



MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**HATAY İLİNDE ÜRETİLEN SALGI, OKALİPTÜS, ÇİÇEK VE MAYDANOZ
BALLARININ ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL, YAĞ ASİDİ VE
KALINTI ANALİZLERİ**

SERBAY BUCAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

TEMMUZ-2011



MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**HATAY İLİNDE ÜRETİLEN SALGI, OKALİPTÜS, ÇİÇEK VE MAYDANOZ
BALLARININ ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL, YAĞ ASİDİ VE
KALINTI ANALİZLERİ**

SERBAY BUCAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

TEMMUZ-2011

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HATAY İLİNDE ÜRETİLEN SALGI, OKALİPTÜS, ÇİÇEK VE MAYDANOZ
BALLARININ ANTIOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL, YAĞ ASİDİ VE KALINTI
ANALİZLERİ**

SERBAY BUCAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Yrd. Doç. Dr. Yener TEKELİ danışmanlığında hazırlanan bu tez 15/07/2011 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Yener TEKELİ
Başkan

Yrd. Doç. Dr. Birol ÖZKALP
Üye

Yrd. Doç. Dr. Gül ÖZYILMAZ
Üye

Bu tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Hüseyin GÖZÜBENLİ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 1004-Y-0110

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

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| ÖZET..... | I |
| ABSTRACT..... | II |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ..... | III |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | IV |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | V |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1. Bal ve Balın Sınıflandırılması..... | 2 |
| 1.2. Serbest Radikaller..... | 3 |
| 1.2.1. Serbest Radikal Yaratıcı Kaynaklar..... | 4 |
| 1.2.2. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)..... | 5 |
| 1.2.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)..... | 5 |
| 1.2.4. Hidroksil Radikali (OH^{\cdot})..... | 6 |
| 1.3. Antioksidanlar..... | 6 |
| 1.3.1. Doğal Antioksidanlar..... | 7 |
| 1.3.2. Sentetik Antioksidanlar..... | 9 |
| 1.4. Antimikrobiyal Maddeler ve Antimikrobiyal Aktivite Tayinleri..... | 11 |
| 1.4.1. Antimikrobiyal Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmaları..... | 12 |
| 1.4.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri..... | 14 |
| 1.4.2.1. Dilüsyon Metotları..... | 14 |
| 1.4.2.2. Difüzyon Metotları..... | 15 |
| 1.5. Yağ Asitleri..... | 16 |
| 1.5.1. Doymuş Yağ Asitleri..... | 16 |
| 1.5.2. Doymamış Yağ Asitleri..... | 17 |
| 1.6. Baldaki Naftalin ve Pestisit Kalıntıları..... | 18 |
| 1.6.1. Naftalin ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri..... | 18 |
| 1.6.2. Pestisitler ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri..... | 19 |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... | 21 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 28 |
| 3.1. Materyal..... | 28 |
| 3.1.1. Bal Örnekleri..... | 28 |
| 3.2. Yöntem..... | 28 |
| 3.2.1. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri..... | 28 |
| 3.2.1.1. Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu..... | 28 |

| | |
|--|----|
| 3.2.1.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi.... | 29 |
| 3.2.1.3. FRAP İndirgeme Gücü..... | 29 |
| 3.2.1.4. β - Karoten- Linoleik Asit Emülsiyon Yöntemi..... | 30 |
| 3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayin yöntemi..... | 31 |
| 3.2.2.1. Mikrodilüsyon Broth Yöntemi ile Antibakteriyel Aktivite Tayini. | 31 |
| 3.2.3. Yağ Asidi Kompozisyonu Tayin Yöntemi..... | 33 |
| 3.2.3.1. Numunelerin Gaz Kromatografisinde Analizi..... | 33 |
| 3.2.4. Kalıntı Analizi Yöntemleri..... | 34 |
| 3.2.4.1. Naftalin Kalıntısı Tayini..... | 34 |
| 3.2.4.2. Pestisit Kalıntıları Tayini..... | 34 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA..... | 36 |
| 4.1. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları..... | 36 |
| 4.1.1. Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu..... | 36 |
| 4.1.2. DPPH Radikal Süpürme Etkisi Deney Sonuçları..... | 37 |
| 4.1.3. İndirgeme Gücü (FRAP Yöntemi) Deney Sonuçları..... | 39 |
| 4.1.4. β - Karoten- Linoleik Asit Emülsiyon Yöntemi Deney Sonuçları..... | 41 |
| 4.2. Antimikrobiyal Aktivite Test Sonuçları..... | 43 |
| 4.3. Yağ Asidi Kompozisyonu GC Analiz Sonuçları..... | 55 |
| 4.4. Kalıntı Analiz Sonuçları..... | 55 |
| 4.4.1. Naftalin Analizi GC-MS Sonuçları..... | 55 |
| 4.4.2. Pestisit Analizi LC-MS MS Sonuçları..... | 57 |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER..... | 59 |
| KAYNAKLAR..... | 62 |
| TEŞEKKÜR..... | 69 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 70 |

ÖZET**HATAY İLİNDE ÜRETİLEN SALGI, OKALİPTÜS, ÇİÇEK VE MAYDANOZ BALLARININ ANTIOKSİDAN, ANTIMİKROBİYAL, YAĞ ASİDİ VE KALINTI ANALİZLERİ**

Bu çalışmada Hatay ilinde üretilen salgi, okaliptüs, çiçek ve maydanoz ballarının antioksidan aktiviteleri, antimikrobiyal etkileri, yağ asidi kompozisyonları, pestisit ve naftalin kalıntıları belirlenmiştir. Antioksidan kapasiteler Folin metodu, DPPH serbest radikal süpürme metodu, indirgeme gücü ve β -karoten-linoleik asit emülsiyon sistemi kullanılarak tayin edildi ve sonuçlar standart antioksidanlarla (BHA, BHT) kıyaslandı. Antimikrobiyal etki ise 6 bakteri türüne karşı mikrodilüsyon broth metodu kullanılarak belirlenmiştir. Yağ asidi kompozisyonlarının belirlenmesinde GC, kalıntı analizlerinde ise GC-MS ve LC MS-MS kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteau prosedürüne göre yapılmış ve bal örneklerinin fenolik içeriği 60,58-287,31 mgGAE/kgBal aralığında tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği yüksek olan örneklerin antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kullanılan 3 gram (+) ve 3 gram (-) bakteriye karşı balların düşük MİK değerleri gösterdiği bulunmuştur. Yapılan GC ve GC-MS analizlerinde bal örneklerinde yağ asidi ve naftalin kalıntısı tespit edilmemiştir. Bal örneklerinin LC MS-MS' te yapılan pestisit tayininde örnekler içerisinde toplam 81 adet pestisitten, Maydanoz balında iproidone (24,40 ppb) ve okaliptüs balında prothiophos (10.60 ppb) ve tolfluanid (11.50 ppb) kalıntıları tespit edilmiştir.

2011, 70 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bal, antioksidan, antimikrobiyal aktivite, MİK, GC-MS, Hatay

ABSTRACT**DETERMINATION OF ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL, FATTY ACID AND RESIDUE CONTENTS OF PINUS SP., EUCALYPTUS, FLOWER AND PETROSELINUM CRISPUM M. HONEYS FROM HATAY**

In this study; the antioxidant activities, antimicrobial effects, fatty acid composition, pesticide and naphthalene residue contents of some honey samples (Pinus sp., Eucalyptus, Petroselinum crispum M. and flower) from Hatay is determined. The antioxidant capacities were evaluated by using folin assay, free radical scavenging (DPPH) assay, reducing power and β -carotene-linoleic acid emulsion method and the results compared against reference synthetic antioxidants (BHA, BHT). The antimicrobial activity is determined using micro dilution broth method against six bacteria species. The fatty-acid structure and residue analysis of the honey samples were determined by GC, GC-MS and LC MS-MS respectively. Total phenolic content of the honey samples were determined according to the Folin-Ciocalteu procedure and found between 60,58–287,31 mg GAE/kg honey. The samples which have higher total phenolic content showed higher antioxidant activities. The honey samples showed low MIC values against 3 gram (+) and 3 gram (-) bacteria. From the GC and GC-MS analysis fatty acids and naphthalene weren't determined in honey samples. Totally 81 pesticides are studied by LC MS-MS and only 3 pesticides are determined, iprodione in Petroselinum crispum M. (24,40 ppb) and prothiophos (10,60 ppb), tolfluanid (11,50 ppb) in Eucalyptus.

2011, 70 pages

Keywords: Honey, antioxidant, antimicrobial activity, MIC, GC-MS, Hatay

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|----------|--|
| BHA | Bütillenmiş Hidroksianisol |
| BHT | Bütillenmiş Hidroksitoluen |
| DPPH | 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil |
| EPA | Çevre Koruma Ajansı |
| EU | Avrupa Birliği |
| FAO | Gıda Tarım Örgütü |
| FDA | Besin ve İlaç İdaresi |
| GC-MS | Gaz Kromatografisi Mass Dedektör |
| GSH | Glutasyon |
| LC MS-MS | Sıvı Kromatografisi Ardışık Mass Dedektör |
| MİK | Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu |
| MRSA | Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> |
| TBHQ | Tersiyer Bütihidrokinon |
| PG | Propilgallat |
| RNS | Reaktif Azot türleri |
| ROS | Reaktif Oksijen türleri |
| SOD | Süperoksit Dismutaz |
| TCA | Trikloroasetik Asit |
| TSE | Türk Sanayi Enstitüsü |
| UV/VIS | Ultraviyole/Görünür bölge |
| WHO | Dünya Sağlık Örgütü |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | Sayfa |
|---|--------------|
| Çizelge 1.1. Bazı doymamış yağ asitleri..... | 17 |
| Çizelge 4.1. Örnekler ve sentetik antioksidanlar için ortamdaki DPPH serbest radikallerinin inhibe edilen yüzde miktarları..... | 38 |
| Çizelge 4.2. Numune ve sentetik antioksidanların 700 nm'deki absorban değerleri..... | 40 |
| Çizelge 4.3. Sentetik antioksidan ve bal örneklerinin FRAP değerleri..... | 40 |
| Çizelge 4.4. Bal örnekleri ve standartların absorban değerleri..... | 41 |
| Çizelge 4.5. Bal örneklerinin absorban değişim oranları ve % inhibisyon değerleri..... | 41 |
| Çizelge 4.6. Bal örneklerinin bakteri türlerine karşı mg/ml konsantrasyonu cinsinden gösterdikleri MİK değerleri..... | 55 |
| Çizelge 4.7. Çalışmada kullanılan LC-MS cihazının pestisit tespit limitleri.. | 57 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | Sayfa |
|---|--------------|
| Şekil 1.1. Bazı önemli doğal antioksidanlar..... | 9 |
| Şekil 1.2. Ticari olarak satılan sentetik antioksidanlar..... | 10 |
| Şekil 1.3. Stearik asit (C 18:0)..... | 17 |
| Şekil 1.4. Naftalinin moleküler formülü..... | 18 |
| Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan mikropkaka okuyucu ve otomatik dispenser..... | 33 |
| Şekil 4.1. Standart gallik asit kalibrasyon grafiği..... | 36 |
| Şekil 4.2. Bal örneklerinin gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarı değerleri..... | 37 |
| Şekil 4.3. DPPH serbest radikal çözültisinin kalibrasyon grafiği..... | 38 |
| Şekil 4.4. Bal örneklerinin DPPH serbest radikal süpürücü aktiviteleri..... | 38 |
| Şekil 4.5. Bal örneklerinin IC50 değerlerinin karşılaştırılması..... | 39 |
| Şekil 4.6. Standart askorbik asit kalibrasyon grafiği..... | 39 |
| Şekil 4.7. Örneklerin linoleik asit peroksidasyonlarının zamanla değişimi..... | 42 |
| Şekil 4.8. Bal örnekleri ve standartların % inhibisyon değerleri..... | 42 |
| Şekil 4.9. Salgı balının <i>S. Aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 43 |
| Şekil 4.10. Okalıptüs balının <i>S. Aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 43 |
| Şekil 4.11. Çiçek balının <i>S. Aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 44 |
| Şekil 4.12. Maydanoz balının <i>S. Aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 44 |
| Şekil 4.13. Salgı balının <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 45 |
| Şekil 4.14. Okalıptüs balının <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 45 |
| Şekil 4.15. Çiçek balının <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 46 |
| Şekil 4.16. Maydanoz balının <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 46 |
| Şekil 4.17. Salgı balının <i>MRSA Staphylococcus aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 47 |
| Şekil 4.18. Okalıptüs balının <i>MRSA Staphylococcus aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 47 |
| Şekil 4.19. Çiçek balının <i>MRSA Staphylococcus aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 48 |
| Şekil 4.20. Maydanoz balının <i>MRSA Staphylococcus aureus</i> 'a karşı gösterdiği MİK değeri..... | 48 |
| Şekil 4.21. Salgı balının <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri..... | 49 |
| Şekil 4.22. Okalıptüs balının <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri..... | 49 |
| Şekil 4.23. Çiçek balının <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri..... | 50 |
| Şekil 4.24. Maydanoz balının <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri..... | 50 |
| Şekil 4.25. Salgı balının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 51 |
| Şekil 4.26. Okalıptüs balının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 51 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.27. Çiçek balının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 52 |
| Şekil 4.28. Maydanoz balının <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 52 |
| Şekil 4.29. Salgı balının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 53 |
| Şekil 4.30. Okaliptüs balının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 53 |
| Şekil 4.31. Çiçek balının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 54 |
| Şekil 4.32. Maydanoz balının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri..... | 54 |
| Şekil 4.33. GC-MS cihazında elde edilen standart naftalin kromatogramı..... | 56 |
| Şekil 4.34. Bal örneklerine ait GC-MS sonucu..... | 56 |

1. GİRİŞ

Çok uzun zamanlardan beri insanlar tarafından özellikle besin maddesi olarak ve bunun yanında şifa amaçlı tüketilen bal, son zamanlarda üzerinde çok fazla durulan bir gıda maddesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bal şifa ve besin kaynağı oluşunun yanı sıra, çeşitli ilaç ve kozmetik sanayisinde de kullanılmaktadır.

Bal yaklaşık 3000 seneden beri birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmıştır. Yakın zamanda yapılan bilimsel araştırmalar balın mucizevi etkilerini göz önüne sermektedir. Balın antioksidanca zengin olduğu ve antiseptik/antimikrobiyal, osmotik, hidrojen peroksit ve asiditesine bağlı çok çeşitli iyileştirici etkileri olduğu saptanmıştır. Bal içinde birçok polifenol yani doğal antioksidan olarak işlev gören madde barındırdığı için; uzun dönem tüketimi sonucu kanseri önlediği bildirilmiştir (Krell, 1996).

Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretildiği gibi, gıdalarla da alınan bir grup kimyasal maddedir. Bu moleküllerin vücutta gerekli seviyelerde bulunabilmesi için, yüksek oranda antioksidan içeren gıdaların alınmasına dikkat edilmelidir. Antioksidanların kalp hastalıkları, kanser, diyabet, inme, Alzheimer hastalığı, romatoid artrit, katarakt ve kronik hastalıkların gelişmesinde koruyucu bir rol oynadığına inanılmaktadır. Vücudun ihtiyacı olan antioksidanlar, antioksidanlarca zengin farklı besin maddelerinden karşılanabilmektedir. Antioksidanlarca zengin gıdalar arasında bal da önemli yer tutmaktadır. Ülkemizin değişik bölgelerinde, sahip oldukları floraya bağlı olarak farklı ballar üretilmektedir. Muğla ve yöresinde Çam balı; Akdeniz bölgesi ve civarında narenciye balı, bunun dışındaki illerimizde ise çok kaliteli çiçek balı üretilmektedir (Kayral ve Kayral, 1984). Bal antibakteriyel özelliği ile de ağız, boğaz ve bronş enfeksiyonlarına karşı kullanılmaktadır. Balın antibakteriyel etkisinin olduğu çok uzun zamanlardan beri bilinmektedir. Balın antimikrobiyal etkisi yüksek ozmotik basınç, düşük su aktivitesi, düşük pH, glikoz oksidaz sistemi (hidrojen peroksit), düşük protein oranı, yüksek karbon azot oranı, düşük redoks potansiyel ve içerdiği çeşitli kimyasal ajanlara bağlıdır (Snowdon ve Cliver, 1996). Günümüzde artık hangi balın antioksidan özelliğe sahip olduğu değil; bu ballardan hangisinin antioksidanlarca daha zengin ve antimikrobiyal yönden daha güçlü olduğunun tespiti önemlidir.

Bugün dünya üzerinde gelişmiş olan ve insan sağlığının ön planda olduğu ülkeler gerek iç piyasadan gerekse dış piyasadan aldıkları gıda ürünlerinde, insan sağlığını tehdit edecek ilaç kalıntılarının olması gereken limitlerini belirleyerek yürürlüğe koymuşlardır. Bu kurallar ışığında alınan gıda ürünlerinde olması gereken miktarlardaki kalıntılara izin verilmekte, fazlasına ise müsaade edilmemektedir. Türkiye’de 1999 yılından bu yana Avrupa’ya ihraç edilen ballarda naftalin kalıntısı nedeniyle iade sorunu yaşanmasından sonra gerek sağlık gerekse ekonomik açıdan problem teşkil etmesinden dolayı konu ciddi olarak gündeme gelmiştir. Tarım Bakanlığı Arıcılık Şubesi’nin Mayıs 2003’te yayınladığı raporda yer alan uyarılar arasında, bal gibi değerli bir besin maddesinin ilaç kalıntısı bulaştırılarak zararlı hale dönüştürülmemesi gerektiği bildirilmiştir. İthalatçı ülkelerin ballarımızda yaptığı testler sonucunda standartların üzerinde şeker, insan sağlığına zararlı karsinogen ilaç veya naftalin gibi toksik madde tespit edilmiş ve bu yüzden bazı ballar ülkemize iade edilmiştir (Çeliker, 2002).

Gerek Naftalinin gerekse Pestisit kalıntılarının insan sağlığı üzerine toksik etkileri göz önünde bulundurulduğunda, bal gibi yoğun tüketimi olan gıda ürünlerinde bu kalıntıların tespit edilmesi çok büyük önem arz etmektedir (Gül, 2008).

Bu çalışmada Hatay ilinde üretilen salgı, okalıptüs, çiçek ve maydanoz ballarının pestisit, naftalin kalıntıları tespit edilmiş; yağ asidi kompozisyonları ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiş, antimikrobiyal etkileri ise bazı gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı tespit edilmiştir.

1.1. Bal ve Balın Sınıflandırılması

Bal; “bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarların ya da bitkilerin canlı kısımları ile bazı eşkanatlı böceklerin salgıladığı tatlı maddelerin bal arıları (*Apis mellifera*, *Apis mellifica*) tarafından toplanması, organizmalarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucu meydana gelen koyu kıvamda tatlı bir üründür” şeklinde tanımlanmaktadır (Hısıl ve Börekçioglu, 1986).

Balın sınıflandırılması üretim ve pazarlama şekline ya da kaynağına göre yapılmaktadır. Üretim ve pazarlama şekline göre bal; süzme ve petekli, elde edildiği kaynağına göre ise çiçek ve salgı balı olarak sınıflandırılabilir (Öztürk, 2001).

Çiçek balı; genellikle bitkilerin çiçeklerinde bazen de kiraz, bakla, pamuk ve şeftali gibi bitkilerin yaprak sapı ve gövdelerinde bulunan nektar bezlerince salgılanan nektarın arılar tarafından toplanması ile oluşturulan baldır (Öztürk, 2001).

Salgı balı; Salgı, meşe, kayın ve ladin gibi orman ağaçları üzerinde yaşayan böceklerin salgıladığı tatlı salgıların arılar tarafından toplanması ile oluşturulan baldır. Ülkemiz nektar ve salgı üreten ağaçlar yönünden değerli türlere sahiptir. Ağaç ve çalılar içinde nektar ve salgı üretimi bakımından en önemlileri; akasya, ıhlamur, okaliptüs, Salgı, funda, çeşitli meyve ağaçları, söğüt, yalancı akasya, akçaağaç, böğürtlen, muz, kestane, koca yemiş, püren, erguvan ve meşedir. Ülkemiz için en önemli salgı balı Salgı balıdır (Öztürk, 2001).

1.2. Serbest Radikaller

Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller “serbest radikal” olarak tanımlanırlar (Halliwell, 1990). Serbest radikaller, hücre içinde yapıları bozan, DNA zararına ve hücredeki biyokimyasal bileşiklerde bozulmalara yol açan maddelerdir ve serbest radikaller vücutta oksidasyona sebep olurlar. Serbest radikaller elektron çalarak, DNA’da, hücrelerde, proteinlerde hasar oluşturan zincir reaksiyonunu başlatırlar.

Vücutta Serbest radikaller oluştuğunda;

- Elektron çalabilecekleri moleküller aramaya başlarlar,
- Bir kez elektron çalmada başarılı oldukları zaman kararlı hale geçmiş olurlar,
- Oluşan yeni molekül (elektron kaybeden) bir serbest radikaldir.
- Böylece sonu olmayan bir zincir reaksiyonu başlamış olur.
- Bu serbest radikaller vücutta biriktikçe sağlık kötüleşir ve yaşlanma hızlanır.

Hayatı tehdit eden aterosklerozis (damar tıkanıklığı), diyabet, kanser, yaşlanma, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklar ve genel hastalıkların oluş mekanizmasında serbest radikallerin yarattığı hasar yer almaktadır. En önemli serbest radikaller oksijen ve azot içeren; reaktif oksijen (ROS) ve reaktif azot (RNS) türleridir. Biyolojik olarak en aktif olan ise “reaktif oksijen türleridir” (ROS). Reaktif oksijen türleri iki başlık altında incelenebilir (Mercan, 2004):

1. Serbest radikaller (Süperoksit anyon (O_2^-), Hidroksil radikali (OH^\cdot), Peroksi radikaller (ROO^\cdot)
2. Radikal olmayanlar (Hidrojen peroksit (H_2O_2), Singlet oksijen (1O_2), Hipoklorik asit (HOCl), Karbon, Azot, Sülfür radikaller.

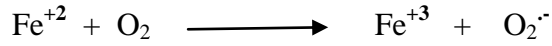
Canlı organizmalarda serbest radikallerin büyük çoğunluğunu serbest oksijen radikalleri oluşturur. Serbest oksijen radikalleri özellikle oksijenli solunum sırasında elektronların son elektron alıcısı olan oksijene taşınması sırasında teşekkül eder. Oksijenin tam olarak indirgenmediğinde meydana gelen son ürün sudur. Ancak oksijen tam olarak indirgenemez ise serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit, iki elektron alarak indirgenmesi ile hidrojen peroksit, üç elektron alarak indirgenmesi ile hidroksil radikali oluşur (Winston 1991).

1.2.1. Serbest Radikal Yaratan Kaynaklar

Alınan her nefeste vücutta serbest radikal oluşur, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, stres, sigara, alkol, radyasyon, enfeksiyon, virüsler, hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları v.b. dir. Ayrıca; bakteri hücrelerini ve virüsleri yok etmek için bağışıklık sistemimiz serbest radikaller üretebilir (Akkuş, 1995; Çömelekoğlu ve ark., 1999).

