bal Komisyonu (IHC) tarafından yayınlanmış rehberde yer alan standardize edilmiş olan HMF analiz yöntemi kullanıldı (124). Ballardaki HMF konsantrasyonlarını tayin etmek için öncelikle satın alınan 1g HMF standardından (Sigma-Aldrich, Germany) 10 mg alınarak 100 ml distile suda çözdürüldü. Bu 100 mg/L'lik stoktan (Level 1) seri dilüsyon ile 50 mg/L (Level 2), 25 mg/L (Level 3), 12.5 mg/L (Level 4), 6.25 mg/L (Level 5) ve 3.125 mg/L (Level 6) HMF standartları elde edildi. Analizi yapılacak ballardan alınan her 10 gr örnek alınarak 75 ml distile suyla seyreltildi. Seyreltik sulu bal karışımı ve standartlar analiz işleminden önce 0.45 µm'lik membran filtreden geçirilerek Shimadzu UFLC UV/Vis 20 serisi (Shimadzu, China) sıvı kromatografisi cihazı ile çalışıldı. Kullanılan yöntemeye uygun kolon seçildi (124):

UFLC: Mobil Faz: Su-Metanol (900 ml Su+100 ml Metanol).

Akış Hızı: 1.0 ml/dk

Enjeksiyon Miktarı: Standart veya örnekten 20 µL

Deteksiyon dalga boyu: 285 nm

Kolon: HiChrom C18-ters faz HPLC kolon (250 X 4 mm boyutları (5 µm çap)).

Analiz sonucu standartların retansiyon zamanları ve kromatografik piklerin alanları ve yükseklikleri saptandı. Standartlara ait HMF konsantrasyonu/pik alanı grafiği baz alınarak bal örneklerinin pik alanlarına karşılık gelen HMF konsantrasyonları hesaplandı.

3.5. İNVERTAZ (SUKRAZ) AKTİVİTESİ ANALİZİ

Ballardaki invertaz aktivitesi düzeylerinin tayin edilmesinde 2009 yılında Uluslararası Bal Komisyonu (IHC) tarafından yayınlanmış rehberde yer alan standardize edilmiş olan invertaz aktivitesi analiz yöntemi kullanıldı. Ballardaki invertaz aktivitesi düzeylerinin tayin edilmesinde substrat olarak satın alınan p-nitrofenil- α -D-glukopiranozit (p-NPG) (Fluorochem, UK) kullanıldı. İvertaz aktivitesi düzeyleri analizi öncesi hazırlık aşamaları (124):

A. Tampon Çözeltisinin Hazırlanması (0.1 M, pH:6.0)

- 1166 mg potasyum hidrojen fosfat (KH_2PO_4)
- 256 mg 2 sulu disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 100 ml distile su

1166 mg KH_2PO_4 ve 256 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ karışımı 80 ml distile suyla çözdürüldü. pH ayarı 1 M NaOH kullanılarak yapıldıktan sonra distile su ile hacim 100 ml'ye tamamlandı.

B. Substrat Çözeltisinin Hazırlanması (0.02 M)

- 602,52 mg p-nitrofenil- α -D-glukopiranozit (pNPG)
- 80 ml tampon çözeltisi
- 100 ml'ye distile su ile tamamla

Öncelikle 60,252 mg pNPG, 80 ml tampon çözelti içerisinde çözdürüldü. Daha sonra karışıma distile su eklenerek 100 ml'ye tamamlandı.

C. Bal Çözeltilerinin Hazırlanması

Her 5 gr bal örneği total hacim 10 ml olacak şekilde distile suda çözdürüldü. Daha sonra sulu bal karışımı üzerine 5 ml tampon çözelti eklenerek 15 ml'lik bal çözeltileri elde edildi.

D. Reaksiyon Durdurucu Çözeltisinin Hazırlanması (3 M, pH = 9.5).

- 3634,2 mg Tris
- 10 ml distile su

3634,2 mg Tris, bir miktar distile su içerisinde çözdürüldü. 3 M karışımın pH:9.5'e ayarlamak için 3 M HCl kullanıldı ve pH:9.5'e ayarlandı. Total hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklendi. Çizelge 3.1'de invertaz aktivitesi ölçüm prosedürü aşağıda özet olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1. İvertaz aktivitesi ölçüm prosedürü

	Blank	Örnek
Substrat Çözeltisi	5 ml	5 ml
Bal Çözeltisi	0,5 ml	0,5 ml
40 °C'de inkübasyon	5 dk	20 dk
Reaksiyon Durdurucu Çözelti	0,5 ml	0,5 ml

Blank ve örnek absorbasları süre sonunda 400 nm'de ölçüldü.

Analizi öncesinde her bir bal türü için bir blank ve bir örnek tüpü hazırlandı. Blank ve örnek tüplerine 5 ml substrat çözeltisi kondu. 40 °C'lik su banyosunda kısa süre (yaklaşık 2-3 dk) inkübe edildi. Blank ve örnek tüpleri su banyosundan çıkarılmadan üzerine 0,5 ml bal çözeltisi eklenerek hızlıca karıştırıldı. Blank tüpleri 5 dk boyunca 40 °C'lik su banyosunda beklendikten sonra üzerine 0,5 ml reaksiyon durdurucu çözelti eklendi ve hemen sonrasında oda sıcaklığında buzlu su içerisinde kısa sürede soğutulan blank tüplerindeki çözeltinin absorban değerleri spektrofotometre (Beckmann Coulter DU 800 UV/Vis Spectrophotometer, USA)

cihazında 400 nm'de okundu. Örnek tüpleri 20 dk boyunca 40 °C'lik su banyosunda beklendikten sonra üzerine 0.5 ml reaksiyon durdurucu çözelti eklendi ve hemen sonrasında oda sıcaklığında buzlu su içerisinde kısa sürede soğutulan örnek tüplerinin spektrofotometre cihazında 400 nm'de absorbans değerleri kaydedildi (124).

Kaydedilen absorbans değerlerinden faydalanılarak öncelikle blank çözeltisinin absorbansını örnek çözeltinin absorbansından çıkararak her bal türü için Δ_A hesaplandı. Reaksiyon sırasında oluşan p-nitrofenol miktarı (μM olarak), çözeltide kullanılan μM substrat miktarına tam olarak karşılık gelir. Bundan dolayı bal invertaz aktivitesi düzeyleri 400 nm'de ölçülen absorbanstan hesaplanabilmektedir. Bu bilgiler ışığında invertaz aktivitesi düzeyleri U/kg birimi cinsinden aşağıdaki formülasyon yardımıyla hesaplandı (124):

$$1 \text{ U/kg} = (1 \mu\text{mol pNPG})/(\text{dakika} \times \text{bal kg})$$

$$\begin{aligned} \text{Invertaz aktivitesi U/kg} &= 6 \times 0.05 \times 0.05298 \times 10^4 \times \Delta_A (400 \text{ nm}) \\ &= 158.94 \times \Delta_A(400 \text{ nm}) \end{aligned}$$

Kullanılan her örnek bal çözeltisinin ml'si (toplam hacim) = 6

Reaksiyon süresini 20 dakikadan 1 dakikaya dönüştürme = 0.05

Alınan bal miktarını (0.5 ml'de 0.1 g) 1 kg'a dönüştürme = 10^4

Her μg için ml başına μM 'ye dönüşüm faktörü; $0.05298 = 7.37 / 139.11$

p-nitrofenol için faktör = 7.37

p-nitrofenolün moleküler ağırlığı = 139.11

3.6. ŞEKER PROFİLİ ANALİZİ

Uluslararası Bal Komisyonu (IHC) tarafından 2009 yılında yayınlanmış rehberi baz alınarak ballardaki şeker konsantrasyonları HPLC analiz yöntemi kullanılarak ölçüldü. HPLC cihazında standart olarak saf glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz ve rafinoz kullanıldı. Standartlar hazırlanırken 2 gr fruktoz, 1.5 gr glukoz, 0.25 gr sukroz, 0.15 gr maltoz ve 0.15 gr rafinozun her biri 40 ml distile suda çözdürüldü.

Her bal çeşidinden alınan 5 gr'lık bal örneği, öncelikle 40 ml distile suyla seyreltildi ve üzerine 25 ml metanol eklenerek iyice karıştırıldı. Karıştırıldıktan sonra 35 ml daha distile su eklenerek toplam hacmi 100 ml olacak şekilde hazırlandı. Bu işlem sonrasında elde edilen glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz ve rafinoz standartları ve bal örnekleri 0.45 µm'lik membran filtreden geçirilerek Shimadzu UFLC UV/Vis 20 serisi (Shimadzu, China) sıvı kromatografisi cihazında çalışıldı. Kullanılan mobil ve sabit fazın özellikleri (124, 125);

Mobil Faz: Asetonitril-Su (800 ml Asetonitril+200 ml Su), akış hızı 1.3 ml/dk, standart veya örnek enjeksiyon miktarı 10 µL, detektör ve kolon sıcaklığı 30 °C, deteksiyon dalga boyu 190 nm.

Kolon: ACE C18-ters faz HPLC kolon, 250 X 4.6 mm boyutları (5 µm çap)

Bal örneklerinin ve standartların retansiyon zamanları, kromatografik piklerin alanları ve yükseklikleri saptandı. Şeker profili ve konsantrasyonları glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz ve rafinoz standartlarına ait kromatografik grafikler baz alındı. Elde edilen kromatogramlar kullanılarak aşağıdaki formülasyon yardımıyla balların şeker konsantrasyonları hesaplandı (124):

$$W = 10 \times (A_1 \times V_1 \times m_1 \times 100) / (A_2 \times V_2 \times m_0)$$

Her bir şekerin (fruktoz, glukoz, sukroz, maltoz ve rafinoz) kütlece yüzdesi (g/100 g) = W. 10x ifadesi g/100 g'ı g/kg'a dönüştürmek için kullanıldı.

Bal çözeltisindeki her bir şekerin kromatografideki pik alanı = A_1

Bal çözeltisinin ml cinsinden toplam hacmi = V_1

Standart çözeltide kullanılan her bir şekerin kütlesi = m_1

Her bir şeker standartına ait kromatografideki pik alanı = A_2

Standart çözeltinin ml cinsinden toplam hacmi = V_2

g cinsinden bal çözeltisi kütlesi = $m_0 = 5$ gr

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm grafiksel gösterimler için Microsoft Excel ve istatistiksel analizler için IBM SPSS statistics 25 software kullanıldı. Grup sayısı ikiden fazla olan bağımlı grupların analizinde, parametrik verilerin karşılaştırılması için tekrarlayan ölçümlerde ANOVA (Repeated Measures Analysis of Variance) ve nonparametrik verilerin karşılaştırılması için Friedman Test (Nonparametric Repeated Measures ANOVA) kullanıldı. Tüm bal türlerinin analizinden elde edilen önemli görülen tüm değişkenler arasındaki ilişkiyi toplu olarak gözlemlemek amacıyla Korelasyon Matrix analizi yapıldı. Buradan elde edilen bilgiler doğrultusunda sonuçlar arasındaki ilişkiyi doğru bir istatistiksel çalışma ile saptayabilmek amacıyla, nonparametrik verilerin analizinde Spearman Korelasyon ve parametrik verilerin analizinde Pearson Korelasyon analizleri yapıldı. Toksik bileşik olarak kabul edilen HMF oluşumuna (bağımlı değişken) etkisi olduğu düşünülen FGO, valin, asparagin, glutamin, hidroksprolin ve glisil-prolin gibi bir dizi bağımsız değişkenin etki derecelerini belirlemek ve bağımlı değişkeni tahmin etmek için çoklu regresyon analizi uygunlandı.

4. BULGULAR

Zamana bağılı olarak baldaki amino asit konsantrasyonlarındaki değişimi incelemek amacıyla tüm bal türleri aynı zaman aralığı ve ortam şartlarında aynı anda eskitme işlemine tabi tutuldu. Eskitme işlemi sonucu balda oluşan renk değişimleri ve kristallenmeler not edildi. Ancak bu incelemelerde hiçbir bal türünde herhangi bir renk ve görünüm değişimi ve kristallenmeye rastlanmadı.

Bal türlerine göre renk ve görünüm skalası incelendiğinde (Çizelge 4.1); görünümdeki renk farklılıklarının bitkisel çeşitlilikten ve amino asit profilindeki aromatik amino asit konsantrasyonlarından kaynaklanmaktaydı. Total aromatik amino asit konsantrasyonu yüksek olan balların çok koyu renkte, düşük aromatik amino asit konsantrasyonuna sahip balların ise açık veya çok açık renkte görünümüne sahip olduğu saptandı.

Çizelge 4.1. Bal türlerine göre renk ve görünüm skalası

Bal Türü	Çok Açık	Açık	Koyu	Çok Koyu
KÇB			X	
SYB				X
GÇB				X
AYB	X			
NÇB		X		
YYB				X
ZÇB	X			
EÇB			X	
KYB		X		
BÇB			X	

KÇB: Konya bölgesi çiçek balı, SYB: Sivas bölgesi yayla balı, GÇB: Gürün bölgesi çiçek balı, AYB: Ankara bölgesi yayla balı, NÇB: Niğde bölgesi çiçek balı, YYB: Yılanlıdağ bölgesi yayla balı, ZÇB: Zara bölgesi çiçek balı, EÇB: Eskiköy bölgesi çiçek balı, KYB: Koyulhisar bölgesi yayla balı, BÇB: Bozdoğan bölgesi çam balı

Yapılan ölçüm sonuçlarına göre tüm ballardaki total amino asitlerin % 48'inin prolinde oluştuğu saptandı. Bal türlerine göre ölçülen prolin miktarları çizelge 4.2'de verilmiştir. En düşük prolin miktarları AYB ve ZÇB bölgesindeki ballarda saptandı. Prolin konsantrasyonlarındaki değişimi incelemek amacıyla yapılan eskitme

işleminde; 10 farklı bal türünün 0.ay ve 7.aya ait prolin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P < 0.001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.1). Benzer şekilde 1.ayın prolin konsantrasyonları ile 4. ve 7.ayların prolin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı (sırasıyla $P < 0.05$, < 0.001).

Çizelge 4.2. Bal türlerine göre ortalama prolin miktarları

Bal Türü	Ortalama Prolin Miktarı (nmol/ml)
KÇB	862,11
SYB	1100,76
GÇB	1421,58
AYB	106,41
NÇB	725,88
YYB	1428,84
ZÇB	454,25
EÇB	1062,56
KYB	881,69
BÇB	996,03

KÇB: Konya bölgesi çiçek balı, SYB: Sivas bölgesi yayla balı, GÇB: Gürün bölgesi çiçek balı, AYB: Ankara bölgesi yayla balı, NÇB: Niğde bölgesi çiçek balı, YYB: Yılanlıdağ bölgesi yayla balı, ZÇB: Zara bölgesi çiçek balı, EÇB: Eskiköy bölgesi çiçek balı, KYB: Koyulhisar bölgesi yayla balı, BÇB: Bozdoğan bölgesi çam balı

Fenilalanin konsantrasyonlarındaki değişim incelendiğinde; 0.ay ve 7.aya ait fenilalanin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark saptandı ($P < 0.001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2). Aynı şekilde 1.ayın fenilalanin konsantrasyonları ve 7.ay fenilalanin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P < 0.001$).

Eskitme işlemiyle bal türlerinin tirozin konsantrasyonlarındaki değişimi incelendiğinde; 0.ay ve 7.aya ait tirozin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark vardı ($P < 0.01$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3). Yine 1.ay ve 7.ayın tirozin konsantrasyonları arasında ve 4.ay ve 7.ayların tirozin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı (sırasıyla $P < 0.01$, < 0.05).

Bal türlerinin triptofan ve histidin konsantrasyonlarında 0. aya kıyasla 1. ve 4. aylar arasında önemli bir değişim gözlenmezken 7. ayda saptanamaması (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4 ve Şekil 4.5), 7. ayda yapılan ölçümde triptofan ve histidin ile ilgili elüsyonel yetersizliği akla getirdi.

Çizelge 4.3. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballardaki amino asit konsantrasyonlarının (nmol/ml) aylara göre değişimi

		0.Ay	1.Ay	4.Ay	7.Ay	AOD (%)	P Değeri
Prolin	Ortalama	1076,9	1102,0	812,3	624,8	6,00	<0.0001
	SS	495,0	475,6	357,6	347,7	4,25	
	Ortanca	1099,2	1200,5	903,0	668,5	5,60	
	Minimum	120,0	151,6	77,7	76,3	5,20	
	Maksimum	1868,8	1646,8	1287,9	1197,2	5,13	
Fenilalanin	Ortalama	163,1	174,2	121,4	72,1	7,97	<0.0001
	SS	169,7	181,4	124,8	107,7	5,22	
	Ortanca	81,9	70,6	64,3	4,3	13,54	
	Minimum	6,1	16,7	4,2	0,0	14,29	
	Maksimum	510,4	480,0	325,1	287,9	6,23	
Tirozin	Ortalama	35,16	34,92	28,92	0,92	13,91	0.0009
	SS	33,42	38,86	29,60	0,26	14,17	
	Ortanca	30,34	16,93	18,43	0,88	13,87	
	Minimum	1,17	3,55	3,47	0,57	7,33	
	Maksimum	98,60	104,76	80,29	1,36	14,09	
Triptofan	Ortalama	0,68	0,82	0,71	0,00	14,29	0.0015
	SS	0,68	0,92	0,76	0,00	14,29	
	Ortanca	0,46	0,53	0,44	0,00	14,29	
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	14,29	
	Maksimum	1,92	2,60	2,26	0,00	14,29	
Histidin	Ortalama	0,87	0,63	0,92	0,00	14,29	0.2856
	SS	1,47	1,34	1,51	0,00	14,29	
	Ortanca	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Maksimum	3,96	3,32	3,71	0,00	14,29	
Valin	Ortalama	448,1	530,5	392,8	360,9	2,78	0.0006
	SS	227,7	57,3	35,5	65,8	10,16	
	Ortanca	525,5	544,1	395,5	350,5	4,76	
	Minimum	28,1	432,5	333,1	249,3	-112,5	
	Maksimum	670,7	608,0	453,1	473,9	4,19	

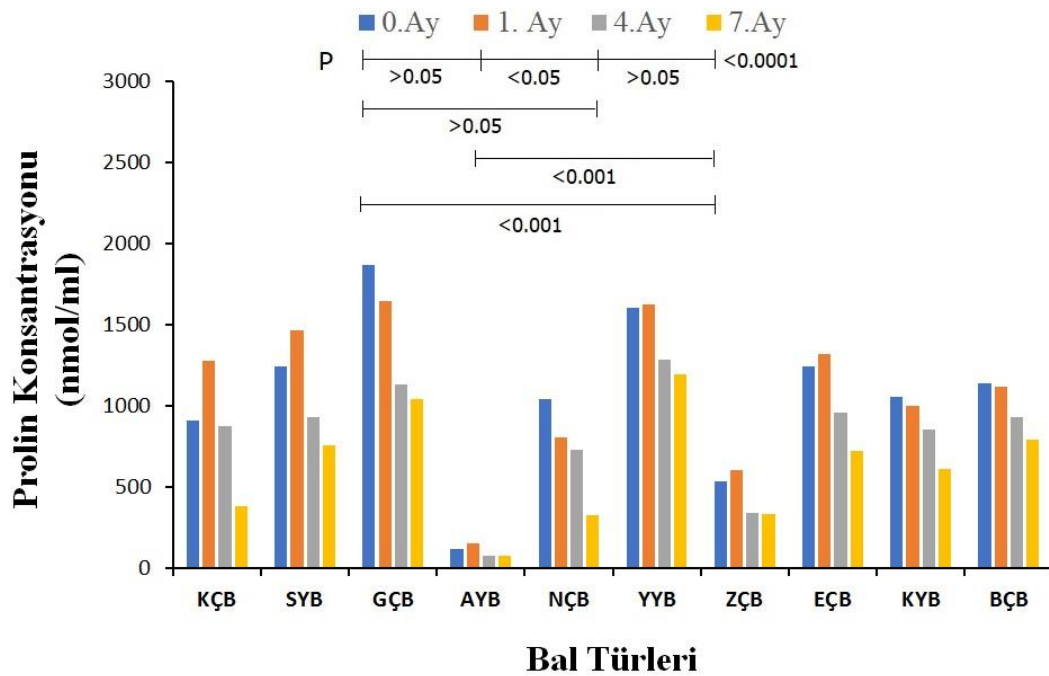
Lösin	Ortalama	5,81	5,70	4,05	0,55	12,93	
	SS	3,23	3,25	2,44	1,17	9,14	
	Ortanca	6,40	5,82	4,43	0,00	14,29	<0.0001
	Minimum	1,12	1,27	0,00	0,00	14,29	
	Maksimum	10,54	9,96	7,25	2,92	10,32	
izölsin	Ortalama	8,27	8,69	6,12	0,77	12,95	
	SS	5,37	5,10	3,70	1,63	9,95	
	Ortanca	7,38	8,30	6,13	0,00	14,29	<0.0001
	Minimum	2,08	1,59	0,00	0,00	14,29	
	Maksimum	18,04	15,68	10,94	3,92	11,18	
Metiyonin	Ortalama	6,18	4,82	3,26	0,00	14,29	
	SS	7,71	6,62	4,51	0,00	14,29	
	Ortanca	3,63	0,00	0,00	0,00	14,29	0.0078
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Maksimum	21,34	15,60	10,53	0,00	14,29	
Treonin	Ortalama	44,50	44,31	36,03	23,40	6,77	
	SS	17,08	16,51	3,68	16,45	0,52	
	Ortanca	47,11	49,91	36,97	31,38	4,77	0.0025
	Minimum	0,00	0,00	30,09	0,00	0,00	
	Maksimum	63,83	56,16	42,35	40,89	5,13	
Lizin	Ortalama	6,64	7,36	7,92	0,44	13,34	
	SS	4,77	6,02	6,45	0,61	12,47	
	Ortanca	5,25	5,77	7,65	0,00	14,29	0.0009
	Minimum	0,71	1,04	0,90	0,00	14,29	
	Maksimum	14,54	16,69	18,32	1,43	12,88	
Alanin	Ortalama	48,73	46,52	33,97	18,32	8,92	
	SS	26,79	25,87	19,66	16,59	5,44	
	Ortanca	47,77	51,61	33,91	14,08	10,07	<0.0001
	Minimum	9,55	9,37	5,65	3,58	8,93	
	Maksimum	85,63	76,32	57,69	51,17	5,75	
Glisin	Ortalama	47,00	41,72	38,16	59,80	-3,89	
	SS	36,77	34,25	26,47	19,82	6,58	
	Ortanca	27,86	22,38	21,06	62,91	-17,98	0.0477
	Minimum	18,34	15,09	14,21	13,39	3,85	
	Maksimum	119,07	94,57	78,11	83,74	4,24	

