



T.C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İKİ FARKLI RAKIMDAN ELDE EDİLEN KESTANE
(*Castanea sativa* Mill.) BALLARININ FİZİKOKİMYASAL,
ANTİOKSİDAN VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

GÜVEN YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZOOOTEKNİ ANABİLİM DALI

ORDU 2025

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

GÜVEN YILMAZ

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.

ÖZET

İKİ FARKLI RAKIMDAN ELDE EDİLEN KESTANE (*Castanea sativa* Mill.) BALLARININ FİZİKOKİMYASAL, ANTİOKSİDAN VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

GÜVEN YILMAZ

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 74 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SEZAI ALKAN)

(İKİNCİ TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MUTLU SÖNMEZ ÇELEBİ)

Bu çalışmada Ordu ilinde farklı iki rakımda (Gülyalı ve Gürgentepe ilçeleri) üretilen kestane (*Castanea sativa* Mill.) balların fizikokimyasal, antioksidan ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Gülyalı ve Gürgentepe ilçelerinde kestane balı üretimi yapan iki şer farklı üreticiden temin edilen toplam 4 farklı kestane balı örneği analiz edilmiştir.

Öncelikli olarak bal örneklerinin monofloral olup olmadığının tespit edilmesi için bal numuneleri ışık mikroskobu ile görüntülenmiş ve tüm örneklerinin monofloral yapıda olduğu tespit edilmiştir. Kestane ballarının prolin değerleri incelendiğinde, Gülyalı ilçesinden (deniz seviyesi) elde edilen kestane ballarının ortalama prolin değeri (647.10) Gürgentepe ilçesinden (yüksek rakım) elde edilen kestane ballarının prolin değerinden (304.85) daha yüksek bulunmuştur. Gülyalı ilçesinden elde edilen kestane ballarının diastaz aktivitesi (18.90), Gürgentepe ilçesinden elde edilen kestane ballarının diastaz aktivitesinden (12.22) daha yüksek saptanmış olup Gülyalı ve Gürgentepe ilçelerindeki kestane ballarının elektriksel iletkenlik değerleri sırasıyla 1.29 ve 0.5 mS/cm olarak belirlenmiştir. Gülyalı ilçesinden elde edilen bal örneklerinin toplam fenolik içerik değerleri, Gürgentepe ilçesinden elde edilen bal örneklerinin toplam fenolik içerik değerlerinden daha fazla bulunmuştur. DPPH radikalini süpürme yüzdeleri bakımından, Gülyalı ilçesinden elde edilen bal örneklerinin DPPH radikali süpürme yüzdeleri, Gürgentepe ilçesinden elde edilen bal örneklerinin DPPH radikali süpürme aktivitesinden daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda, *B. cereus* haricinin de seyreltilmiş kestane balı örnekleri iyi inhibisyon etkileri göstermiş olup en yüksek inhibisyon *M. luteus*, *L. monocytogenes*, *E. Fecalis*, *E. coli*'nin patolojik bakterilerine ve *S. Cerevisiae* fungusuna karşı elde edilmiştir. Yine incelenen kestane ballı örneklerinin oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve bal örneklerinin elektrokimyasal antioksidan aktivitesinin balın üretildiği rakımı ile doğrudan ilişkili olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Aktivite, Biyoaktivite, *Castanea sativa* Mill, Fenolik İçerik, Kestane Balı

ABSTRACT

DETERMINATION OF PHYSICOCHEMICAL, ANTIOXIDANT AND BIOACTIVE PROPERTIES OF CHESTNUT (*Castanea sativa* Mill.) HONEY FROM TWO DIFFERENT ALTITUDES

GÜVEN YILMAZ

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES

ANIMAL SCIENCE

MASTER THESIS, 74 PAGES

(SUPERVISOR: Prof. Dr. Sezai ALKAN)

(CO-SUPERVISOR: Doç. Dr. Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ)

The aim of this study was to determine the physicochemical, antioxidant and bioactive properties of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honey produced at two different altitudes (Gülyalı and Gürgentepe districts) in Ordu province. For this purpose, a total of 4 different chestnut honey samples obtained from two different chestnut honey producers in Gülyalı and Gürgentepe districts were analysed.

Firstly, the honey samples were visualised by light microscopy to determine whether the honey samples were monofloral or not and it was determined that all samples were monofloral. When the proline values of chestnut honeys were analysed, the average proline value (647.10) of chestnut honeys obtained from Gülyalı district (sea level) was higher than the proline value (304.85) of chestnut honeys obtained from Gürgentepe district (high altitude). The diastase activity of chestnut honeys obtained from Gülyalı district (18.90) was higher than the diastase activity of chestnut honeys obtained from Gürgentepe district (12.22), and the electrical conductivity values of chestnut honeys obtained from Gülyalı and Gürgentepe districts were determined as 1.29 and 0.5 mS/cm, respectively. Total phenolic content values of honey samples obtained from Gülyalı district were found to be higher than total phenolic content values of honey samples obtained from Gürgentepe district. In terms of DPPH radical scavenging percentages, the DPPH radical scavenging percentages of honey samples obtained from Gülyalı district were found to be higher than the DPPH radical scavenging activity of honey samples obtained from Gürgentepe district. At the same time, except for *B. cereus*, diluted chestnut honey samples showed good inhibition effects, and the highest inhibition was obtained against pathological bacteria of *M. luteus*, *L. monocytogenes*, *E. Fecalis*, *E. coli* and *S. Cerevisiae fungus*. Again, it was determined that the examined chestnut honey samples had very high antioxidant activity and the electrochemical antioxidant activity of honey samples was not directly related to the altitude at which the honey was produced.

Keywords: Antioxidant Activity, Bioactivity, *Castanea sativa* Mill., Phenolic Content, Chestnut Hone

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında ve yazım aşamasında öneri, destek ve teşviklerini esirgemeyen değerli danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Sezai ALKAN'a ve Sayın Doç. Dr. Mutlu Sönmez ÇELEBİ'ye, tez çalışmamda analizlerin yapımındaki desteklerinden dolayı değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ömer ERTÜRK'e ve Sayın Doç. Dr. Melek ÇOL AYVAZ'a emeklerinden dolayı teşekkür ediyorum.

Değerli jüri üyelerim Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yeliz Kaşko ARICI ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Dilek KABAKCI hocalarıma öneri ve destekleri için teşekkür ediyorum. Tez çalışmamın her aşamasında desteğini ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Süleyman ALPARSLAN'a teşekkür ediyorum.

Ayrıca hayatımın her aşamasında yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen aileme ve eşim Şükran YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

GÜVEN YILMAZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VII
ÇİZELGE LİSTESİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
1.1 Balın Tanımı	2
1.2 Kestane Balı	3
1.3 Dünya’da Arıcılık ve Bal Üretimi.....	4
1.4 Türkiye’de Arıcılık ve Bal Üretimi.....	6
1.5 Karadeniz Bölgesi’nde Bal Üretimi	10
1.6 Balın Kalitesinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Önemli Fiziksel ve Kimyasal Parametreler	11
1.6.1 Balın Nem İçeriği.....	11
1.6.2 Hidroksimetilfurfural (HMF) Miktarı	11
1.6.3 Diastaz sayısı.....	12
1.6.4 Prolin.....	13
1.6.6 Polen.....	13
1.6.7 Elektriksel İletkenlik	14
1.6.8 Antioksidan Aktivite	14
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM	22
3.1 Materyal	22
3.2 Yöntem.....	22
3.2.1 Işık Mikroskobu ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme..	22
3.2.2 Fizikokimyasal Analiz	23
3.2.2.1 Prolin	23
3.2.2.2 Diastaz sayısı.....	23
3.2.2.3 Nem	24
3.2.2.4 Brix.....	24
3.2.2.8 Hidroksimetilfurfural (HMF)	26
3.2.2.9 Şeker Kompozisyonu Analizi	26
3.2.3 Toplam Fenolik İçerik.....	27
3.2.4 Antioksidan Aktivite	28
3.2.4.1 DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi	28
3.2.4.2 Fe ²⁺ ile Şelat Oluşturma Aktivitesi	28
3.2.4.3 Demir (III) İndirgeme Gücü (FRAP)	29
3.2.5 Antikolinesteraz Aktivitesi.....	30
3.2.6 Antibakteriyel ve Antifungal Analiz	31
3.2.7 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu.....	31
3.2.8 Renk Analizi.....	32
3.2.9 Elektrokimyasal Antioksidan Aktivite.....	32

3.2.10 İstatistik Analizi	33
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	34
4.1 Işık Mikroskobu ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme.....	34
4.2 Fizikokimyasal Analiz	38
4.3 Toplam Fenolik İçerik.....	42
4.4 Antioksidan Aktivite	44
4.5 Antikolinesteraz Aktivitesi	50
4.6 Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu	53
4.7 Renk Analizi.....	56
4.8 Elektrokimyasal Antioksidan Aktivite.....	56
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	60
6.KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	74



