



YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Türkiye'nin değ. yör. ür. ball.
kim. bil. inc.

Yüksek Lisans Tezi

Nilgün Akkuş

Ref
KMM
114
1992

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
KÜTÜPHANE DOKÜMANTASYON
DAİRE BAŞKANLIĞI

Kot	: R 361
	:120.....
Alındığı Yer	: ...X.T.11.....
	:120.....
Tarih	: ...22.3.96.....
Fatura	:120.....
Fiyatı	: 100.000.-
Ayniyat No	: 1-1
Kayıt No	: 51953
UDC	:120.....
Ek	:120.....

Y.T.Ü.

KÜTÜPHANE DOK. DAL. BAŞKANLIĞI

S. 22
Eb. 20, 19

ÖZET

GİRİŞ

1. GENEL BAKIŞ

1.1. ARCTIC BAKIŞA GİRİŞ

TÜRKİYE'NİN DEĞİŞİK YÖRELERİNDE
ÜRETİLEN BALLARIN KİMYASAL
BİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

1.2. BALIN NEM MİKTARI ve BALIN ÇIKIŞI

1.2.1. Balın Nem Miktarı

1.2.2. Balın Çıkışı

1.3. BALIN BİLEŞİMİ

1.3.1. Balda Bal

1.3.2. Balda Bal

1.3.3. Balda Bal

1.3.4. Balda Bal

1.3.5. Balda Bal

1.3.6. Balda Bal

1.3.7. Balda Bal

1.3.8. Balda Bal

1.3.9. Balda Bal

1.4. SONUÇ

1.5. KAYNAKLAR

1.5.1. Kaynak

1.5.2. Kaynak

1.6. EKLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimyager NİLGÜN AKKUŞ

II. GENEL ÇALIŞMA VE NİHAZLAR

II.1. ARACILIK HAKKINDA GENEL BİLGİLER

II.2. BAL ANALİZLERİ

ÖZET

GİRİŞ

I .GENEL BÖLÜM

Sayfa No

I.1. ARICILIK HAKKINDA GENEL BİLGİLER ve ARICILIĞIMIZ

I.1.1. Arıcılık Hakkında Genel Bilgiler

I.1.2. Arıcılığımız

I.2. BALIN HAM MADDESİ ve BALIN OLUŞUMU

I.2.1. Balın Hammaddesi

I.2.2. Balın Oluşumu

I.3. BALIN BİLEŞİMİ

I.3.1. Balda bulunan Şekerler

I.3.2. Balda Bulunan Kül ve Mineral Maddeler

I.3.3. Bala Tad ve Koku Veren Maddeler

I.3.4. Baldaki Vitaminler

I.3.5. Baldaki Enzimler

I.3.6. Hidroksi metil-2-furaldehid (HMF)

I.3.7. Baldaki Asidler

I.3.8. Baldaki Serbest Amino Asid ve Proteinler

I.3.9. Polen

I.4. ZEHİRLİ BAL

I.5. BALLARIN SINIFLANDIRILMASI

I.5.1. Pazarlama Şekillerine Göre Ballar

I.5.2. Menşeylerine Göre Balların Sınıflandırılması

I.6. TÜRKİYE'DE YAPILAN ÇALIŞMALAR

	Sayfa No
II. DENEL ÇALIŞMA ve BULGULAR	26
II.1. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BAL ÖRNEKLERİ	26
II.2. BAL ANALİZLERİ	29
II.2.1. Analizde Kullanılan Aygıtlar	29
II.2.2. Örneklerin Analize Hazırlanması	29
II.2.3. Nem Belirlenmesi	30
II.2.4. Kül Miktarının Belirlenmesi	31
II.2.5. Azot Miktarının Belirlenmesi	31
II.2.6. Proteinli Maddelerin Çöktürülmesi	33
II.2.7. HMF (Hidroksimetilfuraldehid Belirlenmesi)	34
II.2.8. Ballarda pH, serbest asidlik, lakton ve formol sayısının Belirlenmesi	35
II.2.8.1. pH Belirlenmesi	36
II.2.8.2. Serbest Asidlik Belirlenmesi	36
II.2.8.3. Lakton Miktarının Belirlenmesi	36
II.2.8.4. Formol Sayısının Belirlenmesi	36
II.2.9. Örneklerin Viskozite Ölçümleri	37
II.2.10. Diastas Sayısının Tayini	38
II.2.11. Prol in Belirlenmesi	41
II.2.12. Şekerlerin Belirlenmesi	42
II.2.12.1. Adsorpsiyon Kolonunun Hazır- lanması	42
II.2.12.2. Kolonun Standartlaştırılması	43
II.2.12.3. Balın Şeker Fraksiyonlarının Hazırlanması	45
II.2.12.4. Monosakkarit Fraksiyonunun Belirlenmesi	47

	<u>Sayfa No</u>
II.2.12.5. Disakkarit Fraksiyonunun Belirlenmesi	50
II.2.12.6. Yüksek Şekerler (Dekstrin) Belirlenmesi	52
II.2.13. Serbest Amino Asidlerin Fkstraksiyonu ve Belirlenmesi	54
II.2.13.1. Serbest Amino Asidlerin Fkstraksiyonu	54
II.2.13.2. Ser best Amino Asidlerin İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ile Belirlenmesi	56
II.2.14. Polen Tayini	60
II.3. BULGULAR	63
TARTIŞMA VE SONUÇ	69
KAYNAKLAR	73
TEŞEKKÜR	76
ÖZGEÇMİŞ	77

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye'nin belirli yörelerini temsil eden bal örneklerinin analizleri yapılarak kimyasal kompozisyonları belirlendi ve kristalizasyon olgusu üzerinde glukoz/su (G/S) oranının etkili olup olmadığına bakıldı.

Örneklerin kimyasal analizlerinde AOAC(1980) standart analiz yöntemleri kullanıldı.

Bal örneklerinin pH, serbest asidlik, lakton ve formol sayısı potansiyometrik titrasyonla, hidroksimetilfuraldehid ve prolin miktarı ise spektrofotometrik olarak belirlendi.

Örneklerde ayrıca toplam azot, protein, kül, kuru madde, nem, diastas sayısı ve viskozite belirlemeleride yapıldı.

Şekerlerin tayini için selektif adsorpsiyon kromatografisi uygulandı. Bu yöntemle göre standart ölçülerde yapılmış kolondan alınan fraksiyonlardaki glukoz, fruktoz, sakkaroz, maltoz ve yüksek şekerler Shaffer-Somogyi yöntemiyle titrimetrik olarak belirlendi.

Serbest amino asidler ise reçine kolonda tutulduktan sonra iki boyutlu ince tabaka kromatografisi ile ayrılarak teşhis edildi.

Polenler üzerinde mikroskopla yapılan çalışmada ise ballarda bulunan karakteristik polenlerin fotoğrafları çekildi.

ABSTRACT

Honey samples obtained from various regions of Turkey were analyzed to determine their chemical compositions. Their glucose/water (G/W) ratios were tested with respect to their effects on crystallization.

The samples were analyzed using AOAC (1980) standard Analysis methods.

The pH, free acidity, lactone and formol numbers of the samples were determined using potentiometric titration. Hydroxymethyl-furaldehyde and proline contents were determined spectrophotometrically.

The samples were also tested for Total N, Protein, Ash, Dry Matter, Humidity, Diastase Number and viscosity.

Selective Adsorption Chromatography was used for the determination of the sugars. Fractions obtained from appropriate columns were analysed for glucose, fructose, saccharose, maltose and high sugars using the Shaffer-Somogyi Titration Method.

Free amino acids were captured in resin columns and subsequently separated and identified by two-dimensional Thin Layer Chromatography.

The characteristic polens present in the honey samples were pictured using a microscope-camera.

GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusunun beslenme ve gelişmesini sağlayabilmek, ülkemizde olduğu gibi dünya da artık güncel bir konu haline gelmiştir. Nüfus artışının bu ihtiyacını karşılayabilmek için bilim adamları besin maddelerinin üretim verimini artırmak ve mevcut kaynakları en iyi kullanmak çabası içindedirler. Bunları yaparken gerek doğal ürünlerin verimini artırabilmek için çeşitli genetik çalışmalar sonucu elde edilen bulguları uygulayarak, teknolojik şartları iyileştirerek kayıpları minimuma düşürmek, çeşitli kimyasal maddeler kullanarak ürün zararlılarını ortadan kaldırmak ya da mevcut ürünlerin daha dayanıklı kalabilmesini sağlamak için sağlığa zarar vermeyecek koruyucu konservatif maddeler kullanmak zorundadırlar.

Her ne kadar kullanılmasına misade edilen bu maddeler sağlığımız açısından zararsız olsalar da, günümüzde Doğa'ya dönüş olarak da ifade edebileceğimiz düşünce hakim olmaya başlamıştır. Gerçekten doğa gerek dengeli ve düzenli beslenmemiz, gerek sağlıklı ve mutlu yaşamamız için doğanın bize hazırlayıp sunduğu eşsiz hazinelerle doludur. Bu doğal hazinelerden birisi de baldır.

Bal çok eski çağlardan beri bilinen, insan hayatında hem bir ilâç ve hem de çok değerli bir besin maddesi olarak önem kazanmıştır. Esas itibariyle kolay sindirilebilen farklı şekerlerin derişik bir çözeltilisi olması nedeniyle vücuda enerji ve zindelik sağlar. Bunun yanı sıra içerdiği vitaminler de onun değerini daha da artırmaktadır.

Arıların, biz insanlar için ürettiği bal ve balmumunun yanısıra, propolis, arı sütü, polen ve ayrıca son yıllarda bilimsel olarak romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılan arı zehiri, arıcılığın önemini daha da artırmaktadır.

Ülkemiz, arıcılık için zengin bir floraya ve iklim şartlarına sahip olmasına rağmen, bal üretiminde henüz yüz güldürücü ve tatmin edici sonuçlar elde edilememektedir.

Amerika ve Avrupa'da özel arıcılık yapan şahısların yanı sıra, bu geniş ölçüde kooperatif ve şirketler tarafından yürütülmektedir. Hatta bazı ülkelerde hükümet tarafından kurulmuş geniş çaplı arıcılık araştırma istasyonları mevcuttur. Bu kuruluşlar arıcıların problemlerini, arı ırkını, arı hastalıklarını ve bal üretimini artırma yollarını inceleyerek, elde ettikleri bilgileri arıcılara ulaştırarak arıcılığın gelişmesine büyük ölçüde yardımcı olmaktadır. Hatta bu ülkeler çıkarttıkları süreli yayımlarla elde edilen bilgi, deneyim ve araştırmaları diğer ülkelere de duyurmaktadırlar.

Ülkemizde ise bir kooperatifleşmenin, arıcılığın sorunlarıyla ilgili bir bilimsel kuruluşun ve yayım organının olmayışı, fenni kovanların yanı sıra halen ilkel kovan kullanılışı bal üretiminin az olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle de çiçeklerin salgıladıkları binlerce ton bal özü ziyan olup gitmektedir.

Üretimin az oluşu bal fiyatlarına da yansımakta ve bal pahalı bir besin maddesi haline gelmektedir. Bu durum ise, bal görünümünde olan ve balla kolayca karışabilen ucuz tatlı maddelerin bala karıştırılarak, maliyeti düşürmek için piyasaya ucuz, hileli bal sürülmesine ne-

den olmaktadır. Bu nedenle piyasa ballarının titiz bir şekilde kalite kontrolü ve analizleri önem kazanmaktadır.

Ayrıca ballarımızın bileşim ve özelliklerinin bilinmesi, bölgeler itibariyle farklılıklarının tesbiti, kalitenin belirlenmesi yönünden olduğu kadar sağlığımız açısından da önemlidir.

Ballar çok değişik renk, aroma ve kıvamda olurlar. Hatta bazılarının erken kristallenmesi, alıcı üzerinde olumsuz etkiler yapmakta, bunların hileli olup olmadığı konusunda kuşku yaratmaktadır.

Oysa balın bu dış görünüşü kalite hakkında bir ölçü olmadığı gibi, teşhis edilip edilmediği konusunda da bir fikir vermez. Hatta bazı ülkelerde bu özelliklerle istenmekte ve balların kristallenmesi yapay olarak sağlanmaktadır (1).

I. GENEL BÖLÜM

I.1. ARICILIK HAKKINDA GENEL BİLGİLER VE ARICILIĞIMIZ

I.1.1. Arıcılık Hakkında Genel Bilgiler (2-5).

Ilıman bölgeler arıcılık için en uygun ortamlar olup vejetasyon ve çiçeklenme devamlı olacağından, bu bölgelerde bol miktarda bal almak mümkün olur. Bununla beraber arılar soğuya da dayanıklı olduklarından, kışın muhafaza altına alınarak soğuk iklimlerde bile arı yetiştirilebilir.

Arıcılığa başlarken yapılacak ilk iş iklim ve doğa örtüsü bakımından uygun bir yer seçmektir. Bu tesbit edildikten sonra oğul ve kovan temin edilir.

Oğul bir kovan içinde bulunan arı ailesine verilen isimdir. Bir arı ailesi ise, üç tür arıdan oluşmaktadır: ana (kraliçe) arı, işçi (amele) arılar, erkek arılar.

- Ana arı: Kovanın başıdır, her kovanda bir tane bulunur. Kendisi daima kovanda durur ve işçi arılar tarafından beslenir. İlk baharın erken aylarında ve yaz dönemi süresince devamlı yumurtlar ve bal yapacak yeni işçi arı neslini yetiştirir. Ortalama ömrü 4-5 yıl olup, her yıl yaklaşık 150.000-200.000 yumurta bırakır.

- İşçi arılar: Kovanda mevcut arıların en küçüğüdür. Bir kovanda yaklaşık 20.000-60.000 işçi arı bulunur. İşçi arılar dişi olmakla beraber yumurtlamazlar. Ortalama ömürleri 4-6 haftadır. Bu arılar yiyecek

toplama, yavruları besleme, petek yapma, onarım gibi kovanın tüm işlerini ve gereksinimlerini karşılarlar.

- Erkek arılar: Kovanda mevcut arıların en iri ve en tombul olanıdır. Bal yapımı ve kovana besin temini bakımından hiç bir rolleri yoktur. Ortalama ömürleri 4-5 aydır. Tek görevleri yeni çıkan dişi arıyı döllemektir.

Kovan ise, arı ailesinin hem evi hem de imâlathaneleri sayılabilir. Sağlıklı ve bol verimli bir arıcılık yapabilmek için fenni kovan kullanmanın yanı sıra, kovanın konulacağı yer de çok önemlidir. Bunların konulacağı yerler mümkün olduğunca gürültüden uzak, hayvanların sokulmayacağı, mer'a ve bahçelere yakın, hafif yüksekte ve rüzgar almayan bir yer olmalıdır. Ayrıca bu yer seçilirken arıların su ihtiyacı da göz önünde tutularak karar verilmelidir. Zira yapılan araştırmalara göre bir gram balın besin maddesi haline gelebilmesi için 12 gram suya ihtiyaç vardır (2).

Ancak oğul ve kovanın arzu edilen özellikte olması arıcılık için yeterli değildir. Modern arıcılık denilen yeni sistem arıcılıkta arıcıların her şeyden önce arı ailesini tanımaları, davranışları, çalışma düzenleri, çoğalmaları hakkında fikir sahibi olmaları, balın nasıl meydana geldiğini, arı hastalıkları ve bunların tedavisini bilmelidirler.

Arıcılar için bal mevsimi, ilkbahar ve yaz ayları içinde meyva ağaçları ve mer'a otlaklarının çiçek açtığı devredir. Hasat zamanı ise, arılar tarafından olgunlaştırılıp petek gözlerine konulan ve üzeri sırlanan balın alındığı zamandır. Kovandaki arı ailesinin kalabalıklığı ve

floranın zenginliği bu hasat zamanı üzerinde etkili olduğundan, arıcılar kovanları zaman zaman kontrol ederek bu hasat zamanını ayarlarlar.