α -aminobutirik asit	Ortalama	2,49	2,38	1,78	1,74	4,30	0.0019
	SS	0,95	0,89	0,64	0,66	4,38	
	Ortanca	2,64	2,63	1,98	1,82	4,47	
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Maksimum	3,47	3,09	2,24	2,46	4,18	
allo-izolösin	Ortalama	7,51	7,63	5,68	0,76	12,83	<0.0001
	SS	4,65	4,52	3,22	1,42	9,92	
	Ortanca	6,77	7,26	6,39	0,00	14,29	
	Minimum	1,84	2,09	0,00	0,00	14,29	
	Maksimum	15,95	13,86	9,68	3,47	11,18	
α -aminoadipik asit	Ortalama	65,21	122,97	95,28	1,29	14,00	<0.0001
	SS	70,26	34,89	20,91	2,24	13,83	
	Ortanca	23,45	117,50	88,78	0,00	14,29	
	Minimum	5,79	80,27	72,06	0,00	14,29	
	Maksimum	177,75	193,58	129,63	7,11	13,71	
Asparagin	Ortalama	77,05	78,30	49,34	37,97	7,25	0.0002
	SS	44,74	53,51	34,69	17,26	8,77	
	Ortanca	64,31	58,54	44,39	43,40	4,64	
	Minimum	16,02	10,05	6,56	5,06	9,77	
	Maksimum	149,76	170,78	110,35	54,49	9,09	
Aspartik Asit	Ortalama	24,59	25,59	21,95	7,75	9,78	0.0002
	SS	15,59	15,22	13,13	12,48	2,85	
	Ortanca	17,86	22,51	21,58	1,18	13,34	
	Minimum	6,47	6,77	6,49	0,00	14,29	
	Maksimum	46,26	43,47	41,12	36,40	3,04	
β -aminoizobutirik Asit	Ortalama	71,41	68,93	68,80	40,71	6,14	0.0858
	SS	39,20	34,24	24,96	39,43	-0,08	
	Ortanca	65,53	63,63	65,12	20,70	9,77	
	Minimum	30,28	26,75	26,69	13,08	8,12	
	Maksimum	158,15	146,99	113,59	116,32	3,78	
Glutamik Asit	Ortalama	23,43	25,19	20,74	3,82	11,96	0.0022
	SS	24,02	25,23	21,41	8,16	9,43	
	Ortanca	17,20	21,32	21,67	0,00	14,29	
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Maksimum	77,58	86,15	72,45	21,92	10,25	

Hidroksiprolin	Ortalama	8,53	10,91	8,75	0,20	13,94	
	SS	8,23	4,73	3,01	0,64	13,17	
	Ortanca	4,94	11,38	9,19	0,00	14,29	0.0005
	Minimum	0,00	3,15	3,17	0,00	0,00	
	Maksimum	21,69	20,39	12,89	2,04	12,95	
Sarkozin	Ortalama	19,84	19,91	14,99	9,28	7,61	
	SS	9,34	7,68	5,08	7,93	2,17	
	Ortanca	22,55	21,18	16,20	4,89	11,19	0.0018
	Minimum	6,22	9,14	5,51	3,19	6,95	
	Maksimum	32,65	30,37	23,61	24,04	3,77	
Tiyoprolin	Ortalama	1,43	0,99	0,87	0,00	14,29	
	SS	1,59	1,60	1,41	0,00	14,29	
	Ortanca	0,80	0,00	0,00	0,00	14,29	0.0431
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Maksimum	3,53	3,58	3,18	0,00	14,29	
Serin	Ortalama	23,09	25,66	24,40	2,65	12,64	
	SS	20,44	19,06	19,78	5,63	10,35	
	Ortanca	20,58	24,03	24,07	0,00	14,29	0.0047
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Maksimum	46,31	54,29	47,79	14,59	9,79	
Glutamin	Ortalama	13,34	14,35	18,12	2,39	11,72	
	SS	17,86	18,18	15,70	5,09	10,22	
	Ortanca	5,54	5,81	14,84	0,00	14,29	0.0065
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	Maksimum	52,51	51,73	52,76	13,36	10,65	
Hidroksilizin	Ortalama	46,52	73,69	92,06	0,00	14,29	
	SS	49,56	36,97	18,57	0,00	14,29	
	Ortanca	26,88	64,84	90,29	0,00	14,29	0.0001
	Minimum	2,17	25,42	53,78	0,00	14,29	
	Maksimum	145,77	143,72	115,08	0,00	14,29	
Ornitin	Ortalama	1,009	0,249	0,221	0,000	14,29	
	SS	1,192	0,192	0,214	0,000	14,29	
	Ortanca	0,770	0,329	0,235	0,000	14,29	0.0164
	Minimum	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	
	Maksimum	3,078	0,480	0,565	0,000	14,29	

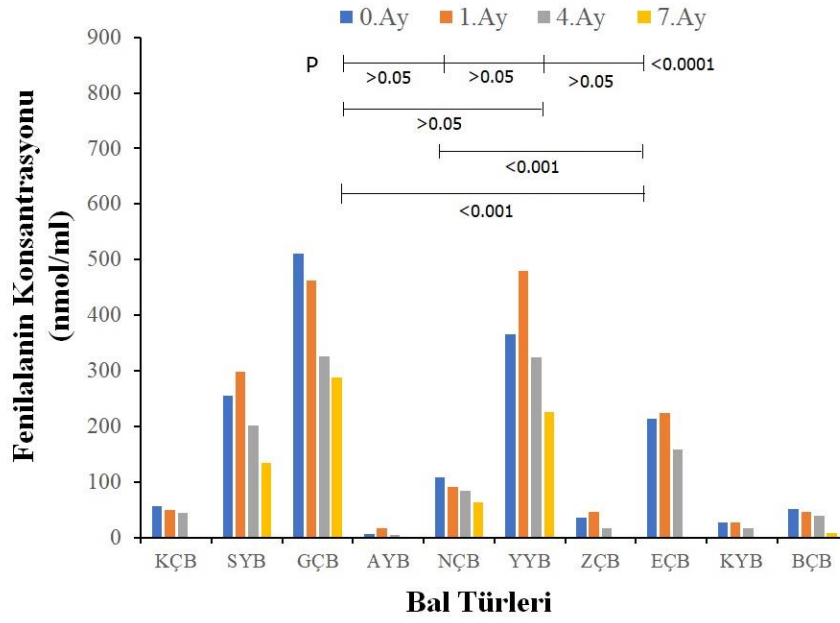
Prolin- hidroksiprolin	Ortalama	0,862	1,275	1,479	0,060	13,29	0.0017
	SS	0,869	0,814	0,422	0,133	12,11	
	Ortanca	0,743	1,297	1,408	0,000	14,29	
	Minimum	0,000	0,000	0,907	0,000	0,00	
	Maksimum	2,428	3,052	2,379	0,417	11,83	

P değerini saptamak için Friedman Testi (nonparametrik tekrarlayan ölçümlerde ANOVA) kullanıldı. 0.Ay ölçümleri Aralık 2018'in ilk haftasında yapılmıştır. KÇB: Konya bölgesi çiçek balı, SYB: Sivas bölgesi yayla balı, GÇB: Gürün bölgesi çiçek balı, AYB: Ankara bölgesi yayla balı, NÇB: Niğde bölgesi çiçek balı, YYB: Yılanlıdağ bölgesi yayla balı, ZÇB: Zara bölgesi çiçek balı, EÇB: Eskiköy bölgesi çiçek balı, KYB: Koyulhisar bölgesi yayla balı, BÇB: Bozdoğan bölgesi çam balı, AOD: Aylık ortalama değişim yüzdesi, sonucun -(eksi) çıkması ilk ölçüme kıyasla aylık değişimin artan yönde olduğunu göstermektedir. Post-testler (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) şekil 1-28 ile birlikte verilmiştir.

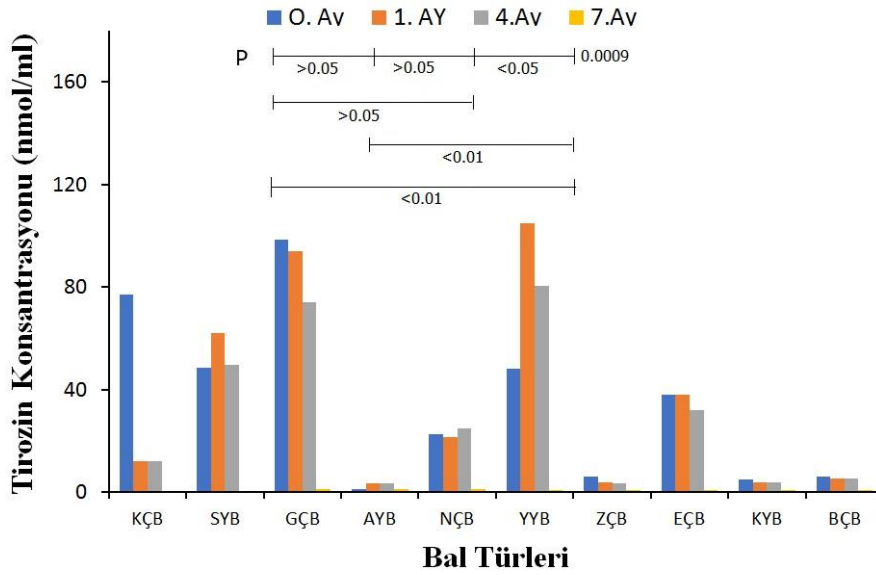


Şekil 4.1. Farklı bal türlerine göre prolin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir. Aynı şekilde 1.ay ile 4. ve 7.aylar arasında da anlamlı fark izlenmektedir.

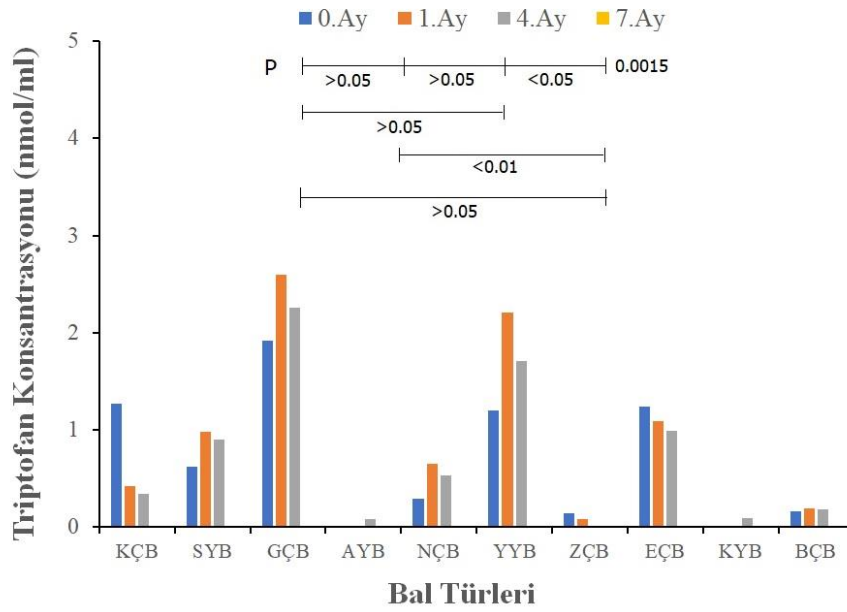
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türleri valin konsantrasyonları açısından incelendiğinde; 1.ayın valin konsantrasyonları ile 4. ve 7.ayların valin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark vardı ($P < 0.01$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.6).



Şekil 4.2. Farklı bal türlerine göre fenilalanin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark izlenmektedir.



Şekil 4.3. Farklı bal türlerine göre tirozin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark olduğu görülmektedir. Ayrıca 4.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark izlenmektedir.

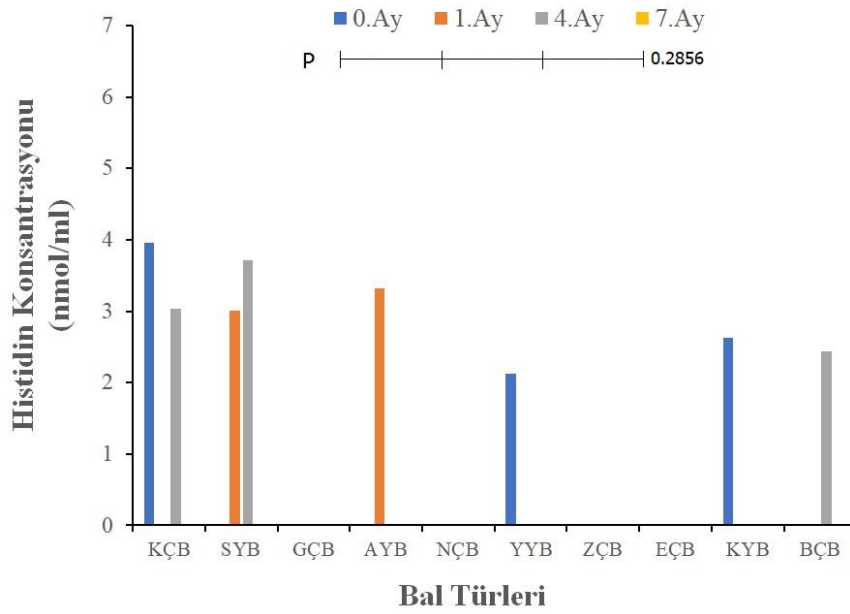


Şekil 4.4. Farklı bal türlerine göre triptofan konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 1.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 4.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark olduğu görülmektedir.

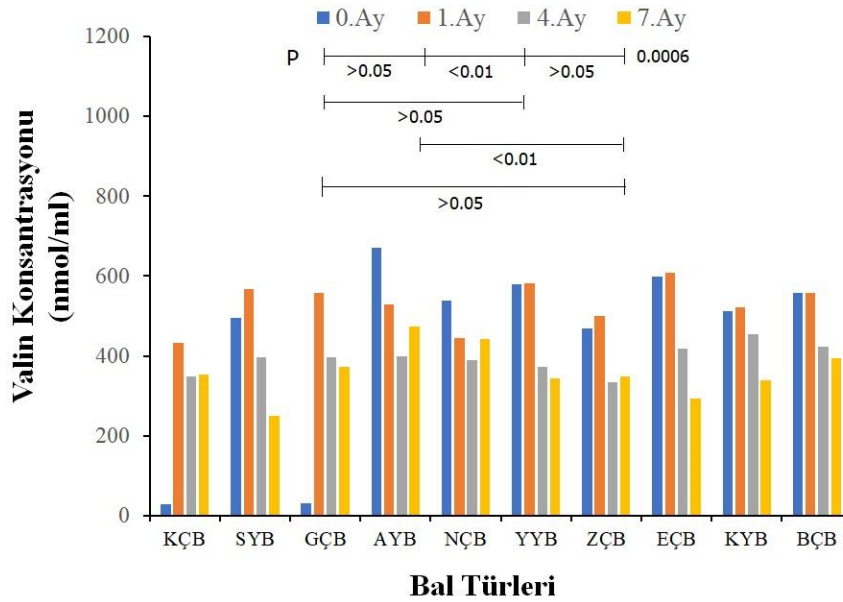
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin lösün konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ayın lösün konsantrasyonları ile 4. ve 7.ayların lösün konsantrasyonları arasında azalış yönünde istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($P < 0.001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.7). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ayın lösün konsantrasyonları arasında saptanan fark da istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0.05$).

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin izolösün konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ayın izolösün konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P < 0.001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.8). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ayın izolösün konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P < 0.001$).

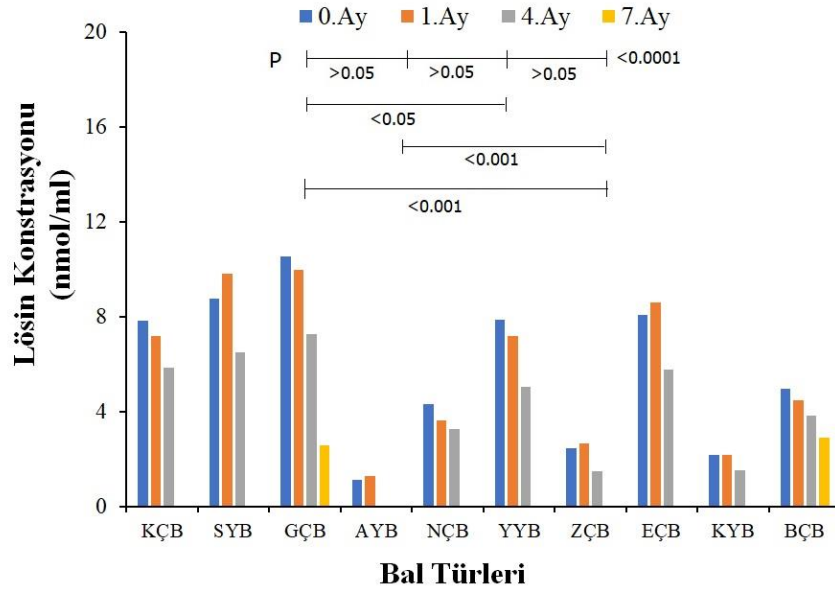
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin metiyonin konsantrasyonları incelendiğinde; sadece 0.ay ve 7.ayın metiyonin konsantrasyonları arasında azalış yönünde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.9) ($P < 0.05$).



Şekil 4.5. Farklı bal türlerine göre histidin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda aylar arasında anlamlı fark saptanmadı.



Şekil 4.6. Farklı bal türlerine göre valin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 1.ay ile 4. ve 7.aylar arasında anlamlı fark görülmektedir.



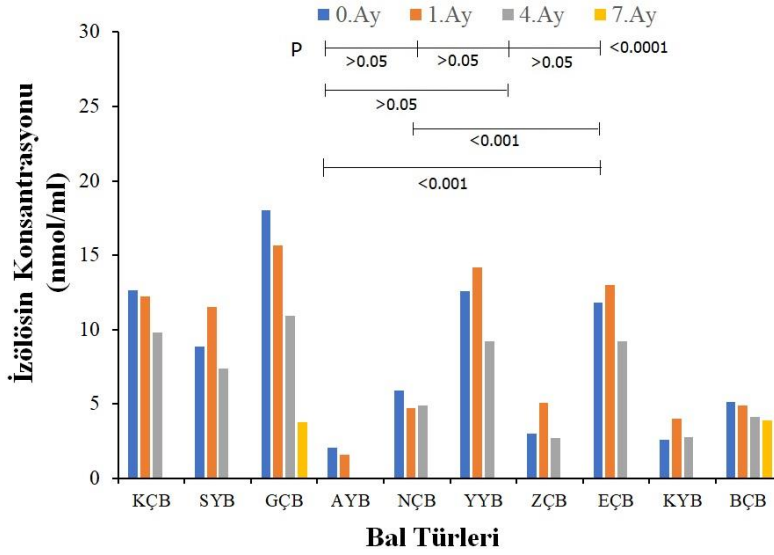
Şekil 4.7. Farklı bal türlerine göre lösün konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 4. ve 7.aylar arasında anlamlı fark görülmektedir. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark izlenmektedir.

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin treonin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ayın treonin konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak azalış yönünde anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.10) ($P < 0.05$). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ayın treonin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P < 0.05$).

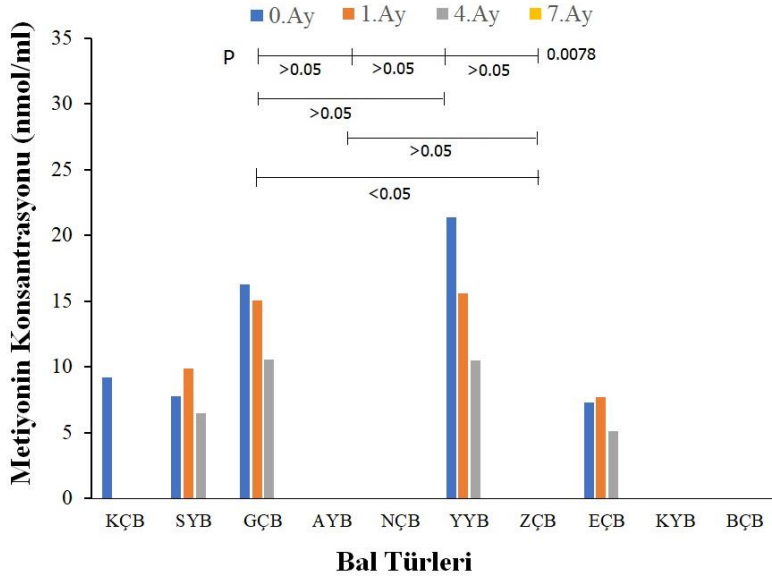
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin lizin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ayın lizin konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak azalış yönünde anlamlı fark vardı ($P < 0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.11). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ayın lizin konsantrasyonları ve 4.ay ve 7.ayın lizin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P < 0.01$).

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin alanin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay alanin konsantrasyonları ile 4. ve 7.ayların alanin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu (sırasıyla $P < 0.001$,

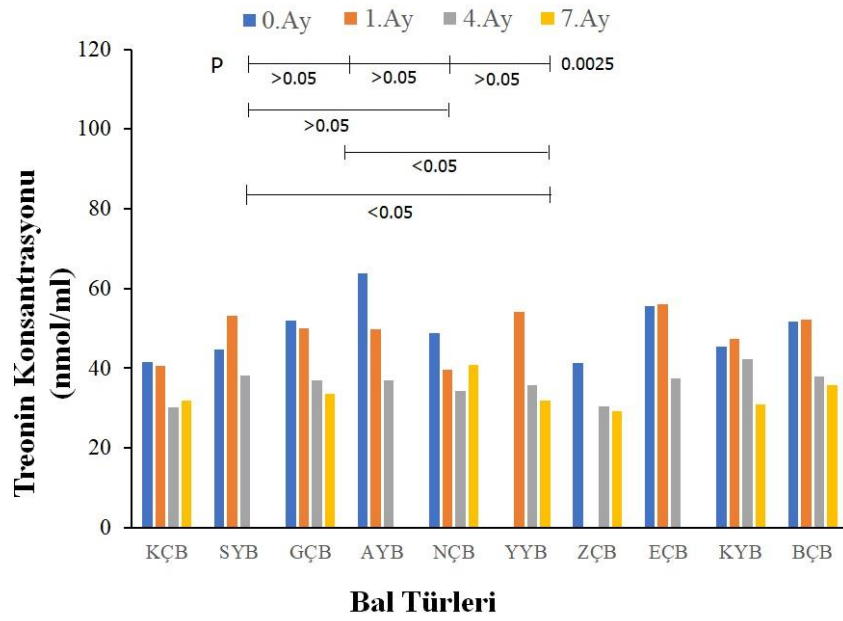
<0.05) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.12). Benzer şekilde 1.ay ile 7.ayın alanın konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($P<0.001$).



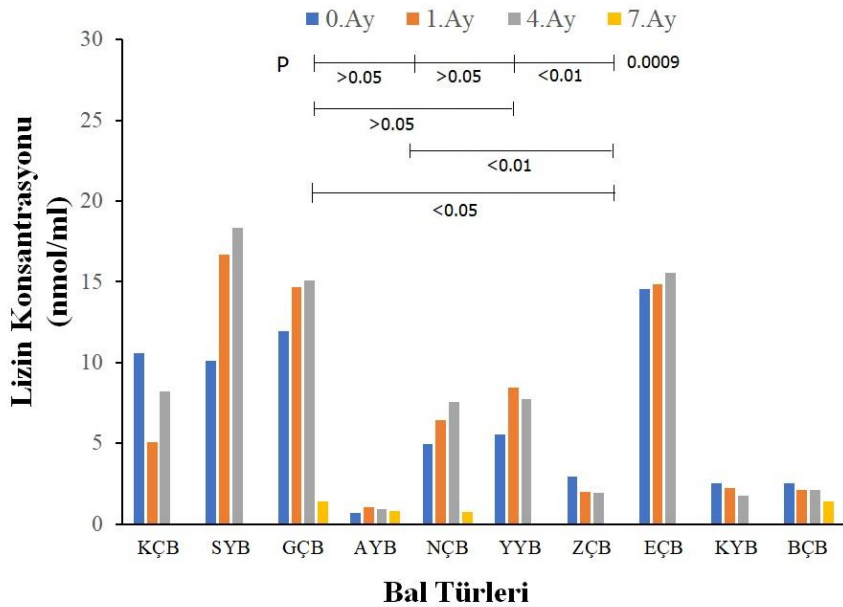
Şekil 4.8. Farklı bal türlerine göre izölösün konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay ve 1.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark olduğu izlenmektedir.