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 Türkiye’de Bölgelere Göre Kovan Sayısı (TÜİK, 2023).	9
Şekil 1.2 Türkiye’de Bölgelere Göre Bal Üretim Miktarı (TÜİK, 2023).	9
Şekil 1.3 Türkiye’de Bölgelere Göre Kestane Üretim Miktarları (TÜİK, 2023)	10
Şekil 3.1 Elektrokimyasal Hücre	33
Şekil 4.1 Gülyalı 1 Örneği İçin Işık Mikroskopunda Çekilen Polen Görüntüsü	34
Şekil 4.2 Gülyalı 2 Örneği İçin Işık Mikroskopunda Çekilen Polen Görüntüsü	35
Şekil 4.3 Gürgentepe 1 Örneği İçin Işık Mikroskopunda Çekilen Polen Görüntüsü.	35
Şekil 4.4 Gürgentepe 2 Örneği İçin Işık Mikroskopunda Çekilen Polen Görüntüsü.	36
Şekil 4.5 Kestane Ballarından Elde Edilen Karışımın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri	37
Şekil 4.6 Toplam Fenolik İçerik Mitralarının Belirlenmesi İçin Çizilen Gallik Asit Standart Kalibrasyon Grafiği	43
Şekil 4.7 Toplam Fenolik İçerik Değerleri ile DPPH Süpürme Yüzdeleri ve FRAP Değerleri Arasındaki Korelasyonu Gösteren Grafik.....	47
Şekil 4.8 FRAP Değerlerinin Troloks Eşdeğeri Olarak Hesaplanması İçin Oluşturulan Troloks Standart Çalışma Grafiği	48
Şekil 4.9 EDTA’nın Fe^{2+} ile Şelat Oluşturma Potansiyelinin Konsantrasyona Göre Değişimi.....	50
Şekil 4.10 Kestane Balı Örneklerinin Asetil- ve Butirilkolinestrez Enzimlerini İnhibe Edebilme Potansiyelleri	52
Şekil 4.11 Gürgentepe 1 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngü sayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹)	57
Şekil 4.12 Gürgentepe 2 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngü sayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹)	57
Şekil 4.13 Gülyalı 1 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngü sayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹).....	57
Şekil 4.14 Gülyalı 2 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngü sayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹).....	58
Şekil 4.15 Askorbik Asit ve Gallik Asit Çözeltileri İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogramlar (Döngü sayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹)	58
Şekil 4.16 Bal Örnekleri, Askorbik Asit ve Gallikasit Çözeltilerine Ait Dönüşümlü Voltammogramlar (Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹)	59

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 Ülkelere Göre Bal Üretim Miktarları(FAO, 2022).....	5
Çizelge 1.2 Türkiye’de Yıllara Göre Arılı Kovan Sayısı ile Bal ve Bal mumu üretimi (TÜİK, 2023)	7
Çizelge 1.3 Türkiye’de İllere Göre Bal Üretimi (TÜİK, 2023).....	8
Çizelge 3.1 Bazı ilgili Parametrelerin Birbirileri ile Korelasyon (r) Katsayıları	30
Çizelge 4.1 Kestane Balı Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları.....	38
Çizelge 4.2 Bal Örneklerinin Toplam Fenolik İçerik Değerleri (µg GAE/g bal).....	44
Çizelge 4.3 Bal Örneklerinin DPPH Radikalini Süpürme Aktiviteleri (%).....	46
Çizelge 4.4 Kestane Ballarının Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktiviteleri (mm) ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları(µg/mL)	54
Çizelge 4.5 Kestane Balı Örneklerinin Renk Analiz Sonuçları.....	56

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrad
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 1,1-difenil 2-pikril hidrazil
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
FAO	: Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
FRAP	: Demir (III) İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
g	: Gram
GA	: Gallik Asit
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HMF	: Hidroksimetilfurfural
Kg	: Kilogram
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
Mg	: Miligram
mgGAE/kg	: Milligram Gallik Asit Eşdeğeri/kilogram
µM	: Mikromolar
mM	: Milimolar
mg/100g	: Miligram/100gram
mg/kg	: Miligram/kilogram
mg/L	: Miligram/litre
mg/mL	: Miligram/mililitre
mL	: Mililitre
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TÜİK	: Türk İstatistik Kurumu
TPC	: Toplam Fenolik İçerik

1. GİRİŞ

Bal, arı ürünlerinden en sık kullanılan ürün olup insanlar için önemli bir besin maddesidir. Türk Gıda Kodeksi, 2020/7 nolu Bal Tebliğinde “bal; bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının ya da bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirilerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğası gereği kristallenebilen doğal ürünü ifade eder” şeklinde tanımlanmıştır (TGK, 2020). Türkiye arı ırkı ya da genotipi çeşitliliği, arı koloni sayısı, üretilen bal miktarı bakımından dünyanın önde gelen ülkelerinden biridir. Doğu Karadeniz Bölgesi’nde ballı bitki çeşitliliği kısıtlı olup bunlar orman gülü ya da deli bal (*Rhododendron* L.), akasya balı ve kestane (*Castanea sativa* Mill.) balıdır. Ayrıca az miktarda bölge yaylalarında çiçek balı da üretilmektedir (Akgün, 2019).

Balın bileşimi bulunduğu flora, çevre koşullarına, koloninin durumuna ve iklim şartlarına göre değişiklik göstermektedir (Anklam, 1998). Bal, ana bileşen olarak karbohidrat ve suyun yanında organik asitler, aminoasitler, proteinler, uçucu bileşenler, enzimler ve fenolik bileşenler de içermektedir. Balın bileşimi çeşitlilik göstermekle birlikte tipik bir bal ortalama %76 şeker, %20 su, %0.18 kül, %1 toplam polifenol, protein gibi bileşenlerin yanı sıra koruyucu olarak α - tokoferol, askorbik asit, flavonoidler ve diğer fenolikler, glukoz oksidaz, katalaz ve peroksidaz gibi enzimleri de içermektedir (White, 1979). Balın kalitesi ve içeriği, arıların faaliyet gösterdiği coğrafi bölgenin bitki örtüsü, bu bitki örtüsünden elde ettikleri nektarın türü ve miktarı, bölgenin coğrafi konumu, yüksekliği, sıcaklık değişimleri ve arının genotipi gibi bir dizi faktöre bağlıdır. Ancak, yapılan araştırmalar, insan sağlığı açısından faydalı özelliklere sahip balın nektar kaynağının özellikle çiçek türüne bağlı olduğunu göstermektedir (Effem, 1988). Ayrıca, balın kalitesi, temel olarak bitki kaynağı ve kimyasal bileşimi üzerinden değerlendirilmektedir. Bu nedenle, farklı coğrafi bölgelerde üretilen ve farklı bitki türlerinden elde edilen balların bileşimi değişiklik göstermektedir (Yıldırım, 2013). Mariod ve ark., (2009) ve Vit ve ark., (2009) yaptıkları çalışmada farklı ülkelerden ve farklı tipteki balların biyolojik olarak ve içerdiği bileşiklerin konsantrasyonuna bağlı olarak farklı seviyelerde antioksidan kapasiteye sahip olduklarını ortaya koymuşlardır. Ballar kimyasal

içerikleri flora kaynağına bağlı olduğu kadar mevsimsel ve çevresel faktörlere de bağlıdır (Rivera-Mondragón ve ark., 2023). Fiziksel işlemler balın bileşimini ve antioksidan aktivitesini etkileyebilir. Çok zengin bitki florasına sahip olan Türkiye’de polifloral ve multifloral ballar üretilmektedir. Monofloral ballardan olan kestane balı diğer çiçek ballarına göre antioksidanyönünden oldukça zengin içeriğe sahiptir. Özellikle Türkiye’nin Ege denizi kıyı bölgelerinden ve Karadeniz kıyı şehirlerinde yoğun kestane ormanları ve buna bağlı olarak kestane balı üretimi yapılmaktadır.

Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde kestane ormanı ekosistemleri geniş bir alanı kaplamakta ve kestane balının tamamına yakını bu bölgede üretilmektedir. Kestane yaz başında bal arıları için en iyi nektar ve polen kaynaklarından biridir. Diğer ballardan çok daha koyu olan kestane balının astım, solunum yolu hastalıkları ve kansere iyi geldiği bilinmektedir. Ayrıca acı ve kalıcı tadıyla da diğer ballardan farklıdır. Koyu renkli balların açık renkli ballara göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Bu özelliklerinden dolayı kestane balı, diğer bal çeşitleri arasında önemli bir yere sahip olup tüketicilerin ilgisini de çekmektedir (Çol Ayvaz ve ark., 2018).

1.1 Balın Tanımı

Bal, Türk Gıda Kodeksi, 2020/7 nolu Bal Tebliğinde “bal; bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirilerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğası gereği kristallenebilen doğal ürünü ifade eder (TGK, 2020).

Ballar, arıların kullandığı kaynağa bağlı olarak çiçek balı ve salgı balı olmak üzere sınıflandırılır (Yıldırım, 2013). Salgı balı, bitkilerin yapraklarından sızan şekerli sıvılarla yaprak bitkileri, kırmızı böceği ve bazı ufak böceklerin yaprak üzerine salgıladığı tatlı sıvıların birleşimiyle oluşur. Çiçek balı ise bitkilerin çiçeklerinden salgılanan nektarın (balözü) birleşimiyle oluşur (Keskin, 1982). Ayrıca, bazı ballar orman gülü ve datura gibi bitkilerden alınan zehirli maddelerle üretildiği için zehirli bal (deli bal) olarak adlandırılır (Yılmaz, 1994). Üretim ve

pazara sunma şekline bağlı olarak petekli bal, süzme bal, petekli süzme bal, sızma bal, pres balı ve filtre edilmiş bal gibi çeşitli sınıflar bulunmaktadır. Bunların dışında, özgün doğal koku ve tada sahip olmayan, fermentasyon başlamış veya fermente olmuş, yüksek sıcaklıkta işleme tabi tutulmuş, endüstriyel amaçlar için uygun veya diğer gıda maddelerinin üretiminde kullanılmak üzere uygun olan bala ise "fırıncılık balı" denir (Bilgen Çınar, 2010).

