

**BİNGÖL İLİ BALLARININ FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Adem YILDIRIM

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA

HAZİRAN-2013

**T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİNGÖL İLİ BALLARININ FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN ANTIOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ADEM YILDIRIM

(010210110)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 30 Mayıs 2013

Tezin Savunulduğu Tarih : 19 Haziran 2013

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA (B.Ü.)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ (B.Ü.)

Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR (B.Ü.)

HAZİRAN-2013

Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA danışmanlığında, Adem YILDIRIM'ın hazırladığı” BİNGÖL İLİ BALLARININ FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” konulu bu çalışma 19 / 06 / 2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : **Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA (B.Ü.)**

Üye : **Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ (B.Ü.)**

Üye : **Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR (B.Ü.)**

Bu tezin Biyoloji Anabilim Dalı’nda yapıldığını ve Enstitümüz kurallarına göre düzenlendiğini onaylıyorum.

Enstitü Müdürü

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

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Bingöl Üniversitesi, Merkezi Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve çalışmanın her aşamasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden danışman hocam Sayın Yrd. Doç.Dr. Bülent KAYA'ya derin minnet ve şükranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında yardım ve desteklerini esirgemeyen Arş. Gör. İbrahim Halil GEÇİBESLER ve Arş. Gör. Fatma CAF'a,

Laboratuvar çalışmalarındaki destekleri için Uzman A. Şükrü BENGÜ'ye

Yüksek lisans çalışmam sırasında bana gösterdikleri anlayış, maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme sonsuz teşekkür ederim

Adem YILDIRIM

BİNGÖL – 2013

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Bal	4
1.1.1. Tanımı.....	4
1.1.2. Balın Bileşimi ve Kimyasal Yapısı.....	5
1.1.2.1. Nem	7
1.1.2.2. Baldaki Şekerler	7
1.1.2.3. Balın Asit İçeriği	8
1.1.2.4. Baldaki Mineral Maddeler.....	9
1.1.2.5. Baldaki Enzimler	10
1.1.3. Balın Fiziksel Özellikleri	11
1.1.3.1. Balın Rengi.....	11
1.1.3.2. Balın Viskozitesi	12
1.1.3.3. Balın Higroskopik Özelliği	12
1.1.3.4. Tat ve Koku	13
1.1.3.5. Balın Kırılma İndisi.....	13
1.1.3.6. Özgül Ağırlığı.....	14

	<u>Sayfa No</u>
1.1.3.7. Işığı Çevirme	14
1.1.4. Balın Antimikrobiyal Aktivitesi	14
1.1.4.1. Ozmotik Etki.....	14
1.1.4.2. Asidite	15
1.1.4.3. Hidrojen Peroksit	15
1.1.4.4. Fitokimyasal Faktörler	16
1.2. Serbest Radikaller	16
1.2.1. Biyolojik Sistemlerde Serbest Oksijen Radikalleri.....	16
1.2.2.1 Membran Lipidlerine Etkileri.....	20
1.2.2.2. Proteinlere Etkileri.....	21
1.2.2.3. Nükleik asitlere Etkileri.....	21
1.2.2.4. Karbonhidratlara Etkileri.....	22
1.3.1. Antioksidanlar ve Fenolik Bileşikler	22
1.3.2. Antioksidan Savunma Mekanizması	25
1.3.3. Antioksidan Maddeler.....	26
1.3.3.1. Tokoferoller (Vitamin E).....	26
1.3.3.2. Askorbik Asit (Vitamin C)	26
1.3.3.3. Karotenoidler	27
1.3.3.4. Bütillenmişhidroksianisol (BHA).....	27
1.3.3.5. Bütillenmişhidroksitoluen (BHT).....	28
2. MATERYAL VE METOT	29
2.1. Materyal	29
2.1.1. Bal Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	29
2.1.2 Kullanılan kimyasal maddeler	29

Sayfa No

2.1.3. Yararlanılan alet ve cihazlar	29
2.1.4 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması.....	30
2.1.4.1. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi ile ilgili çözeltiler.....	30
2.1.4.2. Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler.....	30
2.1.4.3. Toplam fenolik asit içeriği (TPA) belirlenmesi ile ilgili çözeltiler	31
2.1.4.4. Toplam β -karoten ve likopen içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler	31
2.1.4.5. DPPH radikalının etkisinin giderilmesi ile ilgili çözeltiler	31
2.1.4.6. İndirgeyici güç özelliğinin ölçülmesi ile ilgili çözeltiler.....	31
2.1.4.7. Hidrojen peroksit giderme aktivitesinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler	32
2.1.4.8. Hidroksil radikali giderme özelliğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler	32
2.1.4.9. Toplam antioksidan kapasite değerlendirmesi ile ilgili çözeltiler.....	32
2.1.4.10. HPLC analizi ile ilgili çözeltiler.....	33
2.1.4.11. İndirgen şeker içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler	33
2.1.4.12. Nem içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler.....	34
2.1.5. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Materyallerin Hazırlanması....	35
2.1.5.1. Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanması.....	35
2.1.5.2. Kullanılan Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması	35
2.2. Metod	37
2.2.1. Bal Ekstraktlarının Hazırlanması	37
2.2.2. Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi	38
2.2.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi.....	38
2.2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	38
2.2.2.3. Toplam Fenolik Asit İçeriği (TPA) Belirlenmesi.....	38
2.2.2.4. Toplam β -karoten ve Likopen içeriğinin Belirlenmesi	39

Sayfa No

2.2.2.5. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi.....	39
2.2.2.6. İndirgeyici Güç Özelliğinin Ölçülmesi	40
2.2.2.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	41
2.2.2.8. Hidroksil Radikali Giderme Özelliğinin Belirlenmesi	41
2.2.2.9. Toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi	42
2.2.2.10. HPLC analiz	42
2.2.2.11. İndirgen Şeker içeriğinin Belirlenmesi.....	42
2.2.2.12. Nem içeriğinin Belirlenmesi	44
2.2.3. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	44
2.2.3.1. Agar Disk Difüzyon Metodu ile Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi	44
2.2.4. İstatistiksel Analizler	45
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	46
3.1. Ekstraksiyon Verimi ile İlgili Bulgular	46
3.2. Antioksidan Araştırma Bulguları	46
3.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı ile İlgili Bulgular	46
3.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular	49
3.2.3. Toplam Fenolik Asit İçeriği (TPA) Belirlenmesi ile İlgili Bulgular	51
3.2.4. Toplam β -karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular	52
3.2.5. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi İle İlgili Bulgular	55
3.2.6. İndirgeyici Güç Özelliğinin Ölçülmesi İle İlgili Bulgular	57
3.2.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular	58
3.2.8. Hidroksil radikali giderme özelliğinin belirlenmesi İle İlgili Bulgular	60
3.2.9. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular	62
3.2.10. HPLC Analizi ile İlgili Bulgular	63

	<u>Sayfa No</u>
3.2.11.İndirgen Şeker İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular	66
3.2.12. Nem içeriğinin Belirlenmesi ile ilgili bulgular	67
3.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini ile İlgili Bulgular	68
4.TARTIŞMA VE SONUÇ	69
5. KAYNAKLAR	82
ÖZGEÇMİŞ	93

ÖZET

Bu çalışmada, Bingöl İli ve çevresinden toplanan balların fenolik bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler için kullanılacak olan balın fenolik bileşikleri Amberlite XAD-2 kolon dolgu maddesiyle ile ekstre edildi. Ekstraktların toplam fenol içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemiyle, toplam flavonoid miktarları alüminyum klorür metoduyla ve toplam antioksidan aktiviteleri ise fosfomolibden yöntemi ile tayin edilmiştir. Antioksidan etkisi 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) serbest radikal ile reaktif oksijen türü olan hidroksil ($\cdot\text{OH}$) radikalinin temizleme etkisi ayrıca potasyum ferri siyanit ile indirgeyici güç özelliği gibi antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Deneylede standart olarak bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), α -tokoferol ve α -tokoferolun suda çözünen bir analogu olan troloks kullanılmıştır.

Ayrıca toplam fenolik asit içeriği (TPA), toplam β -karoten ve likopen içeriğinin belirlenmesi, hidrojen peroksit giderme aktivitesi tayini, iz elementlerinin belirlenmesi, indirgen şeker içeriğinin belirlenmesi, nem içeriği çalışmaları yapıldı. Bu çalışmada bal ekstraktları DPPH, OH. radikal giderme aktiviteleri, toplam antioksidan aktivite, indirgeme gücü ve hidrojen peroksit giderme aktivitesi gösterdiler.

HPLC analizde baldaki fenolik bileşikler; krisin, klorogenik asit, kaffeik asit, sinapik asit, kumarik asit, siringik asit, dihirobenzoik asit, gallik asit, kateşin ve ferrulik asit olarak tespit edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite için test mikroorganizmaları Refik Saydam Hıfzısıha merkezinden elde edildi. Mikroorganizmalar gram (+), gram (-) bakteriler ile mayalardan (*Bacillus subtilis* IM622, *Staphylococcus aureus* 6538P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* NRRLE4413, *Klebsiella pneumoniae* EMCS, *Streptococcus Spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, mayalar; *Candida spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*) oluşmaktadır. Araştırma sonucunda, bal ekstraktlarının gram negatif (-) ve gram pozitif (+) bakterilere karşı antibakteriyel ve mayalara karşı da antifungal aktivitelerinin olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal Etki, Antioksidan Etki, Bal, Fenolik Bileşikler.

ABSTRACT

In this study, we analyzed the antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds of honeys collected in Bingöl Province and its surrounding. The phenolic compounds of the honeys was extracted with Amberlite XAD-2. Total phenol content of extracts was determined by Folin-Ciocalteu method, total flavonoid contents and total antioxidant activity of aluminum chloride method was determined by the method of the Phosphomolibdenum. The antioxidant effect of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), the cleaning effect of the reactive oxygen species and hydroxyl free radicals (OH) and as well as potassium ferricyanide with the ability to the reducing power, such as antioxidant activity were investigated. In the experiments, we used the standard butylated hydroxy toluene (BHT), butylated hydroxy anisole (BHA), α -Tocopherol and Trolox that is the water-soluble analogue of α -tocopherol.

In addition, the content of total phenolic acid (TPA), the determination of total content of β -carotene and lycopene, the determination of activity of hydrogen peroxide removal, the determination of trace elements, the determination of reducing sugar content and the moisture content of the compounds were carried out. In this study, the extracts of honey displayed the activity of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), OH radical remediation activity, total antioxidant activity, the reducing power and removal of hydrogen peroxidizing.

In HPLC analysis, the phenolic compounds of the honeys have been identified as chrysin, chlorogenic acid, caffeic acid, sinapic acid, coumaric acid, syringic acid, dihydroxybenzoic acid, gallic acid, catechin and ferulic acid.

The test microorganisms for antimicrobial activities were obtained from The Center of Refik Saydam Hıfzısıhha. The test microorganisms consists of yeast, Gram (+) and Gram (-) bacteria. (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*)

As a result, it was determined that honey extracts had the antibacterial activities against Gram-negative (-) and Gram positive (+) bacteria and the antifungal activity against yeast.

Key words: Antimicrobial Effect, Antioxidant Effect, Honey, Phenolic Compounds.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. 1. BHA'nın kimyasal yapısı (URL-8, 2012).....	27
Şekil 1. 2. BHT'nin kimyasal yapısı (URL-8, 2012).....	28
Şekil 3. 1. Gallik asit standart çalışma grafiği.....	47
Şekil 3. 2. Bal ekstraktlarındaki fenolik madde miktarı.....	48
Şekil 3. 3. Toplam flavonoid miktarı tayini için hazırlanan Quercetin standart grafik....	49
Şekil 3. 4. Bal ekstraktlarındaki flavonoid madde miktarı.....	50
Şekil 3. 5. Toplam fenolik asit miktarı tayini için hazırlanan sinapik asit standart grafik..	51
Şekil 3. 6. Bal ekstraktlarındaki fenolik asit miktarı.....	52
Şekil 3. 7. Bal ekstraktlarında bulunan β -karoten miktarı.....	53
Şekil 3. 8. Bal ekstraktlarında bulunan likopen miktarı (mg/g ekstre).....	54
Şekil 3. 9. Bal ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi(% inhibisyon).....	55
Şekil 3. 10. Bal ekstraktlarından elde edilen metanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (50–200 μ g/ml) DPPH radikalini indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α -tokoferol ve BHA ile karşılaştırılması.....	56
Şekil 3. 11. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda (50-200 μ g/ml) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α -tokoferol, BHA ve BHT ile karşılaştırılması.....	58
Şekil 3. 12. Bal örneklerinin ve standart antioksidanların 10 μ g/ml konsantrasyonunda H_2O_2 giderme aktivitesi.....	59

Sayfa No

Şekil 3. 13. Bal ekstraktlarından elde edilen ekstralarının 5-10 µg/ml konsantrasyonlarında H ₂ O ₂ radikali giderme aktivitesi birer standart antioksidan olan α-tokoferol, BHA ve troloks ile karşılaştırılması.	60
Şekil 3. 14. Bal ekstralarının OH ⁻ radikalini giderme aktivitesi (% inhibisyon).....	61
Şekil 3. 15. Bal ekstralarının BHA ve Troloks'ün farklı konsantrasyonlarının % hidroksil radikali gidermeaktiviteleri.	61
Şekil 3. 16. Toplam antioksidan aktivite tayini için hazırlanan α-tokoferol standart grafik	62
Şekil 3. 17. Bal ekstralarında toplam antioksidan aktivite.	63
Şekil 3. 18. Genç balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı	64
Şekil 3. 19. Solhan balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı	64
Şekil 3. 20. Karlıova balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı .	65
Şekil 3. 21. Yedisu balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı	65
Şekil 3. 22. Adaklı balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı.....	66
Şekil 3. 23. Merkez balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı ...	66
Şekil 3. 24. Bal örneklerindeki toplam şeker, invert şeker ve sakkaroz miktarı.	67
Şekil 3. 25. Bingöl yöresinden alınan balların <i>Candida spp</i> (a), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (b), <i>Streptococcus sp</i> (c).’e gelişmesini engelleyici etkisi.	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1. 1. Balın farklı kaynaklara göre genel bileşimi (Bulut, 2007; Bakan, 2009).	6
Çizelge 1. 2. Balın farklı kaynaklara göre şeker kompozisyonu (Lazaridou vd.,2003).	8
Çizelge 1. 3. Baldaki minarel madde miktarları (Bakan, 2009).	10
Çizelge 1. 4. Tatlı üçgül balında viskozite (Krell, 1996)	12
Çizelge 1. 5. Balın nem ve su içeriği (Korkmaz, 2006).	13
Çizelge 1. 6. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri (Halliwell, 1994)...	18
Çizelge 2. 1. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları.....	36
Çizelge 3. 1. Bal örneklerinden elde edilen ekstre miktarları	46
Çizelge 3. 2. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstrelerinin 1 g'ında bulunan toplam fenolik bileşik miktarının ekivalent olarak miktarı.....	48
Çizelge 3. 3. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstrelerinin 1 g'ında bulunan toplam flavonoid bileşik miktarının ekivalent olarak miktarı.....	50
Çizelge 3. 4. Bal ekstrelerinde bulunan β -karoten miktarı (mg/g ekstre)	53
Çizelge 3. 5. Bal ekstrelerinde bulunan likopen miktarı (mg/g ekstre).....	54
Çizelge 3. 6. Bal örneklerinin ve pozitif kontrollerin, DPPH radikalinin % 50 inhibisyonu nu sağlayan derişimleri.	57
Çizelge 3. 7. Bal örneklerinin nem içeriği.....	67
Çizelge 3. 8. Bingöl Yöresinden Toplanan Bal Örneklerinin Antimikrobiyal Etkisi.....	69
Çizelge 4. 1. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstrelerinin antioksdan ve antiradikal çalışmaları ile ilgili toplu bulgular	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BHA :	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT :	Bütillenmiş hidroksitoluen
DPPH :	1,1-difenil 2-pikril hidrazil
DPPH• :	1,1-difenil 2-pikril hidrazil radikali
Troloks :	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
GA :	Gallik asit
Q :	Kuersetin
FC :	Folin-Ciocalteu Reaktifi
A_{Kontrol} :	Kontrol numunesinin absorbansı
A_{Numune} :	Numunenin absorbansı
AH :	Antioksidan madde
EDTA :	Etilendiamin tartaasetik asit
HPLC:	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
DMSO :	Dimetilsulfoksit
ml :	Mililitre
mm :	Milimetre
NA:	Nutrient Agar
UV :	Ultraviyole
μg :	Mikrogram

1. GİRİŞ

Bal, asırlar boyunca insanoğlu için önemli bir besin kaynağı olmuştur. Bal birçok bitkiden nektar toplayan farklı cins arıların oluşturduğu bir üründür. Bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından bitkilerin çiçeklerinden veya bitkiler üzerinde yaşayan bazı canlıların salgılarını topladıktan sonra, vücutlarında kendine özgü maddeler ile karıştırılarak değişikliğe uğrıtılıp, bal peteklerine depolamaları ve bunun neticesinde olgunlaşmasını sağladıkları tatlı maddedir (Martin, 1979 ; Ötleş, 1995).

Balın içeriği ve kalitesi arıların çevresinde bulunan bitki örtüsüne bu bitki örtüsünden aldıkları nektar tipine ve miktarına, bölgenin coğrafik konumuna, yükseltisine, ısı değişimlerine, arı kaynaklarının saflığı gibi birçok özelliğe bağlıdır. Ancak yapılan araştırmalar göstermiştir ki insan sağlığı açısından fonksiyonel özelliklere sahip olan balın kaynağı büyük ölçüde çiçeğe bağlıdır (Effem, 1988).

Mikroorganizmalar toksin üretebilirler. Bu toksinler besinlerde oluştuğunda ise bozulmaya ve zehirlenmeye neden olur. Bu nedenden dolayı besinlerdeki mikroorganizmaların etkinliğinin azaltılması raf ömrünün uzamasını sağlar. Ancak patojenler çok hızlı bir şekilde sentetik antibiyotiklere direnç kazanabilirler. Bu yüzden yenilenebilir ve aynı zamanda doğal olarak onlardan etkilenmeyen ürünlerden elde edilebilecek antimikrobiyal ajanlar ve bu ajanların denenmiş sinerjetik etkileri ile bu antimikrobiyal aktivite için önemli bir güç olarak ortaya çıkmıştır. Bu doğal savaşta en başta bitkiler aleminin kendini koruyucu ürünleri ve onların üzerinden bal ve ürünlerine geçen maddeler öne çıkmaktadır.

Balın en önemli anti bakteriyel özelliği içerdiği hidrojen peroksit düzeyi ile ilgilidir. Bu düzey glukoz oksidaz ve katalaz düzeylerinin ölçülmesiyle belirlenir (Weston, 2000). Bal farklılıklarındaki antimikrobiyal aktivitenin farklılığı kısmen de olsa bu seviyelerin bir yansıması olabilir. Balın antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesine peroksit olmayan faktörlerde katkıda bulunur. Bunlar lizozim, fenolik asit ve flavonoidlerdir. Bir bütün olarak ele alındığında bu faktörler bala yaraların pansumanında benzersiz bir özellik verir. Enfeksiyonun hızlı bir şekilde temizlenmesine, yaranın hızlı debridmanına (yara kenarında canlılığını kaybetmiş ölü dokunun alınması), yara izinin en aza indirilmesinde, angiogenesisin yanı sıra doku granülasyonu ve epitel büyümenin uyarılmasına yol açar

Bununla birlikte balın terapötik etkisinde araştırmacılar tarafından dikkate alınmasına rağmen çalışmalar ham balın antimikrobiyal aktivitesi (Taormina vd., 2001; Basualdo vd., 2007) ve antioksidan kapasitesi (Rauha vd., 2000; Frankel vd., 1998) ile ilgili yapılmıştır.

Yapılan diğer çalışmalarda bireysel fenolik bileşikler gram negatif ve gram pozitif bakterilerde geniş bir yelpazede büyümeyi inhibe ettiğini göstermiştir (Davidson vd., 2005). Fenolik bileşikler bitkilerden oluşan en önemli gruplardan biridir ve 8000 farklı yapıdan oluşmuştur (Bravo, 1998). Bu bileşiklerin antikanserojenik, antienflamatuar, antiaterojenik, antitrombotik, immun sistem ve analjezik faaliyetleri gösterilmiştir. Bunlar arasında antioksidan fonksiyonları da rapor edilmiştir (Vinson vd., 1998).

Reaktif oksijen türleri yada serbest radikaller organizma da membranın yapısında bulunan lipit ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre zar lipitlerinin bozulması ve buna bağlı olarak sinirsel bozukluklar da dahil birçok hastalığa neden olmaktadır. Ayrıca bağışıklık (savunma) sistemini oluşturan hücreleri de yok ederek bağışıklık sisteminin bozulmasına, nükleer membranını yararak nukleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirirler. Serbest radikallerin neden oldukarı hastalıklar üç grupta toplanabilir:

A. Genetiğe bağlı hastalıklar: Serbest radikallerin DNA'nın yapısını bozması sonucu oluşan Fanconi anemi ve bloom sendromu gibi hastalıklar.

B. Çevresel bileşenler tarafından oluşturulan serbest radikallerin oluşturduğu hastalıklar: İş hastalıkları, zehirlenmeler, bakteri ve virüslerin tarafından oluşturulan enfeksiyonlar.

C. Hem genetik hem de çevresel faktörler tarafından oluşturulan serbest radikallerin oluşturduğu hastalıklar: Bronşial astım, diabetes mellitus, kanser, kardiovasküler hastalıklar ve diğerleri (URL-1, 2013).

Antioksidanlar, reaktif oksijen ürünlerinin ve serbest radikalleri tutarak radikallerin organizmadaki negatif etkilerinin önlenmesi konusunda görev aldıkları bilinmektedir. Bu yüzden antioksidanlar vücudun etkinliğinin ve sağlığının korunmasında son derece önemli bir rol oynamaktadır. Bu antioksidan maddeler doğal kökenden olanlar olarak irdelendiğinde fenolik maddeler grubu içine giren maddelerin bu özellikleri iyi bilinmektedir.

Son yıllarda bitkilerin antioksidan etkileri gıda sanayi ve kişisel diyetlerde kullanımları ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Bunun sebebi ise bitkilerin birer antioksidan olan karotenoid, flavonoid ve fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olmaları ve herhangi bir yan etkiye sahip olmamalarıdır (Kulkarni vd., 2006). Sıklıkla kullanılan Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi sentetik antioksidanlarının son yıllarda kanser başta olmak üzere dejeneratif hastalıkların oluşmasında etkin olduğu ile ilgili iddia ve çalışmaların olması üzerine araştırmalar tamamen bitkisel orijinli antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır (Gülçin vd., 2006a). Bitkisel orijinli antioksidan maddelerin ve bileşiklerin günlük diyetle direk bitkisel beslenme ve bitkilerden kökenlenen bal gibi bileşiklerden sağlanması ile ilgili eğilim gün geçtikçe artmakta ve zamanla fonksiyonel gıda terimi önem kazanmaktadır.

Antioksidan aktivite tayin metodları, gıda, farmasötik veya tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin ve onlardan kökenlenen ürünlerin (bal vb.) veya onlardan saflaştırılan biyolojik aktif maddelerin biyolojik aktivite kapasitelerinin aydınlatılması bakımından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla toplam antioksidan aktivite tayini, toplam indirgeme potansiyeli kapasitesinin araştırılması, % radikal giderme aktivitesi (DPPH yöntemi) ve OH^{\cdot} radikal gidermesi, metal şelatlama aktivitesi, serbest olmayan bir reaktif oksijen türü olan H_2O_2 'nin giderilmesi gibi metotlar sıklıkla kullanılmaktadır (Gülçin 2005; Gülçin 2006 b).

Balın fenolik bileşikleri adı altında yapılan çalışmalarda fenolik asitler ve flavonoidler bitki kökenli potansiyel bileşikler olarak kabul edilir. Fenolik asitler iki alt sınıfa ayrılmıştır: Bunlar benzoik asit, sinamik asit ve bunların türevleridir. Balda bulunan flavonoidler de benzer yapıya sahip üç sınıfa ayrılmıştır: Bunlar flavonoller, flavonlar ve flavanonlardır.

Flavonoidler antioksidan özelliğe sahip olduklarından dolayı dejeneratif etkilerin oluşturduğu koroner kalp hastalıkları gibi birçok hastalığın önlenmesinde etkin olduğu düşünülen doğal bileşik gurubudur. Bitkilerden elde edilen flavonoidler UV ışınlarını absorbe ettikleri ve antioksidan aktivite göstermelerinden dolayı kanser tedavisinde kemoprotektif etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Hertog vd., 1995). Ayrıca flavonoidlerin lösemi (Larocca vd., 1990; Hirano vd., 1994) ve yumurtalık kanseri (Benavente-Garcia vd., 1997) gibi kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bilinmektedir.

Bu bileşikler balın rengine, tadına, lezzetine önemli katkıları olmakla birlikte aynı zamanda insan sağlığı açısından yararlı etkileri bulunmaktadır, buna ilaveten balın fenolik bileşiklerinin bileşimi sonuç olarak antioksidan kapasitesi çiçek kaynaklarının kullanımına bağlıdır. Toplanan balın üstünlüğü mevsimsel ve çevresel faktörlere bağlıdır (Al-Mamary vd., 2002; Yao vd., 2003). Bu yüzden balın aktif bileşiklerinin bileşimi farklı yerlerdeki bal örneklerinde farklıdır.

Tüm ballar yapılarından dolayı (antioksidan ve antibakteriyel vb.) insan vücudu üzerinde pozitif etkiye sahiptirler. Bu çalışmada Bingöl bölgesinden elde edilen balların genel fenolik bileşik içeriğinin belirlenmesi ve elde edilen bal ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması ile Bingöl bölgesinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve balın fonksiyonel gıdalarda yapay antioksidan ve antimikrobiyal maddeler yerine kullanılabilir olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Bal

1.1.1. Tanımı

Bal, doğal olarak üretilen kompleks gıda maddeleri arasında yer almaktadır. Hiç bir işleme tabii tutulmadan, tatlandırıcı madde olarak kullanılabilen tek gıda maddesidir. Balın yaklaşık % 80'ni çeşitli şekerlerden meydana gelmektedir. Bu şekerlerin % 80'nini ise glukoz ve fruktoz oluşturur. Bal glukoz ve fruktoz gibi şekerden oluşan doymuş bir çözeltisi olsa da, diğer bazı şekerleri, organik asitleri, enzimleri, amino asitleri, vitaminleri, flavonoidleri, fenolik maddeleri ve mineral maddeleri de içeren kompleks bir karışımdan oluşmaktadır (Gheldof vd., 2002). Balın enerji değeri yaklaşık olarak 100 gramda 303 kilo kaloridir. Balın enerji değerinin yüksek olması ve karbonhidratların kolay ve çabuk bir şekilde emiliminden dolayı bal tüm yaş grubundaki insanlar için uygun bir gıda maddesidir (Blasa vd., 2005).

Bal doğal ürün olarak değişik tedavi yöntemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bal ile ilgili bilimsel çalışmaların eksikliği nedeniyle günümüzde ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmamaktadır (Aytuğ vd., 1971).

Balın antimikrobiyal etkisinin osmolaritesinden çok, balda bulunan diğer komponentlere bağlı olduğuna yönelik mikrobiyolojik çalışmalar bulunmaktadır. Baldaki en etkili antimikrobiyal ajan olarak bilinen bileşen, ısı ve ışığa duyarlı ve glukozoksidaz

enzimi tarafından üretilen hidrojen peroksittir. Balın antimikrobiyal etkisi ile ilgili yapılan araştırmalarda, bal en az 10 kat veya daha fazlasına kadar sulandırıldığında çeşitli enfeksiyonlara neden olan bazı bakteri türlerinin gelişmesini tamamen yok ettiği belirtilmektedir (Molan, 2001; Dunford, 2000). Balın bir diğer özelliği de sahip olduğu antioksidan özelliğidir. Bal; bitkisel kaynağa bağlı olarak ihtiva ettiği tokoferol, askorbikasit, flavonoidler ve diğer fenolik maddeler sayesinde antioksidan bir etkiye de sahiptir.

Bu etki sayesinde organizmayı, oksidatif olaylar sonucunda ortaya çıkan bir takım rahatsızlıklara; özelliklekansereve kardiyovasküler kollapsla (çevresel damarların genişleyip burada kanın toplanmasıyla oluşan ağır bir çöküntü)'a karşı koruduğu bildirilmektedir (URL-2, 2013; URL-3, 2013).

Bal, arıların yararlandığı kaynağa göre çiçek balı ve salgı balı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (TS-3036, 2002).

1.1.2. Balın Bileşimi ve Kimyasal Yapısı

Balın yaklaşık olarak % 80'i değişik yapıdaki şekerlerden, %17'si sudan meydana gelmektedir. %3'lük kısmı ise başta enzimler olmak üzere, bala bal özelliği kazandıran ve balı değerli kılan maddelerden oluşmaktadır (Korkmaz, 2006).