Bazı ülkelerde ilkbahar çiçeklerinin tükendiği zaman, iyi ürün alabilmek için kovanlar çiçeklerin bol olduğu başka yerlere götürölür, hatta ard arda bir çok yer değiştirilir. Bu işlem ülkemizin Güney bölgelerinde deniz kıyısı ile dağlar arasında yapılır.

I.1.2. Arıcılığımız

Ülkemiz arıcılık bakımından çok uygun iklim şartları ve floraya sahip olup, başta Ege bölgesi olmak üzere Doğu Anadolunun yüksek yaylalarına kadar her bölgede yapılabilir. Ancak yörelere göre flora da değiştiiğinden, balların kaliteleri ve bileşimlerinde de değisiklik görülür.

Bu kadar uygun doğa koşullarına sahip olmamıza rağmen, ülkemizin bal üretimi arzu edilen seviye de değildir.

- Halen fenni kovanların yanısıra eski tip kovanların bulunması,
- Bir kooperatifleşmenin olmayışı,
- Arıcılık projelerini yürütecek, arıcılara teknik bilgiler verecek uzman kadroların olmayışı bunun en önemli nedenleri arasındadır.

IKA'nın 1987 bültenine göre, Türkiye'de fert başına 0.7 kg bal tüketildiği, kovan başına bal veriminin ortalama 14 kg olduğu kaydedilmektedir. Oysa bu verim Kanada'da kovan başına 57 kg, İsrail'de 40 kg dolayındadır. Buna rağmen Türkiye toplam bal üretiminde 7. sırayı almaktadır (5).

Ülkemizde bal üretimi tarımsal aile işletmesi niteliğinde sürdürülmektedir. Sabit arıcılık (5-30 kovan) daha çok arıcılıktan yan gelir sağlamak amacıyla yapılırken, ticari anlamda bal üretimi gezici arıcılar (30-100 kovan) mevsimlere ve flora özelliklerine göre uygun iklim bölgelerine kovanların taşınmasıyla gerçekleştirilmektedir.

Yine 1977-1987 yılları arasındaki 10 yıllık dönemde Türkiye'nin bal dış satımı 78 tondan 2518 tona yükselmiştir. Ancak bu miktar yıllık üretimin otuzda birini teşkil etmektedir. Yıllara göre Türkiye'nin eski, yeni tip kovan sayısı ve bal üretimi Tablo 1 de verilmiştir(7).

Tablo 1

Yıl	Kovan Eski Tip (Adet)	Kovan Yeni Tip (Adet)	Bal Üretimi (Ton)
1940	1.119.483	29.029	5.333
1950	972.631	56.500	5.200
1960	1.302.000	185.400	9.690
1970	1.253.568	567.394	14.889
1980	893.260	1.332.217	25.170
1983	822.030	1.774.076	35.178
1984	756.191	1.905.209	35.620
1985	645.142	1.940.161	35.840
1986	515.998	2.070.973	39.649
1987	440.580	2.367.183	34.418

I.2. BALIN HAM MADDESİ VE BALIN OLUSUMU

Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarın veya bitkilerin bazı kısımlarından yararlanarak bazı böceklerin salgıladığı maddelerin, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanması, vücutlarında bileşimini değiştirip petek gözlerine depo edilmesi ve burada olgunlaşması sonucu meydana gelen tatlı bir üründür (8).

I.2.1. Balın Hammaddesi

Yukarıdaki tariftten görüldüğü gibi balın hammaddesi nektardır. Nektar doğa şartları ve floraya göre değişiklikler gösterir. Toprak cinsi, ısı, yağış, ışık gibi faktörler bunun üzerinde önemli etkenlerdir.

Ballı bitkiler bol nektar salgılamak için belirli bir toprak tipine ihtiyaç gösterirler.

Deniz seviyesinden daha yüksek yaylalar nektar üzerinde olumlu etkiler yapar. Arıların yayla çiçeklerinden bol ve iyi kalitede bal yapmalarının nedeni de budur.

Çok yağışlı günlerden sonra nektar azalır, bir kaç gün sonra yeniden artar. Aynı bir bitkinin günün belirli saatlerinde fazla diğer saatlerinde az nektar salgılaması ise ısı ve ışığın nektar üzerindeki etkisini göstermektedir.

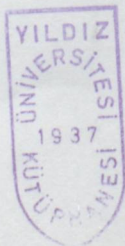
1.3. Nektar ne kadar tatlı ve yoğunsa, arının bir kerede kovana taşıdığı miktar da o kadar artmaktadır. Bu da sıcaklıkla yakın bir biçimde ilgilidir.

Nektarın içerdiği şeker miktarı mevsimlere ve floraya göre değişmekte olup, en sık rastlanan % 20-40 arasında şeker içerenleridir(2).

I.2.2. Balın Oluşumu

İşçi arılar tarafından nektardan toplanan tatlı öz sular, arının ağzında bir miktar olgunlaştıktan sonra yutularak arının bal kesesine taşınır. Ağızdaki olgunlaşma sırasında havayla temasta bulunan nektar bir miktar suyunu kaybeder. Ancak bal kesesinde arının salgı bezlerinden gelen sıvıyla tekrar seyrelir. Bu şekilde belirli miktar nektar toplayan arı kovana dönerek yükünü kovandaki diğer işçi arıların bir veya birkaçına nakleder. İşçi arıların bu şekilde kovana getirdikleri nektar miktarının 50 mg dolayında olduğu tahmin edilmektedir(9).

Kovana taşınan bal, evcil arıların bal keselerinde ikinci olgunlaşma evresini geçirir. Bu arada balın enzim içeriği artar ve önemli ölçüde suyu azalır. 15-20 dakika süren bu evreden sonra bal, arıların sindirim sistemindeki dar bir kanaldan geçirilerek peteklere yerleştirilir. İçerdiği enzimler nedeniyle bal burada da olgunlaşmaya devam eder. Gerek kovandaki arıların kanat çırpmalarıyla, gerek kovan içindeki sıcaklıkla su miktarı % 17-20 dolayına düşüncü, arı gömecen ağzını balmumu ile örter(10).



I.3. BALIN BİLEŞİMİ

Kimyasal bileşim bakımından bal, genellikle fruktozu fazla olan derişik bir invert şeker çözeltisi olup, içinde daha az oranda maltoz, sakkaroz, dekstrin, azotlu maddeler, enzimler, anorganik maddeler, koku ve boyar maddeler, organik asidler, mumlar ve polen taneleri içeren doğal bir besin maddesidir.

I.3.1. Balda Bulunan Şekerler

Balda şekerlerin çok fazla olması ve yüzde bileşimlerinin yöre ve iklim şartlarına göre farklılık göstermesi, araştırmacıların ilgisini çekmiş ve bu yöndeki çalışmaları yoğunlaştırmıştır.

19. yüzyılın ortalarında bile ballardaki glukoz ve fruktozun varlığı biliniyordu. Daha sonra yapılan çalışmalarda sakkarozun varlığı da saptanmıştır.

1908 yılında Browne'nin ABD'deki 97 çiçek 7 salgı balı üzerinde yaptığı analiz ilk kez standart bir nitelik taşımaktadır. Bu çalışmasında Browne balın şekerleri için aşağıdaki ortalama değerleri bulmuştur(11).

	<u>Çiçek Ballarında</u>	<u>Salgı Ballarında</u>
% Nem	17.70	16.09
% İnvert Şeker	74.98	66.94
% Sakkaroz	1.90	3.01
% Dekstrin	1.51	9.70
% Serbest asid (meq) (Formik asid ol.)	0.08	0.12

Bryan ise 1913 yılında ABD, Küba, Meksika ve Hawai ballarını incelemiş ve çiçek balları için şu sonuçları elde etmiştir(12).

	<u>ABD</u>			<u>Küba, Meksika, Hawai</u>		
	<u>min.</u>	<u>mak.</u>	<u>ort.</u>	<u>min.</u>	<u>mak.</u>	<u>ort.</u>
% İnvert Şeker	62.23	83.36	74.98	68.09	77.56	72.38
% Sakkaroz	0.00	10.01	1.90	0.00	3.98	0.80

Daha sonraki çalışmalarda ise invert şeker miktarı glukoz ve fruktoz olarak ayrı ayrı belirlenmiştir.

Balların içerdikleri şeker miktarı 1950 yılına kadar klasik yöntemlerle yapıliyordu. Ancak White 1952 yılında yaptığı çalışmalarda bu

klasik yöntemlerin ballardaki şekerlerin gerçek cins ve miktarları için doğru değer vermediğini görmüş ve selektif adsorpsiyon kromatografisi yöntemini geliştirmiştir(9).

1954 yılında White ve Meher ABD'nin 19 değişik yöresinden topladıkları 21 bal örneğini selektif adsorpsiyon kromatografisi ile fraksiyon ettikten sonra, fraksiyonların analizi sonucu bu ballarda ortalama % 16.72 nem, % 32.29 glukoz, % 39.28 fruktoz, % 1.62 sakkaroz, % 7,11 maltoz ve % 1.03 yüksek şeker bulmuşlardır(9).

Yine White ve arkadaşlarının 1962 yılında 490 çiçek ve salgı balı üzerinde yaptığı çalışmanın sonuçları aşağıda görülmektedir(1).

	<u>Çiçek Ballarında</u>		<u>Salgı Ballarında</u>	
	<u>min.</u>	<u>mak.</u>	<u>min.</u>	<u>mak.</u>
% Nem	13.40	22.90	12.20	18.20
% Fruktoz	27.25	44.26	23.90	38.12
% Glukoz	22.03	40.75	19.23	31.86
% Sakkaroz	0.25	7.57	0.44	1.14
% Maltoz	2.74	15.98	5.11	12.48
% Yüksek Şeker	0.13	8.49	1.28	11.50
% Belirlenemeyen	0.00	13.20	2.70	22.40

Siddique ise; Kanada'daki 95 çiçek balı üzerinde yaptığı analizlerde ortalama % 17,9 nem, % 37,1 fruktoz, % 33,7 glukoz, % 7,4 oligo-sakkarit ve % 3,9 belirlenemeyen madde saptamıştır(9).

I.3.3. Bala Tad ve Koku Veren Maddeler

Balların toplandığı nektarın farklı olması, bunların tad ve koku üzerinde etkili olmaktadır. Balların aroması üzerinde etkili olan bu maddeler genellikle organik bileşikler ve bunların türevleridir.

Gaz kromatografisinin kullanılmaya başlamasıyla 1960'lı yıllardan sonra, bu bileşikler teşhis edilmeye başlanmıştır. Ancak çok çeşitli ve düşük derişimde olan bu maddelerin bugün dahi kesin teşhisleri yapılmış değildir.

Bu maddeler genellikle ballardan düşük sıcaklıklarda vakum destilasyonu ile izole edilmekte ve kromatografik olarak belirlenmektedir.

Değişik araştırmacıların yaptıkları analizler sonucu gaz kromatografisinde 160 dolayında uçucu madde piki elde edilmiş, ancak bunlardan 100 kadarı aydınlatılabilmektedir(13).

Bu maddelerin bazıları şunlardır;

Metanol; etanol; 1-propanol; 2-propanol; 2-propen-1-ol; 2-metilpropan-1-ol; 1-butanol; 2-butanol; sitronellal; geraniol; nerol; linalool; eugenol; karvakrol; furfuril alkol; guayakol; butanol; furfuraldehid; 5-metil-furaldehid; 5-hidroksimetil-2-furaldehid; metil asetat; etil-; isopropil-; butil-; isoamilasetat'dır(13,17).

I.3.4. Baldaki Vitaminler

Ballarda tiamin, riboflavin, piridoksin, pantotenik asid, nikotinik asid, biotin, folik asid ve C vitamini bulunmuştur. Bunların 100 gram balda ortalama miktarları mikrogram olarak şöyledir; tiamin 44, riboflavin 26, pridoksin 10, pantotenik asid 55, mikotinik asid 110, biotin 0.06, folik asid 3, C vitamini ise 2400'dir(12).

Ancak yenen bal miktarı gözönüne alındığında, bu vitaminlerin beslenme açısından büyük bir önem taşımadığı açıktır.

I.3.5. Baldaki Enzimler

Bal enzimler bakımından zengindir. Balda nektardan ve bir takım böceklerin yapraklar üzerine bıraktıkları salgılardan meydana gelen enzimler olduğu gibi, arıların tükürük bezlerinin salgılarından meydana gelen enzimlerde bulunur.

Ballarda bulunan en önemli iki enzim sakkaraz ve diastaz'dır. Sakkaraz balın olgunlaşması sırasında olan değişikliklerden sorumlu enzimdir. Bu enzim sakkarozu glukoz ve fruktoza hidroliz eder. Diastaz ise nişastanın bölünmesini sağlayan α -amilaz ve β -amilaz karışımıdır(10).

Isı ile bu enzimlerin etkinlikleri azalırken, HMF miktarında artış görülür. Bu nedenle ballarda bu iki enzimin aktivitesi tayin edilerek balın kalitesi hakkında fikir edinilir.

Ballarda sakkaraz sayısı 4-25, diastaz sayısı ise 8-40 arasında-

dır(14).

Ballarda bu iki enzimden başka katalaz, fosfataz ve glukoz-oksidaz enzimleride bulunur.

I.3.6. Baldaki hidroksimetil-2-furaldehid(HMF)

Taze ballarda ya hiç, ya da çok az miktarda HMF bulunur. Depolama esnasında yüksek ısıyla (50-70°C) zarar görmüş bir balın pH'sına bağlı olarak HMF miktarı artar. Bu heksoz şekerlerinin özellikle fruktozun dehidrasyonu ile meydana gelmektedir. Mineral asidlerinin varlığı ise bu reaksiyonu hızlandırmaktadır.

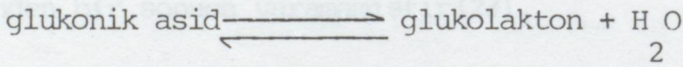
Bazen balın maliyetini düşürmek amacıyla hile olarak bala nişasta şurubu veya evirtik şeker şurubu katılmaktadır. Ancak bu evirtme işlemleri sırasında asid kullanıldığından bu balın HMF değerini yükseltmektedir. Uzun süre bekletilen veya aşırı ısıtılan ballarda fazla miktarda HMF bulunursa da, kilogramında 100 mg'dan fazla olması balın invert şekerle karıştığının kanıtıdır(10).

Eskiden kalitatif olarak Fiehe testi ile tesbit edilen HMF, bugün spektrofotometrik olarak Winkler'e göre kantitatif olarak belirlenmektedir(18).

I.3.7. Baldaki Asidler

Balda en çok bulunan asid glukonik asiddir. Bu asid arıların nektardan aldıkları tatlı öz sularda bulunan glukoz'dan oluşmaktadır. Bu öz suların içinde bulunan glukoz, arının bal yapma sırasında salgıladığı sıvı içinde bulunan glukozoksidaz enziminin etkisiyle glukonik aside dönüşmektedir.

Bu asid ballarda laktonuyla;



şeklinde denge halinde bulunmaktadır(1).

Ballarda glukonik asidin yanısıra az miktarda da olsa oksalik, malonik, süksinik, fumarik, malik, tartarik ve sitrik asidlerinde bulunduğu kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle belirlenmiştir(13).

I.3.8. Baldaki Serbest Aminoasidler ve Proteinler

Ballardaki aminoasidlerin kaynağı nektar, salgı, polen ve arılardır.