1.2.2. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

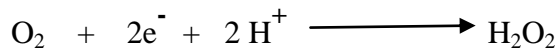
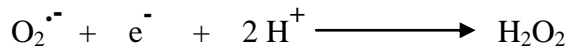
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur ayrıca indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir (Memişoğulları, 2005).



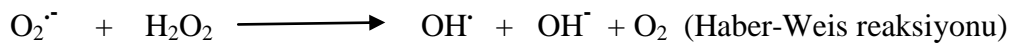
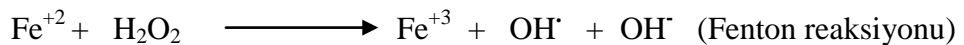
Süperoksit radikalının kendisi direkt olarak zarar vermez; fakat hidrojen peroksidin oluşumunda rol alması yönüyle serbest radikal biyokimyasında önemli yer tutar (Lunec, 1990; Akkuş, 1995).

1.2.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir (Prat ve ark., 1988).



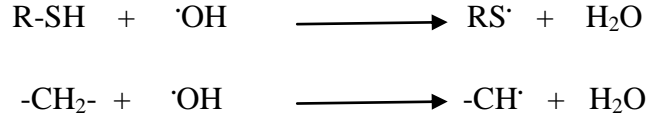
Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının ($O_2^{\cdot-}$) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşturur (Akkuş, 1995).



1.2.4. Hidroksil Radikali (OH•)

Hidroksil radikali (OH•), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.

Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS•), karbon merkezli organik radikaller (R•), organik peroksitler (RCOO•) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (Akkuş, 1995; Young, 2001; Cherubini, 2005).



1.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar vücut hücrelerine hasar veren serbest radikallerin yarattığı oksidasyon oluşumunu yavaşlatan veya önleyen moleküllerdir. Antioksidanlar; vücuttaki kimyasal reaksiyonları destekleyen protein yapısındaki enzimler ile vitamin ve mineral gibi besin öğeleridir. Antioksidanların kalp hastalıkları, kanser, diyabet, inme, alzheimer hastalığı, romatoid artrit, katarakt ve kronik hastalıkların gelişmesinde koruyucu bir rol oynadığına inanılmaktadır (Karadağ ve ark., 2009).

Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretildiği gibi, gıdalarla da alınan bir grup kimyasal maddedir. Gıdalarla alınan en önemli antioksidanlar, betakaroten, E (α -tokoferol) ve C (Askorbik asit) vitaminleridir. Bu moleküllerin vücutta gerekli seviyelerde bulunabilmesi için, yüksek oranda antioksidan içeren çay, meyve ve sebze gibi besinler alınmasına dikkat edilmelidir (A, C, E vitaminleri besinlerle dışarıdan alınır). Antioksidanlar; serbest radikalleri (ROS/RNS) yok eden kimyasal maddelerdir (Halliwell ve ark., 1995; Huang ve ark., 2005). Bunu vücudumuz gerektiğinde kendisi

üretir. SOD, GSH ve katalaz vücutta üretilen antioksidan enzimlerdir (Chaudiere ve Ferrari-Iliou, 1999).

Antioksidanlar ve enzim sistemleri; birlikte hareket ederek DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel bileşenlerde oluşacak “oksidatif hasarı” “reaktif oksijen türleri” oluşmadan önler veya hücrelere zarar vermeden önce ortadan kaldırırlar (süpürme etkisi) (Benzie, 2003). Doğal olarak vücudun "antioksidanlar" dediğimiz savunma sistemleri gelişmiştir ve sürekli olarak bu radikallerin oksidan etkilerini önlemeye çalışırlar. Sağlıklı insanlarda, antioksidan sistem dokuları yeterli düzeyde serbest radikal hasarına karşı korurlar. Dengenin bozulması (hastalık, beslenme bozukluğu...), antioksidan sistemde yetersizliğe neden olur ve yeterli koruma sağlayamazlar. Serbest radikaller nötralize edilmezlerse hücre membran proteinlerini yıkarak, membran lipit ve proteinlerini yok ederler. Hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellerler (Chaudiere ve Ferrari-Iliou, 1999).

1.3.1. Doğal Antioksidanlar

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır. Bununla birlikte aerobik organizmalarda bu oksidatif hasara karşı koruyucu bir sistem mevcuttur (Fridovich, 1995).

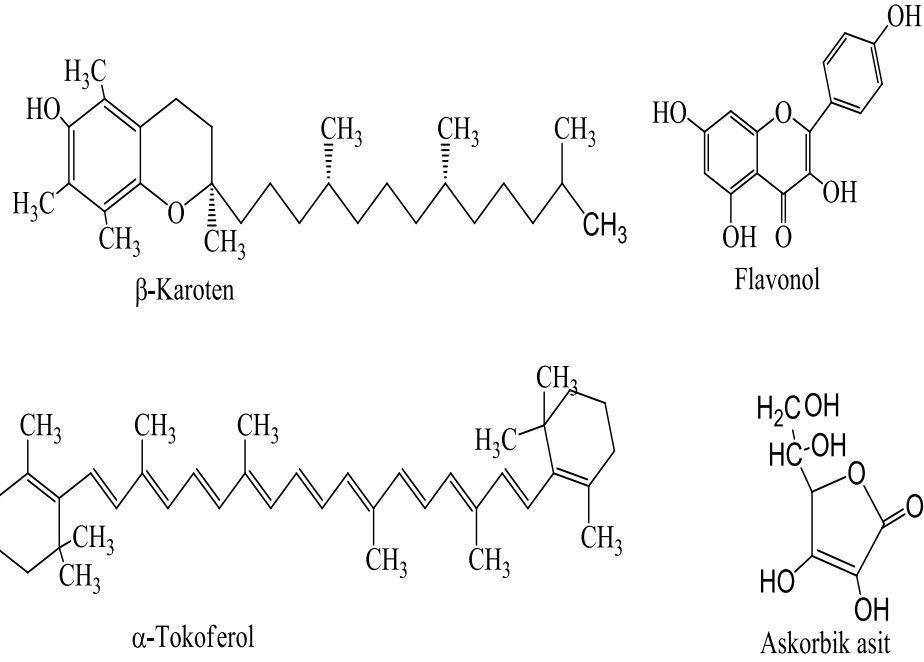
Bu sistem vücutta oluşan; süperoksit dismutaz (SOD), hidroksi radikaller, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimleri ve bazı lipit peroksidlerini içermektedir. Bir hormon olan melatoninin de antioksidan özelliği vardır. Bu doğal koruyucu sistem ile serbest radikallerin zararlı etkileri en aza indirgenmektedir ancak bazı dış faktörler bu dengeyi bozmaktadırlar. Eğer bu enzim sistemi radikalleri tamamen etkisiz hale getiremez ise bu

durumda diyet ile antioksidanların alımı oldukça büyük önem kazanmaktadır (Halliwell 1994).

Teknolojinin gelişmesi, oluşan çevre kirliliği ve diğer pek çok etken çeşitli toksik maddelere maruz kalmamıza neden olmaktadır. Bu toksik maddelerden dolayı insanlarda oluşan hastalıkların (kalp, kanser, erken yaşlanma vb. gibi) sayısı da her geçen gün artmaktadır. Bu hastalıklara çözüm getirmek, öncelikle bu hastalıkların oluşumunu tetikleyen etkenlerin başlıca sorumluları olan serbest radikallerin kontrol edilmesiyle gerçekleşebilir. Yaş ilerledikçe insanların savunma mekanizmaları zayıfladığından, vücudun serbest radikal dengesi bozulmaktadır. Çünkü vücudun doğal antioksidanları olan endogenaz enzimlerin üretim miktarı azalmaktadır. Bu yüzden dengenin yeniden sağlanması için antioksidan içerikli doğal besinlerin alınması önem kazanmaktadır. Doğal yollardan aldığımız besinlerde bulunan ve antioksidan özelliğe sahip olan maddeler (doğal antioksidanlar), serbest radikallerin etkilerini nötralize ederek, kanser ve kalp hastalıkları gibi toplumda erken ölümlerin başlıca nedenleri olan hastalıkları ve erken yaşlanmaya neden olan zincir reaksiyonlarının oluşumunu önlemekte veya geciktirmektedir (Floyd, 1990).

Doğal antioksidanlar hemen hemen tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hatta hayvansal dokularda dahi bulunmaktadır ve bunlar çoğunlukla polifenolik yapısındaki maddelerdir. Çok sayıda bitkisel infüzyonlar fenolik bileşiklerden özellikle fenolik asitler ve flavonoidlerden dolayı antioksidan ve farmakolojik özelliklere sahiptir ve sıklıkla halk hekimliğinde kullanılmaktadır. Bitkisel fenolik maddeler insan sağlığı açısından olduğu kadar bitkiler açısından da oldukça önemlidir. Özellikle bitkilerin mikrobiyal ataklara karşı koymasında bu bileşikler büyük öneme sahiptir. Bitkisel polifenoller aromatik hidroksilli bileşikler olup diyetle bulunan biyolojik etkinliğe sahip en güçlü bileşiklerdir (Bennick, 2002). Flavonoidler bitkiler âleminde geniş bir dağılıma sahip olup oldukça önemli fenolik bileşiklerdir. Genel olarak halkasal yapı ve özel hidroksil grupları içermektedir. Flavonoidler yapılarına göre altı grupta toplanabilirler. Bunlar: flavanoller, flavononlar, flavonoller, flavonlar, izoflavonlar ve antosiyaninlerdir (Feredioon ve ark. 1992, Rice Evans ve ark. 1996).

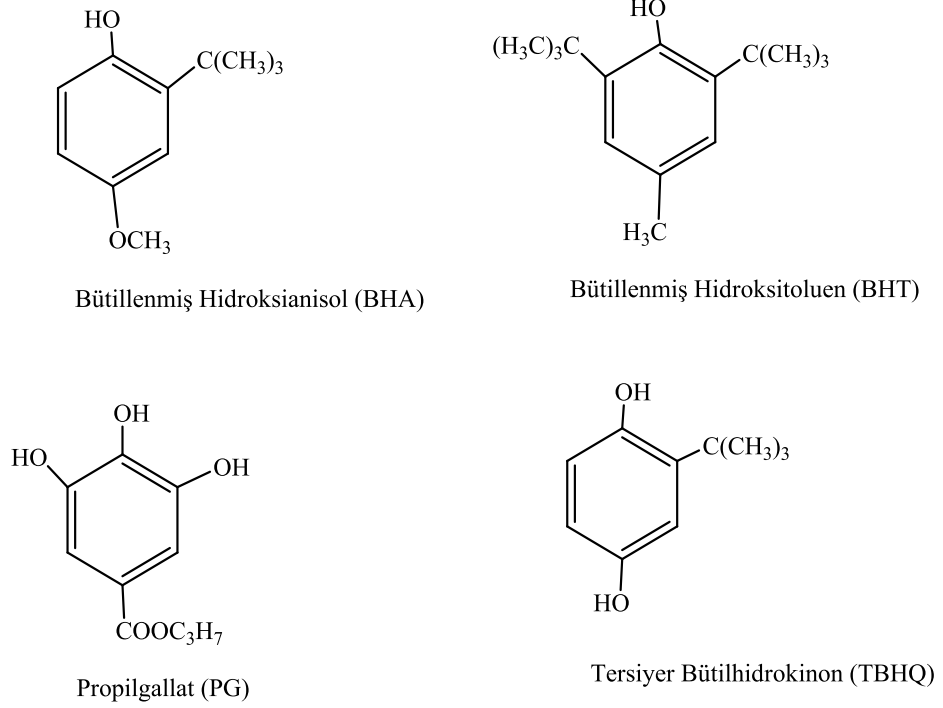
Doğal antioksidanların en önemlileri; tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, polifenoller, karotenoidler ve askorbik asittir (Hudson, 1990; Shahidi, 2000).



Şekil 1.1. Bazı önemli doğal antioksidanlar

1.3.2. Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, gıdalarda oksidatif bozulmayı önleyen veya geciktiren bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Bu bileşikler oksidatif ve otooksidatif işlemlerin başlangıcında etki göstererek oksidasyonu ve buna bağlı olarak oluşan istenmeyen reaksiyon ürünlerinin (kötü koku ve lezzet) oluşumunu engelleyebilmektedir. Geniş ifadeyle, antioksidanlar oksijen ile reaksiyona girerek, gıdalar içindeki olumsuz etkilerini engelleyen maddeler olarak da tanımlanırlar. Sentetik antioksidanlar ticari olarak üretilmektedir. Bunlar BHA, BHT, TBHQ ve PG' dir. Ancak bu sentetik antioksidanların kanser yapıcı ve mutajenik özelliklere sahip olmaları nedeniyle kullanımları yasaklanmıştır (Tang ve ark., 2000, 2001; Botsoglou ve ark., 2003). Gıdalarda sentetik antioksidanların kullanımı yaklaşık 60 yıl önceye dayanmaktadır. Sentetik antioksidanlar doğal antioksidanlardan daha ucuz olmaları, yüksek kararlılık ve yüksek etkinlik özellikleri nedeniyle yaygın kullanım alanlarına sahiptir. Son zamanlarda sentetik antioksidanların toksik etkilerine bağlı olarak doğal antioksidanlara olan ilgi oldukça artmıştır (Liviü ve ark., 2009).



Şekil 1.2. Ticari olarak satılan sentetik antioksidanlar

Antioksidanlar dört yolla aktivite gösterirler;

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidan moleküllerini daha zararsız olan moleküllere dönüştürerek fonksiyon gösterirler. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler.

2. Söndürme etkisi (Queching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirirler. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler. Aromatik halka yapılarındaki hidroksil grupları sayesinde hidrojen vererek redoks reaksiyonlarına girebilirler.

3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Oksidan molekülleri kendilerine bağlayarak etkisiz hale getirirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4. Onarma etkisi (Repair): Hasara uğramış olan biyomolekülü onararak oksidan moleküllerin zararlı etkilerini ortadan kaldırır (Gökpınar ve ark., 2006).

1.4. Antimikrobiyal Maddeler ve Antimikrobiyal Aktivite Tayinleri

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antimikrobiyal maddeler çok önemli bir rol oynamaktadır. Mikrobiyal büyümeyi önleyen kimyasal ya da biyolojik maddelere antimikrobiyal maddeler denmektedir. Antimikrobiyal maddeler mikroorganizma veya canlılardan elde edilebildiği gibi sentetik olarak da üretilmektedirler (Sevgi, 2010).

Günümüzde patojen bakterilerin bilinen antibiyotiklere karşı artan direnci, bazı enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ciddi problemler oluşturmaktadır. Bu durum özellikle Gram (+) hastane enfeksiyonlarında görülmekte olup, birçok ilaca dirençli olma hali mevcuttur. Özellikle, son yıllarda Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonları, immün sistemin bastırıldığı durumlar ile antibakteriyel ajanların gelişi güzel kullanılmaları sonucunda çok artmıştır (Sevgi, 2010).

Antimikrobiyal maddeler genellikle etkili olabildikleri mikroorganizma cins sayısının az ya da çok oluşuna bağlı olarak, dar veya geniş spektrumlu şekilde tanımlanır. Örneğin vankomisin gibi bazı antimikrobiyal maddeler sadece gram (+) bakterilere etkilidir, yani bunlar dar spektrumludur. Bir enfeksiyona neden olan mikroorganizma üzerine etkili, en dar spektrumlu maddeler tedavide ideal antimikrobiyal madde olarak kabul edilirler. Çünkü geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler konağın doğal bağışıklığında önemli rol oynayan ve ekolojik dengeyi sağlayan normal mikroorganizma florasını bozar. Ancak birkaç patojenin birlikte etken olduğu enfeksiyonlarda ya da mikrobiyoloji laboratuvarı sonuçlarının beklenemeyeceği acil durumlarda genellikle geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler kullanılır (Sevgi, 2010).

Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre iki gruba ayrılırlar.

- Bakteriyostatik olanlar: Bakteri ve hücrenin gelişmesini ve üremesini önlerler, bakteriyi direkt olarak öldürmezler. Gelişme ve üremeleri bozulan bakteriler vücudun hücresel savunma mekanizmaları tarafından yok edilirler.
- Bakterisid olanlar: Bakteri hücrelerini dolaysız olarak direkt etkileyerek yok ederler.

1.4.1. Antimikrobiyal Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmaları

Bakteri enfeksiyonlarında kullanılan kemoterapötiklerin etki mekanizmaları 5 grup altında incelenebilir.

a- Bakteri hücre duvarının sentezini inhibe etmek

Bakteri hücresi lipit yapıdaki sitoplâzma membranına ilave olarak membranın dış yüzünü örten bir de hücre duvarına sahiptir. Bakteriler dış ortamdan aktif transport sistemiyle, suda çözülmüş bir çok maddeyi alarak sitoplazmalarında konsantre ederler ve bunun sonucu olarak hücre içi ozmotik basınçları yükselir. Hücre duvarının görevi, bakteri sitoplâzmasının içindeki yüksek ozmotik basınca direnme suretiyle, hücrenin bütünlüğünü korumaktır. Eğer bu duvar herhangi bir nedenle zayıflayacak olursa veya oluşmazsa hücre şişer ve parçalanır. Bazı antibiyotikler bakteri hücre duvarının senteziyle ilgili biyokimyasal reaksiyonları bozarlar. Sonuçta hücre duvarı oluşamayacağı için bakteri hücresi ölür. Bu tip ilaçlar, gelişmesini tamamlamış bakteriler üzerine etkisizdirler; çünkü bunlarda hücre duvarının oluşumu zaten tamamlanmış durumdadır (Kayaalp, 2000).

b- Sitoplâzma membranının geçirgenliğini arttırmak

Deterjan özelliğine sahip antibiyotikler ve bazı antiseptikler sitoplâzma membranının geçirgenliğini arttırarak sitoplâzma içindeki fonksiyonel önemi bulunan nispeten ufak moleküllü bileşiklerin (aminoasitler, nükleotidler ve potasyum gibi) hücreden dışarı sızmalarına neden olurlar ve böylece bakterisidal etki oluştururlar. Bunların etkisi, hücre duvarının sentezini bozan antibiyotiklerin aksine, bakterinin gelişme ve üreme döneminde olup olmaması ile ilişki göstermez; gelişmesini tamamlamış bakterileri de öldürürler. Bu gruptaki antibiyotiklere örnek polimiksinler, gramisidin, amfoterisin-B, nistatin ve diğer bazı antifungal ilaçlar ile siklosporin-A'dır (Kayaalp, 2000).

c- Bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe etmek

Bu tip etki gösteren kemoterapötikler çoğunlukla geniş spektrumludur ve bakteriyostatik etki gösterirler. Gerek gram-negatif, gerekse gram-pozitif mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ederler. Bu şekilde etki yapan ilaçların bazıları bakterilerin ribozomları ile kombine olur ve orada m-RNA tarafından yönetilen protein sentezini bozarlar. Birçok ilaç insan hücrelerindeki protein sentezini bozmadan bakterilerdeki protein sentezini inhibe eder. Bu seçicilik bakteri ve insan ribozomal proteinleri, RNA'lar ve bunlarla ilişkili enzimler arasındaki farklılıklara bağlıdır. Kemoterapötikler, protein sentezi olayı ile ilgili çeşitli basamakları bozabilirler. Böylece bakteri hücresi için gerekli proteinleri, dolayısıyla enzimlerin sentezini engellerler. Bu ilaçların ribozomlardaki etki türleri şunlardır (Kayaalp, 2000):

- Tetrasiklinler, t-RNA'nın ribozomlara bağlanmasını engelleyerek protein sentezini inhibe edebilir.
- Kloramfenikol, eritromisin, klindamisin ve fusidin m-RNA'nın okunmasını bozarak protein sentezini inhibe edebilir.
- Aminoglikozid antibiyotikler, m-RNA'nın ribozomlara bağlanmasını engelleyerek protein sentezini inhibe edebilir.

d- DNA sentezinin veya DNA kontrolü altında yapılan m-RNA sentezinin bozulması

Bu gruptaki ilaçların büyük bir kısmı, memeli hücresinin çekirdeğini de etkilediğinden sitotoksik ilaçlardır. Bunların antibakteriyel etkileri olmasına karşın çoğu bu amaçla kullanılmazlar. Bir kısmı antineoplastik ilaç olarak malin tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır (mitomisinler, aktinomisinler, daunorubisin ve doksorubisin gibi). Memeli hücresi üzerinde fazla toksik olmayan rifamisinler ile kinolonlar antibakteriyel ilaç olarak kullanılırlar (Kayaalp, 2000).

e- Metabolizmayı Bozmak Suretiyle Etki

Bu gruptaki ilaçlar daha çok bakteriostatiktirler. Bu şekilde antibakteriyel etki yapan ilaçlara örnek olarak sulfonamidler, sulfonlar, trimetoprin, paminosalisilik asit ve izoniazid verilebilir. Bunlar bakterinin metabolizması için gerekli bazı maddelerin sentezini engellerler. Bakteriler için antimetabolit niteliğinde olan maddelerdir (Kayaalp, 2000).

1.4.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Günümüzde kimyasal bileşiklerin antibakteriyel aktivitelerinin tespit edilmesiyle ilgili oldukça fazla çalışma yapılmaktadır. Araştırma sonuçlarına bakıldığında standartlaşmış bir yöntem olmadığı görülmekle birlikte genel olarak dilüsyon metotları ve difüzyon metotları olarak iki başlık altında incelenebilir.

1.4.2.1. Dilüsyon Metotları

Dilüsyon teknikleri mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılığını tayin etmek için geliştirilmiştir. Antimikrobiyal maddenin seri olarak dilüe edilmesi ve üzerine bakteri kültürünün inoküle edilmesi esasına dayanmaktadır. İnkübasyondan sonra test edilen antimikrobiyal maddenin, kullanılan mikroorganizmaya karşı hangi konsantrasyonda etkili olduğu, üremenin varlığına veya yokluğuna göre belirlenmektedir. Üremenin varlığı yada yokluğu bulanıklık tayiniyle yapılmakta ve üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon değeri, Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri olarak tanımlanmaktadır. Bu teknik uzun yıllardan beri standart deney tüplerinde gerçekleştirilen makrodilüsyon broth tekniğidir. Son yıllarda antibiyotikler dışındaki, sentetik ya da doğal antimikrobiyal maddelerin test edilmesinde, bu yöntem prensibiyle hareket eden ancak çok daha az miktarlarda besiyeri ve test maddesine ihtiyaç duyan bir yöntem kullanılmaya başlanmıştır. Kullanılan diğer difüzyon tekniklerine göre de çoğu zaman daha avantajlı olan ve oldukça doğru bir biçimde MİK değerini ortaya koyan bu teknik mikrodilüsyon broth metodudur. Bu metotta, ticari

olarak geliştirilmiş 96 veya daha fazla kuyucuğa sahip mikrotitrasyon plakları kullanılmaktadır. Bu kuyucuk serilerinde madde dilüsyonları hazırlanmakta ve az miktarda kültürün ilavesiyle, madde ve mikroorganizma etkileştirilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobik ilaç yoğunluğu saptanır (MİK) ve ($\mu\text{g/mL}$) şeklinde ifade edilir. Bulanıklık gözle değerlendirildiği gibi özel bulanıklık okuyucular kullanmak suretiyle spektrofotometrik olarak veya redoks indikatörleri kullanarak kolorimetrik olarak değerlendirilebilir (Jorgensen ve Turnidge, 2003; Kang ve ark., 2008; Eloff, 1998). Bu yöntemin avantajı, küçük hacimlerde madde ve besiyeri ile çok sayıda mikroorganizma süşunun, basit ve ucuz bir şekilde test edilmesine olanak sağlamasıdır.