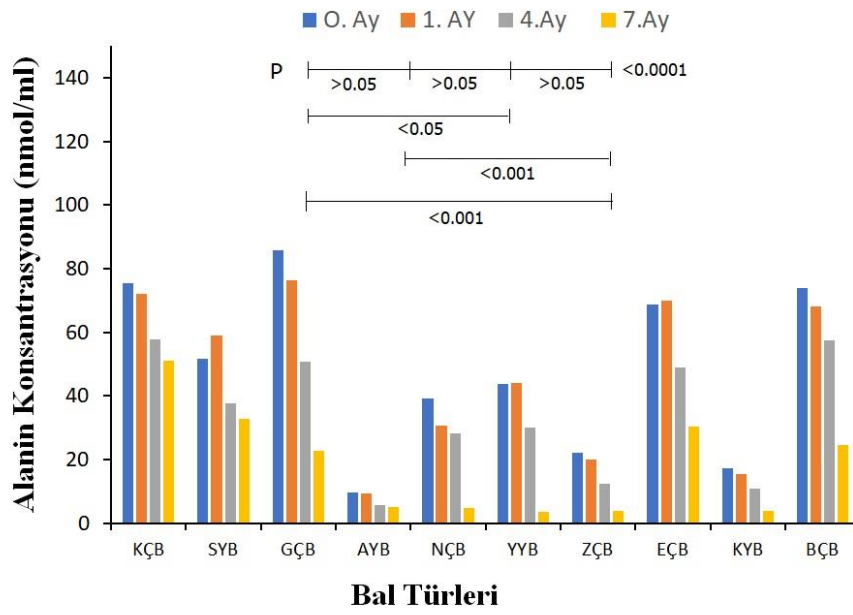
Şekil 4.9. Farklı bal türlerine göre metiyonin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark izlenmektedir.



Şekil 4.10. Farklı bal türlerine göre treonin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir. Aynı şekilde 1.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark izlenmektedir.



Şekil 4.11. Farklı bal türlerine göre lizin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay, 1.ay ile 7.ay ve 4.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark izlenmektedir.



Şekil 4.12. Farklı bal türlerine göre alanin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 4. ve 7. aylar arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir. Benzer şekilde 1. ay ile 7. ay arasında da anlamlı fark olduğu izlenmektedir.

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin glisin konsantrasyonları incelendiğinde; 4. ay ve 7. ayın glisin konsantrasyonları arasında artış yönünde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($P < 0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.13). Bunun muhtemel sebebi sarkozinin glisine spontan ve hızlı dönüşümünden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

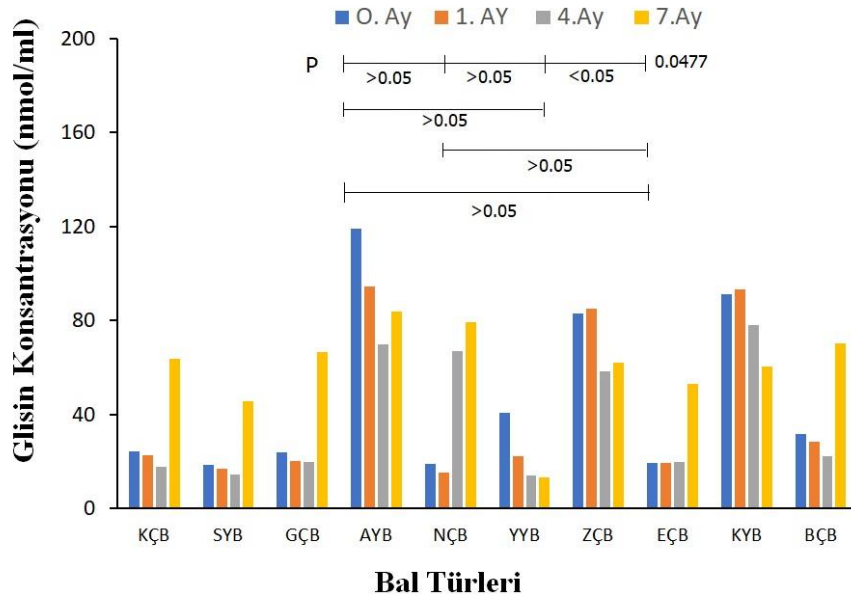
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin α -aminobutirik asit konsantrasyonları incelendiğinde; 0. ayın α -aminobutirik asit konsantrasyonları ile 4. ay ve 7. ayların α -aminobutirik asit konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark vardı ($P < 0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.14). Benzer şekilde 1. ay ve 7. ayın α -aminobutirik asit konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P < 0.05$).

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin allo-izolösün konsantrasyonları incelendiğinde; 0. ay ve 7. ayın allo-izolösün konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark vardı ($P < 0.001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.15). Benzer şekilde 1. ay ile 7. ay allo-izölösün konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P < 0.05$).

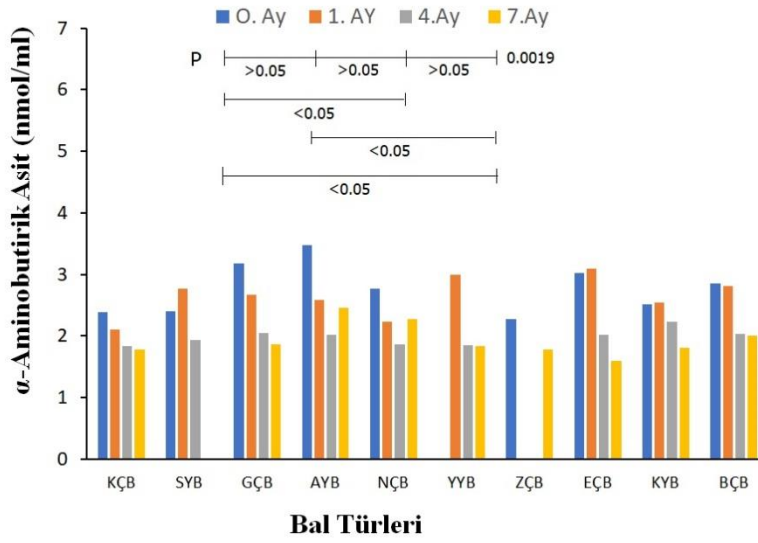
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin α -aminoadipik asit konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ayın α -aminoadipik asit konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.16). Benzer şekilde 1.ay ile 7.ay ve 4.ay ile 7.ay α -aminoadipik asit konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı (sırasıyla $P<0.001$, <0.05).

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin asparagin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ayın asparagin konsantrasyonları ile 4.ay ve 7.ayların asparagin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.01$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.17). Benzer şekilde 1.ay ile 4.ay asparagin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P<0.05$).

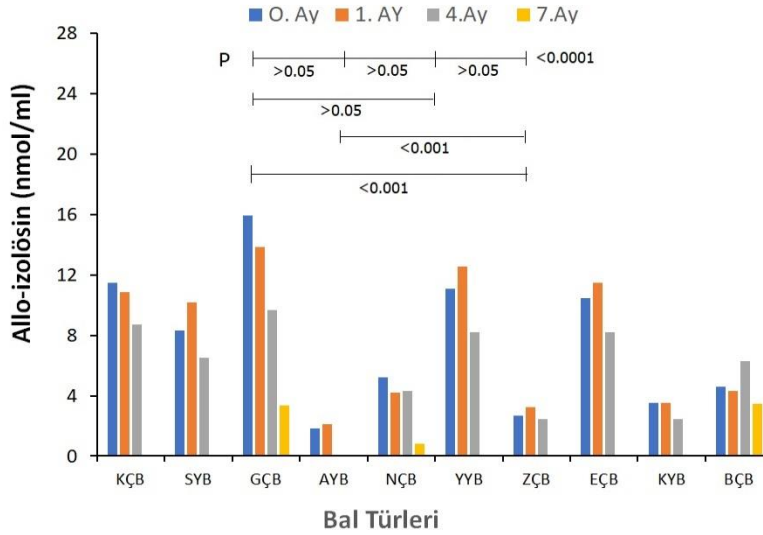
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin aspartik asit konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ayın aspartik asit konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.01$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.18). Benzer şekilde 1.ay ile 7.ay aspartik asit konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P<0.001$).



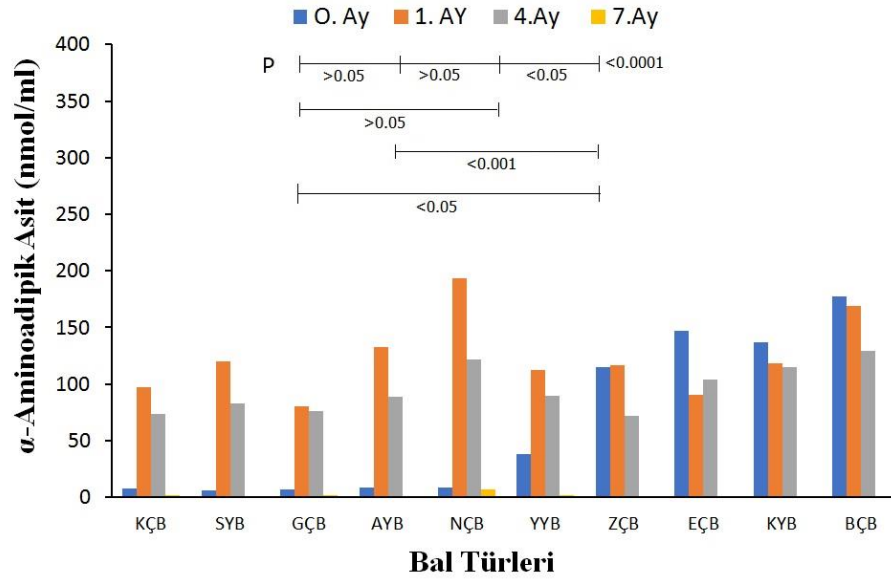
Şekil 4.13. Farklı bal türlerine göre glisin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 4.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur.



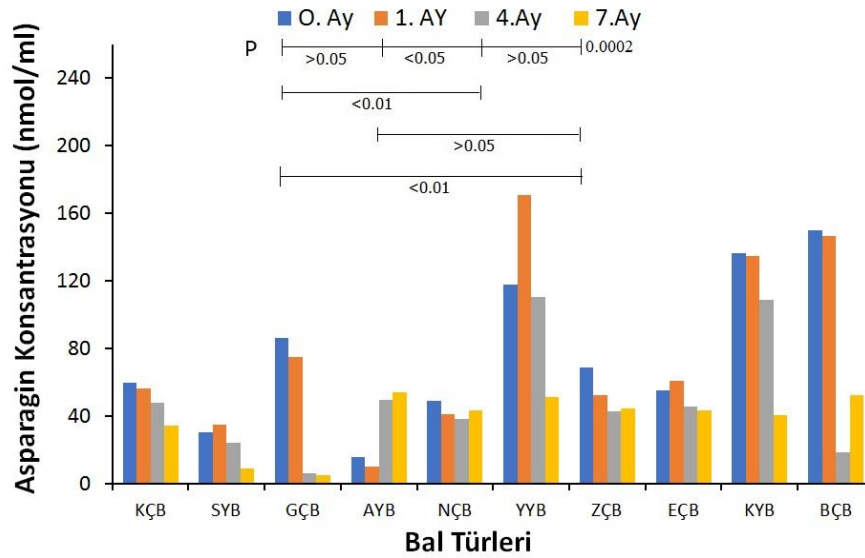
Şekil 4.14. Farklı bal türlerine göre α -aminobütirik asit konsantrasyonları. Post-test ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 4.ay ve 7.aylar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



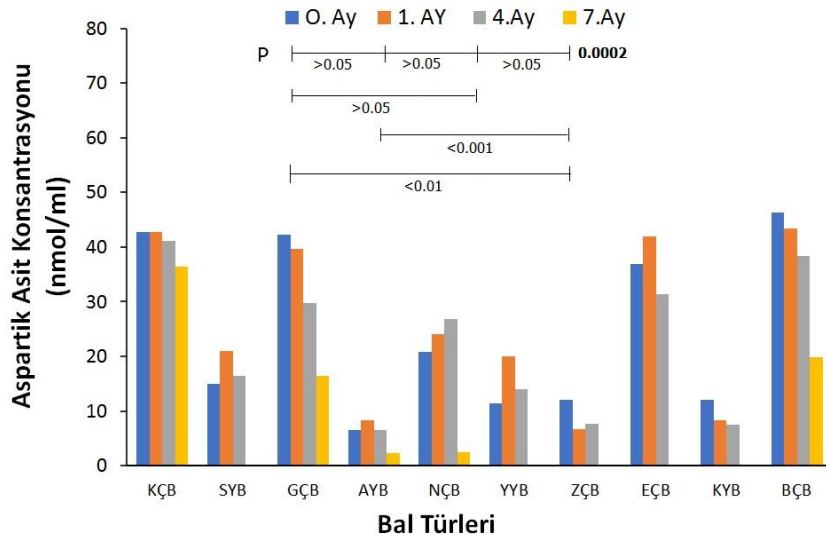
Şekil 4.15. Farklı bal türlerine göre allo-izolösin konsantrasyonları. Post-test ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



Şekil 4.16. Farklı bal türlerine göre α -aminoadipik asit konsantrasyonları. Post-test ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı. Ayrıca 4.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.

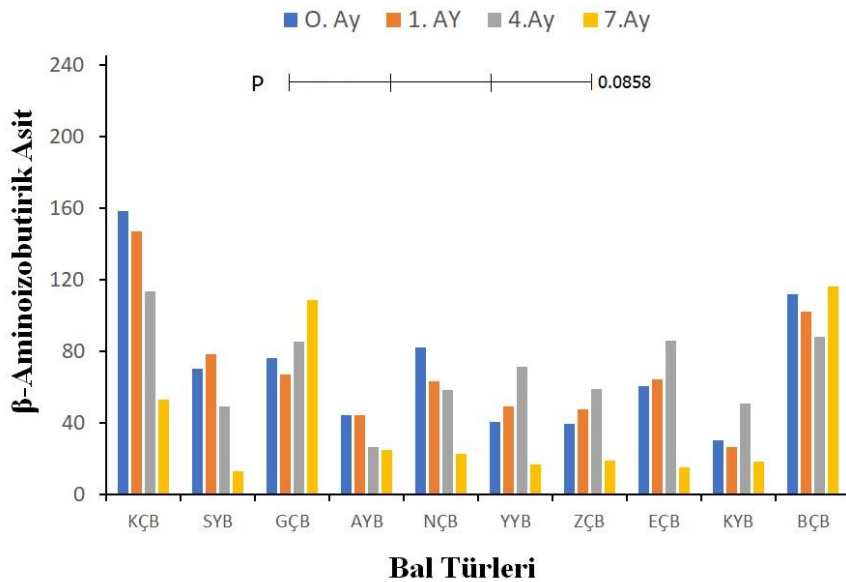


Şekil 4.17. Farklı bal türlerine göre asparagin konsantrasyonları. Post-test ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 4.ay ve 7.aylar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 4.ay arasında da anlamlı fark vardı.



Şekil 4.18. Farklı bal türlerine göre aspartik asit konsantrasyonları. Post-test ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark olduğu izlenmektedir.

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin β -aminoizobutirik asit konsantrasyonları incelendiğinde; 0., 1., 4. ve 7. aylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($P=0.0858$) (Şekil 4.19).

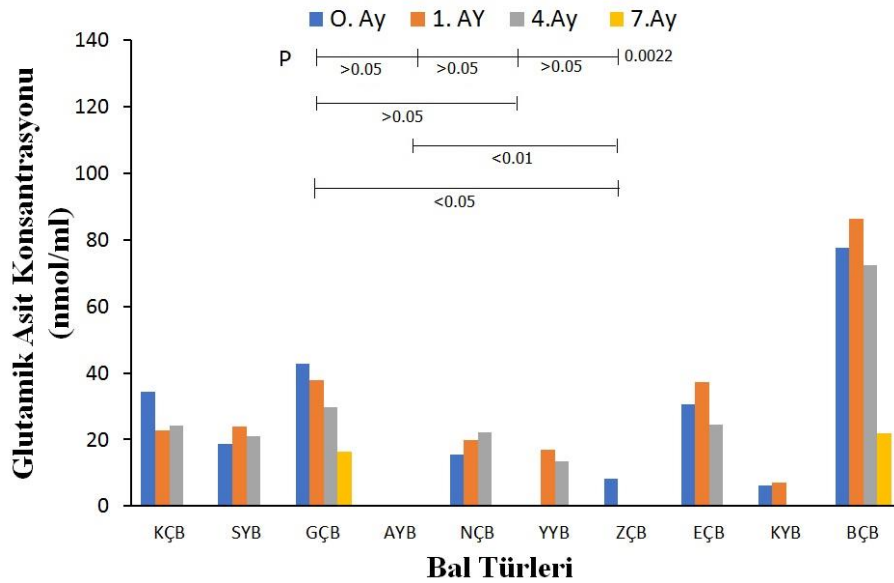


Şekil 4.19. Farklı bal türlerine göre β -aminoizobutirik asit konsantrasyonları. Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda aylar arasında anlamlı fark gözlenmemektedir.

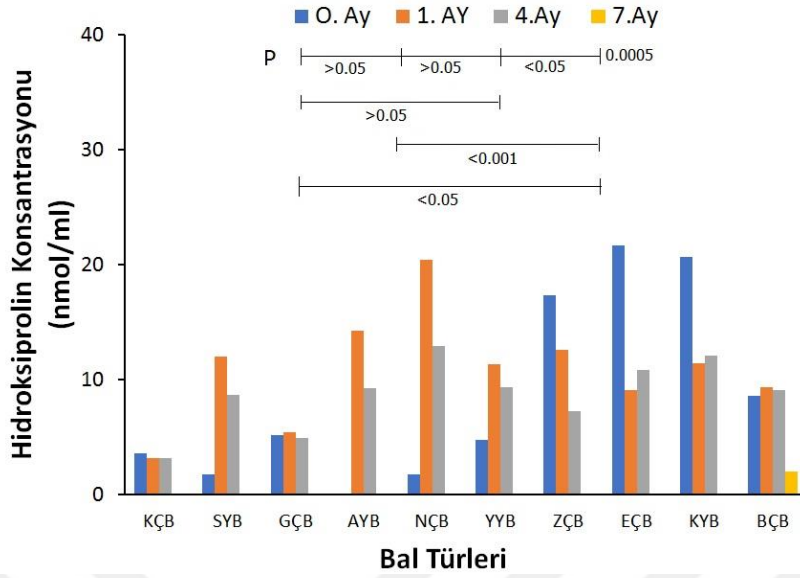
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin glutamik asit konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ayın glutamik asit konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark vardı ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.20). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay glutamik asit konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P<0.05$).

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin hidroksiprolin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ayın hidroksiprolin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.21). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay hidroksiprolin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P<0.001$). Aynı şekilde 4.ay ile 7.ay hidroksiprolin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P<0.05$).

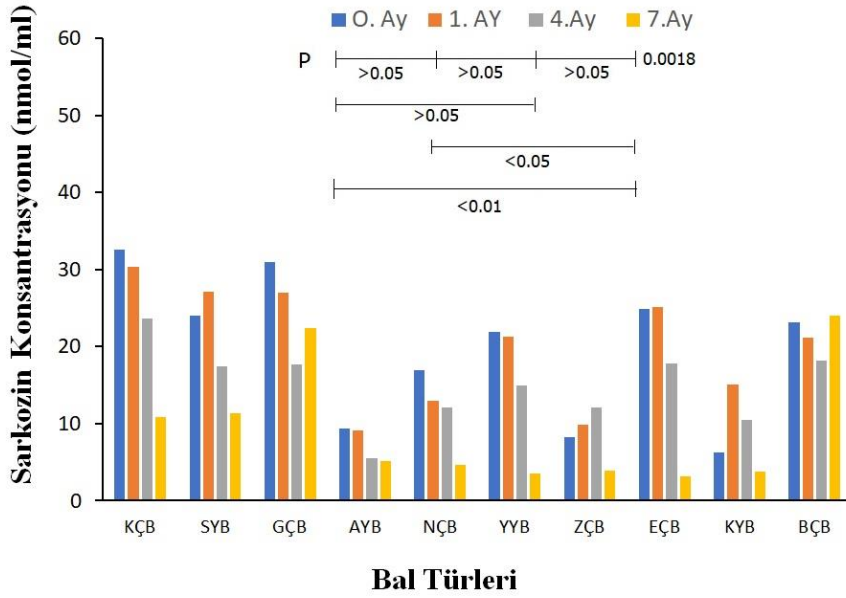
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin sarkozin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ay sarkozin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.01$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.22). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay sarkozin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P<0.05$).



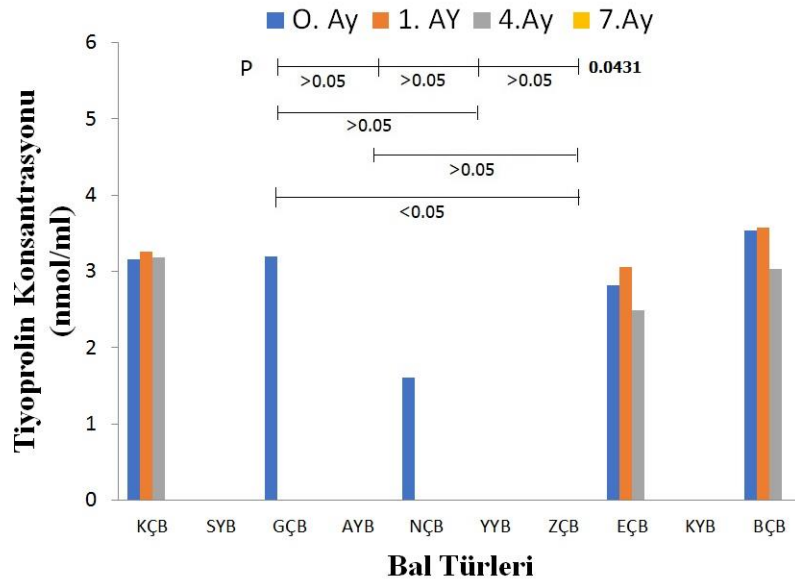
Şekil 4.20. Farklı bal türlerine göre glutamik asit konsantrasyonları. Post-test ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



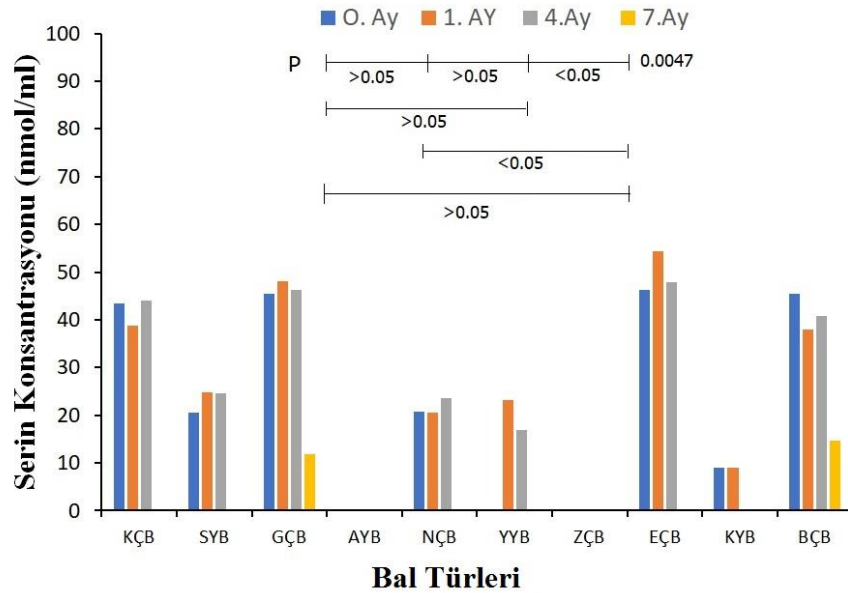
Şekil 4.21. Farklı bal türlerine göre hidroksiprolin konsantrasyonları. Post-test ile birlikte Friedman test kullanılarak yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı. Ayrıca 4.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



Şekil 4.22. Farklı bal türlerine göre sarkozin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



Şekil 4.23. Farklı bal türlerine göre tiyoprolin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur.