Kromatografinin gelişmesiyle ballardaki aminoasidlerinde incelenmesine hız verilmiştir. Bazı araştırmacılara göre serbest aminoasidlerin balın rengi üzerinde etkili olup olmayacağı konusu önem taşımaktadır(19,20).

Bazı araştırmacılar ise; balda bulunan serbest aminoasidlerin miktarı ve cinslerinden yararlanarak, balın kalitesi hakkında bir ilişki kurmaya çalışmışlardır.

White Amerika'da 740 bal örneği üzerinde yapmış olduğu çalışmada balda serbest aminoasidler içinde Prolinin en yüksek derişimde bulunduğunu, bunu takiben glutamik asid ve aspartik asidin bulunduğunu tesbit etmiştir. White ayrıca bu çalışmasında prolin miktarına bağlı olarak balların kalitesi hakkında bir sonuca varmak istemiştir. Ancak çok yüksek derişimde olmasına rağmen, geniş bir konsantrasyon aralığında değiştiğinden bir sonuca varamamıştır(23).

White ayrıca bu 740 bal örneği üzerinde mevcut proteinleri dializ etmek suretiyle ayırmış ve bunlarda yaptığı protein tayininde protein miktarının 58-786 mg/100g arasında değiştiğini göstermiştir(24).

Wootton 6 Avustralya balını 50⁰ C de 44 gün beklettikten sonra serbest aminoasidlerini incelemiş, bekletme sırasında serbest aminoasidlerin toplamında azalma olduğunu, fakat bazı aminoasidlerin miktarında ise artma gözlemiştir. Bu çalışmada ballarda bulunan serbest aminoasidleri aminoasid analizörüyle incelemiş ve 17 aminoasidin varlığını ve en yüksek derişiminde proline ait olduğunu gözlemiştir(25).

Komamine 1960 yılında Fillandiya ballarının serbest aminoasidlerini reçine kolonda ayırdıktan sonra kâğıt kromatografisi ile analiz etmiş ve bu balların hepsinde Gly, Ala, Ser, Thr, Val, Leu, Tyr, Asp, Glu ve Pro nin bulunduğunu, ancak bazılarında bu aminoasidlere ilaveten Arg, Met, γ -aminobutirik asidin varolduğunu saptamış ve balların rengi

ile amino asidler arasında bir ilişki aramıştır(21).

Palme ve arkadaşları ise kağıt kromatografisi kullanarak analiz ettikleri Arjantin ballarında 18 amino asid (His, Leu, Asp, Try, Lys, Gly, Thr, Ala, Arg, Met, Val, Glu, Phe, Pro, Cys, Ser, Asp-NH₂, İleu) tesbit etmişlerdir. Bu amino asidlerde Glu, Asp ve Arg nin balların bekleme süresine bağlı olarak azaldığını veya tamamıyla kaybolduğunu ve bundan yararlanarak balların bayat olup olmadığı konusunda bir sonuca varmaya çalışmışlardır(22).

Petrov 1971 yılında 3 Avustralya balının amino asidlerini yine kağıt kromatografisi ile ayırmış ve her üç balda 16 amino asidin (Lys, His, Arg, Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Tyr, Phe, Cys, Hypro) var olduğunu saptamıştır(19).

Balın proteinleri ise, az sayıda fakat değişik miktardadır. Bu proteinler albumin ve daha az oranda globulin türündedir. Ballardaki protein miktarı balın kalitesi hakkında kaba da olsa bir fikir vermektedir. Rutin çalışmalarda ballardaki bu proteinler tanen veya fosfotungstik asitle çöktürülerek belirlenebilir.

Ballardaki proteinlerin cinsleri üzerinde yapılan araştırmalar ise halen yeterli değildir.

I.3.9. Polen

Polen çiçeklerin erkek üreme organıdır ve bitkilerin üremesini sağlar. Çiçekten çiçeğe dolaşan arılar vücutlarına bulaşan polen tozlarını bala taşırlar. Bir kilo balda yaklaşık 6000 polen bulunur. Bal içerisindeki polen miktarı nektar kaynağına göre değişir.

Polen siyah, kırmızı, mor, pembe, eflatun vb. renklerde bulunabilirse de % 80'ninin rengi sarıdır. Değişik renklerde olmasının nedeni α -karoten, β -karoten, lycopin, xanthophyl ve zeaksanthin gibi maddeleri içermesindendir. Bununla birlikte, polende klorofil varlığına rastlanmamıştır (26).

Balda bulunan polenlerin çeşitliliği balın değerini arttırdığı gibi, bu polenlerin mikroskop altında incelenmesiyle balın menşeyinin tesbiti mümkün olur (10).

I.4. ZEHİRLİ BAL

Zehirli balların toksik etkisi, bal üreten arıların nektarını kullandığı Ericacea familyası bitkilerinin türüne bağlıdır. Özellikle bu familyada bulunan Rhododendron (Orman gülü) türleri ve bunun R.Luteum, R.Flavum, R.Poticum gibi alt türleri oldukça zehirli maddeler içerir. Ericacea familyasının türlerinden elde edilen üç toksik bileşik asetilandromedol, andromedenol ve andromedol'dur. Bu bileşikler sırasıyla grayanotoksin I, grayanotoksin II ve grayanotoksin III diye de isimlendirilir (27).

Rhododendron türleri başlıca Trabzon olmak üzere Çanakkale, Kastamonu, Sinop, Amasya, Samsun, Ordu, Giresun, Gümüşhane, Rize, Çoruh ve Balıkesir dolaylarında bulunur(28). Bu nedenle bu yörelerde üretilen bazı ballarda toksik etkiler görülmektedir. Bu ballar az yenildiğinde bulantı, baş dönmesi, kulaklarda uğultu, görüş bulanıklığı gibi etkiler görülmesine rağmen, fazla yenildiğinde tehlikeli olmaktadır.

Bu tür balların teşhisi mikroskopik inceleme ile kolayca polen şekillerinden anlaşılabildiği gibi(29,30) TLC ile grayanotoksinlerin ayrımıyla da teşhis edilebilir(31).

Yurdumuzda ayrıca Kocaeli yöresinde Kayabalı diye satılan ballarda da yukardakine benzer toksik etkiler görülmektedir. Yöreye özgü Datura türü bitkilerde bulunan çeşitli alkaloid maddelerden ileri geldiği sanılmaktadır(32).

I.5. BALLARIN SINIFLANDIRILMASI

Ballar genelde pazarlama şekillerine ve menşeylerine göre sınıflandırılırlar(8,10).

I.5.1. Pazarlama Şekillerine Göre Ballar

a) Petekli Ballar: Petek içinde bulunan, gömeçleri sırlanmış ve bozulmamış doğal ballardır.

Bunlarda iki gruba ayrılırlar:

- Tabii petekli ballar (veya karakovan balı):

Bu bal türünde arı bal peteğine doğrudan topladığı ve bünyesinde sentez ettiği balmumuyla yapar. Ancak bu durumda kovan verimi oldukça düşer. Bu nedenle bu ballar daha pahalıdır.

- Suni petekli ballar: Piyasa da daha çok bu tür petekli ballar bulunmaktadır. Bu tür ballarda petek, süzme bal yapımı sırasında elde edilen balmumunun fabrikalarda belirli kalınlık ve biçimde plaka şeklinde çekildikten sonra kovana yerleştirilmesiyle sağlanır. Arı doğadan topladığı ham maddelerle petek yapacağına, bunu kolayca işleyerek petek yapabilir. Piyasa da bulunan ballar bu tür olup, karakovan balından daha ucuzdur.

- Süzme ballar: Petekli balların oda sıcaklığında (20-35°C) santirijüj yoluyla ya da hiç bir işlem yapılmaksızın kendiliğinden peteğinden ayrılmasıyla elde edilen ballardır. Bu tür balların kristallenmemiş olması ve renklerinin açık sarı ile amber rengi arasında olması istenir. Ancak bunların bir kısmı henüz kesin olarak bilinemeyen nedenlerle kristallenmektedir. Bu tür ballara "kristallenmiş süzme bal" denir.

Amerika, Avrupa gibi bazı ülkelerde ise, süzme ballar fiziksel bir takım yöntemlerle özellikle kristallendirilir. Bu ballara ise "krema süzme bal" ismi verilir.

c) Karışım bal: Petekli ve süzme balların karışımıdır.

d) Pres balı: Peteklerin 45°C ye kadar ısıtılarak ya da ısıtılmadan mekanik usullerle sıkıştırılmasıyla elde edilen ballardır. Bunlar daha çok diğer gıda maddelerinin yapımında kullanılır.

I.5.2. Menşeylerine Göre Balların Sınıflandırılması

a) Çiçek balları: Arıların çeşitli zararsız bitkilerin çiçeklerinden elde ettikleri ballardır. Bu nedenle bu tür balların kendilerine has aroması ve rengi vardır. Bazen bu ballar yörede çok bulunan bitki topluluğuna göre isimlendirilirler. (ıhlamur balı, pamuk balı, çam balı vb.)

b) Salgı balı: Bu ballar çiçek ballarından farklıdır. Daha çok Orta Avrupa ülkelerinde yaygındır. Bu ballarda invert şeker miktarı daha az, sakkaroz miktarı ise daha fazladır. Çiçek balları polarize ışığı sola çevirirken, bu ballar sağa çevirirler.

c) Yapay Ballar: Doğal bal olmadığı halde, sakkarozun az yada çok inversiyona uğratılmasıyla, nişasta şurubu karıştırılarak, yapay olarak kokulandırılmış, kıvamı, görünüşü, koku ve tadı doğal bala benzeyen ürünlere yapay bal denir.

Yapay balı doğal baldan ayırmak güçtür. Ancak bunlarda yapay boyalar ve nişasta tanınır. Ayrıca sakkarozun asitle hidrolizi sonucunda teşekkül eden HMF, polen analizi, asidlik tayini ve polarizasyon derecesinin ölçümü ile fikir edinilebilir.

I.6. TÜRKİYE'DE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bal önemli besin maddemiz olmasına ve uzun yıllardır ülkemizde arıcılıkla uğraşılmasına rağmen bu konuda yayımlanmış araştırmalar çok azdır.

Arıcılıkla uğraşan diğer ülkelerde araştırmalar 1900 yıllarında başlarken, ülkemizde 20. yüzyılın ikinci yarısında başlamıştır.

Balın bir takım iyileştirici özellikleri ilk kez Ülker(33) tarafından 1964 yılında incelenmiştir. Ülker balların bakterisit ve bakteriyostatik tesirlerini incelemiştir.

Fuat Balcı 1978'de Ankara'da üretilen ballar üzerine yapmış olduğu doktora çalışmasında 31 bal örneğinin kimyasal analizini yapmış ve bu ballar üzerinde nem % 15.2-18.0, invert şeker % 64.89-78.00, sakkaroz % 0.55-0.07, fruktoz % 37-43.78, glukoz % 27.85-35.06, toplam şeker % 74.52-80.36, diastaz aktivitesi 6.18-18.4, HMF 1.920-25.920 mg/kg olarak bulmuştur(12).

Temiz ve Şengonca 1983 yılında İzmir yöresinde topladıkları 33 bal örneğinde invert şeker, sakkaroz, nem, kül, pH, asidite, lakton miktarı, formol sayısı tayinlerini ve kristallenme, berraklık, kıvam, koku, lezzet, görünüş gibi duyusal testleri yapmışlardır(34).

Omurtag ve arkadaşları yurdumuzun zehirli ballarının laboratuvar diagnostiği üzerinde çalışmışlar, özellikle R.Ponticim ve R.Flavum bit-

Kilerin polenlerini Trabzon yöresinden topladıkları ballarda teşhis etmişlerdir(29).

Orak ve Erkmen Türkiye'nin değişik yörelerinden topladıkları 46 bal örneği üzerinde yaptıkları çalışmada, aşağıdaki yüzde değerleri bulmuşlardır. Nem 13.87-20.34, glukoz 22.01-42.33, fruktoz 22.33-42.57, maltoz 2.30-11.98, sakkaroz 0.05-4.52, yüksek şekerler 0.1-10.98, belirlenemeyen madde 0.30-12.43. Ayrıca ballar üzerinde yaptıkları diğer analizlerin yanı sıra bunların kristallenmesi üzerine glukoz-su/fruktoz ve fruktoz - 1.25 maltoz/glukoz etkisini araştırmışlardır(47).

A.Esat Karakaya ise; zehirli ballardaki toksik maddelerin belirlenmesi üzerine çalışmış ve bazı ballarda Graniyotoksin I, Grayanotoksin II teşhis etmiştir(31).

Sorkun ve İnceoğlu Türkiye'de ki 97 çeşit balda bulunan dominant ve sekonder polen analizlerini yapmışlardır(35,36).

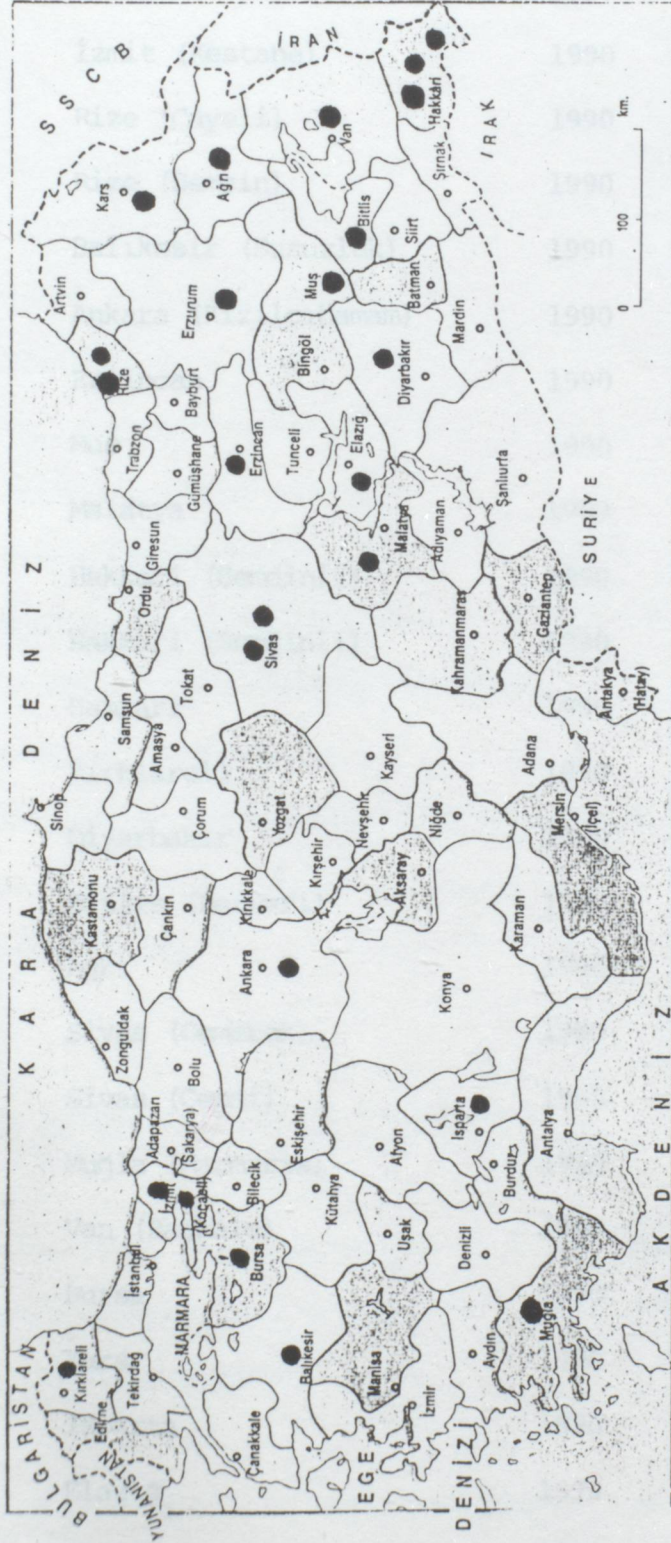
Ancak görüldüğü gibi ülkemizde bal konusunda çok az araştırma yapılmıştır.