Çizelge 1. 1. Balın farklı kaynaklara göre genel bileşimi (Bulut, 2007; Bakan, 2009).

Bileşen (%)	White(2003)	Ötleş (1995)	Şahinler vd. (2001)	Değişim sınırları (Min-mak)
Nem	17,2	17,2	17,2	12,2 - 22,9
Diastaz Sayısı ²	20,8	20,8	-	2,1 - 61,2
Glukoz	30,3	30,3	-	22,9 - 40,8
Sakkaroz	1,3	1,3	-	0,3 - 7,6
Yüksek şekerler	1,4	1,4	-	0,1 - 3,9
Serbest asit Glukonik	0,43	0,43	-	-
Toplam asit Glukonik	0,57	0,50	0,57	0,17 - 1,17
Kül	0,169	0,169	0,17	0,02 - 1,03
Azot	0,041	0,041		-
Maltoz ¹	7,3	7,3	-	3,3 - 18,2
Fruktoz	38,4	38,4	-	30,9 - 44,3
pH	3,91	3,91	-	0,13 - 8,49

¹: İndirgen disakkaritler maltoz olarak hesaplanmıştır.

²:Diastaz sayısı 1 g bal içindeki enzimin 40°C' de hidrolize edebildiği %1 nişasta çözeltisinin ml olarak miktarıdır (AOAC, 1998).

100 gram balda 303 kilo kalori bulunmaktadır. Ayrıca % 0.3 oranında protein ihtiva etmekte olup bunun yanı sıra potasyum, kalsiyum, magnezyum,alüminyum, fosfor silisyum,demir,bakır, kobalt, nikel ve krom gibi mineraller maddeleri de içermektedir. Çiçek balları, salgı ballarına göre daha az mineral madde ihtiva etmektedir. Çiçek balları bu özelliklerinden dolayı kristalize olabilmektedirler. Salgı balları ise daha fazla mineral madde içerdikleri için kristalize olmama özelliklerine sahiptirler. Salgı balları bu özellikleri nedeniyle tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadırlar (Morse ve Hooper, 1985).

1.1.2.1. Nem

Balın nem içeriği bitki kaynağı, yağışlar ve sıcaklık gibi iklim koşulları ile ilgili bir parametre olup ayrıca üretim yılı, üretim mevsimi, depolanan odanın nemi, sırlama durumu, süzme ve pazarlanma sırasında yapılan işler ile balın olgunluk derecesine bağlıdır (White, 1978; Tolon, 1999). Balın nem içeriği balın depolanması esnasında fermantasyonunun stabilitesi için önemli bir faktördür. Osmofilik mayalar nem içeriği yüksek olan ballarda uzun süre canlı kalabilmekte ve balın bozulmasına neden olmaktadır. Olgunlaşmış ballar düşük nem içeriğine sahip olduğundan mikroorganizmalar gelişme gösteremezler (Amor, 1978; Molan, 1992; Singh ve Bath 1997).

Dünya standartlarına göre, olgunlaşmış bir balda nem oranının % 20'yi geçmemesi gerekmektedir. Çiçek balları ortalama % 17,2 salgı balları ise ortalama %16,3 nem içermektedir (Hışıl, 1984).

1.1.2.2. Baldaki Şekerler

Balın katı kısmının büyük çoğunluğu karbonhidratlardan oluşmaktadır. Bu karbonhidratların başında monosakkaritler gelir. Bu monosakkaritlerin dışında disakkaritler ve yüksek şekerler de bulunmaktadır. Bu güne kadar yapılan pek çok araştırmada balda tespit edilen şekerler aşağıda verilmiştir (White, 1979, 2003; Krell, 2001).

a- Monosakkaritler : Glukoz, fruktoz

b- Disakkaritler: Sakkaroz, maltoz, izomaltoz, tiranoz

c-Yüksek Şekerler: Maltotrioz, izo maltosil glukoz, izomaltosilpentaoz, 1-ketoz, melizitoz, erloz, panoz, izomaltosil trioz, theandroz, sentoz, izopanoz, izomaltosil tetroz, ve rafinoz'dur.

Bu şekerlerin bir kısmı nektarda bulunurken büyük bir kısmı ise nektarda bulunmaz. Bu şekerler balın olgunlaşması ve depolanması gibi aşamalarda enzimler ve asitlerin etkisiyle meydana gelmektedir (White, 1979, 2003).

Genel olarak bütün bal çeşitlerinde fruktoz miktarı glukoz oranla daha fazla bulunur. Yalnızca bir kaç bal çeşidinde fruktoz miktarı glukoz miktarından az olabilir.

Balın ihtiva ettiği enzimler ve asitlerin etkisiyle balın şeker yapısında zamanla değişimler meydana gelebilir (Crane, 1980; White, 1979).

Balın tatlılığı yapısındaki şekerlerden kaynaklanmaktadır. Bütün ballar yapılarındaki şekerlerden dolayı tatlıdır, fakat bazı ballar diğerlerine göre daha fazla tatlı olabilmektedirler. Bunun nedeni balların içerdikleri şekerlerin ve bu şeker miktarlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Toplam şeker miktarı ve şeker kompozisyonu balın tatlı olmasını etkilemektedir. Fruktoz sakkarozdan, sakkaroz glukozdan ve glukozda maltozdan daha tatlıdır. Balın tatlılığı genellikle fruktoz içeriği ve miktarı ile ilişkilidir. Çok tatlı olan bazı balların fazla miktarda fruktoz içerdiği bilinmektedir. Ancak fruktoz miktarı tek başına balın tatlı olmasında etkili değildir. Pek çok şeker bir araya geldiğinde tek başlarına olduğundan daha fazla tatlılık hissedilebilir. Sakarozun tatlılığı glukozdan daha erken hissedilir. Dolayısıyla bir karışımda sakarozun tatlılığı hissedildikten sonra glukoz maksimum etkisini yapmış olur (Crane, 1980).

Çizelge 1. 2. Balın farklı kaynaklara göre şeker kompozisyonu (Lazaridou vd., 2003).

Karbonhidratlar (%)	White vd. (1962)	Lazaridou vd. (2003)	Yanniotis vd. (2006)
Fruktoz	38.2	22.1- 41.3	29.9- 44.1
Glukoz	31.3	13.5- 36.3	20.1- 34.9
Sakkaroz	1.3	0.2-2,7	0.3- 0.8
Maltoz	7.3	1.9-6.7	2.7- 4.0
Melezitoz	-	9.1- 14.4	0.3
Raffinoz	-	0.2- 1.0	1.7

1.1.2.3. Balın Asit İçeriği

Asitler balın tatlılık özelliğini etkileyen maddelerdir. Balda bulunan en önemli asit, glukozun glukozoksidaz enzimi tarafından parçalanması sonucu meydana gelen glukonik asittir (Korkmaz, 2006). Diğer asitler sitrik asit, asetik asit, butirik asit, malik asit ve süksinik asittir. Glukonik asit, balın olgunlaşması sırasında arılar tarafından bala eklenen glukozoksidaz aktivitesi sonucu oluşur. Glukonik asidin baldaki miktarı değişen çevresel koşullara, bal arılarının oluşturduğu koloninin gücüne ve nektarın içerdiği şeker miktarına ve konsantrasyonuna göre değişmektedir. Glukonik asit nektarın tamamen bala dönüşmesi için geçen zamanın bir göstergesi olabilir (White, 1979, 2003).

Bu asitlerden farklı olarak bazı ballarda bunlara ilaveten laktik asit, maleik asit, malik asit, okzalik asit, piroglutamik asit, fumarik asit, tartarik asit ve α -ketoglutarik asit bulunabilir (Krell, 2001).

Balda bulunan organik asitler, balın mikroorganizmalar tarafından bozulmasını engeller. Ayrıca arılar bala formik asit ilave ederek balın olgunlaşmasına yardım ederler. Balın düşük pH değerinden sorumlu olan asitin formik asit olduğu ileri sürülmekte olup bu formik asidin bal gözleri sırlanmadan önce arıların iğnesinden bu gözlerle enjekte ettikleri bildirilmektedir. Ballar genelde asidik özellik gösterirler. pH 3,5-5,5 arasındadır. Balda yüksek asit değerinin tespit edilmesi ise balda istenmeyen bir özellik olan fermantasyon olayının meydana geldiğinin bir kanıtıdır. Baldaki fermantasyon olayı, alkolün mikroorganizmaların etkisiyle asetik aside dönüştüğünü göstermektedir. Glukonik asit hariç balda bulunan diğer asitlerin kaynağı kesin olarak bilinmemektedir. Asitliği % 0,4'ten fazla olan ballar şüpheli ve sakıncalı olarak belirtilmiştir (Korkmaz, 2006).

1.1.2.4. Baldaki Mineral Maddeler

Baldaki mineral madde miktarı balın kül içeriği ağırlığının yaklaşık % 0,17'si kadardır. Balda mineral madde miktarı %0,02 - %1,0 arasında değişiklik göstermektedir (White, 1979). Yapılan araştırmalarda salgı balları çiçek ballarına göre mineral maddelerce daha zengindir. Ayrıca koyu renkli balların mineral madde içeriği açık renkli ballara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Balda alüminyum, potasyum, klor, sodyum, mangan, kalsiyum, magnezyum, demir, bakır, fosfor, kükürt, iyot, boron, titanyum, molibden, kobalt, çinko, kurşun, kalay, antimon, krom, nikel ve silika maddeleri değişen miktarlarda tayin edilmiştir (Crane, 1990; Krell, 2001).

Çizelge 1. 3. Baldaki minarel madde miktarları (Bakan, 2009).

Mineraller	Açık renkli bal (ppm)	Koyu renkli bal (ppm)
Potasyum	205	1676
Klor	52	113
Kükürt	58	100
Kalsiyum	49	51
Sodyum	18	76
Fosfor	35	47
Magnezyum	19	35
Silisyum	22	36
Demir	2.4	9.4
Mangan	0.30	4.09
Bakır	0,29	0,56

1.1.2.5. Baldaki Enzimler

Enzimler canlı hücrelerde birçok reaksiyonun gerçekleşmesini sağlayan protein yapılı moleküllerdir. Balda bulunan enzimlerin bir kısmı bitkilerin oluşturmuş oldukları bitki enzimleridir. Ancak balda bulunan enzimlerin büyük bir kısmı arılar tarafından bala ilave edilmektedir (White, 2003).

İnvertaz (sakkaraz) enzimi baldaki en önemli enzimler arasında yer alır. İnvertaz enzimi nektardaki sakkarozu, glukoz ve fruktoza çevirerek nektarın bala dönüşmesindeki kimyasal değişikliklerin çoğundan sorumlu olan enzimdir (Korkmaz, 2006).

Baldaki sakkaraz enzimi ayrıştırılıp sakkaraza etki ettirildiğinde pek çok oligosakkaritler oluşturduğu görülmüştür. Bu enzimin aktivitesi devam ettirildiği zaman bütün bu şekerlerin glukoz ve fruktoza kadar ayrıştırıldığı görülmüştür. Isı ile zarar görmediği zaman baldaki invertaz enzimi aktivitesini ekstraksiyondan sonra da sürdürmeye ve sakkarozu parçalamaya devam eder (White, 1979, 2003).

Önemli bal enzimlerinden olan ve arıların yutak üstü salgı bezlerinden salgılanan glukooksidaz enzimi glukoz üzerine etki ederek balın içerisinde bala antibakteriyel özellik kazandıran hidrojen peroksit ve glukonik asit oluşturmaktadır.

Reaksiyon sonucunda meydana gelen hidrojen peroksit, olgunlaşan nektarın mikroorganizmalar tarafından bozulmasına engel olurken yine bu enzimin aktivitesi sonucu meydana gelen asitli ortam nektarın fermente olmasını engeller (White, 2003). Glukoz oksidaz enzimi akışkanlığı fazla olan veya olgunlaşmamış ballarda aktiftir ve şeker

konsantrasyonu %23-30 iken en aktif durumdadır (Crane, 1990). Tam olgunlaşmış ballarda glukoz oksidaz enziminin aktivitesi yok denecek kadar azdır (White, 2003).

Arı tarafından nektara ilave edilen bir diğer enzim diastaz enzimidir. Bu enzim nektarın olgunlaşması esnasında arı tarafından ilave edilir. Nektarlar nişasta içermediğinden dolayı bu enzimin fonksiyonu tam anlamıyla bilinmemektedir (White, 2003). Arıların bu diastaz enzimini polen taneciklerinde bulunan nişastayı sindirmek için kullandıkları düşünülmektedir (White,1979). Bu enzimde diğer enzimler gibi ısıdan etkilenmekte yüksek sıcaklıklarda inaktive olmaktadır. Isı ile bu enzimlerin etkinliği azalırken, hidroksimetilfurfurol (HMF) içeriği artmaktadır (White, 1975).

Bazı araştırmalarda balda katalaz enziminin bulunduğu rapor edilmiştir. Katalaz enzimi glukoz oksidaz aktivitesini düzenleyerek hidrojen peroksit dengesini sağlar. Ayrıca organik fosfatlardan fosfatları uzaklaştıran bir asit fosfataz enzimine de rastlanıldığı bildirilmiştir (Crane, 1990; White, 2003).

İnvertaz, glukoz oksidaz ve amilaz (diastaz) enzimlerinin kaynağı işçi arıların salgılarıdır. Bir miktar amilaz enzimin bitki kaynaklı olduğu bilinmektedir. Katalaz ve asit fosfataz enzimleri ise tamamen bitki kaynaklıdır (Crane, 1990).

1.1.3. Balın Fiziksel Özellikleri

1.1.3.1. Balın Rengi

Balın renginden sorumlu olan maddeler tam olarak bilinmemekle birlikte balın rengi, elde edildiği bitkisel kaynağa, depolanma süresine ve koşullarına göre su beyazından, koyu kahverengiye kadar değişebilmektedir (Krell, 2001).

Bala renk veren başlıca maddeler klorofil, karoten, ksantofildir (Yurtsever ve Sorkun, 2002). Yapılan bir başka çalışmada karabuğday balında karoten tespit edilmiştir (White, 1979).

Bir diğer çalışmada ise açık renkli balların, koyu renkli ballara göre daha fazla suda çözünür renk maddesi içerdikleri tespit edilmiştir. Koyu renkli balların ise açık renkli ballara göre daha fazla yağda çözünür renk maddeleri içerdikleri tespit edilmiştir. Doğada yağda çözünen renk maddeleri karotenoidlerdir. Balda bulunan polifenoller hava ile

reaksiyona girerek oksidasyona uğrayıp koyu renkli materyallere dönüştüğü tespit edilmiştir (White, 2003).

Balın rengi, ihtiva ettiği flavonoidlerle bağlı olarak değişmektedir. Koyu renkli ballarda flavonoid miktarı açık renkli ballara göre daha fazladır. Flavonoidler bala renk vermenin yanında serbest radikallerin etkisini gidererek bala antioksidant özellik de kazandırmaktadırlar (Yurtsever ve Sorkun, 2002).

Balın ısı işlemlere tabii tutulması, uzun süre depolanması ve açıkta bekletilmesi ve enzimatik aktiviteye uğraması gibi olaylar balın rengi üzerine etkili olduğu bir gerçektir (White, 2003).

1.1.3.2. Balın Viskozitesi

Viskozite, akışkanlığa karşı direnci ifade etmektedir. Viskozite balın ihtiva ettiği su oranı ve sıcaklık ile ilgilidir. Koyu renkli yavaş akan bir balın viskozitesi yüksek, açık renkli ve gevşek yapılı ballarda ise viskozite düşüktür (Krell, 1996).

Çizelge 1. 4. Tatlı üçgül balında viskozite (Krell, 1996).

Sıcaklık(°C)	Viskozitesi
13,7	600,0
20,6	189,6
48,1	10,7
71,1	2,6

1.1.3.3. Balın Higroskopik Özelliği

Bal nem tutucu bir yapıda olup havadan nem alma özelliğine sahiptir. Ayrıca bal nem kaybederek de kristalleşebilir (White, 1980). Balın havadan nem alması veya nem kaybetmesi özel yapısına, içerdiği şeker miktarına ve ihtiva ettiği su miktarına bağlıdır. Ballar açıkta veya nem geçiren kaplarda tutulursa havadan nem çekerek su miktarını arttırmaya eğilim gösterirler. Bu sebeple depolama yerinin nemi %58 civarında olmalıdır. Havada % 58 nem olduğu zaman balda su miktarı % 17,4 civarında olmaktadır. Balın nem

almaması için uygun kaplarda kapalı olarak saklanmalıdır. Uygun olmayan ortamlarda saklanan bal nem alarak kısa zamanda fermente olarak ekşiyecek ve kullanılamaz hale gelecektir (Kumova, 1986).

Çizelge 1. 5. Balın nem ve su içeriği (Korkmaz, 2006).

Havadaki Nem (%)	Bal (% su oranı)
52	16,1
58	17,4
66	21,5
76	28,9
80	33,1
81	33,9

1.1.3.4. Tat ve Koku

Balın tadı yapısındaki şekerlerden kaynaklanmaktadır. Bu şekerlerin miktarı, türü ve bunların birbirlerine oran balın tatlılığını etkilemektedir. Kokusu da nektarın alındığı bitkisel orijine bağlı olarak değişmektedir. Balın ısıtılması, işlenmesi, depolanması ve ambalajlanması gibi aşamalarda balın kendine ait tat ve kokusunu bozacak yanlış işlemlerden kaçınmak gerekmektedir. Bal, kokan maddelerin kokusunu çekebilme özelliğine sahip olduğundan bu türden maddelerin yanında saklanmamalıdır. Genellikle koyu renkli ballar açık renkli ballardan daha keskin kokulu ve daha asitlidirler (Korkmaz, 2006).

1.1.3.5. Balın Kırılma İndisi

20°C’de refraktometre ile ölçülen bir özelliktir. Balın bu özelliğinden yararlanılarak içerisindeki su miktarı belirlenmektedir. Bu amaçla yeteri kadar alınan bal numunesi refraktometrenin prizma yüzeyleri arasına konur ve balın optik kırılma indisi okunur. %18 nem içeriğinde bu değer 1,4171’dir (Krell, 1996).

1.1.3.6. Özgül Ağırlığı

Balın özgül ağırlığı hem içerdiği su miktarına hem de sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. 20°C' de balın özgül ağırlığı ortalama olarak 1,4225 g/ml bulunmuştur (Anonim, 1988).

1.1.3.7. Işığın Çevirme

Balın polarize ışık döndürmesi bal çeşitlerine göre değişmektedir. İçerisinde normal şekerler bulunduran ballar polarize ışığı sola, çam balları (salgı balları) ise sağa çevirmektedir. Balın bu özelliğinden faydalanılarak şeker içeriği aydınlatılır ve salgı balı olup olmadığı tespit edilir (Anonim, 1988).

1.1.4. Balın Antimikrobiyal Aktivitesi

Balın antimikobial aktivitesi, glukozun glukoz oksidaz enzimi tarafından parçalanması sonucu oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂) düzeyine, balın ozmotik etkisine, asiditesine ve fitokimyasal faktörlere bağlanmaktadır (Güneş, 2005).

1.1.4.1. Ozmotik Etki

Bal glukoz ve fruktoz karışımından oluşan yüksek şeker konsantrasyonu ile doyurulmuş bir solusyondur. Balın ağırlığının %15-21 kadarını su oluşturmaktadır. Su molekülleri ile şeker molekülleri sıkı bir etkileşim içerisinde oldukları için ortamda su miktarı azalmaktadır. Azalan su miktarı mikroorganizmalar üremesini engellemektedir (Güneş, 2005; McCarthy, 1995). Olgunlaşmış ballarda su miktarı az olduğu için mikroorganizmalar bu ballarda üreyememektedir. Erken hasat edilmiş, olgunlaşmamış ve fazla miktarda su içeren ballarda ise bazı mikroorganizmalar yaşayabilmektedir. Baldaki su miktarı %17,1'in altında olursa, fermantasyon olayı gerçekleşemez (Molan 1996, Molan ve Betts, 2000).

1.1.4.2. Asidite

Ballar pH'ı 3,5-5,5 arasında olduğu için asidik bir yapıya sahiptir. Mikroorganizmaların gelişebilmesi için en iyi pH derecesi, 7,2 ve 7,4 aralığıdır. Bazı bakteri türlerinin üreyebildiği minimum pH değerlerine bakıldığında; *E.coli* için 4,3; *Salmonella* için 4,0; *Pseudomonas aeruginosa* için 4,4 ve *Streptococcus pyojenleri* için de 4,5'tir (URL-4, 2012).

Bu bakterilerin üreyebildiği pH değerlerinde bakıldığında asiditesi az olan ballarda bu bakteriler üreyebilmektedir. Bundan dolayı seyreltilmemiş balın asiditesi, anti bakteriyel için önemli bir faktördür. Seyreltilmemiş baldaki asidite önemli bir antibakteriyel etkidir. Bal vücut sıvıları tarafından sulandırıldığı zaman pH değerlerinde yükselme olacağından balın asiditesi birçok bakteri türüne karşı etkili olmayacaktır (McCarthy, 1995; Molan, 1996).

1.1.4.3. Hidrojen Peroksit

Baldaki en önemli antibakteriyel ajan hidrojen peroksittir. Hidrojen peroksit glukoz oksidaz enziminin aktivitesi sonucu oluşmaktadır. Glukoz oksidaz enzimi, nektardan balın oluşumunu sağlamak amacıyla arının bezlerinden nektar içine salgılanır. Bu reaksiyon sonucu ortaya çıkan hidrojen peroksit ve asidite ($\text{Glukoz} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{Glukonik asit} + \text{H}_2\text{O}_2$) balın korunmasını sağlar. Meydana gelen hidrojen peroksit balın olgunlaşması süresince antibakteriyel bir ajan olarak etki gösterir (URL-5, 2011). Bal sulandırıldığında hidrojen peroksit seviyesinde bir artış görülmektedir. Bunun nedeni, glukoz oksidaz enziminin çalışması sırasında ortaya çıkan glukonik asit,enzimin çalışmasını engellemektedir. Balın sulandırılmasının akabinde aktivite artar, böylelikle antibakteriyel etkiye sahip bir antiseptik solüsyon ortaya çıkmaktadır (McCarthy, 1995; Molan, 1996).

1.1.4.4. Fitokimyasal Faktörler

Baldaki antimikrobiyal aktivitenin tamamı hidrojen peroksite bağlı değildir. Hidrojen peroksit dışında bala antimikrobiyal özellik kazandıran etmenlerin olduğu tahmin edilmiş ve bu etmenlerin varlığı ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde antimikrobiyal etmenlerin var olduğu kanıtlanmıştır. Bunun yanında, ısıtılan balların glukoz oksidazının inaktive olduğu ve bazı bakteri türlerine karşı aktivite kaybına sebep olduğu bulunmuştur (URL-5, 2011). Glukoz oksidaz enzimi miktarı farklı ballarda değişebilmesine karşın, antimikrobiyal aktivitenin iyi düzeyde olduğuna yönelik bilgiler mevcuttur. Bu da balda hidrojen peroksit dışında bazı antimikrobiyal etmenlerin var olduğunu göstermektedir. Hidrojen peroksit dışında diğer antimikrobiyal maddelerin varlığı ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Bunun için hidrojen peroksit ihtiva eden ballar katalaz enzimi ile muamele edilerek ortamdan hidrojen peroksit uzaklaştırılmıştır. Ancak sonuçlar incelendiğinde hidrojen peroksiti uzaklaştırılan balların hâlâ antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu saptanmış olup, balda hidrojen peroksit dışında antimikrobiyal aktiviteye sahip birçok kimyasal maddenin bulunduğu belirlenmiştir (Molan, 1996).

1.2. Serbest Radikaller

1.2.1. Biyolojik Sistemlerde Serbest Oksijen Radikalleri

Kimyasal bileşikler iki veya daha fazla sayıda elementin kimyasal bağlar ile birbirlerine bağlanması sonucu oluşmaktadır. Meydana gelen bu bileşikler hem kararlı halde hemde sahip olduğu elektronlar çiftlenmiş halde bulunur. Şayet elektron çiftlenmemiş ise bileşik reaktif ve kararsız duruma geçer. Dış orbitallerinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron içeren element veya bileşiklere “**serbest radikaller**” denir (Gökpınar vd., 2006).

Serbest radikaller dış orbitallerinde bulunan ortaklanmamış elektronları kararlı hale getirmek için etrafında bulunan moleküllere saldırarak onların elektronlarını çalarlar bunun sonucunda kendileri kararlı duruma geçerken elektronlarını çaldıkları molekülleri serbest radikal haline dönüştürürler. Bu reaksiyonlar bir antioksidan molekül tarafından durduruluncaya kadar zincirleme şeklinde devam eder (Gökpınar vd., 2006).

Oksijen, canlının yaşamını devam ettirmesi için gerekli olan en önemli moleküldür. Aynı zamanda organizmada reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olduğu için organizmaya zarar verebilecek bir dizi reaksiyon zincirini başlatarak organizma için tehdit unsuru haline gelebilmektedir (Gökpınar vd., 2006).

Serbest radikaller organizmada hem metabolik faaliyetler sonucu hem de radyasyon, sigara kullanımı, pestisitler, petrokimyasal ürünler, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasalların etkisi ile oluşur. Metabolik faaliyetler sonucunda; süperoksit anyonları (O_2^- , $O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH) gibi organizmada mutasyonlara neden olabilen radikaller meydana gelmektedir. Ayrıca solunum reaksiyonları sırasında NADPH oksidaz gibi bazı solunum enzimleri mitokondrinin iç membranlarında Reaktif Oksijen Türlerini (ROS) üretirler (Wei ve Pang, 2005). İki tarafı keskin bir bıçak gibi kabul edilen Reaktif Oksijen Türleri, az üretildiği durumlarda çeşitli stres tepkilerinde arabulucu gibi rol oynarken, yüksek miktarlarda üretildiği zaman (oksidatif stres gibi) organizmada onarılması güç hasarlara neden olmaktadır (Martin ve Barret, 2002).

Organizmada meydana gelen bu metabolizma yan ürünleri organik moleküllere saldırarak (DNA, proteinler, lipitler, proteinler) hücrede geri dönüşü olmayan reaksiyonlara neden olabilmektedirler (Kazanç, 1997).

Çizelge 1. 6. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri (Halliwell, 1994).

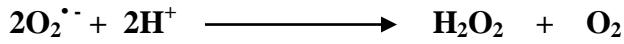
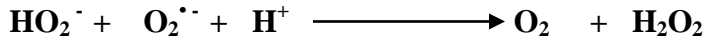
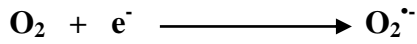
Serbest Radikalin ve Radikal Üreten Türün		
Adı	Simgesi	Kimliği
Hidrojen atomu	H [•]	En basit radikal
Süperoksit radikali	O ₂ ^{•-}	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil radikali	OH [•]	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti insan vücudundaki tüm moleküllere saldırır.
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	¹ O ₂	Yarılma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Perhidroksil radikali	HO ₂	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırmaktadır.
Peroksil radikali	ROO ^{•-}	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olma yeteneği
Triklorometil radikali	CCl ₃	CCl ₄ metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali	RS [•]	Kükürt üzerinde çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı.
Alkoksil radikali	RO [•]	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti.
Azot monoksit	NO [•]	L – argininden <i>in vivo</i> üretilir
Azot dioksit	NO ₂	NO [•] 'nun O ₂ ile reaksiyonunda oluşur.

Organizmada oksijenli (aerobik) solunum esnasında moleküller oksijenin tam olarak indirgenmediği reaksiyonlarda son ürün olarak su oluşmaktadır. Fakat mitokondrielerde indirgenmiş karbon birimlerinden alınan elektronlar moleküller oksijene tam olarak transfer edilmediği zamanlarda serbest oksijen radikalleri meydana gelmektedir (Winston, 1991; Mates vd., 1999).

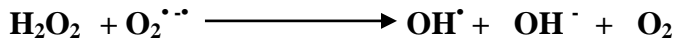
Oksijenli solunum yapan hücrelere moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit (O₂^{•-}), süperoksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenmesiyle yani dismutasyonu ile hidrojen peroksit (H₂O₂), moleküler oksijenin üç elektron almasıyla ise hidroksil (OH[•]) radikali oluşmaktadır (Winston, 1991; Mates vd., 1999).

Süperoksit radikali O₂^{•-} veya O₂⁻ anyonu şeklinde gösterilir. Süperoksit radikali oksijenli (aerobik) solunum yapan hücrelerde sık sık oluşmaktadır. Fakat daha çok

mitokondrideki enerji üretimi sırasında elektron transfer sistemlerinde elektron sızıntısı sonucu meydana gelir. Bunun yanı sıra enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla da meydana gelebilir (Halliwell vd., 1992). Süperoksit radikali, diğer radikallere kıyaslandığında daha az zararlı etkiye sahiptir. Bu radikal asıl zararlı etkiyi protonlanarak vermektedir. Protonlanma sonucunda süperoksit radikalinden daha zararlı perhidroksil radikali (HO_2^\cdot) meydana gelir. Süperoksit radikali ile perhidroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken (yükseltgenme) diğeri indirgenir. Bu radikallerin birbirleriyle reaksiyonu sonucunda da moleküller oksijen ile hidrojen peroksit meydana gelir. Organizmada iki süperoksit molekülünün iki proton almasıyla dahidrojen peroksit meydana gelmektedir. Bu reaksiyon sonucu reaktif olmayan ürünler meydana gelmesinden dolayı bu reaksiyonlar dismutasyon reaksiyonları olarak bilinir (Fridovich, 1975).