1.2 Kestane Balı

Kestane balı, çiçek ballarından biridir ve Fagaceace ailesine ait *Castanea* cinsi ağaçlardan elde edilir. Kestane ağacı, bilinen 13 türüyle genellikle kuzey yarımkürede farklı bölgelere yayılmıştır. Türkiye'de ise Karadeniz, Marmara ve Ege Bölgeleri'nin ormanlık alanlarında doğal olarak *Castanea sativa* Mill. türü yetişmektedir (Subaşı, 2004; Özkarakaş, 2008). Kestane ağacı, arılar için yaz aylarının başında nektar ve polen kaynağı olarak önemlidir (Yang ve ark., 2012). Haziran ayının başından itibaren arılar kestane çiçeklerine yönelir ve büyük bir gayretle çalışırlar. Bu dönem asıl bal akımı zamanıdır. Geceleyin kovanların önünde kanat çırparak taşıdıkları balı olgunlaştırırlar. Bu nedenle arılıktan yükselen bir uğultu, sessiz gecelerde duyulabilmektedir. Kestane balı, koyu renkli, yavaş akan ve tatlı sert bir bal olarak karakterize edilir. Tadına alışanlar için gerçek bir mucize besin olarak kabul edilir (Ömür, 2015).

Kestane balı, yüksek kalitesi ve lezzetiyle birlikte (Castro-Vázquez ve ark., 2010), diğer ballara kıyasla iç piyasada hızla talep görebilen bir üründür. Ayrıca, yüksek fruktoz ve düşük glukoz içeriği sayesinde, hızlı kristalleşme eğiliminde olan ayçiçek balının aksine kestane balı daha uzun süre sıvı halde kalabilmektedir (Persano-Oddo ve Piro, 2004). Kestane balının astım ve solunum hastalıkları için etkili bir etnik tedavi yöntemi olduğuna inanılmaktadır (Orhan ve ark., 2003). Kestane balı, B ve C vitaminleri bakımından zengin olup kasları güçlendirir, kan dolaşımını düzenler, mide ve karaciğer yorgunluğunu giderir ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkisi vardır. Özellikle tadı, rengi ve aromasıyla diğer ballardan kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Kolaylı ve ark., 2006). Kestane balı, diğer koyu renkli ballar gibi antioksidan özellik göstererek kansere karşı koruyucu etki sağlar. Araştırmalar, kestane balının Beta Hemolitik streptococ bakterilerine karşı

antibiyotik özellik gösterdiğini ortaya koymuştur (Ömür, 2015). Kestane balları, koku ve aromalarına bağlı olarak odunsu, kimyasal, çürümüş ve bitkisel gibi kompleks aromalar sergileyen ürünlerdir. Kestane balı, acı tadı ve ağızda bıraktığı lezzetiyle bilinir (Yang ve ark., 2012).

1.3 Dünya’da Arıcılık ve Bal Üretimi

Arıcılık ve bal üretimi dünya genelinde önemli bir sektördür (Khalifa ve ark., 2021; Landaverde ve ark., 2023). Binlerce yıldır insanlar arıların doğal olarak ürettikleri balı tüketmiş ve bu değerli besin kaynağının önemini fark etmişlerdir (Qamar & Rehman, 2020). Arıcılık, arıların bal, polen, propolis ve arı sütü gibi ürünlerini üretmek amacıyla yetiştirildiği bir faaliyettir (Bradbear, 2009; Patel ve ark., 2021).

Arıcılık faaliyetleri çeşitli bölgelerdeki bitki örtüsü ve iklim koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Salehizadeh ve ark., 2020). Bal üretimi arıların bitkilerden topladıkları nektarı özümseyerek, içerisindeki enzimlerle zenginleştirerek ve peteklerde depolayarak gerçekleştirirler (Patel ve ark., 2021; Samarghandian ve ark., 2017). Arıcılık sürdürülebilir bir iş modeli olarak görülmekte ve arıların doğal yaşam alanlarının korunması ve çevresel dengeye katkı sağlaması açısından da büyük önem taşımakta ve aynı zamanda arıcılık faaliyetleri yerel ekonomilere katkı sağlayarak istihdam oluşturmakta ve ticaretin gelişimine katkıda bulunmaktadır (Patel ve ark., 2021).

Günümüzde arıcılık dünya genelinde yaygın ve ekonomik değeri yüksek bir tarımsal faaliyet olarak öne çıkmakta ve bu değerli faaliyet doğa ve çevre üzerinde minimum etkiye sahip olmasıyla da dikkat çekmektedir (Phiri ve ark., 2022). Arıcılık sektörü dünya genelinde yaklaşık 82.145.707 koloniyle faaliyet göstermekte ve yıllık olarak 1.675.149,12 kg bal üretimi gerçekleştirmektedir (FAO, 2022).

Dünya çapında en büyük bal üreticisi olan ülkeler Çizelge 1.1’de görüldüğü gibi sırasıyla Çin, Türkiye, İran, Hindistan, Arjantin, Rusya, Meksika, Ukrayna, Brezilya, Amerika Birleşik Devletleri’dir (FAO, 2022).

Çizelge 1.1 Ülkelere Göre Bal Üretim Miktarları(FAO, 2022)

Ülkeler	Üretim miktarı (ton)
Çin	461.900
Türkiye	118.297
İran	79.534
Hindistan	74.204
Arjantin	70.437
Rusya	67.014
Meksika	64.320
Ukrayna	63.079
Brezilya	60.966
Amerika Birleşik Devletleri	56.849

Balın yanı sıra, dünya ticaretinde arı sütü, propolis, polen ve balmumu gibi diğer arı ürünlerinin de önemli bir rol oynadığı oynamaktadır (Öztürk, 2001; Kartal, 2012). Bununla birlikte, tarımı gelişmiş ülkelerde arıcılık sadece arı ürünleri üretimi için değil, aynı zamanda bitkisel üretimde miktarın ve kalitenin artırılması amacıyla da yapılmaktadır (Sıralı ve Cımbırtoğlu, 2018; Topal ve ark., 2017). Arıcılığın ekonomik değeri, balın yanı sıra diğer arı ürünleri olan polen, propolis ve arı sütü gibi ürünlerden de kaynaklanmaktadır. Bu ürünler, tıbbi, kozmetik ve gıda endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Phiri ve ark., 2022). Ayrıca, arıcılık faaliyetleri, yerel ekonomilere önemli bir katkı sağlamakta ve istihdam yaratmaktadır. Arıcılık, özellikle kırsal bölgelerdeki insanların geçim kaynaklarından biri olmuş ve yerel ticaretin gelişimine de önemli katkıda bulunmuştur (Etxegarai-Legarreta ve Sanchez-Famoso, 2022).

Arıcılık faaliyetleri, doğal yaşam alanlarının korunmasına da katkı sağlamaktadır. Arılar, bitkilerin tozlaşmasında önemli bir rol oynar ve ekosistemin dengesini sağlar (Patel ve ark., 2021). Bu nedenle, arıcılığın sürdürülebilir bir iş modeli olarak benimsenmesi, doğal çevrenin korunması ve biyolojik çeşitliliğin sürdürülmesi açısından büyük önem taşır. Arıcılık sektörü, bilimsel araştırmalar ve teknolojik gelişmelerle de desteklenmektedir. Arıcılık alanında yapılan araştırmalar, arıcılara daha verimli üretim yöntemleri ve hastalıklara karşı korunma sağlayan çözümler sunmaktadır. Aynı zamanda, modern ekipmanlar ve tekniklerle desteklenen arıcılık faaliyetleri, üretim süreçlerini daha verimli hale getirerek kaliteli ürünler elde edilmesini sağlamaktadır.

Sonuç olarak, günümüzde arıcılık sektörü dünya genelinde ve Türkiye’de büyük bir ekonomik değere sahiptir. Bu faaliyet, doğaya ve çevreye zarar vermeden yapılan bir tarımsal uğraş olarak öne çıkmaktadır. Arıcılık, balın yanı sıra diğer arı ürünleriyle de geniş bir kullanım alanına sahiptir.

1.4 Türkiye’de Arıcılık ve Bal Üretimi

Türkiye, dünyanın ballı bitkiler florasının dörtte üçüne sahip olmasıyla bilinen bir bal kaynağıdır. Türkiye’de 12 bin bitki türünden 4 bine yakını endemiktir (Noroozi ve ark., 2019; Şenkul ve Kaya, 2017). Bu zengin bitki çeşitliliği, Anadolu’nun dört mevsimin yaşandığı ve ılıman iklim kuşağında bulunmasının yanı sıra arıcılığın merkezi konumunu desteklemektedir. Türkiye, bitki çeşitliliği kadar arı ırkları açısından da çeşitlilik sunmaktadır, bu da ülkemizi diğer üretici ülkelerden avantajlı bir konuma getirmektedir. Türkiye, kovan sayısı bakımından dünya sıralamasında üçüncü sıradayken bal üretimi bakımından dünya genelinde ikinci sıradadır (Aşkan, 2023).