II. DENEL ÇALIŞMA VE BULGULAR

II.1. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BAL ÖRNEKLERİ

Bu araştırmada kullanılan ve 1'den 25'e kadar numaralanan örneklerden ilk 7'si şahıslar aracılığı ile değişik illerden, geri kalan 18 tanesi ise güvenilirliğine inandığımız bal pazarlama şirketlerinden hangi yörelere ait olduğu öğrenilerek temin edildi.

Oda sıcaklığında ağız sıkıca kapanan kaplarda saklanan stok örneklerin özelliklerini koruyabilmek için, bu örnekler homojen olabilecek şekilde karıştırıldı ve buradan analizlere yetebilecek miktarlar daha küçük kapaklı kavanozlara alınarak tekrar etiketlendi.



Sekil 1 . Bal örneklerinin temin edildiği yöreler

Tablo 2

Örnek No	Yöre	Yıl
1	İzmit (İhlamur)	1990
2	İzmit (Kestane)	1990
3	Rize (Cayeli)	1990
4	Rize (Hemşin)	1990
5	Balıkesir (Susurluk)	1990
6	Ankara (Kızılcihamam)	1990
7	Erzincan	1990
8	Muş	1990
9	Malatya	1989
10	Hakkari (Şemdinli)	1990
11	Hakkari (Şemdinli)	1990
12	Hakkari	1990
13	Kırklareli	1990
14	Diyarbakır	1990
15	Bitlis (Pervari)	1990
16	Ağrı	1990
17	Sivas (Gemerek)	1990
18	Sivas (Cepni)	1990
19	Muğla (Marmaris)	1990
20	Van (Başkale)	1990
21	Bursa	1990
22	Kars	1990
23	Isparta	1990
24	Elazığ	1990
25	Erzurum	1990

II.2. BAL ANALİZLERİ

II.2.1. Analizlerde Kullanılan Aygıtlar

- Vakum Etüvü
- Kül Fırını
- Kjeldahl Azot Tayin Aygıtı
- Termostatlı Su Banyosu
- Türev Spektrofotometresi
- pH (Metrohm 632 pH Meter)
- Magnetik Karıştırıcı
- Santrifuj (Rotatix II tipi)
- İnce Tabaka Kromatografisi ve Ekleri
- Mikroskop (Olympus pH)
- Viskozimetre (Rotational Viscometre NDJ-1)
- Refraktometre (B. Braun Melsungen AG)
- Duyarlı Terazî

II.2.2. Örneklerin Analize Hazırlanması

İncelediğimiz 25 bal örneğinin 23 tanesi süzme bal olup, 2 tanesi ise petekli örnekti. Bu iki örnek 40°C de, su banyosunda ısıtıldıktan sonra tülbentten süzüldü.

Ayrıca örneklerin bir kısmı yeni mahsül olmasına rağmen kristal halde bulunduğundan, bu örnekler 40°C lik su banyosunda ağzı sıkıca kapanan kaplarda kristal yapıları kayboluncaya kadar ısıtıldı ve mümkün

olduğunca çabuk oda sıcaklığına kadar soğutuldu.

Ancak diastas ve HMF belirlenmeleri ısıtma işlemi görmemiş ballar üzerinde yapıldı.

II.2.3. Nem Belirlenmesi (10,18)

Örneklerdeki nem, kırılma indekslerinin ölçülmesiyle yapıldı.

İlke:

Balın 40°C'deki kırılma indeksi belirlendikten sonra % kuru madde miktarının hesaplanması ve sonucun 100'den çıkartılmasıyla nem miktarının bulunması esasına dayanır.

Belirlemenin Yapılışı:

Abbè refraktometresi termostatlı su banyosuna bağlanarak 40°C'de dengeye gelmesi sağlandı. Cam çubukla alınan bir miktar örnek, refraktometrenin prizması üzerine yayıldıktan sonra, suyun uçmasını önlemek için, refraktometrenin prizmaları mümkün olduğunca çabuk kapatıldı ve bir dakika sonra kırılma indeksi ölçüldü.

Balın % kuru madde miktarı Auerbach ve Borris tarafından amprik olarak verilen,

$$\% \text{ Kuru Madde} = 78,0 + 390,7 (n - 1,4768)$$

formülünden hesaplandı. Bulguların sayısal değerlendirilmesi Tablo 7'de görülmektedir.

II.2.4. Kül Miktarının Belirlenmesi (18)

600°C de sabit tartıma getirilmiş nikel krezelerde 10 gram dolayında bal duyarlı olarak tartıldı. Kurutma sırasında köpürmeyi önlemek için 4-5 damla zeytinyağı ilâve edildikten sonra 105°C lik etüvde kurutuldu. Daha sonra çok kısık bek alevi üzerinde kömürleştirilen örnek 600°C de fırında kül edildi.

Boş krozenin darası, son tartımdan çıkartılarak kül miktarı hesaplandı.

Sonuçlar Tablo 7' de görülmektedir.

II.2.5. Azot Miktarının Belirlenmesi (10,18,47)

Örneklerdeki azot Kjeldahl yöntemiyle belirlendi.

İlke:

Azotlu organik maddelerin çoğu, derişik sülfürik asid ile kaynama noktasının yakınına kadar ısıtılırlarsa parçalanırlar, azotları amonyak haline geçer ve amonyum sülfat halinde çözeltide kalır. Bu çözelti alkali hidroksid fazlasıyla ısıtılırsa amonyak ayrılır, bu da belirli miktar ayarlı asid içersine gönderilerek azot miktarı belirlenir.

Gerekli Reaktifler:

- 0.1 N NaOH
- 0.1 N HCl
- Katalizör Karışımı: 10 g CuSO_4 , 100 g K_2SO_4 ün porselen havan-
da ezilerek homojen karıştırılmasıyla hazır-
lanır.
- İndikatör Karışımı: 40 mg metil kırmızısı ve 10 mg metilen mavi-
sinin, 100 ml % 95'lik alkolde çözülmesiyle
hazırlanır.

Belirlemenin Yapılışı:

Bir gram dolayında bal darası alınmış behercikte duyarlı olarak tartıldıktan sonra Kjeldahl balonuna konuldu. Üzerine 5.5 gram katali-
zör karışımı 10 ml derişik H_2SO_4 katıldıktan sonra bek alevinde ılımlı
şekilde çözünürleştirildi. Çözünürleşmenin tamamlandığı çözelti rengi-
nin siyahtan açık yeşile dönmesiyle saptandı. Soğutulan balon içeriği
az suda çözüldükten sonra kantitatif olarak damıtma aygıtına alındı ve
üzerine çözünürleştirmede kullanılan asidi nötralleştirmek için gereken-
den daha fazla alkali NaOH çözeltisi katıldı. Bu şartlarda $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ın
parçalanması sonucu ayrılan NH_3 , 50 ml 0.1 N HCl çözeltisi içine damı-
tıldı. Amonyak tarafından nötralleştirilen asid miktarından yararlanı-
larak azot miktarı hesaplandı.

1 ml 0.1 N asid $\equiv$ 1.4008 mg azot

Deney bulgularının sayısal değeriendirilmesi Tablog 'da veril-
miştir.

II.2.6. Proteinli Maddelerin Çöktürülmesi (10,18)

İlke:

Bal çözeltisi dodekavolframatofosfatasidi çözeltisi ile muamele edildiğinde proteinli maddeler çöker. Çökelti hacminin özel olarak kalibre edilmiş Lund tüpünde ölçülmesiyle bal proteinlerinin hacmi ölçülür.

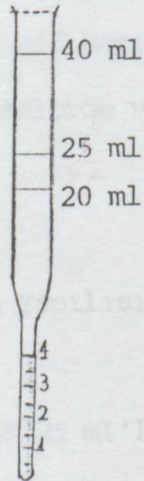
Gerekli Reaktifler:

- Dodekavolframatofosfatasidi: $2 \text{ g H}_3\text{P(WO}_3\text{)}_4 \cdot x \text{ H}_2\text{O}$

20 ml H_2SO_4 (1 + 4) ve 80 ml suda çözülmesiyle hazırlanır.

Belirlemenin Yapılışı:

20, 25 ve 40 ml'de bir işareti bulunan ve kapalı uzun ucu 4 ml ye ve her bir ml'si 1/10 a bölünmüş olan bir tüpe (Şekil 2), bir kıs-



Şekil 2 .

sım bal ve 9 kısım suyun karıştırılıp süzülmesinden elde edilen süzüntüden 20 ml kondu ve 5 ml reaktif ilâve edildi. Su ile 40'ye tamamlandı, bir mantarla kapatıldı ve dikkatle karıştırıldı. 24 saat sonra çöken protein miktarı tüpün altındaki dereceli kısımdan okundu (10,18).

Sonuçlar Tablo 6'da görülmektedir.

II.2.7. HMF (hidroksi metil furaldehid) Belirlenmesi

HMF , balların ısıtıl işlem görüp görmediği, depolarda uzun süre bekletilip bekletilmediği, sakkaroz veya nişasta şuruplarının katılıp katılmadığı konusunda fikir veren bir indekstir.

İlke:

HMF'un barbitürik asid ve p.toluidin çözeltileri ile verdiği kırmızı rengin spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanır.

Gerekli Reaktifler:

- Barbiturik asid çözeltisi: 500 mg barbitürik asid 100 ml'lik ölçü balonunda yaklaşık 70 ml su ile su banyosunda ısıtılarak çözülür ve soğutulduktan sonra hacme tamamlanır.
- P-Toluidin reaktifi: 100 gr p-toluidin yaklaşık 50 ml izopropanol ile 100 ml'lik balon jojede çözüldükten sonra, buna 10.0 ml asetik asid katılır ve izopropanol ile hacme tamamlanır.
(Renkli şişelerde ve soğukta saklanan çözelti en çok 1 ay dayanır).

Belirlemenin Yapılışı:

2.00 gram bal 25 ml'lik beherde tartıldı. Birkaç ml yeni kaynatılmış suda çözüldü ve 10 ml'lik bir mezüre kantitatif olarak aktarıldı. Balın çözüldüğü beher bir kaç ml suyla çalkalanarak aynı mezür üzerine ilâve edildi ve mezür damıtık suyla 10 ml işaretine kadar tamamlanıp, karıştırıldı. İki ayrı tüp içine bir boş ve bir de ana deneme ya-

pıldı.

Boş deneme için tüpe 2.0 ml bal çözeltisi, 5.0 ml p-Toluidin reaktifi, 1.0 ml su konulurken, ana deneme için tüpe 2.0 ml bal çözeltisi, 5.0 ml p-Toluidin reaktifi, 1.0 ml Barbitürik asid çözeltisi kondu ve tüplerin ağzı kapatılarak çalkalandı. Balda HMF olduğunda, bunun miktarına göre ana denemenin yapıldığı tüpte açık veya koyu kırmızı renk meydana geldi.

Bu rengin boş denemeye karşı spektrofotometrede okunan extinksiyonundan,örnekteki HMF miktarı aşağıdaki formül yardımıyla bulundu.
(Ölçümler 550 nm de yapıldı)

$$\text{HMF} : \text{mg/ l kg} = 192 \times E$$

Bulguların sayısal değerlendirilmesi Tablo 6'da görülmektedir.

II.2.8. Ballardaki pH, Serbest Asidlik, Lakton ve Formol Sayısının Belirlenmesi(1 , 37)

Gerekli Reaktifler:

- 0.05 N HCl

- 0.05 N NaOH

- Nötral formaldehid çözeltisi: % 35'lik formaldehidin seyreltik NaOH çözeltisi ile pH metrede pH = 8.0 e ayarlanmasıyla hazırlandı.

II.2.8.1. pH Belirlenmesi:

10.0 gram bal 100 ml'lik behere tartıldı. 25 ml bullu pipetle damıtık su konulup çözüldü. pH metre çalışma talimatına göre çalıştırılıp tampon çözeltilerle ayarı yapıldı. Behere bir magnet konularak, magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirildi. Cam elektrod çözeltiye batırılarak bal örneğinin hemen pH'ı ölçüldü.

II.2.8.2. Serbest Asidlik Belirlenmesi:

pH'ı ölçülen bal çözeltisi, bir bürete konulan 0.05 N NaOH ile pH'ı 7.0 olana kadar 40-60 sn içinde titre edildi. Sarfiyat (a) olarak kaydedildi. Aynı çözeltide lakton miktarı belirlenmesinde kullanıldı.

II.2.8.3. Lakton Miktarının Belirlenmesi:

Serbest asidlik belirlenmesinden sonra, bal çözeltisine 10 ml'lik bullu pipetle 0.05 N NaOH katıldı, 1 dakika beklendi ve daha sonra 10 ml'lik bullu pipetle 0.05 N HCl eklendi. Böylelikle pH 7.0 nin altına düşürüldü. Aynı büretten 0.05 N NaOH ile pH 7.0 oluncaya kadar titre edildi. Alkali sarfiyatı (b) ml olarak kaydedildi.

II.2.8.4. Formol Sayısının Belirlenmesi:

Lakton belirlenmesinden sonra, 0.05 N NaOH ile pH 8.0'e getirildi. Sarfiyat (c) ml olarak kayd edildi. 15 ml formaldehid katıldı ve 1 dakika beklendi, daha sonra 0.05 N NaOH ile pH 8.0'e getirildi ve sarfiyat (d) ml olarak kaydedildi.

II. Serbest asidlik, lakton miktarı ve formol sayıları aşağıda gösterilen formüller yardımıyla bulundu.

İlke:

Serbest Asidlik : $a \times 5$ (meq/ kg)

Lakton Miktarı : $(b - a - 1.0) 5$ (meq/ kg)

Formol Sayısı : $(d - c) 5$ (meq/ kg)

Deney sonuçları Tablo 5 'da görülmektedir.

II.2.9. Örneklerin Viskozite Ölçümleri

Bal örneklerinin viskozitesi 40°C de ölçüldü(11). Bu amaçla "Rotational Viscometre" kullanıldı.

Deneyin Yapılışı:

2.5 cm çapında ve 8.5 cm boyunda tüp içine bal örneği konulduktan sonra, örnek dolu kısım su seviyesinin 1 cm altında kalacak biçimde 40°C ye ayarlanmış su banyosunun tüp tutucusuna yerleştirildi. 30 dakika ara sıra karıştırarak örneğin sıcaklığının 40°C ye gelmesi sağlandı. Daha sonra viskozimetre cihazının kataloğunda açıklandığı biçimde uygun rötör ve rötörün devir sayısı tesbit edildi. Rötör işaret çizgisine kadar örneğin içine batırıldı ve 5 dakika döndürüldükten sonra cihaz durdurularak skalası üzerinden viskozite cp (santipoise) olarak okundu.

İşlem aynı örnek için sabit değer elde edinceye kadar 2 dakika da bir yinelendi. Sonuçlar Tablo 7 'de görülmektedir.

II.2.10. Diastas Sayısının Tayini(8)

İlke:

Tamponlanmış bal çözeltisine 40°C de katılan belirli miktar nişastanın balda mevcut diastaz enzimi tarafından parçalanen miktarının tesbitine dayanır.