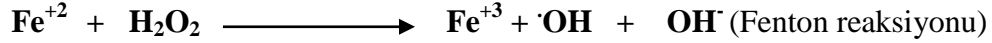


Hidrojen peroksit dış orbitallerinde eşleşmemiş elektronları olmadığı için doğrudan bir radikal olarak kabul edilmez. Süperoksit ile hidrojen peroksitin aynı ortamlarda üretildikleri zaman birbirleriyle reaksiyona girerek hidroksil (OH^\cdot) radikalini oluşturabilmektedirler (Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995).

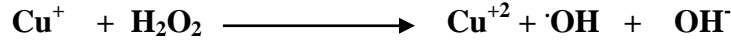


Hidroksil radikali (OH^\cdot), biyolojik sistemlerdeki serbest oksijen radikalleri içersinde en reaktif ve hasar verici olanıdır. Yarılanma ömrü çok kısadır (Akkuş, 1995).

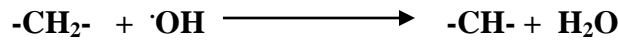
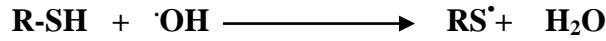
Hidroksil radikali (OH^\cdot), süperoksit ve peroksit radikalleri reaksiyonu sonucu da üretilebilir. Dolayısıyla süperoksit ve peroksitin aynı anda üretildiği hücrelerde hidroksil radikalinin oluşumu da mümkündür. H_2O_2 'deki O-O oksijen molekülleri arasındaki bağın parçalanması(ışıkla) sonucu iki tane hidroksil radikali oluşur. Ayrıca H_2O_2 ve Fe^{+2} ile Fenton reaksiyonu'na girerek bir hidroksil iyonu ve hücrede organik moleküllere saldıran OH^\cdot hidroksil radikalini verir (Akyüz, 2007).



Bakır (I) tuzları, Demir (II) tuzlarına göre hidrojen peroksitle daha hızlı reaksiyon verir (Akyüz, 2007).



Proteinlerde sülfhidril gurupları ve yağ asitleri bu radikallerin saldırısına uğradıklarında çeşitli reaktiviteye sahip ikincil radikaller verirler (Akyüz, 2007).



1.2.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Kuvvetli reaktif özelliğe sahip olan serbestradikaller hücreyi oluşturan tüm bileşenlerle kolayca etkileşerek hücredeki yapı ve organellerde hasarlar meydana getiriler. Serbest radikaller bu yapıları çevreleyen temel bileşikler olan proteinler, lipitler ve karbonhidratlar etki ederek bunların yapısını bozarlar. Bunlar özellikle hücre zarının yapısını oluşturan lipitlere etki ederek lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Böylelikle membran yıkımına yol açarlar (Halliwell, 1984).

1.2.2.1 Membran Lipidlerine Etkileri

Serbest radikaller, organizmada fazla miktarda üretildikleri zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Organizmanın yapısını oluşturan organik ve inorganik moleküllerin büyük bir kısmı serbest radikallerden etkilenir. Meydana getirilen biyomoleküllerin büyük bir kısmı serbest radikaller tarafından etkilenir, ancak organik moleküller arasında en çok etkilenen lipitlerlerdir (Akkuş, 1995).

Lipitlerin serbest radikaller tarafından oksidasyonuna lipit peroksidasyonu denilmektedir. Lipid peroksidasyonun substratı doymamış yağ asitleridir (Konukoğlu, 2000).

Membrandaki çoklu doymamış yağ asitleri serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, etan ve pentan gibi peroksidasyon ürünlerini oluştururlar.

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı oldukça zararlıdır. Çünkü bu yağ asitlerinin peroksidasyonu zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Zincir reaksiyonu şeklinde olan bu lipid peroksidasyonu, yağ asiti zincirinden metilen karbonundan H atomunun çıkarılması ile başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen hasarlar geri dönüşümsüzdür (Akkuş, 1995). Beyin dokusu doymamış yağ asitlerinden zengin olduğu için serbest radikallerden en çok etkilenen organdır (Konukoğlu, 2000).

Lipid radikallerinin neden olduğu reaksiyonlarının çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran yapısında meydana gelen bu reaksiyonlar membran geçirgenliğinin değişmesine neden olur (Akkuş, 1995).

1.2.2.2. Proteinlere Etkileri

Proteinler, lipitlere nazaran serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri aminoasit dizilişlerine ve kompozisyonlarına bağlı olarak değişmektedir. Özellikle doymamış bağ ve kükürt ihtiva eden moleküller serbest radikallerle reaksiyona girerler. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitler içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenerek sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşmasına neden olurlar (Akkuş, 1995).

Serbest radikallerin etkileri sonucu immünglobülin G (IgG) ve albümin gibi fazla sayıda disülfüd bağı bulunduran proteinlerin tersiyer yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hemoglobinin prostetik grubu olan “Hem” proteinleri de serbest radikallerden büyük oranda zarar görürler (Akkuş, 1995).

Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali veya hidrojen peroksit ile reaksiyonu sonucunda methemoglobin oluşmasına neden olur (Akkuş, 1995).

1.2.2.3. Nükleik asitlere Etkileri

DNA serbest radikallerden kolay etkilenen bir hedeftir. Radyasyon ile hücre içinde meydana gelen serbest radikaller DNA’yı etkileyerek mutasyona ve hücrenin ölümüne yol açabilirler. Sitotoksik etki, nükleik asitleri oluşturan bazların modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişimlerine veya DNA’da meydana gelen diğer bozukluklara

bağlıdır. Nötrofillerden salınan hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine kadar ulaşarak burada hidroksil radikaline dönüşür oluşan bu hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek DNA hasarına, hücre modifikasyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Bu yüzden DNA, serbest radikallerden kolay zarar görebilir önemli bir hedeftir. Süperoksit üretimi ise özellikle mitokondride daha fazla olduğundan mitokondrial DNA daha fazla hasar görür (Akkuş, 1995).

1.2.2.4. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler oluşurlar. Monosakkaritlerin yükseltgenmesi ile oluşan çeşitli peroksit türevleri ve oksoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere ve nükleik asitler gibi diğer biyomoleküllere bağlanırlar. Serbest radikaller bu moleküller üzerinde antimitotik etki göstererek bunların yapısını bozarlar. Böylece hücre yaşlanması veya kanser olaylarına neden olabılırlar (Akkuş, 1995).

1.3. Antioksidanlar

1.3.1. Antioksidanlar ve Fenolik Bileşikler

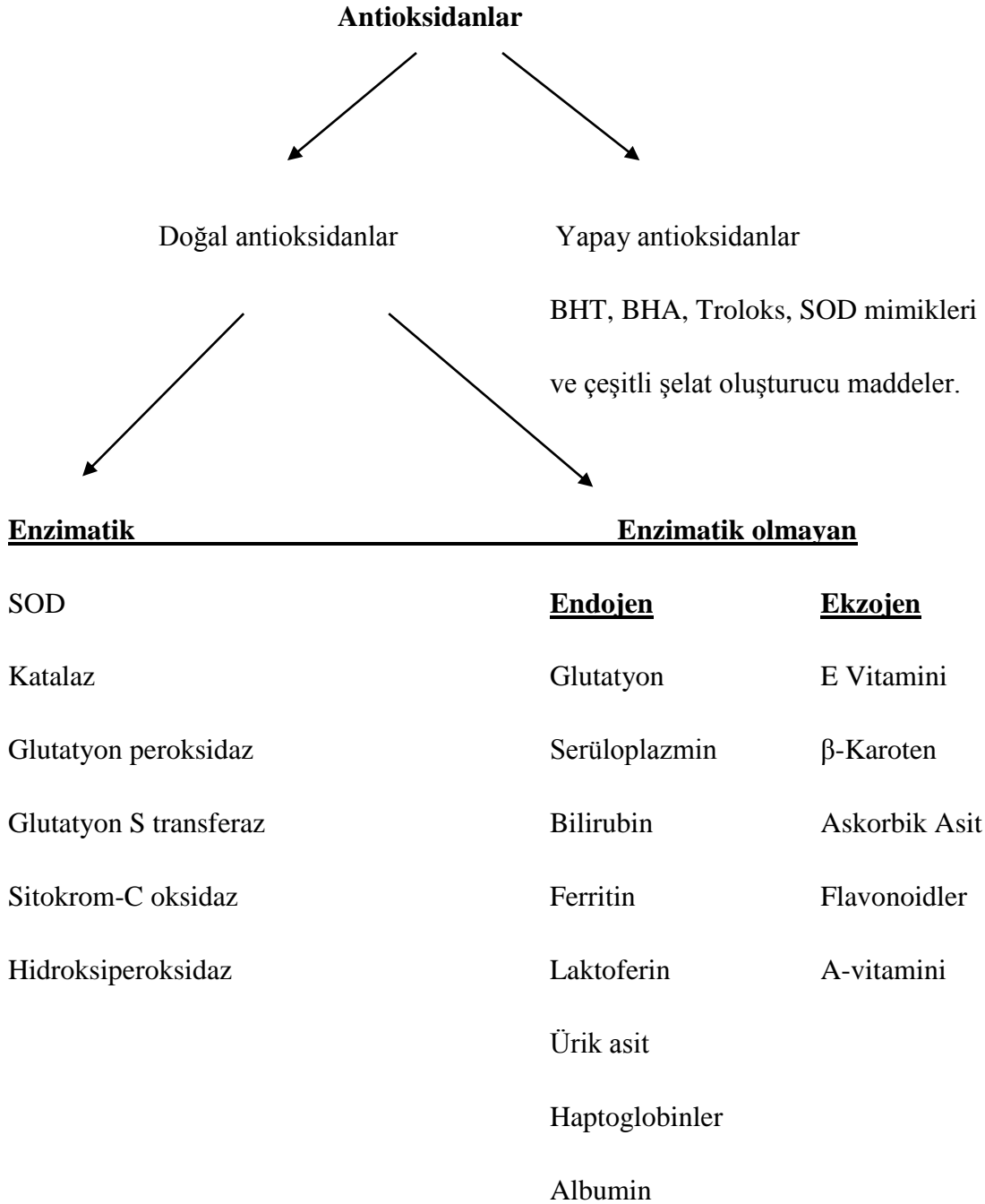
Canlılarda çeşitli reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması vardır. Bu savunma mekanizmasını meydana getiren bileşiklere “**antioksidanlar**” denir (URL-6, 2012).

Antioksidan maddeler, yükseltgeme önleyici veya yağların otooksidasyonunu yavaşlatan maddeler olarak da adlandırılmaktadır. Serbest radikallerin oluşumu, yağlı diyetler, sağlıksız beslenme, sigara kullanımı, ilaç tedavileri, alkol tüketimi, radyasyon, böcek ilaçları ve çevre kirliliği gibi nedenlerle başlamakta ve artmaktadır (URL-6, 2012).

Serbest radikaller antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmezse bunlar, hücre membranını oluşturan lipid ve proteinlerin yapısını bozarak hücrenin fonksiyonlarını yerine getirmemesine neden olurlar. Serbest radikaller ayrıca çekirdekdeki genetik materyale etki edip DNA’ da kırılma ve mutasyonlara, bağışıklık sistemindeki hücreleri de yok ederek hücrenin ölümüne neden olurlar (Sertsever ve Gök, 2003).

Antioksidan maddeler organizma için zararlı olan radikallerle reaksiyona girerek bunların organizmaya zarar vermesini engellerler. Bu özellikleriyle hücrenin anormalleşmesini ve yıkımını engelledikleri için ayrıca tümör oluşturma risklerini azalttıklarından dolayı daha sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu bir hayat yaşama şansını artırırılar. Pek çok araştırma antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesine engel olduklarını ortaya koymuştur (URL-6, 2012).

Antioksidanlar doğal antioksidanlar ve yapay antioksidanlar olmak üzere iki grupta toplanabilir (Akyüz, 2007).



Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, yaprak, kök ve kabuk gibi değişik kısımlarında bulunabilirler (Roginsky ve Lissi, 2005). Gıdalardaki fenolik maddeler gıda maddesinin kendine has tadını renklerin oluşumu ve değişmesini, antioksidan ve antimikrobiyal etken, enzim inhibitörü, değişik gıdalarda saflık kontrol kriterleri olarak önem taşımaktadır (Ekşi ve Karadeniz, 2002).

Bitki fenolikleri, basit fenoller, fenolik asitler (benzoik ve sinnamik asit türevleri), flavonoidler ile küçük molekülü ve çoğunlukla uçucu olan bileşiklerden oluşmaktadır (Naczka ve Shahidi, 2004; URL-7, 2013). Bitki fenoliklerinin büyük kısmı flavonoidlerden oluşmaktadır. Flavonoid bileşikler adı altında 8000' den fazla bileşik mevcuttur (Pietta ve Gardana, 2003).

Flavonoidlerin güçlü antioksidan özellik göstermelerinin nedenlerinden biri; aromatik halka yapılarında bulunan hidroksil grupları sayesinde hidrojen vererek indirgeme reaksiyonlarına girerek serbest radikalleri yok edebilirler. Metal şelatlama kapasitesine sahip yapısal grupları vasıtasıyla OH^- ve O^{2-} gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyebilirler (Cam ve Hışıl, 2003).

Flavonoidleri yapılarına bağlı olarak 6 grupta toplamak mümkündür. Bunlar; Antosiyanidinler, flavanonlar, flavonlar, flavonoller, flavan-3-oller, izoflavonlar' dır (Cam ve Hışıl, 2003).

1.3.2. Antioksidan Savunma Mekanizması

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler (Gökpınar vd., 2006);

- 1. Süpürme etkisi (Scavenging):** Radikalleri daha zayıf moleküllere çevirerek onları etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.
- 2. Söndürme etkisi (Quenching):** Antioksidanların radikallere bir hidrojen vererek onları inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.
- 3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking):** Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller radikalleri kendilerine bağlayarak inaktive ederler.
- 4. Onarma etkisi (Repair):** Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar.

Mitokondri sahip olduğu sitokrom sistemi sayesinde sitozoldaki organelleri radikallerin zararlı etkilerinden korur. Bu sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi doğal enzimler devreye girer. Doğal enzimlerce etkisiz

hale getirilemeyen reaktif maddeler ilk olarak hücre membranındaki lipidlere etki ederek “lipid peroksidasyonu”nu başlatır (Benzer ve Ozan, 2003).

Lipid peroksidasyonu, membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikalleri tarafından oksitlenmesidir. Lipit peroksidasyonu sonucunda alkoller, aldehitler gibi çeşitli ürünler oluşur. Meydana gelen bu ürünler hücre hasarına neden olurlar. Lipidlerin oksidasyonu sırasında yeterli miktarda Vit-E ve Vit-C gibi antioksidan vitaminlerin olması halinde bu tip hücre hasarlarının önüne geçilebilir (Benzer ve Ozan, 2003).

1.3.3. Antioksidan Maddeler

1.3.3.1. Tokoferoller(Vitamin E)

Organizmada en fazla α -tokoferol, daha sonra da γ -tokoferol bulunur. Tokoferol türlerinin radikalleri giderme aktiviteleri arasında farklılıklar vardır. Singlet oksijeni temizleme kapasitesi delta, gamma, beta, alfa tokoferole doğru gittikçe artar (Kazanç, 1997).

Organizma tarafından tokoferol sentezlenemediği için dışarıdan alınmak zorundadır. Vücuda alınan tokoferol öncelikle ince bağırsakta emilir daha sonra lenf dolaşımına katılmaktadır. E vitamini ve glutatyon peroksidaz (GPx) serbest radikallerin etkilerine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonunu inhibe ederken GPx oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (Chan ve Decker, 1994).

1.3.3.2. Askorbik Asit (Vitamin C)

Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan ve suda çözünen C-vitamini vücut sıvısında çoğunlukla askorbat halde bulunur. Kolayca elektron verme özelliğine sahip olduğu için süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ile reaksiyona girerek bu radikalleri temizler. C vitamini peroksil radikalleri su fazında inhibe ederek, biyolojik membranları peroksidatif hasardan korur (Gökpınar vd., 2006).

1.3.3.3. Karotenoidler

Karotenoidler önemli antioksidan maddeler arasında yer almaktadır. Karotenoidler genel olarak çiçek ve meyvelerin kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerinden sorumludur. Karotenoidler fotosentezde ışıktan alınan enerjinin klorofil moleküllerine aktarılmasını sağlar (Gökpınar vd., 2006).

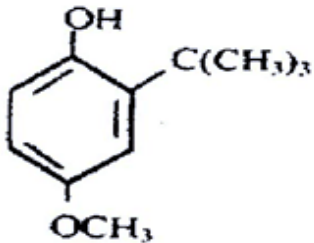
Bitkinin büyümesinden sorumlu olan abisik asidin öncül maddesini karotenoidler oluşturmaktadır (Von Elbe ve Schwartz, 1996).

Karotenoidler insanda ince barsakta pasif diffüzyon ile emilir. Bu emilim oranı diyetteki yağ oranıyla ilişkilidir (Frel, 1994). Karotenoidler singlet oksijeni ve süperoksit radikalini temizler bunların etkilerini inhibe ederek hücreyi serbest radikallerden korur (Tee, 1992).

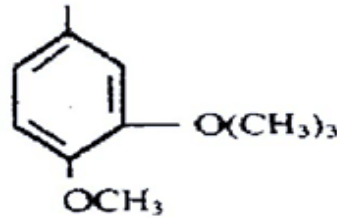
Seruloplazmin, albumin, ferritin, laktoferrin, hemoglobin, α -globulin gibi plazma ve eritrosit proteinleri, Fe, Cu gibi serbest metal iyonlarını bağlayabilme özelliklerinden dolayı Fenton reaksiyonlarının gerçekleşmesini önlerler. Böylece hücreye zarar veren serbest radikallerin oluşmasını engeller (Dündar ve Aslan, 2000).

1.3.3.4. Bütillenmişhidroksianisol (BHA)

Butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), ($C_{11}H_{16}O_2$); ticari olarak 3-tertiyer-butil-4-hidroksianisol (%85) ile 2-tertiyer-butil-4-hidroksianisol (%15) izomerlerinin karışımı halinde bulunmaktadır (URL-8, 2012).



2-tertiyer-bütül-4-hidroksianisol



3-tertiyer-bütül-4-hidroksianisol

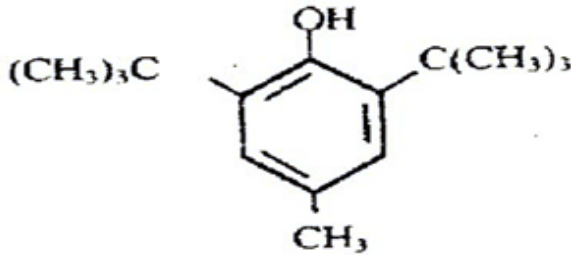
Şekil 1. 1. BHA'nın kimyasal yapısı (URL-8, 2012).

BHA beyaz renkte olup katı bir yapıya sahiptir. BHA hem bitkisel hem de hayvansal yağlarda çözünürken fakat suda çözünmeyen bir antioksidandır. Günümüzde pek çok ülkede gerek katı gerekse sıvı yağların bozulmasını engellemede kullanılmaktadır. Hayvansal yağlardaki antioksidatif etkisi bitkisel yağlardaki etkisine göre daha fazladır (URL-8, 2012).

BHA özellikle uçucu yağların renk, tat ve kokularının korunmasında, tahıl ve şekerleme ürünlerinde kullanılan Hindistan cevizi ve palmye özü yağları gibi kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunun kontrolünde etkilidir (İbadova, 2006).

1.3.3.5. Bütillenmişhidroksitoluen (BHT)

BHT'nin gösterdiği özellikler büyük ölçüde BHA'e benzemektedir. Günlük alınabilir miktar vücut ağırlığı üzerinden 0,5 mg/kg olup, bu değer insan sağlığı açısından herhangi bir zararlı etki yapmamaktadır. Ancak daha sonraki araştırma sonuçlarını dikkate alan FAO/WHO Birleşik Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Ekspertler Komitesi, BHT'nin sağlığa zararsız olduğunu yeni bulgularla ve kesinlikle belirleninceye kadar günlük alınabilir miktarı geçici olarak kabul etmiştir (Özcan vd., 1997).



Şekil 1. 2. BHT'nin kimyasal yapısı (URL-8, 2012).

BHT, BHA gibi yağda çözünüp suda çözünmeyen bir antioksidandır. Beyaz renkli bir madde olup bu madde bitkisel yağlarda düşük aktiviteye sahiptir. Ancak diğer antioksidan maddeler ile birlikte kullanıldığında yağın ilave edildiği gıdayı koruma özelliğinden yararlanılmaktadır. BHT, BHA birlikte kullanıldığında sinerjistik etki göstermektedir. Fındık, ceviz gibi fazla yağlı tohumlarda oksidasyonunun kontrolünde etkilidir (URL-8, 2012).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Bal Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Örnekleme işlemi Bingöl ili bal üretiminin bulunduğu Yedisu, Genç, Karlıova, Solhan, Adaklı, Kığı birimlerinden toplandı. Örneklenen ballar cam steril kavanozlar içerisinde çalışma başlayıncaya kadar oda sıcaklığında direk güneş ışığı almayan bir bölgede bekletildi.

2.1.2 Kullanılan kimyasal maddeler

Kullanılan tüm kimyasallar ve reaktifler analitik yada HPLC sınıfı saflıkta tedarik edilmiştir. Amberlit XAD-2 (polimerik adsorban) ticari markası satın alındı. Balın içindeki fenolik bileşiklerde bulunan fenolik asit ve flavonoidlerin miktarının belirlenmesi ve saptanması için Sigma-Aldrich'ten benzoik asit, kafeik asit, sinamik asit, p-kumarik asit, gallik asit, sinapik asit, askorbik asit p-hidroksibenzoik asit, syringic asit, hidroklorik asit, sülfürik asit, galangin, kaempferol, quercetin, myrcetin, apigenin, luteolin, chrysin, hesperetin, naringenin, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH·) radikali, ferrozin, linoleik asit, α - tokoferol, trolox, polioksietilensorbitan monolaurat (Tween-20) ve trikloroasetik asit (TCA), folin-ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, sodyum fosfat, aliminyum klorür, sodyum hidroksit, sodyum nitrit, sodyum molibdat, amonyum molibdat, metanol, etanol, butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), demir klorür, demir ferro siyanat, hidrojen peroksit, aseton, hekzan, fenontrolin Sigma-Aldrich (Almanya)' den satın alındı.

2.1.3.Yararlanılan Cihazlar

Mikrobiyolojik emniyet kabini (Bilser), UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu/Jasco V650), UV-Spektrofotometre küveti (3 cm³'lük Kuartz Küvet), manyetik karıştırıcı (Ika), Isıtmalı su banyosu (Wise Clean), otomatik pipetler (Rainin), Dairesel sallayıcı (Gerhardt), ultrasonik banyo (Wise Clean WUC-D06H), derin dondurucu (-86 °C, Hettich/Nuair), döner evaporatör (Ika RV06-ML), pH-metre (Hanna Instrument), hassas terazi (Precisa/ Denver), inkübatör (Elektro-Mag (0-300°C), vorteks (Ika MS3 Basic), saf sucihazı (GFL 2004), dispenser (Isopenser), santrifüj (Hettich Universal 320), buzdolabı (4 °C, Arçelik), otoklav (Hirayama), etüv (Memmert 100-800).

2.1.4. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

2.1.4.1. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

1. % 50' lik Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR), hazırlanması: 50 ml'ye Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR), alındı toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.
2. % 2' lik Na₂CO₃ çözeltisinin hazırlanması: 2 gr Na₂CO₃ alındı son hacim 100 ml olacak şekilde destile su ile tamamlandı.

2.1.4.2. Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

1. % 15' lik NaNO₂ çözeltisinin hazırlanması: 1,5 gr NaNO₂ alındı son hacim 10 ml olacak şekilde destile su ile tamamlandı.
2. % 10'luk AlCl₃ çözeltisinin hazırlanması: 0,5 gr alındı son hacim 5 ml olacak şekilde destile su ile tamamlandı.
3. % 4'lük NaOH çözeltisinin hazırlanması: 4 gr alındı son hacim 100 ml olacak şekilde destile su ile tamamlandı.

2.1.4.3. Toplam fenolik asit içeriği (TPA) belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

1. Reagent hazırlanması: 10 gr sodyum nitrat + 10 gr sodyum molibdate (Na_2MoO_4) tartıldı ikisi birlikte balon jofeye konup son hacim 100 ml olacak şekilde destile su içersinde çözdürüldü.
2. % 8.5' lik NaOH çözeltilsinin hazırlanması: 8,5 gr NaOH tartıldı son hacim 100 ml olacak şekilde destile su içersinde çözdürüldü.
3. 0,5 M HCl çözeltilsinin hazırlanması: 4,1 ml HCl alınıp son hacim 100 ml olacak şekilde destile su içersinde çözdürüldü.

2.1.4.4. Toplam β -karoten ve likopen içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

1. Aseton-hekzan çözeltilsinin hazırlanması: 40 ml aseton ile 60 ml hekzan balon jofe içinde iyice karıştırılmıştır.

2.1.4.5. DPPH radikalinin etkisinin giderilmesi ile ilgili çözeltiler

1. 0,1 mM' lik DPPH çözeltilsinin hazırlanması: 4 mg DPPH 100 ml metanolde tamamen çözülmüceye kadar karıştırılmıştır.

2.1.4.6. İndirgeyici güç özelliğinin ölçülmesi ile ilgili çözeltiler

1. %1' lik potasyum ferrisiyanid [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] çözeltilsinin hazırlanması: 1gr [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 100 ml destile suda çözülmeye kadar kuvvetli bir şekilde karıştırılmıştır.
2. 0,2 M' lik fosfat tamponunun hazırlanması (pH: 6,6): 2,4 g NaH_2PO_4 bir miktar destile suda çözümlü, pH metre kullanılarak pH'sı 6,6'ya ayarlanmış ve toplam hacim destile suyla 100 ml'ye tamamlanmıştır.
3. %10'luk triklorasetik asit (TCA) çözeltilsinin hazırlanması: 10 g TCA destile suda çözümlü toplam hacmi 100 ml'ye destile suyla tamamlanmıştır.
4. %0,1' lik demir (III) klorür (FeCl_3) çözeltilsinin hazırlanması: 165 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ destile suda çözümlü ve toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

2.1.4.7. Hidrojen peroksit giderme aktivitesinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

1. 0,1 M' lik fosfat tamponunun hazırlanması (pH: 7,4): 1,2 mg NaH_2PO_4 alındı bir miktar saf suda çözüldü ve pH' sı 7,4' e ayarlandı. Daha sonra hacmi saf su ile 100 ml' ye tamamlandı.
2. 43 mM' lik hidrojen peroksit çözeltisinin hazırlanması: %30'luk H_2O_2 ' den 220 μl alındı ve 50 ml 0,1 M' lik fosfat tamponunda çözüldü.

2.1.4.8. Hidroksil radikali giderme özelliğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

1. 1 mM' lik FeCl_2 çözeltisinin hazırlanması: 0,05 gr $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ alındı son hacim 250 ml olacak şekilde destile suda çözüldü.
2. 0,17 M H_2O_2 çözeltisinin hazırlanması: 34,714 μl alındı 2 ml destile suda çözüldü.
3. 0,2 M' lik fosfat tamponunun hazırlanması (pH: 7,8): 1,92 gr $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ alındı 50 ml suda çözüldü. 1 M' lik NaOH çözeltisi ile pH metre kullanarak pH'sı 7,8 ayarlandı.
4. 1mM' lik 1,10-phenanthroline hazırlanması: 0,018 gr 1,10-phenanthroline tartılarak 100 ml etanol' de çözüldü.

2.1.4.9. Toplam antioksidan kapasite değerlendirmesi ile ilgili çözeltiler

1. 0,6 M H_2SO_4 çözeltisinin hazırlanması: H_2SO_4 'ten 3,3 ml alındı bir miktar destile su içerisinde çözüldü.
2. 28 mM NaH_2PO_4 (sodyum fosfat) çözeltisinin hazırlanması: 0,34 gr alındı daha önceden hazırlanan H_2SO_4 çözeltisine eklenip çözdürüldü.
3. 4 mM amonyum molibdat çözeltisinin hazırlanması: 0,495 gr alındı önceden hazırlanan NaH_2PO_4 ile H_2SO_4 çözeltisi içinde çözdürülüp son hacim 100 ml olacak şekilde destile su ilave edildi.

2.1.4.10. HPLC analizi ile ilgili çözeltiler

1. Mobil A: % 5' lik fosforik 18,3 M Ohm'luk deiyonize sudan hazırlanmıştır.
2. Mobil B: HPLC saflıkta metanol ticari olarak alındı ve bu şekilde kullanıldı.