Şekil 4.24. Farklı bal türlerine göre serin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 1.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 4.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin tiyoprolin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ay tiyoprolin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.23).

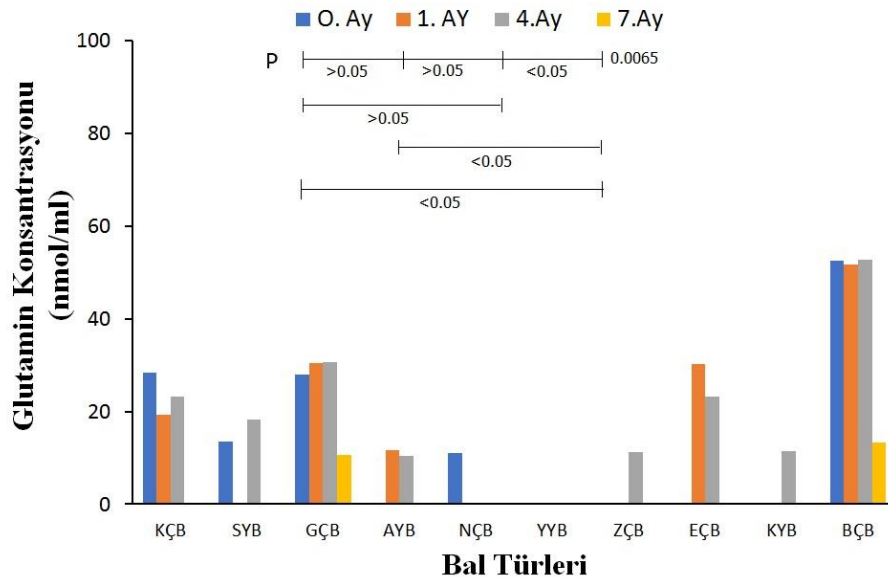
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin serin konsantrasyonları incelendiğinde; 1.ay ve 7.ay serin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.24). Benzer şekilde 4.ay ve 7.ay serin konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmektedir ($P<0.05$).

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin glutamin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ay serin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.25). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay glutamin konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmektedir ($P<0.05$). Ayrıca 4.ay ve 7.ay glutamin konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$).

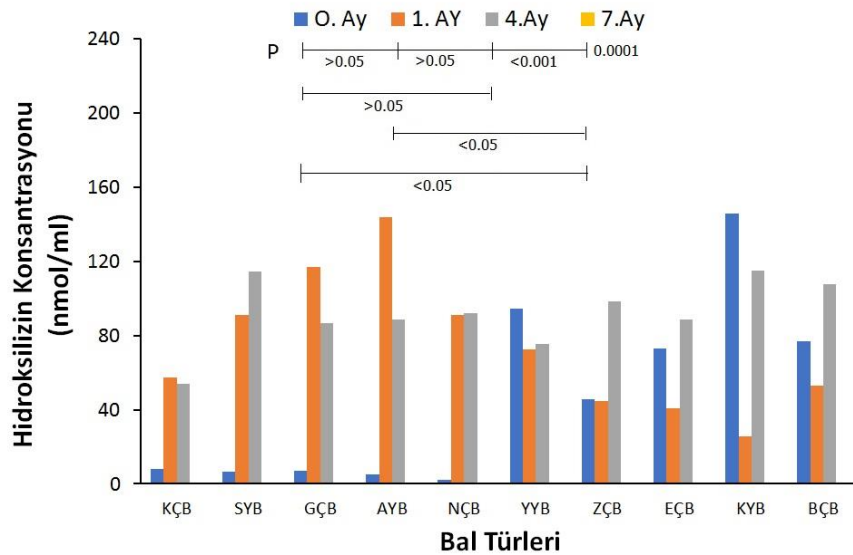
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin hidroksilizin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ay hidroksilizin konsantrasyonları arasında anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.26). Benzer şekilde 1.ay ile 7.ay ve 4.ay ile 7.ay hidroksilizin konsantrasyonları arasında da anlamlı fark izlenmektedir (sırasıyla $P<0.05$ ve $P<0.001$). Çizelge 4.3 incelendiğinde hidroksilizin konsantrasyonlarının zamanla artış eğilimi gösterirken 7. ayda birden saptanamaması, 7. ayda yapılan ölçümde hidroksilizin ile ilgili elüsyonel yetersizliğini akla getirdi.

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin ornitin konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ay ornitin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.27).

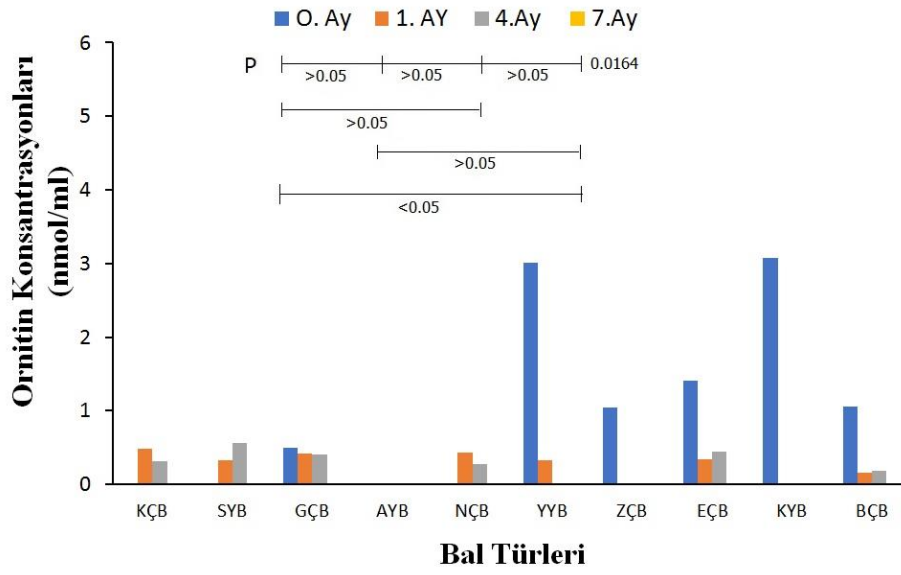
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin prolin-hidroksiprolin konsantrasyonları incelendiğinde; 4.ay ve 7.ay prolin-hidroksiprolin konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.01$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.28).



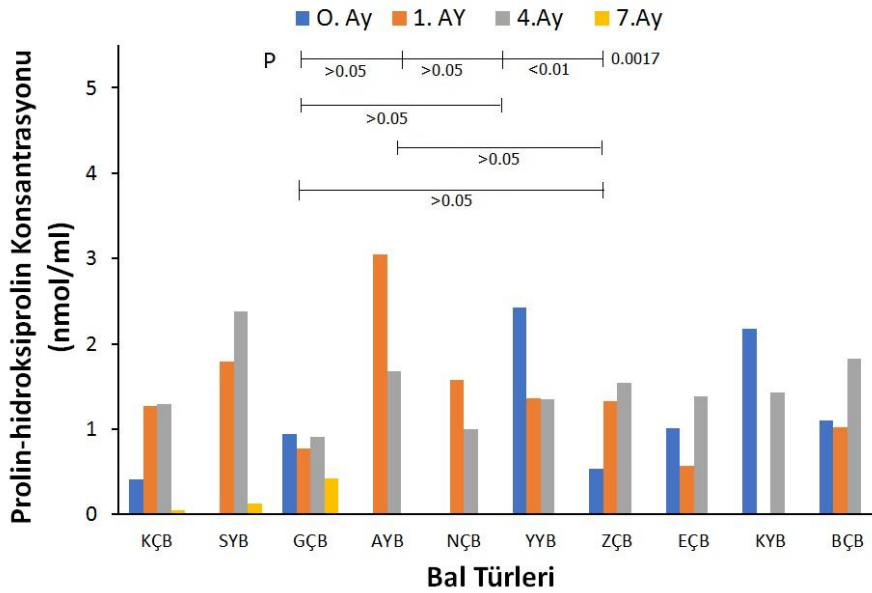
Şekil 4.25. Farklı bal türlerine göre glutamin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı. Ayrıca 4.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



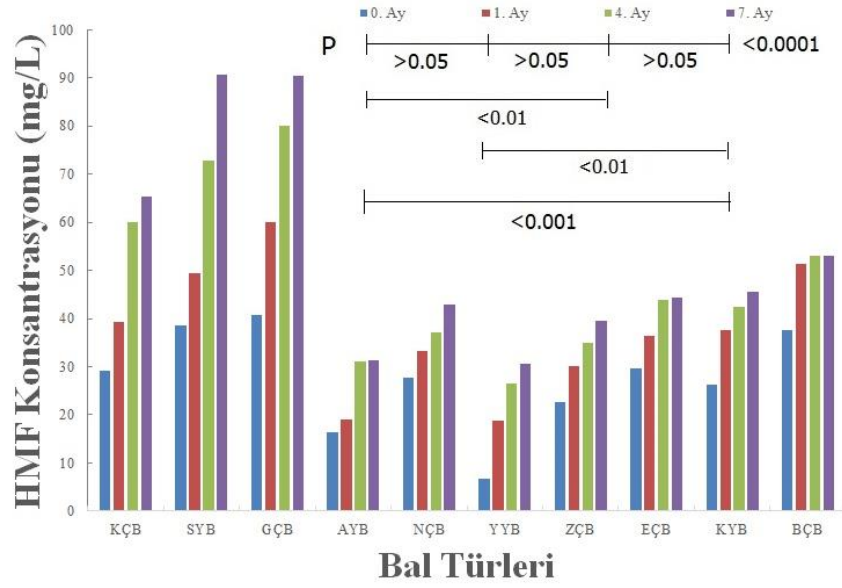
Şekil 4.26. Farklı bal türlerine göre hidroksilizin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı. Ayrıca 4.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



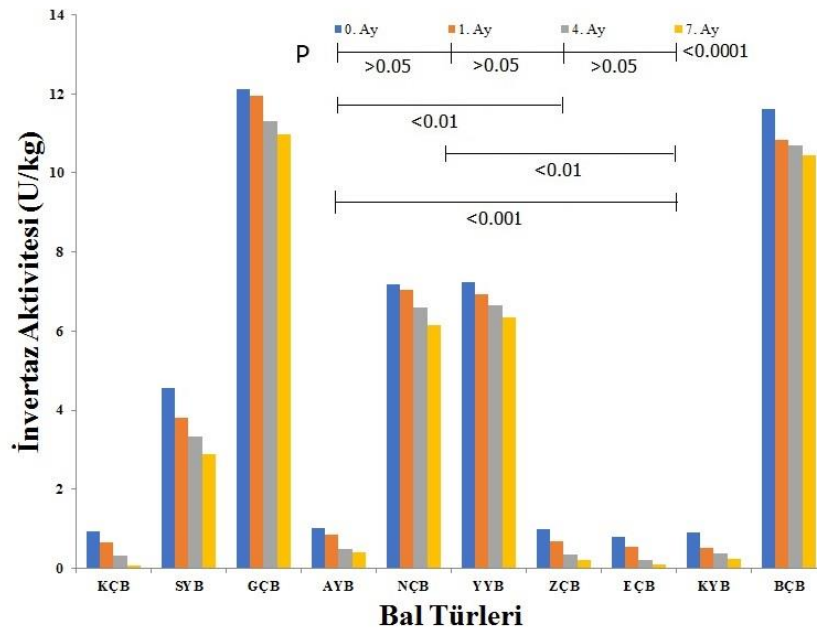
Şekil 4.27. Farklı bal türlerine göre ornitin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur.



Şekil 4.28. Farklı bal türlerine göre prolin-hidroksiprolin konsantrasyonları. Post-test (Dunn'ın çoklu karşılaştırmalar testi) ile birlikte Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 4.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur.



Şekil 4.29. Farklı bal türlerine göre 5-hidroksimetil furfural (HMF) konsantrasyonları. Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 4.ay ve 7.aylar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da fark vardı.



Şekil 4.30. Farklı bal türlerine göre invertaz aktivitesi düzeyleri. Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 4.ay ve 7.aylar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da fark vardı.

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin HMF konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ile 4.ay ve 7.ay HMF konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak artış yönünde anlamlı fark bulundu (sırasıyla $P < 0.01$, < 0.001) (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.29). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay arasında da HMF konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmektedir ($P < 0.01$).

Çizelge 4.4. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballardaki 5-hidroksi metil furfural (HMF) konsantrasyonlarının (mg/L) aylara göre değişimi

	0.Ay (I)	1.Ay (II)	4.Ay (III)	7.Ay (IV)	AOD (%)	P Değeri
KÇB	29,21	39,25	59,93	65,30	17,64	
SYB	38,56	49,48	72,84	90,72	19,32	
GÇB	40,79	59,92	79,94	90,50	17,41	
AYB	16,43	19,10	31,20	31,29	12,92	
NÇB	27,63	33,22	37,20	42,98	7,94	
YYB	6,82	18,72	26,40	30,50	49,65	
ZÇB	22,54	30,05	35,01	39,64	10,84	
EÇB	29,56	36,48	43,79	44,35	7,14	
KYB	26,32	37,50	42,54	45,46	10,39	
BÇB	37,71	51,25	58,38	61,48	9,01	
Ortalama	27,56	37,50	48,72	54,22	13,82	
SS	10,47	13,35	18,15	22,17	15,97	
Ortanca	28,42	36,99	43,16	44,90	8,28	^a <0.0001
Minimum	6,82	18,72	26,40	30,50	49,65	
Maksimum	40,79	59,92	79,94	90,72	17,49	
*Karşılaştırma	I-II >0.05	I-III <0.01	I-IV <0.001	II-III >0.05	II-IV <0.01	III-IV >0.05

^a P değerini saptamak için Friedman Testi (nonparametrik tekrarlayan ölçümlerde ANOVA) kullanıldı.

*ANOVA ile elde edilen P değeri < 0.05 ise, gruplar (sırasıyla, 0.Ay-1.Ay, 0.Ay-4.Ay, 0.Ay-7.Ay, 1.Ay-4.Ay, 1.Ay-7.Ay ve 4.Ay-7.Ay) post test (Dunn's Multiple Comparisons Test) kullanılarak karşılaştırıldı. 0.Ay ölçümleri Aralık 2018'in ilk haftasında yapılmıştır. KÇB: Konya bölgesi çiçek balı, SYB: Sivas bölgesi yayla balı, GÇB: Gürün bölgesi çiçek balı, AYB: Ankara bölgesi yayla balı, NÇB: Niğde bölgesi çiçek balı, YYB: Yılanlıdağ bölgesi yayla balı, ZÇB: Zara bölgesi çiçek balı, EÇB: Eskiköy bölgesi çiçek balı, KYB: Koyulhisar bölgesi yayla balı, BÇB: Bozdoğan bölgesi çam balı, AOD: Aylık ortalama değişim yüzdesi.

Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin invertaz aktivitesi düzeyleri incelendiğinde; 0.ay ile 4.ay ve 7.ay invertaz aktivitesi düzeyleri arasında istatistiksel

olarak azalış yönünde anlamlı fark bulundu (sırasıyla $P < 0.01$, < 0.001) (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.30). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay arasında da invertaz aktivitesi düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmektedir ($P < 0.01$).

Çizelge 4.5. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballarda invertaz aktivitesinin (IU/kg) aylara göre değişimi

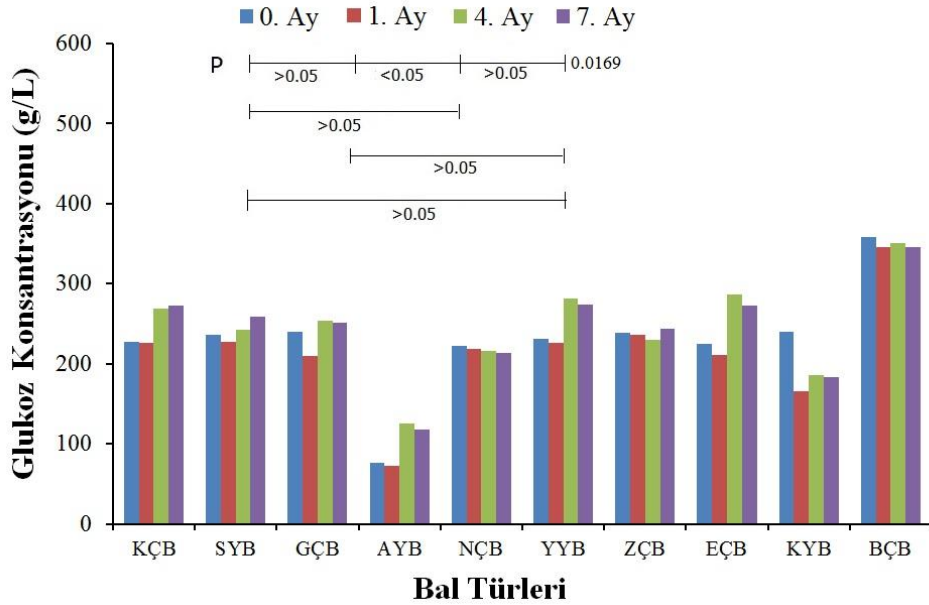
	0.Ay (I)	1.Ay (II)	4.Ay (III)	7.Ay (IV)	AOD (%)	^aP Değeri
KÇB	0,93	0,66	0,33	0,08	13,06	
SYB	4,56	3,81	3,34	2,90	5,19	
GÇB	12,13	11,95	11,30	10,98	1,36	
AYB	1,02	0,86	0,48	0,41	8,61	
NÇB	7,18	7,04	6,60	6,15	2,05	
YYB	7,24	6,95	6,66	6,34	1,78	
ZÇB	1,00	0,69	0,34	0,21	11,26	
EÇB	0,79	0,56	0,20	0,11	12,34	
KYB	0,92	0,51	0,39	0,24	10,47	
BÇB	11,62	10,83	10,70	10,44	1,45	
Ortalama	4,74	4,39	4,03	3,79	2,87	
SS	4,55	4,50	4,46	4,38	0,54	
Ortanca	2,79	2,34	1,91	1,65	5,82	< 0.0001
Minimum	0,79	0,51	0,20	0,08	12,86	
Maksimum	12,13	11,95	11,30	10,98	1,36	
*Karşılaştırma	I-II >0.05	I-III <0.01	I-IV <0.001	II-III >0.05	II-IV <0.01	III-IV >0.05

a P değerini saptamak için Friedman Testi (nonparametrik tekrarlayan ölçümlerde ANOVA) kullanıldı. *ANOVA ile elde edilen P değeri < 0.05 ise, gruplar (sırasıyla, 0.Ay-1.Ay, 0.Ay-4.Ay, 0.Ay-7.Ay, 1.Ay-4.Ay, 1.Ay-7.Ay ve 4.Ay-7.Ay) post test (Dunn's Multiple Comparisons Test) kullanılarak karşılaştırıldı. 0.Ay ölçümleri Aralık 2018'in ilk haftasında yapılmıştır. KÇB: Konya bölgesi çiçek balı, SYB: Sivas bölgesi yayla balı, GÇB: Gürün bölgesi çiçek balı, AYB: Ankara bölgesi yayla balı, NÇB: Niğde bölgesi çiçek balı, YYB: Yılanlıdağ bölgesi yayla balı, ZÇB: Zara bölgesi çiçek balı, EÇB: Eskiköy bölgesi çiçek balı, KYB: Koyulhisar bölgesi yayla balı, BÇB: Bozdoğan bölgesi çam balı, AOD: Aylık ortalama değişim.

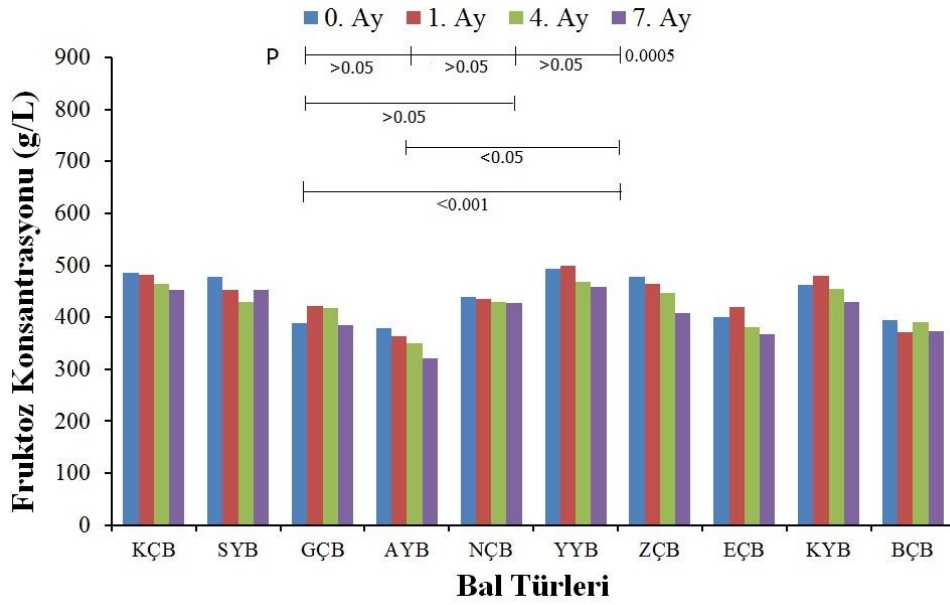
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin glukoz konsantrasyonları incelendiğinde; 1.ay ve 4.ay glukoz konsantrasyonları arasında artış yönünde anlamlı fark bulundu ($P < 0.05$) (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.31). Balların fruktoz konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ve 7.ay fruktoz konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P < 0.001$) (Şekil 4.32). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay fruktoz

konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmektedir ($P<0.05$). Balların maltoz konsantrasyonları incelendiğinde; 0. ve 7.ay maltoz konsantrasyonları arasında azalış yönünde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Şekil 4.33). Balların sukroz konsantrasyonları incelendiğinde; 0. ve 7.ay sukroz konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu ($P<0.001$) (Şekil 4.34). Yine 1. ve 7.ay sukroz konsantrasyonları arasında da anlamlı fark izlenmektedir ($P<0.05$). Aynı şekilde 4. ve 7.ay sukroz konsantrasyonları arasında da anlamlı fark vardı ($P<0.05$).