1.4.2.2. Difüzyon Metotları

Antimikrobiyal testlerde kullanılan bir diğer metot da agar difüzyon metodudur. Diğer testlere göre kolay olmasından dolayı en çok tercih edilen metottur. Agar difüzyon tekniği kalitatif ve yarı kantitatif bilgiler sağlamaktadır. Bu teknik, içinde test edilecek olan maddenin bulunduğu bir çukur sistemi içeriyorsa *çukur agar metodu*, çukurlar yerine kâğıt disk kullanılıyorsa *disk difüzyon metodu* olarak bilinir. Çukur ağıar tekniğinde, içinde test edilecek maddenin bulunduğu çukurlar ve test organizmasının bulunduğu uygun bir besiyeri bulunmaktadır. Besiyeri üzerine belirli ölçülerle açılan çukurlara homojen olarak çözülmüş madde konur. Çukurlar besiyeri ile temas halindedir. Disk difüzyon metodunda aynı amaçla, çukur yerine test edilecek maddenin emdirildiği kâğıt diskler kullanılır (Olsson ve ark., 1994). Sonuç olarak gerek çukurlardan gerekse kâğıt disklerden, önceden mikroorganizma ile aşılınmış besiyerine madde difüze olmaktadır. İnkübasyon süresi sonunda kullanılan madde etkili ise çukur veya disklerin etrafında üremenin olmadığı gözle görülebilen inhibisyon zonları oluşmaktadır. Bu zon çapları cetvelle ölçülerek maddenin etki derecesi belirlenmektedir. Bu yöntemlerde uygulanan madde miktarı ve kullanılan disk veya çukurun çapı önemli parametrelerdir. Bunun yanında kullanılan bakteri yoğunluğunun da belirli ve sabit olması gerekir. Disk veya çukurlara maddenin artan yada azalan konsantrasyonları koyularak oluşan zon çaplarından yarı kantitatif sonuçlar elde edilebilir. Ancak agar difüzyon yöntemleri ile elde edilen zon çapları ile MİK değerleri

arasında bir paralellik olsa da gerçek MİK değerleriyle gereken uyumu göstermediği bildirilmiştir (İşcan, 2002).

1.5. Yağ Asitleri

Yağlar, insan ve hayvanların diyetlerinde oldukça önemli bir bileşendir. Yağlar birim ağırlıkta en yüksek enerjiyi veren biyomoleküllerdir ve organizmada enerjinin ekonomik bir biçimde depolanmasında görevlidir. Sadece yüksek enerji kaynağı olmayıp yağda çözünen vitaminleri bulundurarak ve bunların emilmesinde görev almaları, lipoproteinleri oluşturmaları ve kan lipit düzeylerinde rol oynamaları diğer önemli fonksiyonlarındandır. Ayrıca organizmada sentezlenemeyen ancak alınması zorunlu olan esansiyel yağ asitlerinin alınması bakımından da ayrıca öneme sahiptir.

Yağı meydana getiren temel öğeler gliserol ve yağ asitleridir. Bu öğelerden gliserol her zaman aynı özellikte olduğu için bir yağın özellikleri yağ asitlerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Yağlarda yağ asitlerinin dağılımı, pozisyonu, niteliği ve tipi lipidin kimyasal, fiziksel ve fonksiyonel özelliklerini belirler. Yağ asidi, karboksil grubu (-COOH) ihtiva eden düz bir hidrokarbon zincirinden meydana gelmiştir. Yağ asitleri hidrokarbon zincirini meydana getiren karbon atomların sayılarına, karbon atomları arasında doymamış bağ bulunup bulunmamasına, doymamış bağ varsa yeri ve sayısı gibi özellikler açısından birbirlerinden farklıdırlar.

Yağ asitleri genel olarak doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere iki şekilde gruplandırılmaktadır.

1.5.1. Doymuş Yağ Asitleri

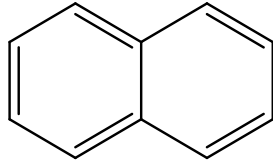
Karbon atomları arasında tek bağdan oluşan hidrokarbon zincirine sahip (Nas ve ark., 2001) ve genellikle katı olan yağ asitleridir. Laurik asit (C 12:0), miristik asit (C 14:0), palmitik asit (C 16:0), stearik asit (C 18:0)' ler bitkisel yağların önemli doymuş yağ asitleridir.

1.6. Baldaki Naftalin ve Pestisit Kalıntıları

Başta bal olmak üzere, tüm arı ürünlerinin insanlara faydalı olabilmesi için hiçbir yabancı madde ve kalıntı içermemesi gerekmektedir. Arı hastalıklarında, pestlerle mücadelede, ilaç ve pestisit uygulamalarının, arıcıların yanlış uygulamalarının ve kötü niyetle kullanılan kimyasal maddelerin, bal ve balmumunda kalıntı bıraktığı bildirilmektedir (Daş, 2004).

Bala yabancı madde karışması önemli ekonomik etkiler ve arzu edilmeyen beslenme ve organoleptik sonuçlara yol açması bakımından ciddi bir problemdir (Cordella ve ark., 2005). Balmumuna naftalin katılması, arıcıların ürünlerini zararlı böceklerden korumak için arı kovanlarında naftalin kullanmasının bal ihracatını olumsuz yönde etkilediği vurgulanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (2003) balda naftalin bulunmamasına yönelik madde yer almıştır. 2005 yılında yayınlanan Bal Tebliğinde ise balda bulunabilecek naftalin kalıntıları düzeyi 10 ppb olarak düzenlenmiştir.

1.6.1. Naftalin ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri



Şekil 1.4. Naftalinin moleküler formülü

Naftalin, uçucu özellikte bir hidrokarbon olup güvelere karşı ve tuvalet deodorantları olarak, lubrikant ve boya üretiminde kullanılmaktadır. Endüstride çalışan işçilerde naftaline mesleki maruziyetler rapor edilmiştir (Cho ve ark., 1994; Willems ve ark., 2001). Çoğunlukla maruziyet düşük dozda kronik inhalasyon, dermal temas veya besin zinciri yolu ile alım şeklinde gerçekleşmektedir. Akciğerler ve gözler toksik açıdan en çok etkilenen organlardır. Bunların dışında diğer dokular, karaciğer, beyin ve böbrekte biyokimyasal açıdan toksik etkilere maruz kalmıştır (Stohs ve ark., 2002). EPA (Environmental Protection Agency, Çevre Koruma Birliği) naftalini insan

karsinojeni olarak C grubuna dâhil etmiştir (Albero ve ark., 2003). Çevre kirliliği ve mesleki açıdan tehlikeli maddelerle ilişkili olarak sularda ve kızarmış ekmek örneklerinde yapılan çalışmalarda naftalinin tespit edildiği bildirilmektedir (Lehotay ve ark., 1997). Naftalinin de içinde yer aldığı polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) mutajenik ve karsinojenik ajanlar olarak bilinmektedir (Farkas ve ark., 2004).

WHO (World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü), FAO (Food and Agricultural Organization, Gıda Tarım Örgütü), Avrupa Birliği'nin ilgili komisyonları, ABD'deki FDA (Food and Drug Administration, Besin ve İlaç İdaresi) gibi kuruluşlar; yaptıkları çalışmalarla tüketici sağlığının korunması da dâhil, ilaç kalıntılarının yol açabilecekleri ekonomik ve sosyal yönlü olumsuzlukların önlenmesi ve diğer ülkelerle birlikteliğin sağlanması için de çaba sarf etmektedirler (Daş, 2004).

1.6.2. Pestisitler ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Pestisitler, insan ve hayvan vücudu ile bitkiler üzerinde veya çevresinde yaşayan, besin kaynaklarının üretim, depolama, tüketimi sırasında besin değerini düşüren ya da zarara uğratan böcek, kemirici, yabancı ot, mantar gibi canlı formların yıkıcı etkisini azaltmak için kullanılan kimyasal maddelerdir.

Pestisit deyimi, insektisit (Böcek öldürücü), herbisit (Yabancı Ot öldürücü), fungusit (Küf öldürücü), rodentisit (Kemirgen öldürücü) vb. şekilde sınıflandırılan kimyasal maddelerin tümünü kapsamaktadır. Etki Maddelerine göre de sınıflandırmak mümkündür:

- İnorganik Maddeler
- Doğal Organik Maddeler (Bitkisel, Petrol yağları)
- Sentetik Maddeler (Klorlu Hidrokarbonlar, Organik Fosforlular, Azotlu bileşikler vs.)

Bir pestisit kimyasal bir madde ya da virüs veya bakteri gibi biyolojik bir ajan olabilir. Kimyasal pestisitlerin çoğu hedef organizmaya seçkin etkinlik gösteremedikleri için hedef organizma dışındaki organizmalarda da çeşitli hastalıklara yol açar hatta öldürücü olabilirler. Birçok pestisit insanlar için de zararlıdır. Kullanıldıkları canlıların

yiyecek şeklinde insanlar tarafından kullanılmaları sonucunda insanlarda yaygın hastalıklara ve istenmeyen sıkıntılı durumlara sebep olurlar. Kimyasal pestisitlerin ve etken maddelerinin akut toksik etkileri vardır. Karbamatlar, organofosfatlar ve klorlanmış hidrokarbonları içeren birçok pestisit genotoksik etkiye sahiptir. Tarım ile uğraşan ve pestisite maruz kalan insanlarda yapılan çalışmalarda bazı bireylerde kalıtsal değişiklik ve hasarlar olduğu belirtilmiştir, Pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde birçok genetik hasarın yanı sıra karaciğer, böbrek ve kaslarda bozukluklar belirlenmiştir (Anonim, 2007).

Bal tebliği kapsamında yer alan ürünlerde bulunabilecek pestisit kalıntı miktarları Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğince belirlenmiştir. Bu tebliğe göre balda maksimum pestisit kalıntı limiti en fazla 0.01 mg/kg olmalıdır.

Bu çalışmada Hatay ilinde üretilen salgı, okalıptüs, çiçek ve maydanoz ballarının antioksidan aktivitelerini ve yağ asidi kompozisyonlarını belirlemek, antimikrobiyal etkilerini bazı gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı tespit etmek, pestisit ve naftalin kalıntılarını tespit ederek balların farmakolojik ve sağlık açısından önemlerini ortaya koymak amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mohamed M. ve ark. (2002), Yemen’de üretilen ve ithal edilen bazı balların antioksidan aktivitelerini ve toplam fenolik içeriklerini 2 farklı metot ile tayin etmişlerdir. Yemen ballarının ithal edilen ballara nazaran toplam fenolik antioksidan içeriklerinin çok daha yüksek olduğunu bulmuş ayrıca, bu balların tedavi edici bir etkiye sahip olabileceklerini vurgulamışlardır.

Al-Mamary ve ark. (2002), değişik türdeki balların antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklerini belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmada Yemen’de üretilen 5 ve ABD’den ithal edilen 4 bal numunesinin fenolik içerikleri Folin Ciocalteau metoduna göre belirlenmiş ve toplam fenolik içerikler Yemen ballarında daha yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar fenolik içerik ile antioksidan aktiviteler arasında pozitif korelasyon olduğunu belirlemiş ve çalışmada kullanılan Yemen ballarının terapötik özelliğe sahip olabileceğini belirtmişlerdir.

Aljadi ve Kamaruddin (2004), seçtikleri iki Malezya balının antioksidan aktivitelerini tayin etmeye çalışmışlardır. Bu çalışma Malezya ballarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi için yapılan ilk çalışmadır. Antioksidan aktivite belirlenirken 3 farklı metot kullanmışlardır. Karakteristik antioksidan aktiviteler; toplam fenolik içerikle belirgin bir korelasyon göstermiştir. Çalışılan balların fenolik içeriklerine bağlı olarak antioksidan ve radikal süpürücü özelliklere sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Castle ve ark. (2004), GC-MS ve Headspace ile bal örneklerinde nitrobenzen ve petrol ürünleri kalıntılarını analiz etmişlerdir. Araştırmacılar belirleme limitlerini nitrobenzen için 2 µg/kg ve toluen, o-ksilen, etilbenzen ile naftalin için ise 0.5 µg/kg olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar marketlerde satılan 49 bal örneğinde yaptıkları analiz sonucunda hiçbir örneğin nitrobenzen veya petrol ürünü bir madde içermediğini, 2 örneğin düşük seviye toluen ve 1 örneğin o-ksilen içerdiğini belirlemişlerdir.

Jenny ve Heather (2005), çalışmalarında 13 balın, 3’ü ticari olarak satılan antibakteriyel ballar, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı aktivitelerini belirlemişlerdir. Bir tanesi yapay olmak üzere tüm ballardan değişik konsantrasyonlarda hazırlayıp *E. Coli* ve *P. Aeruginosaya* karşı test etmiş ve inhibisyon bölgelerini ölçmüşlerdir. Ticari olarak satılan antibakteriyel balların yanı sıra çalışılan

birkaç balın da *E. Coli* ve *P. Aeruginosa*'nın inhibisyonuna yol açabildiği ve bu balların tedavi edici ballar arasında olabileceklerini belirtmişlerdir.

Tananaki ve ark. (2005), balda 1,2-dibromoetan, 1,2-diklorobenzen ve naftalin kalıntılarını belirlemeye yönelik GC-MS ile çeşitli ekstraksiyon teknikleri kullanılarak yüksek hassasiyetli metotlar geliştirmişlerdir. Araştırmacılar çalıştıkları maddelerin belirleme limitlerini 1,2-dibromoetan, 1,2-diklorobenzen ve naftalin için sırasıyla 0.8, 0.15, ve 0.05 µg/kg olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar geliştirdikleri metodu Yunanistan'dan alınan 25 bal örneğinde denemişler ve örneklerde 1,2-dibromoetan kalıntısı belirlemediklerini, bir örnekte 10 µg/kg aşan konsantrasyonda diklorobenzen ve naftalin kalıntısı bulduklarını bildirmişlerdir.

Brudzynski (2006), çalışmasında Kanada ballarının antibakteriyel aktivitelerini tayin etmede bazı bakteriler ile mikrodilüsyon metot kullanmıştır. Çalışmada; 42 Kanada balının antibakteriyel aktivitelerini *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* olmak üzere 2 bakteri türüne karşı analiz etmiştir. Antibakteriyel aktivite üzerine hidrojen peroksidin etkisini belirlemede 2 yöntem kullanılmıştır. Kanada ballarının bakteri türlerine karşı orta değerden yükseğe doğru bir antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir; ayrıca baldaki hidrojen peroksit düzeylerinin; balın antibakteriyel aktivitesinin güçlü bir hedef belirleyicisi olduğu sonucuna varmıştır.

Pang ve ark. (2006), bal, meyve suyu ve şarapta 450 farklı pestisit kalıntısını çift kartuşlu sıvı faz ekstraksiyonu kullanarak GC-MS ve LC-MS-MS cihazlarında belirlemişlerdir. Araştırmacılar her pestisite bağlı olarak belirleme limitlerini 1.0 ile 300 ng/g arasında ve 2.0-3000 ng/g arasında hazırladıkları üç farklı yapay örnek ile geri alım başarısını da %59 ile %123 arasında değişen oranlarda belirlemişlerdir. Toplam 450 pestisitten 413 (%92) pestisitinin geri alım başarısını %70 ile %120 arasında, 35 (%8) adet pestisitinin %59-70 arasında tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda elde ettikleri sonuçlardan 437 (%97) pestisitinin standart hata oranının %25'ten düşük, diğerlerinin ise (%3) %25-30.4 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Erdoğan (2007), Kahramanmaraş ili arıcılarından aldığı 9 bal örneğinde 32 adet pestisit kalıntı analizini yapmıştır. Araştırmacı çeşitli yöntemler uyguladığı çalışmada, en iyi geri alım çalışmasını n-hekzan/aseton ile kolon ekstraksiyonu

metodu ile yaptığı analiz sonucunda elde etmiştir. Bu yöntemle hazırlanan ekstreyi GC-ECD ve GC-MS' de analiz ederek; sonuçta HBC, α -chlordan, trans-nonachlor, cis-nonachlor, aldrin, bromophos ethyl, trans-HCE, α -endosulfan, β -endosulfan ve dieldrin pestisitlerinin miktarlarını sırasıyla 0.30, 0.05, 0.14, 0.84, 0.04, 0.06, 2.74, 0.03, 0.09, 0.27 ve 0.36 ng/g olarak belirlemiştir.

Bertoncelj ve ark. (2007), Slovenya'da çok yaygın olarak üretilen bazı balların antioksidan aktivitelerini çalışmış, ek olarak da bal örneklerinin renk karakteristiklerini analiz etmişlerdir. Antioksidan aktiviteyi 3 farklı metoda karşı tayin etmişlerdir ve çalışmanın sonuçları; toplam fenolik içerik, antioksidan aktivite ve renk parametrelerinin değişik bal türlerine bağlı olarak birbirinden geniş ölçüde farklı olduğunu göstermiştir. Çalışmada kullanılan Slovenya balları uçuk sarı rengi ile koyu kahve renkleri arasında değişmektedir. Antioksidan aktivitenin en az açık renkli ballarda olduğu ve koyu renkli balların daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca parametreler arasındaki ilginin istatistiksel analiz ile anlamlı olduğunu belirtmişlerdir.

Küçük ve ark. (2007), Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden topladıkları kestane, orman gülü, kekik ve geven ballarının biyolojik aktiviteleri ve kimyasal kompozisyonlarını belirlemiştir. Çalışmada antioksidan aktiviteyi peroksinitrit süpürücü aktivite ve FRAP metotlarına göre belirlemiş ve sentetik antioksidanlar BHT ve BHA' ya karşı kıyaslama yapmışlardır. Örneklerin antimikrobiyal özelliklerini 8 bakteri türü ve 2 maya kültürüne karşı agar difüzyon metodu kullanarak belirlemiştir. Mineral içeriğin en yüksek kestane balında bulunduğunu, bununla beraber bal örneklerinin orta derecede antibakteriyel etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Mercan ve ark. (2007), Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetişen bazı balların antibakteriyel etkilerini 8 bakteri türüne karşı çalışmışlar. Yapılan çalışma sonucunda balların çoğunun genellikle (%75) bakterileri inhibe ettiği bulunmuş, kullanılan balın bakteri üzerine antibiyotikten daha etkili olduğu belirtilmiştir.

Estevinho ve ark. (2008), koyu ve açık Portekiz ballarındaki fenolik bileşikleri antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri yönünden değerlendirmişlerdir. Antioksidan

aktiviteyi 2 farklı metoda karşı; antimikrobiyal aktivitesini ise gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı tayin etmişlerdir. Araştırmacılar analizi yapılan örneklerin çoğunda fenolik bileşikleri tayin etmiş ve bu fenolik bileşiklerin varlığının koyu balda, açık bala nazaran daha yüksek aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Öte yandan bal ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin tayininde; *S. aureus*' un çok hassas, *B. subtilis*, *S. lentus*, *K. pneumoniae* ve *E. Coli*' nin orta hassas mikroorganizmalar oldukları ve *P. aeruginosa* ile uygulanan testlerde ise hiçbir antimikrobiyal aktivite gözlenmediği belirtilmiştir.

Martin ve ark. (2008), İspanya'nın değişik bölgelerinde yetişen çiçeklerden toplam 67 çeşit nektar balı ve çiçek özü ballarının antioksidan aktivitelerini tayin etmede tek metot kullanmış ve olası antimikrobiyal etkilerini de bakteri türlerine karşı tayin etmişlerdir. Bu çalışmada; çiçek özü ballarının nektar ballarına göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip oldukları belirtilmiştir. *Micrococcus luteus* ve *Staphylococcus aureus*' un inhibisyonu için gerekli bal kapasitesi ilk olarak agar difüzyon metoduna karşı çalışmış ve daha sonrada aktif örneklerin non-peroksid antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesi için *Staphylococcus aureus*' un inhibisyonunda spektrofotometrik bir metot kullanmışlardır. Öte yandan örneklerle fizikokimyasal parametreler arasındaki ilişki ve örneklerin mikroorganizmaları inhibisyona uğratma kabiliyetlerini incelememişlerdir. Balların antibakteriyel kapasitelerinin değerlendirilmesinde spektrofotometrik metodun kolay ve kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir.

Saxena ve ark. (2009), Hindistan'da ticari amaçla üretilen balların antioksidan özelliklerini 3 farklı metotla tayin etmişlerdir. Bu çalışmaya göre; fenol içeriğinin FRAP değerleri ile güçlü korelasyon gösterdiği yerdeki gibi; askorbik asit ekivalent antioksidan içerik (AEAC) ve prolin içeriği arasındaki güçlü korelasyonun; süpürücü aktivite (DPPH) kadar iyi etki gösterdiğini bulmuşlar, prolin ve fenol içeriklerinin antioksidan aktiviteye katkı sağladığını belirtmişlerdir.

Chanchao (2009), Tayland' da üretilen Trigona Laeviceps balının antimikrobiyal özelliklerini agar difüzyon metoduna göre çalışmıştır. Antimikrobiyal ajan olarak saf bal kullanmanın en etkin olduğunu ve *Staphyococcus aereus*' un tüm dilüsyonlarda en

kolay etkilenen patojen olduğunu belirtmiştir. Çalışılan balın antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilmesi sonucuna varmıştır.

Marghitaş ve ark. (2009), Romanya’da seçili çiçek türlerinden elde edilen 12 çeşit bal arısı- polen ballarının antioksidan kapasitelerini 3 farklı metotla tayin etmişlerdir. Bu çalışmaya göre; farklı botanik merkezlerden toplanan bal arısı polenlerinin toplam polifenol içerikleri ve antioksidan aktivite arasındaki benzerliğin değişkenlik gösterdiğini bulmuşlardır. Her bir çiçek türüne ait balların farklı antioksidan aktivite gösterdiğini bulmuş ve açık bir biçimde bunların toplam fenolik içerikleri ile ilişki kurulamadığını belirtmişlerdir.