2.1.4.11. İndirgen şeker içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

1. Fehling A çözeltisinin hazırlanması: 69,28 gr bakır (II) sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), tartılır ve 1000 ml' lik ölçülü bir balonda 400 ml kadar su ile çözülür. İşaret çizgisine kadar su ile tamamlanır ve iyice karıştırılır. Bu çözelti, en fazla 24 saat süre ile kullanılabilirliğinden, deney anından en fazla 1 gün önce taze olarak hazırlanmalıdır.

2. Fehling B çözeltisi hazırlanması: 346,0 gr sodyum potasyum tartarat tetrahidrat ($\text{Ca}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{NaK} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Senyet tuzu veya Rochelle tuzu olarak da bilinir) ve 100 gr sodyum hidroksit (NaOH) tartılır. 1000 ml'lik ölçülü bir balonda 600 ml kadar suda çözülür ve su ile işaret çizgisine kadar tamamlanır. Çözelti, 4 gün dinlendirildikten sonra, orta gözenekli bir süzgeç kâğıdından süzülür ve renkli bir şişede muhafaza edilir.

3. Metilen mavisi çözeltisi (% 0,2' lik) hazırlanması: 2 gr metilen mavisi ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NaCl}$), tartılır ve 1000 ml' lik ölçülü bir balonda bir miktar suda çözülür. Su ile işaret çizgisine kadar tamamlanır ve iyice karıştırılır.

4. Sodyum hidroksit çözeltisi (5 M) hazırlanması: 50 gr sodyum hidroksit (NaOH), tartılır ve 250 ml' lik ölçülü bir balonda, musluk suyu ile dıştan soğutulurken 150 ml ilâ 180 ml suda çözülür. Çözelti, musluk suyu altında döndürülerek soğutulur ve oda sıcaklığında soğuduktan sonra su ile işaret çizgisine kadar tamamlanır ve iyice karıştırılır. Bu çözelti, iyi kapanan plâstik kapaklı bir şişede muhafaza edilir.

5. Carrez I çözeltisi (0,25 M potasyum ferrosiyaniür) hazırlanması: 105,6 g potasyum ferrosiyaniür trihidrat [$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$], tartılır ve 1000 ml' lik ölçülü bir balonda yeterince suda çözülür. Su ile işaret çizgisine kadar tamamlanır ve iyice karıştırılır.

6. Carrez II çözeltisi (1 M çinko asetat) hazırlanması: 219,4 gr çinko asetat dihidrat [$Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$], tartılır ve 1000 ml' lik ölçülü bir balonda, 30 ml asetik asit ve 600 ml kadar suda çözülür. Su ile işaret çizgisine kadar tamamlanır ve iyice karıştırılır.

7. Fenolftalein çözeltisi hazırlanması: 0,5 gr fenolftalein (C_6H_4OH) $C_2O_2C_2$, 100 ml hacimce %50'lik etil alkol- su çözülerek hazırlanır.

8. Stok invert şeker çözeltisi hazırlanması: 9,50 gr saf sakaroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$), tartılır ve uygun kapasiteli bir erlende, 30 ml- 40 ml suda çözülür. 5 ml derişik hidroklorik asit ($HCl = 1,19 \text{ g/ml}$) ilâve edilip, 60 °C'a ayarlanmış su banyosunda, arada bir karıştırılarak 20 dakika bekletilir. Bir gün ağzı kapalı olarak karanlık bir yerde 3 gün tutulur. Hidroliz sonucunda oluşan invert şeker çözeltisi, kantitatif olarak 1000 ml' lik ölçülü bir balona alınır. Su ile işaret çizgisine kadar tamamlanır ve iyice karıştırılır. Bu çözelti her hafta yeniden hazırlanmalıdır.

9. Standard invert şeker çözeltisi (2,5 g/L' lik) hazırlanması: Stok invert şeker çözeltisinden alınan 50 ml' lik bir kısım alınarak 200 ml'lik ölçülü bir balona aktarılır. 5-6 damla fenolftalein damlatılır. Bir büretten akıtılan 5 M' lık sodyum hidroksit çözeltisi ile kararlı pembe rengin oluştuğu ilk damlaya kadar titre edilir. Elde edilen çok açık pembe renkli nötr karışımın hacmi su ile 200 ml'ye tamamlanır. Çözelti iyice karıştırılır ve hava sızdırmayacak şekilde kapatılarak muhafaza edilir.

2.1.4.12. Nem içeriğinin belirlenmesi ile ilgili çözeltiler

Analiz numunesinden belirli miktarda numune alınarak homojen hale getirilmiş olan bal numunesi, nem tayininde direkt olarak kullanılmıştır. Balın nem içeriği refraktometre kullanılarak hesaplanmıştır.

2.1.5. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Materyallerin Hazırlanması

2.1.5.1. Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanması

1. Müller Hinton Agar Besiyerinin Hazırlanması: 17 g Mueller Hinton Agar, 500 ml destile su ile karıştırılmış ve tamamen çözülünceye kadar manyetik karıştırıcı üzerinde bekletilmiştir. Daha sonra steril bir kaba aktarılan besiyeri, otoklavda 121 °C’ de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 45 °C’ye kadar soğutulan besiyeri, steril şartlarda 9 cm çapındaki petri kaplarına 25’er ml dökülmüş ve soğumaya bırakılmıştır. Katılaştıran besiyerlerini içeren petri kapları, kullanılabildiği kadar buzdolabında saklanmıştır.

2. Nutrient Broth Besiyerinin Hazırlanması: 6,5 g Nutrient Broth, 500 ml destile su ile tamamen çözülünceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra steril bir kaba aktarılan besiyeri, otoklavda 121 °C ‘ de 15 dakika steril edilmiş ve buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.5.2. Kullanılan Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Bal ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri, Agar Disk Difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için 6 mm çapındaki steril disklere (Bioanalyse), DMSO’ da çözülmüş, 25 mg/ml konsantrasyondaki ekstralardan 40’ar µl (20 µl +20 µl) emdirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite tayininde, besiyeri olarak Mueller Hinton Agar (Himedia) kullanılmıştır.

4 °C’ de muhafaza edilen stok mikroorganizma kültürleri, Nutrient Broth sıvı besiyeri içeren tüplere aktarılmış ve aktive olabilmeleri için su banyosunda 37 °C’ de 6 saat bekletilmiştir. Daha sonra tüplerden alınan mikroorganizma kültürlerinin Mueller Hinton Agar bulunan petri kaplarına ekimleri yapılmıştır. Bu petriler 37 °C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda mikroorganizma kolonileri besiyerlerinden öze yardımıyla alınarak destile su içerisinde süspanse edilmiş ve Mc Farland 0,5 bulanıklık tüpleriyle karşılaştırılarak 10⁶ bakteri/ml’lik dilüsyon hazırlanmıştır. Mueller Hinton Agar içeren petrilerin yüzeyine, hazırlanan bu kültürden 200’er µl aktarılmış ve eküvyon çubuğu kullanılarak ekim yapılmıştır.

2.1.5.3. Test Mikroorganizmalarının Seçimi

Bingöl ili ballarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*)üç tür, gram negatif bakterinden (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*) dört tür ve iki tane maya (*Candida spp*, *Saccharomyces cerevisiae*) olmak üzere toplam dokuz mikroorganizma kullanılmıştır.

Kullanılan mikroorganizmalar Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı'ndan temin edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları Çizelge 2.1.' de verilmiştir.

Çizelge 2. 1. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları

Mikroorganizma	Mikroorganizma Kodu
<i>Bacillus subtilis</i>	IM622
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	EMCS
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538P
<i>Candida spp</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM50071
<i>Streptococcus spp</i>	
<i>Salmonella typhimurium</i>	NRRLE4413
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	

2.2. Metod

2.2.1. Bal Ekstraktlarının Hazırlanması

Fenolik bileşikler (fenolik asit ve flavonoidler) Bingöl ilinin çeşitli yörelerinden alınan süzme bal örneklerinden ekstrakte edildi. Yaklaşık 100 gr bal örnekleri 1 lt 1×10^{-2} mol/dm³ HCl (300ml) ile karıştırıldı. Bal iyice çözüldükten sonra süzgeç kağıdından süzülerek katı partiküller uzaklaştırıldı. Daha sonra süzüntü karışımına (pH 2 olan distile su ile bal) Amberlite XAD-2 eklendi. Oda sıcaklığında yaklaşık bir saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılıp sonrasında bu karışım cam kolana yüklenerek 1×10^{-2} mol/dm³ HCl (300 ml) ile ve takiben deiyonize su (500 ml) ile birlikte şeker ve diğer bal bileşenleri çıkarılması için yıkandı. Kolonda adsorbe edilmiş olan fenolik bileşenler 1000 ml metanol (pH:7) ile yıkanarak alındı, 40°C'de rotary evaporatörde azaltılmış basınç altında metanolün uçurulması sağlanarak fenolik ekstrakt elde edildi (Estevinho vd., 2008).

Fenolik bileşiklerden çıkarılan kalıntılar bir miktar su ve dietil eter ile üç kez çözüldü. Kombine ekstraktlar buharlaşmaya maruz kaldıktan sonra ağırlıkları ölçüldü. Kalıntı parçası antioksidan test için metanol ile antimikrobiyal aktivite deneyi için DMSO ile yeniden çözüldü. Bir miktar su içinde çözülmüş kalıntıdan fenolik bileşiklerin çıkarılması için 30 ml dimetil eter ile üç kez muamele edildi. Kombine özleri buharlaşmaya bırakıldı ve sonra ağırlıkları ölçüldü, bu kalıntı parçaları antimikrobiyal aktivite testleri için DMSO ile veya antioksidan testleri için metanol ile tekrar çözüldü (Estevinho vd., 2008).

2.2.2. Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.2.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Ekstreler içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine (Gamez-Meza vd., 1999) göre yapıldı. Standart olarak kullanılan gallik asit destile su çalışılan bütün örnekler ise %70' lik metanol içinde hazırlandı. 150 µl örnek, 150 µl Folin Ciocalteu reaktifi (%50' lik, h/h, suda) ve 3 ml sodyum karbonat çözeltisi (%2' lik, a/h, suda) deney tüpüne karıştırılarak 30 dk oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi'nde 760 nm'de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplandı.

2.2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam Flavonoid miktarının belirlenmesi için, bal ekstraktından 150 µl alınarak 600 µl distile suyun içerisine aktarılır bu karışımın üzerine 90 µl % 15'lik NaNO_2 solüsyonu eklenerek karıştırıldı. 6 dakika sonra % 10'luk $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ solüsyonu bu çözeltiliye eklenerek karıştırıldı. Bunu takip eden yedinci dakikada, 1 M NaOH' dan 600 µl eklenir üzerine 1500 µl destile su eklenerek tüm karışım çok iyi ve nazikçe karıştırıldı. Ortaya çıkacak olan pembe renk 510 ile 415 nm' de okunarak daha önceden hazırlanan kuersitin standart kalibrasyon grafiğinde göre okunarak kuersitin eşleneği olarak toplam flavonoid içeriği balın kilogramında miligram cinsinden hesaplandı (Barros vd., 2007).

2.2.2.3. Toplam Fenolik Asit İçeriği (TPA) Belirlenmesi

Taze olarak hazırlanan bal ekstraktı (1,0 ml) 0,5 M hidroklorik asit (2,0 ml) ve 10 g sodyum nitrit 10 g sodyum molibdatın 100 ml suda çözdürülmesiyle hazırlanan çözücü (2,0 ml) eklendi. Bunu takiben % 8,5 (w/w) sodyum hidroksitten (2,0 ml) eklendi. Daha sonra son hacim 10 ml olacak şekilde distile su ilave edildi. Absorbans 505 nm' de okundu. Kör olarak her bir ekstrakt için 10 ml su kullanıldı. Toplam fenolik asit içeriği sinapik asit kullanılarak standart kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Bu kalibrasyon eğrisinden

sinapik asid eş değeri (mg/g) olarak toplam fenolik asit ieręi hesaplandı (European Pharmacopoeia, 2004).

2.2.2.4. Toplam β -karoten ve Likopen içeriğinin Belirlenmesi

Karotenoidlerin içeriği Barros ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalardaki metot kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmesi için bal ekstrakt örneklerinden 100' er mg alınarak 10 ml Aseton-hekzan (4:6) karışımı içerisine konularak 1 dakika suresince iyi bir şekilde karıştırılarak Whatman No. 4 filtre kağıdıyla szld. Süzüntünün absorbans değerleri 453, 505 ve 663 nm, dalga boylarında ölçümler yapıldı. β -karoten ve likopenierikleri standart grafiklerle değerlendirilerek kilogram baldaki karotenoid miktarı miligram cinsinden hesaplandı (Barros vd., 2007).

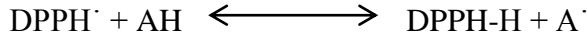
2.2.2.5. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal yakalama yönteminde, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite tanımlanır (Pokorny vd., 2001).

Sulu bal fenolik ekstraktının (0,3 ml) içerisinde litrede 6×10^{-5} mol olacak şekilde hazırlanan DPPH radikali içeren 2,7 ml metanolik karışım karıştırıldı. Bu karışım güçlü bir şekilde çalkalanarak 60 dakika karanlık bölgede bekletildi. DPPH radikalinin azalması 517 nm' de absorpsiyonunun ölçülmesi ile karışlaştırıldı. Bu radikalın etkinliğinin giderilmesi çalışmaları çeşitli araştırcıların ortaya koydukları metodu takiben yapıldı (Hatano vd., 1988). Radikalın etkinliğinin giderilmesi için baldan elde edilen ekstarkt ile radikal karıştırılarak spektrofotometrik olarak okuma yapıldı ve bu okuma sonucunda DPPH'nın renginin giderilmesi ile etkinliğin miktarı hesaplandı.

DPPH, koyu mor renkte bir radikaldir. DPPH sahip olduğu ortaklanmamış elektronu sayesinde 517 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülebilen güçlü bir absorpsiyon vermektedir. Bu yönteme göre; kararlı bir serbest radikal olan DPPH, Antioksidandan bir proton alarak indirgenir, renksiz α, α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne dönüşür (Pokorny vd., 2001; Huang vd., 2005).

Radikalin ortaklanmamış elektronu bir hidrojen vericisinin varlığında (-ki bu bir serbest radikal temizleyici antioksidandır) paylaşıldıkça absorpsiyon gücü düşmektedir. Absorpsiyon gücü azalması yakalanan elektron sayısı ile doğru orantılıdır. Aşağıda DPPH'in antioksidanla verdiği reaksiyon gösterilmiştir.



Burada AH[·] antioksidanı, A[·] antioksidan radikalini simgelemektedir. Bu reaksiyon geri dönüşümlü olarak gerçekleşebilmektedir.

2.2.2.6. İndirgeyici Güç Özelliğinin Ölçülmesi

Değişik konsantrasyonlar' da sulandırılmış bal örnekleri ve fenolik ekstraktlar dan 2,5 ml alınarak, 2,5 ml(pH: 6,6) litresinde 200 mmol bulunacak şekilde hazırlanan sodyum fosfat tamponu ile %1' lik 2,5 ml potasyum ferrik siyanit ile karıştırılarak ve 50 °C' de 20 dakika inkübe edildikten sonra üzerine hazırlanan %10'luk tri kloroasetik asitten 2,5 ml katıldı ve bu karışım 1000 rpm' de 8 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst faz alınarak yaklaşık 5 ml' sine 5 ml deiyonize su ve 1 ml % 0,1'lik demir klorid (FeCl₃.6H₂O) konularak spektrofotometrik olarak 700 nm.' de okuması yapıldı. Yüksek absorbansın yüksek indirgeme özelliği gösterdiği tespit edildi. Bal örneklerinin indirgeme gücü BHA ve α-tokoferol standartlarına karşı hesaplama yapıldı (Oyaizu, 1986).

2.2.2.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan bal ekstraktları ve sentetik antioksidant maddelerin çeşitli konsantrasyonlarındaki metanol ile hazırlanan çözeltilerinin hidrojen peroksit giderme aktivite tayini Ruch'un (1989) metoduna göre tayin edildi. Bunun için pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda 43 mM' lik hidrojen peroksit çözeltisi hazırlandı. H₂O₂ konsantrasyonu spektrofotometrik olarak, H₂O₂'in 230 nm' de absorbans göstermesiyle belirlendi. 5, 10, 15, 20 µg/ml konsantrasyonunda alınan bal ekstraktları hacmi 4 ml'ye kadar tampon çözelti ile tamamlandı. Daha sonra 0,6 ml hidrojen peroksit (43 mM) çözeltisi ilave edildi. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra hidrojen peroksitin azalan miktarı 230 nm' de azalan absorbans olarak kaydedildi. Kontrol hidrojen peroksit içeren tampon çözelti kullanıldı (Ruch, 1989).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

2.2.2.8. Hidroksil Radikali Giderme Özelliğinin Belirlenmesi

Hidroksil radikali giderme özelliği Fenton reaksiyonu (Yu vd., 2004) ile analiz edilecektir. Bu reaksiyona göre reaksiyon karışımı 1 mM FeCl₂' den 60 µl, 1 mM 1,10-phenanthroline' den 90 µl, 0,2 M fosfat tamponundan (pH 7,8) 2,4 ml, 0,17 M H₂O₂'den 150 µl ve 1,5 ml değişik konsantrasyonlarda ekstrakt eklenerek hazırlanmış olup bu karışıma H₂O₂'nin eklenmesiyle reaksiyon başlatıldı. Oda sıcaklığında yapılan 5 dakikalık inkübasyon sonrasında spektrofotometre kullanılarak 560 nm'de yapılan ölçüm sonrasında hidroksil radikalini uzaklaştırma aktivitesi aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\text{Uzaklaştırma oranı} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times \%100,$$

Burada A₀, kontrolün (ekstrakt olmaksızın) absorbansı, A₁, ekstrakt varlığında alınan absorbans değeri, A₂ ise 1,10- phenanthroline olmaksızın alınan absorbans değeridir.

2.2.2.9. Toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Örneklerinin antioksidan aktiviteleri fosfomolibden yöntemi ile (Prieto vd., 1999) değerlendirildi ve α -tokoferol eşdeğeri olarak ifade edildi. Kısaca, 0,4 ml metanolde çözdürülmüş ekstrakt ile 4 ml reaktif çözeltisi (0,6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) karıştırıldı. Kör olarak bal ekstraktı yerine metanol kullanıldı. Reaksiyon karışımı vorteks ile karıştırıldı ve su banyosunda 90 dakika süreyle 95 °C’ de bekletildi. Absorbans 695 nm dalga boyunda ölçüldü. Antioksidan aktivitesi, α -tokoferol eşdeğeri (α -TE mg/g ekstre) olarak hesaplandı.

2.2.2.10. HPLC analiz

Flavonoid bileşiklerin ve fenolik asitlerin tanımlanmasında HPLC ‘ de ters faz kolonla çalışıldı. Yao ve arkadaşlarının kullandıkları gradientli elüsyonla metottaki mobil faz kullanıldı ve 35,2 °C’ de çalışılma yapıldı. Bu metoda örnek C 18 kolonuna otomatik yükleyicili bir sistemle numune yüklendi. Mobil faz pH 2,5 olan fosforik asit (% 5) içeren 18,3 M Ω dH₂O (çözücü A) ve metanol (çözücü B). Tüm bal ekstrakt örneklerinin yükleme hacimleri 10 μ l’dir. Mobil fazın akış hızı 0,5 ml/dak. olarak bir gradient programı ile aşağıdaki gibi uygulandı: 95–83% A (10 dakika), 83–74% A (10 dakika), 74–42% A (20 dakika), 42–5% A (10 dakika) and 5–95% A (10 dakika). Fenolik asit ve flavonoidlerin analizleri 290 nm yapılarak ve tanımlama piklerin alıkonma zamanlarının ve spektrumlarının ticari standartlar ile karşılaştırılması ile bulundu (Yao vd., 2003).

2.2.2.11. İndirgen Şeker içeriğinin Belirlenmesi

İndirgen şeker içeriğinin belirlenmesi miktar olarak Türk Standart Enstitüsünün 3036 nolu bal standardı tasarısına göre yapıldı.

İndirgen şeker miktarının belirlenmesi: 5 gr numune 200 ml’ lik balona alınarak yarısına kadar su ile doldurulur. Üzerine 5 ml carrez I ve 5 ml carrez II konularak balon destile su ile çizgiye kadar tamamlanır daha sonra iyice karıştırılır. Oluşan bu karışım

daha sonra süzgeç kağıdından süzülür ve bu süzüntü titrasyon yapılmak üzere bir pipete aktarılır.

Bir erlene 5 ml Fehling A ve 5 ml Fehling B, 20 ml distile su ve kaynama boncuğu konulduktan sonra tüp üzerinde kaynamaya bırakılır. Kaynatılmaya 2 dk boyunca devam edildi ve bu süre sonunda 5-6 damla metilen mavisi damlatıldı ve pipete çekilen çözelti ile titrasyon yapıldı ve harcanan kaydedildi.

Toplam şeker miktarının belirlenmesi: Yukarıda hazırlanan deney çözeltisinden (süzüntüden) 50 ml alınarak 100 ml' lik balona aktarıldı. Üzerine 5 ml HCl (derişik) eklendi. İçine termometre konularak 67 °C de 5 dk bekletildi. Daha sonra su altında soğutulur. 5-6 damla fenolftalein damlatıldı, 5 N NaOH ile nötrallendi (Pembe renk oluşur). Balon çizgisine tamamlanarak titrasyon yapılmak üzere pipete aktarıldı.

Bir erlene 5 ml Fehling A ve 5 ml Fehling B, 20 ml distile su ve kaynama boncuğu konulduktan sonra tüp üzerinde kaynamaya bırakıldı. Kaynamaya başladıktan sonra kaynama 2 dk boyunca devam edildi ve bu süre sonunda 5-6 damla metilen mavisi damlatıldı ve pipete çekilen çözelti ile titrasyon yapıldı, harcanan kaydedildi.

Fehling faktör ayarlanması: Bir erlene 5 ml Fehling A ve 5 ml Fehling B, 20 ml distile su ve kaynama boncuğu konulduktan sonra tüp üzerinde kaynamaya bırakıldı. Kaynamaya başladıktan sonra kaynama 2 dk boyunca devam edildi ve bu süre sonunda 5-6 damla metilen mavisi damlatıldı ve pipete çekilen standart invert şeker çözeltisi ile titrasyon yapıldı ve harcanan standart invert şeker miktarı kaydedildi.

Burada dikkat edilmesi gereken nokta Fehling faktör ayarlanmasındaki titrasyonda standart invert şeker çözeltisi kullanılırken bal örneğindeki invert şeker ve toplam şeker miktarının belirlenmesinde ise numuneden hazırlanan deney çözelti kullanıldı.

$$\text{Faktör hesaplanması (F)} = (\text{Harcama} \times 2,5) / 1000$$

Harcama; Başlangıçta konan standart invert şeker çözeltisi ile titrasyon sonunda kalan standart invert şeker çözeltisi arasındaki farktır.

$$\text{Toplam şeker formülü (\%)} : \frac{200}{\text{N(numune)}} \times \frac{100}{50} \times \frac{\text{Faktör}}{\text{Harcanan sarfiyat}} \times 100$$

Bal numunesinden 5 gr alındığı için formülde numune yazılan kısma 5 yazılacaktır. Faktör hesaplanmasında ise titrasyonda standart şeker çözeltisinden 20 ml harcandı. Bunu formülde yerine koyarsak; Faktör hesaplanması (F) = (Harcama x 2,5) / 1000
F = (20x 2,5) / 1000 =0,05

$$\text{Toplam şeker (\%)} : \frac{8000 \times 0,05}{\text{Harcanan sarfiyat}} = \frac{400}{\text{Harcanan sarfiyat}}$$

İnvert şeker hesaplamasında, 400/2 = 200 faktör olarak kabul edilir.

$$\text{İnvert şeker (\%)} : \frac{400/2}{\text{Harcanan (deney çözeltisi) sarfiyat}}$$

Sakaroz miktarı (%): Toplam şeker (%) -- İinvert şeker (%)

2.2.2.12. Nem içeriğinin Belirlenmesi

Balın nem içeriği refraktometrede 20°C' de elde edilen kırılma indisi kullanılarak ve nem hesaplama çizelgesinden yararlanılarak belirlenmiştir (AOAC, 2006). Bal örneklerinden bir miktar alınıp refraktometrenin prizması üzerine konuldu, hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapağı kapatıldı ve 20°C' de okuma yapıldı. Okunan kırılma indisinin karşılığı % nem miktarı çizelgeden okundu.

2.2.3. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.2.3.1. Agar Disk Difüzyon Metodu ile Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

Bal örneklerinin antimikrobiyal aktivite testleri Berghe ve Vlietinck tarafından açıklanan metoda göre gerçekleştirildi (Berghe ve Vlietinck, 1991). Çözücüleri uçurulmuş kuru bal ekstreleri, 25 mg/ml olacak şekilde dimetilsulfoksit (DMSO) içerisinde çözüldü. HPLC saflıkta filtrasyon yapan 0,22 µm' lik naylon membran filtreler kullanılarak süzülen ekstreler kullanılmıştır. Testte kullanılan mikroorganizmaların kültür süspansiyonundan 200'er µl (yaklaşık olarak Mc Farland 0,5 eşitliğine göre 10⁶ koloni içerir), Mueller Hinton Agar içeren petri kaplarına aktararak eküvyon çubuğu ile yüzeye yayıldı. Daha sonra 6

mm çapa sahip 40'ar µl (20 µl +20 µl) ekstre emdirilen diskler, steril bir pens yardımıyla üzerine bakteri ekilen petri kapları içerisindeki besiyerine yerleştirildi. Negatif kontrol olarak 40 µl DMSO emdirilen diskler kullanıldı. Streptomisin, referans antimikrobiyal olarak kullanıldı. Petri kapları 1 saat 4 °C' de daha sonra 24 saat 37 °C' de inkübe edildi. Antimikrobiyal aktivite, ekstre emdirilen disklerin etrafındaki zonların çapının ölçülmesi ile belirlendi (Berghe ve Vlietinck, 1991; Eloff, 1998).

2.2.4. İstatistiksel Analizler

Tüm ölçümler 3 kez tekrarlandı veyapılan analizler student's t-test programı kullanılarak $p < 0,05$ güven aralığında çalışıldı.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Ekstraksiyon Verimi ile İlgili Bulgular

Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen ekstre miktarları Çizelge 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Bal örneklerinden elde edilen ekstre miktarları

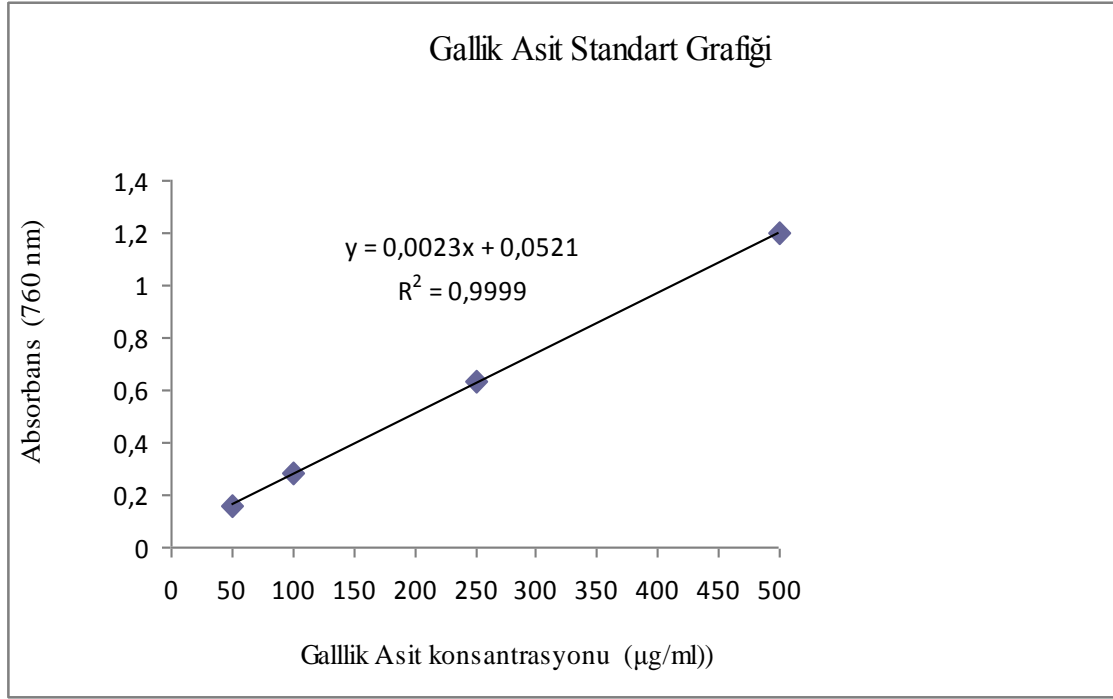
Bal Örneği	Bal Miktarı (gr)	Ekstre Miktarı (mg)
Genç Balı	100	58
Yedisu Balı	100	50
Merkez Balı	100	82,7
Adaklı Balı	100	78,2
Karlıova Balı	100	56,2
Solhan Balı	100	87,1

3.2. Antioksidan Araştırma Bulguları

3.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı ile İlgili Bulgular

Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak yapılan toplam fenolik bileşik tayininde en sık kullanılan standart bileşik gallik asittir. Bunun için öncelikle galik asitten standart grafik hazırlandı. Toplam fenol içeriği, standart eğri grafiği kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar gallik asit (mg/g ekstre) eşdeğeri olarak ifade edildi.