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre, 2021 yılında dünya genelinde arılı kovan sayısı 101.624.052 adet, bal üretimi ise 1.771.944 ton olarak gerçekleşmiştir. Bal üretim miktarı açısından, Çin Halk Cumhuriyeti 472.700 ton ile birinci sırada yer alırken, Türkiye 96.344 ton ile ikinci sıradadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK, 2023) verilerine göre Türkiye’de kovan sayısı 8.969.387 adet olup, toplam bal üretimi 114.886 tondur (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2 Türkiye’de Yıllara Göre Arılı Kovan Sayısı ile Bal ve Bal mumu üretimi
(TÜİK, 2023)

Yıl	Arılı Kovan (adet)	Bal (ton)	Bal mumu (ton)
1991	3.161.583	54.655	2.863
1992	3.289.672	60.318	2.916
1993	3.450.755	59.207	3.110
1994	3.567.352	54.908	3.353
1995	3.701.444	68.620	3.735
1996	3.747.578	62.950	3.235
1997	3.798.200	63.319	3.751
1998	4.005.369	67.490	3.324
1999	4.135.781	67.259	4.073
2000	4.067.514	61.091	4.527
2001	3.931.301	60.190	3.174
2002	3.980.660	74.554	3.448
2003	4.098.315	69.540	3.130
2004	4.237.065	73.929	3.471
2005	4.432.954	82.336	4.178
2006	4.704.733	83.842	3.484
2007	4.690.278	73.935	3.837
2008	4.750.998	81.364	4.539
2009	5.210.481	82.003	4.385
2010	5.465.669	81.115	4.148
2011	5.862.312	94.245	4.235
2012	6.191.232	89.162	4.222
2013	6.458.083	94.694	4.241
2014	6.888.907	103.525	4.053
2015	7.525.652	108.128	4.756
2016	7.679.482	105.727	4.440
2017	7.796.666	114.471	4.488
2018	7.904.502	107.920	3.987
2019	7.929.368	109.330	3.971
2020	7.956.933	104.077	3.765
2021	8.456.305	96.344	3.766
2022	8.734.938	118.297	4.165
2023	8.969.387	114.886	3.971

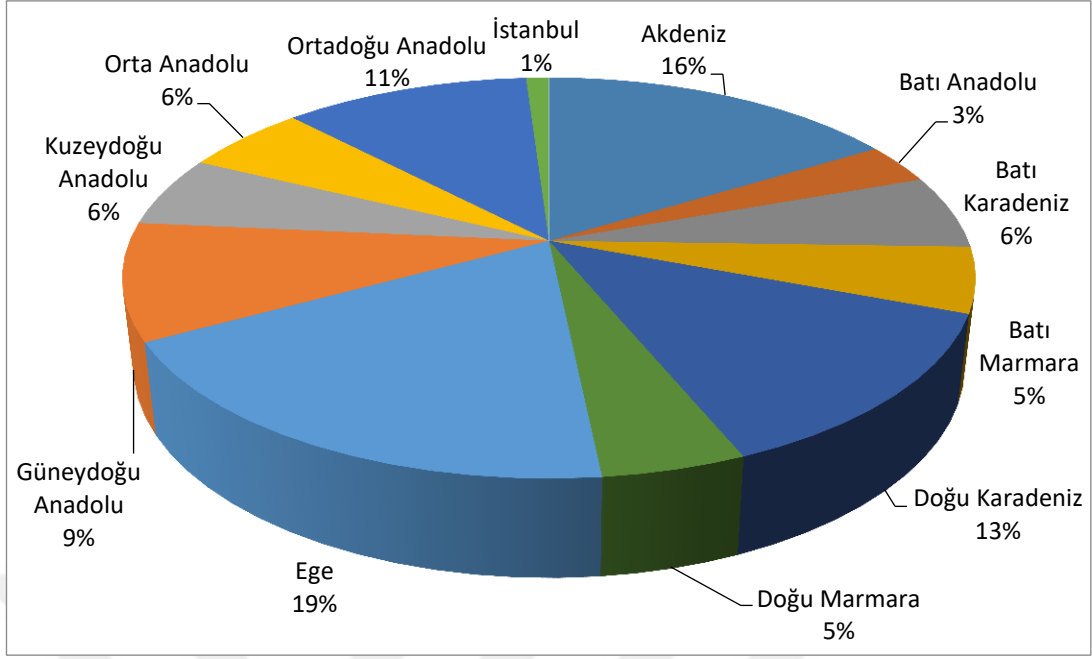
Arıcılık, Türkiye'de uzun bir geçmişe sahip olan ve geleneksel olarak yürütülen bir sosyo-ekonomik tarımsal faaliyettir. Türkiye'nin ekolojik ve sosyo-ekonomik yapısı, arıcılığın ülkenin tüm bölgelerinde başarılı bir şekilde gerçekleştirilebilmesine uygun bir ortam sunmaktadır. Bununla birlikte, Ege, Karadeniz ve Akdeniz bölgeleri, üretim miktarı ve kovan sayısı bakımından Türkiye'nin en zengin arıcılık bölgeleri olarak öne çıkmaktadır (Özkırım, 2018). Ordu, Adana, Muğla, Sivas, Kocaeli, İzmir, Mersin, Aydın, Sirt, Şanlıurfa bal üretimi en yüksek olan ilk on ilimizi oluşturmaktadır (TÜİK, 2023). Ordu ili bal üretimi 19.007 tonla birinci sırada yer alırken Adana ve Muğla illeri sırasıyla 12.280 ton ve 8.082 ton bal üretimleriyle ikinci ve üçüncü sırada yer almaktadır (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3 Türkiye’de İllere Göre Bal Üretimi (TÜİK, 2023)

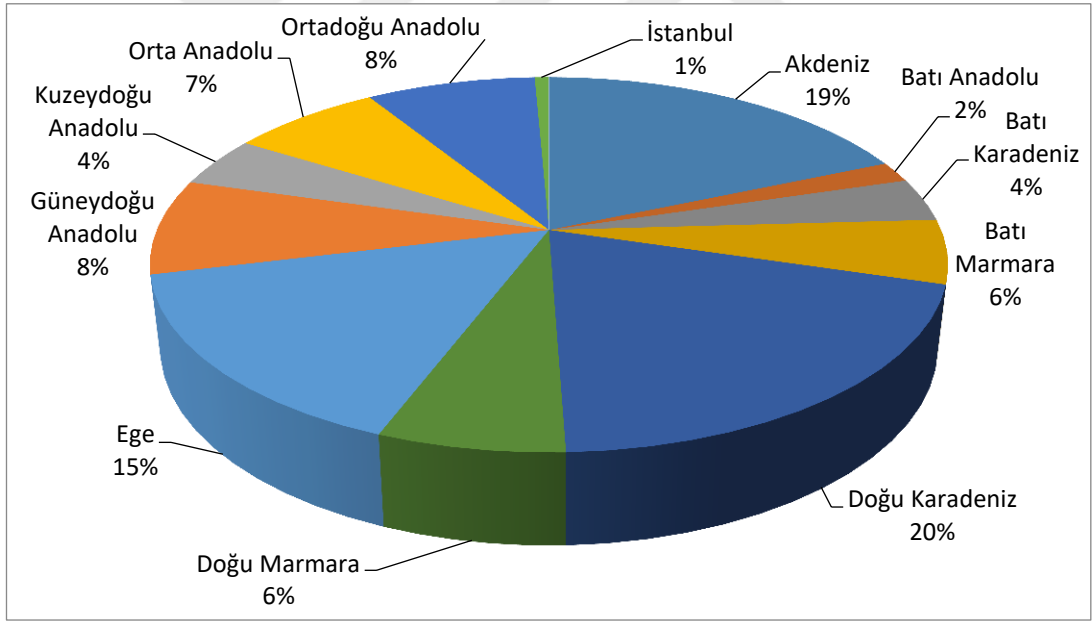
İller	Bal (Ton)
Ordu	19.007
Adana	12.280
Muğla	8.082
Sivas	6.383
Kocaeli	4.240
İzmir	3.626
Mersin	3.420
Aydın	3.412
Siirt	2.799
Şanlıurfa	2.370

Türkiye'de toplam 8.969.387adet kovan bulunmaktadır. Bu kovanların %19'si Ege Bölgesi'nde, %16'si Akdeniz Bölgesi'nde, %13'ü Doğu Karadeniz Bölgesi'nde ve %11 Ortadoğu Anadolu Bölgesi'nde yer almaktadır (TÜİK, 2023).

Türkiye’nin bölgelere göre kovan sayısı Şekil 1.1 de, bölgelere göre bal üretim miktarı Şekil 1.2 de ve Türkiye’de bölgelere göre kestane üretim miktarları Şekil 1.3 de verilmiştir (TÜİK, 2023).