Pichichero ve ark. (2009), farklı çiçeklerden elde edilen bazı İtalyan ballarının antioksidan aktivitelerini 2 farklı metotla tayin etmişlerdir. Bu çalışmaya göre; bal örneklerinin bol miktarda fenolik ve flavonoid içerdiklerini bulmuşlardır. Antioksidan kapasitenin yüksek ve örnekler arasında değişiklik gösterdiğini istatistiksel olarak parametreler arasındaki ilginin anlamlı olduğunu belirtmişlerdir.

Krpan ve ark. (2009), Akasya balının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik değerlerini tayin etmeye çalışmışlardır. Antioksidan aktiviteyi 3 farklı metoda göre tayin etmişlerdir. Testleri toplam 30 bal numunesine uygulamış ve tüm örneklerdeki fizikokimyasal parametreleri ölçmüşlerdir. Balın bileşim ve özelliklerinin çiçek türlerine, balın toplandığı alanın iklimsel şartlarına, işleme ve depolama metotlarına bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite arasında pozitif bir ilgi olduğunu bulmuş; akasya balının antioksidan gücünün fenolik bileşiklerden kaynaklandığı belirlemişlerdir.

Ferraira ve ark. (2009); Portekiz ballarının antioksidan aktivitelerini birkaç kimyasal ve biyokimyasal metot kullanarak belirlemişlerdir. Bu çalışmaya göre koyu balın en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca; bal numunelerinden bir grup almak yoluyla oluşturulan bal örneklerine; diskriminant analiz uygulamış ve sonuçların eldeki bulguları destekler nitelikte olduğunu belirtmişlerdir.

Salazar ve ark. (2009), Şili’de ticari olarak satılan balların antibakteriyel özelliklerini *Streptococci mutans* bakterilerine karşı çalışmışlardır. Çalışılan bakteri türünün, insan ağızında diş çürüklerine neden olan gram(+) bir bakteri olduğu, o nedenle

yaşları 12-14 arasında değişen 20 Şilili ilkokul öğrencisinin salya ve tükürüklerine karşı antimikrobiyal aktivitenin çalışıldığını belirtmişlerdir. Bakteri varlığının %100 tespit edildiğini ve balın bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiği belirtmişlerdir.

Mohamed M. ve ark. (2010) Malezya Tualang bölgesi yağmur ormanlarında üretilen balların antioksidan aktivitelerini 4 farklı metotla tayin etmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan Tualang ballarının geleneksel olarak çeşitli ağrılar için tedavi amaçlı kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu balları; renk yoğunlukları, toplam fenolik içerikleri, antioksidan aktivite ve antiradikal aktiviteleri yönünden çalışmışlardır. Bu çalışmada yer alan balın literatürde yer alan diğer ballarla benzer antioksidan özelliklere sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Silici ve ark. (2010), Karadeniz bölgesinde üretilen orman gülü çiçeği ballarının toplam fenolik içeriklerini, antiradikal, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini çalışmışlardır. Toplam fenolik içeriği Folin metoduna karşı, antioksidan aktiviteyi DPPH ve fosfomolibden metodu kullanarak belirlemişlerdir. Antimikrobiyal aktiviteyi belirlemede 11 bakteri ve 2 maya kültürüne karşı agar difüzyon metodu kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan balların insan sağlığına hizmet edebilecek kalitede iyi derecede bir antioksidan kaynak olduğunu ve koruyucu antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

Gomes ve ark. (2010), Portekiz ticari ballarının fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve antimikrobiyal özelliklerini çalışmışlardır. Çalışmada her balın polen profili, renk, kül, asitlik, elektrik iletkenliği, pH, indirgen şeker ve HMF gibi parametrelerini belirlemiş; antimikrobiyal etkiyi ise 4 fermente mayaya karşı çalışmışlardır. Araştırmacılar çalışılan balların mikrobiyolojik olarak ticari kalitelerine göre iyi olduğunu; çalışılan maya türüne göre ise bal varlığının mayaların gelişimini etkilediğini belirlemişlerdir. Kullanılan balın çeşidi ile maya üremesi arasında anlamlı bir sonuç bulunmadığını belirtmişlerdir.

Lachman ve ark. (2010), seçilmiş Çek Cumhuriyeti ballarının antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklerini tayin etmişlerdir. Toplamda 40 bal numunesinin toplam fenolik içeriklerini Folin-Ciocalteau metodu kullanarak; antioksidan aktivitelerini ise FRAP, DPPH ve ABTS metotlarına göre çalışmışlardır. Araştırmacılar; balların toplam

fenolik içeriklerinin ve antioksidan aktivitelerinin balların türleri, hasat zamanları ve bölgeye göre değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak antioksidan aktiviteyi en düşük çiçek ballarının gösterdiğini, en yüksek aktiviteye sahip olanın ise karışım (mix) olan ballar olduğunu belirtmişlerdir. Balın antioksidan özelliği ile içerdiği fenolik madde arasında ilişki olduğunu, antioksidan özelliğin fenolik madde içeriğine bağlı olarak arttığını vurgulamışlardır.

Isla ve ark. (2011), kuzeybatı Arjantin ballarının fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerini çalışmışlardır. Yapılan araştırmaya göre flavonoid ve fenolik içeriği en yüksek çiçek ballarının gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmacılar renk yoğunluğu, flavonoid ve fenolik içerikler arasında pozitif korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. ABTS⁺ antioksidan aktivite metoduna karşılık en yüksek antioksidan aktiviteyi en koyu renge sahip balların gösterdiğini bulmuşlardır. Çalışmada tüm balların antibakteriyel açıdan 0,10 ile 0,25 g/ml MİK gösterdiği ve uygulanan metotlar sonucunda antibakteriyel etkiden fenolik içerik ve hidrojen peroksitin sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Voidarou ve ark. (2011), değişik bal türlerinin patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitelerini çalışmışlardır. Çeşitli botanik orijine sahip 60 bal örneğinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde agar-kuyucuk difüzyon metodu kullanmışlardır. Bal örneklerinin 1mm çapında inhibisyon gösterdiklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar kullanılan 16 değişik bakteri izolatına karşı tüm bal örneklerinin değişik seviyelerde antimikrobiyal etki gösterdiğini ve en yüksek antimikrobiyal etkiyi % 17,4 ve % 19,2 (w/v) aralığındaki konsantrasyona sahip kekik balının gösterdiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bal Örnekleri

Bu çalışmada Salgı balı (Serinyol), okaliptüs balı (Reyhanlı), çiçek balı (Antakya) ve maydanoz balı (İskenderun) olmak üzere 4 farklı bal çeşidi kullanıldı. Bal numunelerinin tamamı Hatay'ın farklı bölgelerinden üreticilerden doğrudan temin edildi. Ballar üreticilerden cam kaplara alındıktan hemen sonra ağzları hava almayacak şekilde kapatıldı ve analiz zamanına kadar oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

3.2.1.1. Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu (Folin-Ciocalteu Metodu)

Toplam fenolik madde tayininde Folin-Ciocalteu metodu kullanıldı. Folin reaktifi (Sigma-Aldrich), Na_2CO_3 , metanol, gallik asit (Merck), Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre Folin metodunda kullanılan cihaz ve kimyasal maddelerdir.

Her bir bal örneği (1 gram) ve standart olarak kullanılan Gallik asitin %70' lik metanol (5 ml) içerisindeki çözeltisi hazırlandıktan sonra Whatman No:1 ile filtre edildi. Bal örneklerinden 40 µl alınarak üzerine 2400 µl saf su, 200 µl seyreltilmemiş Folin reaktifi ve 600 µl %20' lik sodyum karbonat ilave edilip, tüpler elle kabaca karıştırıldı. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saatlik inkübasyondan sonra reaksiyon karışımının absorbansı metanol körüne karşı 765 nm' de ölçüldü. Bal örneklerine uygulanan tüm işlemler sırasıyla standart eğri için gallik aside uygulanarak 765 nm' de metanol körüne karşı absorbanslar ölçüldü. Toplam fenolik içerik Gallik asit (0-1 mg/ml) standart eğrisi çizilerek bulundu. Sonuçlar 1 kg baldaki mg Gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplandı.

3.2.1.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi

Bal örneklerinin antiradikal aktiviteleri Brand Williams, Culivier ve Berset (1995) metoduna bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) (Sigma-Aldrich), metanol, (Merck), Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre yöntemde kullanılan cihaz ve kimyasal malzemelerdir.

DPPH'nin standart eğrisi için farklı konsantrasyonlarda (6.10^{-5} - $3,75.10^{-6}$ M), %70' lik metanol çözeltileri hazırlanarak absorbanslar bekletilmeden okundu. Her bir bal örneğinden 1 g hassas tartım alınıp 5 ml metanolda çözüldü ve daha sonra whatman No:1 ile filtre edildi. Sentetik antioksidanlar ve bal çözeltileri uygun seyreltmeler yapılarak 200-12,5 mg/ml derişimleri arasında hazırlandı. Her bir örnekten 0,1 ml alınıp 1,9 ml 6.10^{-5} M' lik DPPH çözeltisi ile karıştırıldı. Karışımlar kabaca karıştırılıp, karanlıkta oda sıcaklığında 90 dk bekletildikten sonra her bir karışımın absorbansı 517 nm' de spektrofotometrede metanol körüne karşı ölçüldü. Her bir bal örneği için % inhibisyon değeri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$I (\%) = (A_0 - A_{\text{numune}} / A_0) \times 100$$

Bu değerlerden ve DPPH' nin standart eğrisinden faydalanarak her bir bal örneği için DPPH serbest radikalinin yarısının süpürüldüğü andaki bal konsantrasyonu (IC_{50}) değerleri hesaplandı. Değerler sentetik antioksidan olan BHT ve BHA ile kıyaslandı.

3.2.1.3. FRAP İndirgeme Gücü

Bal örneklerinin indirgeme gücü Oyaizu (1986) metoduna göre belirlendi. $FeCl_3$, metanol, fosfat tamponu, potasyum ferrosiyanyür, trikloroasetik asit (TCA), BHA, BHT (Sigma-Aldrich), su banyosu (JSR, Korea), Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre, santrifüj (Hettich EBA 8S, Germany) yöntemde kullanılan cihaz ve kimyasal malzemelerdir.

Bal örneklerinin 5 farklı konsantrasyonda metanolik çözeltileri hazırlandı (200-12,5 mg/ml). Hazırlanan her bir çözeltiden deney tüplerine 2,5 ml numune alındı. Her birinin üzerine 2,5 ml 0,2 M'lık fosfat tamponu ve 2,5 ml % 1'lik potasyum ferrosiyanür çözeltisinden ilave edildi. Karışımlar 50 °C' de 20 dk. inkübe edildikten sonra 2,5 ml % 10' luk trikloroasetikasit (TCA) ilave edilip; 3000 rpm' de 10 dk santrifüj edildi ve süpernatandan 2,5 ml alınarak eşit hacimde deiyonize su ve % 0,1' lik FeCl₃' den 1 ml ilave edildikten sonra absorbanslar spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda ölçüldü.

3.2.1.4. β - Karoten- Linoleik Asit Emülsiyon Yöntemi

İşlemler Amin ve Tan'ın (2002) β -karoten linoleik asit emülsiyon sistem metoduna göre yapıldı. Kloroform (CHCl₃), β -karoten, linoleik asit, tween 40 (Sigma-Aldrich), evaporatör (Buchi), su banyosu (JSR, Korea), Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre yöntemde kullanılan cihaz ve kimyasal malzemelerdir.

Önce β -karoten linoleik asit emülsiyon çözeltisi hazırlandı. Bunun için 0,2 mg β -karoten 1 ml kloroformda çözüldü üzerine %60' lık 0,02 ml linoleik asit ve 200 mg Tween 40 ilave edildi. Vakum altında 40 °C' de evaporatörde kloroform tamamen uzaklaştırıldıktan sonra 100 ml oksijenle doyurulmuş suda çözümlenerek şiddetli şekilde karıştırıldı. Kontrol için aynı işlemler β -karoten ilave edilmeden tekrarlandı.

Numunelerin ve karşılaştırılmak üzere hazırlanan sentetik antioksidan BHA ve BHT' nin konsantrasyonu 1mg/ml olacak şekilde %70'lik metanolda hazırlandı. Deney tüplerine hazırlanan bal örnekleri, BHA ve BHT çözeltilerinden 0,2'şer ml alınarak üzerlerine 5'er ml hazırlanan emülsiyon çözeltilerinden ilave edildi. Deney tüplerindeki numunelerin ve kontrol çözeltisinin absorbansı 470' nm'de okundu (A₀). Hemen sonra 40 °C'de su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Bu andan itibaren inkübasyondaki çözeltilerin absorbansı her 15 dakikada bir olmak üzere toplam 120 dakika boyunca okundu. Bu absorbanslara dayanarak, yapılan hesaplamalarda absorbans değişim oranı (AO) ve buna bağlı olarak da % oksidasyonu engelleme katsayıları hesaplandı.

$$\text{Absorbans değişimin oranı (AO)} = \frac{\ln (A_0 / A_t)}{t}$$

$A_0 = t_0$ anındaki absorbansı,

$A_t = t$ anındaki absorbansı ($t= 120$ dk)

$$\% \text{ Oksidasyonu engelleme} = \frac{\left[AO_{(\text{kontrol})} - AO_{(\text{numune})} \right]}{AO_{(\text{kontrol})}} \times 100$$

3.2.2 Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemi

Bu çalışmada kullanılan balların *in-vitro* antibakteriyel etkilerinin belirlenmesi amacı ile “Mikrodilüsyon Broth Metodu” kullanıldı.

3.2.2.1. Mikrodilüsyon Broth Yöntemi ile Antibakteriyel Aktivite Tayini

Bal örneklerinin antibakteriyel etkileri, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri bulunarak test edildi. MİK değerleri mikrodilüsyon broth yöntemine göre 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarında spektrofotometrik olarak tayin edildi (Jorgensen ve Turnidge, 2003; Kang ve ark., 2008).

Otomatik dispenser cihazı (BioTek, MicroFill), mikroplaka okuyucu (BioTek, μ Quant), hassas terazi (Precisa XB 220A), vorteks (Nüve), laminar flow güvenlik kabini (Nüve LN120), etüv (Nüve FN400), otoklav (Nüve OT4060), inkübatör (Nüve, EN120), McFarland (DEN-1, BioSan), 8 kanallı mikro pipet (Socorex), ampisid/sülfaktam antibiyotik (Mustafa Nevzat), nütrient broth besiyeri (Merck), *S. aureus* ATCC 6538, MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 çalışmada kullanılmıştır.

MİK ölçümleri, 3 adet gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus cereus* ATCC 11778) ve 3 adet gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442) olmak üzere 6 mikroorganizma üzerinde yapıldı.

Antibakteriyal etki testi için, bal örneklerinden %80'lik sudaki stok çözeltileri hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltilerden %70, %60, %50, %40, %30, %20, %10, %5 ve %2,5'lük sudaki çözeltiler seyreltildi. Her 100 ml steril saf su için 5,2 g nutrient broth çözülerek besiyeri hazırlandı. Aktif haldeki bakteri kültürlerinden steril mikropipet yardımı ile Mc. Farland 0.5'e göre Nutrient Broth (NB) besiyerine bakteriler eklendi. Mc. Farland 0.5 bulanıklık standardına göre hazırlanan bakterilerden 1/100 oranında NB ile seyreltme yapılarak yaklaşık olarak 10^6 cfu/ml olacak şekilde bakteri stok kültürleri hazırlandı.

Mikrodilüsyon Broth yöntemi ile MİK tayini için; 96 kuyucuklu steril mikrotitrasyon plaklarının bütün kuyucuklarına 8 kanallı mikropipet (Socorex) yardımıyla ilk kuyucuklara %80'lik bal çözeltileri olmak üzere sırasıyla elle hazırlanan diğer bal dilüsyonlarından 100'er μ L eklendi. 11. kuyucuk besiyeri ve mikroorganizma içeren pozitif kontrol, son kuyucuk ise sadece besiyeri içeren negatif kontrol olarak seçildi. Daha sonra otomatik dispenser (BioTek, MicroFill) ile mikrotitrasyon plaklarının 12. sırası hariç bütün kuyucuklara stok bakteri kültürlerinden 100 μ L ilave edilerek t_0 absorbansları elisa okuyucusu ile (BioTek, μ Quant) okunduktan sonra kapakları kapatıldı. Aynı işlemler kontrol standardı olarak kullanılan Amfisilin/sulfaktam için de uygulandı. Böylelikle kuyucuklarda $\approx 5 \times 10^5$ cfu/mL yoğunlukta bakteriyle birlikte ballar için ilk kuyucukta 800 mg/mL olmak üzere 100 mg/ml azalan konsantrasyonlarda bal çözeltileri bulunmaktadır (kontrol standartları ilk kuyucukta 128 μ g/mL olacak şekilde ayarlandı). 24 saat süreyle 37°C de inkübe edilen plakların mikropilaka okuyucu (BioTek, μ Quant) ile 620 nm dalga boyundaki absorbansları ölçüldü. KCjunier programıyla her bir kuyucuğun absorbansından t_0 absorbansının düşülmesi ile elde edilen değere karşı kuyucuktaki madde konsantrasyonun grafiğe geçirilmesiyle elde edilen eğrilerden MİK değerleri hesaplandı. Grafiklerde üremenin olduğu kuyucukların absorbansları yüksek ve üremenin engellendiği kuyucukların absorbansları ise negatif kontrol ile karşılaştırılabilir derecede düşüktür. Eğrilerde bu durumu temsil eden, absorbansın keskin bir düşüşle sabitlendiği ilk kuyucuğun değeri MİK olarak alındı (Kang ve ark., 2008).



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan mikrolpaka okuyucu ve otomatik dispenser

3.2.3. Yağ Asidi Kompozisyonu Tayin Yöntemi

250 ml'lik bir behere 30 g bal örneği tartılarak yaklaşık 100 ml petrol eteri ile 12 saat ekstrakte edildi. Süre sonunda çözücü evapore edilip kalan örnek üzerine 4 ml % 2'lik metanolik NaOH çözeltisi ilave edildikten sonra; su banyosu üzerinde sabunlaşma oluncaya kadar 10 dakika kaynatıldı. Sabunlaşma sonunda, yağ balonu içine 5 ml % 14'lük BF_3 -metanol kompleksi eklendi ve 5 dakika daha kaynamaya bırakıldı. Kaynama sonrasında balon sürekli ve yavaş bir şekilde çalkalandı, üzerine 2 ml n-heptan ilave edildi. Tüm bunlar bir dakika daha kaynatıldıktan sonra, üzerine 4 ml doymuş NaCl çözeltisinden eklendi. Karışım iyice karıştırıldıktan sonra ayırma hunisine alındı, 5 - 10 dakika kadar fazların ayrılması beklendi. Alttaki sulu faz atılarak, üstteki açık sarı renkli faz viallere konularak analizin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda saklandı (Paquot, 1979).

3.2.3.1. Numunelerin Gaz Kromatografisinde Analizi

Gaz kromatografisi analizlerinde ACME 6100 (Younglin, Korea), FID (Flame Ionization Detector, alev iyonlaştırma detektörü) detektörlü gaz kromatografi cihazı kullanıldı. Analizde 60 m x 0.25 mm x 0.25 μm film kalınlığına sahip Agilent JW Scientific DB-5 GC Kolonu ve taşıyıcı gaz olarak hidrojen gazı kullanıldı. Gaz akış hızı 0.6 ml/dk ve split değeri 1:40 olacak şekilde ve enjeksiyon bloğu ile FID'nin sıcaklığı ise 250 °C olarak ayarlandı. Başlangıç kolon sıcaklığı 100 °C ve 5 °C/dk artış hızıyla

175 °C'ye ulaşılan kadar, daha sonra 8 °C/dk artış hızıyla 220 °C'ye ve 220 °C'de 10 dk bekleme programı uygulandı. Enjeksiyon hacmi 1 µl'dir.

3.2.4. Kalıntı Analizi Yöntemleri

3.2.4.1. Naftalin Analizi

Naftalin analizi MKÜ FAM (Fen Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi) laboratuvarında GC-MS (HP 6890 serisi/5972A) ve ona bağlı headspace (Agilent 7694E Headspace sampler) ile yapıldı. Naftalin analizlerinde Castle ve ark., (2004)'nın önerdikleri yöntemden yararlanıldı.

Bal örnekleri laboratuvar şartlarında bulunabilecek uçucu maddelerden uzak koşullar altında temiz bir ortamda analiz edildi. Analiz için 10 g bal numunesi, 15 ml kapasiteli headspace viyallerine tartılarak 45 dakika 90 °C sıcaklıkta bekletildi. Isıtmayı takiben bekletilmeden hemen headspace numune yerlerine yerleştirilerek analiz edildi. Headspace çalışma koşulları: Fırın sıcaklığı 80 °C, enjeksiyon ünitesi 90 °C analiz süresi ise 45 dakika olarak belirlendi. GC-MS çalışma koşulları ise, enjektör sıcaklığı 300 °C, dakikada 1 ml akış hızı ve taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Analizde HP5-MS kapiler kolon kullanıldı, kolon sıcaklığı, 40 °C'de 3 dakika bekle, 8 °C'/dk 150 °C program, 150 °C'de 10 dakika bekle, olarak ayarlandı.

3.2.4.2. Pestisit Kalıntıları Tayini

Baldaki pestisit kalıntılarının tayininde QuEChERS yöntemi (Anastassiades ve ark., 2003) bazı değişiklikler yapılarak uygulandı. Pestisit referans standardı (Dr Ehrenstorfer, Sigma-Aldrich), acetonitrile, metanol (HPLC kalitesi, Merck), susuz magnezyum sülfat, sodyum asetat, glasiyel asetik asit (Merck), TPP (IS-1-Thiamine pyrophosphate) (Varian, USA), santrifüj (Universal 320R, Hettich, Germany), 0.45µm şırınga filtre (Millipore Millex-HN Nylon, USA), likit kromatografi sistemi (LC, DGU-20A3 degasser, LC-20AD pompa, SIL-20A autosampler, CTO-10ASvp fırın ve CBM-

20A kontrolör, Shimadzu, Kyoto, Japan) yöntemde kullanılan cihaz ve kimyasal maddelerdir.

Standart çözeltilerin tamamı asetonitrille 1000 µg/ml derişiminde hazırlandı. Numunelerin ekstraksiyonunda, bal örneklerinden 5'er g tartılarak 50 ml'lik santrifüj tüpüne alındı. Üzerine 5 ml seyreltme çözeltisi (Su %90-metanol %10-asetik asit %0,1) ilave edilerek iyice çözünene kadar (10 dakika) vorteksle karıştırılıp 100 µl TPP (IS-1-Thiamine pyrophosphate) sorbenti eklenerek 60 saniye vorteksle karıştırmaya devam edildi. Daha sonra 10 ml etil asetat eklenerek 5 dakika daha vorteksle karıştırıldı. 5000 rpm`de 10 dakika santrifüj edildi, santrifüj sonunda üst fazdan 6 ml cam tüpe alındı ve azot gazı kullanılarak 40 °C 'de sıvı kısım uçuruldu. Tüpte kalan çökelti LC uygulaması için 400 µl asetonitril ile çözdürülerek 1 dakika vorteksle karıştırıldı. Sonra 5 dakika ultrasonik banyoda bekletilip iyice çözünmesi sağlanarak çözelti 0,45 µ şırınga ucu filtreden geçirilerek viyale alındı. Kolon sıcaklığı 30 °C olup 5 mM amonyum format (A) suda ve metanol (B) içeren dakikada 0,5 ml akış hızına sahip gradiyent elüsyon programı uygulandı. Tüm denemelerde pestisit analizi için LC-MS/MS sistemine 10 µl numune enjekte edildi.