Gerekli Reaktifler:

- Hidroklorik asid çözeltisi (yaklaşık 0.5 N)
- Sodyum hidroksid çözeltisi (yaklaşık 0.5 N)
- İyod çözeltisi (0.1 N): 12.7 g iyod ve 25 g KI litrelik balonjojede az miktar suda çözüldükten sonra, damıtık suyla hacme tamamlandı.
- Di sodyum hidrojen fosfat çözeltisi: 71.6 gram di. sodyum hidrojen fosfat dodeka hidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) 1000 ml'lik balonjojede 500-600 ml suda çözüldükten sonra, damıtık suyla hacme tamamlandı.
- Sitrik asid çözeltisi: 21.01 gram sitrik asid mona hidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) , 1000 ml'lik balonjojede 500-600 ml damıtık su-
da çözüldükten sonra hacme tamamlandı.
- Fosfat-Sitrat tamponu: 470 ml sitrik asid çözeltisi 2000 ml'lik bir behere konulduktan sonra üzerine 530 ml disodyum hidrojen-fosfat çözeltisi katıldı. Beher bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirildi ve kalibrasyonu yapılmış pH metrenin cam elektrodu çözelti içine daldırıldı. Çözeltinin pH'sı 5.2 olacak biçimde 0.5 N asid ya da baz katmak suretiyle ayarlandı.

- Sodyum klorür çözeltisi (0.1 N) : 2.93 g NaCl, 500 ml'lik balonjojede bir miktar damıtık suda çözüldükten sonra hacme tamamlandı.
- Nişasta çözeltisi: 1.000 g nişasta 250 ml'lik bir erlene tartıldı. Üzerine 60 ml su konulup, karıştırıldı. Karışım hızla kaynama noktasına kadar ısıtıldı ve 3 dakika ılımlı şekilde kaynatmaya devam edildi. Daha sonra erlenin ağzı kapatılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve kantitatif olarak 100 ml'lik balonjojeye alınarak hacme tamamlandı.
- Nişasta - Tampon karışımı: Fosfat / Sitrat tampon çözeltisinin 40 ml'si 250 ml'lik bir erlende 100 ml nişasta çözeltisi ve 20 ml 0.1 N NaCl çözeltisi ile karıştırıldı. Karışım, siyah bandlı süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü, temiz, kuru ve ağzı iyi kapanan bir şişeye konup saklandı. Bu çözelti 2 günde bir yeniden hazırlandı.

Belirlemenin Yapılışı:

Bal çözeltisinin hazırlanması:

Ön ısıtma işlemine tabi tutulmamış baldan 100 ml'lik bir behere 10 g tartıldı. Bal 40-50 ml damıtık suda çözüldü. Karışım 100 ml'lik balonjojeye alındı ve 100 ml'ye tamamlandı.

Bir seri halinde 1'den 12'ye kadar numaralandırılarak dizilen deney tüplerine Tablo3'de verilen miktarlarda bal çözeltisi ve gerekli reaktifler konularak karıştırıldı. Su banyosunun sıcaklığı 47 °C'ye ayarlandı ve tüpler, bu sıcaklıkta tam bir saat bekletildi.

Tablo 3 : Diastas sayısı tayininde, inkübasyon için alınacak bal çözeltisi ve reaktif hacimleri

Tüp no	Bal çözeltisi (ml)	Damıtık su (ml)	Nişasta Tampon Karışımı	Toplam	Diastas Sayısı
1	10.0	5.3	2.7	18.0	1.0
2	10.0	3.3	4.7	18.0	2.5
3	10.0	0.0	8.0	18.0	5.0
4	7.7	2.3	8.0	18.0	6.5
5	6.0	4.0	8.0	18.0	8.3
6	4.6	5.4	8.0	18.0	10.9
7	3.6	6.6	8.0	18.0	13.9
8	2.8	7.2	8.0	18.0	17.9
9	2.1	7.9	8.0	18.0	23.0
10	1.7	8.3	8.0	18.0	29.4
11	1.3	8.7	8.0	18.0	38.5
12	1.0	9.0	8.0	18.0	50.0

Bir saatlik sürenin sonunda deney tüpleri su banyosundan çıkarıldı ve musluk altında oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Her tüpe, 1'er damla 0.1 N iyot çözeltisi damlatıldıktan sonra tüpler alt üst edilerek karıştırıldı. Tüpler bir numaralı olandan itibaren gözle incelendi. Mavi-lik gözlenen ilk tüp sınır olarak alındı. Bundan bir önceki deney tüpündeki nişastanın tamamı iyot ile hiç renk vermeyecek şekilde hidroliz olduğundan Tablo 3'den renksiz olan bu en son tüpün karşılığı olan diastas. sayısı okundu.

Sonuçlar Tablo 6'da görülmektedir.

II.2.11. Prolin Belirlenmesi (18,38,47)

İlke:

Prolinin ninhidrin çözeltisi ile verdiği sarı rengin şiddetinin spektrofotometrede ölçülmesinden yararlanılarak madde miktarının belirlenmesi esasına dayanır.

Gerekli Reaktifler:

- Ninhidrin çözeltisi: 3.0 g ninhidrinin 100 ml etilen glikolmonometileterde çözüldü ve çözelti çinko metali üzerinde renkli şişelerde muafaza edildi.
- Prolin stok çözeltisi (0.5 mg/ml) : 25 mg L-prolinin 50 ml damıtık suda çözülmesiyle hazırlandı.
- Prolin çalışma çözeltisi (50 µg/ml) : 10 ml stok çözeltinin suyla seyreltilmesiyle günlük hazırlandı.

Belirlemenin Yapılışı:

2.500 gram bal 50 ml'lik bir beherde tartıldıktan sonra 10-15 ml suda çözüldü ve kantitatif olarak 50 ml'lik bir balonjojeye alındı. Beher bir kaç kez çalkalanıp, yıkama sularıda balonjojeye aktarıldıktan sonra, balonjoje hacme tamamlandı. Üç reaksiyon tüpünün her birine 0.5 ml bal çözeltisi konulduktan sonra üzerlerine 0.25 ml HCOOH ve 1.00 ml ninhidrin çözeltisi katıldı. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılıp 15 dakika kaynar su banyosunda tutuldu, süre bitiminde 22°C lik su banyosunda soğutuldu. Kapakları açılan tüplerin herbirine 5 ml sulu izopropanol (1 + 1) çözeltisi katıldı ve iyice karıştırıldıktan sonra 520 nm de

suya karşı absorbansları 30 dakika içinde okundu.

Ayrıca bir başka tüpe 0.5 ml bal çözeltisi ve 1.25 ml su konularak diğer tüplerle aynı işlemlere tabi tutuldu ve absorbansı belirlendi. Bulunan değer ilk okunanlardan çıkartılarak balın renginden gelebilecek hata düzeltildi. Ayrıca prolin çalışma çözeltisinin su ile uygun şekilde seyreltilmesiyle ml'sinde 10, 20, 30, 40, 50 μ g prolin içeren standartlar hazırlandı. Bal tayinlerinde olduğu gibi renk oluşturuldu. Konsantrasyon absorbans doğrusu çizildi. Buradan baldaki madde miktarları hesaplandı.

Sonuçlar Tablo 6 'da görülmektedir.

II.2.12. Şekerlerin Belirlenmesi (1,15,18,47)

Örneklerdeki şekerler adsorpsiyon kromatografisi ile belirlendi. Bu amaçla Şekil 3 'de görülen standart kolon kullanıldı. Kolondan fraksiyone edilen şekerler ayrı ayrı analizlendi.

Adsorban karışımı olarak; Darco G-60 aktif karbon ve Celit 545 süzme yardımcı maddesi kullanıldı.

II.2.12.1. Adsorpsiyon Kolonunun Hazırlanması

Bir parça cam yünü bir bagetle itilerek kolonun alt ucuna yer-

leştirildi ve cam yünü alttan ıslatıldı. 22 gram adsorban bir beherde tartıldı, üzerine 150 ml su katıldıktan sonra karıştırıldı ve bir huni kullanılarak kolonun üstünden döküldü. Yaklaşık 5 dakika adsorbanın yerleşmesi beklendikten sonra kolonun altından vakum uygulanarak adsorbanın sıkışması sağlandı. Sıkıştırılmış adsorbanın 17 cm den fazla olan kısmı kolonun üstünden boşaltıldı ve en üste 1-1.5 cm yükseklikte tabaka oluşturacak biçimde Celit katıldı. Bunu takiben kolon sırasıyla 500 ml damıtık su, 250 ml % 50'lik alkol çözeltisi ile yıkandı ve tekrar 150 ml % 50'lik alkol konularak bir gece bekletildi.

Tüm çalışmalar sırasında kolonun üstünden 2 bar. basınç uygulanarak, ya da altından vakum uygulanarak kolondan yaklaşık 5.5-8 ml/dak akış hızı sağlandı.

Her sekiz kullanımdan sonra kolon boşaltılarak yeniden hazırlandı.

II.2.12.2. Kolonun standartlaştırılması

Kolondaki şekerleri elue edebilmek için kullanılacak alkol çözeltisinin yüzdesi, kullanılan kömürün ayırma gücüne bağlıdır. Bu nedenle önce monosakkaritleri ve disakkaritleri kantitatif olarak elue edecek alkol yüzdeleri tesbit edildi.

Kolonda bulunan % 50 lik alkol çözeltisi kolonun üstünden alındıktan sonra kolon 250 ml damıtık suyla yıkandı. 1.000 g glukoz bir beher içinde 10 ml suda çözüldükten sonra uzun boyunlu bir huni ile kantitatif olarak kolona alındı ve emdirildi. Daha sonra kolon üzerine 250

ml su konuldu, kolonun üstünden basınç uygulanarak, önceden darası alınmış 5 ayrı beher içine 50 şer ml'lik porsiyonlar halinde fraksiyonlar toplandı. Bu fraksiyonlar önce su banyosunda kuruluğa kadar bekletildi ve bunu takiben vakum etüvünde 90°C de sabit tartıma kadar kurutuldu. Son tartımlardan, beherlerin darası çıkartılarak elue edilen glukoz miktarı hesaplandı. Bu şekilde konulan glukozun % 95'lik bir bölümünün geçtiği görüldü.

Kolon 50 ml % 5'lik alkol, 250 ml su ve 25 ml % 1 lik alkol çözeltisiyle yıkandı. Bu kez 1.000 gram glukozun 10 ml % 1 lik alkoldeki çözeltisi kolona yerleştirildi. Elüsyon için kolonun üzerine 260 ml % 1 lik alkol çözeltisi konulduktan sonra elüsyon işlemi yukarıda anlatıldığı biçimde yinelenildi. Bu kez gravimetrik olarak yapılan tartım sonucunda ilk 150 ml'lik fraksiyonda glukozun % 99 sınırı geçtiği tesbit edildi. Bu nedenle monosakkaritlerin elusyonu için % 1 lik alkol çözeltisi (Solvent I) seçildi.

Di sakkaritleri elue edecek alkol yüzdesinin tesbiti için kolon 250 ml su ve arkasından 20 ml % 5 lik alkolle yıkandı. Bu kez 100 mg maltoz ve 100 mg sakkaroz karışımının 10 ml % 5 lik alkoldeki çözeltisi kolona yerleştirildi. Kolonun üzerine 250 ml % 5 lik alkol konulduktan sonra 50 şer ml' lik fraksiyonlar toplandı, yukarıda anlatıldığı biçimde tartıldı.

Bu elüsyon işlemi % 6 ve % 7 lik alkol çözeltisiyle yinelenildi. % 7 lik alkol çözeltisi kullanıldığında ilk 200 ml'lik fraksiyonda disakkaritlerin % 98 i elue edildiğinden, bu alkol konsantrasyonu disakkaritlerin elusyonu için (Solvent II) seçildi.

Yüksek şekerler ise 100 ml % 50 lik alkol çözeltisi (Solvent III) ile elue edildi.

II.2.12.3. Balın Şeker Fraksiyonlarının Hazırlanması

Kolon 250 ml suyla yıkandıktan sonra 20 ml Solvent I kolondan geçirildi. Kolonun altına 250 ml'lik bir balonjoje konulduktan sonra, balonjoje ve kolon bir vakum başlığıyla birleştirildi. 1 g dolayında bal 50 ml lik beherde duyarlı olarak tartıldıktan sonra 10 ml Solvent I ile çözüldü. Uzun boyunlu bir huni kullanılarak kolon içine alındı, celit yüzeyine gelinceye kadar vakum uygulanarak kolona emdirildi. Tüm çalışmalar sırasında çözeltilerin celit yüzeyinin altına inmemesine ve kolonun kurumamasına özen gösterildi. Daha sonra kolonun üstüne 260 ml Solvent I konuldu ve 35-50 dakikada 250 ml eluat alacak biçimde vakum uygulandı. Balonjoje işaret çizgisine kadar dolunca vakum kaldırıldı. Bu alınan ilk fraksiyon monosakkaritler karışımıdır. (Fraksiyon A)

Solvent I in fazlası kolonun üzerinden alındıktan sonra, kolona 265-270 ml Solvent II ve kolonun altına yeniden 250 ml'lik balonjoje konuldu. Yukarıdaki işlemler tekrarlanarak disakkarit fraksiyonu toplandı. (Fraksiyon B)

Solvent II nin fazlası uzaklaştırıldıktan sonra 110 ml Solvent III kolona konuldu ve 100 ml lik bir balonjojeye toplandı. (Fraksiyon C)

II.2.12.4. Monosakkarit Fraksiyonunun Belirlenmesi

A. Fruktoz Belirlenmesi

Gerekli Reaktifler:

- Shaffer-Somogyi Reaktifi: 25 g Na_2CO_3 ve 25 g Na-K Tartarat 4 H_2O litrelik bir beherde 500 ml damutık suda çözüldü. 100 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ / 100 ml konsantrasyonundaki çözeltiden alınan 75 ml, beher dibine deyecek biçimde bir huni kullanılarak ve karıştırılarak Na-K Tartarat çözeltisine ilâve edildi. Daha sonra bu çözeltide sırasıyla 20 gram NaHCO_3 ve 5 gram KI çözüldü. Çözelti bir litrelik balonjojeye aktarıldıktan sonra üzerine 250 ml 0.100 N KIO_3 (3.567 g KIO_3 / lt) katıldı ve hacme tamamlandı. Çözelti cam pamuğundan süzüldü, bir gece bekletildikten sonra ertesi gün kullanıldı.
- İyod çözeltisi (yaklaşık 0.05 N) : 13.5 g iyot ve 24 g KI 200 ml damutık suda çözüldükten sonra 2 litreye tamamlandı.
- H_2SO_4 çözeltisi (yaklaşık 2 N) : 56 ml derişik H_2SO_4 ün litreye tamamlanmasıyla hazırlandı.
- Sodyum sülfid çözeltisi: 1 g Na_2SO_3 100 ml balonjojede çözüldükten sonra damutık suyla hacme tamamlandı. Bu çözelti kullanılacağı zaman günlük olarak hazırlandı.
- NaOH çözeltisi (yaklaşık 1 N) : 40 g NaOH / 1 lt
- Brom krezol yeşili çözeltisi : 150 mg bromkrezol yeşili 100 ml suda çözümlere hazırlandı.
- % 1 'lik nişasta çözeltisi

- İyodür-oksalat çözeltisi : 2.5 g KI ve 2.5 g $K_2C_2O_4$ 100 ml damıtık suda çözülerek haftalık hazırlandı.
- 0.005 N $Na_2S_2O_3$ çözeltisi : Standart 0.1000 N $Na_2S_2O_3$ çözeltisinin seyreltilmesiyle kullanılacağı gün hazırlandı.

Belirlemenin Yapılışı:

Fraksiyon I' den bullu pipetle 20 ml, 200 ml'lik ölçü balonuna alındı. Üzerine 50 ml'lik büretten 40 ml 0.05 N I_2 çözeltisi katılarak karıştırıldı ve 30 sn içinde 25 ml 0.1 N NaOH çözeltisi karıştırılarak ilâve edildi. Ölçü balonu 18 ± 0.1 °C lik su banyosunda 10 dakika bekletildikten sonra, balon su banyosundayken 5 ml 1 N H_2SO_4 çözeltisinden katıldı ve balon su banyosundan çıkartılıp ortamdaki iyod 2 damla nişasta indikatörü beraberliğinde Na_2SO_3 ile giderildi. Daha sonra 5 damla bromkrezol yeşili çözeltisi damlatıldı ve 1 N NaOH ile nötrale edildi, balon hacme tamamlandı.