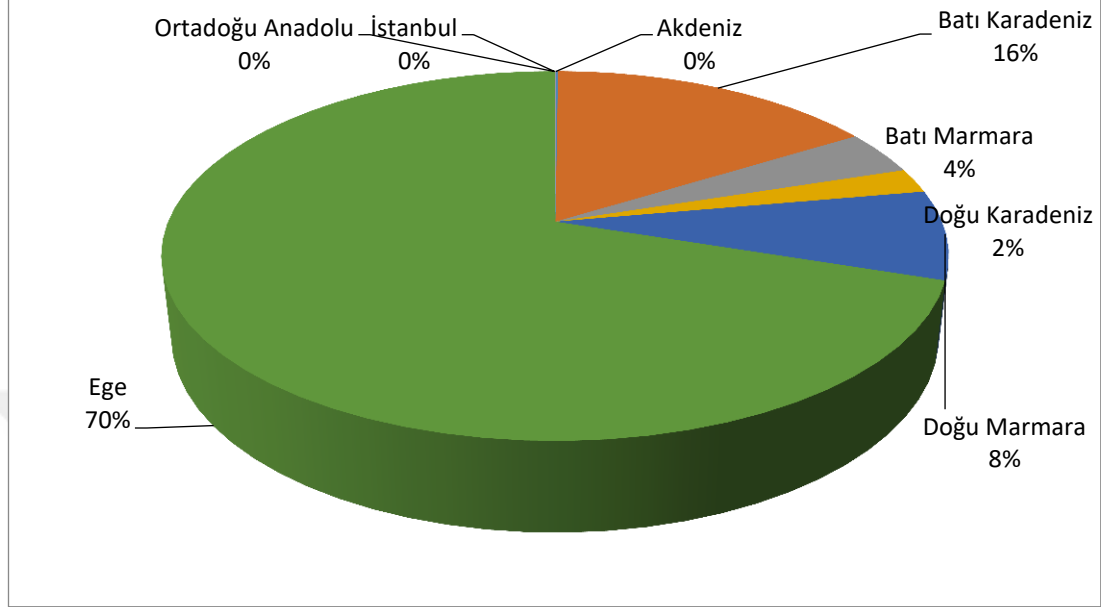
Şekil 1.1 Türkiye’de Bölgelere Göre Kovan Sayısı (TÜİK, 2023).



Şekil 1.2 Türkiye’de Bölgelere Göre Bal Üretim Miktarı (TÜİK, 2023).

Türkiye’de üretilen balın %20’i Doğu Karadeniz Bölgesi’nde, %19’u Akdeniz Bölgesi’nde ve %15’üde Ege Bölgesi’nde üretilmektedir. Ayrıca, Karadeniz ve Ege bölgeleri aynı zamanda kestane üretiminde de önemli bir rol oynamaktadır. (TÜİK, 2023) verilerine göre, Türkiye’deki 71156 ton kestane üretiminin %70’i Ege Bölgesi’nde, %18 Karadeniz Bölgesi’nde ve %12’si de Marmara Bölgesi’nde gerçekleşmektedir. Türkiye’de kestane dışında, akasya, çam, köknar, ladin, ıhlamur

gibi bal üreten meyve ağaçları, kekik, geven gibi mera bitkileri, ayçiçeği, pamuk, narenciye, pürem, korunga ve yabancı çilek gibi bitki türleri de bulunmaktadır (Güngör ve Şen, 2018).



Şekil 1.3 Türkiye’de Bölgelere Göre Kestane Üretim Miktarları (TÜİK, 2023)

1.5 Karadeniz Bölgesi’nde Bal Üretimi

Karadeniz Bölgesi, sahilden 3.376 metre yüksekliğe kadar değişen bir yükselti farklılığına, dağların denize paralel uzanışına, kuzey sınırının Karadeniz tarafından oluşturulmasına, birçok dereye, küçük ve büyük göllere, toprak ve iklim özelliklerine sahip olduğundan zengin bir flora ve bitki örtüsüne ev sahipliği yapmaktadır. Bu bölgede doğal olarak yetiştiği bilinen 2.239 bitki taksonundan 514’ünün endemik olma olasılığından bahsedilmektedir (Anşın, 1980).

Doğu Karadeniz illeri olan Artvin, Bayburt, Giresun, Gümüşhane, Ordu, Rize, Trabzon illerinin 2022 yılındaki bal üretimleri bir önceki yıla oranla Rize’de %165, Trabzon’da %115, Ordu’da %115, Gümüşhane’de %10 ve Giresun’da %165 oranında artış gösterirken Artvin’de %24 düşüş göstermiştir. Genel toplamda ise Doğu Karadeniz illerinin bal üretim miktarı 2021 yılında 15.616 ton iken 2022 yılında 25.537 tona çıkmış ve %63 oranında artış göstererek 2022 yılında Türkiye bal üretiminde bölgeler bazında birinci sırada yer almıştır. Bal üretimi açısından Karadeniz Bölgesi’nde ilk sırada Ordu yer almaktadır (TÜİK, 2022).

1.6 Balın Kalitesinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Önemli Fiziksel ve Kimyasal Parametreler

Balın kalitesini değerlendirmek ve standardize edebilmek için bazı fiziksel ve kimyasal parametreler kullanılmaktadır. Balın kalitesinin belirlenmesinde kullanılan fiziksel parametreler nem içeriği, renk, viskozite ve kristalizasyon hızıdır (da Silva ve ark., 2016; Mohammed, 2022). Nem içeriği balın stabilitesi için önemli bir parametredir. Renk, balın türü ve besin değeri hakkında bilgi verirken, viskozite ve kristalizasyon hızı ise balın akışkanlığını ve doğal özelliklerini etkilemektedir (Umesh Hebbar ve ark., 2008). Kimyasal parametreler arasında şeker profili, asitlik, enzim aktivitesi, mineral içeriği ve antioksidan aktivite en önemli parametrelerdir. Şeker miktarı ve oranı balın tadını ve aromasını belirlemektedir. Asitlik parametresi balın pH değerini ve muhafaza süresini önemli derecede etkilemektedir (Santos-Buelga ve González-Paramás, 2017).

1.6.1 Balın Nem İçeriği

Balın nem içeriği balın kalite değerlendirilmesinde kullanılan önemli bir parametredir. Nem, balın stabilitesi ve raf ömrü üzerinde doğrudan etkisi olan bir faktördür. Yüksek nem içeriği, mikroorganizma sayısının artmasını ve fermantasyon riskini artırabilmekte ve bu durum balın bozulmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle balın nem içeriği belirlenirken, optimal değerlerin korunması ve uygun depolama koşullarının sağlanması önemlidir. Nem içeriğinin doğru bir şekilde analiz edilmesi, balın kalite standartlarının sağlanması ve tüketicilere yüksek kaliteli ve güvenilir bir ürün sunulması açısından kritik bir adımdır.

1.6.2 Hidroksimetilfurfural (HMF) Miktarı

HMF, gıdalara pişirme veya sterilizasyon sırasında uygulanan ısı işlemleri sonucunda ortaya çıkar. Bu işlemler indirgenmiş şekerlerin amino asitlerle oluşturduğu enzimatik olmayan esmerleşme (Maillard) reaksiyonunu veya heksozların asit katalizörlüğündeki dehidrasyonunu içermektedir (Türkmen ve ark., 2006; Turhan, 2008). Bal, yüksek oranda basit şekerler (glukoz ve fruktoz) ve birçok asit içerdiğinden HMF oluşumu için çok elverişli koşullar sağlar (Shapla ve ark., 2018. Balda HMF miktarının düşük olması istenen bir özelliktir. HMF miktarın artmasına hasat sonrası ısıtma işlemi, depolama süresi, depolama sıcaklığı ve balın pH değeri neden olmaktadır HMF'nin sitotoksik ve genotoksik etkileri olduğu

bilinmektedir. HMF, hem ballara uygulanan işlem sırasında yapılan ısıtma ile oluşur hem de uzun süre bekletilen ballarda meydana gelebilmektedir. Balın uzun süre depolanması ve yüksek sıcaklıkta ısıtılması sonucunda HMF miktarı 30-40 mg/kg'a kadar yükselirken, bazen bu sınırları da aşabilir. Bu miktarın 50 mg/kg'dan büyük olması, bala invert şeker katıldığına bir belirtisi olarak kabul edilmektedir. Balda HMF oluşumu, pH, sıcaklık, ısıtma süresi ve şeker konsantrasyonuna bağlı olduğundan, balın kalitesini belirlemek için kullanılan en önemli kriterlerden biridir. HMF miktarının yeni hasat edilen ve fazla bekletilmeyen ballarda az miktarda bulunduğu bilinmektedir (Tosi ve ark., 2002; Fallico ve ark., 2004; Tornuk ve ark., 2013). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre, kaliteli bir baldaki HMF miktarı 40 mg/kg'dan fazla olmamalıdır.

1.6.3 Diastaz sayısı

Dünya bal ticaretinde balın kalite kriteri olarak uzun bir süredir kullanılan iki önemli biyokimyasal kriter HMF içeriği ve diastaz sayısıdır (Fallico ve ark., 2004). Balın olgunlaşması sırasında bal arıları tarafından salgılanan diastaz enziminin varlığı bir kimyasal tehlike değil, aslında arzulanan bir durumdur. Bununla birlikte, bu enzimin aktivitesindeki düşüş, balın aşırı ya da yanlış şekilde ısıtılmasının bir göstergesi olan 5-HMF maddesinin miktarındaki artışla ilişkilendirilmektedir (Doğan, 2013). Aşırı sıcaklık uygulamasına tabi tutulmuş veya uzun süre depolanmış ballar ile taze balların ayırt edilmesinde bu sıcaklık-zaman uygulaması sınır değeri olarak kullanılmaktadır.