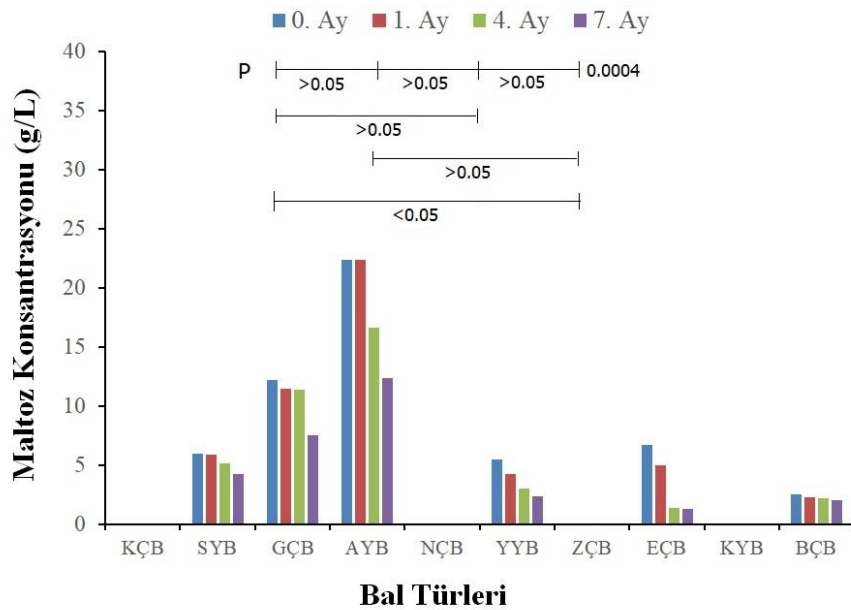
Eskitme işlemine maruz bırakılan bal türlerinin rafinoz konsantrasyonları incelendiğinde; 0.ay ile 4.ay ve 7.ay rafinoz konsantrasyonları arasında azalış yönünde anlamlı fark bulundu (sırasıyla $P<0.05$, <0.001) (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.35). Benzer şekilde 1.ay ve 7.ay rafinoz konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmektedir ($P<0.05$).



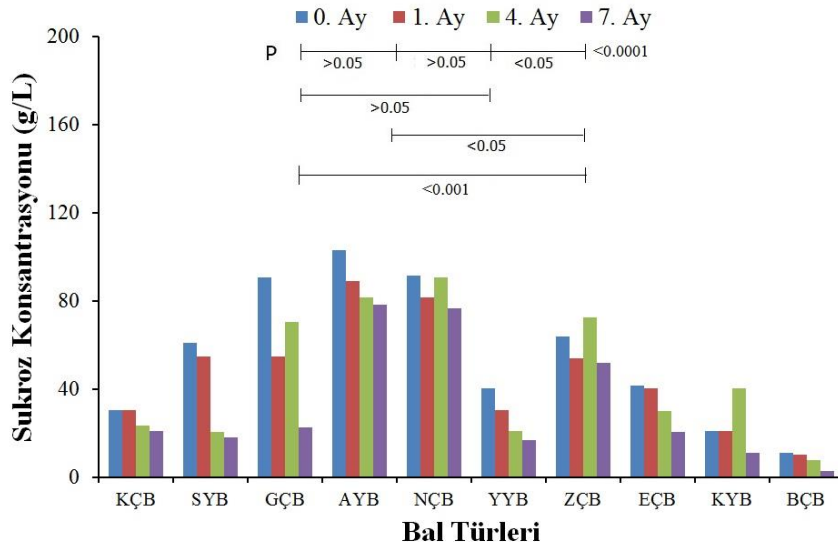
Şekil 4.31. Farklı bal türlerine göre glukoz konsantrasyonları. Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 1.ay ile 4.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur.



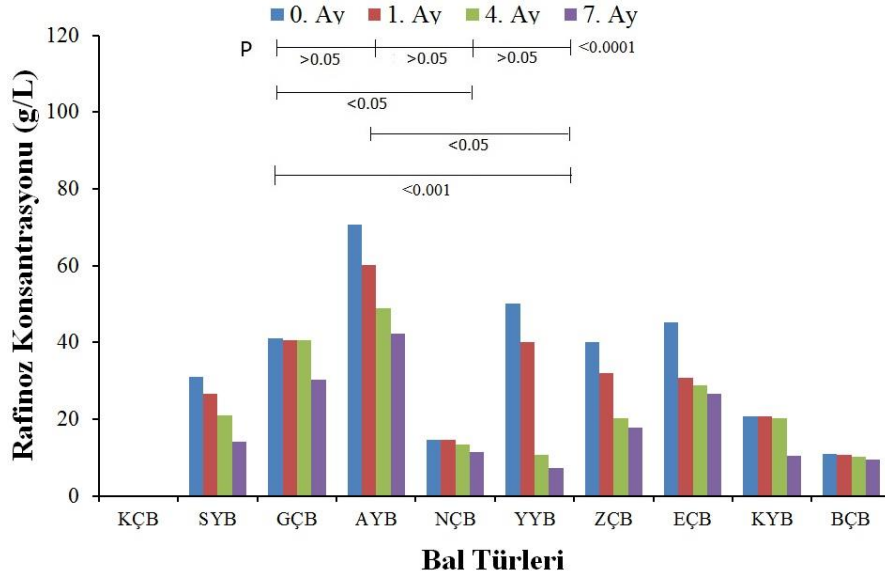
Şekil 4.32. Farklı bal türlerine göre fruktoz konsantrasyonları. Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ile 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



Şekil 4.33. Farklı bal türlerine göre maltoz konsantrasyonları. Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur.



Şekil 4.34. Farklı bal türlerine göre sukroz konsantrasyonları. Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 7.ay arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı. Ayrıca 4.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.



Şekil 4.35. Farklı bal türlerine göre rafinoz konsantrasyonları. Friedman test kullanılarak (tekrarlı ölçümlerde nonparametrik ANOVA) yapılan karşılaştırmalarda 0.ay ile 4.ay ve 7.aylar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Aynı şekilde 1.ay ve 7.ay arasında da anlamlı fark vardı.

Çizelge 4.6. Eskitme işlemi ile zamana bağlı olarak ballardaki şeker konsantrasyonlarının (g/L) aylara göre değişimi ve bal türlerine göre FGO'ları

		0.Ay (I)	1.Ay (II)	4.Ay (III)	7.Ay (IV)	AOD (%)	^aP Değeri
Glukoz	Ortalama	229,5	214,1	244,2	243,4	-1,43	0.0169
	SS	67,1	67,2	61,3	61,1	2,98	
	Ortanca	233,5	222,3	247,8	254,9	-1,00	
	Minimum	76,0	72,8	125,6	118,0	-3,37	
	Maksimum	358,0	346,0	351,3	345,7	7,89	
	*Karşılaştırma	I-II >0.05	I-III >0.05	I-IV >0.05	II-III <0.05	II-IV >0.05	
Fruktoz	Ortalama	439,6	438,5	422,7	407,5	1,00	0.0005
	SS	45,0	45,8	39,1	45,2	-0,60	
	Ortanca	450,5	443,2	429,1	418,4	1,00	
	Minimum	378,1	363,5	349,1	321,1	2,20	
	Maksimum	492,5	498,8	467,7	458,5	0,20	
	*Karşılaştırma	I-II >0.05	I-III >0.05	I-IV <0.001	II-III >0.05	II-IV <0.05	
Fruktoz/Glukoz Oranı	Ortalama	2,17	2,32	1,84	1,78	1,80	0.0560
	SS	1,03	1,03	0,49	0,47	2,59	
	Ortanca	1,98	2,00	1,75	1,67	2,13	
	Minimum	1,10	1,07	1,11	1,08	6,47	
	Maksimum	4,97	4,99	2,78	2,72	3,03	
	*Karşılaştırma	I-II -	I-III -	I-IV -	II-III -	II-IV -	
Maltoz	Ortalama	52,9	48,3	39,4	33,0	5,37	0.0004
	SS	70,4	69,7	58,1	48,7	4,40	
	Ortanca	38,1	30,3	15,3	15,2	8,61	
	Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
	Maksimum	220,4	220,4	172,7	150,4	4,54	
	*Karşılaştırma	I-II >0.05	I-III >0.05	I-IV <0.05	II-III >0.05	II-IV >0.05	
Sukroz	Ortalama	55,3	46,6	45,8	31,9	6,04	<0.0001
	SS	31,8	25,3	29,9	27,0	2,14	
	Ortanca	51,3	47,1	35,3	20,6	8,54	
	Minimum	10,8	10,2	7,9	2,9	10,5	
	Maksimum	102,8	88,8	90,6	78,2	3,43	
	*Karşılaştırma	I-II >0.05	I-III >0.05	I-IV <0.001	II-III >0.05	II-IV <0.05	
Rafinoz	Ortalama	32,4	27,7	21,4	16,9	6,82	<0.0001
	SS	21,2	17,3	14,7	12,6	5,78	
	Ortanca	35,5	28,8	20,3	12,8	9,15	
	Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
	Maksimum	70,6	60,3	49,0	42,2	5,74	
	*Karşılaştırma	I-II >0.05	I-III <0.05	I-IV <0.001	II-III >0.05	II-IV <0.05	

^a P değerini saptamak için Friedman Testi (nonparametrik tekrarlayan ölçümlerde ANOVA) kullanıldı. *ANOVA ile elde edilen P değeri <0.05 ise, gruplar (sırasıyla, 0.Ay-1.Ay, 0.Ay-4.Ay, 0.Ay-7.Ay, 1.Ay-4.Ay, 1.Ay-7.Ay ve 4.Ay-7.Ay), post test (Dunn's Multiple Comparisons Test) kullanılarak karşılaştırıldı. FGO: Fruktoz/glukoz oranı, AOD: Aylık ortalama değişim yüzdesi (1. ve 4. Aydan bağımsız), sonucun -(eksi) olması aylık değişimin artan yönde olduğunu göstermektedir.

Bal türlerine göre ortalama şeker konsantrasyonları incelendiğinde (Çizelge 4.7), BÇB salgı balının maltoz içeriği KÇB, NÇB, ZÇB ve KYB balları hariç diğerlerinden daha düşüktü. Sukroz içeriği açısından da BÇB salgı balı diğerlerinden daha düşüktü. Aynı şekilde BÇB salgı balının rafinoz içeriği KÇB balı hariç diğerlerinden daha düşüktü.

Çizelge 4.7. Bal türlerine göre ortalama şeker konsantrasyonları

	KÇB	SYB	GÇB	AYB	NÇB	YYB	ZÇB	EÇB	KYB	BÇB
Glukoz	248,6	240,9	238,9	98,1	217,6	253,1	237,2	249,1	194,3	350,3
Fruktoz	471,1	452,8	402,9	352,9	432,6	479,4	449,2	392,2	456,1	381,8
Maltoz	0,0	48,1	105,9	190,9	0,0	36,8	0,0	30,6	0,0	21,6
Sukroz	26,2	38,5	42,1	87,8	85,0	27,1	60,5	33,1	18,2	7,9
Rafinoz	0,0	23,2	38,1	55,5	13,5	27,0	27,6	32,9	18,0	10,3

KÇB: Konya bölgesi çiçek balı, SYB: Sivas bölgesi yayla balı, GÇB: Gürün bölgesi çiçek balı, AYB: Ankara bölgesi yayla balı, NÇB: Niğde bölgesi çiçek balı, YYB: Yılanlıdağ bölgesi yayla balı, ZÇB: Zara bölgesi çiçek balı, EÇB: Eskiköy bölgesi çiçek balı, KYB: Koyulhisar bölgesi yayla balı, BÇB: Bozdoğan bölgesi çam balı.

Eskitme işlemine maruz bırakılan balların tüm verileri kullanılarak esansiyel amino asitler, HMF ve invertaz aktivitesi arasında yapılan korelasyon matris analiz sonuçlarına göre (Çizelge 4.8); HMF konsantrasyonları sadece valin ile zayıf derecede negatif bir korelasyon göstermekteydi. Uygun istatistik yöntem kullanılarak analiz tekrar edildiğinde, HMF ve valin arasında saptanan bu korelasyonun orta derecede negatif bir korelasyonun olduğu anlaşıldı (Spearman $r = -0.4220$ $P = 0.0067$). Aynı şekilde matris analizinde saptanan invertaz aktivitesi ile izolösin, metiyonin, triptofan ve fenilalanin arasındaki zayıf dereceden orta dereceye kadar değişen pozitif korelasyonlar uygun istatistik yöntemle tekrar edildiğinde, bu korelasyonların anlamlılığı teyit edildi (sırasıyla Spearman $r = 0.4208$ $P = 0.0069$, Spearman $r = 0.3487$ $P = 0.0274$, Spearman $r = 0.4177$ $P = 0.0073$ ve Spearman $r = 0.6460$ $P < 0.0001$).

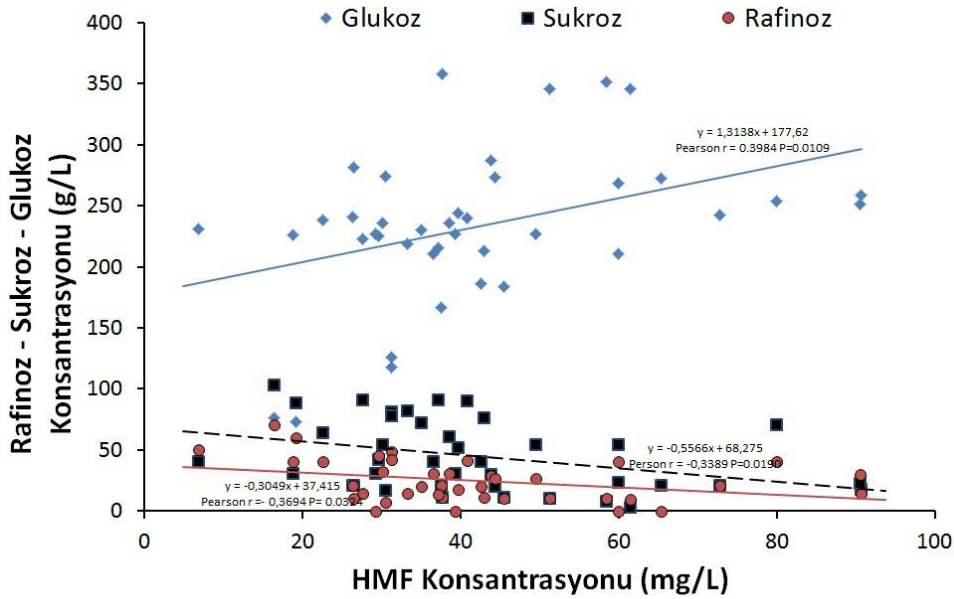
Non-esansiyel amino asitler, HMF ve invertaz aktivitesi arasında yapılan korelasyon matris analiz sonuçlarına göre (Çizelge 4.9), HMF konsantrasyonları asparagin ile orta derecede negatif bir korelasyon; serin, glutamin ve glutamik asit ile zayıf derecede pozitif bir korelasyon göstermekteydi. Uygun istatistik yöntem kullanılarak analiz tekrar edildiğinde ise sadece asparagin ile orta derecede negatif ve

glutamin ile zayıf derecede pozitif bir korelasyon olduğu saptandı (sırasıyla Pearson $r = -0.4206$ $P=0.0069$ ve Spearman $r = 0.3699$ $P=0.0188$). Benzer şekilde matriks analizinde invertaz aktivitesi ile prolin, tirozin, alanin, glisin, serin, glutamin, aspartik asit ve glutamik asit arasında saptanan zayıf dereceden orta dereceye kadar değişen pozitif korelasyonlar, uygun istatistik yöntemle tekrar edildiğinde invertaz aktivitesinin tirozin, alanin, serin ve aspartik asitle zayıf derecede pozitif bir korelasyon gösterirken (sırasıyla Spearman $r = 0.4408$ $P= 0.0044$, Spearman $r=0.3634$ $P=0.0212$, Spearman $r = 0.3933$ $P=0.0120$, Spearman $r = 0.3245$ $P=0.0411$ ve Spearman $r=0.3904$ $P=0.0127$), glutamik asit ve prolin ile orta derecede pozitif bir korelasyon gösterdiği saptandı (sırasıyla Spearman $r = 0.5048$ $P= 0.0009$ ve Spearman $r = 0.5311$ $P= 0.0004$). İvertaz aktivitesi ve HMF konsantrasyonları arasında ise korelasyon yoktu (Spearman $r = 0.0548$ $P=0.7371$).

Modifiye amino asitler, HMF ve invertaz aktivitesi arasında yapılan korelasyon matriks analiz sonuçlarına göre (Çizelge 4.10), HMF konsantrasyonları; hidroksiprolin, α -aminoadipik asit, ornitin ve glisil-prolin ile zayıf derecede negatif bir korelasyon göstermekteydi. Uygun istatistik yöntem kullanılarak analiz tekrar edildiğinde, HMF konsantrasyonlarının sadece hidroksiprolin ve glisil-prolin ile sırasıyla zayıf ve orta derecede negatif bir korelasyon gösterdiği saptandı (sırasıyla Pearson $r = -0.3407$ $P=0.0317$ ve Spearman $r = 0.4360$ $P=0.0049$). Aynı şekilde invertaz aktivitesi ile sarkozin, β -aminoizobutirik asit ve allo-izolösin arasında saptanan zayıf dereceden orta dereceye kadar değişen pozitif korelasyonlar uygun istatistik yöntemle tekrar edildiğinde; invertazın bu üç modifiye amino asit ile orta derecede pozitif bir korelasyon gösterdiği saptandı (sırasıyla Spearman $r = 0.4386$ $P= 0.0046$, Spearman $r=0.4028$ $P=0.0100$, Spearman $r = 0.4555$ $P=0.0031$). Sarkozin konsantrasyonlarının, β -aminoizobutirik asit ve allo-izolösin ile gösterdiği yüksek derecedeki pozitif korelasyon dikkat çekiciydi (sırasıyla Pearson $r=0.7990$ ve Pearson $r=0.8579$; $P<0.0001$). Yine glisil-prolin ile ornitin ve α -aminoadipik asit ile hidroksiprolin arasındaki iyi derecede istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardı (sırasıyla Spearman $r=0.5908$ ve Spearman $r=0.6628$; $P<0.0001$).

Eskitme işlemine maruz bırakılan balların tüm verileri kullanılarak glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz, rafinoz, HMF ve invertaz aktivitesi arasında yapılan

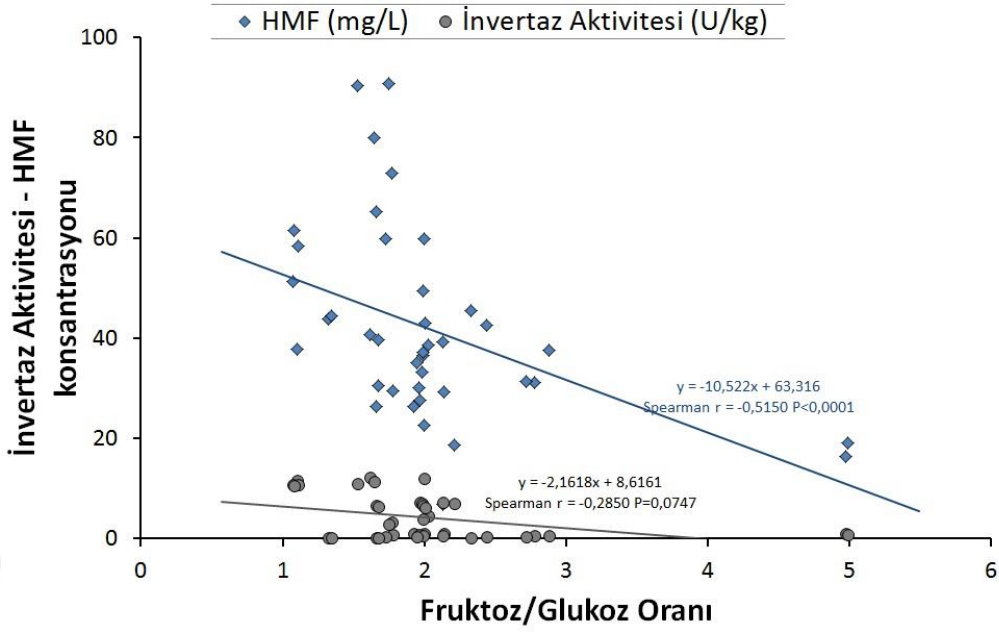
korelasyon matrisi analiz sonuçlarına göre (Çizelge 4.11); HMF konsantrasyonları glukoz konsantrasyonları ile orta dereceye yakın pozitif bir korelasyon gösterdiği ancak sukroz ve rafinoz ile orta dereceye yakın negatif bir korelasyon gösterdiği saptandı. Bal analizleri sonucu elde edilen verilerin bir kısmının Gaussian dağılım göstermediğinden, saptanan bu korelasyonlar uygun istatistik yöntem kullanılarak tekrar analiz edildi. Bu analizlere göre HMF ve glukoz konsantrasyonları arasındaki orta derecede pozitif korelasyonunun, istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görüldü (Pearson $r=0.3984$ $P=0.0109$). Aynı şekilde HMF konsantrasyonları ile sukroz ve rafinoz konsantrasyonları arasındaki korelasyonun da istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla Pearson $r= -0.3389$ $P= 0.0190$ ve Pearson $r= -0.3694$ $P=0.0324$) (Şekil 4.36). Korelasyon matrisi analizinde invertaz enzim aktivitesi ile glukoz ve HMF konsantrasyonları arasında sırasıyla orta ve zayıf derecede korelasyon bulundu. Ancak uygun istatistiksel yöntemle tekrarlandığında bu korelasyonların, istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edildi (sırasıyla Spearman $r= 0.2285$ $P=0.1561$ ve Spearman $r = 0.05478$ $P= 0.7371$).



Şekil 4.36. HMF konsantrasyonları ile glukoz, sukroz ve rafinoz konsantrasyonları arasındaki korelasyon grafiği. HMF glukoz ile pozitif korelasyon gösterirken sukroz ve rafinoz ile negatif korelasyon göstermektedir.

Balların tüm verileri kullanılarak GI açısından önemli olduğu bilinen fruktoz/glukoz oranı (FGO) ile HMF ve invertaz aktivitesi arasında yapılan spearman korelasyon analiz sonuçlarına göre (Şekil 4.37); HMF konsantrasyonlarının FGO ile orta derecede negatif bir korelasyon gösterdiği ancak invertaz aktivitesinin FGO ile gösterdiği zayıf derecedeki negatif korelasyonun istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptandı (sırasıyla Spearman $r = -0.5150$ $P < 0.0001$ ve Spearman $r = -0.2850$ $P = 0.0747$).

Matriks korelasyon analizinde (Çizelge 4.11), maltoz konsantrasyonlarının glukoz ve fruktoz ile gösterdiği orta derecedeki negatif korelasyon, Spearman korelasyon analizi ile tekrar değerlendirildiğinde maltozun sadece glukoz konsantrasyonları ile orta derecede negatif bir korelasyon gösterdiği saptandı (sırasıyla Spearman $r = -0.1311$ $P = 0.4201$ ve Spearman $r = -0.4727$ $P = 0.0021$). Sukroz konsantrasyonlarının glukoz ve maltoz ile gösterdiği sırasıyla iyi ve orta derecedeki (sırasıyla negatif ve pozitif) korelasyon, uygun istatistiksel yöntemle tekrar değerlendirildiğinde sukroz konsantrasyonlarının sadece glukoz ile istatistiksel olarak anlamlı iyi derecede negatif bir korelasyon gösterdiği saptandı (sırasıyla Pearson $r = -0.6542$ $P < 0.0001$ ve Spearman $r = -0.4727$ $P = 0.0021$ ve Spearman $r = 0.1965$ $P = 0.2242$). Rafinoz konsantrasyonlarının glukoz, fruktoz, maltoz ve sukroz ile gösterdiği sırasıyla iyi, orta, iyi ve orta derecedeki korelasyonlar uygun istatistiksel yöntemle tekrar değerlendirildiğinde, rafinoz düzeylerinin sadece glukoz ve fruktoz ile istatistiksel olarak anlamlı sırasıyla iyi ve zayıf derecede negatif bir korelasyon gösterirken (sırasıyla Pearson $r = -0.6078$ $P < 0.0001$ ve Pearson $r = -0.3346$ $P = 0.0348$) maltoz ve sukroz ile istatistiksel olarak anlamlı sırasıyla iyi ve orta derecede pozitif bir korelasyon gösterdi (sırasıyla Spearman $r = 0.6772$ $P < 0.0001$ ve Spearman $r = 0.5579$ $P = 0.0002$).