Belirleme 25 x 200 mm'lik deney tüpleriyle yapıldı. Dört ayrı deney tüpüne 5 ml örnek (örnekli deneme), bir deney tüpüne 5 ml damıtık su (boş deneme) konulduktan sonra üzerlerine 5'er ml Shaffer-Somogyi reaktifi katıldı ve tüplerin ağızları huni ile kapatılarak kaynar su banyosunda 15 dakika bekletildi. Musluk altında 4 dakika soğutulan tüplere ikişer ml iyodür-oksalat çözeltisi ve 3'er ml 2 N H_2SO_4 çözeltisi katıldı. Çöken Cu_2O çözünene kadar çalkalandı. Çözeltiye asid katılana kadar tüplerin sallanmamasına dikkat edildi. Tüpler soğuk su banyosunda 5 dakika bekletilirken iki kez daha çalkalandı. Daha sonra tüp içine küçük bir magnet konuldu ve magnetik karıştırıcıda ılımlı bir şekilde karıştırılarak 0.005 N $Na_2S_2O_3$ çözeltisiyle nişasta indikatörü beraberinde titre edildi.

% Fruktoz aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$V = S - S$$

(Boş Deneme) (Örnekli Deneme)

$$\% \text{ Fruktoz} = \frac{500 (V \times 0.1150 + 0.0915) \times 100}{T (\text{örnek tar. mg})}$$

Glukoz belirlenmesi için gerekli olan fruktoz düzeltmesi:

$$F.d = (V \times 0.1150 + 0.0915) \times 40$$

formülünden hesaplandı.

Sonuçlar Tablo 4'de görülmektedir.

B. Glukoz Belirlenmesi

Fraksiyon I 'den bullu pipetle 20 ml, 200 ml'lik bir erlene alındı. Kaynayan su banyosunda kuruluğa kadar uçurulduktan sonra kalıntı 20 ml damıtık suda çözüldü. Boş deneme için, 200 ml'lik erlene 20 ml damıtık su konuldu. Erlenlere 20 ml 0.05 N I_2 çözeltisi ve 25 ml 0.1 N NaOH çözeltisi katıldı. 18 ± 0.1 °C'lik su banyosunda tam 10 dakika tutulduktan sonra 5 ml 2 N H_2SO_4 katıldı. Banyodan çıkartılan erlen içerikleri 0.05 N $Na_2S_2O_3$ ile nişasta indikatörü kullanılarak titre edildi.

% Glukoz aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$V = S \quad - \quad S$$

(Boş Deneme) (Örnekli Deneme)

$$\% \text{ Glukoz} = \frac{56.27 [V - (0.01215 \times F \cdot d)] \times 100}{\text{Örnek Tartımı (mg)}}$$

Sonuçlar Tablo 4' de görülmektedir.

II.2.12.5 Disakkarit Fraksiyonunun Belirlenmesi

A. Maltoz Belirlenmesi

Belirlemenin Yapılışı:

İki ayrı 25 x 200 mm'lik deney tüpüne bullu pipetle 5'er ml Fraksiyon B konuldu, ayrıca 5 ml su ile birde boş deneme yapıldı. Bütün tüplere 5'er ml Shaffer-Somogyi reaktifi katıldıktan sonra ağızları huni ile kapatılarak; örnekli tüpler 30 dakika, boş deneme 15 dakika kalcak şekilde kaynar su banyosunda tutuldu. Daha sonra musluk altında 4 dakika soğutuldu ve gerekli reaktifler katılarak indirgeme değeri fruktoz da olduğu gibi belirlendi.

İndirgen disakkaritler maltoz olarak aşağıdaki formülden hesaplandı.

$$\% \text{ Maltoz} = \frac{50 [(V \times 0.2264) + 0.075] \times 100}{\text{Örnek Tartımı (mg)}}$$

Sakkaroz belirlenmesi için gerekli olan maltoz düzeltmesi:

$$M . d = \text{Maltoz Sarfiyatı} \times 0.92$$

formülünden hesaplandı.

Sonuçlar Tablo 4 'de görülmektedir.

B. Sakkaroz Belirlenmesi

Gerekli Reaktifler:

- 6 N HCl çözeltisi
- 5 N NaOH çözeltisi

Belirlemenin Yapılışı:

Fraksiyon B'den bullu pipetle 25 ml, 50 ml'lik balonjojeye alındı, üzerine 5 ml 6 N HCl ve 5 ml su konulduktan sonra 60 °C 'lik su banyosunda 17 dakika bekletildi, soğutuldu ve bromkrezol yeşiline karşı 5 N NaOH ile nötralize edildi. Musluk altında soğutulduktan sonra hacme tamamlandı.

Bu çözeltiden 5 ml alınarak indirgeme değerleri fruktozdaki gibi belirlendi. Burada da 5 ml su ile boş deneme yapıldı ve boş deneme sarfiyatından örneğin sarfiyatı çıkartıldıktan sonra S_1 ve S_2 değerleri aşağıdaki tablodan yararlanarak bulundu.

Sonuçlar Tablo 4 'de görülmektedir.

5 ml Çözeltideki Sakkaroz (mg)	0.005 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ Sarfiyatı (ml)
0.255	1.75
0.502	3.95
1.004	8.72
1.260	11.28

$$\% \text{ Sakkaroz} = \frac{50 (2 S_2 - S_1) \times 100}{\text{Örnek Tartımı (mg)}}$$

S_1 = Maltoz düzeltmesine eşdeğer sakkaroz miktarı (mg)

S_2 = Sarfiyata eşdeğer sakkaroz miktarı (mg)

II.2.12.6 Yüksek Şekerler (Dekstrin) Belirlenmesi

Fraksiyon C 'den 25 ml bullu pipetle 50 ml'lik balonjojeye alındı. Üzerine 5 ml 6 N HCl ve 5 ml H_2O katıldıktan sonra 45 dakika kaynar su banyosunda tutuldu. Süre sonunda banyodan çıkartılan balonjoje soğutuldu, sakkaroz belirlenmesinde olduğu gibi nötralize edildi ve indirgeme değeri Shaffer-Somogyi yöntemiyle fruktoz da olduğu gibi belirlendi. Boş deneme sarfiyatından örnek sarfiyatı çıkartılarak, aşağıdaki

verilen değerlerle çizilen eğriden glukoz eğdeğeri bulundu.

<u>Glukoz (mg)</u>	<u>Sarfiyat (ml)</u>
0.05	0.20
0.10	0.60
0.25	1.85
0.50	4.00
1.00	8.50
2.00	17.60

$$\% \text{ Yüksek Sekerler} = \frac{40 \text{ (Glukoz eğdeğeri) } \times 100}{\text{rnek Tartımı (mg)}}$$

formülünden hesaplandı.

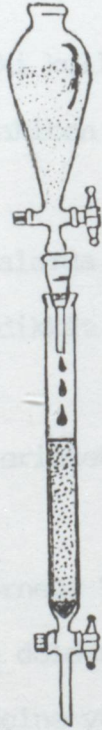
Sonuçlar Tablo 4 'de görülmektedir.

II.2.13. Serbest Amino Asidlerin Ekstraksiyonu ve Belirlenmesi

II.2.13.1. Serbest Amino Asidlerin Ekstraksiyonu(21-23)

Serbest amino asidler reçine kolonda tutularak ayrıldı.

Reçine Kolonunun Hazırlanması(39,40)



Amberlit IR 120 H + reçinesinden 25 g 25 ml'lik bir behere tartıldı. Üzerine 100 ml damıtık su konuldu. Boncuk biçiminde olan reçinelerin kırılmamasına dikkat ederek su ile çalkalandı ve yıkama suları dekante edildi. Bu işlem iki kez tekrarlandı. 25 x 1 cm ebadındaki kolonun alt kısmına cam pamuğu yerleştirildikten sonra reçinenin kolon içerisine homojen yerleşmesi için suyla dolduruldu. Daha sonra reçineler

Şekil 4 .

yüksekliği 20 cm olacak şekilde yerleştirildi. Kolonun musluğu açılarak kolondaki su reçine yüzeyinin 0.5 cm üstünde kalacak biçimde boşaltıldı. Daha sonra kolon rejenere edildi.

Reçine Kolonunun Rejenerasyonu (41)

150 ml 1 N HCl kolonun üzerindeki damlatma hunisine konulduktan sonra büret musluğu açılarak kolondan 2 ml/dak hızla çözelti geçişi sağlandı. Asidle rejenerasyon işlemi bitirildikten sonra kolon 150 ml damıtık suyla yıkandı.

Daha sonraki kullanımlarda ise; rejenerasyon işlemi önce 100 ml 2 N HCl ve bunu takiben 100 ml damıtık su geçirilerek yapıldı.

Tüm çalışmalarda kolonun akış hızının 2 ml/dak olmasına ve kolonun kurumamasına dikkât edildi.

Bal Örneklerindeki Amino Asitlerin Yoğunlaştırılması

20 g bal örneği % 70 lik 50 ml etil alkolde çözüldükten sonra damlatma hunisine dolduruldu. Daha sonra damlatma hunisinin musluğu açılarak örnek reçine yüzeyi bozulmayacak biçimde reçine yüzeyinin 5-6 cm yüksekliğine kadar kolon içine yavaş bir şekilde alındı. Damlatma hunisi ile büret arasında bulunan lastik tıpa hava almayacak şekilde iyice sıkıştırılıp, damlatma hunisiyle büretin musluğu açılarak örneğin kolondan geçişi sağlandı. Kolonda tutulan proteinler, polisakkaritler, şeker vb maddeler, kolondan sırasıyla 100'er ml % 20 ve % 80 lik isopropil alkol ve damıtık su geçirilerek uzaklaştırıldı. Amino asitler ise kolonun 100 ml 4 N NH_3 ile yıkanmasıyla elue edildi. Serbest amino asitleri içeren eluat döner evaparatörde 60°C de kuruluğa kadar buharlaştırıldıktan sonra balondaki kuru kalıntı 5 ml 0.1 N HCl ile çözüldü. Ağzı kapaklı küçük tüplerde amino asitlerin ince tabaka kromatografisi ile

belirlenmesi için buz dolabında saklandı. İşlem sonunda reçine kolonu rejenere edildi. Suyla dolu olarak tekrar kullanıma hazır halde muhafaza edildi.

Her sekiz kullanımdan sonra reçine kolonu yeniden hazırlanılarak, rejenere edildi.

II.2.13.2. Serbest Amino Asidlerin İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) İle Belirlenmesi(42)

TLC'de adsorban olarak Cellulose pulver ML 300 (Machery, Negel & Co.) kullanıldı(43,44). Ancak adsorban içerdiği safsızlıklardan arındırılmak için bazı çözügen karışımlarıyla temizleme işlemine tabi tutuldu.

- Adsorbanın Temizlenmesi(45)

50 gram sellüloz tozu 200 ml % 80 lik metil alkolle bir beher içinde karıştırıldıktan sonra, büchner hunisinden süzüldü ve büchner hunisindeki sellüloz sırasıyla aşağıdaki çözügen karışımlarıyla yıkandı:

i-propil alkol - asetik asid - su (60:20:20) 300 ml

metil alkol - su (25:75) 200 ml

metil alkol - 1 N HCl (60:40) 200 ml

su 200 ml

metil alkol 200 ml

Daha sonra havada ve 70 °C lik etüvde kurutulan adsorban ağzı sıkıca kapanan kavanozda saklandı.

- Adsorban Tabakalarının Hazırlanması

5 adet 20 x 20 cm cam plak için 15 g adsorban 400 ml lik bir beherede konuldu ve üzerine 90 ml damıtık su katıldıktan sonra yaklaşık 5000 devir / dak bir blendırla 2 dakika karıştırıldı. Bekletilmeden özel aparatına konularak cam plaklar üzerine yayıldı. Tabakalar opak görünüm alıncaya kadar (yaklaşık 1.5-2 saat) bekletildikten sonra özel raflarına alınarak dik konumda oda temperaturünde bir gece bırakıldı ve ertesi gün ayırım işleminde kullanıldı.

- TLC ile Ayırımın Yapılması

Gerekli Reaktifler:

Solvan Karışımları:

Solvan I : Birinci yönde yapılan yürütmeler için

n-butilalkol-aseton-dietilamin-su (10:10:2:5)

Solvan II : i-propilalkol-formikasid (%99) -su (40:2:10)

Standart amino asid çözeltisi : Standart amino asid karışımı olarak Tablo 8 'de görülen amino asidlerin karışımı kullanıldı. Her bir amino asidden alınan 10 mg ,lık tartımlar bir tüp içine konulduktan sonra 10 ml 0.1 N HCl ile çözüldü. (Tüm amino asidler Fluka firmasının kromatografik saflıktaki L şekilleridir).

Belirleme Reaktifi: (45)

A. Kadmiyum asetat - ninhidrin reaktifi : 0.5 g kadmiyum asetat 50 ml suda çözülür. Üzerine 10 ml buzlu asetik asid katıldıktan sonra asetonla 500 ml ye tamamlanır. (1/5 tertip hazırlandı) Reaktif kullanılacağı zaman alınan belirli hacimdeki çözeltiye % 0.2 si kadar ninhidrin katılır ve reaktif bekletilmeden kullanılır.

Reaktif püskürtülen tabakalar 60⁰ lik etüvde 10-15 dakika bekletildiğinde amino asidlerin bulunduğu bölgelerde lekeler elde edilir.

B. Kadmiyum asetat - isatin reaktifi: Bu reaktif de (a) da olduğu gibi hazırlanır ancak ninhidrin yerine isatin kullanılır. Reaktif tabakalara püskürtüldükten sonra 90°C lik etüvde 8-10 dakika bekletildiğinde amino asidlerin bulunduğu bölgelerde değişik renk lekeler elde edilir.

Her iki reaktifle amino asidlerin verdiği lekelerin renkleri Tablo 8 'de görülmektedir.

Belirlemenin Yapılışı:

Bölüm II.2.13.2 de anlatılan biçimde hazırlanmış tabakaların sol alt köşesine kenarlardan 1.5 cm uzaklıkta bir işaret konulduktan sonra, standart amino asid karışımından 2 µl bir mikro pipetle işaretlendi. Tabaka üzerinde yaklaşık 1-2 mm çapında leke olunca işaretlemeye ara verilerek iyice kuruması beklendi ve işaretlemeye devam edildi. İşaretlenen noktanın 10 cm üzerinden düz bir çizgi çizilerek solvanın yürüye-

ceği mesafe tesbit edildi ve plaka Solvent I karışımıyla doyurulmuş tanka yerleştirildi. Birinci yönde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra, cam plak tanktan çıkartılarak oda sıcaklığında solvan kokusu duyulmayınca kadar kurutuldu ve 90° çevrilerek 2. yönde yürütmek için Solvent II karışımının bulunduğu tanka yerleştirildi. Bu yöndeki yürütmeye tamamlandıktan sonra plakalar kurutuldu ve amino asid lekelerinin yerleri tesbit edildi.

Standart amino asid karışımında kullanılan 21 amino asidin vermiş olduğu lekelerin yerleri tesbit edildi. Bunlarda Leu ve İleu müşterek leke verdiğiinden bu tabakalarda 20 leke elde edildi.

Yukarıda anlatılan işlemlerin aynısı, örnekler içinde uygulandı. Ancak amino asid ekstratlarının seyreltik olması nedeniyle plakalara 50 µl örnek işaretlendi.