Standart grafikten elde edilen formülden de bal ekstralarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarları galik asit ekvalent (GAE) olarak hesaplandı (r^2 : 0,999). Bu amaçla gallikasit kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği Şekil 3.1' de görülmektedir.



Şekil 3. 1. Gallik asit standart çalışma grafiği

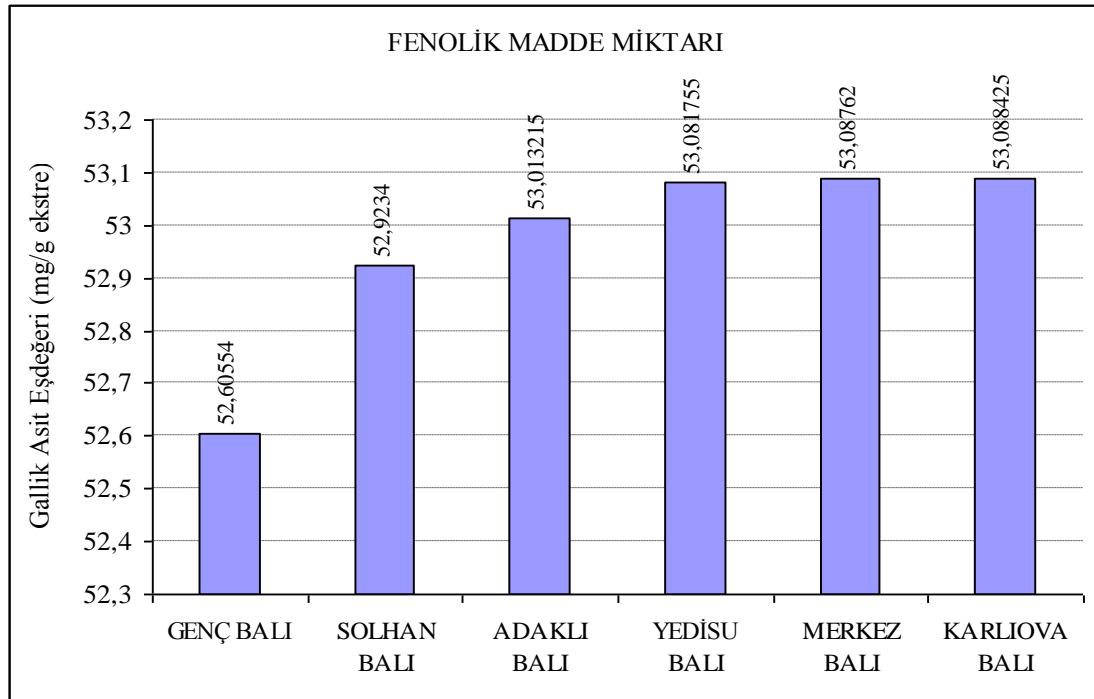
Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstralarının 1 g'da bulunan toplam fenolik bileşik miktarı çizelge 3.2'de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi bal örneklerinden elde edilen metanolik ekstralarının 1 gramı başına düşen gallik asit eşdeğeri toplam fenolik madde miktarı mg olarak ifade edilmiştir.

Toplam fenolik bileşik miktarı tayini gallik asit kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplanmıştır. 3 paralel tekrar yapılmış yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplanmıştır.

Çizelge 3. 2. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstrelerinin 1 g'ında bulunan toplam fenolik bileşik miktarının ekvalent olarak miktarı

Ekstre	Toplam fenolik bileşik (mg GAE/g ekstre)
Genç Balı	52,60554 ± 0,17012
Solhan Balı	52,92340±0,49636
Adaklı Balı	53,01322±0,39146
Yedisu Balı	53,08176± 0,48677
Merkez Balı	53,08762±0,57215
Karlıova Balı	53,08843±0,32218

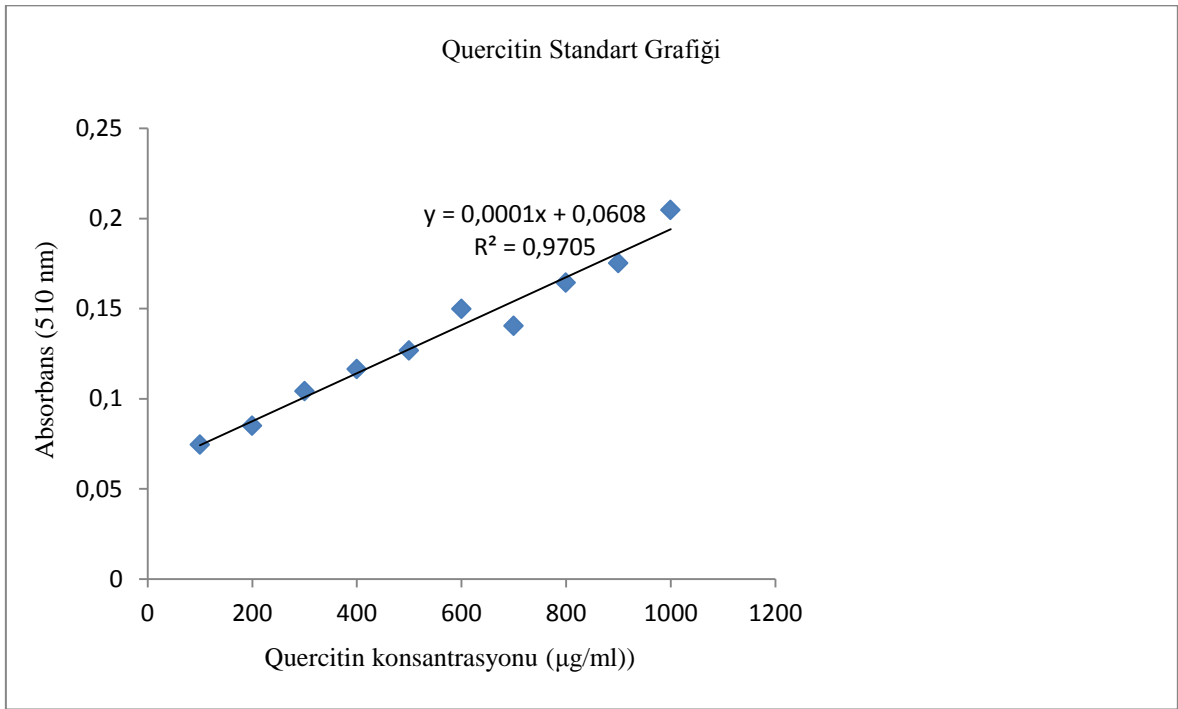
Çizelgedeki fenolik madde miktarları aşağıda Şekil 3.2.' de sütun grafiğine aktarılmıştır.



Şekil 3. 2. Bal ekstralarındaki fenolik madde miktarı

3.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular

Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstralarında bulunan toplam flavonoid miktarı için öncelikle Quercetin kullanılarak bir standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formül yardımıyla ekstralarda bulunan total flavonoid miktarı Quercetin ekivalent (QE) olarak hesaplandı (r^2 : 0,9705). Bu amaçla hazırlanan standart Quercetin'in standart grafiği Şekil 3.3' de verilmiştir



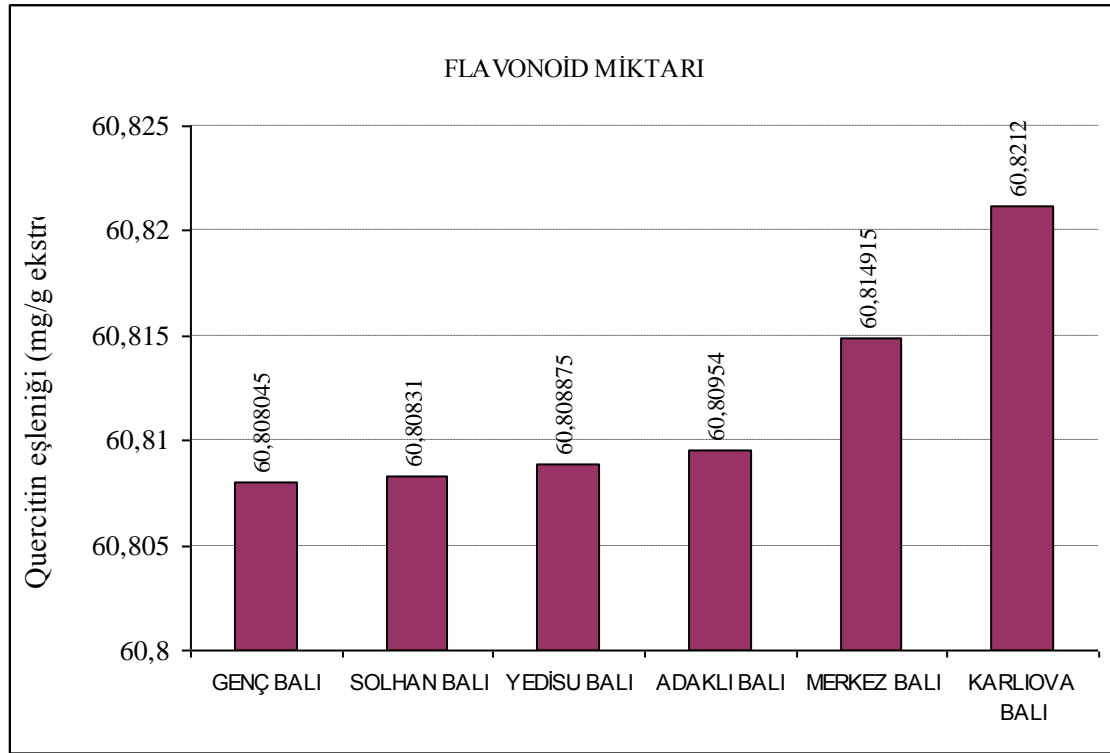
Şekil 3. 3. Toplam flavonoid miktarı tayini için hazırlanan quercetin'in standart grafik

Toplam flavonoid madde miktarı Quercetin kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplanmıştır. 3 paralel tekrar yapılmış yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplanmıştır. Bal örneklerinden elde edilen metanolik ekstralarının 1 gramı başına düşen Quercetin eşdeğeri toplam flavonoid madde miktarı mg olarak çizelge 3.3' de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstralarının 1 g'ında bulunan toplam flavonoid bileşik miktarının ekvalent olarak miktarı

Ekstre / Sayısı	Toplam flavonoid miktarı(mg QE/g ekstre)
Genç Balı(1)	60,8080±0,0009
Solhan Balı(1)	60,8083±0,0021
Yedisu Balı(1)	60,8089±0,0013
Adaklı Balı(1)	60,8095±0,0012
Merkez Balı(1)	60,8149±0,0108
Karlıova Balı(1)	60,8212±0,0120

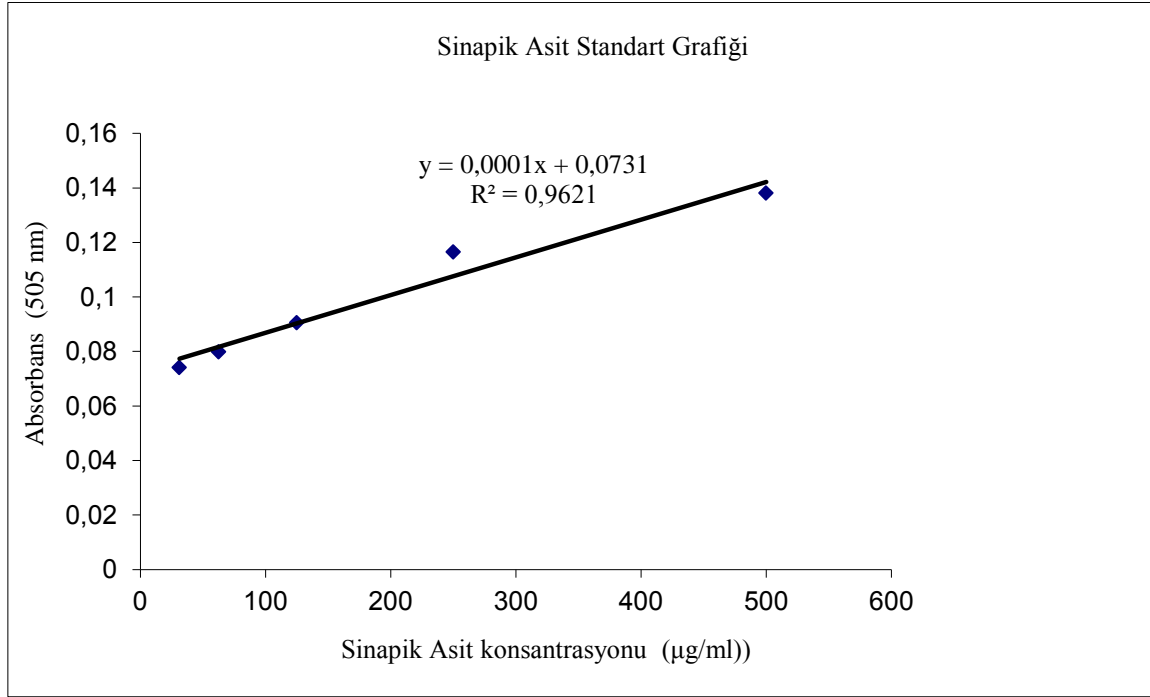
Çizelgedeki flavonoid madde miktarları aşağıda Şekil 3.4' de sütun grafiğine aktarılmıştır.



Şekil 3. 4. Bal ekstralarındaki flavonoid madde miktarı

3.2.3. Toplam Fenolik Asit İçeriği (TPA) Belirlenmesi ile İlgili Bulgular

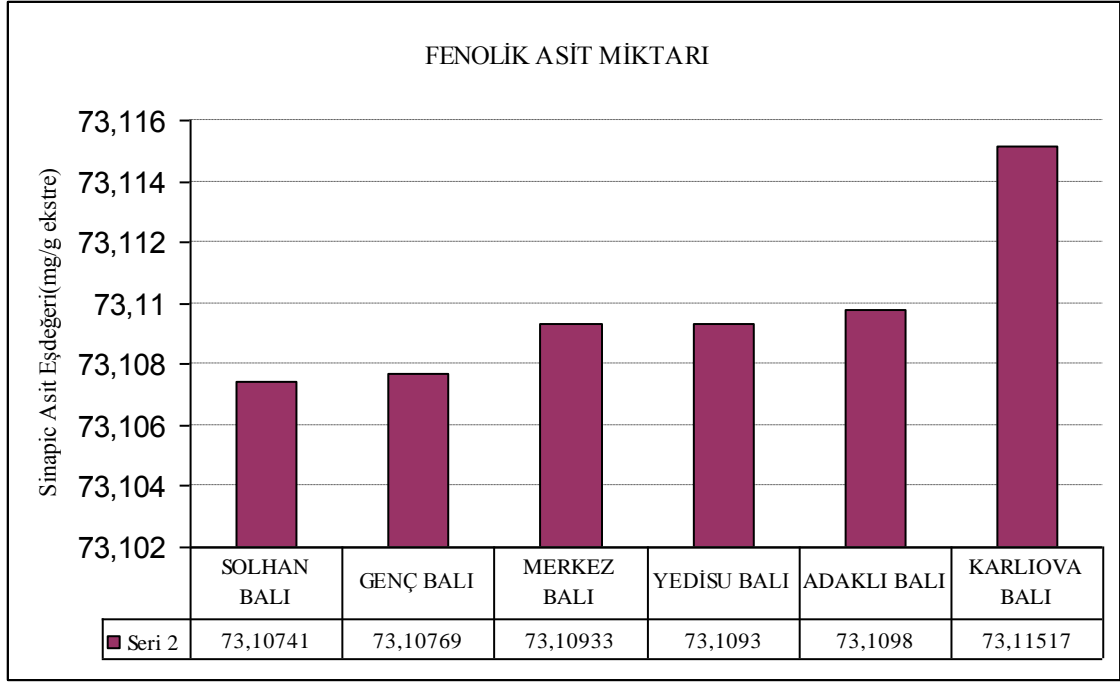
Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstralarında bulunan fenolik asit miktarı için öncelikle sinapik asit kullanılarak bir standart grafik hazırlandı. Standart grafikten elde edilen formül yardımıyla ekstralarda bulunan fenolik asit miktarı sinapik asit ekivalent olarak hesaplandı (r^2 : 0,9621). Bu amaçla hazırlanan standart sinapik asit standart grafiği Şekil 3.5'te verildi.



Şekil 3. 5. Toplam fenolik asit miktarı tayini için hazırlanan sinapik asit standart grafik

Toplam fenolik asit miktarı tayini Sinapik asit kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplandı. 3 paralel tekrar yapılmış ve sonuçların standart sapma ve p değerleri alınmış ve % 95 ($p < 0,05$) güven aralığında anlamlı olarak bulunmuştur.

Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstralarının 1 g' dabalunan toplam fenolik asit miktarı Şekil 3.6' da sütun grafiğinde verildi. Grafikten görüldüğü toplam fenolik asit miktarı bal örneklerinden elde edilen metanolik ekstraların 1 gramı başına sinapik asit eşdeğeri olarak mg cinsinden ifade edilmiştir.



Şekil 3. 6. Bal ekstraktlarındaki fenolik asit miktarı

3.2.4. Toplam β -karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular

β -karoten ve likopen bileşik miktarı tayini Barros ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda metot kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi. 3 paralel tekrar yapılmış yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplanmıştır. Ekstrelerin absorbans değerleri 453, 505 ve 663 nm, dalga boylarında ölçümler yapılarak β -karoten ve likopen içerikleri aşağıdaki hesaplama formülleri kullanılarak belirlendi.

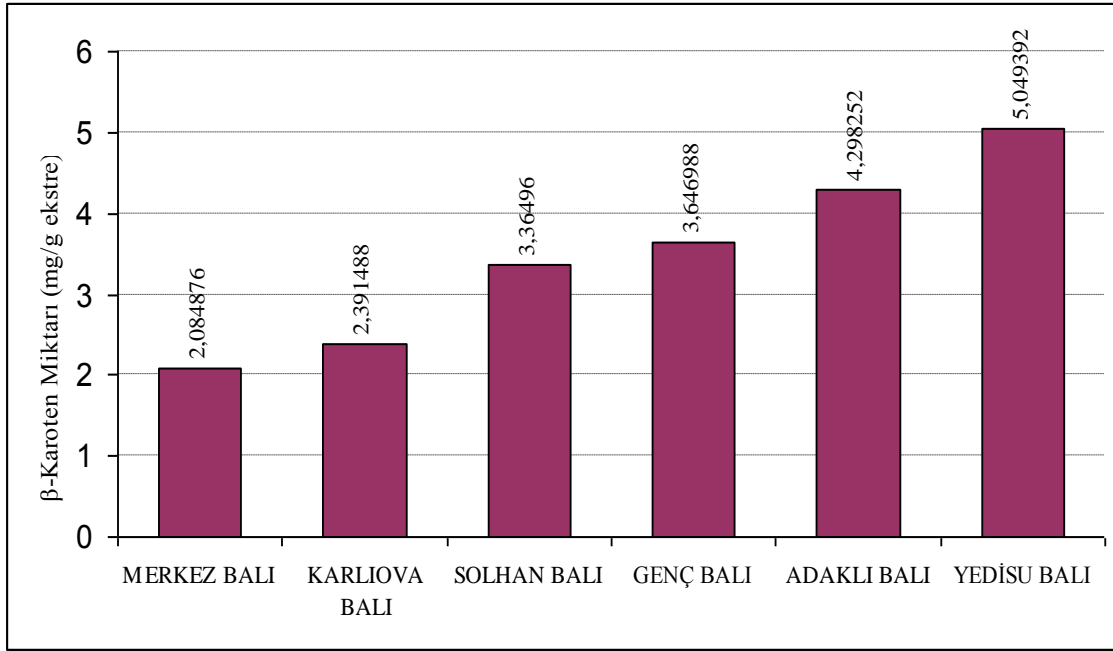
$$\beta\text{-karoten (mg/100 ml)} = 0,216A_{663} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$$

$$\text{Likopen (mg/100 ml)} = -0,0458A_{663} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453}$$

Çizelge 3. 4. Bal ekstrlerinde bulunan β -karoten miktarı (mg/g ekstre)

Ekstreler	mg/g ekstre
Merkez Balı	2,08488 ±0,0424
Karlıova Balı	2,39149±0,0707
Solhan Balı	3,36496±0,0566
Genç Balı	3,64699±0,0636
Adaklı Balı	4,29825±0,0495
Yedisu Balı	5,04939±0,0283

Çizelgede verilen bal ekstrlerinde bulunan β -karoten miktarları aşağıda Şekil 3.7' de sütun grafiğine aktarılmıştır.

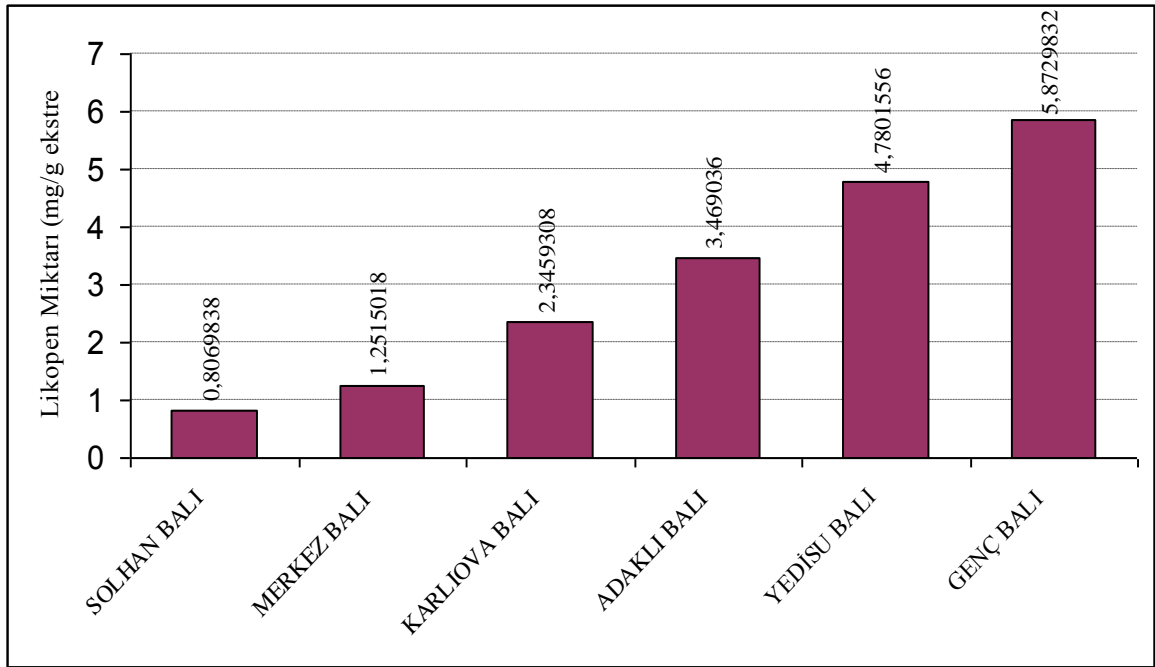


Şekil 3. 7. Bal ekstrlerinde bulunan β -karoten miktarı

Çizelge 3. 5. Bal ekstrlerinde bulunan likopen miktarı (mg/g ekstre)

Ekstreler	mg/g ekstre
Solhan Balı	0,80698±0,0636
Merkez Balı	1,25150 ±0,0849
Karlıova Balı	2,34593±0,0354
Adaklı Balı	3,46904±0,0722
Yedisu Balı	4,78016±0,0488
Genç Balı	5,87298±0,0354

Çizelgede verilen bal ekstrlerinde bulunan likopen miktarları aşağıda Şekil 3.8' de sütun grafiğine aktarılmıştır.



Şekil 3. 8. Bal ekstrlerinde bulunan Likopen miktarı (mg/g ekstre)

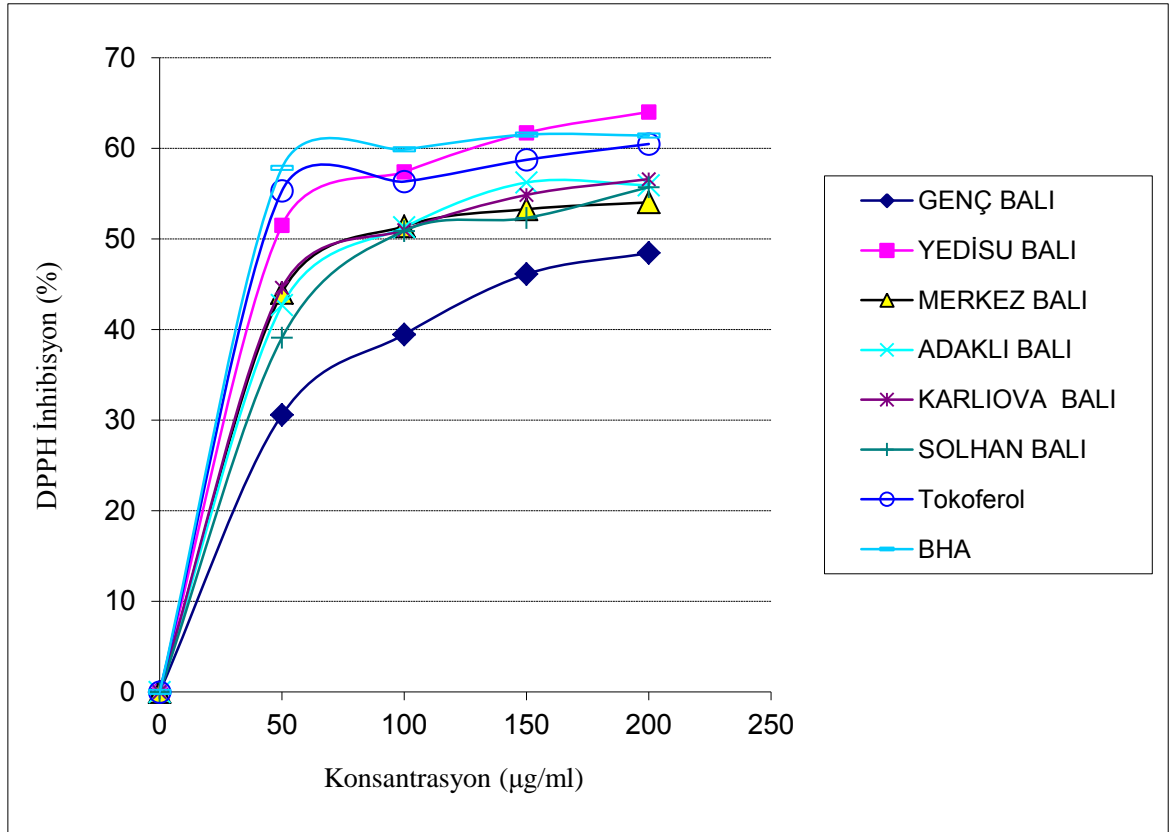
3.2.5. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi İle İlgili Bulgular

Bal örneklerinin antioksidan aktivitesine bağlı gerçek absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine konularak % DPPH inhibisyonu hesaplandı.

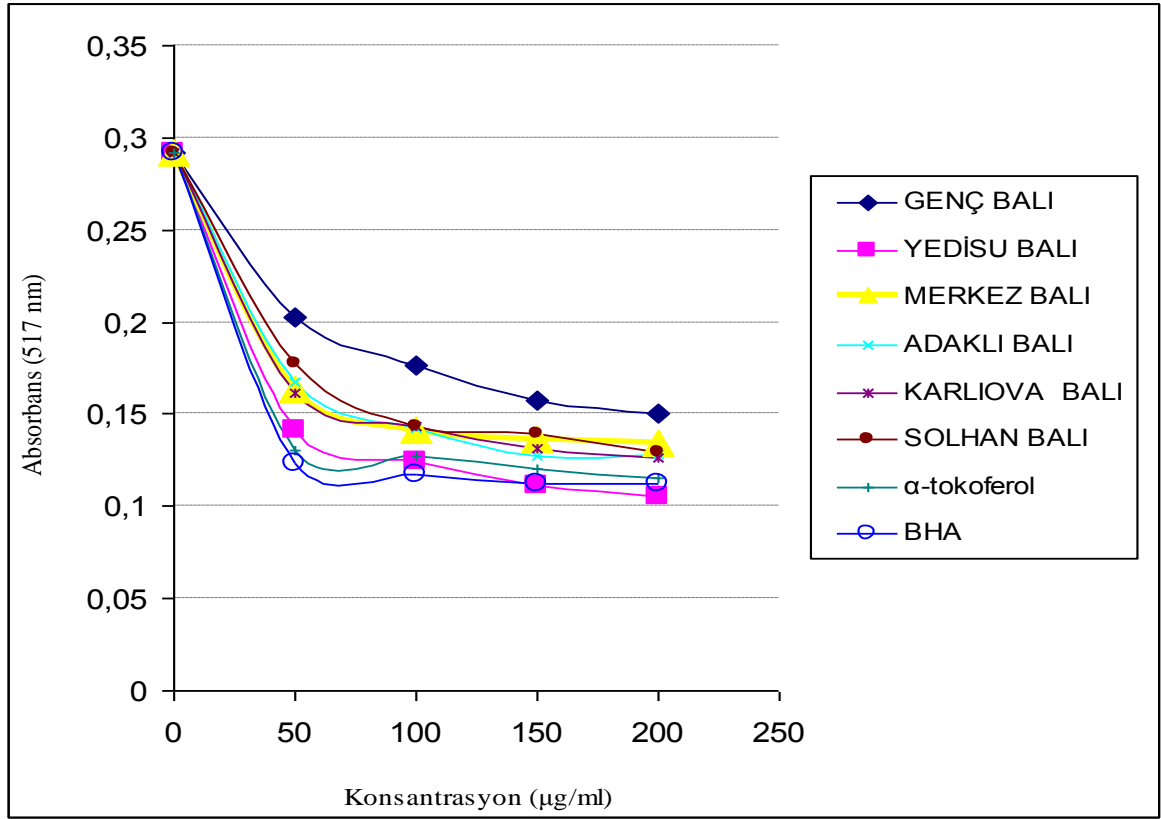
$$\% \text{ DPPH İnhibisyonu} = \frac{\text{Akontrol} - \text{Aörnek}}{\text{Akontrol}} \times 100$$

Bal ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi ile ilgili 3 paralel tekrar yapıldı yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplandı.