Şekil 4.37. Fruktoz/glukoz oranı ile HMF ve invertaz aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği. Fruktoz/glukoz oranı, HMF ile orta derecede negatif korelasyon gösterirken invertaz aktivitesi ile korelasyonu istatistiksel olarak anlamsızdır.

FGO, valin, asparagin, glutamin, hidroksprolin ve glisil-prolin gibi bağımsız değişkenler kullanılarak HMF bağımlı değişkeni tahmin etmek için uygulanan çoklu regresyon analiz verileri çizelge 4.12’de verilmiştir. Tablodaki 5 bağımsız değişkenli model toplamda uygun gözükmeyle birlikte ($P < 0.0001$); valin, glutamin, hidroksprolin ve glisil-prolin değerlerinin yeterli etkiye sahip olmadığı saptandı ($P > 0.05$). HMF konsantrasyonunu daha doğru tahmin edebilmek için valin, glutamin, hidroksprolin ve glisil-prolin değişkenleri çıkarılarak yapılan yeni modelin ise daha uygun olduğu saptandı ($P < 0.0001$) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.8. Eskitme işlemine maruz bırakılan ballara ait tüm veriler kullanılarak esansiyel amino asitler, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasında yapılan korelasyon matrisi analizi

n: 40	A:	B:	C:	D:	E:	F:	G:	H:	I:	J:	K:
A:Valin	1.000										
B:Lösin	0.0853	1.000									
C:İzolösin	0.0150	0.9633	1.0000								
D:Metionin	0.0030	0.7765	0.8193	1.0000							
E:Treonin	0.3019	0.3997	0.3513	0.1206	1.0000						
F: Lizin	0.0503	0.8564	0.8088	0.6681	0.3638	1.0000					
G:Triptofan	-0.0223	0.7975	0.8572	0.8806	0.2770	0.7846	1.0000				
H: Histidin	-0.1180	0.2506	0.1847	0.1728	0.0464	0.2753	0.0544	1.0000			
I: Fenilalanin	0.0124	0.7167	0.7525	0.8658	0.1916	0.6357	0.8423	-0.0288	1.0000		
J: HMF	-0.3163	-0.0102	-0.0689	-0.1434	-0.1499	0.1173	-0.0017	-0.0123	0.0770	1.0000	
K: İvertaz	-0.0010	0.3679	0.3288	0.3458	0.2062	0.1627	0.4089	-0.1295	0.5403	0.2936	1.0000

Korelasyon matrisi sonuçları Gaussian dağılım gösterdiği kabulü ile Pearson r korelasyon analizi kullanılarak yapılır. HMF: 5-hidroksi metil furfural

Çizelge 4.9. Eskitme işlemine maruz bırakılan ballara ait tüm veriler kullanılarak non-esansiyel amino asitler, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasında yapılan korelasyon matrisi analizi

n: 40	A:	B:	C:	D:	E:	F:	G:	H:	I:	J:	K:
A:Prolin	1.000										
B:Trozin	0.7020	1.000									
C:Alanin	0.6939	0.5803	1.0000								
D:Glisin	-0.6917	-0.5911	-0.6950	1.0000							
E:Serin	0.6131	0.5467	0.8645	-0.6973	1.0000						
F: Asparagin	0.4379	0.2341	0.1863	-0.0471	0.1236	1.0000					
G:Glutamin	0.3041	0.1705	0.6450	-0.4328	0.7252	0.1313	1.0000				
H:Aspartik asit	0.5074	0.4072	0.8999	-0.5669	0.8934	0.1768	0.7254	1.0000			
I:Glutamik asit	0.4743	0.2729	0.7473	-0.5271	0.8005	0.2741	0.8776	0.8059	1.0000		
J: HMF	0.0544	-0.0623	0.1791	-0.1996	0.2012	-0.4226	0.2858	0.1685	0.2075	1.0000	
K: İvertaz	0.5241	0.3783	0.3746	-0.3843	0.3892	0.1635	0.4883	0.3740	0.5997	0.2936	1.0000

Korelasyon matrisi sonuçları Guassian dağılım gösterdiği kabulü ile Pearson r korelasyon analizi kullanılarak yapılır. HMF: 5-Hidroksi metil furfural

Çizelge 4.10. Eskitme işlemine maruz bırakılan ballara ait tüm veriler kullanılarak modifiye amino asitler, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasında yapılan korelasyon matrisi analizi

n: 40	A:	B:	C:	D:	E:	F:	G:	H:	I:	J:	K:	L:	M:
A: Sarkozin	1.0000												
B: α -Aminobutirik Asit	0.2768	1.0000											
C: β -Aminoizobutirik Asit	0.7990	0.2210	1.0000										
D: Allo-izölösün	0.8579	0.2978	0.5447	1.0000									
E: Thioprolin	0.6070	0.3339	0.6552	0.4778	1.0000								
F: Hidroksiprolin	0.0619	0.1843	-0.0170	0.2083	0.0729	1.000							
G: α -Aminoadipik Asit	0.1556	0.1963	0.1718	0.2121	0.2607	0.8659	1.000						
H: Ornitin	0.1297	-0.0542	-0.0510	0.2881	0.0778	0.4368	0.3063	1.0000					
I: Glisil-prolin	-0.007	0.0158	-0.0964	0.0764	0.0733	0.4542	0.3075	0.9203	1.0000				
J: Hidroksilizin	0.0991	-0.0007	0.0618	0.2792	0.0007	0.7103	0.7572	0.4499	0.3500	1.0000			
K: Prolin-hidroksiprolin	0.1593	-0.1194	0.1132	0.3008	0.0787	0.6171	0.6433	0.4612	0.3152	0.8877	1.000		
L: HMF	0.1581	-0.1802	0.1987	-0.0633	0.0009	-0.3407	-0.2029	-0.3036	-0.3284	-0.1457	-0.1927	1.000	
M: İvertaz	0.4051	0.1688	0.3488	0.3512	0.1451	-0.0885	0.0728	0.0573	-0.0170	0.0552	0.0228	0.2936	1.000

Korelasyon matrisi sonuçları Guassian dağılım gösterdiği kabulü ile Pearson r korelasyon analizi kullanılarak yapılır. HMF: 5-Hidroksi metil furfural

Çizelge 4.11. Balların tüm verileri kullanılarak glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz, rafinoz, HMF ve invertaz aktivite düzeyleri arasındaki korelasyon matrisi analizi

n:40	A:	B:	C:	D:	E:	F:	G:
A:Glukoz	1.000						
B:Fruktoz	0.110	1.000					
C:Maltoz	-0.606	-0.554	1.000				
D:Sukroz	-0.654	-0.195	0.502	1.000			
E:Rafinoz	-0.608	-0.335	0.791	0.558	1.000		
F:HMF	0.398	-0.169	-0.090	-0.369	-0.339	1.000	
G:İnvertaz	0.488	-0.141	0.087	-0.052	-0.045	0.294	1.000

Her bir korelasyon katsayısı (r), diğer değişkenler göz önüne alınmadan bağımsız olarak hesaplanır. HMF: 5-Hidroksi metil furfural

Çizelge 4.12. HMF konsantrasyonlarını tahmin için 5 bağımsız değişken modeli

Variable	Coefficient	SE	95% CI	t ratio	P value
constant	75.98	9.68	56.29 to 95.68	7.853	< 0.0001
FGO	-11.15	3.317	-17.9 to -4.40	3.361	0.0020
Valin	0.0032	0.020	-0.037 to 0.044	0.163	0.8718
Asparagin	-0.198	0.064	-0.323 to -0.068	3.094	0.0040
Glutamin	0.213	0.158	-0.109 to 0.536	1.345	0.1877
Hidroksiprolin	-0.363	0.427	-1.23 to 0.506	0.850	0.4012
Glisil-prolin	-0.201	0.247	-0.704 to 0.302	0.813	0.4222

$$[HMF] = 75.98 - 11.15*[FGO] + 0.0032*[Valin] - 0.198*[Asparagin] + 0.213*[Glutamin] - 0.363*[Hidroksiprolin] - 0.201*[Glisil-prolin]$$

R squared: 0.5184, Multiple R: 0.7200, F: 5.9199. Bu model tarafından açıklanan HMF'deki varyansın yüzdesidir. Her bir P değeri bir değişkenin etkisini, diğerlerinin etkilerini hesaba kattıktan sonra test ederek hangi değişken (ler) anlamlı bir katkı sağladığını gösterir.

Çizelge 4.13. HMF konsantrasyonlarını tahmin için 2 bağımsız değişkenli model

Variable	Coefficient	SE	95% CI	t ratio	P value
constant	81.450	7.636	65.969 to 96.932	10.67	< 0.0001
FGO	-12.550	2.917	-18.462 to -6.637	4.303	0.0001
Asparagin	-0.2314	0.0558	-0.3445 to -0.1182	4.147	0.0002

$$[HMF] = 81.45 - 12.55*[FGO] - 0.232*[Asparagin]$$

R squared: 0.4525, Multiple R: 0.6727, F: 15.2920

5. TARTIŞMA

Balların tazeliğini ve doğallığını değerlendirmede standardize edilmiş birçok biyokimyasal parametre yer almaktadır. Bu parametrelerin en önemlileri çalışmamız kapsamında değerlendirilmiştir. Yapılan literatür araştırmalarına göre bu çalışmamız, bal içeriği analizi açısından en geniş kapsamlı çalışmalardan biri olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda değerlendirilen tazelik ve doğallık parametreleri arasında amino asit profili (esansiyel, nonesansiyel, aromatik ve modifiye amino asitler olmak üzere 30 çeşit amino asit) ve konsantrasyonları, HMF konsantrasyonu, invertaz enzim aktivitesi ve şeker profili (glukoz, fruktoz, maltoz, sukroz ve rafinoz) ve konsantrasyonları yer almaktadır.

5.1. HMF KONSANTRASYONU DEĞERLENDİRMESİ

Moniruzzaman ve arkadaşları (68) tarafından yapılan çalışmada, 4-5°C'de 2 ay boyunca depolanan Malezya ballarında ortalama HMF konsantrasyonunun 35,98 mg/kg olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda ise oda sıcaklığında (20-25°C) 1 ay boyunca eskitmeye (yaşlanmaya) bırakılan 10 farklı Türkiye ballarında ortalama HMF konsantrasyonunun 37,50 mg/L olduğunu tespit ettik. Bu durum balların saklanma sıcaklığındaki artışın HMF konsantrasyonunda daha fazla yükselmeye neden olabileceğini göstermektedir.

Khalil ve arkadaşları (64) tarafından yapılan başka bir çalışmada, 25-30°C'de bir yıldan fazla depolanan Malezya ballarındaki HMF konsantrasyonlarının çok yüksek seviyelere (118,47-1139,95 mg/kg) ulaşabileceğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise oda sıcaklığında (20-25°C) 7 ay boyunca eskitmeye bırakılan Türkiye ballarında HMF konsantrasyonunun 7. ayda 30,50 – 90,72 mg/L aralığında olduğu tespit edildi. Bu durum balların saklanma süresinde ve sıcaklığındaki farklılığın HMF konsantrasyonlarında belirleyici olabileceğinin kanıtıdır.

Islam ve arkadaşları (42) tarafından 2012 yılında yapılan bir çalışmada, oda sıcaklığında (20-25°C) bir yıldan fazla depolanan Bangladeş'teki bal örneklerinde HMF konsantrasyonları bal türlerine göre yüksek seviyelerde (ortalama 703,10 mg/kg) saptanmıştır. Çalışmamızda ise oda sıcaklığında (20-25°C) 7 ay boyunca eskitmeye bırakılan Türkiye ballarında HMF konsantrasyonu bal türlerine göre en yüksek seviyede SYB'de 90,72 mg/L

olarak tespit edildi. Aradaki bu fark, muhtemelen saklama zamanına ve bölgesel koşullara bağlıdır.

Turhan (76) tarafından yapılan çalışmada, tüm bal örneklerinde başlangıçtaki HMF konsantrasyonunun, Türk Gıda Kodeksi tarafından bal için izin verilen maksimum 40 mg/kg sınırından daha düşük olduğunu bulmuşlardır. 12 ay boyunca 25 ± 1 ° C'de saklanan balların bazılarında düşük HMF konsantrasyonunu saptarken çoğunda HMF konsantrasyonunun kademeli olarak yükseldiği belirtilmiştir. Ayrıca iki bal örneği dışındaki diğer tüm bal örneklerinin Türk Gıda Kodeksinde HMF için izin verilen maksimum 40 mg/kg konsantrasyonuna çok yakın olduğu ya da aşıldığını bildirmiştir (126). Bu durum, balların yüksek sıcaklıklarda sekiz aydan fazla saklanmaması gerektiğinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Ayrıca saklanma sıcaklığının, balın kalitesinin ve tazeliğinin korunması amacıyla özenle kontrol edilmesi gereken bir parametre olduğu ve balın tazeliği ve doğallığını kaybetmeden üretiminden sonraki altı ay içinde tüketilmesi önerilmiştir.

Bazı araştırmacılar tropikal iklimlerde üretilen bal türlerinin 40 mg/kg'den yüksek HMF konsantrasyonuna sahip olduğunu bildirmektedir. Bu durum Türk Gıda Kodeksi tarafından bal için izin verilen sınırlar ile çelişmektedir. Ancak Avrupa Birliği Konseyi yönergesinde, tropikal iklimlerde üretilen ballar için maksimum 80 mg/kg HMF konsantrasyonlarına izin verilmiştir. Çalışmamızda yer alan 10 farklı bal örneklerinden yalnızca GÇB'nin daha başlangıç aşamasında HMF konsantrasyonu 40.79 mg/kg olarak izin verilen seviyeden yüksek olarak saptandı. SYB ve BÇB bal örneklerinin başlangıç HMF konsantrasyonları da (sırasıyla 38,56 mg/kg, 37,71 mg/kg) izin verilen seviyeye oldukça yakındı. Belki de her üç bal elimize ulaşmadan bekletilmişti. Bu konuda üreticiden sağlıklı bilgi alınamamıştır. Ancak çelişkili ifadeler düşüncemizi doğrular nitelikteydi. Çalışmamızda, 7 ay boyunca oda sıcaklığında (20-25°C) saklanan bal örneklerinden 7.ay sonunda yalnızca balların üçünde (AYB, YYB ve ZÇB) HMF konsantrasyonları izin verilen seviyeden düşük saptandı. Bu durum balların elimize ulaştığı süre de dikkate alındığında, bu balların 6 ay içinde tüketilmesi gerektiğinin bir göstergesidir. Kaldı ki Turhan (76) yapmış olduğu çalışmayla da balın 6 ay içinde (veya taze olarak) tüketilmesi gerektiğini önermesi bizim bulgumuzu desteklemektedir.

Khalil ve arkadaşları (64) tarafından Malezya bal örnekleri üzerine yapılan çalışmada, 3-6 ay boyunca saklanan tropikal bal örneklerinde, CAS tarafından belirlenen sınırının altında (<80 mg/kg) HMF konsantrasyonları bildirilmiştir. Ancak, aynı balların 12-24 ay boyunca saklanan bal örneklerinde ise belirlenen sınır seviyelerinin çok üzerinde HMF konsantrasyonlarına ulaşıldığı bildirilmiştir. Ayrıca aynı araştırmacılar HMF ile serbest amino asitler, glukoz ve fruktoz miktarı ve toplam asidite arasında güçlü bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. PH ve laktonlar arasında ise sadece orta düzeyde korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca baldaki HMF konsantrasyonlarının balda bulunan şeker türleri ve konsantrasyonları ve FGO'ya bağlı olduğu ileri sürülmüştür (6). Bizim yürüttüğümüz çalışmada ise 7 ay boyunca saklanan bal örneklerinin yedisinde de 7.ay sonunda HMF konsantrasyonları izin verilen seviyeden yüksek olduğu saptandı. HMF konsantrasyonları ile glukoz arasında orta derece pozitif bir korelasyon varken sukroz ve rafinoz ile negatif korelasyon vardı. Ayrıca HMF konsantrasyonları ile valin ve asparagin arasında orta derece negatif bir korelasyon ve glutamin ile zayıf derece pozitif korelasyon vardı. Yine HMF konsantrasyonları ile FGO arasında orta derece negatif bir korelasyon saptandı. Tüm bu sonuçlar, HMF oluşumuyla özellikle FGO başta olmak üzere sukroz ve rafinoz gibi şekerlerin ve amino asit profilinin (valin, asparagin ve glutamin) ilişkili olduğunu göstermektedir. Bazı araştırmacılar tarafından düşük GI nedeniyle FGO yüksek bal tüketilmesinin diabetli kişilerde kan glukozunda düşüşe neden olabileceği bildirilmesine (53, 54) karşın HMF oluşumunu hızlandıracığından FGO yüksek balların taze tüketilmesinin daha faydalı olacağını düşünmekteyiz. Çünkü yüksek FGO ve sıcak ortamda Maillard reaksiyonu ile glukozla kıyasla fruktoz gibi keto-heksozlar daha çok parçalanarak doğrudan HMF oluşturabilmektedir (17, 70). Bu durumun iki nedeni olduğu belirtilmektedir. Bunlardan ilki, glukozun düşük bir erime hızına sahip olduğu ve reaktivitesinin, fruktozunkinden daha düşük olmasıdır. Ayrıca fruktozun daha yüksek enolizasyonu (bir protonun göç etmesi ile bir doymamış alkol oluşumu), HMF oluşumu lehinedir (17, 19). İkincisi ise fruktozun; difruktoz ve dianhidridlerin denge karışımını oluşturması ve böylece çoğu reaktif grubu bloke ederek HMF gibi belirli yan ürünlerin oluşumuna yol açabileceği düşünülmektedir (17). Reaktif indirgenme grupları içeren oligosakaritler/polisakaritler de glukoz oluşturur. Bu glukozlar HMF de dâhil olmak üzere reaktif ara ürünlerle çapraz polimerizasyon açısından daha yüksek bir risk oluşturmaktadır (19).

5.2. ŞEKER PROFİLİ VE KONSANTRASYONU DEĞERLENDİRMESİ

Baldaki temel karbonhidratlar, bir monosakarit olan fruktoz ve glukozdur. Bunlara ek olarak, yaklaşık 25 farklı oligosakkarit tespit edilmiştir (6, 45). Solayman ve arkadaşları (71) yaptığı bir derleme çalışmasında, balın yaklaşık % 40 fruktoz, % 28 glukoz, % 3 sukroz ve daha düşük oranlarda diğer şeker türlerini de içerdiği belirtilmiştir. Çalışmamızda ise balların ortalama % 41 fruktoz, % 23 glukoz, % 4 sukroz ve daha düşük oranlarda maltoz ve rafinoz içerdiğini tespit ettik. Bu bulgularımızın Solayman ve arkadaşları (71) tarafından hazırlanan derleme çalışması verileriyle benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda maltoz ve sukroz konsantrasyonlarının glukoz ile gösterdiği orta derecedeki negatif korelasyon, muhtemelen disakkaridaz enzimleri ile maltoz ve sukrozun glukozla dönüştürüldüğünün göstergesi olarak yorumlandı. Bu yüzden glukoz artarken maltoz ve sukroz azalma eğilimi göstermektedir. Yine rafinoz konsantrasyonlarının glukoz ve fruktoz ile negatif bir korelasyon göstermesi, benzer şekilde rafinozun galaktoz, glukoz ve fruktozdan oluşan bir trisakkarit (127) olmasına bağlandı.

Çalışmamızda baldaki özellikle FGO başta olmak üzere şeker profili, HMF konsantrasyonlarıyla ilişkili bulundu. Ancak asıl belirleyici unsurun saklama süresi ve ortam sıcaklığı olduğu anlaşılmaktadır. Baldaki şeker profili GI ile de ilişkili bulunmuştur. Ballar; yüksek karbonhidratlı besinler olmasına rağmen, balların GI'sı içerdiği şeker profiline göre değişkenlik göstermektedir. Fruktoz bakımından zengin balların daha düşük GI'ya sahip olduğu saptanmıştır (2). Yürüttüğümüz çalışmada da diğerlerine kıyasla daha yüksek miktarlarda fruktoz konsantrasyonlarına rastlandı. Bu durum daha önceki araştırmacıların verileriyle benzerlik göstermektedir.

Çiçek balına kıyasla salgı balları, oligosakkaritler açısından daha fazla miktarda melezitoz ve rafinoz içerdiği bildirilmektedir (2). Çalışmamızda ise tam tersi sonuca ulaşılmıştır. Salgı balının rafinoz ve sukroz içeriği çiçek ballarına kıyasla daha düşüktü. Ancak bu konuda kesin bir yargıya varabilmek için daha fazla salgı balında çalışmanın yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

5.3. AMİNO ASİT PROFİLİ VE KONSANTRASYONLARIN DEĞERLENDİRMESİ

Prolin konsantrasyonu balların tazeliğinin ve doğallığının anlaşılması amacıyla kullanılan önemli bir parametredir. Balların saklanma koşullarına ve sıcaklığına bağlı olarak prolin konsantrasyonunun değiştiği bildirilmektedir (59). On farklı bal türünde yaptığımız araştırmada benzer şekilde temel amino asit olarak prolin saptanması ve prolinin zamanla önemli derecede azaldığının saptanması da, bu araştırmacıların bulgularıyla örtüşmekteydi. Balın önemli bir kalite göstergesi olan prolindeki bu azalmanın invertaz aktivite düzeylerinin azalmasıyla korelasyon göstermesi de balın kalitesinde düşme ve tazeliğinde bozulma şeklinde yorumlandı. Bu yüzden balın zamanında tüketilmesinin önemli olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca HMF'nin zamana ve ortam şartlarına bağlı olarak artması da bu yorumu desteklemektedir. Kaldı ki bu konuda yapılan bazı çalışmalarda, HMF gibi toksik ürünlerden yüksek miktarda bulunduran balların tüketiminin dikkatli yapılması veya tüketilmemesinin önerilmesi (15, 21-23), çalışma bulgularımızla örtüşmekteydi.

Hem esansiyel hem de aromatik bir amino asit olan fenilalanin, ballarda prolinle birlikte tazelik ve doğallık göstergesi olması açısından önemlidir. Prolinde olduğu gibi balların saklanma koşulları ve sıcaklığı fenilalanin konsantrasyonunu da etkilemektedir. Hermosin ve arkadaşları (59) tarafından bitkisel çeşitliliğe sahip İspanya ballarında yapılan çalışmada, prolinden sonra fenilalanini, tirozin ve valini temel amino asit olarak saptamışlardır. On farklı bal türünde yürüttüğümüz çalışmada da amino asit konsantrasyonu açısından sıralamanın prolinden sonra, valin, fenilalanin, asparagin ve β -aminoizobutirik asit şeklinde olduğu saptandı. Bu durum Hermosin ve arkadaşlarının (59) yaptığı çalışmanın sonuçlarına yakındır. Aradaki fark, balların üretildiği çevredeki bölgesel bitki çeşitliliğine bağlı farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Baldaki prolin konsantrasyonu bal arılarının bal üretimi sırasında kullandıkları salgılarıyla ilişkilendirilmektedir. Hermosin ve arkadaşları (59), diğer amino asitlere kıyasla baldaki prolin oranının %50'den fazla olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda prolin konsantrasyonunun oranı diğer amino asitlere kıyasla %48 olarak saptandı. Bu oran Hermosin ve arkadaşlarının (59) sonuçlarıyla örtüşmektedir. Bizim çalışmamızda en düşük prolin konsantrasyonları AYB ve ZÇB bölgesinden gelen ballarda tespit edildi. Aynı ballarda invertaz aktivitesi de düşük bulundu. Bu durum, bu balların tazeliği, doğallığı ve kalitesinin düşük olabileceğinin işareti olarak değerlendirildi.