Reaktif püskürtülerek elde edilen lekelerin neler olduğu lekelerin R_f değerleri ve renklerinden yararlanılarak teşhis edildi.

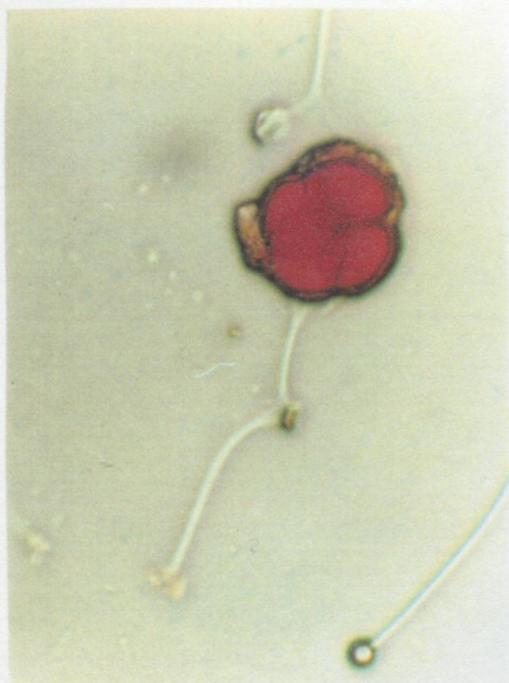
II.2.14. Polen Tayini

Tayinin Yapılışı :

Bir beher içinde 2.00 g bal tartıldıktan sonra 6 ml su ile çözül-
dü ve bu çözelti tüpe konulup 2000 devirde 10 dk santrifüj edildi. Süre
sonunda tüp santrifüjden alınarak sıvı kısım dekante edildi. Tüpün di-
bindeki tortu küçük miktar jelatin-gliserin karışımıyla alındı ve lam-
lamel arasına konup, hafifçe ısıtılarak lam ve lamelin birbirine yapış-
ması sağlandı. Daha sonra balda bulunan polenler mikroskopta incelendi.

Mevcut tüm bal örneklerinde Rhododendron türü bitki polenin
var olup olmadığı araştırıldı. Ayrıca Van (Başkale), Sivas (Çepni),
Rize (Hemşin), İzmit (Ihlamur balı), Diyarbakır, Çam (Marmaris),
Rize (Çayeli) ballarında polenlerin teşhisi yapıp, resimleri çekil-
di. İncelediğimiz örneklerin ancak bir tanesinde (Rize Çayeli) bu
polenin varlığı tesbit edildi (Resim 1).

Resim 2, 3, 4 de ise ballarda bulunan diğer karakteristik polenler gö-
rölmektedir. Sivas Çepni balına ait toplu polenler Resim 5 de, Van Baş-
kale balına ait olanlar ise resim 6 da verilmektedir.



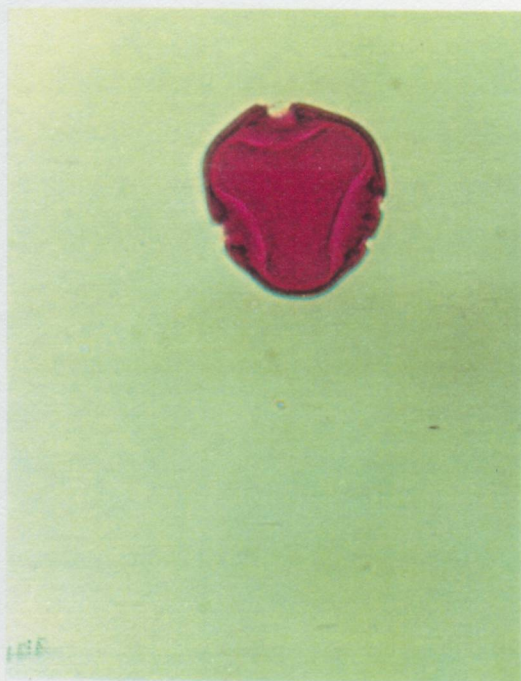
Resim 1.



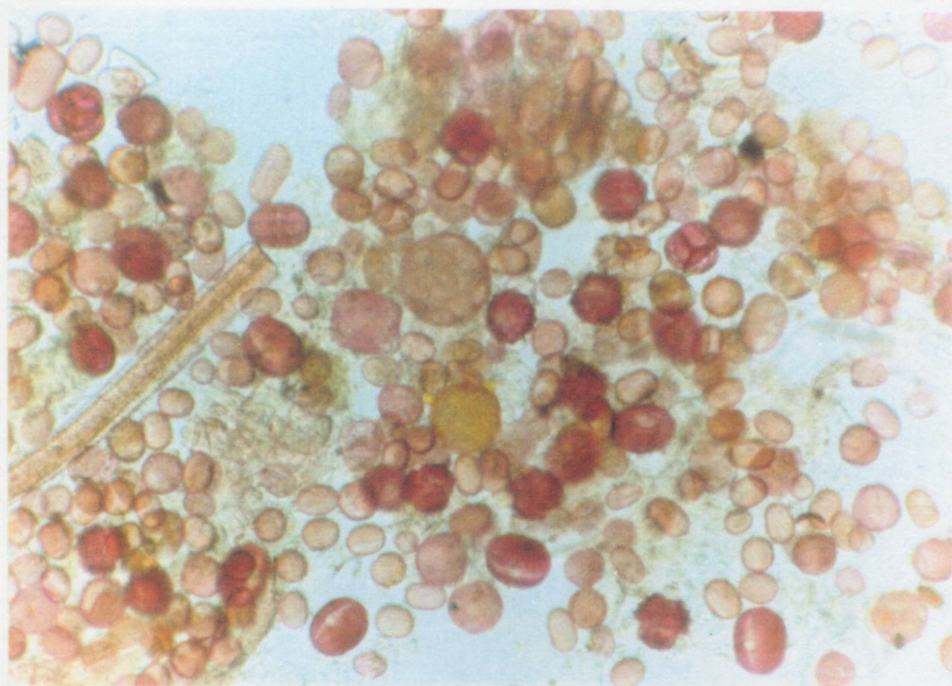
Resim 2.



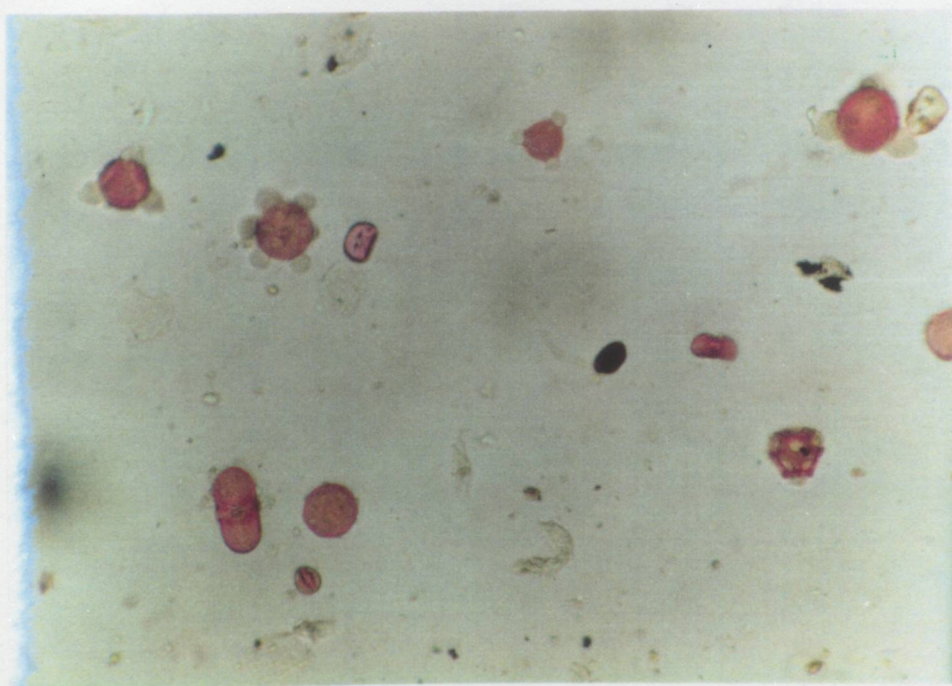
Resim 3.



Resim 4.



Resim 5.



Resim 6.

II.3. BULGULAR

Tablo 4 .

Örnek No	Glukoz %	Fruktoz %	İn. Şeker %	Sakkaroz %	Maltoz %	Yük. Şeker %	Glu/su
1	33.63	41.72	75.35	3.09	2.09	0.25	1.87
2	26.11	39.87	65.98	0.00	15.18	0.61	1.51
3	29.48	34.71	64.19	0.42	6.80	0.17	1.17
4	32.51	41.29	73.80	0.00	8.15	0.38	1.97
5	37.55	38.98	76.53	1.25	4.85	0.14	2.36
6	12.28	4.52	16.80	10.39	7.42	-	0.72
7	32.44	40.32	72.76	1.22	8.85	0.54	2.29
8	29.94	38.89	68.83	1.04	9.11	0.25	1.91
9	32.85	38.39	71.24	1.26	9.67	0.34	2.20
10	31.98	38.50	70.48	0.58	8.29	0.35	1.99
11	33.95	40.94	74.89	0.50	7.65	0.23	2.43
12	32.72	35.49	68.21	2.37	7.58	1.17	1.86
13	32.08	39.48	71.56	1.47	5.96	0.14	1.93
14	32.24	34.22	66.46	0.77	7.15	0.52	1.52
15	32.26	37.08	69.34	0.41	8.12	0.20	1.74
16	33.24	39.14	72.38	0.84	7.04	0.32	2.07
17	30.47	40.71	71.18	1.87	9.07	0.49	2.04
18	33.07	41.26	74.33	0.35	6.33	0.34	1.96
19	25.69	33.14	58.83	0.76	15.05	1.85	1.61
20	29.88	40.78	70.66	0.46	6.53	0.17	1.62
21	36.43	41.59	78.02	0.91	4.70	0.10	2.34
22	36.85	38.39	75.34	0.89	5.49	0.10	2.30
23	37.37	38.61	75.98	0.23	4.62	0.50	2.32
24	33.24	40.88	74.12	0.64	8.54	0.30	2.12
25	34.49	38.26	72.75	0.64	9.23	0.45	2.04

Tablo 5

Örnek No	pH	Serbest As. (meq/kg)	Formol S. (meq/kg)	Lakton S. (meq/kg)
1	4.65	18.25	2.75	3.50
2	6.00	4.75	4.00	-
3	4.25	24.75	2.75	3.00
4	5.35	7.75	2.50	0.00
5	3.76	18.00	4.00	4.50
6	4.83	2.75	0.50	-
7	4.14	11.50	4.75	5.75
8	3.90	13.75	1.25	5.50
9	3.84	12.75	3.25	4.75
10	3.89	7.50	2.00	1.00
11	3.88	7.00	0.50	0.50
12	3.94	10.00	2.50	2.00
13	3.78	18.50	3.50	2.50
14	3.96	16.50	3.50	5.50
15	3.89	15.5	1.25	5.00
16	4.20	13.5	5.25	0.75
17	3.95	13.5	5.75	4.75
18	3.80	20.8	4.75	2.00
19	4.63	20.00	3.50	1.50
20	3.86	12.5	1.00	5.50
21	3.82	18.5	3.25	3.00
22	3.78	14.0	3.50	4.00
23	3.84	15.5	0.75	5.50
24	3.78	12.5	6.00	2.50
25	3.78	9.0	4.75	3.75

Tablo 6 .

Örnek No	Lund cm ³	Toplam N %	HMF mg/kg	Diastaz Sayısı	Prolin mg/kg
1	1.0	0.010	3.1	8.30	28
2	2.5	0.013	0.2	13.90	34
3	1.3	0.020	1.0	17.90	34
4	2.1	0.040	0.8	13.90	71
5	1.1	0.020	47.6	5.00	75
6	0.0	0.040	29.6	0.00	8
7	1.8	0.090	22.5	8.30	93
8	1.0	0.030	8.8	23.00	128
9	1.1	0.080	9.8	8.30	74
10	2.2	0.080	7.1	5.00	44
11	1.2	0.030	1.9	13.90	44
12	1.1	0.030	1.5	10.90	90
13	1.4	0.040	23.5	5.00	45
14	1.3	0.010	4.6	13.90	99
15	1.3	0.030	1.3	10.90	99
16	1.1	0.010	0.2	8.30	55
17	1.1	0.060	10.0	2.50	61
18	1.0	0.080	4.4	10.90	120
19	1.4	0.140	26.7	10.90	31
20	1.5	0.030	3.1	10.90	76
21	1.0	0.090	32.1	5.00	86
22	1.0	0.010	39.5	1.00	81
23	1.1	0.030	7.7	8.30	32
24	1.4	0.020	9.0	10.90	85
25	0.6	0.060	3.84	8.30	69

Tablo 7 .

Örnek No	Kırılma İndeksi	Kuru Mad. %	Nem %	Belirlenenemeyen ^{**} Mad. (%)	Kül %	Viskozite (cp)
1	1.4370	81.99	18.01	1.21	0.082	2400
2	1.4890	82.77	17.23	1.00	0.129	1150
3	1.4739	74.78	25.22*	3.42	0.029	350
4	1.4909	83.51	16.49	1.18	0.062	3250
5	1.4924	84.09	15.91	1.32	0.041	4300
6	1.4900	83.16	16.84	48.55	0.150	-
7	1.4969	85.85	14.15	2.48	0.025	-
8	1.4931	84.37	15.63	6.14	0.032	3370
9	1.4950	85.11	14.89	2.60	0.017	3830
10	1.4920	83.94	16.06	4.24	0.011	2500
11	1.4979	86.24	13.76	2.96	0.024	4700
12	1.4881	82.41	17.59	3.08	0.067	2500
13	1.4905	83.39	16.61	4.66	0.039	2750
14	1.4790	78.85	21.15	3.95	0.032	500
15	1.4859	81.56	18.44	3.49	0.022	1850
16	1.4920	83.98	16.02	3.40	0.027	2750
17	1.4950	85.11	14.89	2.50	0.081	5160
18	1.4900	83.15	16.85	1.80	0.012	3760
19	1.4925	84.13	15.87	7.64	0.059	3950
20	1.4860	81.59	18.41	3.77	0.018	1550
21	1.4960	85.42	15.58	1.69	0.014	3500
22	1.4921	83.98	16.02	2.26	0.430	1850
23	1.4920	83.93	16.07	2.60	0.180	-
24	1.4930	84.32	15.68	0.72	0.130	4650
25	1.4900	83.15	16.85	0.08	0.060	2250

Tablo 8.

Amino Asit	Reaktif A	Reaktif B	2	3	6	19	20
* Kırılma indeksinin küçük olması nedeniyle, formülden hesaplanamayan bu balın nem belirlenmesi, Lit. 18 (31.110)'a göre vakum etüvünde kurutularak yapıldı.							
xx % Belirlenemeyen madde : 100 - (% Glu.+ % Fruk. + % Sak.- % Mal. + % Yüksek Şek. + % Nem)							
Glu Formülünden hesaplandı.							
Gly	KaK	P	-	+	-	-	+
Ala	K	ES	+	+	+	+	+
Val	K	K	+	+	-	+	+
Met	K	K	-	-	-	-	-
Ileu	K	K	+	+	+	+	+
Leu	K	K	+	+	+	+	+
Tyr	KaK	ES	-	+	-	+	+
Phe	K	KaK	-	+	+	+	+
Pro	S	M	+	+	+	+	+
Try	K	CH	-	+	-	+	+
(Cys)	K	ES	-	-	-	-	-
Sypro	S	M	-	-	-	-	-
Glu-MH ₂	Ka	ES	+	+	-	-	-
Asp-MH ₂	K	KaK	+	+	+	+	+

K : Kırmızı

KaK : Kahverengi-Kırmızı

ES : Eflatan

KaK : Kırmızı-Eflatan

M : Mavi

KaK : Mavi-Eflatan

P : Pembe

CH : Gri-Mavi

S : Sarı

Tablo 8.