Bal ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi Şekil 3.9' da görüldüğü gibi konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmaktadır.



Şekil 3. 9. Bal ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi (% inhibisyon)



Şekil 3. 10. Bal ekstraktlarından elde edilen metanol ekstratlarının farklı konsantrasyonlardaki (50–200 µg/ml) DPPH radikalini indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol ve BHA ile karşılaştırılması

DPPH' konsantrasyonunun yarıya indiği durumdaki antioksidan konsantrasyonu EC₅₀ olarak verilir Başlangıç DPPH konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gereken örnek konsantrasyonu (EC₅₀), antioksidan aktiviteyi hesaplamakta sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Düşük EC₅₀ değeri yüksek antioksidan kapasiteyi gösterir. Ekstrelerin, BHA ve α-tokoferol'ün EC₅₀ değerleri çizelge 3.6' da verilmiştir.

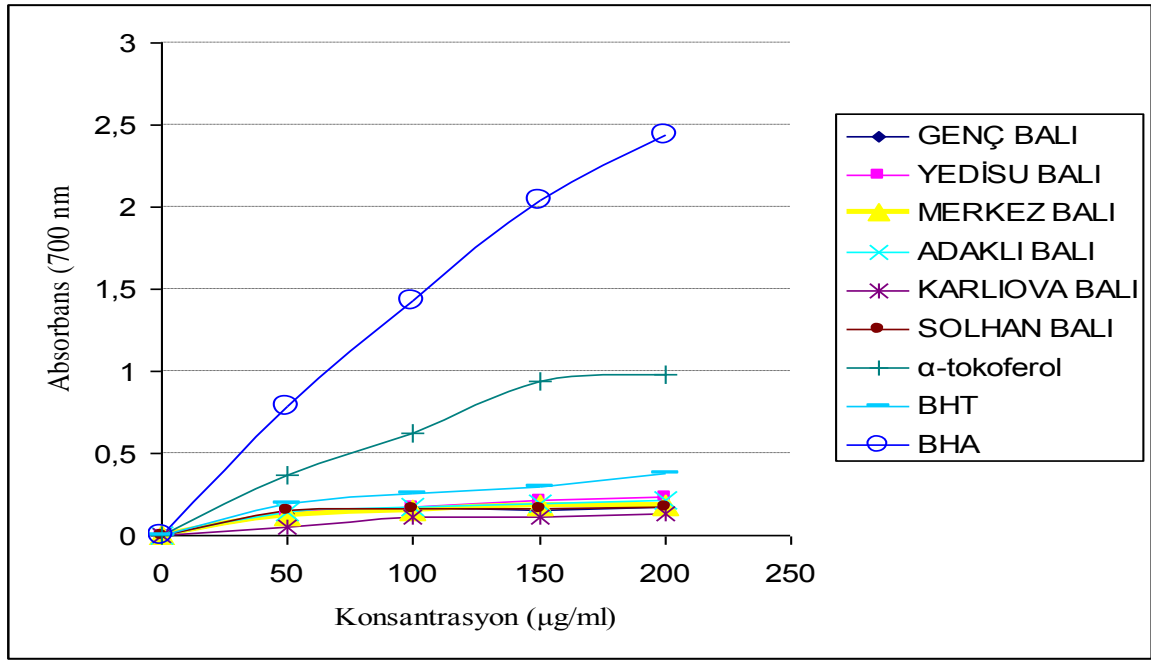
Çizelge 3. 6. Bal örneklerinin ve pozitif kontrollerin, DPPH radikalının % 50 inhibisyonunu sağlayan derişimleri

Ekstre	EC ₅₀ (mg/ml)
Genç Balı	174,37±1,414
Solhan Balı	129,83±1,061
Karlıova Balı	119,75±1,202
Merkez Balı	106,25±1,556
Adaklı Balı	93,83±1,414
α-Tokoferol	93,50±1,131
BHA	29,40±0,919
Yedisu Balı	26,75±0,523

3.2.6. İndirgeyici Güç Özelliğinin Ölçülmesi İle İlgili Bulgular

İndirgenme gücü Oyaizu (1986) metoduna göre tayin edildi. Antioksidan çalışmalarda kullanılan bu metotta örnekteki redükthanların (antioksidanların) varlığında Fe⁺³ ferrik siyanit kompleksi, Fe⁺² formuna indirgenir. Bal örneklerinin indirgeyici güç özellikleri ile ilgili 3 paralel tekrar yapıldı yapılan ölçümler p<0,05 güven aralığında hesaplandı.

Bal örneklerinin indirgeyici güç özellikleri ile ilgili absorbans-konsantrasyon grafiğı Şekil 3.11.' de gösterilmiştir.



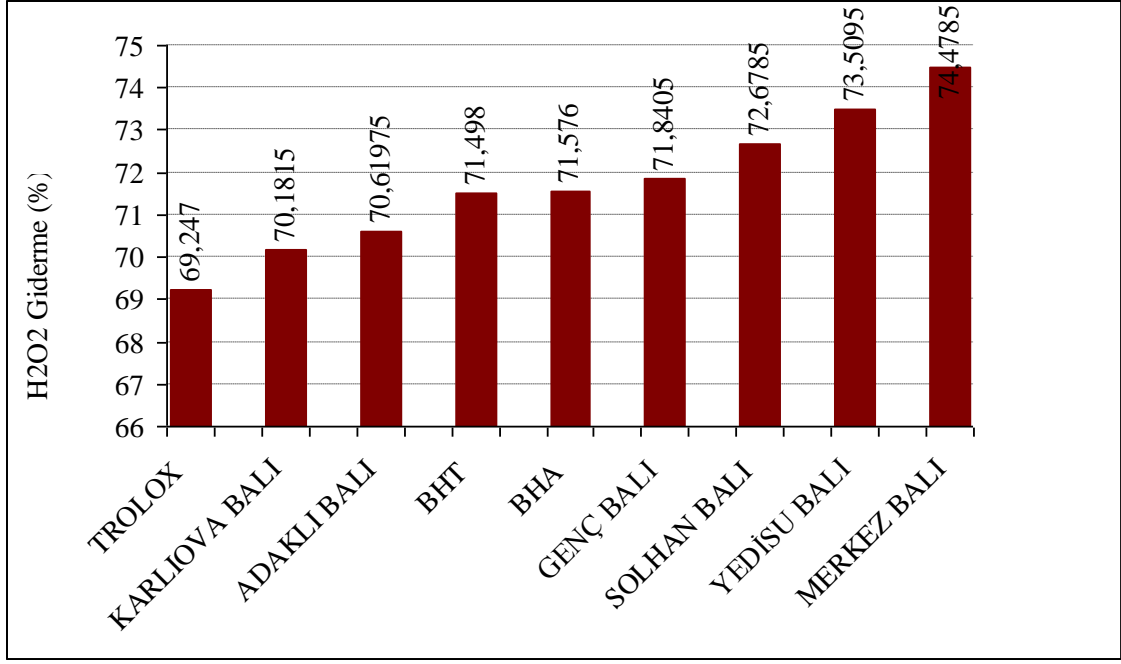
Şekil 3. 11. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarda (50-200 µg/ml) indirgeme kuvvetlerinin birer standart antioksidan olan α-tokoferol, BHA ve BHT ile karşılaştırılması

3.2.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular

Bal örneklerinin metanol ile hazırlanan ekstralarının hidrojen peroksit giderme aktivitesi Ruch (1989) ve arkadaşlarının belirledikleri metoda göre yapıldı. Bu yöntem, antioksidanların H_2O_2 'e elektron vererek, onu suya indirgemelerine dayanmaktadır. Bal ekstralarının konsantrasyonu arttıkça H_2O_2 konsantrasyonu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır.

Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstraları 10 µg/ml konsantrasyonunda hidrojen peroksit giderme aktivitesi birer standart antioksidan olan BHA, BHT ve Troloks ile karşılaştırması Şekil 3.12' de verilmiştir.

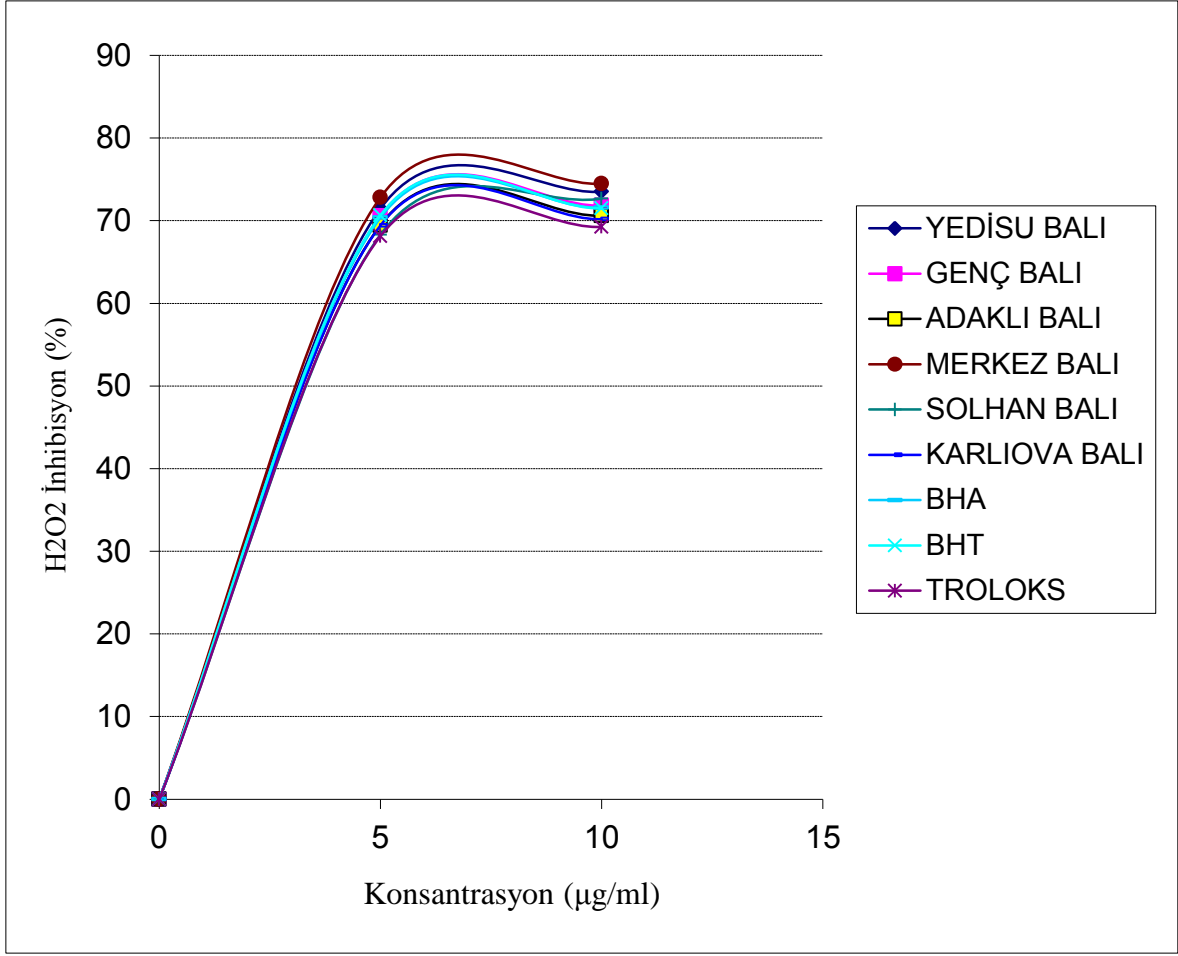
Bal örneklerinin hidrojen peroksit giderme aktivitesi ile ilgili 3 paralel tekrar yapıldı yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplandı.



Şekil 3. 12. Bal örneklerinin ve standart antioksidanların 10 µg/ml konsantrasyonunda H₂O₂ giderme aktivitesi

% H₂O₂ inhibisyon değerleri, artan bal ekstraktları konsantrasyonuyla birlikte arttığı görülmüştür. Bal ekstrakt miktarı artarken absorbansın azaldığı görülmüştür.

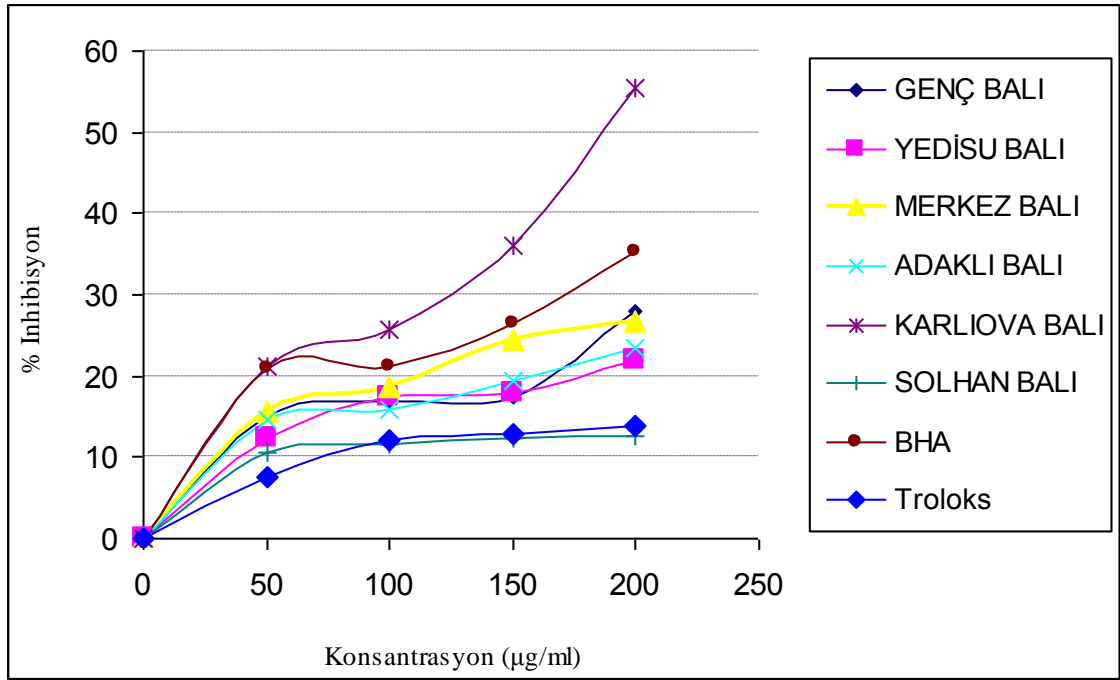
Bal ekstraktlarının H₂O₂ radikali giderme aktivitesi Şekil 3.13' de görüldüğü gibi konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmaktadır.



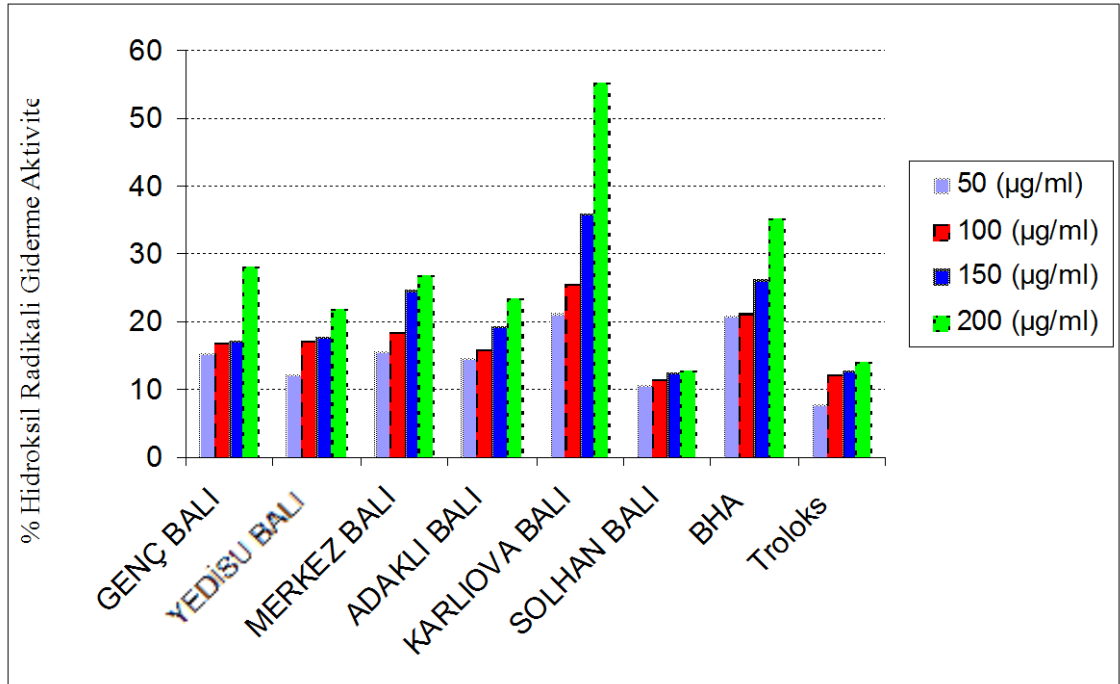
Şekil 3. 13. Bal ekstraktlarından elde edilen ekstralarının 5-10 µg/ml konsantrasyonlarında H₂O₂ radikali giderme aktivitesi birer standart antioksidan olan α-tokoferol, BHA ve troluks ile karşılaştırılması

3.2.8. Hidroksil radikali giderme özelliğinin belirlenmesi İle İlgili Bulgular

Bal örneklerinin hidroksil radikali giderme özelliğiyle ilgili 3 paralel tekrar yapıldı yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplandı. Bal ekstralarının OH[•] radikali giderme aktivitesi Şekil 3.14' de görüldüğü gibi konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmaktadır.



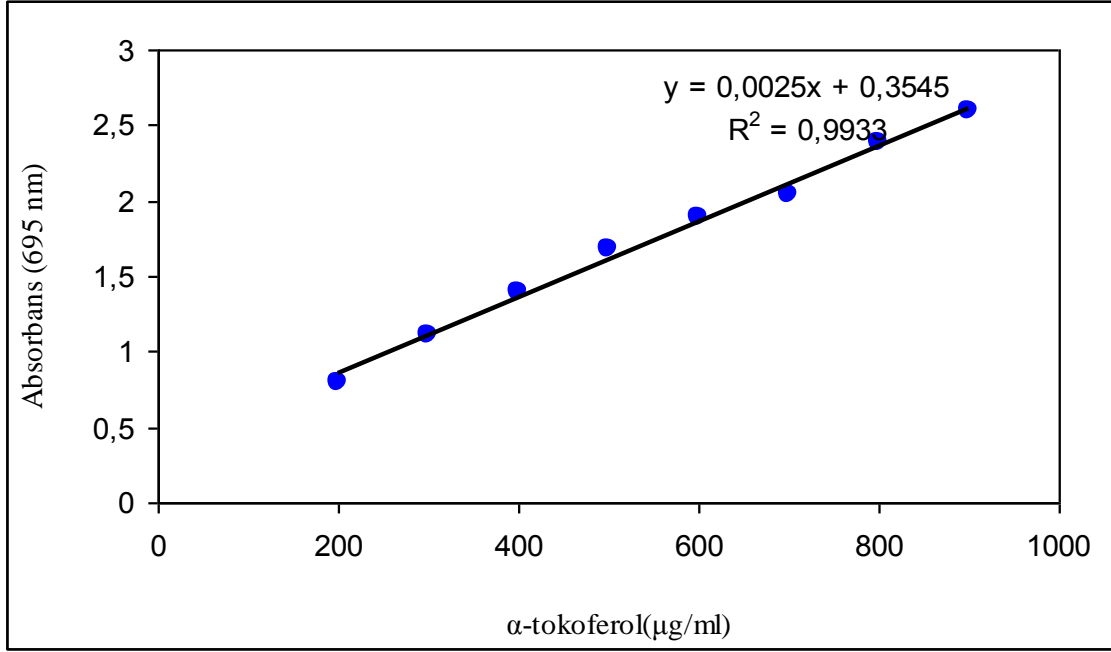
Şekil 3. 14. Bal ekstrlerinin OH radikalini giderme aktivitesi (% inhibisyon)



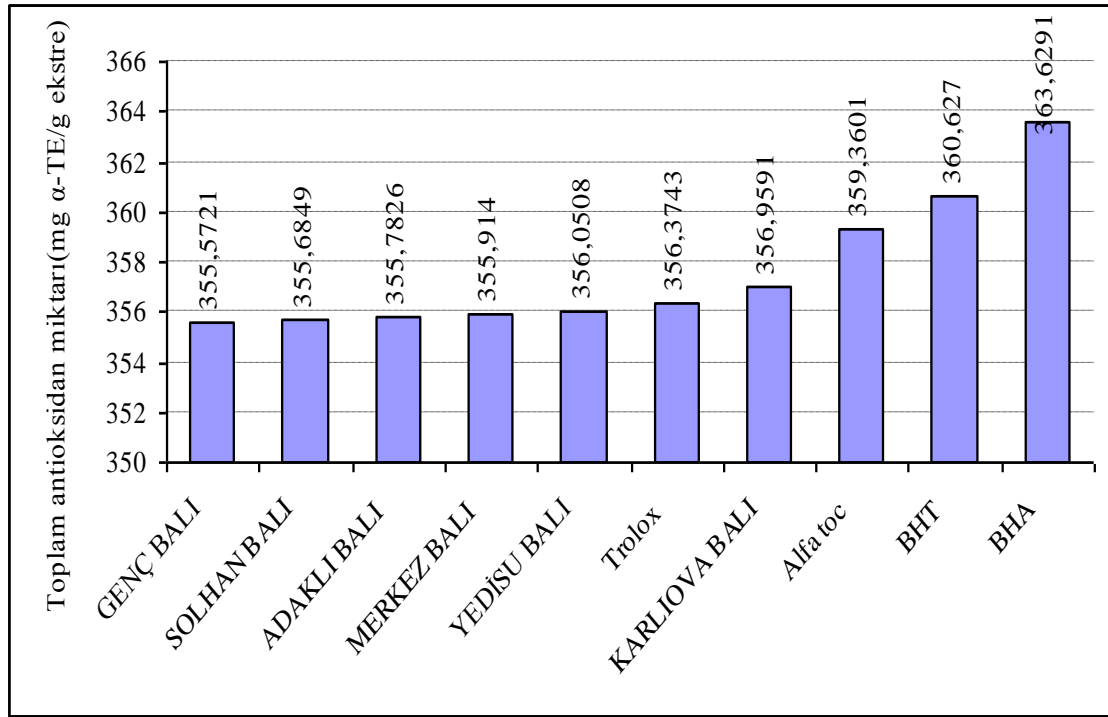
Şekil 3. 15. Bal ekstrlerinin BHA ve troloks'ün farklı konsantrasyonlarının % hidroksil radikalı giderme aktiviteleri

3.2.9. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular

Çalışmada kullandığımız metanol ile hazırlanmış bal örneklerinin antioksidan kapasitesi spektrofotometrik fosfomolibden yöntemine göre belirlendi. Bal örneklerinin toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi ile ilgili 3 paralel tekrar yapıldı yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplandı. Sonuçlar mg α - TE/g ekstre şeklinde verildi.



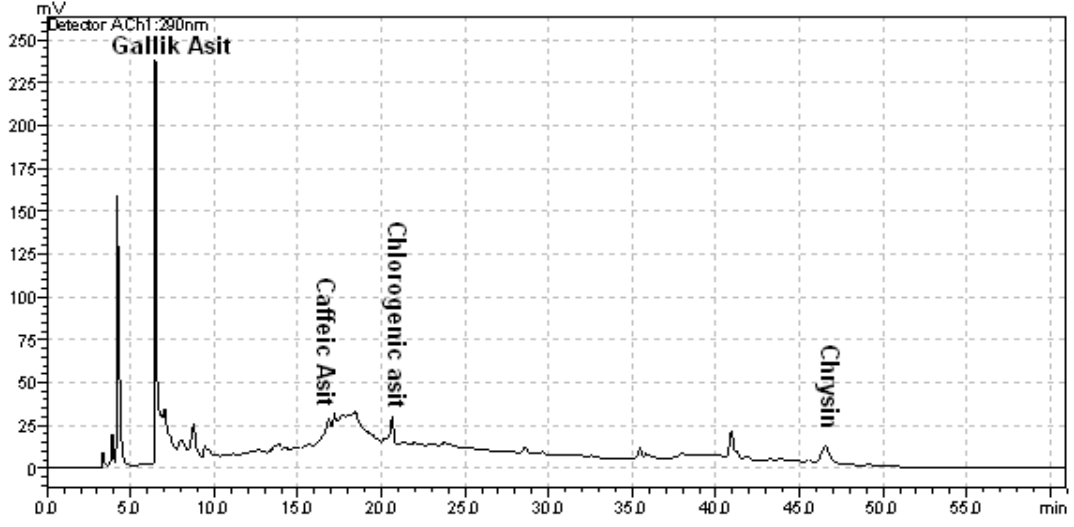
Şekil 3. 16. Toplam antioksidan aktivite tayini için hazırlanan α -tokoferol standart grafik



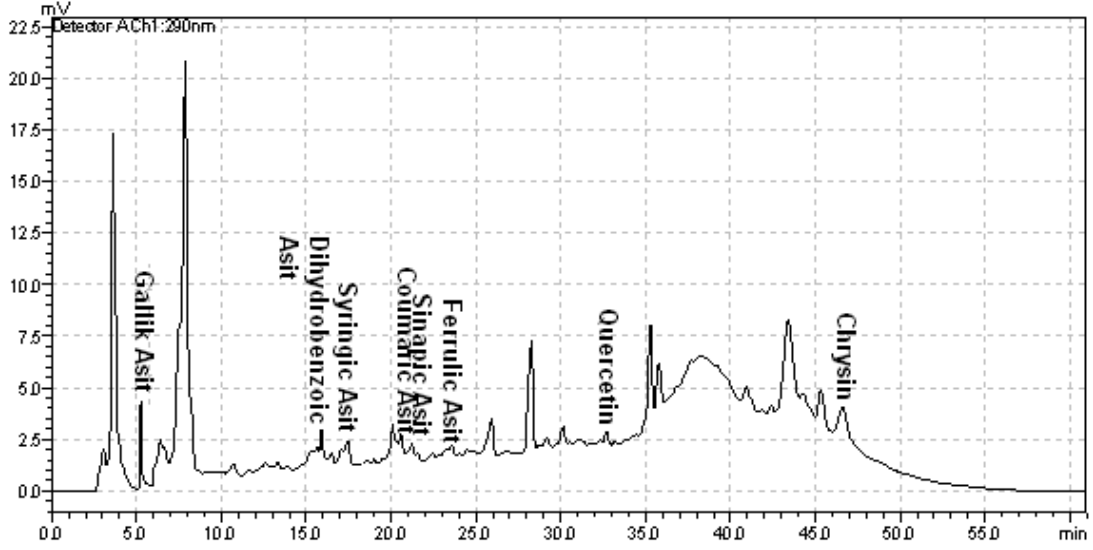
Şekil 3. 17. Bal ekstrelerindeki toplam antioksidan aktivite

3.2.10. HPLC Analizi ile İlgili Bulgular

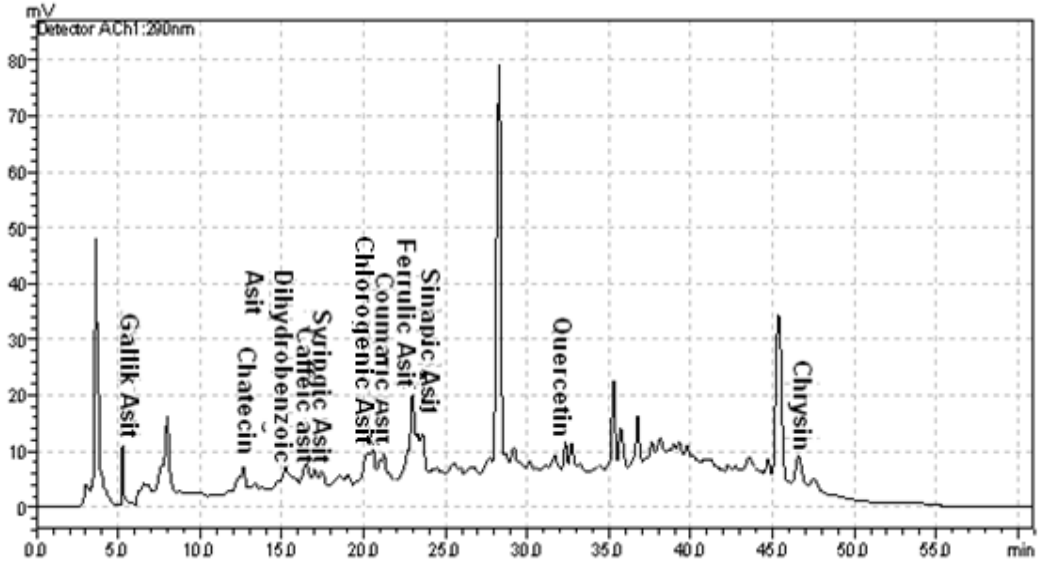
HPLC analizi yapılan balların kromatogramları aşağıda verilmiştir. Bu kromatogramların üzerinde bulunan bileşiklere ait pikler ve isimleri gösterilmiştir. Kromatogramlardan görüleceği üzere yüksek antioksidan aktivite gösteren balların kromatogramlarında yoğun çıkmıştır. Yoğun kromatogramlar da fenolik bileşikler açısından yoğun olduğunda gözlemlenmektedir.