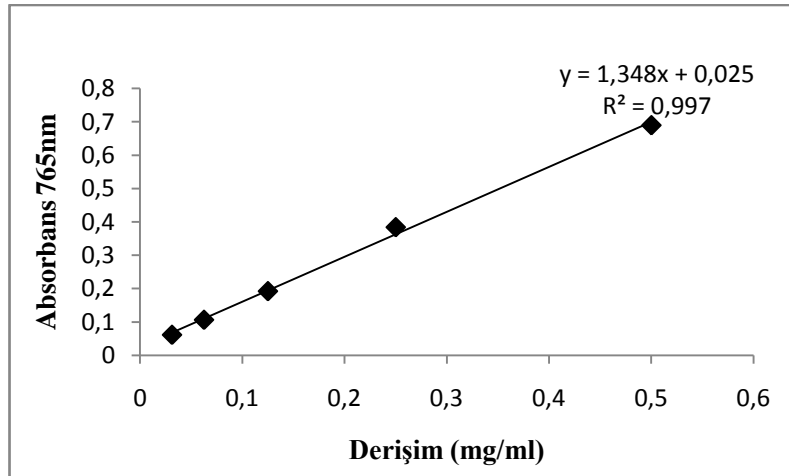
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Yapılan tüm deneysel çalışmalar, bu teze kaynak oluşturan önceki çalışmalar ve elde edilen bulgular tartışıldı. Araştırma bulguları ve tartışma, materyal ve yöntem kısmındaki alt başlıklara uygun olarak verildi.

4.1. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

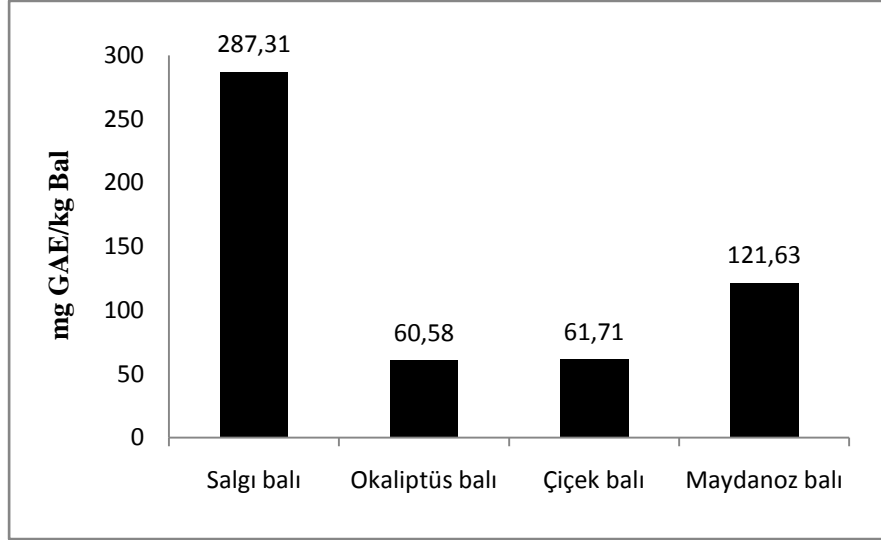
4.1.1. Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu

Örneklerin toplam fenolik madde miktarı 1 kg baldaki mg cinsinden gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı (mg GAE/kg Bal). Bu amaçla gallik asit derişimlerine karşı absorbanslar ölçülerek bir standart çalışma grafiğı oluşturuldu (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Standart gallik asit kalibrasyon grafiğı

Bal örneklerinin Folin-Ciocalteau yöntemi kullanılarak elde edilen toplam fenolik madde miktarı değerleri yapılan 3 denemenin ortalaması şeklinde karşılaştırmalı olarak Şekil 4.2.'de verildi. İncelenen bal örneklerinde fenolik madde miktarı içeriklerinin en yüksek salgı balında olduğu en düşük değer ise okaliptüs balında bulunduğu tespit edildi. Literatürde yer alan önceki çalışmalarda bazı bal türlerinin toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir (Amiot ve ark., 1989; Gil ve ark., 1995; Küçük ve ark., 2007; Silici ve ark., 2010).

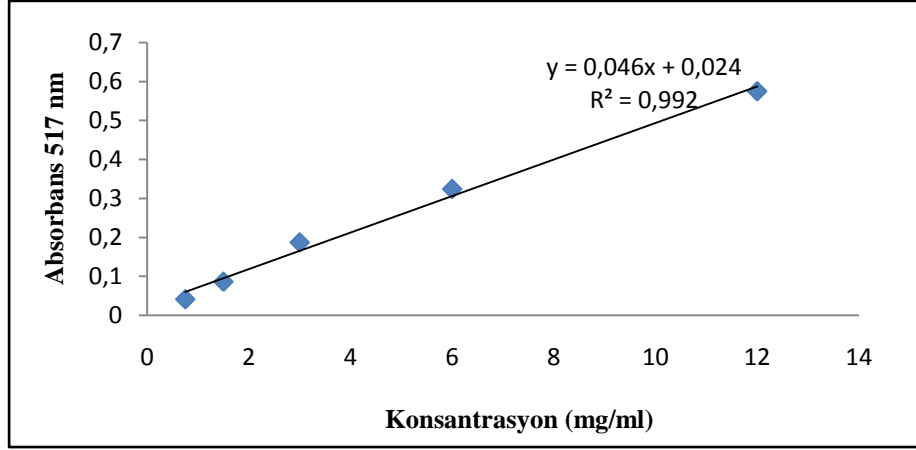


Şekil 4.2. Bal örneklerinin gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarı değerleri

Örneğin; Gheldof ve ark. (2002), akasya balının toplam fenolik içeriğini 4,6 mgGAE/100gBal; Silici ve ark. (2010), ise Karadeniz bölgesinden topladıkları ormangülü balının toplam fenolik içeriğini 0,24-141,83 mgGAE/100gBal aralığında belirtmişlerdir. Bu çalışmada Hatay balları literatürde çalışılan çoğu baldan yüksek fenolik içerik göstermiştir. Ayrıca literatürde yüksek fenolik madde içeren balların daha koyu renkli olduğu ve antioksidanlarca daha zengin oldukları bildirilmiştir (Beretta ve ark., 2005). Bu çalışmada kullanılan ballar bu yönüyle de literatürle uyumludur.

4.1.2. DPPH Radikal Süpürme Etkisi Deney Sonuçları

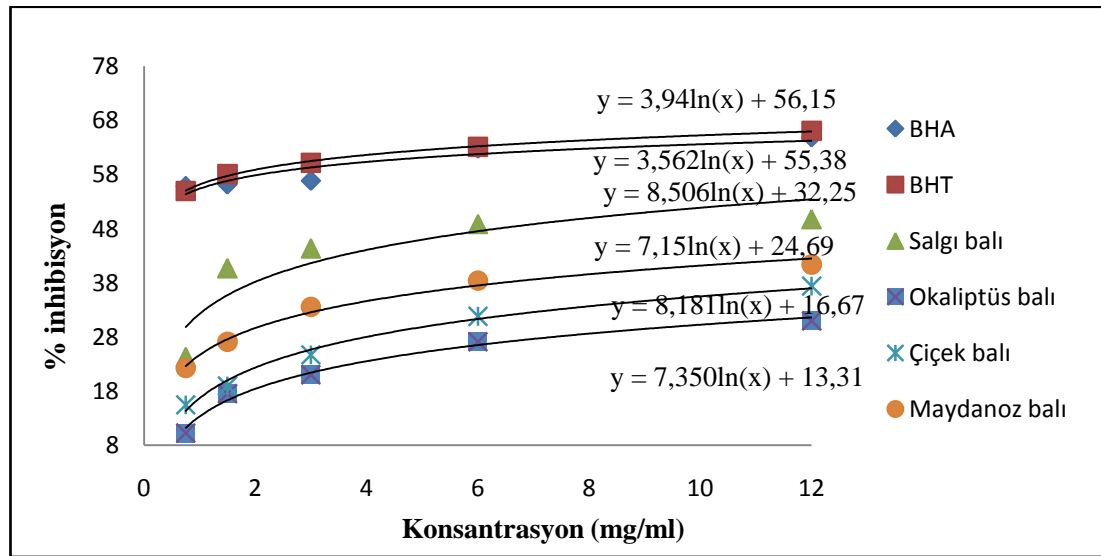
Öncelikle DPPH serbest radikal çözeltisinin standart eğrisi oluşturuldu. Şekil 4.3.'te DPPH radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart DPPH grafiği verildi. Her bir bal örneği için ortamdaki DPPH serbest radikallerinin inhibe edilen miktarı yüzde olarak çizelge 4.1'de verildi. Yüzde inhibisyon değeri ne kadar yüksekse antioksidan etki de o kadar yüksek kabul edilmektedir. DPPH radikal süpürücü etkisinin bir diğer göstergesi de IC_{50} değerleridir. Bu değer belirli bir DPPH derişiminde mevcut DPPH'nin yarısının süpürülmesi için gerekli olan antioksidan miktarı olarak tanımlanmaktadır ve antioksidan miktarına karşı % inhibisyon değerlerinin çizildiği grafikten (Şekil 4.4) elde edilen eğri denkleminde $y=50$ konularak hesaplanmaktadır (Brand-Williams ve ark., 1995).



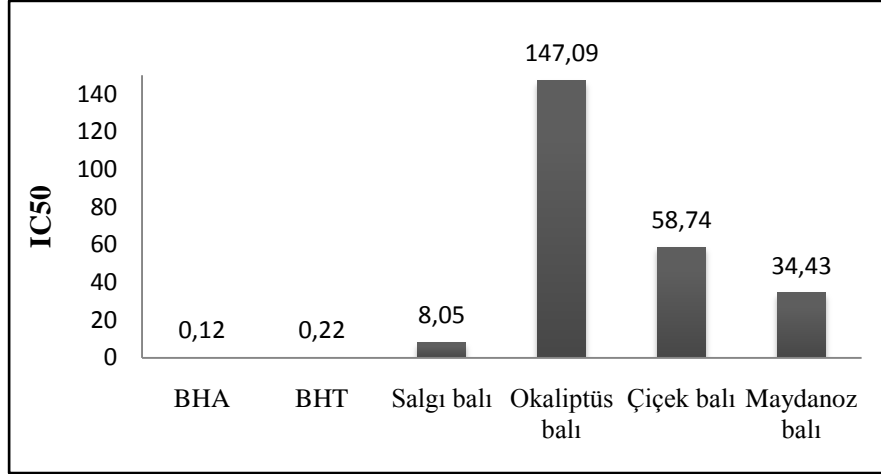
Şekil 4.3. DPPH serbest radikal çözeltisinin kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.1. Örnekler ve sentetik antioksidanlar için ortamdaki DPPH serbest radikallerinin inhibe edilen yüzde miktarları

| % İNHİBİSYON | | | | | | |
|-----------------------|-------|-------|------------|----------------|------------|---------------|
| Konsantrasyon (mg/ml) | BHA | BHT | Salgı balı | Okaliptüs balı | Çiçek balı | Maydanoz balı |
| 200 | 60,52 | 66,08 | 49,74 | 30,95 | 37,39 | 41,39 |
| 100 | 59,65 | 63,13 | 48,87 | 27,13 | 31,82 | 38,43 |
| 50 | 56,86 | 60,17 | 44,35 | 21,04 | 24,69 | 33,56 |
| 25 | 56,17 | 58,08 | 40,69 | 17,56 | 18,95 | 27,13 |
| 12,5 | 55,82 | 54,95 | 24,35 | 10,26 | 15,47 | 22,26 |



Şekil 4.4. Bal örneklerinin DPPH serbest radikal süpürücü aktiviteleri

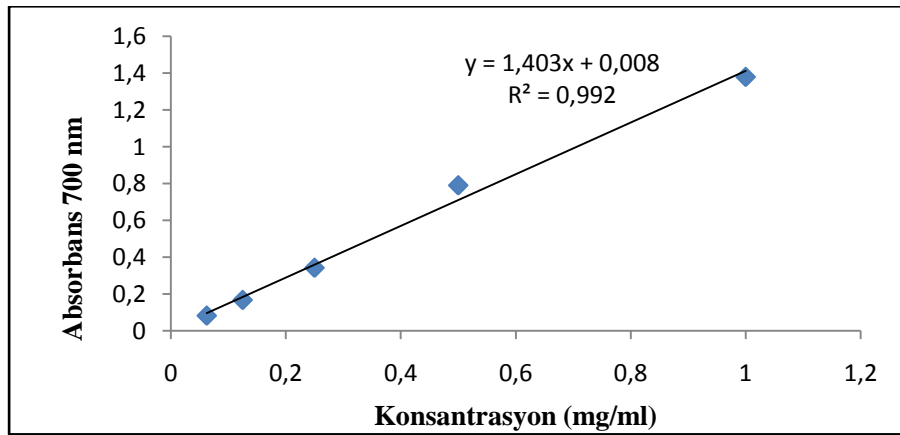


Şekil 4.5. Bal örneklerinin IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması

Düşük IC₅₀ değeri daha kuvvetli antioksidan gücü ifade eder (Molyneux, 2004). Hesaplanan % inhibisyon ve IC₅₀ değerlerinden (Şekil 4.5.) sentetik antioksidanlar olan BHA ve BHT'nin bal örneklerinden çok daha kuvvetli antioksidan aktivite gösterdikleri görülmektedir. Bal örnekleri arasındaki sıralama ise sırasıyla salgı balı, maydanoz balı, çiçek balı ve okaliptüs balı şeklindedir.

4.1.3. İndirgeme Gücü (FRAP Yöntemi) Deney Sonuçları

Bal örneklerinin FRAP değerlerinin antioksidan bir bileşik türünden hesaplanması gerekmektedir. Bu nedenle askorbik asit kullanılmıştır. Öncelikle askorbik asit çözeltisinin standart çalışma grafiği oluşturuldu (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Standart askorbik asit kalibrasyon grafiği

Bir maddenin indirgeme gücü onun antioksidan aktivitesinin bir ölçüsüdür. Oyaizu (1986) metoduna göre yapılan bu analizde sarı renkteki çözeltinin rengi, bitki özütlerinde bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı yeşil ve tonlarına dönüşmektedir. Bu dönüşüm 700 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü (Çizelge 4.2). Bu metotta yüksek absorbands değeri yüksek indirgeme gücünü ifade eder.

Çizelge 4.2. Numune ve sentetik antioksidanların 700 nm’deki absorbands değerleri

| Konsantrasyon (mg/ml) | Salgı balı | Okalıptüs balı | Çiçek balı | Maydanoz balı | BHA | BHT |
|------------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|----------------------|------------|------------|
| 12,5 | 0,259 | 0,150 | 0,160 | 0,342 | 3,890 | 3,768 |
| 25 | 0,433 | 0,207 | 0,235 | 0,525 | 3,891 | 3,771 |
| 50 | 0,717 | 0,310 | 0,434 | 0,754 | 3,895 | 3,776 |
| 100 | 1,159 | 0,490 | 0,789 | 0,898 | 3,900 | 3,859 |
| 200 | 1,770 | 0,774 | 1,087 | 1,609 | 3,914 | 3,910 |

İndirgeme gücü yönteminde sentetik antioksidanlar BHA ve BHT’nin bal örneklerinden çok yüksek absorbands değerine sahip oldukları tespit edildi. Elde edilen bulgulara göre genel indirgeme gücü sıralaması BHA > BHT > salgı balı > maydanoz balı > çiçek balı > okalıptüs balı şeklindedir.

Çizelge 4.3. Sentetik antioksidan ve bal örneklerinin FRAP değerleri

| Tür | FRAP Değeri (askorbik asite eşdeğer) |
|----------------|---|
| BHA | 0,01419 |
| BHT | 0,01418 |
| Salgı Balı | 0,00642 |
| Maydanoz Balı | 0,00583 |
| Çiçek Balı | 0,00394 |
| Okalıptüs Balı | 0,00281 |

İndirgeme gücünü sayısal olarak hesaplamak istersek, standart olarak aynı koşullarda askorbik asidin standart eğrisi çizildi. Buradan molar absorplama katsayısı (ϵ) hesaplandı.

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

A: Absorbans (en derişik çözeltinin)

ϵ : molar absorplama katsayısı

C: konsantrasyon

Aynı yöntemle bal örneklerinin ve sentetik antioksidanların da molar absorplama katsayıları hesaplandı. FRAP değeri örneklerin molar absorplama katsayılarının askorbik aside bölünmesiyle elde edildi. İndirgeme güçleri FRAP değerlerinin kıyaslaması olarak ele alındı.

$$\text{FRAP değeri} = \epsilon_{\text{örnek}} / \epsilon_{\text{troloks}}$$

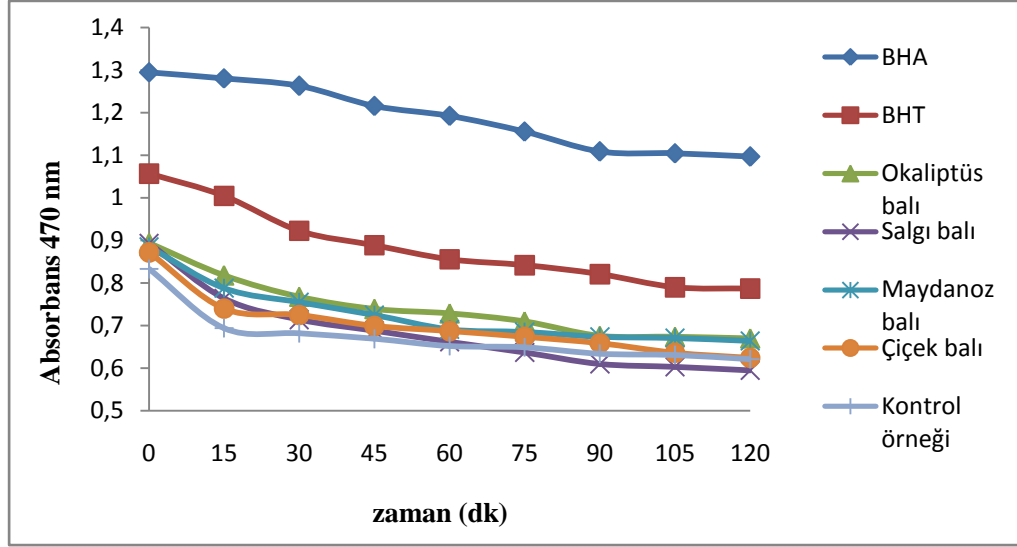
4.1.4. β - Karoten- Linoleik Asit Emülsiyon Yöntemi Deney Sonuçları

Çizelge 4.4. Bal örnekleri ve standartların 470 nm'deki absorbans değerleri

| Zaman (dk) | BHA | BHT | Okaliptüs balı | Salgı balı | Maydanoz balı | Çiçek balı | Kontrol örneği |
|------------|-------|-------|----------------|------------|---------------|------------|----------------|
| 0 | 1,295 | 1,057 | 0,894 | 0,893 | 0,885 | 0,872 | 0,833 |
| 15 | 1,281 | 1,005 | 0,818 | 0,764 | 0,788 | 0,74 | 0,694 |
| 30 | 1,263 | 0,923 | 0,768 | 0,714 | 0,755 | 0,725 | 0,682 |
| 45 | 1,216 | 0,889 | 0,739 | 0,688 | 0,725 | 0,699 | 0,669 |
| 60 | 1,193 | 0,856 | 0,729 | 0,662 | 0,691 | 0,687 | 0,652 |
| 75 | 1,156 | 0,842 | 0,71 | 0,637 | 0,685 | 0,674 | 0,649 |
| 90 | 1,109 | 0,821 | 0,676 | 0,61 | 0,674 | 0,659 | 0,634 |
| 105 | 1,105 | 0,79 | 0,674 | 0,603 | 0,671 | 0,636 | 0,631 |
| 120 | 1,097 | 0,787 | 0,67 | 0,595 | 0,664 | 0,624 | 0,621 |

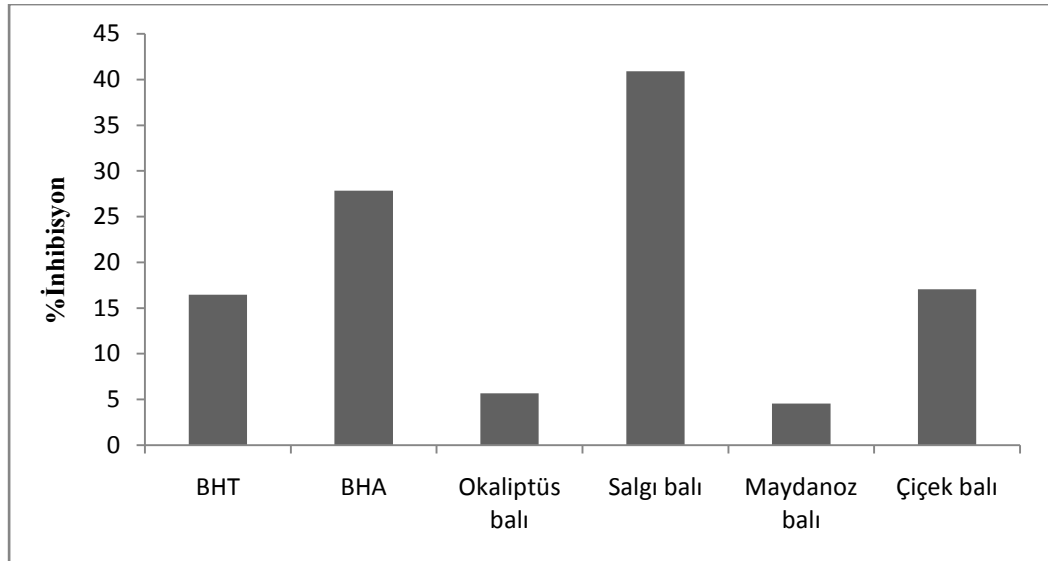
Çizelge 4.5. Bal örneklerinin absorbans değişim oranları ve % inhibisyon değerleri

| Tür | Absorbans değişim oranı (AO) | %inhibisyon |
|----------------|------------------------------|-------------|
| BHT | 0,00205 | 16,47 |
| BHA | 0,00225 | 27,84 |
| Okaliptüs balı | 0,00186 | 5,68 |
| Salgı balı | 0,00248 | 40,9 |
| Maydanoz balı | 0,00184 | 4,54 |
| Çiçek balı | 0,00206 | 17,04 |



Şekil 4.7. Örneklerin linoleik asit peroksidasyonlarının zamanla değişimi

Elde edilen grafiklerden ve zamana bağlı absorbans değerlerinden her bir zaman aralığında absorbans değişim oranları ve buna bağlı olarak inhibisyon oranları tespit edildi. Karışımlardaki renk açılmalarına göre hava ve ısı oksidasyonuna karşı antioksidan aktiviteleri tespit edildi. % inhibisyon değerleri ne kadar fazlaysa oksidasyonu engelleme aktivitesi o kadar fazladır. Yani kuvvetli antioksidandır. Bal örnekleri arasında en yüksek % inhibisyonun sırasıyla; salgı balı, çiçek balı, okalıptüs balı ve maydanoz balı şeklinde olduğu tespit edildi.