- 68 -

Amino Asid	Reaktif A	Reaktif B	Örnek No				
			2	3	6	19	20
Lys	K	Ef	+	+	+	+	+
His	K	GM	+	-	-	-	-
Arg	K	KEf	+	+	-	+	+
Asp	KEf	Ef	+	+	+	+	+
Thr	K	Ef	+	+	+	+	+
Ser	K	P	+	+	-	+	+
Glu	K	Ef	+	+	+	+	+
Gly	KaK	P	-	+	-	-	+
Ala	K	Ef	+	+	+	+	+
Val	K	K	+	+	-	+	+
Met	K	K	-	-	-	-	-
Ileu	K	K	+	+	+	+	+
Leu	K	K	+	+	+	+	+
Tyr	KEf	Ef	-	+	-	-	+
Phe	K	MEf	-	+	+	+	+
Pro	S	M	+	+	+	+	+
Try	K	GM	-	+	-	+	+
(Cys) ₂	K	Ef	-	-	-	-	-
Hypro	S	M	-	-	-	-	-
Glu-NH ₂	Ka	Ef	-	-	-	-	-
Asp-NH ₂	K	KEf	+	+	+	+	+

K : Kırmızı

KaK : Kahverengi-Kırmızı

Ef : Eflatun

KEf : Kırmızı-Eflatun

M : Mavi

MEf : Mavi-Eflatun

P : Pembe

GM : Gri-Mavi

S : Sarı

TARTIŞMA VE SONUÇ

İncelediğimiz 25 bal örneği üzerinde yapılan analiz sonuçlarından elde edilen verilere göre bir çoğunun Gıda Maddeleri Tüzüğüne (GMT) uyduğu görülmüştür. Ancak 6 nolu (Kızılcihamam) bal örneğinin bulguları tüzükten çok büyük sapma gösterdiğinden bu baldan değerlerinden ayrı olarak bahsedilecektir.

Analiz sonuçlarına göre 24 bal örneğinde toplam invert şeker miktarları % 64.19-78.02, sakkaroz miktarı % 0.00-3.09, glukoz % 26.11-33.95, fruktoz % 33.14-41.72, maltoz % 2.09-15.18, yüksek şekerler ise % 0.1-1.17 arasında değişmektedir.

Bulunan bu değerlerin Balcı (12), White (1), Orak ve Erkmen (47) nin bulgularıyla uyum içinde olduğu görülmüştür. Ancak toplam invert şeker miktarı göz önüne alındığında 3 ve 19 numaralı balların GMT'ye uymadığı tesbit edilmiştir.

Balların kalitesinin korunması ve kristalizasyon olgusu üzerinde önemli etkisi olan nem miktarının 3 numaralı örnek dışındaki tüm örneklerde % 13.76-21.15 arasında bulunduğu ve GMT'nin 347. maddesine uygun olduğu görülmüştür. Tüzüğe uygun olan bu ballar içinde 23 tanesinin nem içeriğinin % 18 ve bu değer altında olduğu belirlendi. Dünya standartlarına göre bu tür balların depolanması ve bir süre bekletilmesi bir sakınca teşkil etmemektedir, Ancak nem miktarının düşmesi G/S oranını büyüttüğünden kristalizasyon olgusu artmaktadır.

İncelenen 24 örnek üzerinde glukoz/su (G/S) oranının (6nolu örnek hariç) 1.17-2.49 arasında değiştiği tesbit edilmiştir. Tablo 4'de görüldüğü gibi 5 tanesinin 1.7 nin altında, 11 tanesinin 1.70-2.10 arasında, 8 tanesinin ise 2.10 değerinin üzerinde olduğu görülmektedir. Literatüre göre, G/S oranı 1.70'in altında olan ballarda kristallenme olgusunun çok zayıf, 1.70-2.10 arasında olanların ise bir süre korunup depolanabileceği, 2.10 un üzerinde olanların ise çok çabuk kristallendiği belirtilmiştir. İncelediğimiz örnekler içinde 5, 7, 9, 11, 21, 22, 23, 24 numaralı balların G/S oranı 2.1 in üzerinde tesbit edilmiş olup, bunlar kısa sürede tüketime verilmesi gereken ballardır. Bu ballardan 5, 9, 11, 21, 23 nolular temin edildiklerinde de kısmen kristallenmiş durumda olup, diğerleri ise araştırmanın ilk 1-2 ayı içinde tamamiyle kristallendiler. G/S oranının 1.7-2.1 arasındaki 1, 4, 17, 13, 15, 16, 12, 18, 25 nolu balların çalışma süresi içinde kısmen kristallendiği 8, 10 nolu balların ise, kristallenmediği tesbit edildi. G/S oranı 1.7 nin altında olan 3, 19, 14, 2, 20 numaralı ballardan sadece 14 numaralı balın kristallendiği gözlemlendi. Gerek literatürde verildiği, gerekse araştırmamız sırasında görüldüğü gibi G/S oranı balların kristallenme olgusu üzerinde önemli bir faktördür.

Örneklerin pH değerleri ise 3.78-6.00 arasında değişmektedir. (Tablo 5). Tüzüğümüzde bu konuda verilmiş kısıtlama olmamasına rağmen, bu değer 3.3-5.5 arasında olması arzu edilir(10). Bu duruma göre 2 nolu balın bu üst sınırı biraz aştığı görülmektedir.

Aynı tablodan görüldüğü gibi serbest asitler 2.75-24.75 meq/kg, formol sayısı 0.50-6.00 meq/kg, lakton sayısı ise 0.00-5.75 meq/kg olarak tesbit edilmiş olup, bu değerler Sengonca ve Temiz'in Ege bölgesi

balları üzerinde yaptığı çalışmayla uyum göstermektedir(34).

Örneklerin Lund deneyi ile bulunan protein miktarları 0.6-2.5 arasında olup, tüm ballar (6 nolu bal hariç) GMT'ye uygundur (Tablo 6). HMF değerleri ise 0.2-47.6 mg/kg arasında olup, bunlardan 22 nolu bal örneği şüpheli 5 nolu bal örneği ise tüzüğüme uygun değildir.

Ballarda en çok bulunan amino asid prolin olup, incelediğimiz ballardaki miktarı 8-128 arasındadır (Tablo 5). Bu değerler diğer ülkelerde yapılan çalışmalarla kıyaslandığında uyum içinde olduğu görülmüştür(26).

Bu çalışmada ayrıca mikroskopla polen taneleri incelendi ve zehirli ballarda bulunan Rhododendron polenleri araştırıldı. Tüm ballarda yapılan inceleme sonunda yalnız bir balda (Rize Çayeli) Rhododendron türü bitkinin polenine rastlandı.

Literatür çalışmalarında ülkemiz ballarındaki serbest amino asidler konusunda ise bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle tüm örneklerin serbest amino asidleri kolon kromatografisi ile izole edilip, bunlardan 2, 3, 6, 19, 20 numaralı örnek ballarda bulunan amino asidlerin TLC ile ayrımı yapıldı. Bu örneklerde çalışma koşullarımızda 16 amino asid teşhis edilip, bunlardan 8 tanesinin (Lys, Asp, Thr, Glu, Ala, Leu-İleu, Pro, Asp-NH₂) tüm örneklerde bulunduğu görüldü.

Örnekler arasında yer alan 6 nolu balın (Kızılcıhamam) analiz sonuçları ise diğer örneklerden çok farklı olduğundan, tekrarlanan ana-

lizleri sonucunda aynı bulgular elde edilmiştir. Bu balda toplam invert şeker miktarı çok düşük, sakkaroz miktarının yüksek olmasının yanısıra, diastaz sayısının sıfır olması ve Lund deneyinde çökelti vermemesi buna karşılık katı madde miktarının yüksek, nem miktarının düşük olması bu balın önerli ölçüde taşıdığı edildiğinin kanıtıdır. Tahminimize göre, bu bal içinejelatin, CMC yada benzeri dolgu maddeleri katılarak bal görünümü verildikten sonra suni olarak tatlandırılmıştır.

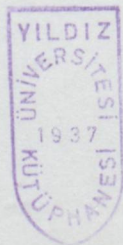
Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular toplam invert şeker, sakkaroz, nem, kül, protein miktarı, diastaz sayısı, polenleri, HMF dikkate alınarak değerlendirildiğinde, 25 adet bal örneğinin 16 tanesinin (1, 2, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 23, 24, 25) GMT'ye uygun olduğu saptandı. Geri kalanlardan bir tanesinin (3) zehirli bal, bir diğerinin (6) hileli bal olduğu belirlendi. 5, 10, 13, 17, 19, 21, 22 balların ise çeşitli özelliklerinin tüzüğe uymadığı görüldü.

KAYNAKLAR

1. White, J.W.Jr., Riethof, M.L., Subers, M.H., Kushnir, I., U.S. Dept. Agric. Chem. Tech. Bull. No 1261 (1962) p. 1-124
2. Sönmez, R., Arıcılık, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 13 (1961)
3. Büyük Larousse Sözlük ve Ansiklopedisi, 2. Cilt, Gelişim Yayınları A.Ş., İstanbul (1986) s. 1240
4. Bilim ve Yaşam Ansiklopedisi, 1. cilt, Gelişim Basım ve Yayımları A.Ş., İstanbul (1976) s. 36-38
5. Şenocak, C., Kolay Arıcılık, Doğuş Ltd. Matbaası, Ankara (1954)
6. İKA (İktisat ve Ticaret Haberler Ajansı) Günlük Bülteni, 22.9.1987, No: 9489 , Ankara
7. İGEME (T.C. Başbakanlık Hazine ve Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi) Ürün Profili, Tarım (1989)
8. TSE (Türk Standartları) TS 3036 / Nisan (1990)
9. Doner, L.W., J. Sci. Fd. Agric. 28 (1977) p. 443-456
10. Keskin, H., Besin Kimyası, II. Cilt, 4. Baskı, Fatih Yayınevi ve Matbaası, İstanbul (1982)
11. Winton, A. L., The Analysis of Foods, John Willey & Sons. Inc., London, (1942) p. 635-643
12. Balcı, F., Ankara'da Üretilen Ballarla Ankara'da Satılan Balların Fiziki Kimyevi ve Biyolojik Özellikleri Üzerinde Araştırmalar, Doktora Tezi, Ankara (1978)
13. Maga J. A., Honey Flavor, Lebensm. - Wiss. U. - Technol 16 (1983) p. 65-68
14. Gıda Maddeleriyle İlgili Tüzük ve Yönetmelik İstanbul Ticaret Odası, Yayın No: 1988-2, İstanbul (1988)
15. Rodriguez A. T., Anales de Bromatologia Tomo XII, (1970) p.377-406
16. Lucchesi C. A., Anal. Chem. Vol 51, No 2 (1979) p. 224A-232A

17. Wootton, M., Edwards R.A., Faraji-Haremi R., J. Apic. Res. 17(3) (1978) p. 167-172
18. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Official Methods of Analysis, 13 th.Ed. Washington D.C., (1980) 31.001-31.160
19. Petrov, V., J. Apic. Res. 10(3) (1971) p.153-157
20. Wootton, M., Edwards, R., Faraji-Haremi, R., Johnson, T., J. Apic. Res. 15(1) (1976) p. 23-28
21. Komamine, A., Acta Chem. Fenn, B 33 (1960) p.185-187
22. Palma, S., Fontanarroza, M.E., Vigil, J.B., Revista de la Facultad de Ingerieria Quimica, Vol 5 (1982) 73-80
23. White J.W.Jr., Rudyj, O.N., J. Apic. Res 17(2) (1978) p.89-93
24. White, J.W., Jr., Rudyj, O.N., J. Apic. Res. 17(4) (1978) p. 234-238
25. Wootton, M., Edwards, R.A., Faraji-Haremi, R., J. Apic. Res. 15(1) (1976) p. 29-34
26. Mimioğlu, M., Sorkun, K., BİLİM ve TEKNİK 17 (203) (1984) s. 34-35
27. Scott. P.M., Coldwell, B.B., Wiberg, G.S., Ed. Cosmet. Toxicol Vol 9 (1971) p. 179-184
28. Davis, P.H., Flora of Turkey, Volum 6, Edinburg University Press, Edinburg (1982) p. 90
29. Omurtag, A.C., Evliya, B., Aydın, A., Akın, A., Erinç, N., Dolgun, Y., Ankara Ecz. Fak. Mec. 3(1973) 55-70
30. Kerkvliet, J.D., J. Apic. Res. 20(4) (1981) p.249-253
31. Karakaya, A.E., Ankara Ecz. Fak. Mec. 7(1977) s. 111-115
32. Baytop, T., Farmakognozi Ders Kitabı, Cilt II, İstanbul Üniversitesi Yayınları No:2003, İstanbul (1974) s. 264
33. Ülker, N., Türkiye Ballarının Mikropları Öldürücü Değeri, İstanbul Vakıf Guraba Hastahanesi Mikrobiyoloji Labaratuarı Çalışmalarından, Hüsnütahiat Matbaası, İstanbul (1964)

34. Şengonca, M., Temiz, I., İzmir ve Çevresinde Üretilen Balların Yapı Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma, E.Ü. Ziraat Fakültesi Ofset Ünitesi, İzmir (1981)
35. Sorkun, K., İnceoğlu, Ö., Doğa Bilim Dergisi, A₂, 8,3 (1984) s. 377-381
36. Sorkun, K., İnceoğlu, Ö., Doğa Bilim Dergisi A₂, 8,3, (1984) s. 382-384
37. Hadorn, H., Zürcher, K., Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. 54 (1963) p. 318
38. Dugh, C.S., J. Food Sci. 34 (1969) p. 228-230
39. Rohan, T.A., Steward, T., J. Food Sci. 31 (1966) p. 202
40. Vogel, A.I., A Text-Book of Quantitative Inorganic Analysis, 3 rd Ed., Longmans, London, (1966) p. 702
41. Ion Exchange Experiments, BDH, 2nd Ed., (1968)
42. Stahl, E., Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook, Academic Press, London (1965)
43. Von Arx, E., Neher R., J. Chromatog., 12 (1963) p. 329
44. Colowick, S.P., Kaplan, N.O., Methods in Enzymology, Academic Press, New York, XI (1967) p. 51
45. Howorth, C., Heathcote, J.G., J. Chromatog., 41 (1969) p. 380
46. Heathcote, J.G., Washington, R.J., Howorth, C., Bell, S., J. Chromatog., 51 (1970) p. 267
47. Orak, H., Erkmen, G., Chim. Acta Turc., 18 (1990) p. 143-153



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın başlangıcından bitimine her aşamasında bilgi ve önerileriyle büyük katkıda bulunan, her an yanımda hissettiğim yönetici hocam Sayın Y.Doç.Dr. Mustafa KOZCAZ'a teşekkür ederim.

Ayrıca, tezimin konusu içinde yer alan balda bulunan polenlerin mikroskopta incelenip, resimlerinin çekilmesinde yardımcı olan Sayın Prof. Burhan BAYTUĞ'a teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1965 yılında İstanbul'da doğmuşum. Öğrenimime 1971 yılında Çapa İlkokulunda başladım. Silivrikapı Ortaokulundan 1979 yılında, Şehremini Lisesinden 1982 yılında mezun olarak orta öğrenimimi tamamladım. Yıldız Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 1989 yılında mezun olduktan sonra aynı bölümün Organik Kimya Anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Bu görevime halen devam etmekteyim.