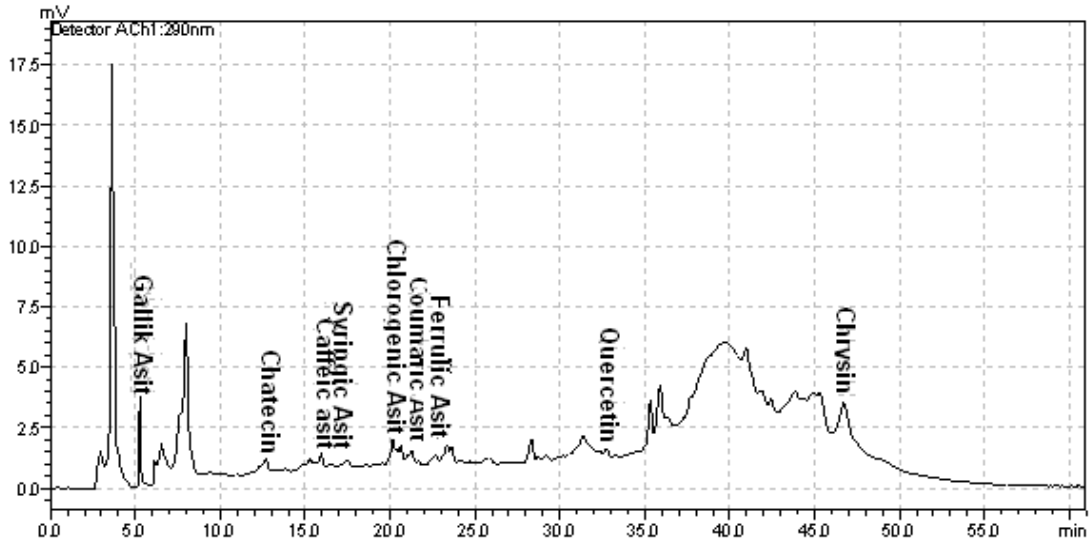
Şekil 3. 18. Genç balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı



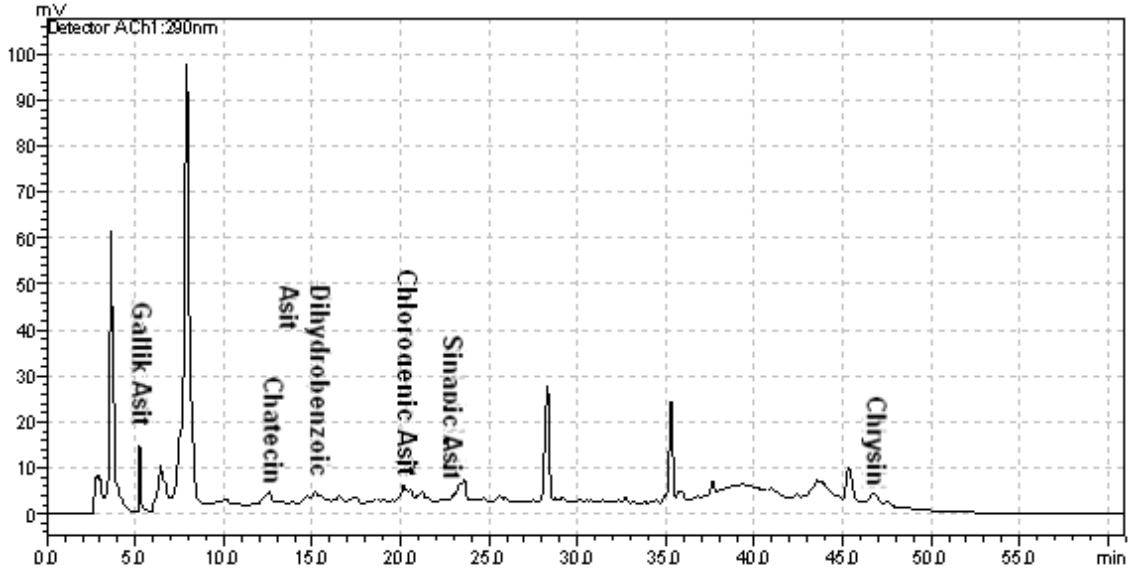
Şekil 3. 19. Solhan balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı



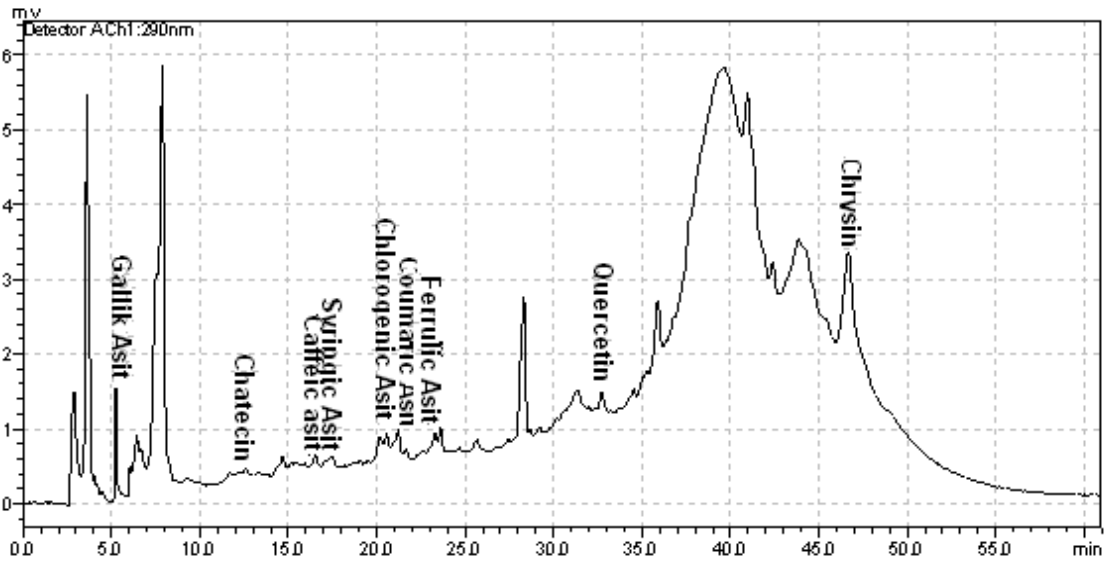
Şekil 3. 20. Karlıova balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı



Şekil 3. 21. Yedisu balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı



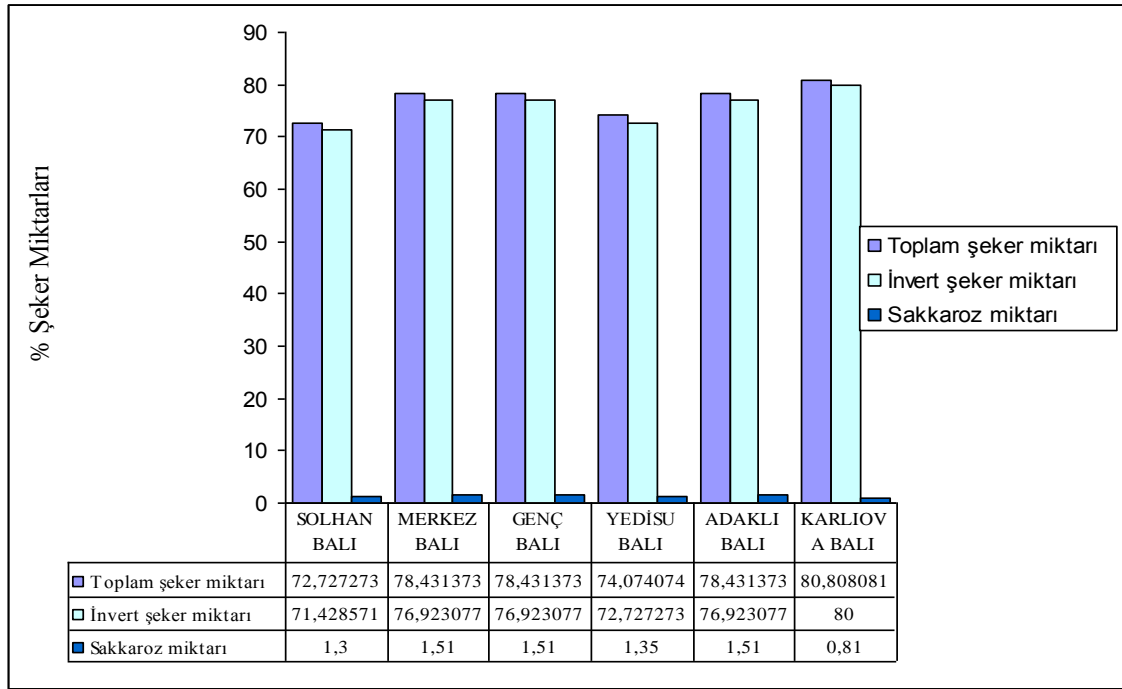
Şekil 3. 22. Adaklı balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı



Şekil 3. 23. Merkez balı ekstresindeki fenolik maddeleri gösterir HPLC kromatogramı

3.2.11.İndirgen Şeker İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Bulgular

İnvert şeker cinsinden eşdeğeri bilinen bakır (II) çözeltisinin belli bir hacmi, bazık ortamda deney konusu baldan hazırlanan sulu çözelti ile metilen mavisi indikatörüne karşı titre edildi (Anonim, 2005). Bal örneklerinin indirgen şeker içeriğinin belirlenmesi ile ilgili 3 paralel tekrar yapıldı yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplandı. Bal örneklerindeki toplam şeker, invert şeker ve sakkaroz miktarları hesaplanarak Şekil 3.24.' te gösterildi.



Şekil 3. 24. Bal örneklerindeki toplam şeker, invert şeker ve sakkaroz miktarı

3.2.12. Nem içeriğinin Belirlenmesi ile ilgili bulgular

Bal numunelerinin bal içerikleri hesaplanarak Çizelge 3.7.' de verildi.

Nem içeriğinin belirlenmesi ile ilgili 3 paralel tekrar yapıldı yapılan ölçümler $p < 0,05$ güven aralığında hesaplandı

Çizelge 3. 7. Bal örneklerinin nem içeriği

Bal örnekleri	Nem miktarı (%)
Solhan Balı	15.0
Merkez Balı	14.6
Adaklı Balı	16.4
Genç Balı	14.6
Karlıova Balı	14.0
Yedisu Balı	16.6

Çizelge 3. 8. Bingöl Yöresinden Toplanan Bal Örneklerinin Antimikrobiyal Etkisi

Mikroorganizma	Genç	Yedisu	Merkez	Adaklı	Karlıova	Solhan	Str.	DMSO
	İnhibisyon zonu, mm							
<i>S. aureus</i> *	7	10	12	R	11	10	25	R
<i>P. aeruginosa</i> *	7	8	11	10	8	9	26	R
<i>Streptococcus sp.</i> *	R	R	R	R	R	R	24	R
<i>K. pneumoniae</i> *	R	9	R	R	9	R	24	R
<i>S.typhimurium</i> *	R	11	11	10	7	8	25	R
<i>E. coli</i> *	R	10	10	10	R	R	26	R
<i>B. subtilis</i> *	R	8	9	8	8	8	25	R
<i>Candida spp</i> *	R	R	R	7	R	R	25	R
<i>Saccharomycesce revisiae</i> *	R	R	R	R	7	R	23	R

Pozitif kontrol olarak Streptomisin (Str) antibiyotik diskleri kullanılmıştır (Bioanalize). Negatif kontrol olarak DMSO (Merck) kullanılmıştır.

(*) : Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup disklere 40'ar µl ekstre emdirilmiştir.

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda modern ve hızlı yaşam ile artan nüfus insanların beslenme şeklindeki değişikleri ortaya çıkartmıştır. Bu değişimler sonucunda yapay besinler, fabrikasyona dayalı ticari ürünlerin tüketim payları daha da çok artmıştır. Bu besinlerin ticari olması ve dolayısıyla ürünlerin raf ömürlerinin uzatılması için antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip sentetik antioksidan ve antimikrobiyal ajanlar gerekli olmaktadır. Yapay sentetik ürünlerin içerisinde çok sayıda yapay ve insan doğasına yabancı kimyevi maddeler bulunmaktadır ve bunlar ticari ürünlerin içerisine eklenmektedir. Bu maddelerin genellikle kanserojen özelliğinin olduğu son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar ile ortaya konmaktadır. Bu eklentilerin varlığı rahatsızlıklara yol açmaktadır. Aynı zamanda raf ömrünü uzatmak için kullanılan ticari kimyevi antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde de artış olmaktadır. Bu nedenden dolayı ülkemizde ve tüm dünyada doğal ve gerçek ekolojik ürünlere ve bu ürünlerden elde edilecek olan antioksidan ve antimikrobiyal ürünlere talep artmıştır. Tez içinde bahsedilen iki özelliği dolayısıyla bal ve türevlerine karşı ilgi ise gün geçtikçe artmaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada bal örneklerinden elde edilen fenolik bileşiklerin metanolik ekstraktlarında radikaller üzerinde; Fe^{+3} - Fe^{+2} transformasyonu metoduna göre indirgeme kapasitesi, fosfomolibden metoduna göre toplam antioksidan aktiviteleri,reaktif oksijen türü olan hidrojen peroksit giderme aktivitesi, OH radikalini giderme aktivitesi, DPPH serbest radikalini temizleme aktiviteleri farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı belirlendi. Ayrıca toplam fenol içeriği, toplam flavonoid içeriği, β -karoten ve likopen içerikleri ve toplam fenolik asit içerikleri belirlendi.

Yine bu çalışmamızda bal örneklerinden elde edilen bu fenolik bileşiklerin çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırıldı. Bal örneklerinden elde edilen fenolik bileşiklerin metanolik ekstraktlarında konsantrasyon aralıklarında (50-200 μ g/ml), artan konsantrasyon ile beraber toplam antioksidan aktivitede, indirgeme kapasitesinde, metal şelatlamada, OH radikalini ve DPPH radikalini giderme aktivitelerinde de artış tespit edildi.

Bunun yanı sıra serbest olmayan reaktif oksijen türü olan hidrojen peroksit gidermede ise 5-10 mg/ml konsantrasyonları çalışıldı. Artan konsantrasyon ile birlikte hidrojen peroksit giderme aktivitesinde artış olduğu görüldü.

Balda antioksidan aktiviteden sorumlu çok sayıda bileşik vardır. Bu bileşiklerin önemli bir kısmı fenolik yapıdadır. Bundan dolayı fenolik bileşik içeriği kimi zaman antioksidan aktivitenin bir ölçüsü gibi düşünülebilir. Fakat bu konuda tespit edilmiş pozitif bir ilişki yoktur. Bu durum antioksidan aktiviteden sorumlu tek faktörün fenolik bileşiklerin miktarının olmadığını göstermektedir. Fenolik maddelerin molekül yapısı, oksidasyonun olduğu ortamdaki çözünürlükleri gibi faktörler maddenin antioksidan özelliğini etkileyebilmektedir (Heim vd., 2002).

Çizelge 4. 1. Bal örneklerinden elde edilen metanol ekstralarının antioksidan ve antiradikal çalışmaları ile ilgili toplu bulgular

Antioksidan Metotlar	Metanolik Bal Ekstraları					
	Genç	Yedisu	Merkez	Adaklı	Karlıova	Solhan
Toplam antioksidan aktivite(mg α - TE/g ekstre)	355,5721	356,0507	355,9140	355,7826	356,9591	355,6848
Fe+3- Fe+2 indirgeme kuvveti (200 μ g/ml)	0,1763	0,2383	0,1883	0,2181	0,1374	0,1705
H ₂ O ₂ giderme aktivitesi (%) (10 μ g/ml)	71,8405	73,5095	74,4785	70,6198	70,1815	72,6785
OH radikalini giderme etksi % (200 μ g/ml)	27,98980	21,83995	26,7766	23,32101	55,42638	12,7089
DPPH•giderme aktivitesi EC ₅₀	174,3750	26,7500	106,2500	93,8300	119,7500	129,8300
Toplam fenolik bileşik miktarı (GAE, mg)	52,6055	53,0817	53,0876	53,0132	53,0884	52,9234
Toplam flavonoid bileşik miktarı (QE, mg)	60,8080	60,8088	60,8149	60,8095	60,8212	60,8083
Toplam Fenolik Asit miktarı (SA)	73,1076	73,1093	73,1093	73,1098	73,1151	73,1074
β -karoten miktarı (mg)	3,6469	5,0493	2,0848	4,2982	2,3914	3,3649
Likopen miktarı (mg)	5,8729	4,7801	1,2515	3,4690	2,3459	0,8069

“Çizelge 4. 1.’in devamı”

Antioksidan Metotlar	Standart Antioksidanlar			
	BHA	α -Tokoferol	BHT	Troloks
Toplam antioksidan aktivite(mg α - TE/g ekstre)	363,62912	359,36012	360,6270	356,3743
Fe+3- Fe+2 indirgeme kuvveti (200 μ g/ml)	2,4391	2,4391	0,1883	-
H ₂ O ₂ giderme aktivitesi (%) (10 μ g/ml)	71,5760	-	71,4980	69,2470
OH radikalini giderme etksi % (200 μ g/ml)	35,3330	-	-	13,9505
DPPH•giderme aktivitesi EC ₅₀	29,4000	93,5000	-	-
Toplam fenolik bileşik miktarı (GAE, mg)	-	-	-	-
Toplam flavonoid bileşik miktarı (QE, mg)	-	-	-	-
Toplam Fenolik Asit miktarı (SA)	-	-	-	-
β -karoten miktarı (mg)	-	-	-	-
Likopen miktarı (mg)	-	-	-	-

Bal örneklerinin antioksidan özellikleriyle ilgili genel bir değerlendirme yapılırsa; ekstreler arasında en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip ekstre Karlıova balı (53,088425 mg GAE/g ekstre) olmakla birlikte Yedisu, Merkez ve Adaklı balları Karlıova balına benzer özellik göstermiştir. Genç balı ve Solhan balı ise bunlardan daha az miktarda fenolik bileşik içermektedirler.

Toplam antioksidan aktiviteye baktığımızda merkez balı dışındaki ekstrelerde fenolik madde miktarı ile toplam antioksidan aktivite arasında pozitif bir korelasyon vardır. Merkez balı fenolik içerik bakımından Yedisu balından daha fazla fenolik maddeye sahipken toplam antioksidan aktiviteye baktığımızda Yedisu balından daha az antioksidan aktiviteye sahip olduğunu görüyoruz buda bize fenolik içerik ile antioksidan aktivite arasında pozitif bir korelasyonun olmadığını göstermektedir.

En yüksek fenolik içeriğe sahip olan Karlıova balı yine yüksek toplam antioksidan aktiviteye de (356,96 mg α -TE/g ekstre) sahip olduğu görüldü. Bu oran ile Karlıova balı troloks ile benzer aktivite gösterirken α -tokoferol, BHA ve BHT' den ise daha düşük aktivite gösterdi.

En düşük fenolik içeriğe sahip olan Genç balı (52,60554 mg GAE/g ekstre) yine en düşük antioksidan aktiviteye sahip olup Solhan balına benzer özellikler göstermektedir.

Bal ekstrelerindeki flavonoid bileşik miktarları Çizelge 3.3' de verildi. Bu ekstrelerin flavonoid bileşik miktarları kıyaslandığına en yüksek flavonoid bileşik miktarı 60,8212 mg KE /g ile Karlıova Balı ekstresinde görüldü, sırasıyla Merkez, Adaklı, Yedisu, Solhan ve Genç şeklinde sıralanmışlardır. Bal ekstrelerinden en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan Karlıova balının yine en yüksek flavonoid madde miktarına (60,8212 mg KE/g ekstre) sahip olduğu görülmekle birlikte diğer bal ekstrelerinde flavonoid bileşik miktarları bakımından benzer özellikler göstermektedirler.

Toplam fenolik asit miktarına bakıldığında yine en fazla miktarın Karlıova balına (73,11517 mg SA/g ekstre) ait olduğu görülmekle birlikte diğer bal ekstreleri de Karlıova balına çok benzer miktarlar içermektedirler.

β -karoten, doğada yaygın olarak bulunan pigmentlerin başında gelmektedir. Bal ekstrelerinin β -karoten içeriğine bakıldığında Çizelge 3.4.' te görüleceği üzere çalışılan ekstreler β -karoten ihtiva etmektedir. Bal ekstrelerindeki β -karoten miktarı en yüksek

Yedisu Balı (5,04939 mg/g ekstre) ekstresinde görülmüştür, sırasıyla Adaklı Balı, Genç Balı, Solhan Balı, Karlıova Balı Merkez Balı ve bunu izlemiştir.

Gıda maddelerindeki pembe-kırmızı renk, ürünlerin bu karakteristik renkleri esas olarak likopenden kaynaklanmaktadır. Karotenoidlerden özellikle likopen, güçlü singlet oksijen süpürücü rol oynar; hücre ve diğer vücut bileşenlerini serbest radikallerin saldırılarından korur ve zincir reaksiyonlarını keser (Durmaz, 2002).

Bal ekstrelerinin likopen içeriğine bakıldığında en fazla miktara sahip olan balın Genç balı (5,049392 mg/g ekstre) olduğu, en az miktara sahip olan balın ise Solhan balı olduğu görüldü.

Bal ekstrelerindeki bulunan β -karoten ile likopen miktarları karşılaştırıldığında β -karoten miktarı Yedisu Balında en fazla iken Merkez Balında en az miktarda bulunmaktadır. Likopen miktarı ise Genç Balında en fazla iken Solhan Balında en az miktarda bulunmaktadır.

Leticia Estevinho ve arkadaşları (2008) Portekiz'in Kuzeydoğusundaki Tras Montes bölgesinin açık ve koyu renkli ballarından elde ettikleri fenolik bileşiklerin DPPH serbest radikalini giderme aktivitesi çalışmasında koyu renkli ballarda artan konsantrasyonla birlikte (12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml) DPPH serbest radikalini temizleme aktivitesinde (% 36,3, % 49,4, % 69,2) artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Yine aynı çalışmada açık renkli ballarda da artan konsantrasyonla birlikte (12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml) DPPH serbest radikalini temizleme aktivitesinde (% 11,0, % 23,5, % 37) artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Bununla birlikte bizim yaptığımız çalışmada bal örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktların, DPPH serbest radikalini giderme aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak artmıştır. Yapılan bu çalışmada bal ekstraktlarının antiradikal aktivite gösterdiği ve kararlı DPPH radikalini inhibe ettiği tespit edilmiş olup Leticia Estevinho ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmalara benzer özellikler göstermiştir.

Başlangıç DPPH konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gereken örnek konsantrasyonu EC_{50} olarak verilir (EC_{50}), antioksidan aktiviteyi hesaplamakta sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Düşük EC_{50} değeri yüksek antioksidan kapasiteyi gösterir. Bal örneklerinin DPPH radikalini giderme aktivitesine bakıldığında EC_{50} değerleri bakımından en iyi sonucun Yedisu balı ekstresinde (26,75 mg/ml) olduğu görülmüş olup bu miktarların pozitif kontrol olarak kullanılan standart antioksidanlardan α -tokoferol ve BHA' dan daha

düşük EC₅₀ değerlerine sahip olduğu yani Yedisu balının DPHH radikalini giderme aktivitesinin α -tokoferol ve BHA' dan daha yüksek olduğu tespit edildi.

Hidroksil radikali en zararlı serbest radikallerden biridir. Bu radikaller biyolojik makro moleküller (DNA, lipidler , amino asitler ve şekerler) ile direk etkileşip doku hasarına sebep olmaktadır. Vücutta bütün zarlardan kolaylıkla geçebilen hidrojen peroksit (Cadenas, 1989), süperoksit ile tepkimeye girerek reaktif ve toksik etkisi olan hidroksil radikali oluşumuna yol açmaktadır.

Bal örneklerinin OH radikalini giderme aktivitesine bakıldığında, bal ekstrelerinin artan konsantrasyonla birlikte bu radikali giderme aktivitesinde de artış olduğu görülmüştür. Çizelge 4.1' de görüldüğü gibi bal ekstreleri ile standart antioksidanlar konsantrasyonun en yüksek olduğu 200 $\mu\text{g/ml}$ değerlere bakıldığında OH radikalini giderme aktivitesinin en yüksek olduğu ekstre Karlıova balı (55,4263 $\mu\text{g/ml}$) ekstresidir. Karlıova balının OH radikalini giderme aktivitesinin troloks ve BHA' dan daha yüksek olduğu, en düşük aktiviteye sahip bal ekstresinin ise Solhan balı olduğu görülmüş olup troloks'a benzer değer göstermektedir.

Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına karşın zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir.

Bal örneklerinin H₂O₂ radikalini giderme aktivitesine bakıldığında, bal ekstrelerinin artan konsantrasyonla birlikte bu radikali giderme aktivitesinde de artış olduğu görülmüştür. Çizelge 4.1' de görüldüğü gibi bal ekstreleri ile standart antioksidanların H₂O₂ radikalini giderme (%) aktivitesinin en yüksek olduğu ekstre Merkez balı (% 74,4785) ekstresi olduğu görülmektedir. Ayrıca Yedisu, Genç ve Solhan ballarının H₂O₂ radikalini giderme aktivitesinin pozitif kontrol olarak kullanılan standart antioksidanların Trolox, BHA ve BHT' den daha yüksek olduğu Adaklı ve Karlıova ballarının ise BHA ve BHT' den daha düşük troloksdan ise daha yüksek hidrojen peroksit giderme aktivitesine sahip olduğu tespit edildi.

İndirgeme gücü antioksidant etkinin bir göstergesidir. Ortamdaki Fe⁺³ iyonlarının Fe⁺² iyonlarına indirgeyebildiği ölçüde, ekstraktların antioksidan aktiviteleri belirlendi.

İndirgeme kapasitesi tayininde yüksek absorbans değerinin yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesi olduğu kabul edilmektedir. Leticia Estevinho ve arkadaşları (2008) Portekiz'in kuzeydoğusundaki Tras Montes bölgesinin açık ve koyu renkli ballardan elde

ettikleri fenolik bileşiklerin indirgeme kapasitesi tayininde koyu renkli ballarda artan konsantrasyonla birlikte (12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml) 700 nm’deki absorbans değerinde (0,23, 0,45, 0,79) artış olduğunu tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada açık renkli ballarda da artan konsantrasyonla birlikte (12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml) 700 nm’deki absorbans değerinde (0,07, 0,12, 0,23) artış olduğunu tespit etmişlerdir.

İndirgeme kapasitesi tayini yönünden bal ekstraktlarının standartlarla kıyaslandığında yüksek aktiviteye sahip olmadığı gözlemlendi. İndirgeme kapasitesi yetenekleri Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi bal ekstraktları ile standart antioksidanlar konsantrasyonunun en yüksek olduğu 200 µg/ml değerlere bakıldığında indirgeme kapasitesinin en yüksek olduğu ekstre Yedisu balı (0,23835 ±0,0231) ekstresidir. Pozitif kontrol olarak kullanılan standart antioksidanlar arasındaki indirgeme gücü ise en yüksek BHA (2,4391±0,0092) > α-tokoferol (0,9828±0,0006) > BHT (0,3809± 0,0042) şeklinde sıralanmaktadır.

Bununla birlikte bizim yaptığımız çalışmada bal örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktların, ferik iyonlarını (Fe⁺³) ferröz iyonlarına (Fe⁺²) indirgeme kuvveti konsantrasyona bağlı olarak artmış olup Leticia Estevinho ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmalara benzer özellikler göstermiştir.