Diastaz aktivitesi sıcaklık uygulaması sonucunda geri dönüşümsüz olarak etkisiz hale gelir. Balda diastazın kalıcı olarak inaktif olduğu sıcaklık 90-100 °C arasında değişmektedir (Tosi ve ark., 2008). Diastaz kaybı balda istenmeyen bir durumdur; ancak çok yüksek seviyelerde Diastaz bulunması da arzu edilmez. Yüksek düzeyde diastaz içeren bal, yüksek asit oluşumuna ve buna bağlı olarak fermantasyona neden olabilir. Türk Gıda Kodeksi 'ne göre kaliteli bir baldaki diastaz sayısının en az 8 olması gerekmektedir; ancak turuncu balı gibi enzim içeriği düşük olan ballarda bu değeri en az 3 olarak belirlenmiştir (Tolon, 1999). Sıcaklık ve depolama süresi arttıkça, balda HMF içeriği artmakta ve diastaz sayısı azalmaktadır (Çınar ve Ekşi, 2012). Depolama süresi ve koşulları HMF miktarını önemli ölçüde artırırken, diastaz aktivitesi üzerinde daha az etkiye sahip olup diastaz sayısının

azalmasına neden olmaktadır (Yılmaz, 1994). Diastaz sayısı, balda yapılan analizlerde kolayca tespit edilebilmekte ve balın sıcaklık işlemine tabi tutulup tutulmadığının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ancak diastaz sayısı, balın içerdiği polenin protein miktarı ve diğer bileşenlere bağlı olarak değişebilir. Sıcaklığa maruz kalan ballarda diastaz sayısı hızla azalırken, yüksek diastaz içeren ballarda yüksek asit oluşumu nedeniyle daha hızlı fermantasyon gerçekleşmektedir (Tolon, 1999; Doğan, 2013).

1.6.4 Prolin

Prolin, nektarın bal haline dönüşmesi sırasında arılar tarafından bala eklenen bir aminoasittir ve genellikle balın protein içeriğiyle ilişkilidir. Balda bulunan amino asitlerin büyük bir kısmını prolin oluşturmakta ve farklı bal çeşitleri arasında prolin miktarı önemli farklılıklar göstermektedir (Yıldız ve ark., 2016). Balın olgunluk seviyesini ve dolayısıyla kalitesini yansıtan prolin miktarı, balın diğer bileşenleriyle birlikte arıya bağlı olup balın gerçekliği için bir kriter olarak kabul edilmektedir. Balda prolinin yanı sıra 20 amino asit daha tespit edilmiş olup bunların oranı balın kaynağına göre değişmektedir (Yang ve ark., 2024). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre, ballarda en az 300 mg/kg prolin bulunmalıdır. Ancak bu değer akasya ve biberiye ballarında 120 mg/kg, kanola, ıhlamur, narenciye, lavanta ve okaliptüs ballarında ise 180 mg/kg olarak belirtilmektedir (TGK, 2020).

1.6.5 pH

Doğal balın asidik bir yapıya sahip olduğu ve pH değerinin genellikle 3.4-6.1 arasında değiştiği ve ortalama olarak da yaklaşık 3.9 olduğu belirtilmektedir (Korkmaz, 2010). Balın asidliği içerdiği malik asit miktarıyla ölçülmektedir. Malik asit miktarı %0.1-0.4 arasında değişmektedir. Malik asit içeriği %0.4'ün üzerinde olan bal örnekleri sakıncalı ballar kategorisine girmektedir. Balın asidik yapısı, içerdiği önemli vitaminler olan tiamin, riboflavin, askorbik asit, pridoksin (vitamin B6), pantotenik asit ve nikotinik asit gibi vitaminlerin bozulmasını geciktirmektedir (Popkova ve ark., 2021).

1.6.6 Polen

Polen, çiçekli bitkilerde erkek organlar olan stamenin içinde bulunan polen keseciklerinde üretilen ve dişi organların döllenmesini sağlayan erkek cinsiyet

hücreleridir. Bu polenler, erkek çiçekler veya hermafrodit çiçeklerin erkek organları tarafından oluşturulmaktadır (Wajnberg ve ark., 2019). Polenin botanik kökenini belirlemede, polenin yaklaşık %40'ında bulunan esansiyel amino asit içeren protein profili kullanılabilir (Hermosín ve ark., 2003). Polenin kimyasal yapısı çeşitlilik göstermekte olup yaklaşık %21'i ham protein, %32'si karbonhidrat, %5'i yağ, %3'ü kül, %11'i su ve %28'i diğer bileşenlerden oluşur (Korkmaz, 2010). Polen, arıların beslenmesinde önemli bir protein kaynağıdır ve içerdiği vitamin ve mineral maddeleri ile arı ağız salgılarını içerdiği için değerli bir besin maddesidir (Türe, 2019). Saf ve sahte balın ayırt edilmesinde K/Na oranı, prolin ve toplam polen spektrumu belirleyici faktörlerdir. Ayrıca asitlik, sakkaroz, invert şeker içeriği gibi diğer parametreler de yardımcı kriterler olarak kullanılmaktadır (Başoğlu ve ark., 1996). Polenin kimyasal yapısı, rengi, tadı, kokusu ve şekli bitki türüne bağlı olarak değişir. Genellikle sarı renkte olmasına rağmen siyah, mor, pembe renkte polenler de bulunabilir. Balın kaynağı, içerdiği polenlerin analizi ile belirlenebilmektedir (Korkmaz, 2010). Örneğin bir balın kestane balı olduğunu söyleyebilmemiz için o balın içerisinde %70 oranında kestane poleni içermelidir.

1.6.7 Elektriksel İletkenlik

Elektriksel iletkenlik, bir maddenin elektron akışını taşıma yeteneği olarak tanımlanır ve gıda maddelerinde kalite parametresi olarak kullanılır (Güler, 2017). Ballarda elektriksel iletkenlik, balın mineral madde içeriğine bağlı olarak değişir (Karadal ve Yıldırım, 2012). Bal standartlarına göre, elektriksel iletkenliğin çiçek balında maksimum 0.8 mS/cm, salgı balı ve kestane balında ise minimum 0.8 mS/cm olması gerekmektedir (Bilgen-Çınar, 2010). Elektriksel iletkenlik, saf ve katkılı balların ayırımında kullanılan önemli bir özelliktir ve balın bitkisel kaynağını belirlemede kullanılan bir yöntemdir (Güler, 2017). Salgı ballarının elektriksel iletkenlik değeri, çiçek ballarına göre daha yüksektir (Bilgen-Çınar, 2010). Yapılan araştırmalarda, balın elektriksel iletkenlik değerinin mineraller, organik asitler ve protein miktarıyla pozitif, su içeriğiyle ise negatif bir ilişki içinde olduğu belirtilmektedir (Chua ve ark., 2012).

1.6.8 Antioksidan Aktivite

Günümüzde serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif stresin, birçok organizma türünde moleküler dönüşümlere ve gen mutasyonlarına neden olarak

birçok hastalığa yol açtığı bilinmektedir (Storz ve Imlayt, 1999). Bu nedenle, serbest radikallerin hücreler üzerindeki etkilerini önlemek veya azaltmak amacıyla birçok bilim insanı, doğal kaynaklardan elde edilebilen aktif bileşenleri araştırmaya başlamıştır (Ulubelen ve ark., 1995; Yan ve ark., 2002; Küçük ve ark., 2007). Serbest radikaller, hücre metabolizmasının rutin çalışması sonucunda doğal olarak oluşan ve biriktiklerinde hücre yaşamını tehlikeye atan ürünlerdir. Bir molekülün veya atomun en dıştaki elektron yörüngelerinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron bulunması, yapısını dengesiz hale getirir ve bu durumda reaktif bir özellik kazanmasına neden olmaktadır. Serbest radikallere dönüşen molekül veya atom, yeniden kararlı hale geçebilmek için elektronunu hızla verme eğilimindedir. Bu süreç, serbest radikallerin birçok hücresel yapıda zincir reaksiyonları başlatarak yapıların bozulmasına ve hücrelerin yaşamını tehlikeye sokacak hasarlara neden olmaktadır (Berger, 2005; Valko ve ark., 2006).

Antioksidanlar, hücreleri serbest radikallerin neden olduğu hasarlardan koruyan bileşiklerdir. Bu bileşikler, reaktif oksijen türlerini (ROS) yakalar, stabilize eder veya deaktif ederek hücrelere ulaşmadan önce etkisiz hale getirirler (Chib ve ark., 2020). Normal koşullarda, serbest radikallerin hücresel işlevlerde önemli rolleri bulunmaktadır. Ancak, serbest radikallerin biyomoleküllere zarar veren zincir reaksiyonları güçlendiğinde veya prooksidan ve antioksidan maddeler arasındaki denge bozulduğunda, bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Nugent, 2019). Oksidatif stres, kanser, yaşlanma ve dejeneratif kardiyovasküler hastalıklar gibi hücresel hasarlara yol açarak ciddi sağlık sorunlarına neden olabilir. Bu olumsuz etkileri azaltmak için, vücut endojen savunma sistemi tarafından üretilen antioksidan enzimler ve bileşikler bulunmaktadır, ancak bazen dışarıdan alınan eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulabilmektedir (Palma ve Seiquer, 2020).