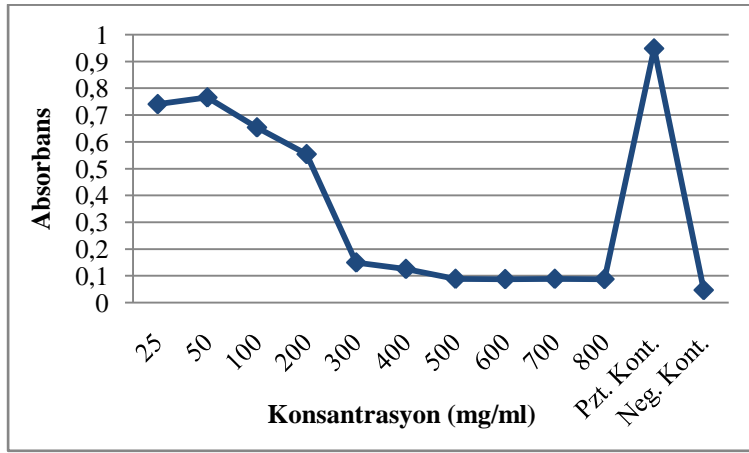


Şekil 4.8. Bal örnekleri ve standartların % inhibisyon değerleri

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Test Sonuçları

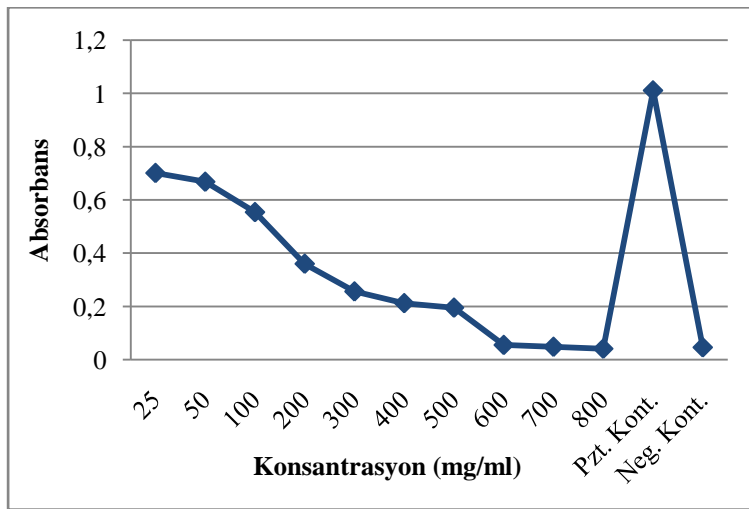
Bakteri türlerine karşı her bir balın gösterdiği MİK değerleri çizilen grafiklerden elde edildi. Düşük MİK değeri kuvvetli antibakteriyal etkiye işaret eder. Eğrilerde absorbansın keskin bir düşüşle sabitlendiği ilk kuyucuğun değeri MİK olarak alındı (Kang ve ark., 2008).

1. Bal örneklerinin *S. aureus* ATCC 6538'e karşı gösterdikleri MİK değerleri



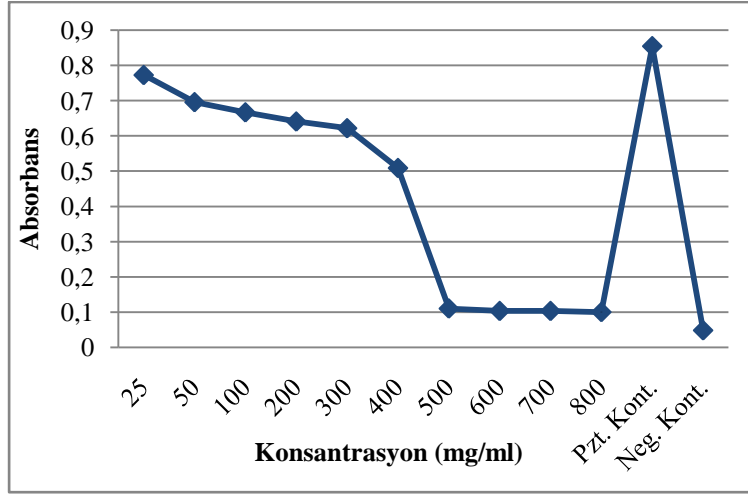
Şekil 4.9. Salgi balının *S. Aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.9.'dan elde edilen bulguya göre salgi balının *S. aureus* ATCC 6538 bakterisine karşı MİK değeri 500 mg/ml'dir.



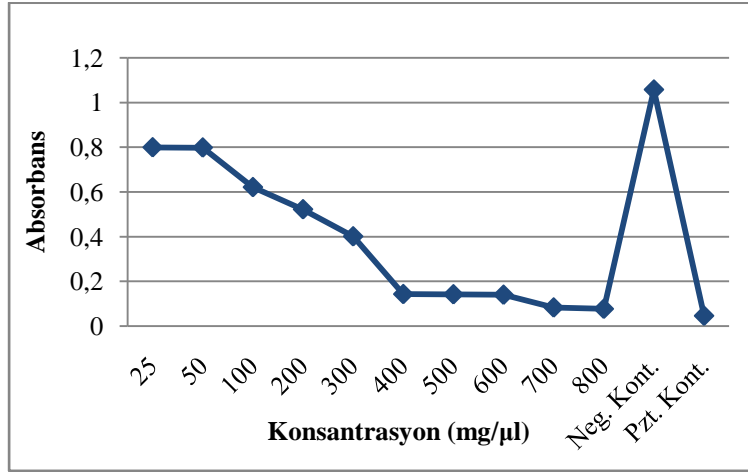
Şekil 4.10. Okaliptüs balının *S. Aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.10.'dan elde edilen bulguya göre okaliptüs balının *S. aureus* ATCC 6538 bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.



Şekil 4.11. Çiçek balının *S. Aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

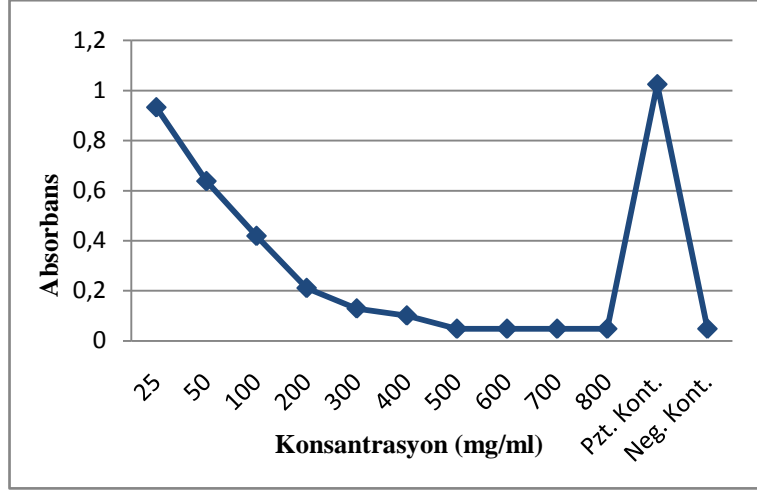
Şekil 4.11.'den elde edilen bulguya göre çiçek balının *S. aureus* ATCC 6538 bakterisine karşı MİK değeri 500 mg/ml'dir.



Şekil 4.12. Maydanoz balının *S. Aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

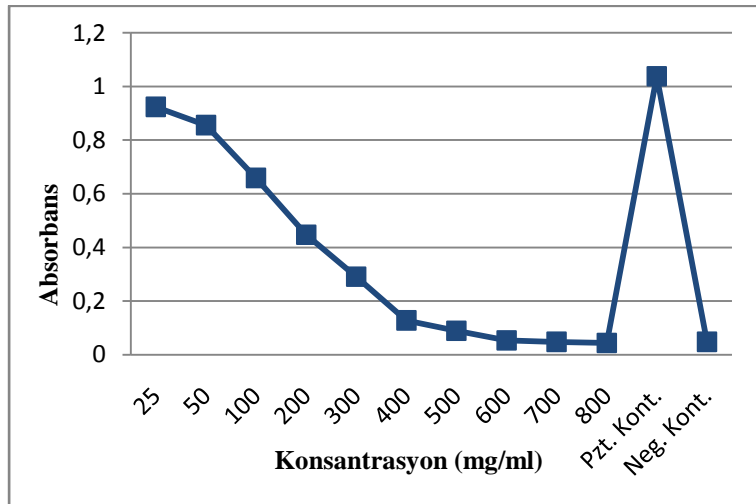
Şekil 4.12.'den elde edilen bulguya göre çiçek balının *S. aureus* ATCC 6538 bakterisine karşı MİK değeri 700 mg/ml'dir.

2. Bal örneklerinin *Bacillus cereus* ATTC 11778'e karşı gösterdikleri MİK değerleri



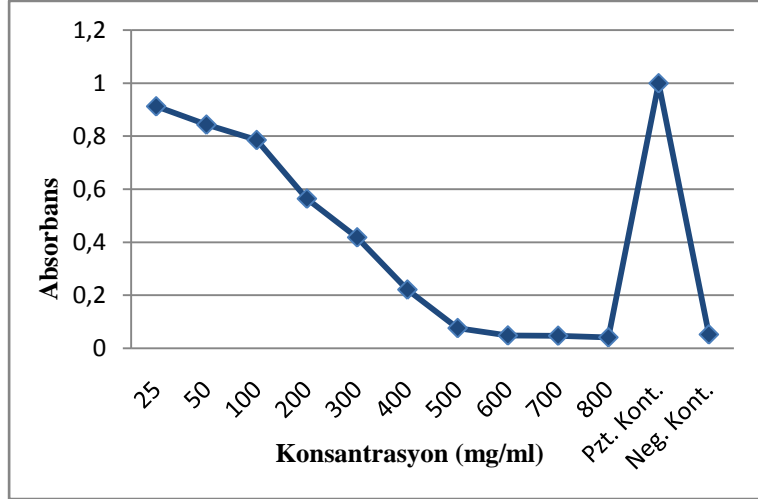
Şekil 4.13. Salgi balının *Bacillus cereus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.13.'den elde edilen bulguya göre Salgi balının *Bacillus cereus* ATTC 11778'e bakterisine karşı MİK değeri 500 mg/ml'dir.



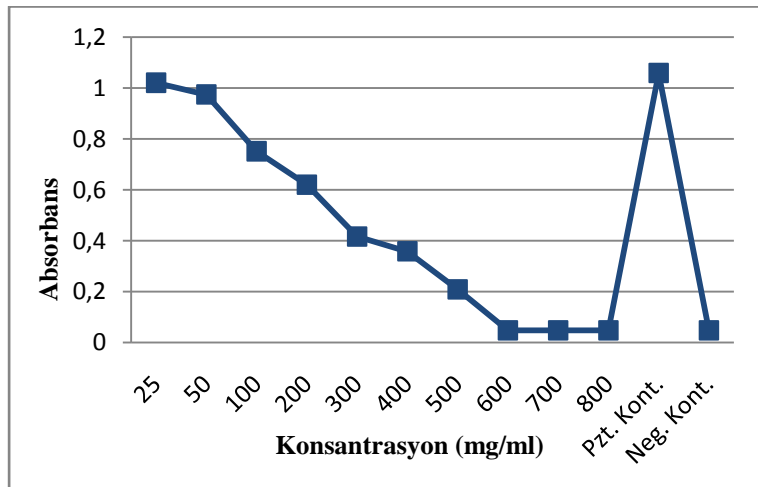
Şekil 4.14. Okalıptüs balının *Bacillus cereus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.14.'den elde edilen bulguya göre okalıptüs balının *Bacillus cereus* ATTC 11778'e bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.



Şekil 4.15. Çiçek balının *Bacillus cereus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

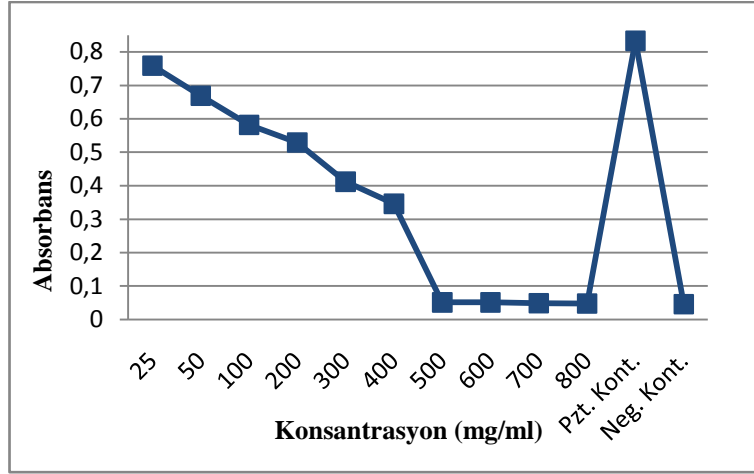
Şekil 4.15.'dan elde edilen bulguya göre çiçek balının *Bacillus cereus* ATTC 11778'e bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.



Şekil 4.16. Maydanoz balının *Bacillus cereus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

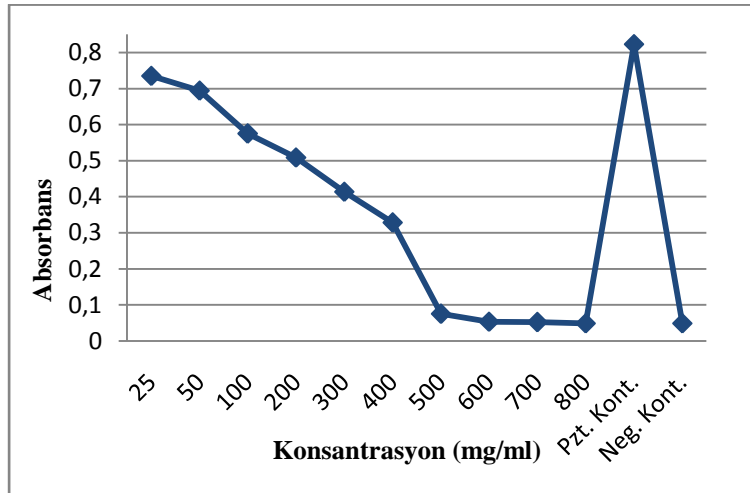
Şekil 4.16.'dan elde edilen bulguya göre maydanoz balının *Bacillus cereus* ATTC 11778'e bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.

3. Bal örneklerinin MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300'e karşı gösterdikleri MİK değerleri



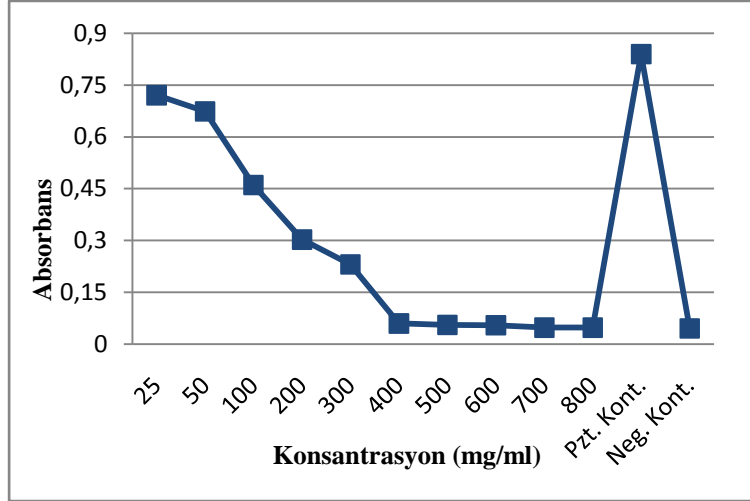
Şekil 4.17. Salgı balının MRSA *Staphylococcus aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.17.'den elde edilen bulguya göre Salgı balının MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 bakterisine karşı MİK değeri 500 mg/ml'dir.



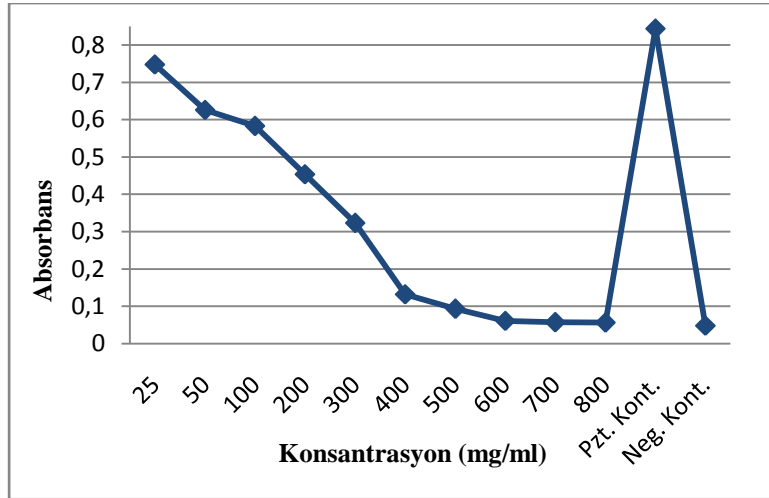
Şekil 4.18. Okalıptüs balının MRSA *Staphylococcus aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.18.'den elde edilen bulguya göre okalıptüs balının MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.



Şekil 4.19. Çiçek balının MRSA *Staphylococcus aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

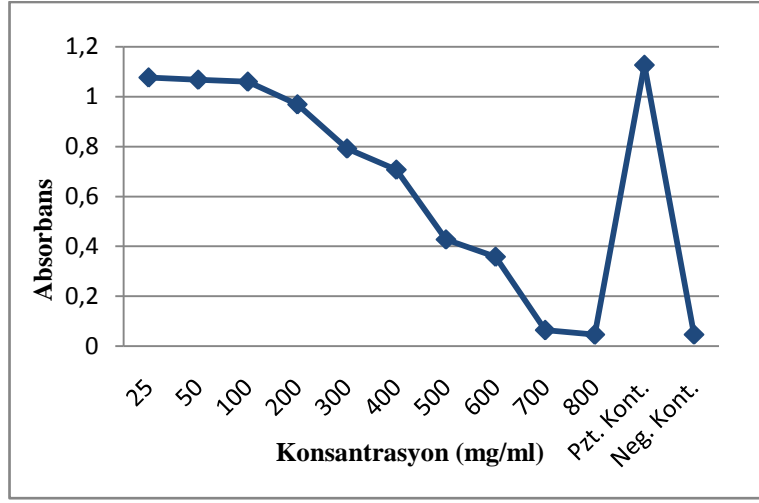
Şekil 4.19.'dan elde edilen bulguya göre çiçek balının MRSA *Staphylococcus aureus* ATTC 43300 bakterisine karşı MİK değeri 400 mg/ml'dir.



Şekil 4.20. Maydanoz balının MRSA *Staphylococcus aureus*'a karşı gösterdiği MİK değeri

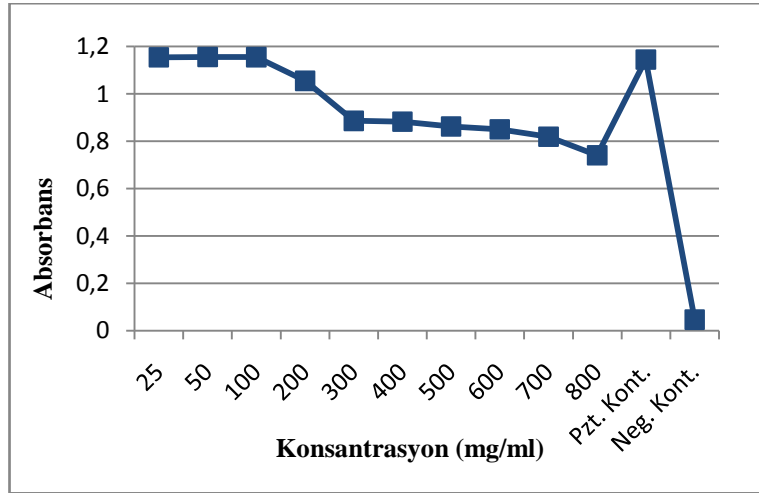
Şekil 4.20.'den elde edilen bulguya göre maydanoz balının MRSA *Staphylococcus aureus* ATTC 43300 bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.

4. Bal örneklerinin *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603'e karşı gösterdikleri MİK değerleri



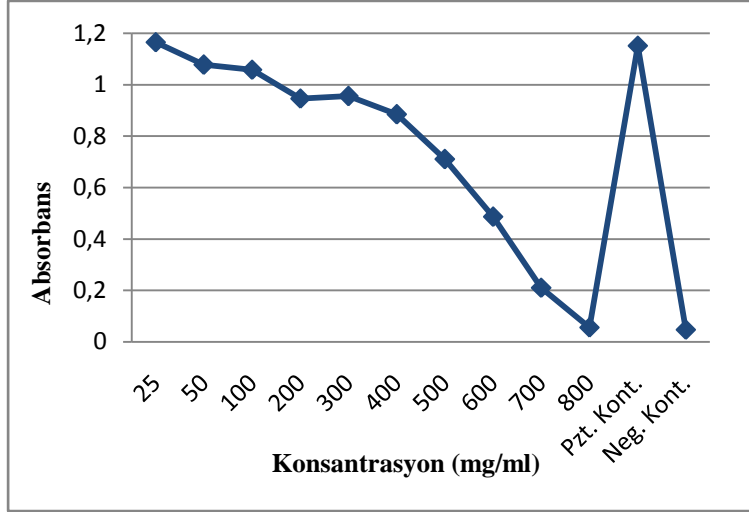
Şekil 4.21. Salgı balının *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.21.'den elde edilen bulguya göre Salgı balının *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 bakterisine karşı MİK değeri 700 mg/ml'dir.



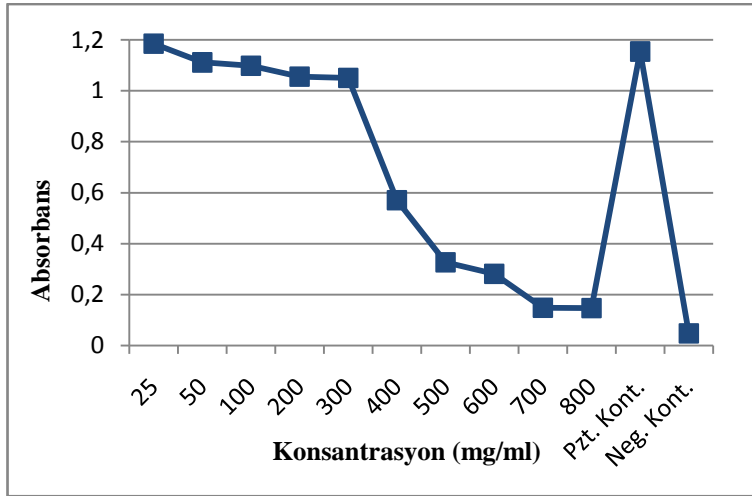
Şekil 4.22. Okalıptüs balının *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.22.'den elde edilen bulguya göre okalıptüs balı *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 bakterisine karşı MİK değeri göstermemektedir.