Bal ekstraktlarının HPLC ile yapılan kromatogramlarında yüksek antioksidan aktivite gösteren balların kromatogramlarında yoğun çıktığı görüldü. Yoğun kromatogramlara sahip olan bal ekstraktlarını de fenolik bileşikler açısından yoğun olduğunda görüldü.

Yapılan HPLC analizinde Genç balının krisin, klorojenik asit ve kaffeik asit gibi fenolik bileşikler içerdiği görüldü.

Solhan balının krisin, ferrulik asit, sinapik asit, kumarik asit, siringik asit, dihirobenzoik asit, gallik asit, klorojenik asit ve kaffeik asit gibi fenolik bileşikler içerdiği görüldü.

Karlıova balının krisin, ferrulik asit, sinapik asit, kumarik asit, siringik asit, dihirobenzoik asit, gallik asit, klorojenik asit, kateşin ve kaffeik asit gibi fenolik bileşikler içerdiği görüldü.

Yedisu balının krisin, ferrulik asit, kumarik asit, klorojenik asit, siringik asit, gallik asit, kaffeik asit ve kateşin gibi fenolik bileşikler içerdiği görüldü.

Adaklı balının krisin, sinapik asit, klorojenik asit, dihirobenzoik asit, gallik asit ve kateşin gibi fenolik bileşikler içerdiği görüldü.

Merkez balının krisin, ferrulik asit, kumarik asit klorogenik asit, siringik asit, kaffeik asit, gallik asit ve kateşin gibi fenolik bileşikleri içerdiği görüldü.

İncelemeye alınan bal örneklerinin invert şeker miktarının % 71 - %81, sakkaroz miktarının ise % 0,81 - % 1,51 aralığında olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında bu 6 bal örneğinin Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) Bal Tebliği'ne göre bildirilen minimum değerden (% 60) daha yüksek düzeyde invert şeker içerdiği görüldü. Sakkaroz miktarı yönünden değerlendirildiğinde örneklerin tamamının Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) Bal Tebliği'ne göre bildirilen maksimum değerden (% 5) daha düşük değerlere sahip olduğu tespit edildi. Ballardaki sakkaroz miktarının yüksek değerlerde çıkması balların erken hasat edildiğini ve bu nedenle sakkarozun henüz yeterince glukoz ve fruktoza indirgenmediğini veya arıların sakkaroz içeren şurup ile beslendiğini ya da bala direkt olarak sakkaroz eklendiğini göstermektedir.

Nem miktarı yönünden değerlendirildiğinde örneklerin nem miktarının % 16,6 - % 14 aralığında olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) Bal Tebliği'ne göre bildirilen maksimum değerden (% 20) daha düşük değerlere sahip olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak analize alınan 6 adet bal örneğinin tamamının Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) Bal Tebliği'ne göre istenilen değerlere tam anlamıyla uygunluk gösterdiği ortaya kondu.

Balın üzerinde yapılan mikrobiyolojik çalışmalar balın osmolaritesinden çok, balda bulunan diğer bileşenlerine yönelik yapılmaktadır.

Mundo ve arkadaşları (2004), bal üzerinde yapmış oldukları çalışmalarda balın hastalık ve enfeksiyonlara neden olan birçok mikroorganizmanın gelişimini inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir. Yapılan laboratuvar araştırmaları balın *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, ve *Salmonella enterica*, *Ser. typhimurium* gibi yaralarda bulunan bakterilere karşı etkili olduğunu gösterilmiştir (Mundo vd., 2004).

Cooper ve arkadaşları (1999), Mundo ve arkadaşları (2004), Agbaje ve arkadaşları (2006) bal ile ilgili yaptıkları çalışmalarda *Staphylococcus aureus* bakterisinin en duyarlı mikroorganizma olduğunu tespit etmişlerdir.

Taormina ve arkadaşları (2001), Basualdo ve arkadaşları (2007) yine bal üzerinde yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Aksoy ve Dığrak (2006), Bingöl yöresinde toplanan bal örneklerinin antimikrobiyal etkisi ile ilgili yapmış oldukları çalışmada bal örneklerinin test mikroorganizmalarının gelişmelerini farklı oranlarda engellediğini Karlıova, Genç, Solhan, Kığı ve Bingöl Merkezden alınan bal örneklerinin oldukça güçlü antimikrobiyal etkilerinin olduğunu özellikle Karlıova’ dan alınan örneklerin test mikroorganizmalarının genel olarak etkili bir şekilde gelişmelerini engellediklerini tespit etmişlerdir.

Aksoy ve Dığrak’ın Karlıova balı ile yapmış oldukları çalışmada bu balın çalışılan tüm mikroorganizmalara (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloaca*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus brevis*, *Enterobacter aeruginosa*, *Corynebacterium xerosis* bakterileri ile *Kluyveromyces marxianus*, *Rhodotorula rubra*, *Candida albicans* mantar türleri) karşı 14-53 mm çapında inhibisyon zonu verdiğini saptamışlardır. Ayrıca Solhan balının *Pseudomonas aeruginosa*, Genç balının *Enterobacter cloaca* ve Merkez balının *Pseudomonas aeruginosa* ile *Enterobacter cloaca* bakterileri dışındaki diğer tüm mikroorganizmalar üzerinde 12-62 mm çapında inhibisyon zonları oluşturarak etkili olduklarını tespit etmişlerdir.

Leticia Estevinho ve arkadaşları (2008) Portekizin Kuzeydoğusundaki Tras Montes bölgesinin açık ve koyu ballardan elde ettikleri fenolik bileşikler üzerinde yaptıkları antimikrobiyal çalışmada *Staphylococcus aureus* (zon çapı, 6-9 mm; MİK, 0,4 mg/ml), *Bacillus subtilis* (zon çapı, 6-9 mm; MİK, 4 mg/ml), *Staphylococcus lentus* (zon çapı, 6-9 mm; MİK, 40 mg/ml), *Pseudomonas aeruginosa* (zon çapı<1 mm; MİK, 40 mg/ml), *Escherichia coli* (zon çapı, 6-9 mm; MİK, 40 mg/ml), *Klebsiella pneumoniae* (Koyu bal: zon çapı > 9 mm; MİK, 4 mg/ml, Açık bal: zon çapı, 6-9mm; MİK, 40 mg/ml)’ye karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Leticia Estevinho ve arkadaşları tarafından baldaki fenolik bileşiklere en duyarlı mikroorganizmaların *Staphylococcus aureus* olduğu *Bacillus subtilis*, *S. lentus*, *K. pneumoniae* ve *E. coli* orta derecede duyarlı olduklarını ayrıca gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilere göre daha duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmamızda toplanan bal örneklerine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları çizelge 3.8’ de gösterilmiştir. Çizelgeden görüldüğu gibi, toplanan bal örneklerinin çalışmada kullandığımız test mikroorganizmalarının gelişmelerini farklı oranlarda

engellediği görülmüştür. Genç, Yedisu, Adaklı, Solhan, Karlıova ve Bingöl Merkezden alınan bal örneklerinin antimikrobiyal etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.

Özellikle Karlıova' dan alınan bal örneklerin test mikroorganizmalarının genel olarak etkili bir şekilde gelişmelerini engellemiş olup ayrıca Aksoy ve Dığrak'ın çalışmalarına paralellik göstermiştir.

Antimikrobiyal etkinin en fazla görüldüğü örnek Bingöl merkezden alınan bal örneği olmuştur. Bu örneğin *Staphylococcus aureus*'un gelişmesini en fazla inhibe (12 mm inhibisyon zonu) ettiği gözlenmiştir.

Genel olarak baldaki fenolik bileşiklere en duyarlı mikroorganizmaların *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmamız, Cooper ve arkadaşlar (1999), Mundo ve arkadaşları (2004), Agbaje ve arkadaşları (2006) bal ile ilgili yaptıkları çalışmalara benzer özellikler göstermektedir. *Staphylococcus aureus*'a karşı Adaklı balı dışındaki diğer bal ekstreleri, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı bütün bal ekstreleri, *K. Pneumoniae*'ye karşı Yedisu ve Karlıova balı ekstresi, *Salmonella typhimurium* ve *Bacillus subtilis*'e karşı Genç balı dışındaki diğer bal ekstreleri bu mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. *E.coli*'ye karşı Yedisu, Adaklı ve Merkez balı ekstreleri antimikrobiyal aktivite gösterirken Genç, Karlıova ve Solhan balı ekstreleri ise bu mikorganizma üzerinde inhibisyon etkisi göstermemişlerdir.

Streptococcus sp.'ye karşı hiçbir bal ekstresi antimikrobiyal aktivite göstermemiş olup bu mikroorganizma bal ekstrelerine karşı direnç göstermiştir. Bingöl ili Adaklı ve Karlıova ilçelerinden alınan bal örneğinin antifungal etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Tablodan görüldüğü gibi, bal örnekleri *Candida spp*, *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişmesini inhibe etmiştir (7 mm inhibisyon zonu).

Sonuç olarak, bu çalışmada kullandığımız bal örneklerinin genel anlamda etkili DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, toplam indirgeme gücü, OH radikali ve hidrojen peroksit giderme aktivitesi sergilediği gözlemlendi. Fenol içeriği, toplam antioksidan aktivitesi, toplam β -karoten ve likopen içeriği, flavonoid içeriği ve fenolik asit içeriği bakımından da bal ekstrelerinin etkin bir aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bal ekstrelerinin sergilediği aktivitelerin artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı tespit edildi. Bal ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri pozitif kontrol olarak kullanılan Streptomisin'e

göre daha düşük çıkmasına rağmen, diğer çalışmalarla kıyaslandığında, sonuçların yeterli derecede iyi olduğu gözlemlendi.

Ülkemizin zengin bitki örtüsü, farklı iklim ve coğrafik özellikleri ve nektarlı bitkilerce zengin bir floraya sahip olması nedeniyle ülkemiz arıcılık için son derece elverişli bir ortamasahiptir. Ülkemiz doğal kaynaklar bakımından zengin olduğundan dolayı balın üretimi kolaylıkla yapılabilmektedir. Bal üretimi, arazi kullanımının az olması, maliyetinin düşük olması, verimin kısa bir sürede alınması, daha az iş gücüne ihtiyaç duyulmasından dolayı karlı bir tarımsal faaliyettir..

Bingöl ilinin coğrafyasına bakıldığında arıcılık için son derece elverişli olduğu görülmektedir. Bu bakımdan Bingöl' de tarımsal bir faaliyet olan arıcılık geliştirilerek bal üretimi arttırılmalı, gıda, eczacılık, ilaç ve kozmetik gibi endüstrinin uygun alanlarına katkıda bulunulması sağlanmalıdır. Örneğin bal higroskopik özelliği nedeniyle ekmeğin bayatlamasını geciktirmek amacıyla ekme yapımında kullanılabilir.

Bal antimikrobiyal etkisinden dolayı gıda sanayide geniş kullanım alanı bulabilir. Bu sebeple gıda maddelerinde koruyucu amaçla katılması özellikle son zamanlarda gıda katkı maddelerinin zararlı etkilerinden dolayı doğal gıda tüketme isteği de göz önüne alınacak olursa balın bu özelliklerinin araştırılması bilime katkı sağlayacaktır. Balın antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri ile ilgili yeterli çalışmaların yapılmasına ve balın çeşitli gıdalarla birlikte kullanılarak antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu türlü araştırmaların Bingöl ilinde daha da genişletilerek çalışılması ülkenin doğal zenginliklerinin değerlendirilmesi ve ekonomiye katkı açısından önem arz etmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Agbaje, E.O., Ogunsanya, T., Aiwerioba, O.I.R.,** 2006. Conventional use of honey as antibacterial agent. *Annals of African Medicine* 5, 79–81.
- Aksoy, Z., Dıġrak., M.,** 2006. “Bingöl Yöresinde Toplanan Bal ve Propolisin Antimikrobiyal Etkisi Üzerinde in vitro Araştırmalar”, *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi* (4), 471-478.
- Akkuş, İ.,** 1995. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri, S.Ü., Tıp Fak., Biyokimya A.B.D., Konya.
- Akyüz, E.,** 2007. *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* Bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, (Danışman: Doç. Dr. Murat KÜÇÜK), Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Al-Mamary M, Al-Meeri A, Al-Habori M.,** 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr Res*, 22:1041-7.
- Amor, D.M.,** 1978. Composition, properties and uses of honey- a literature survey. The British Food Manufacturing Industries Research Association, Leatherhead, UK., Scientific and Technical surveys No. 108, 84 pp.
- Anonim.,** 1988. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Arıcılık Kitabı, Ankara.
- Anonim.,** 2005. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği. (Tebliğ No:2005/49) Resmi Gazete Sayı: 26026, 17 Aralık 2005.
- AOAC, 2006.** Official Method 962.19. Association of Official Analytical Chemists(AOAC) Official Methods of Analysis. Arlington:Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Aytuğ, B., Aykut, S., Merev, N., Edis, G.,** 1971. İstanbul Çevresi Bitkilerinin Polen Atlası İstanbul Üniversitesi Yayınları, Yayın No.114.
- Bakan, A.,**2009. *TÜBİTAK, MAM Gıda Enstitüsü* yıldız takımı bilim teknik dergisi eki sayı 10.

- Barros, L., Calhelha, R. C., Vaz, J. A., Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P., Estevinho, L. M.,** 2007. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms. *European Food Research and Technology*, 225, 151–156.
- Basualdo, C., Sgroy, V., Finola, M.S., Marioli, J.M.,** 2007. Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Veterinary Microbiology* 124 (3–4), 375–381.
- Bektaş N.,** 2005. Bazı fenolik asitler ve kombinasyonlarının antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniv., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Benzer F., Ozan.S.T.,** 2003. *Fasciola hepaticae* Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri, *Turk J Vet Anim Sci*, 27: 657-661.
- Benavente-Garcia, O., Casillo, O., Marin, F., Ortuno, A. and Del-Rio, J.,** 1997. Uses and properties of Citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4505-4515.
- Berghe VA, Vlietinck AJ.,** 1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Meth Plant Biochem.*, 6:47–68.
- Blasa, M., Candiracci, M., Accorisi, A., Piacentini, M.P., Albertini, M.C. and Piatti, E.,** 2005. Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*, paper in pres.
- Bravo, L.,** 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56, 317–333.
- Bulut, L.,** 2007. Balda depolama sırasında esmerleşme reaksiyonu kinetiğinin belirlenmesi, (Danışman: Doç. Dr. Meral KILIÇ), İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Cam, M. ve Hışıl Y.,** 2003. Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 2-4 Ekim, s.67-82.

- Cadenas, E.**, 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual Review of Biochemistry*, 58, 79-110
- Chan, K.M., Decker, E.A.**, 1994. Endogenous skeletal muscle Antioxidants, *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 34: 403.
- Chan, J.M., Gann, P.H. and Giovannucci, E.L.**, 2005. Role of diet in prostate cancer development and progression. *J. Clin. Oncol.*, 23; 8152-8160.
- Cooper, R.A., Molan, P.C., Harding, K.G.**, 1999. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *Journal of the Royal Society of Medicine* 92, 283–285.
- Crane, E.**, 1980. *A Book of Honey*, Oxford University Press, Newyork.
- Crane, E.**, 1990. *Bees And Beekeeping*, Heinemann Newnes, London.
- Di Mascio, P., Kaiser, S. and Sies, H.**, 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys.*, 274; 532-538.
- Davidson, P.M., Sofos, J.N., Brenem, A.L.**, 2005. *Antimicrobials in Foods*, third ed. Marcel Dekker Inc., New York. pp. 291–306.
- Durmaz, G.** 2002. Kayısı meyvesinin ve kavrulmuş kayısı çekirdeğinin antioksidan özellikleri. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 95 s., Malatya.
- Dunford, C.**, 2000. The Use of Honey Wound Management. *Nursing Standard*; 15(11), 63-68.
- Dündar Y. ve Aslan R.**, 2000, Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, I. Basım, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon.
- Effem, S.E.E.**, 1988. Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of Surgery* 75, 679–681.
- Ekşi, A., Karadeniz, F.**, 2002. Fenoliklerin gıda bileşeni olarak önemi, *Dünya Gıda*, 2002-4, 64 70.
- Eloff JN.**, 1998. “A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria.” *Planta Med.*, 64:711–713

- Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Dias, L.D., Pereira, E.,** 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 12 ; 3774-3779.
- European Pharmacopoeia,** 2004. fifth ed.. Council of Europe, Strasbourg. pp. 2377–2378.
- Frankel, S., Robinson, G.E., Berenbaum, M.R.,** 1998. Antioxidant capacity and correlated characteristics of fourteen unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research* 37, 27–31.
- Frel B.** 1994. *Natural Antioxidants in Human Health and Disease*, Academic Press.
- Fridovich I.,** 1975. Superoxide Dismutases, *Annu. Rev. Biochem.*, 44, 147-159.
- Gamez-Meza, N., Noriega-Oriega-Rodriguez, JA., Medina-Juarez, LA., Ortega-Garcia, J., Cazarez-Casanova, R., Angulo-Guerrero, O.,** 1999. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from thompson grape bagasse *J.A.O.C.S.*, 76, 1445.
- Gheldof, N., Wang, X-H., and Engeseth, N.J.,** 2002. Identification and quantification of an antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 5870–5877.
- Giovannucci, E.,** 2005. Tomato products, lycopene, and prostat cancer: e review of epidemiologic literature. *J. Nutr.*, 135; 2030S-2031S.
- Gökpınar, S., Koray T., Akçiçek, E., Göksan T., Durmaz, Y.,** 2006. Algal antioksidanlar, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* 23, 85-89 s.
- Gutteridge J M.,** 1995 Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry*, 41:1819-1828
- Gülçin, İ.** 2005. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. 217, 213-220.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L.** 2006a. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research and Technology*, 223, 759–767.
- Gülçin, İ.,** 2006b. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217 (2–3), 213–220.

- Güneş, Ü.Y.**, 2005. “Balın yara bakımında etkinliği”, Cumhuriyet Üniversitesi. Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi, 9 (2).
- Halliwell B., Gutteridge J. M.**,1984.Oxygen toxicity and oxydgen radicals, Transition Metalsand Disease Biochem. J., 219, 1-14.
- Halliwell B., Gutteridge J. M. ve Cross E. C.**, 1992, Free radical, antioxidants, and human disease: Where are we now?, J. Lab. Clin. Med., 119, 598-620.
- Halliwell B.**,1994, Free radicals and antioxidants:A personal view. NutritionReviews, 52(8), 253-265.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T.**, 1988,‘2 new flavonoids and other constituents in licorice root - their relative astringency and radical scavenging effects.’ Chemical and Pharmacological Bulletin 36, 2090–2097.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J.**, 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolismand structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry, 13, 572-584.v
- Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F.,Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B.**, 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. Archives of Internal Medicine, 155, 381-386.
- Hışıl, Y.**, 1984. Baldaki Şekerlerin Yüksek Basınç Sıvı Kromotoğrafisi (HPLC) ile Ayrımı, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi B. 2(1), 1-16.
- Hirano, T., Gotoh, M., Oka, K.**, 1994. Natural flavonoids and lignans are potent cytostaticagents against human leukemic HL-60 cells. Life Science, 55, 1061-1069.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L.**, 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1841-1856
- İbadova, S.**, 2006. Bazı hypericum türlerinin fenolik bileşimi ile antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

- Kazanç M.B.**, 1997. Antioksidan Vitaminler. Sendrom, Temmuz; 14-22.
- Konukoğlu, D.**, 2000. Biyokimya Nobel tıp kitabevi, İstanbul.
- Korkmaz, A.**, 2006. Bal. Samsun valiliği tarım il müdürlüğü çiftçi eğitimi ve yayım Şubesi Yayınları.
- Krell, R.**, 2001. Value Added Products from Beekeeping. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.
- Krell, R.**, 1996. Value Added Products from Beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin. No:124. Rome.
- Krinsky, N.I., Johnson, E.J.**, 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. Mol. Aspects Med., 26; 459-516.
- Kulkarni, S.D., Tilak, J.C., Acharya R., Rajurkar, N.S., Devasagayam, T.P.A., Reddy, A.V.R.**, 2006. Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as an adjunct of growth under different conditions. Phytotherapy Research, 20, 218–227.
- Kumova, U.**, 1986. Ballarda Kalite Kontrolü. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 1(3):12-25.
- Larocca, L.M., Piantelli, M., Leone, G., Sica, S., Teofili, L., Benedetti-Panici, P., Scambia, G., Mancuso, S., Capelli, A., Ranelletti, F.**, 1990. Type II oestrogen binding sites in acute lymphoid and myeloid leukemias: Growth inhibitory effect of oestrogen and flavonoids. British Journal of Hematology, 75, 489–495.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Bacandritsos, N. and Sabatini, A. G.**, 2003. Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys , Journal of Food Engineering, xxx, xxx-xxx.
- Mates J. M., Peres-Gomez C. ve de Castro I. N.**, 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, Clin. Biochem., 32, 595-603.

- Martin, P.G.**, 1979. *Manuals of Food Quality Control: 3- Commodities*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Martin K.R., J.C. Barret**, 2002. Reactive oksijen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity. *Hum.Exp.Toxicol.*21: 71-75
- McCarthy J.**, 1995. The Antibacterial effects of honey, *American Bee Journal*, May;171-2.
- Molan, P.**, 2002. Not all honeys are the same for wound healing. *Bulletin of the European Tissue Repair Society* 9, 5–6.
- Molan, P.C.**, 1992. The antibacterial activity of honey 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World*, 59–76.
- Molan, P.**, 2001. Why Honey is effective as a Medicine, Its Use in Modern Medicine. In “Honey and Healing” ed.: P. Munn and R. Jones. International Bee Research Association, Cardiff, UK, 134-142.
- Molan P** (1996) Antibacterial Properties of Honey, *Hivelights* V:15(1), 19.
- Molan P, Betts J** (2000) Using honey dressing: the practical considerations, *Nursing Times*, December 7, 96(49): 36-37.
- Morse, R. A., Hooper, T.**, 1985. *The Illustrated Encyclopedia of Beekeeping*. Blandford Presss. Poole Dorset.432 p.
- Mundo, M. M., O. I. Padilla-Zakour, R. W. Worobo** 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *International Journal of Food Microbiology* 97. S.1–8.
- Nacz, M., Shahidi, F.**, 2004. Extarction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054,95-111.
- Oyaizu, M.**, 1986. “Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine.” *Japanese Journal of Nutrition* 44, 307–315.
- Özcan, G., Artık, N., Üner, Y.**, 1997. Gıda Katkı Maddelerinin Tüketici Bilinci ve İnsan Sağlığı Açısından İrdelenmesi, *TMMOB*, Eylül, s.31.

- Ötleş, S.**, 1995. Bal ve Bal Teknolojisi (Kimyası ve Analizleri). Alaşehir Meslek Yüksekokulu Yayınları, yayın No: 2.
- Pietta, P., Gardana, C.**, 2003. Flavonoids in herbs, in Flavonoids in Health and Disease 2nd Ed. Revised and Expanded, pp. 49-69, Eds. Rice-Evans, C.A. & Packer, L., Marcel Dekker Inc.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M.**,2001. Antioxidants in food, CRC Press, USA
- Prieto, P.M., Pineda, M. Aguilar.**, 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269,337-341.
- Rao, A.V., Agarwal, S.**, 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr. Res.*, 19; 305-323.
- Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, Vuorela, H., Vuorela, P.**, 2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology* 56, 3–12.
- Robbins R.J.**, 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology, Food Composition Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, USA, 10,2866-2887.
- Rodriguez, G.O., Sulbaran, B., Ferrer, A., Rodriguez, B.**, 2004. Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84, 499-502.
- Roginsky, V., Lissi, E.A.**, 2005. Reviews of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92,235-254.
- Ruch R.J., Cheng S.J., Klaunig J.E.**, 1989. "Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea." *Carcinogenesis*, 10(6),1003-1008
- Sertsever, A., Gök, V.**, 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı, 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 2-4 Ekim, s. 83-98.

- Sevindik, H., 2007.** Pembe greyfurt suyu ve domates pulpunda likopen ve β -karotenin ısı stabiliteleleri,(Danışman: Doç. Dr. Mehmet ÖZKAN) , Ankara üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi
- Singh, N., Bath, P.K., 1997.** Quality evaluation of different types of Indian honey. Food Chemistry, 58, (1–2), 129–133.
- Stahl, W., Junghans, A., De Boer, B., Driomina, E.S., Briviba, K., Sies, H. 1998.** Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. FEBS Lett., 427; 305-308.
- Şahinler, N., Şahinler, S., Gül, A., 2001.** Hatay Yöresi Ballarının Bileşimi ve Biyokimyasal Analizi, *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6, 93-108.
- Tee E.S., 1992.** Carotenoids and Retinoids in Human Nutrition, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 31: 103.
- Taormina, P.J., Niemira, B.A., Beuchat, L.R., 2001.** Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology* 69, 217–225.
- Tolon, B., 1999.** Muğla ve Yöresi Çam Ballarının Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Tosi, E., Ciappini, M., Re, E., Lucero, H., 2002.** Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, (77), 71-74.
- TS-3036, 2002.** Bal, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L., 1998.** Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J Agr Food Chem.*, 46:3630-4.
- Von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J., 1996.** Colorants. In: *Food Chemistry.*, O. R. Fennema (ed), Marcel Dekker, pp. 651-765, New York.
- Weston, R.J., 2000.** The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry* 71, 235–239.
- Wei Y.H., C.Y. Pang, 2005.** The Role of Mitochondria in human aging process. *Biotech International*, 17: 8-13.
- White, J. W. Jr., M. L. Riethof, M. H. Subers, L. Kushnir, 1962.** Composition of American Honey, *Tech Bull. U.S. Dep. Agric, A.A. 655/ 63,1261:124 p.*

- White, J. W.,** 1975. Honey. The Hive and Honeybee. Dadant and Sons. Inc. Hamilton. Illinois.
- White, J.W.,**1978. Honey. *Advances in Food Research*, 24, 287–371.
- White, J.W.,** 1979. Composition of honey, in *A Comprehensive Survey Honey*, pp.157-194, Eds. Crane E., Bee Research Association, Morrison and Gibb. Ltd., London.
- White, J.W.,** 1980. Honey Composition and Properties, *Beekeeping in the United States Agriculture Handbook Number 335*.
- White, J.W.,** 2003. Honey, in *The Hive and The Honey Bee*, pp.869-918, Eds. Graham, J.M., Dadant and Sons. Inc. Ohio.
- Winston G. W.,** 1991. Oxidant and Antioxidants, in *Aquatic Animals, Comp. Biochem.Phys.*, 100, 173-176.
- Yanniotis, S., Skaltsi, S. and Karaburnioti, S.,** 2006. Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures, *Journal of FoodEngineering*, 72, 372-377.
- Yao, L., Datta, N., Tomás-Barberán, F.A., Ferreres, F., Martos, I., Singanusong, R.,** 2003, "Flavonoids, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand Leptospermum honeys." *Food Chemistry* 81, 159–168.
- Yurtsever, N., Sorkun, K.,** 2002. Bal Kalitesine Etki Eden Faktörler. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 3(2):28-31.
- Yu, W., Zhao, Y., Shu, B.,** 2004. The radical scavenging activities of radix puerariae isoflavonoids: A chemiluminescence study. *Food Chemistry*, 86, 525–529.

İNTERNET KAYNAKLARI

- URL-1.** İnternet Erişim: http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm
02.02.2013
- URL-2.** İnternet Erişim: <http://lokman-hekim.net/bitkiler/bal.asp>02.01.2013
- URL-3.** İnternet Erişim: <http://www.hthayat.com/saglikli-hayat/beslenme-diyet/pratik-ipuclar/haber/653838-en-guclu-dogal-antioksidan-bal> 02.01.2013
- URL-4.** İnternetErişim:<http://www.honey.bio.waikato.ac.nz>,Honeyas a Antimicrobial Agent 07.03.2012.
- URL-5.** İnternet Erişim:<http://www.worlwidewounds.com>.15.10.2011
- URL-6.** <http://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan>. 05 Ocak 2012.
- URL-7** .İnternet Erişim :http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu428/bilesenler_2_fenolikler06.04.2013.
- URL-8.** <http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx> 03 Ocak 2012.

ÖZGEÇMİŞ

Adem YILDIRIM 1980 yılında Şanlıurfa' doğdu. İlk, orta ve lise eğitimimi Şanlıurfa' da tamamladıktan sonra 2000-2004 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimimi tamamladı. 2005- 2006 yılları arasında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Tezsiz Yüksek Lisans yaptı. 2006-2007 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığında öğretmen olarak çalıştı. 2007 yılında askerlik görevini yaptı. 2009 yılında kısa bir dönem Şanlıurfa Valiliğinde VHKİ olarak çalıştı, yine aynı yıl içerisinde Sağlık Bakanlığı Bingöl Sıtma Savaş Dispanserliğine Biyolog olarak atandı. 2011 yılında Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladı. Halen Sağlık Bakanlığı Şanlıurfa Balıklıgöl Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Biyolog olarak çalışmaktadır.