Eksojen antioksidanlar genellikle meyve, sebze ve bitkilerde bulunur. Bu antioksidanlar, C ve E vitaminleri, selenyum, çinko, manganez, bakır, β -karoten ve fenolik bileşikler gibi besinlerde bulunabilir (Coronado ve ark., 2015). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi, özellikle hidroksil gruplarının sayısı, konumları ve aromatik halkalardaki bağlanma yetenekleri gibi yapılarına ve ayrıca bileşiklerin organik asitlere ve şekerlere bağlanmasına bağlıdır (Minatel ve ark., 2017, Gutiérrez-Grijalva ve ark., 2016). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi, bu moleküllerin

sindirilebilme, emilebilme ve metabolize edilebilen besinlerle etkileşimine bağlı olarak in vivo olarak azalabilir (Coronado ve ark., 2015). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) gibi maddeleri uyararak bağırsak mikrobiyotasının dengesini koruyabilir ve geri kazanabilir. Bu, antioksidan kapasitesinin, fenolik bileşiklerin yapıları, sindirim, emilim ve metabolizma ile etkileşimi gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceği anlamına gelmektedir (Ferreira ve ark., 2020).

Balın içeriğinde glikoz oksidaz, katalaz, askorbik asit, flavonoidler, fenolik asitler, karotenoid türevleri, organik asitler ve Maillard reaksiyon ürünleri gibiantioksidan aktiviteye sahip önemli bileşikler bulunmaktadır (Krpan ve ark., 2009; Hadjmohammadi ve ark., 2009). Bu bileşiklerin sinerjik bir antioksidan etki sağlamak üzere bir arada çalıştığı bilinmektedir (Alvarez-Suarez ve ark., 2010). Bal, lipid oksidasyonunu geciktirmek için gıda muhafazasında sodyum tripolifosfat gibi bazı koruyuculara alternatif olabilir. Ayrıca, balın antioksidan aktivitesi ile rengi arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Koyu renkli balın daha yüksek toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Frankel ve ark., 1998; Beretta ve ark., 2005). Bu nedenle, bal, geleneksel tıpta yüzyıllardır önemli bir yere sahiptir ve içeriğindeki bu antioksidan bileşiklerin sağlık üzerinde olumlu etkileri olduğuna inanılmaktadır (Zumla ve Lulat, 1989).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Perna ve ark., (2013) İtalya'da farklı botanik kökenlere sahip 90 bal örneğinde fenolik asit, flavonoid ve C vitamini içeriklerini analiz etmişlerdir. Toplam fenolik içerik (11.08-14.26 mg GAE/100 g) ve flavonoid içerik (5.82-12.52 mg QE/100 g) ölçümleri botanik kaynağa göre değişiklik göstermiştir. Ayrıca, kestane balının, diğer ballara kıyasla en yüksek fenolik asit, flavonoid ve C vitamini seviyelerine sahip olduğu ve bu özelliklerin yüksek antioksidan aktivite ile doğrudan ilişkili olduğu belirlenmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesi %55.06-%75.37 arasında değişmiştir.

Kalın (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 9 farklı bal örneğinin kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri karşılaştırılmıştır. Kestane ballarının yüksek toplam fenolik içerik ve FRAP değerleri gösterdiği, ancak DPPH radikal süpürücü aktivitesinin düşük olduğu belirlenmiştir. Fenolik içeriklerin önemli derecede antioksidan aktivite ile ilişkili olduğu ve yüksek antioksidan aktivitenin kestane balı örneklerinde olduğu tespit edilmiştir.

Akdeniz ve ark., (2013) Edirne ilindeki bal üreticilerinden temin ettikleri toplam 30 adet karaçalı ve ayçiçeği balının biyokimyasal özelliklerini karşılaştırmıştır. Yapılan biyokimyasal analiz sonucunda; karaçalı balında ortalama, 6.3 mg/kg HMF, %16.26 nem, %62.18 invert şeker, %1.35 sakkaroz, %0.3214 kül, 13.9 diastaz, 14.7 meq kg⁻¹asitlik, 0.718 mS/cm⁻¹elektriksel iletkenlik ve 5.9 pH değerleri bulunmuştur. Ayçiçeği balında ise; 11,34 mg/kg HMF, %17,60 nem, %61.27 invert şeker, %1.67 sakkaroz, %0.3400 kül, 8.30 diastaz, 39.70 meqkg⁻¹asitlik, 0.429 mS/cm⁻¹elektriksel iletkenlik ve 4.3 pH değerleri tespit edilmiştir.

Yıldız ve ark., (2016) tarafından yapılan araştırmada, Akdeniz Bölgesi'nden pamuk, İç Anadolu Bölgesi'nden yayla, Ege Bölgesi'nden çam ve Trakya yöresinden ayçiçeği balı olmak üzere toplam 211 bal örneğinin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Araştırmada bal örneklerinde asitlik değeri bakımından en düşük değer 13.92 mEq kg⁻¹ ile pamuk balı örneklerinde, diastaz sayısı bakımından en iyi sonuç 25.61 ile ayçiçek balı örneklerinde ve sakkaroz içeriği bakımından en düşük değer %0.44 ile çambalı örneklerinde tespit edilmiştir.

Yılmaz ve ark., (2017) Erzincan ilinde üretilen 50 adet bal örneğini analiz etmişler ve ballarının nem içeriklerinin %16.9-%21.4, serbest asitlik değerlerinin 11.04-28.59 mEq/kg, diastaz sayılarının 4.5-19.4, HMF değerlerinin 1.54-47.81 mg/kg, sakkaroz içeriğinin %0.1-15.3, fruktoz+glukoz değerinin %49.5-77.9 ve fruktoz/glikoz oranının 0.74-1.29 arasında değiştiğini belirlemiştir.

Dağ (2017) tarafından yapılan çalışmada, Karadeniz bölgesi'nde üretilen kestane balı örneklerinin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerinin(nem içeriği, suda çözünmeyen madde, serbest asidite, diastaz aktivitesi, fruktoz/glukoz oranı, toplam fruktoz+glukoz gibi fizikokimyasal parametreler ile sukroz ve hidroksimetilfurfural (HMF) içeriği) belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgulara göre nem içeriği 18.13 ± 1.53 , suda çözünmeyen madde tam numunelerde %0.00, serbest asitlik 20.78 ± 2.44 mEq/kg, diastaz aktivitesi 14.20 ± 2.87 , fruktoz/glukoz oranı 1.44 ± 0.05 , toplam fruktoz+glukoz 71.15 ± 2.26 , sukroz içeriği 2.00 ± 0.56 ve HMF içeriği ise 0.57 ± 0.09 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Daci-Ajvazi ve ark., (2017) Kosova'nın farklı bölgelerinden toplanan balların fenolik içeriklerini (57.07-67.06 mg/kg) ve flavonoid içeriklerini (47.50-50.55 mg/kg) analiz etmişlerdir. Antiradikal aktivite oranının %25.83-%53.86 arasında, FRAP yöntemi ile ölçülen antioksidan aktivitenin ise 167.91-262.08 mg/g arasında değiştiği gözlenmiştir. Ayrıca, hidrojen peroksit temizleme kapasitesi %25.49-%45.33, süperoksit temizleme kapasitesi ise %61.2-%72.35 arasında değişmiştir. Çok çiçekli balların renk değerleri 309 ile 2931 mAU arasında farklılık göstermiş ve parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler bulunmuştur.

Silici (2018) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden toplanan kestane ballarının fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada bal örneklerinin renk, nem, HMF (5-hidroksimetilfurfural), diastaz sayısı, prolin, asitlik ve elektriksel iletkenlik değerleri sırasıyla 82.1 mm, %17.33, 23.83 mg/kg, 15.12 diastaz sayısı, 754.12 mg/kg, 28.68 meq/kg ve 0.93 MS/cm olarak belirlenmiştir. Bal örneklerinde fruktoz, glukoz ve sakkaroz içeriği sırasıyla %37.09, 30.41 ve 0.02 olarak belirlenirken, analiz edilen diğer şekerlerin oranları %0.02 ile 1.99 arasında değişmiştir. Kestane balı örneklerinin toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile 154.12 mg

GAE/100g olarak belirlenirken, antiradikal aktiviteleri (DPPH yöntemi) %37.65 olarak bulunmuştur.

Koca ve ark., (2018) Türkiye'de 2015 yılında Edirne, Kastamonu, Kocaeli, Samsun, Sinop ve Rize gibi illerden 25 farklı bal üreticisinden topladıkları kestane ballarında renk (L^* , a^* , b^*), nem içeriği, pH, serbest asitlik, toplam fenolikler, antioksidan aktivite ve viskozite gibi özellikleri incelenmiştir. Toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu tahlili kullanılarak ölçülmüştür. Yapılan analizler sonucunda, L^* , a^* , b^* , nem, pH ve serbest asitlik seviyelerinin 19.72 ile 25.11 (ortalama: 22.52 ± 1.58), -0.04 ile 1.82 (ortalama: 0.93 ± 0.53), 3.15 ile 6.98 (ortalama: 5.26 ± 1.06), %17.5 ile %21.5 (ortalama: $\%18.96 \pm 1.21$), 3.84 ile 5.54 (ortalama: 4.90 ± 0.42) ve 12.2 ile 45.8 meq kg⁻¹ (ortalama: 22.82 ± 8.22 meq kg⁻¹) arasında değiştiği görülmüştür. Toplam fenolik içerik (ortalama: 683.73 ± 231.80 mg GAE kg⁻¹), DPPH (ortalama: 5.71 ile 74.97 mmol troloks eşdeğeri g⁻¹) ve FRAP (ortalama: 29.33 ± 16.94 mmol Fe+2 g⁻¹) değerlerinin önemli değişkenlikler gösterdiği belirlenmiştir.