Şekil 4.23. Çiçek balının *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri

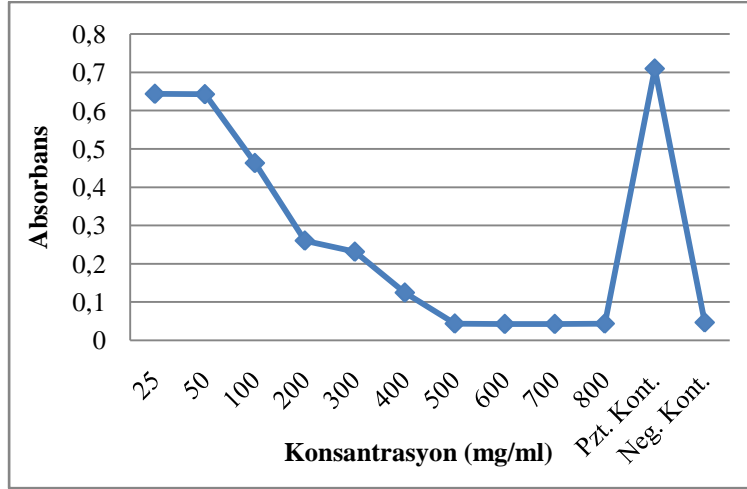
Şekil 4.23.'den elde edilen bulguya göre çiçek balının *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 bakterisine karşı MİK değeri 800 mg/ml'dir.



Şekil 4.24. Maydanoz balının *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603'e karşı gösterdiği MİK değeri

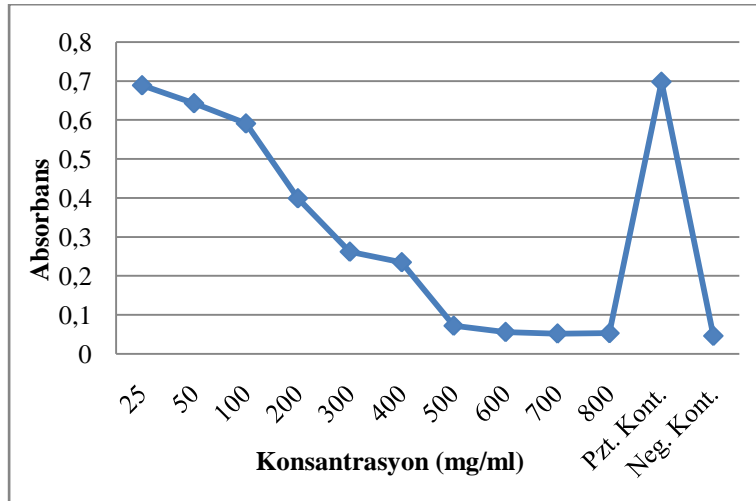
Şekil 4.24.'ten elde edilen bulguya göre maydanoz balının *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 bakterisine karşı MİK değeri 700 mg/ml'dir.

5. Bal örneklerinin *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdikleri MİK değerleri



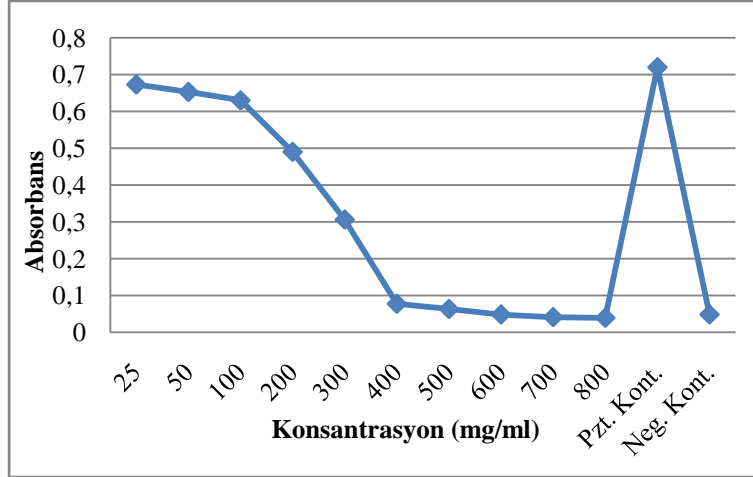
Şekil 4.25. Salgı balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.25.'ten elde edilen bulguya göre Salgı balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı MİK değeri 500 mg/ml'dir.



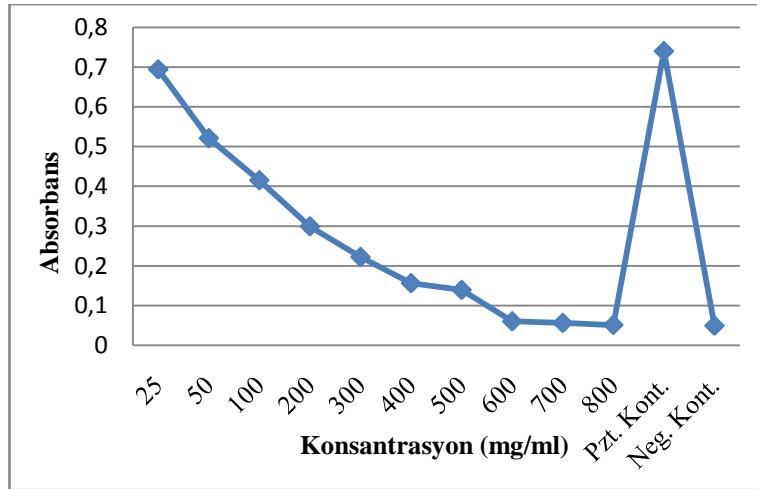
Şekil 4.26. Okalıptüs balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.26.'dan elde edilen bulguya göre okalıptüs balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı MİK değeri 500 mg/ml'dir.



Şekil 4.27. Çiçek balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

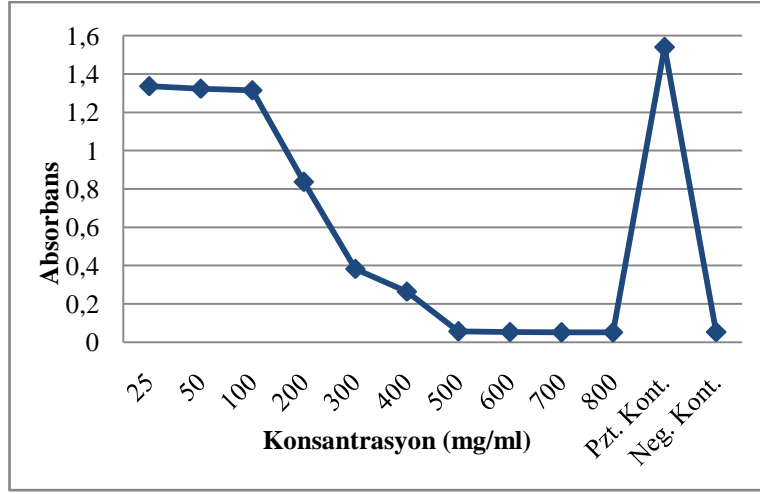
Şekil 4.27.'den elde edilen bulguya göre çiçek balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.



Şekil 4.28. Maydanoz balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

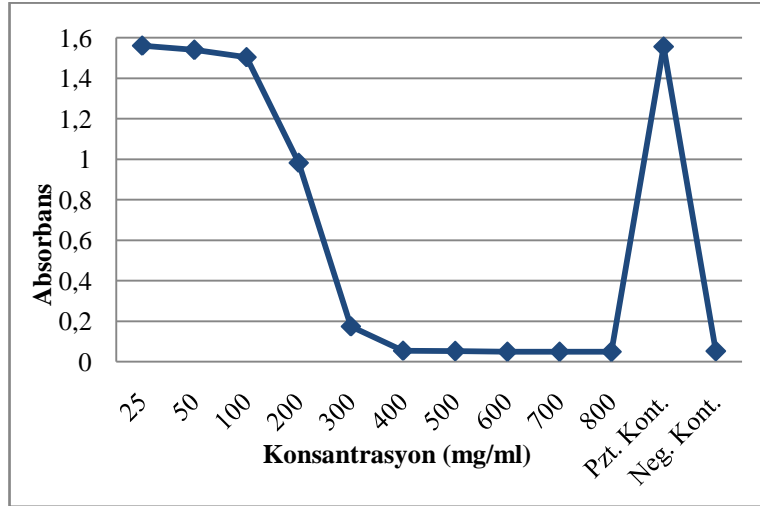
Şekil 4.28.'den elde edilen bulguya göre çiçek balının *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.

6. Bal örneklerinin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdikleri MİK değerleri



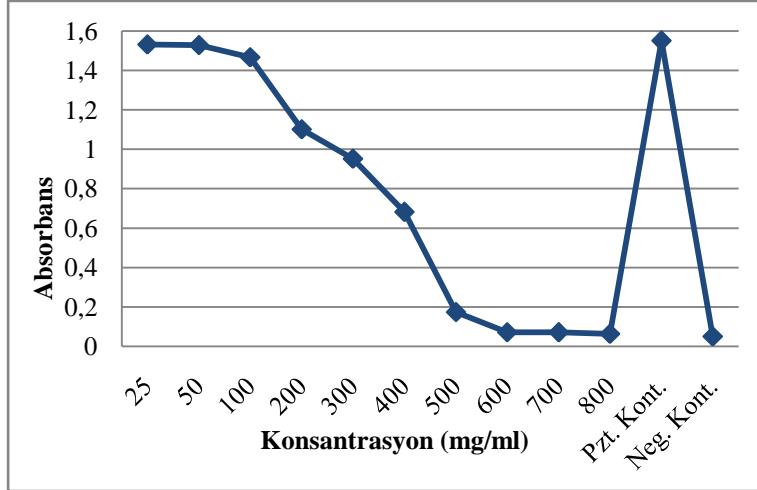
Şekil 4.29. Salgi balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.29.'dan elde edilen bulguya göre Salgi balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı MİK değeri 500 mg/ml'dir.



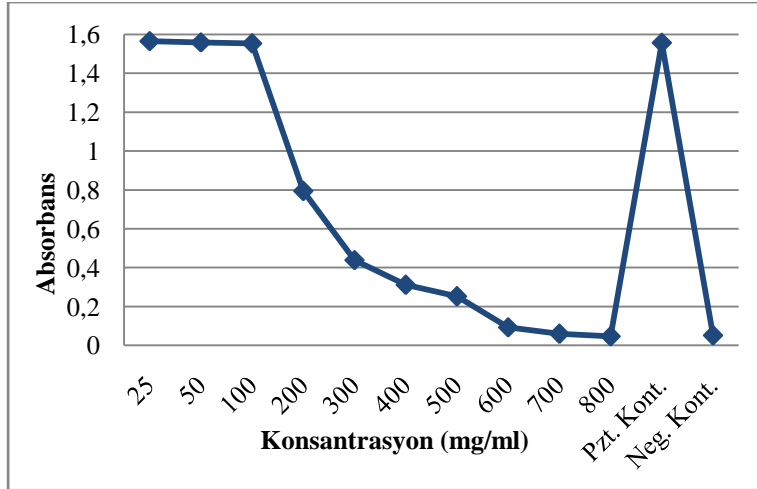
Şekil 4.30. Okalıptüs balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.30.'dan elde edilen bulguya göre okalıptüs balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı MİK değeri 400 mg/ml'dir.



Şekil 4.31. Çiçek balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.31.'den elde edilen bulguya göre çiçek balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı MİK değeri 600 mg/ml'dir.



Şekil 4.32. Maydanoz balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri

Şekil 4.32.'den elde edilen bulguya göre maydanoz balının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 bakterisine karşı MİK değeri 700 mg/ml'dir.

Elde edilen tüm MİK değerleri çizelge 4.2.' de gösterildi. Bu çizelgeye göre Salgı balının diğer ballardan daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, maydanoz ve

okaliptüs balının ise en zayıf aktiviteye sahip oldukları bununla beraber okaliptüs balının *Klebsiella pnömoniae* bakterisine karşı bir MİK değeri göstermediği bulundu. Çalışmada kullanılan Ampisilin/Sülfaktam antibiyotiğinin en yüksek 64 µg/ml değeri ile tüm bakteri türlerine karşı etki gösterdiği bulundu. Bal örneklerinin genel olarak birbirine yakın MİK değerleri gösterdikleri ve kullanılan antibiyotiğe göre ise çok zayıf bir etkiye sahip oldukları belirlendi.

Çizelge 4.6. Bal örneklerinin bakteri türlerine karşı mg/ml konsantrasyonu cinsinden gösterdikleri MİK değerleri

| | <i>S. aureus</i> | <i>Bacillus Cereus</i> | <i>MRSA</i> | <i>Klebsiella pnömoniae</i> | <i>E. Coli</i> | <i>Pseudomonas aeginosa</i> |
|-----------------------|------------------|------------------------|-------------|-----------------------------|----------------|-----------------------------|
| Salgı balı | 500 | 500 | 500 | 700 | 500 | 500 |
| Okaliptüs balı | 600 | 600 | 600 | - | 500 | 400 |
| Çiçek balı | 500 | 600 | 400 | 800 | 600 | 600 |
| Maydanoz balı | 700 | 600 | 600 | 700 | 600 | 700 |

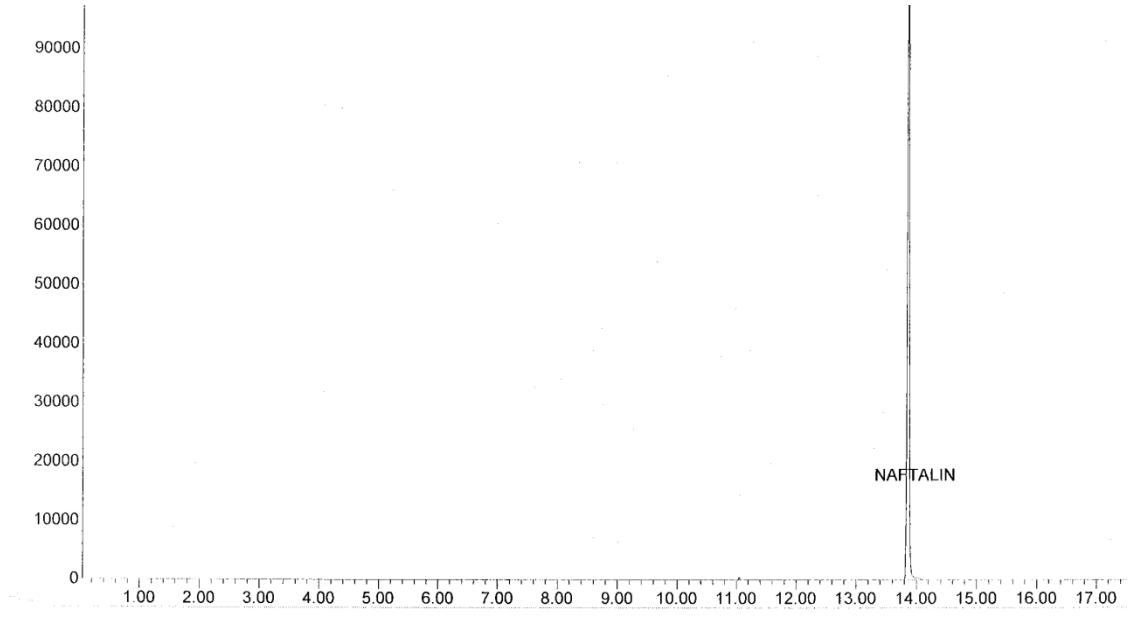
4.3. Yağ Asidi Kompozisyonu GC Analiz Sonuçları

Daha önceki çalışmalarda da belirtildiği üzere balın muhteleviyatında yağ asitlerine rastlanılmamaktadır ya da eser düzeyde bulunabilmektedir. Yaptığımız bu çalışmada da yapılan GC analizleri sonucunda numunelerin hiç birinde yağ asidi tespit edilememiştir.

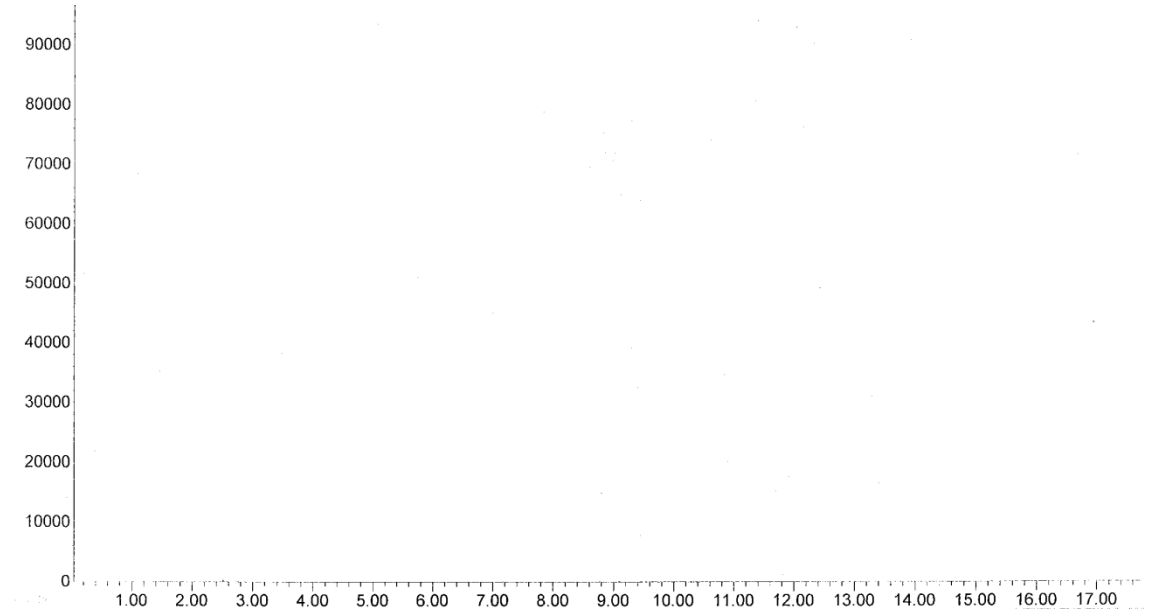
4.4. Kalıntı Analiz Sonuçları

4.4.1. Naftalin Analizi GC-MS Sonuçları

GC-MS ile yapılan naftalin kalıntısı analizinde viyallere alınan standart ve tüm bal örnekleri cihaza verilerek Şekil 4.33. ve Şekil 4.34.'teki kromatogramlar elde edildi. Tüm bal örneklerine ait naftalin analizinde aynı sonuçlar elde edildiğinden sadece Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'teki kromatogramlar verildi.



Şekil 4.33. GC-MS cihazında elde edilen standart naftalin kromatogramı



Şekil 4.34. Bal örneklerine ait GC-MS sonucu

Bal örneklerine ait elde edilen kromatogramlardan (Şekil 4.34.) bal örneklerinin tamamında naftalin kalıntısı olmadığı tespit edildi.

4.4.2. Pestisit Analizi LC-MS MS Sonuçları

Bal tebliği kapsamında yer alan ürünlerde bulunabilecek pestisit kalıntı miktarları Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğince belirlenmiştir. Bu tebliğe göre balda maksimum pestisit kalıntı limiti en fazla 0.01 mg/kg (10 ppb) olmalıdır.

Çizelge 4.6.'da cihazın pestisit tespit limitleri verildi.

Çizelge 4.7. Çalışmada kullanılan LC-MS cihazının pestisit tespit limitleri

| Pestisit | Tespit limiti (ppb) | Pestisit | Tespit limiti (ppb) | Pestisit | Tespit limiti (ppb) |
|------------------|---------------------|----------------|---------------------|------------------------|---------------------|
| 2,4-D | 5 | Dinocap | 5 | Phenthoate | 10 |
| Acetamiprid | 2,5 | Dithianon | 5 | Phosalone | 2,5 |
| Alachlor | 20 | Epoxiconazole | 5 | Phosmet | 5 |
| Amitraz | 40 | Ethiofencarb | 2,5 | Pirimicarb | 2,5 |
| Atrazine | 10 | Ethofumesate | 5 | Pirimiphos methyl | 2,5 |
| Azoxystrobin | 5 | Famoxadone | 5 | Iprodione | 20 |
| Bifenthrin | 10 | Fenarimol | 5 | Profenofos | 5 |
| Bupirimate | 2,5 | Fenazaquin | 5 | Propargite | 5 |
| Buprofezin | 5 | Fenoxycarb | 5 | Propiconazole | 10 |
| Carbaryl | 5 | Fenpropathrin | 10 | Propyzamide | 5 |
| Carbendazim | 5 | Fenthion | 2,5 | Prothiophos | 10 |
| Carbofuran | 5 | Fludioxonil | 5 | Pyrazophos | 10 |
| Carbosulfan | 40 | Furathiocarb | 10 | Pyridaben | 2,5 |
| Chlorfluazuron | 5 | Hexythiazox | 5 | Pyridaphenthion | 2,5 |
| Chlorpropham | 20 | Imidacloprid | 2,5 | Pyriproxyfen | 5 |
| Chlorpyrifos | 5 | Ioxynil | 5 | Simazine | 2,5 |
| Clofentezine | 5 | Kresoximmethyl | 10 | Tau-fluvalinate | 5 |
| Cycloate | 2,5 | Lufenuron | 5 | Tebuconazole | 2,5 |
| Cymoxanil | 5 | Malathion | 2,5 | Terbutryn | 2,5 |
| Cypermethrin | 10 | Metalaxyl | 5 | Thiamethoxam | 20 |
| Cyproconazole | 2,5 | Metolachlor | 2,5 | Thiophanate-methyl | 2,5 |
| Cyprodinil | 5 | Metribuzin | 10 | Tolyfluanide | 10 |
| Deltamethrin | 10 | Monolinuron | 10 | Triadimefon | 2,5 |
| Diazinon | 5 | Oxadixyl | 5 | Triadimenol | 2,5 |
| Dichlofluanid | 5 | Oxamyl | 5 | Triallate (Tri-allate) | 5 |
| Dichlorvos(DDVP) | 10 | Oxyfluorfen | 60 | Trichlorfon | 5 |
| Difenoconazole | 2,5 | Penconazole | 2,5 | Trifloxystrobin | 10 |
| Dimethoate | 5 | Pendimethalin | 5 | Triflumizole | 5 |
| Dimethomorph | 10 | Permethrin | 5 | | |

Her bir bal örneği için toplamda 81 adet pestisit analizi yapıldı. Elde edilen bulgular řu şekildedir:

Salgı balında chlorpyriphos ve prothiophos kalıntıları (<10 ppb),

Okalıptüs balında prothiophos (10.60 ppb) ve tofluanid (11.50 ppb) kalıntıları,

Maydanoz balında, iprodione (24.40 ppb) ve fludioxonil (<10ppb) kalıntıları tespit edildi.