Bu çalışmada yapılan çoklu regresyon analizi sonucunda FGO yanısıra asparaginin HMF konsantrasyonlarıyla ilişkili bulunması, amino asit (primer olarak asparagin) ve reaktif bir karbonil bileşiği (fruktoz ve glukoz gibi) arasındaki Maillard reaksiyonunu akla getirdi. Çünkü Maillard reaksiyonu ile glukoz gibi indirgen şekerler ile birlikte amino asitlerden asparagin, 120 °C'den yüksek sıcaklıklarda pirolize edildiğinde (yüksek sıcaklığa getirilip ayrıştırıldığında) önemli miktarda akrilamid, HMF ve furfural oluştuğu belirtilmektedir (128-134). Bu durum ayrıca ortamda bulunan katyonların da bu reaksiyonları hızlandırdığı bildirilmektedir. Büyük olasılıkla, şekerli gıdaların ısıtılması ve depolanması sonrasında saptanan akrilamid ve HMF, büyük ölçüde amino asitler ve reaktif bir karbonil arasındaki Maillard reaksiyonundan kaynaklanır ve muhtemelen Schiff'in bazını içeren ara maddelerden ilerlemektedir.

Çalışmamızda bal türlerinde neredeyse tüm amino asit konsantrasyonlarında zamanla azalış gözlenirken glisinde artış saptanmasının muhtemel sebebini, sarkozinin glisine spontan ve hızlı dönüşümüne bağladık. Çünkü glisinin N-metil türevi olan sarkozin; sarkozin dehidrojenaz enzimi tarafından glisine kolayca metabolize olabilmektedir. Tam aksine glisin-N-metil transferaz aracılığıyla da glisinden sarkosin üretilmektedir. Sarkozin, kaslarda ve diğer vücut dokularında bulunan doğal bir amino asittir. Sarkozin, doğal olarak kolinin glisine metabolizması sırasında oluşur. Sarkozin oldukça tatlıdır ve suda çözülür. Sarkozin; yumurta sarısı, hindi, jambon, sebze, baklagiller ve bal gibi yiyecekler başta olmak üzere biyolojik materyallerin neredeyse tümünde bulunur. Metiyonin ve diyet sırasında alınan kolin metabolizması ile elde edilen sarkozin, hızlı bir şekilde glisine dönüşebilmektedir (135-137). Folat eksikliği nedeniyle sarkozin glisine dönüştürülemediğinde veya sarkozin metabolizmasında bir eksikliğe bağlı kan sarkozin düzeyleri yüksek saptanabilmektedir. Sarkozemi adı verilen bu durumun toksik olmadığı bildirilmiştir. Aksine sarkozin yüksekliklerinin bazı durumlara faydalı olduğu bildirilmiştir. Örneğin depresyondaki kişilerde sarkozinin depresyon benzeri davranışları düzeltebileceği bildirilmiştir (138, 139). Sarkozin molekülünden bir metil grubu fazlası bulunan N-dimetil glisinin (DMG) oksidatif stresi azalttığı (140), immün yanıtı arttırdığı (141) ve atletik performansı arttıran bir uyarıcı (142) olabileceği bildirilmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışmada DMG'nin, merkezi sinir sistemine etki ederek antikonvülsan aktivite gösterdiği saptanmıştır (143). Ayrıca DMG, otizm veya yaygın gelişimsel bozukluğu olan hastalarda ek bir destek olarak düşünülmüştür (144, 145). Yukarıdaki bilgiler ışığında balda sarkozin saptanması, balın canlı bir organizma

tarafından üretildiğinin yani doğallığının bir göstergesi olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Ayrıca sarkozinin eser miktarda bile olsa balda bulunmasının besinsel değeri açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

5.4. İNVERTAZ AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İnvertaz enzimi (sukraz, α -glukosidaz), sukrozun fruktoz ve glukoz dönüşümünü sağlamaktadır (2). Baldaki invertazın kökeni, bal arılarının salgılarından gelmektedir (81-83). Bu durum invertazın balın doğallığının değerlendirilmesinde önemli bir parametre olmasını sağlamıştır. Yapılan çalışmalarda depolanarak eskimeye bırakılmış veya yüksek sıcaklıklarda ısıtılmış ballardaki invertaz aktivitelerinin azaldığı belirtilmiştir (77, 92, 93). Çalışmamızda 4 farklı bal türünde sırasıyla GÇB, BÇB, YYB ve NÇB’de invertaz aktivitesi yüksek olarak saptandı. Ancak 7 ay boyunca saklanan 10 farklı bal türlerinde invertaz aktivitesinin sürekli olarak azaldığı gözlemlendi. Bu bulgu invertaz aktivitesi yüksekliğinin balın özellikle tazeliğinin bir göstergesi olarak kullanılabilceğinin kanıtıdır. Ayrıca AYB ve ZÇB bal türlerinde invertaz aktivitesi ile birlikte prolin miktarlarının da düşük saptanması, bu iki çeşit balda düşük kalite, tazelik ve doğallığın göstergesi olarak kabul edildi. Kaldı ki Hermosin ve arkadaşlarının (59) bal arılarından gelen invertaz ve glukoz oksidaz enzim aktivite düzeylerinin balların tazeliğinin bir göstergesi olarak kullanılabilceğini bildirmesi düşüncemizi destekler mahiyettedir.

Çalışmamızda koyu görümlü olarak tespit edilen balların başta prolin olmak üzere aromatik amino asit konsantrasyonlarının diğer amino asit konsantrasyonlarına kıyasla daha yüksek olduğu saptandı. Bu durum aromatik amino asit konsantrasyonlarının balın koyu görünümüyle orantılı olduğunun göstergesiydi. Frankel ve arkadaşları (61) fenilalanin, tirozin ve triptofan gibi aromatik amino asit konsantrasyonlarının baldaki koyu renkli görüme neden olan en önemli faktörlerden biri olduğunu bildirmişlerdir. Bu literatür bilgisi çalışmamızdaki bulgularla benzerlik göstermekteydi. Ancak koyu veya bulanık görünümün balların kalite, tazelik ve doğallığın kesin göstergesi olarak kullanılmaması gerekir. Çünkü katkı maddeleri veya boyar maddelerle bu görünümü sağlamak oldukça kolaydır.

Literatür bilgilerine ve yaptığımız araştırmanın verilerine göre balın tazelik, kalite ve doğallığına ancak birkaç parametrenin birlikte incelenmesiyle karar verilmelidir. Ancak en az kaç parametre kullanılması gerektiği konusu daha detaylı araştırmaya ihtiyaç duymaktadır.

Bizim önerimiz; HMF, invertaz aktivitesi, FGO ve prolin, fenilalanin ve sarkozin amino asitlerinin analiz edilmesidir.



6. SONUÇ

1. Balların tazeliğini ve doğallığını değerlendirmede standardize edilmiş birçok biyokimyasal parametre yer almakla birlikte HMF, invertaz aktivitesi, FGO ve prolin, fenilalanin ve sarkozin amino asitlerinin ölçümü en önemlileridir.

2. Oda sıcaklığında (20-25°C) depolanan balların saklama süresi arttıkça toksik bir bileşik olan HMF konsantrasyonlarının arttığı ve 7 ay sonunda balların %70'inde HMF konsantrasyonlarının Türk Gıda Kodeksi tarafından bal için izin verilen maksimum sınır olan 40 mg/kg'yi aştığı saptandığından balların taze tüketilmesi önemlidir.

3. HMF, Maillard reaksiyonlarıyla açıklanabilen FGO ve asparagin konsantrasyonlarıyla ilişkilidir.

4. Balların neredeyse tümünde amino asit konsantrasyonlarında zamanla azalış gözlenirken glisinde artış saptanmasının muhtemel sebebi, sarkozinin glisine enzim katalizli dönüşümüdür. Bu nedenle sarkozin varlığı balın canlı bir organizma tarafından üretildiğinin yani doğallığın kanıtı olarak kullanılabilir. Ayrıca sarkozinin balda bulunması, balın besinsel değeri açısından da önemli bulunmuştur.

5. Eskimeye bırakılan ballarda invertaz aktivitesi zamana bağlı olarak düşmektedir. Bu nedenle bal arılarının salgılarından kaynaklanan baldaki invertaz, balın tazelik ve doğallığın bir göstergesi olarak kullanılabilir.

6. Koyu görümlü olarak tespit edilen ballarda başta prolin olmak üzere aromatik amino asit konsantrasyonları yüksek bulunmuştur. Bu durum aromatik amino asit konsantrasyonlarının balın koyu görünümüyle ilişkilendirilmiştir.

Sonuç olarak; HMF düşüklüğü, prolin, fenilalanin, sarkozin ve invertaz aktivite yüksekliği kalite unsurları olan tazelik ve doğallığın bir göstergesi olarak birlikte kullanılmalıdır. Ayrıca eskimeye bırakılan ballarda zamanla fruktoz ve amino asit gibi besleyici bileşenlerin azalması, HMF gibi toksik bileşenlerin artması; balların uzun süre saklanmadan tüketilmesi gerektiğini göstermektedir.



7. KAYNAKLAR

1. White, J. W. Jr., Doner, L. W. (1980) Honey composition and properties: Beekeeping in the United States. *Agric Handbook*, **335**:82–91.
2. Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P. (2008) Honey for Nutrition and Health: A Review. *J Am Coll Nutr*, **27**(6):677–689.
3. Ajibola, A., Idowu, G. O., Amballi, A. A., Oyefuga, O. H., Iquot, I. S. (2007) Improvement of some haematological parameters in albino rats with pure natural honey. *J Biol Sci Res*, **2**:67–69.
4. Crane, E. (1975) History of honey. In *Honey, A Comprehensive Survey*. Edited by Crane E. London: William Heinemann, 439–488.
5. Ajibola, A., Chamunorwa, J. P., Erlwanger, K. H. (2012) Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutr Metab*, **9**:61.
6. Doner, L. W. (1977) The sugars of honey a review. *J Sci Food Agric*, **28**:443–456.
7. Ball, D. W. (2007) The chemical composition of honey. *J Chem Educ*, **84**:1643.
8. Gheldof, N., Wang, X. H., Engeseth, N. J. (2002) Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J Agric Food Chem*, **50**:5870-5877.
9. White, J. W. Jr., Kushnir, I. (1967) Composition of honey. VII. *J Apic Res*, **6**:163–178.
10. White, J. W. Jr. (1975) Composition of honey. *Honey: a comprehensive survey*. Heinemann, London, 157–206.
11. Crane, E., Walker, P., Day, R. (1984) *Directory of important world honey sources*. London: International Bee Research Association.
12. Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., Al-Habori, M. (2002) Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr Res*, **22**:1041-1047.
13. Gheldof, N., Engeseth, N. J. (2002) Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *J Agric Food Chem*, **50**:3050-3055.
14. Tomás-Barberán, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., Anklam, E. (2001) HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *J Sci Food Agric*, **81**:485-496.
15. Bogdanov, S. (2006) Contaminants of bee products. *Apidologie*, **38**:1-18.
16. Islam, M., Khalil, M., Gan, S. H. (2014) Toxic compounds in honey. *J Appl Toxicol*, **34**:733–742.
17. Shapla, U. M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M. I., Gan, S. H. (2018) 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chem Cent J*, **12**(1):35.
18. Markowicz, D. B., Monaro, E., Siguemoto, E., Séfora, M., Valdez, B. (2012) Maillard reaction products in processed foods: pros and cons. In: Valdez B (ed) *Food industrial processes-methods and equipment*, 1st edn. InTech, Rijeka, 281–300.

19. Kuster, B. (1990) 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). A review focussing on its manufacture. *Starch Stärke*, **42**:314–321.
20. Alimentarius, C. (2001) Revised codex standard for honey. *Codex Stan*, **12**:1982.
21. Glatt, H., Schneider, H., Liu, Y. (2005) V79-hCYP2E1-hSULT1A1, a cell line for the sensitive detection of genotoxic effects induced by carbohydrate pyrolysis products and other food-borne chemicals. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, **580**:41–52.
22. Lee, Y. C., Shlyankevich, M., Jeong, H. K., Douglas, J. S., Surh, Y. J. (1995) Bioactivation of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde to an electrophilic and mutagenic allylic sulfuric acid ester. *Biochem Biophys Res Commun*, **209**:996–1002.
23. Monien, B. H., Engst, W., Barknowitz, G., Seidel, A., Glatt, H. (2012) Mutagenicity of 5-hydroxymethylfurfural in V79 cells expressing human SULT1A1: identification and mass spectrometric quantification of DNA adducts formed. *Chem Res Toxicol*, **25**:1484–1492.
24. Zhao, L., Chen, J., Su, J., Li, L., Hu, S., Li, B. et al. (2013) In vitro antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural. *J Agric Food Chem*, **61**(44):10604–10611.
25. Yamada, P., Nemoto, M., Shigemori, H., Yokota, S., Isoda, H. (2011) Isolation of 5-(hydroxymethyl) furfural from lycium chinense and its inhibitory effect on the chemical mediator release by basophilic cells. *Planta Med*, **77**:434–440.
26. Kitts, D. D., Chen, X. M., Jing, H. (2012) Demonstration of antioxidant and anti-inflammatory bioactivities from sugar–amino acid Maillard reaction products. *J Agric Food Chem*, **60**:6718–6727.
27. Li, M. M., Wu, L. Y., Zhao, T., Xiong, L., Huang, X., Liu, Z. H. et al. (2011) The protective role of 5-HMF against hypoxic injury. *Cell Stress Chaperones*, **16**:267–273.
28. Lin, S. M., Wu, J. Y., Su, C., Ferng, S., Lo, C. Y., Chiou, R. Y. Y. (2012) Identification and mode of action of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) and 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid (MTCA) as potent xanthine oxidase inhibitors in vinegars. *J Agric Food Chem*, **60**:9856–9862.
29. Crane, E. (1983) *The Archaeology of Beekeeping*. London: Gerald Duckworth & Co.
30. Jones, R. (2001) Honey and healing through the ages. In Munn P, Jones R (eds): *Honey and Healing*. Cardiff: International Bee Research Association IBRA, 1–4.
31. Crane, E. (1999) *The World History of Beekeeping and Honey Hunting*. London: Gerald Duckworth & Co.
32. Allsop, K. A., Miller, J. B. (1996) Honey revisited: A reappraisal of honey in pre-industrial diets. *Br J Nutr*, **75**:513–520.
33. Lay-flurrie, K. (2008). *Honey in wound care: effects, clinical application and patient benefit*. British Journal of Nursing (Mark Allen Publishing).
34. Molan, P. (1999) The role of honey in the management of wounds. *J Wound Care*, **8**:415–418.
35. Molan, P. (1998) Brief review of honey as a clinical dressing. *Aust J Wound Manage*, **6**:148–158.
36. Molan, P. (1999) Why honey is effective as a medicine. 1. Its use in modern medicine. *Bee World*, **80**:79–92.

37. American Honey Board. (2005) Honey-Nutrition and Health. National Honey Board, 1–27.
38. Al-Quassemi, R., Robinson, R. K.. (2003) Some special nutritional properties of honey a brief review. *Nutr Food Sci*, **33**:254–260.
39. Molan, P. (2001) Why honey is effective as a medicine. 2. The scientific explanation of its effects. *Bee World*, **82**:22–40.
40. Anklam, E. (1998) A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem*, **63**:549–562.
41. Gidamis, A. B., Chove, B. E., Shayo, N. B., Nnko, S.A., Bangu, N. T. (2004) Quality evaluation of honey harvested from selected areas in Tanzania with special emphasis on hydroxymethyl furfural (HMF) levels. *Plant Foods Hum Nutr*, **59**:129–132.
42. Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S. A. et al. (2012) Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than 1 year. *BMC Complement Altern Med*, **12**:177.
43. Mehryar, L., Esmaili, M., Hassanzadeh, A. (2013) Evaluation of some physicochemical and rheological properties of Iranian honeys and the effect of temperature on its viscosity. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, **13**:807–819.
44. Persano-Oddo, L., Piro, R. (2004) Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, **35**:38–81.
45. Siddiqui, I. R. (1970) The sugars of honey. *Adv Carbohydr Chem*, **25**:285–309.
46. Kenjeric, D., Mandic, M. L., Primorac, L., Bubalo, D., Perl, A. (2007) Flavonoid profile of Robinia honeys produced in Croatia. *Food Chem*, **102**:683–690.
47. Bogdanov, S., Ruoff, K., Persano-Oddo, L. (2007) Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, **35**:4–17.
48. Arcot, J., Brand-Miller, J. C. (2005) A preliminary assessment of the glycemic index of honey. A Report for the Rural Industries Research and Development Corporation, 1–24.
49. Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., Brand-Miller, J. C. (2002) International table of glycemic index and glycemic load values. *Am J Clin Nutr*, **76**:5–56.
50. Ischayek, J. I., Kern, M. (2006) US honeys varying in glucose and fructose content elicit similar glycemic indexes. *J Am Diet Ass*, **106**:1260–1262.
51. Al-Khalidi, A., Jawad, F. H., Tawfiq, N. H. (1980) Effects of bees honey, zahdi dates and its syrup on blood glucose and serum insulin of diabetics. *Nutr Rep Int*, **21**:631–643.
52. Jawad, F. H., Al-Khalidi, A., Tawfiq, N. H. (1981) Effects of bees honey, zahdi date and its syrup on blood glucose and serum insulin of normal subjects. *J Faculty Medicine*, **23**:169–180.
53. Al-Waili, N. S. (2004) Natural honey lowers plasma glucose, C-reactive protein, homocysteine, and blood lipids in healthy, diabetic, and hyperlipidemic subjects: Comparison with dextrose and sucrose. *J Med Food*, **7**:100–107.

54. Al-Waili, N. S. (2003) Intrapulmonary administration of natural honey solution, hyperosmolar dextrose or hypoosmolar distilled water to normal individuals and to patients with type-2 diabetes mellitus or hypertension: Their effects on blood glucose level, plasma insulin and C-peptide, blood pressure and peaked expiratory flow rate. *Eur J Med Res*, **8**:295–303.
55. Elliott, S. S., Keim, N. L., Stern, J. S., Teff, K., Havel, P. J. (2002) Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr*, **76**:911–922.
56. Busserolles, J., Gueux, E., Rock, E., Mazur, A., Rayssiguier, Y. (2002) Substituting honey for refined carbohydrates protects rats from hypertriglyceridemic and prooxidative effects of fructose. *J Nutr*, **132**:3379–3382.
57. Davies, A. M. C. (1975) Amino acid analysis of honeys from eleven countries. *Journal of Apiculture Research*, **14**:29–39.
58. Davies, A. M. C. (1976) The application of amino acid analysis to the determination of the geographical origin of honey. *Journal of Food Technology*, **11**:515–523.
59. Hermosín, I., Chicón, R. M., Cabezudo, M. D. (2003) Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, **83**:263–268.
60. Bouseta, A., Scheirman, V., Collin, S. (1996) Flavor and free amino acid composition of lavender and eucalyptus honeys. *Journal of Food Science*, **61**(4):683–694.
61. Frankel, S. M., Robinson, G. E., Berenbaum, M. R. (1998) Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *J Apicultural Res*, **37**:27–31.
62. Sanna, G., Pilo, M. I., Piu, P. C., Tapparo, A., Seeber, R. (2000) Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes. *Anal Chim Acta*, **415**:165–173.
63. Fallico, B., Zappala, M., Arena, E., Verzera, A. (2004) Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chem*, **85**(2):305–313.
64. Khalil, M., Sulaiman, S., Gan, S. (2010) High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than 1 year. *Food Chem Toxicol*, **48**:2388–2392.
65. Rosatella, A. A., Simeonov, S. P., Frade, R. F., Afonso, C. A. (2011) 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform: biological properties, synthesis and synthetic applications. *Green Chem*, **13**:754–793.
66. Fallico, B., Arena, E., Zappala, M. (2008) Degradation of 5-hydroxymethylfurfural in honey. *J Food Sci*, **73**:625–631.
67. Huber, G. W., Iborra, S., Corma, A. (2006) Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering. *Chem Rev*, **106**:4044–4098.
68. Moniruzzaman, M., Khalil, M. I., Sulaiman, S. A., Gan, S. H. (2013) Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. *BMC Complement Altern Med*, **13**:43.
69. Kavousi, P., Mirhosseini, H., Ghazali, H., Ariffin, A. A. (2015) Formation and reduction of 5-hydroxymethylfurfural at frying temperature in model system as a function of amino acid and sugar composition. *Food Chem*, **182**:164–70.

70. Román-Leshkov, Y., Chheda, J. N., Dumesic, J. A. (2006) Phase modifiers promote efficient production of hydroxymethylfurfural from fructose. *Science*, **312**:1933–1937.
71. Solayman, M., Islam, M., Paul, S., Ali, Y., Khalil, M., Alam, N. et al. (2015) Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, **5**:219–233.
72. Singh, N., Singh, S., Bawa, A., Sekhon, K. (1988) Honey its food uses. *Indian Food Packer*, **42**:15–25.
73. Spano, N., Casula, L., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Scanu, R. et al. (2006) An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey: the case of strawberry tree honey. *Talanta*, **68**:1390–1395.
74. Gökmen, V., Açar, Ö. Ç., Köksel, H., Acar, J. (2007) Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chem*, **104**:1136–1142.
75. Gökmen, V., Açar, Ö. Ç., Serpen, A., Morales, F. J. (2008) Effect of leavening agents and sugars on the formation of hydroxymethylfurfural in cookies during baking. *Eur Food Res Technol*, **226**:1031–1037.
76. Turhan, K. (2009) Effects of thermal treatment and storage on hydroxymethylfurfural (HMF) content and diastase activity of honeys collected from middle Anatolia in Turkey. In: *Innovations in chemical biology*. Springer, Berlin, 233–239.
77. Sancho, M. T., Muniategui, S., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J. (1992) Aging of honey. *J Agric Food Chem*, **40**:134–138.
78. Bulut, L., Kilic, M. (2009) Kinetics of hydroxymethylfurfural accumulation and color change in honey during storage in relation to moisture content. *J Food Process Preserv*, **33**:22–32.
79. OumaáAnam, O. (1995) Influence of metal ions on hydroxymethylfurfural formation in honey. In: *Analytical proceedings including analytical communications*. Royal Society of Chemistry, London, 515–517.
80. Persano-Oddo, L., Piazza, M. G., Pulcini, P. (1999) Invertase activity in honey. *Adipologie*, **30**:57-65.
81. White, J. W. Jr. (1975) Composition of honey, in: Crane E. (Ed.), *Honey: a Comprehensive Survey*, Heinemann, London. 180-194.
82. Rinaudo, M. T., Ponzetto, C., Vidano, C., Marletto, F. (1973) The origin of honey saccharase. *Comp Biochem Physiol*, **46**:245-251.
83. White, J. W. Jr. (1978) Honey. *Food Res*, **24**:287-374.
84. Maurizio, A. (1975) How bees make honey, in: Crane E.(Ed.), *Honey: A Comprehensive Survey*, Heinemann, London. 77-105.
85. Brouwers, E. V. M. (1982) Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. *J Apic Res*, **21**(4):193-198.
86. Brouwers, E. V. M. (1983) Activation of the hypopharyngeal glands of honeybees in winter. *J Apic Res*, **22**(3):137-141.
87. European Economic Community, (1974) EEC Council directive of 22 July 1974 on the harmonisation of the laws of the members states relating to honey, *Off J Eur Comm*, **221**:10-14.

- 88.** Huang, Z. Y., Otis, G. W.. (1989) Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insectes Soc*, **36**(4):264-276.
- 89.** Huang, Z. Y., Otis, G. W., Teal, P. E. A. (1989) Nature of brood signal activating the protein synthesis of hypopharyngeal gland in honey bee *Apis mellifera* (Apidae: Hymenoptera). *Apidologie*, **20**:455-464.
- 90.** Simpson, J., Riedel, I. B. M., Wilding, N. (1968) Invertase in hypopharyngeal glands of the honeybee. *J Apic Res*, **7**(1):29-36.,
- 91.** Codex Alimentarius Commission, Recommended European Regional Standard for Honey(CAC/RS 12-1969). FAO and WHO, Rome, 1969.
- 92.** Dustmann, J. H. (1993) Honey, quality and its control. *Am Bee J*, **133**(9):648-651.
- 93.** White, J. W. Jr, Kushnir, I., Subers, M. H. (1964) Effect of storage and processing temperature on honey quality. *Food Technol*, **18**(4):153-156.
- 94.** <https://www.aappublications.org/news/2018/11/19/honey111918> (Erişim tarihi:27.06.2019)
- 95.** Chepulis, L. M., Starkey, N. J., Waas, J. R., Molan, P. C. (2009) The effects of long-term honey, sucrose or sugar-free diets on memory and anxiety in rats. *Physiol Behav*, **97**:359–368.
- 96.** Ramenghi, L. A., Amerio, G., Sabatino, G. (2001) Honey, a palatable substance for infants: from *De Rerum Natura* to evidence-based medicine. *Eur J Pediatr*, **160**:677–678.
- 97.** Rivero-Urgell, M., Santamaria-Orleans, A. (2001) Oligosaccharides: application in infant food (review). *Early Hum Dev*, **65**:43–52.
- 98.** Ajibola, A., Chamunorwa, J. P., Erlwanger, K. H. (2011) Comparative effects of honey and sugar on the morphometry of viscera in growing Sprague-Dawley rats (*Rattus norvegicus*). In *Book of Abstract of 31st Scientific Conference: 7–9 September 2011*, 9.
- 99.** Chepulis, L., Starkey, N. (2008) The long-term effects of feeding honey compared to sucrose and a sugar-free diet on weight gain, lipid profiles, and DEXA measurements in rats. *J Food Sci*, **73**(1):1–7.
- 100.** Yaghoobi, N., Al-Waili, N., Ghayour-Mobarhan, M., Parizadeh, S. M., Abasalti, Z., Yaghoobi, Z. et al. (2008) Natural honey and cardiovascular risk factors; effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerol, CRP, and body weight compared with sucrose. *Sci World J*, **8**:463–469.
- 101.** Al-Waili, N. S., Boni, N. S. (2003) Natural honey lowers plasma prostaglandin concentrations in normal individuals. *J Med Food*, **6**:129–133.
- 102.** Inoue, K., Murayarna, S., Seshimo, F., Takeba, K., Yoshimura, Y., Nakazawa, H. (2005) Identification of phenolic compound in manuka honey as specific superoxide anion radical scavenger using electron spin resonance (ESR) and liquid chromatography with colorimetric array detection. *J Sci Food Agric*, **85**:872–878.
- 103.** Münstedt, K., Hoffmann, S., Hauenschild, A., Bulte, M., von-Georgi, R., Hackethal, A. (2009) Effect of honey on serum cholesterol and lipid values. *J Med Food*, **12**(3):624–628.
- 104.** Begum, S. B., Roobia, R. R., Karthikeyan, M., Murugappan, R. M. (2015). Validation of nutraceutical properties of honey and probiotic potential of its innate microflora. *LWT - Food Science and Technology*, **60**(2):743-750.

- 105.** Sanz, M. L., Polemis, N., Morales, V., Corzo, N., Drakoularakou, A, Gibson, G. R. et al. (2005) In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *J Agric Food Chem*, **53**:2914–2921.
- 106.** Yun, Y. W. (1996) Fructooligosaccharides occurrence, preparation and application. *Enzyme Microb Technol*, **19**:107–117.
- 107.** Ustunol, Z., Gandhi, H. (2001) Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. on honey sweetened skim milk. *J Food Prot*, **64**(11):1775–1779.
- 108.** Kajiwarra, S., Gandhi, H., Ustunol, Z. (2002) Effect of honey on the growth of and acid production by human intestinal *Bifidobacterium* spp An in vitro comparison with commercial oligosaccharides and inulin. *J Food Prot*, **65**:214–218.
- 109.** Shin, H. S., Ustunol, Z. (2005) Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: An in vitro comparison. *Food Res Int*, **38**:721–728.
- 110.** Shamala, T. R., Jyothi, Y. S., Saibaba, P. (2000) Stimulatory effect of honey on multiplication of lactic acid bacteria under in vitro and in vivo conditions. *Lett Appl Microbiol*, **30**:453–455.
- 111.** Ladas, S. D., Haritos, D. N., Raptis, S. A. (1995) Honey may have a laxative effect on normal subjects because of incomplete fructose absorption. *Am J Clin Nutr*, **62**:1212–1215.
- 112.** Ladas, S. D., Raptis, S. A. (1999) Honey, fructose absorption, and the laxative effect. *Nutrition*, **15**:591–592.
- 113.** Ariefdjohan, M. W., Martin, B. R., Lachcik, P. J., Weaver, C. M. (2008) Acute and chronic effects of honey and its carbohydrate constituents on calcium absorption in rats. *J Agric Food Chem*, **56**:2649–2654.
- 114.** Al-Waili, N. S. (2003) Effects of daily consumption of honey solution on hematological indices and blood levels of minerals and enzymes in normal individuals. *J Med Food*, **6**:135–140.
- 115.** Schramm, D. D., Karim, M., Schrader, H. R., Holt, R. R., Cardetti, M., Keen, C. L. (2003) Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *J Agric Food Chem*, **51**:1732–1735.
- 116.** Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., Battino, M. (2010) Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean J Nutr Metab*, **3**:15–23.
- 117.** Ahmad, A., Azim, M. K., Mesaik, M. A., Khan, R. A. (2008) Natural honey modulates physiological glycemic response compared to simulated honey and D-glucose. *J Food Sci*, **73**:165–167.
- 118.** Bahrami, M., Ataie-Jafari, A., Hosseini, S., Foruzanfar, M. H., Rahmani, M., Pajouhi, M. (2009) Effects of natural honey consumption in diabetic patients: An 8-week randomized clinical trial. *Int J Food Sci Nutr*, **60**:618–626.
- 119.** Erejuwa, O. O., Gurtu, S., Sulaiman, S. A., Wahab, M. S., Sirajudeen, K. N., Salleh, M. S. (2010) Hypoglycemic and antioxidant effects of honey supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Vitam Nutr Res*, **80**:74–82.
- 120.** Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Wahab, M. S., Sirajudeen, K. N., Salleh, M. S., Gurtu, S. (2011) Glibenclamide or metformin combined with honey improves glycemic control in streptozotocin induced diabetic rats. *Int J Biol Sci*, **7**:244–252.

- 121.** Cortés, M. E., Vigil, P., Montenegro, G. (2011) The medicinal value of honey: A review on its benefits to human health, with a special focus on its effects on glycemic regulation. *Cien Inv Agr*, **38**:303–317.
- 122.** Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Wahab, M. S. (2012) Fructose might contribute to the hypoglycemic effect of honey. *Molecules*, **17**:1900–1915.
- 123.** Herman, R. H., Zakim, D. (1968) Fructose Metabolism I. The Fructose Metabolic Pathway. *Am J Clin Nutr*, **21**(3):245–249.
- 124.** Bogdanov, S. (2009) Harmonised Methods Of The International Honey Commission. IHC responsible for the methods. *Bee Product Science*, 1-63.,
- 125.** Karkacier, M., Erbas, M., Uslu, M. K., Aksu, M. (2003) Comparison of different extraction and detection methods for sugars using amino-bonded phase HPLC. *J Chromatogr Sci*, **41**(6):331-3.
- 126.** Anonymous. (2003) Honey Rescript, Turkish Alimentarius Codex, The official gazette of the Republic of Turkey, 25180 (in Turkish).
- 127.** Raymond, J. (2018) Geor. Internal Medicine and Clinical Nutrition. In: Stephen M. Reed, Warwick M. Bayly and Debra C (Ed). *Sellon Equine Internal Medicine (Fourth Ed.)*, 191-217.
- 128.** Gökmen, V., Şenyuva, H. Z. (2006) Effects of some cations on the formation of acrylamide and furfurals in glucose asparagine model system. *Eur Food Res Technol*, **225**:815–820.
- 129.** Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., Dodson, A. T. (2002) Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, **419**:448-449.
- 130.** Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A. et al (2002) Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, **419**:449-450.
- 131.** Yaylayan, V. A., Wnorowski, A., Perez-Locas, C. (2003) Why Asparagine Needs Carbohydrates To Generate Acrylamide. *J Agric Food Chem*, **51**:1753–1757.
- 132.** Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K. et al. (2003) Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. *J Agric Food Chem*, **51**:4782–4787.
- 133.** Ehling, S., Shibamoto, T. (2003) Correlation of Acrylamide Generation in Thermally Processed Model Systems of Asparagine and Glucose with Color Formation, Amounts of Pyrazines Formed, and Antioxidative Properties of Extracts. *J Agric Food Chem*, **53**:4813–4819.
- 134.** Elmore, J. S., Koutsidis, G., Dodson, A. T., Mottram, D. S., Wedzicha, B. L. (2005) Measurement of Acrylamide and Its Precursors in Potato, Wheat, and Rye Model Systems. *J Agric Food Chem*, **53**:1286–1293.
- 135.** Porter, D. H., Cook, R. J., Wagner, C. (1985) Enzymatic properties of dimethylglycine dehydrogenase and sarcosine dehydrogenase from rat liver. *Arch Biochem Biophys*, **243**(2):396–407.
- 136.** Wittwer, A. J., Wagner, C. (1981) Identification of the folate-binding proteins of rat liver mitochondria as dimethylglycine dehydrogenase and sarcosine dehydrogenase. Flavoprotein nature and enzymatic properties of the purified proteins. *J Biol Chem*, **256**(8):4109–15.
- 137.** Lee, M. Y., Lin, Y. R., Tu, Y. S., Tseng, Y. J., Chan, M. H., Chen, H. H. (2017) Effects of sarcosine and N, N-dimethylglycine on NMDA receptor-mediated excitatory field potentials. *J Biomed Sci*, **24**(1):18.

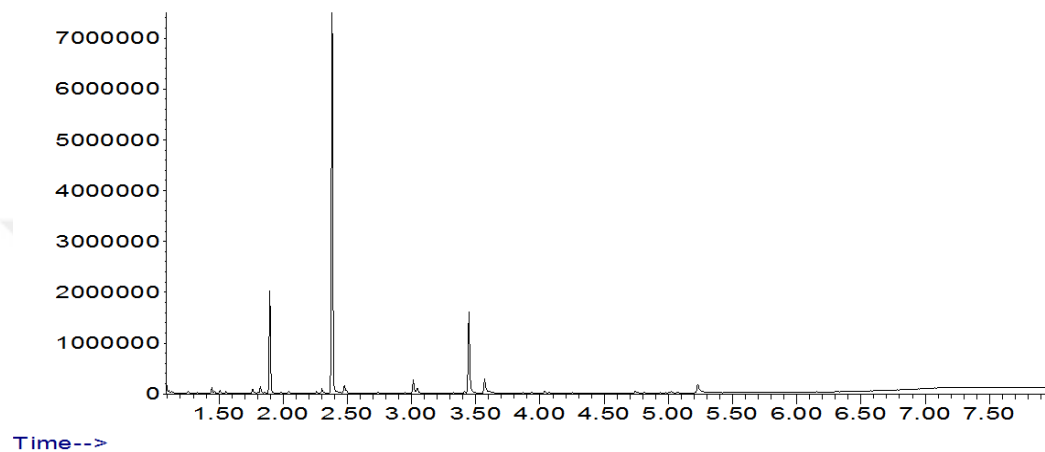
- 138.** Huang, C. C., Wei, I. H., Huang, C. L., Chen, K. T., Tsai, M. H., Tsai, P. et al. (2013) Inhibition of glycine transporter-I as a novel mechanism for the treatment of depression. *Biol Psychiatry*, **74**(10):734–41.
- 139.** Lin, J. C., Chan, M. H., Lee, M. Y., Chen, Y. C., Chen, H. H. (2016) N, N-dimethylglycine differentially modulates psychotomimetic and antidepressant-like effects of ketamine in mice. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, **71**:7–13.
- 140.** Takahashi, T., Sasaki, K., Somfai, T., Nagai, T., Manabe, N., Edashige, K. N. (2016) N-Dimethylglycine decreases oxidative stress and improves in vitro development of bovine embryos. *J Reprod Dev*, **62**(2):209–12.
- 141.** Graber, C. D., Goust, J. M., Glassman, A. D., Kendall, R., Loadholt, C. B. (1981) Immunomodulating properties of dimethylglycine in humans. *J Infect Dis*, **143**(1):101–5.
- 142.** Steve, B., Levine, D. V. M., Grant, D., Myhre, D. V. M., Guy, L., Smith, D. V. M. et al. (1982) Effect of a Nutritional Supplement Containing N,N-Dimethylglycine (DMG) on the Racing Standardbred. *Equine Practice*, **4**:17–20.
- 143.** Freed, W. J. (1985) Prevention of strychnine-induced seizures and death by the N-methylated glycine derivatives betaine, dimethylglycine and sarcosine. *Pharmacol Biochem Behav*, **22**(4):641–3.
- 144.** Kern, J. K., Miller, V. S., Cauller, P. L., Kendall, P. R., Mehta, P. J., Dodd, M. (2001) Effectiveness of N,N-dimethylglycine in autism and pervasive developmental disorder. *J Child Neurol*, **16**(3):169–73.
- 145.** Xia, R. R. (2011) Effectiveness of nutritional supplements for reducing symptoms in autism-spectrum disorder: a case report. *J Altern Complement Med*, **17**(3):271-4.



EKLER

EK-1. GC-MS Amino Asit Kromatografisi

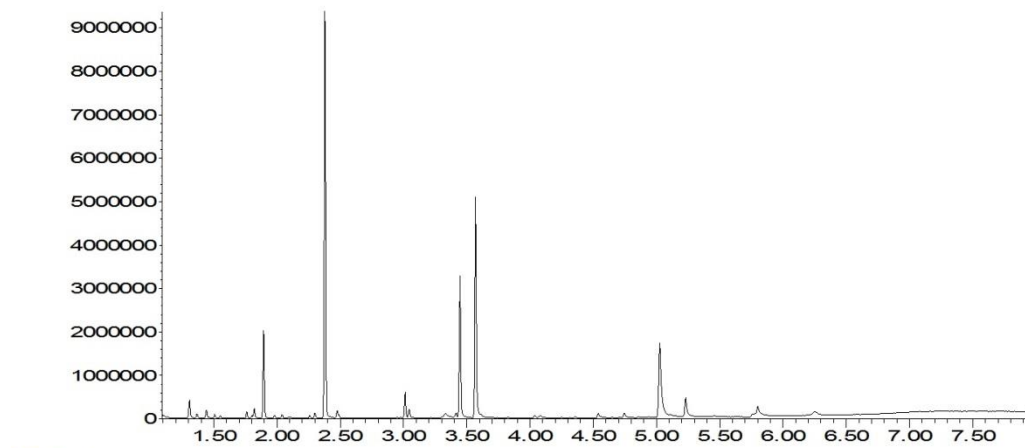
Abundance



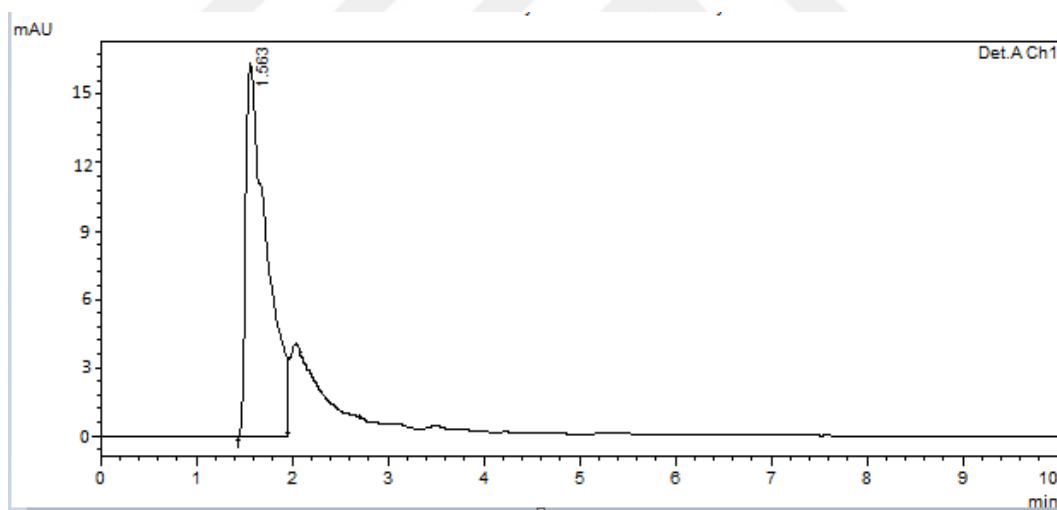
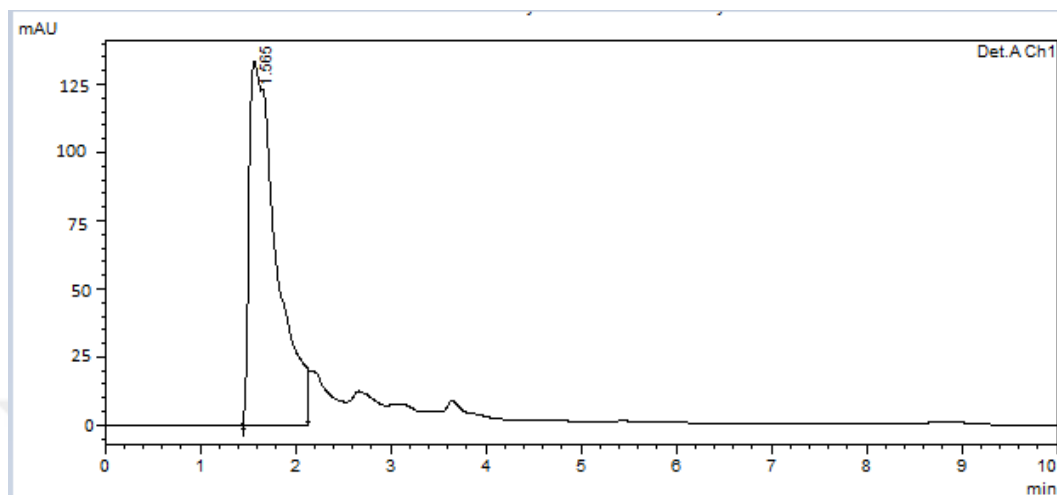
Time-->



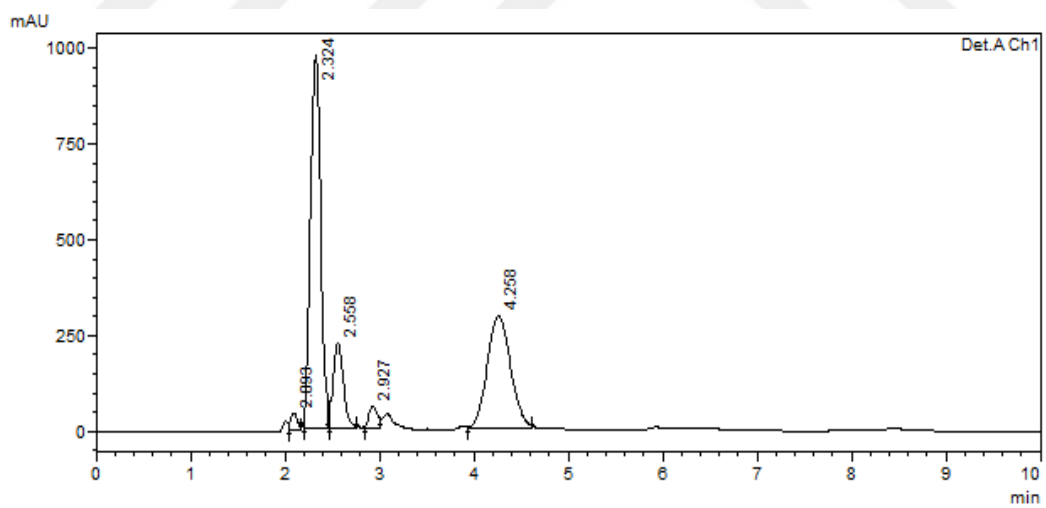
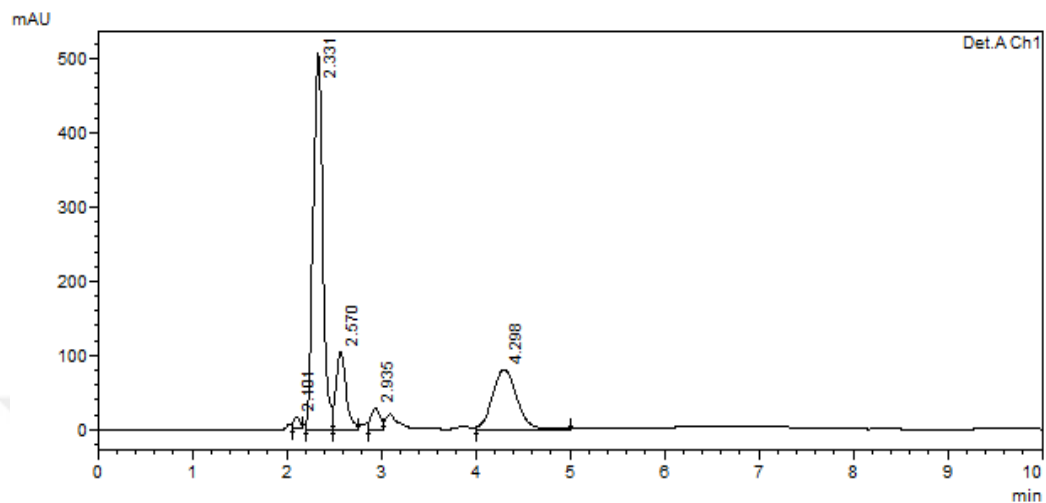
Abundance



Time-->

EK-2. HPLC HMF Kromatografisi

EK-3. HPLC Şeker Kromatografisi





ÖZGEÇMİŞ VE İLETİŞİM BİLGİLERİ

I. Bireysel Bilgiler

- Adı-Soyadı: Ali İmran DAŞTAN
- Doğum yeri ve tarihi: Sivas-02.02.1992
- Uyuşu: T.C
- Medeni durum: Bekâr
- İletişim adresi ve telefonu: imran_dastan@hotmail.com / 0535 342 49 12
- Yabancı dili: İngilizce

II. Eğitim Durumu

- Yüksek lisans: Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya
- Lisans: İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik (İngilizce/Tam Burslu)
- Lise: Özel Sivas Bilgi Anadolu Lisesi
- İlköğretim: Sivas Anadolu Selçuk İlköğretim Okulu

III. Yayınları

- Ozcelik, F., Dastan, A. I., Pence, H. H., & Ciraci, M. Z. (2019). Adaptive Contribution of Thyroid Hormones in Obesity. *International Journal of Negative Results*, 1(2), 1–11.
<https://doi.org/10.14302/issn.2641-9181.ijnr-18-2530>.