Çiçek balında ise hiçbir kalıntı tespit edilememiştir.

Bal örneklerinde tespit edilen iprodione ve fludioxonil sebze, bağ ve bazı meyve ağaçlarındaki fungusitler ile mücadelede, prothiophos ve chlorpyriphos ise elma kurdu ve yaprak büken vb. insektisitler ile mücadelede kullanılan pestisitlerdir. Bu pestisitlerin insan sağlığı için karsinojen olduğu belirtilmiştir (PAN Pesticides Database). Tespit edilen bu pestisitlerin balın muhtevasına dolaylı olarak geçmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Folin metoduna göre en yüksek fenolik içerik sırasıyla: salgı balı, maydanoz balı, çiçek balı ve okaliptüs balı şeklinde bulundu. Bu değer salgı balı için gallik asit eşdeğeri olarak bir kg balda 287,31 mg (mgGAE/kgBal) olurken; maydanoz balı için 121,63 mgGAE/kgBal, çiçek balı için 61,71 mgGAE/kgBal ve en düşük değeri 60,58 mgGAE/kgBal ile okaliptüs balı göstermiştir.

Bal örneklerinin antioksidan aktivite tayininde üç metot kullanıldı. Serbest radikal süpürme etkisi (DPPH) yönteminde bal örneklerinin % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri hesaplandı. % İnhibisyon değeri yüksek ve IC₅₀ değeri düşük olan antioksidanca daha zengindir. Elde edilen sonuçlar: BHA > BHT > salgı balı > maydanoz balı > çiçek balı > okaliptüs balı şeklindedir. Demir (III) indirgeme metodunda yüksek absorpsiyon değeri yüksek indirgeme gücünü ifade eder ve o derece kuvvetli antioksidandır şeklinde ifade edilir. Elde edilen bulgulardan antioksidan aktivite sıralaması BHA > BHT > salgı balı > maydanoz balı > çiçek balı > okaliptüs balı şeklindedir. β-karoten Linoleik asit emülsiyon sisteminde ise elde edilen sonuçlar önceki iki yöntemde göre farklılık göstermektedir. Bu yöntemdeki sıralama: salgı balı > BHA > çiçek balı > BHT > okaliptüs balı > maydanoz balı şeklinde olmuştur. Buradaki sonucun farklı olmasının sebebi örneklerin ortamdan (hava, ısı, sıcaklık vb.) daha fazla miktarlarda inhibisyona uğramaları ile açıklanabilir.

Antioksidan aktivite tayininde, folin metodu ile diğer antioksidan tayin metotlarının (DPPH, FRAP, ORAC) birlikte kullanıldığı birçok çalışmada toplam fenolik içerik ile antioksidan kuvvetlilik arasında sıklıkla çok iyi korelasyonlar bulunduğu belirtilmiştir (De Beer ve ark., 2003; Shahidi ve ark., 2006). Bu çalışmada kullanılan bal örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri antioksidan yöntemlerle elde edilen sonuçlar ile paralel yönde korelasyon gösterdiği bulundu. Bu çalışmada kullanılan balların sahip oldukları antioksidan etki ile vücut hücrelerine hasar veren serbest radikallerin yarattığı oksidasyon oluşumunu yavaşlatmada ve önlemede insan beslenmesine katkıda bulunabilecekleri belirlendi.

Mikrodilüsyon broth yöntemiyle yapılan antibakteriyel aktivite sonuçları değerlendirildiğinde Salgı balının diğer ballara göre çalışılan bakterilere karşı daha etkili olduğu görülmektedir. Bal örnekleri test edilen gram negatif bakterilere ve gram pozitif bakterilere karşı düşük aktivite göstermişlerdir. Çalışmada kullanılan bal

örneklerinin antibakteriyel özelliği ile insanlarda deri yaraları, üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunan *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*, *S. Aureus* bakterilerine karşı zayıfda olsa kullanılabileceği belirlendi.

Literatürde balla ilgili çalışmalarda balın yağ asidi kompozisyonunu belirlemeye yönelik çalışma bulunmamaktadır. Yağ asidi kompozisyonunu belirlemeye yönelik GC analizinde ise yağ asidi olarak değerlendirilebilecek herhangi bir sonuç tespit edilemedi.

Naftalinin mutajenik ve karsinojenik olduğu ve insanda dokular, karaciğer, beyin ve böbrekte biyokimyasal açıdan toksik etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Stohs ve ark., 2002). Bu nedenlerden dolayı bal gibi besin maddelerinde naftalin kullanımı kısıtlanmıştır. Elde edilen GC-MS sonuçlarından bal örneklerinde naftalin kalıntısı bulunmadığı tespit edildi.

Gıda maddelerindeki pestisit kalıntı miktarlarının daha önceden tespit edilip tolerans sınırlarını geçmemesi, gerek tüketici sağlığı açısından gerekse ihraç gıda ürünlerinin (bal vb.) geri dönmemesi açısından büyük öneme sahiptir. Pestisit kalıntısı tayininde bal örneklerinde 81 adet pestisitten sadece maydanoz balında izin verilen limitin üzerinde 1 ve okaliptüs balında ise 2 pestisit kalıntısı saptandı. Arıcılıkta doğrudan kullanılan amitraz, coumaphos, flumetrin kalıntıları ise tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak, bal bileşiklerce zengin birer doğal ürün olup, içerdikleri fitokimyasal bileşiklerin oksidatif strese yol açan radikalik tepkimelere engel olması veya temizlemesinde etkili olduğu ve buldukları gıda maddesine indirgen özellik kazandırdıkları hem yapılan bu çalışmayla hem de literatür bilgileri ile ortaya çıkartılmıştır. Bu nedenle de yüksek antioksidan ve antimikrobiyal etkiye sahip, kanser, kardiovaskular bozukluklar gibi hastalıklardan korunmada etkili doğal ürünler olduğu söylenebilir.

Elde edilen veriler, bize üretilmesi son derece kolay ve ucuz olan balın, doğal kaynaklar açısından oldukça zengin bir bölge olan Hatay'da üretimi devam ettirilerek gıda, eczacılık, tıp ve kozmetik gibi endüstrinin uygun alanlarına büyük ölçüde katkıda bulunacağını göstermiştir. Gıda olarak kullanılabildiği gibi bebek mamalarında, pastalarda, kurutulmuş bazı gıdalarda da kullanılarak balın kullanım alanını genişletilebilir.

Ayrıca bal yapısında bulunan antimikrobiyal etkiden dolayı ilaç endüstrisinde geniş kullanım alanı bulabilir. Bu türlü araştırmaların Hatay'da daha da genişletilerek çalışılması ülkenin doğal zenginliklerinin değerlendirilmesi ve ekonomiye katkı açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., 1995. **Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri**. Mimoza Yayınları No 38, Sağlık dizisi 5, Konya.
- Albero, B., Sánchez-Brunete, C., Tadeo, J.L., 2003. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in honey by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of AOAC International**, 86: 576-582.
- Aljadi, A.M., Kamaruddin, M.Y., 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. **Food Chemistry**, 85:4,513-518.
- Al-Mamary M., Al-Meerri A. and Al-Habori M., 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey, **Nutrition Research**, 22:9,1041-1047.
- Amin, I., Tan, S.H., 2002. Antioxidant activity of selected commercial seaweeds, **Mal. Journal of Nutrient**, 8:2. 167-177.
- Amiot, M. J., Aubert, S., Gonnet, M., and Tacchini, M., 1989. Phenolic composition of honeys: Preliminary study on identification and group quantification. **Apidologie**, 20, 115–125.
- Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D. and Schenck F.J., 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC**, 86(2):412-31.
- Anonim, 2007. www.bilecik.saglik.gov.tr/pekmezvepestisit.doc , 20.05.2011.
- Anonymous, 2004. **Production Yearbook**. FAO, Rome.
- Bennick, A., 2002. Interaction of Plant Polyphenols with Salivary Proteins. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, 13: 184.
- Benzie, I.F.F., 2003. Evolution of dietary antioxidants. **Comp. Biochem. Physiology. Part A** 136:113. doi:10.1016/S1095-6433(02)00368-9.
- Beretta G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., and Maffei Facino, R., 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. **An. Chimica Acta**, 533, 185–191.
- Bertoncelj J., Dobersek, U., Jamnik, M., Golob, T., 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey, **Food Chemistry**, **105:2,822-828**.
- Botsoglou, N.A., Grigoropoulou, S.H., Botsoglou, E., Govaris, A. and Papageorgiou, G., 2003. The Effects of Dietary Oregano Essential Oil and Tocopheryl Acetate

- on Lipid Oxidation in Raw and Cooked Turkey during Refrigerated Storage. **Meat Sci.**, 65:1193-1200.
- Brand-Williams, W., Culivier, M. E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, 28, 25–30.
- Brudzynski K., 2006. Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys, **Canadian Journal of Microbiology**, 52:12,1228-1237.
- Castle, L., Philo, M.R. and Sharman, M.,2004. The analysis of honey samples for residues of nitrobenzene and petroleum from the possible use of Frow mixture in hives. **Food Chemistry**, 84:4, 643-649.
- Chanchao C., 2009. Antimicrobial activity by Trigona leaviceps (Stingless bee) honey from Thailand, **Pakistan Journal of Medical Services**, 25:3,364-369.
- Chaudiere J., Ferrari-Iliou, R., 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**. 37:949. doi:10.1016/S0278-6915(99)00090-3.
- Cherubini A., Ruggiero, C., Polidori, MC., Mecocci, C., 2005. Potential markers of oxidative stress in stroke. **Free Radical Biology and Medicine**. 39: 841 – 852.
- Cho M., Jedrychowski, R., Hammock, B., Buckpitt, A., 1994. Reactive naphthalene metabolite binding to hemoglobin and albumin. **Fund. Appl. Toxicol.**, 22: 26-33.
- Cordella C., Militão J.S.L.T., Clément M-C., Drajnudel P., Cabrol-Bass D., 2005. Detection and quantification of honey adulteration via direct incorporation of sugar syrups or bee-feeding: preliminary study using high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) and chemometrics. **Anal. Chim. Acta.**, 531: 239-248.
- Çeliker S.A., 2002. **Arıcılık**. T.E.A.E.-Bakış., 9: 1-4.
- Çömelekoğlu, Ü., Mazmancı, B., Arpacı ,A., 1999. Pestisidlerin Kronik etkisine Maruz Kalan Tarım İşçilerinde Eritrosit Süperoksit dismutaz ve Katalaz Aktiviteleri. **Turk Journal of Biology**, 24: 483–488.
- Daş, Y.K., 2004. Türkiye’de Üretilen Ballarda Bazı Organik Fosforlu ve Sentetik Piretroid İnsektisit Kalıntılarının İncelenmesi. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, **Doktora Tezi**, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. S. Kaya).
- De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C.A., Manley, M., 2003. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: free radical scavenging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51:902. doi:10.1021/jf026011o
- Eloff, J.N., 1998. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. **Planta Med**, 64(8): 711-713.

- Erdoğrul, Ö., 2007. Levels of selected pesticides in honey samples from Kahramanmaraş, Turkey. **Food Control**, 18:7, p:866-871.
- Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Dias, L.G. and Pereira, E., 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey, **Food and Chemical Toxicology**, 46:12,3774-3779.
- Farkas, N., Lőrinczy, D., Dergez, T., Kilár, F., Belagyi, J., 2004. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on erythrocyte membranes by DSC and EPR. **Environ. Toxicol. Pharmacology**, 16: 163-168.
- Feredoon, S., Janitha, P.K., Wanasundara, P.D., 1992. Phenolic antioxidants. **Crit Rev Food Science Nutr.**, 32(1):67-103.
- Ferraira, ICFR., Aires, E., Barreira, JCM., Estevinho, LM., 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract, **Food Chemistry**, 114:4,1438-1443.
- Floyd, R., 1990. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. **Faseb Journal**, 4, 2587-2597.
- Fridovich, I. and Darr D., 1995. Adaptation to oxidative stress in young, but not in mature or old, *Caenorhabditis elegans*. **Free Radical Biology and Medicine**, 18:2, 195-201.
- Gheldof, N., Wang, X.-H. and Engeseth, N. H., 2002. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(21), 5870-5877.
- Gil, M. I., Ferreres, F., Ortiz, A., Subra, E. and Tomas-Barberan, F. A., 1995. Plant phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 43, 2833-2838.
- Gomes, S., Dias, L.G., Moreira, L.L., Rodrigues, P., Estevinho, L., 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, 48, 544-548.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar, **E.Ü. Su Ürünleri Dergisi**, 23, 85-89.
- Gül, A., 2008. Türkiye’de Üretilen Bazı Balların Yapısal Özelliklerinin Gıda Güvenliği Bakımından araştırılması. **Doktora Tezi**, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay.
- Halliwell, B., 1990. How to characterize a biological antioxidant. **Free Radical Res Commun**, 9:1-32.
- Halliwell, B., 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?. **The Lancet**, Volume 344, Issue 8924, Pages 721-724.
- Halliwell, B., Murcia, MA., Chirico, S., Aruoma, OI., 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 35:7.

- Hıslı, Y., Börekçioğlu, N., 1986. Balın Bileşimi ve Bala Yapılan Hileler. **Gıda Teknolojisi Derneği Yayın Organı**, 2:79–82.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.** 53:1841. doi:10.1021/jf030723c.
- Hudson, B. J. F., 1990. **Food antioxidants**. Elsevier Applied Science Publishers, Newyork.
- Isla, M.I., Craig, A., Ordoñez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomón, V., Maldonado, L., 2011. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. **LWT - Food Science and Technology (2011) doi:10.1016/j.lwt.2011.04.003**
- İşcan, G., Demirci, F., Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C., Kıvanç, M., 2002. Bazı *umbelliferae* türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkileri, **14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir**, 29-31 Mayıs.
- Jenny, M., Wilkinson, Heather, M.A. Cavanagh., 2005. Antibacterial activity of 13 honeys against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, **Journal of Medicinal Food**, 8:1,100-103.
- Jorgensen, J. H. and Turnidge, J.D., 2003. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. **Manual of Clinical Microbiology**, 8th ed. ASM Press, Washington, DC. pp. 1108–1127.
- Kang, C.H., Hong, C.R., Youm, H.S., Choi, S.I. and Heo, T.R., 2008. Growth inhibitory activities of *Siegesbeckia glabrescens* against foodborne pathogens. **Journal of Biotechnology**, 136: 1-S733.
- Karadağ, A., Özçelik, B., Saner, S., 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. **Food Analitic Methods**, 2:41–60, DOI 10.1007/s12161-008-9067-7.
- Kayaalp, O., 2000. **Tıbbi Farmakoloji**, Ankara, Cilt1, 372-400.
- Kayral, N., Kayral, G., 1984. **Yeni Teknik Arıcılık**. S:425.
- Krell R., 1996. **Production Yearbook**. ISBN 92-5-103819-8. FAO, Rome.
- Krpan, M., Markovic, K., Saric, G., Skoko, B., Hruskar, M. and Vahcic, M., 2009. Antioxidant activities and total phenolics of acacia honey, **Czech Journal of Food Sciences**, 27:Sp. Iss. SI,S245-S247.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F., 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chemistry**, 100: 526–534.
- Lachman, J., Orsák M., Hejtmánková, A. and Kovářová, E., 2010. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. **LWT - Food Science and Technology** 43: 52–58.

- Lehotay, J., Hromul'áková, K., 1997. HPLC determination of trace levels of benzylchloride, chlorobenzene, naphthalene, and biphenyl in environmental samples. **J. Liq.Chrom. and Rel. Technol.**, 20: 3193-3202.
- Liviu, A.M., Oltica, G.S., Daniel, S.D., Otilia, B., Olimpia, P., Stefan, B., and Camposc M.G., 2009. In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. **Food Chemistry**, 115(3-1), 878-883.
- Lunec, J., 1990. Free radicals: their involvement in disease processes. **Ann. Clinic Biochemistry**, 27: 173-182.
- Marghitaş, LA, Stanciu, OG, Dezmirean, DS, Bobiş, O., Popescu, O., Bogdanov, S. and Campos, MG., 2009. In vitro Antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania, **Food Chemistry**, 115:3,878-883.
- Martin, RAP, Hortiguela, LV, Lozano, PL, Cortina, MDR, and Carretero, CD., 2008. In Vitro antioxidant and antimicrobial activities of Spanish honeys, **International Journal of Food Properties**, 11:4,724-737.
- Memişoğulları, R., 2005. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. **Düzce Tıp Fakültesi Dergisi**, 3: 30-39.
- Mercan, N., Guvensenz A., Celik A., Katircioglu H., 2007. Antimicrobial activity and pollen composition of honey samples collected from different provinces of Turkey, **Natural Project Research**, 21:3,187-195.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. **YYU Veteriner Fakültesi Dergisi**, 15 (1-2):91-96.
- Mohamed M., Sirajudeen, KNS, Swamy, M., Yacoob, NS and Sulaiman, SA., 2010. Studies on the antioxidant properties of Tualang honey of Malasia, **African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines**, 7:1,59–63.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songlanakarın Journal of Science and Technology**, 26, 211–219.
- Nas, S., Gökalp, Y.H., Ünsal, M., 2001. **Bitkisel Yağ Teknolojisi**, Pamukkale Üniversitesi Mimarlık Fakültesi Matbaası, 322.
- Olsson-Liljequist, B., Nord, C.E., 1994. Methods for susceptibility testing of anaerobic bacteria. **Clinical Infectious Diseases**, 18:4, 293-299.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, **Japan Journal of Nutrition**, 44:307-315.
- Öztürk A.İ., 2001. Arıcılık. (A.İ. Öztürk, Editör). **Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Serisi**, Yayın No: 33, 8:2-3.

- PAN, Pesticides Database-Chemicals. 20.06.2011.
www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33033
- Pang, G.F., Fan, C.L., Liu, Y.M., Cao, Y.Z., Zhang, J.J., Fu, B.L., Li, X.M., Li, Z.Y. and Wu Y.P., 2006. Multi-residue method for the determination of 450 pesticide residues in honey, fruit juice and wine by double-cartridge solid-phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Additives and Contaminants**, 23(8):777-810
- Paquot, C., 1979. IUPAC Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, **Pergamon Press, 6th Edition**, Oxford.
- Pichichero E., Canuti, L., Canini, A., 2009. Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 89:4,609-616.
- Prat, C., Vicente, M., Esplugas, S., 1988. Treatment of Bleaching Waters in the Paper Industry by Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation, **Water Res.**, 22, 663-668.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J. and Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, 20: 933-956.
- Salazar, LA, Medina, F., Donoso, F., Barrientos, L., Sanhuenza, A., 2009. In Vitro antimicrobial activity of honey on mutants Streptococci, **International Journal of Morphology**, 27:1,77-82.
- Saxena, S., Gautam, S. and Sharma, A., 2009. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys, **Food Chemistry**, 118:2,391-397.
- Sevgi, F., 2010. İndollerin Bazı Dioksim Türevlerinin Sentezi, Mikroalga ile Furazanlara Dönüştürülmesi ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi. **Doktora Tezi**, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Shahidi, F., 2000. Antioxidants in Food and Food Antioxidants. **Nahrung**, 44: 158-163.
- Shahidi, F., Liyana-Pathirana, C.M., Wall, D.S., 2006. Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions. **Food Chemistry**, 99(3):478. doi:10.1016/j.foodchem.2005.08.009
- Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L., 2010. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. **Food Chemistry**, 121: 238-243
- Snowdon, J.A., Cliver, D.O., 1996. Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, 31, 1-26.
- Stohs S.J., Ohia, S., Bagchi, D., 2002. Naphthalene toxicity and antioxidant nutrients. **Toxicology**, 180: 97-105, October 30.

- Tananaki,C., Thrasyvoulou, A. And Menexes, G., 2005. Absorption of volatile compounds in honey from stored spices. **Journal of Apic. Res.**, 44:2, pp. 71-77
- Tang, S.Z., Kerry, J.P., Sheehan, D., Buckley, D.J. and Morrissey, P.A., 2000. Dietary Tea Catechins and Iron-Induced Lipid Oxidation in Chicken Meat, Liver and Heart. **Meat Science**, 56:285-290.
- Tang, S.Z., Kerry, J.P., Sheehan, D., Buckley, D.J. and Morrissey, P.A., 2001. Antioxidative Effect of Dietary Tea Catechins on Lipid Oxidation of Long-Term Frozen Stored Chicken Meat. **Meat Science**, 57:331-336.
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, **Bal Tebliği**, R.Gazete: 17.12.2005/26026, Tebliğ No:2005/49.
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, **Bal Tebliği**, R.Gazete: 26 Temmuz 2003-25180, Tebliğ No: 2003/ 24.
- Willems, B.A.T., Melnick, R.L., Kohn, M.C., Portier, C.J., 2001. A physiologically based pharmacokinetic model for inhalation and intravenous administration of naphthalene in rats and mice. **Toxicology Applied Pharmacology**, 176: 81-91.
- Winston, G.W., 1991. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, Volume 100(1-2), 173-176.
- Voidarou, C., Alexopoulos, A., Plessas, S., Karapanou, A., Mantzourani, I., Stavropoulou, E., Fotou, K., Tzora, A., Skoufos, I., Bezirtzoglou, E., 2011. Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. **Anaerobe**. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.03.012
- Young, IS., Woodside, JV., 2001. Antioxidants in health and disease. **Journal of Clinic Pathology**, 54:176-186.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana destek olan, yol gösteren ve iyi bir bilimsel çalışma ortamı sağlayan danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Yener TEKELİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bal örneklerinin temin yeri ve teşhisinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Aziz Gül'e, Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu mikrobiyoloji araştırma laboratuvarı imkânlarından faydalanmamı sağlayan ve desteğini esirgemeyen hocam Yrd. Doç. Dr. Birol Özkalp ve Öğr. Gör. Dr. Fatih Sevgi'ye, yine MKUFAM personelinden Seher Mısırlıoğlu'na ve Hatay il kontrol laboratuvarından Yasin Yakar'a, bu çalışmanın gerçekleşmesinde sağladıkları maddi kaynaklarından dolayı MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Hatay/Antakya'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimini Antakya'da tamamladıktan sonra 2003 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fatih Eğitim Fakültesi Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Bölümü Kimya Öğretmenliği Programına yerleştim. 2008 yılında aynı fakülteden Kimya Öğretmeni olarak mezun oldum. 2008 yılında, İspanya'da yürütülen "Sokrates Comenius PEC" adlı projeye KTÜ adına katıldım. 2007 ve 2008 yıllarında Kültürel Değişim Programı ile ABD'de bulundum. 2009 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans programına yerleştim. Halen bu programda eğitimime devam etmekteyim.