Bengü ve Kutlu (2018) tarafından yapılan çalışmada, Bingöl yöresinde üretilen ballarda HMF, diastaz, nem ve C4 şeker özelliklerini belirlemek amacıyla 2014-2016 yılları arasında arı yetiştiricileri birliğine kayıtlı 32 üyeden elde edilen bal örnekleri kullanılmıştır. Bal örneklerinin ortalama nem miktarı $\%15.39 \pm 0.28$, ortalama HMF miktarı $\%36.37 \pm 2.35$ ve ortalama diastaz sayısı 18.39 ± 1.08 olarak bulunmuştur.

Akgün (2019) tarafından yürütülen bir çalışmada balların prolin değerlerinin 248.8-923.0 mg/kg arasında değiştiği tespit edilmiştir. Balların diastaz sayısı 15.5 ile 8.0 arasında ve nem oranları ise %21.61 ile %22.35 arasında değişim göstermiştir.

Erdoğan ve Turan (2022) tarafından yapılan çalışmada, farklı rakımlarda üretilen balların fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bal örneklerinin analizi sonucunda elde edilen minimum ve maksimum ortalama nem oranı %14.70 ila %18.60, serbest asitlik 20.50 ila 25.30 mEq/kg, pH değeri 3.20 ila 4.30, EC değeri 0.22 ila 0.44 mS/cm, fruktoz oranı %32 ila %45, glukoz oranı %0.10 ila %0.18, sükroz oranı %0.66 ila %1.80, maltoz oranı ise %0.66 ila %1.80 arasında değişmiştir. Ayrıca, HMF içeriği 1.80 mg/kg ila 3.50 mg/kg, prolin miktarı 530.00 mg/kg ila 710.00 mg/kg, yoğunluk 1.44 g/cm³ ila 1.49 g/cm³, invertaz aktivitesi 20.30 U/kg ila

28.50 U/kg, diastaz aktivitesi 13.23-19.07 ve toplam fenolik içerik 76.00-94.00 g arasında değişmiştir. Farklı yüksekliklerde üretilen balların fizikokimyasal özellikleri arasındaki farklar önemli bulunmuştur.

Apaydın (2022) tarafından yapılan çalışmada, Trakya Bölgesi'nde yerel olarak üretilen 16 adet ayçiçeği, 2 adet karaçalı, 3 adet kanola, 3 adet meşe ve 1 adet ıhlamur balı olmak üzere toplam 25 adet bal örneğinin kalite parametrelerinin incelenmiştir. Çalışmada ortalama pH değeri 4.42 (3.86-6.54), ortalama çözünür kuru madde 81.4°Bx (79.3-83.0°Bx), ortalama serbest asitlik 15.66 mEq/kg (9.00-28.00 mEq/kg), ortalama HMF 13.00 mg/kg (0.16-33.45 mg/kg), ortalama elektriksel iletkenlik 595 μ S/cm (207-1376 μ S/cm), ortalama glukoz değeri %33.66 (%25.51-38.58), ortalama fruktoz değeri %38.17 (%33.32-47.91) ve ortalama sakkaroz değeri %0.17 (%0.01-0.67) olarak bulunmuştur.

Ertop ve ark., (2023) tarafından yapılan çalışmada, Kastamonu'nun Abana, Bozkurt, Doğanyurt, Cide, Küre ve İnebolu ilçelerinden alınan toplam 15 kestane balı örneğinde bazı biyokimyasal ve kalite özellikleri incelenmiştir. İncelenen bal örneklerinin lokasyonlara göre indis değerleri, nem ve kuru madde değerleri birbirine oldukça yakın olup indis değerlerinin 1.4845 ile 1.4991 arasında, nem değerlerinin %16.48 ile %20.80, kuru madde değerlerinin ise %79.20 ile %83.52 arasında verenk yoğunluğunun 107.25 mAU ile 336.00 mAU arasında değiştiği belirlenmiştir. Kestane balı örnekleri arasında en yüksek antioksidan aktivite %63,05 olarak bulunmuş olup pH değerleri ise 4.682 ile 6.115 arasında değişmiştir.

Saral (2023) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'nin Artvin ilinden toplanan sekiz adet kestane balı örneğinin fizikokimyasal özellikleri, fenolik bileşikleri ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Balların pH ve nem değerleri sırasıyla 4.60-5.40 ve %17.60-%19.00 arasında, elektriksel iletkenlik (EC) ve Hunter renk L değerleri sırasıyla 0.56-1.12 mS/cm ve 43.16-67.60 arasında ve prolin değerleri de 876-1246 mg/kg arasında değişmiştir. İncelenen balların diastaz aktiviteleri yüksek olup 18.28 ile 26.30 DU arasında değişmiştir. Örneklerdeki toplam fenolik, toplam flavonoid ve toplam antioksidan (FRAP) düzeylerinin ortalaması sırasıyla 72.79 $\pm$ 0.03 mg GAE/100 g, 2.25 $\pm$ 0.03 mg QE/100 g ve 312.67 $\pm$ 2.85 μ mol FeSO₄/100 g olarak belirlenmiştir.

Portakal ve ark., (2023) tarafından yürütölen bir çalışmada, ankırı ilinin 7 farklı ilçesine ait köylerden toplanan 14 adet bal örneğlerinin antibakteriyel aktivite testleri sonucunda tüm balların *S.aureus* ve *E.coli* bakterilerine karşı 21.5 mg/mL ile 42.5 mg/mL aralığında farklı minimum inhibitör konsantrasyon değeriğine sahip olduğu ve minimum bakterisidal konsantrasyon değeriğinin 42.5 mg/mL ve daha üst değerde olduğu belirlenmiştir. Balların toplam fenolik madde miktarları 36-84 µg/mL aralığında bulunmuştur. Balların nem oranları % 15.40- % 20.80, elektrikiletkenliğı 0.18-0.34 mS/cm, pH değeriğeri 3.4-4.4 arasında, diastaz sayısı ortalama 17.5, en yüksek prolin miktarı 944.42mg/kg olarak bulunmuş ve renk parametreleri olan L*, a* ve b* ortalama değeriğeri sırasıyla 44.31, 1.42 ve 18.92 olarak bulunmuştur.

Miakhil ve ark., (2024) Tahran şehrinde farklı markalara ait balların fizikokimyasal özelliklerini ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada, nem (%15.34-%16.30), kül (%0.24-%0.40), pH (4.27-4.39), serbest asitlik (9.15-10.68 meq/kg), toplam indirgen şeker (%77.84-%79.74), sakaroz (%3.66-%4.57), diastaz sayısı (2.28-3.28 DN) ve HMF (6.67-11.84 mg/kg) değeriğeriğinin ölçüldüğü, diastaz aktivitesi hariç tüm fizikokimyasal parametrelerin ulusal ve uluslararası standartlarla uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bal örneğlerinin toplam fenolik içeriğı (28.72-39.36 mg GAE/100 g) ve DPPH radikal süpürücü aktiviteleri (%63.83-%73.91) incelenmiş ve fenolik içerik ile antioksidan aktivite arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada Ordu ilinin Gülyalı ilçesi (enlem: 40.9646 ve boylam: 38.0842, deniz seviyesi) ve Gürgentepe ilçesi (enlem: 40.7861 ve boylam: 37.5928, 1260 rakım) olmak üzere kestane ağaçlarının yoğun olarak bulunduğu iki farklı rakımdan elde edilen bal örnekleri kullanılmıştır. Bunun için her bir lokasyonda üretim yapan iki farklı üreticiden bal örnekleri alınmış ve böylece toplam 4 ayrı bal örneği analiz edilmiştir. Bal örnekleri analizler öncesinde +4 °C de ve karanlık ortamda muhafaza edilmiştir. Analizler için gerekli olan bal örnekleri muhafaza ortamından gerektiği miktarda alındıktan sonra kalan ballar tekrar mevcut saklama koşullarında tutulmuştur.

3.2 Yöntem

3.2.1 Işık Mikroskobu ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme

Bu araştırmada bal örneklerinin polen analizinde Wodehouse (1935) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde göre, önce süzme bal örnekleri kavanozlara konulmuş ve bir çubuk yardımıyla iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra, 10 gramlık bal örnekleri deney tüplerinin 20 mL distile su eklenmiştir. Balın su içinde çözünmesini sağlamak amacıyla deney tüpleri su banyosunda bekletilmiş, ardından tüpler 4500 rpm hızında 15 dakika boyunca santrifüj edilerek çözeltinin üstünde kalan sıvı kısım boşaltılmıştır. Steril iğne ucuna alınan 1-2 mm³ bazik fuksinli gliserin-jelatin karışımı, dipteki çözeltiye bulaştırılmış ve elde edilen materyal lam üzerine aktarılmıştır. Bazik fuksinli gliserin-jelatin, 40°C 'de ısıtılarak eritilmiş ve iğne ile lam üzerinde karıştırılarak lamelle kapatılmıştır. Preparatlar numaralandırılmış ve ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra polenlerin sayımı ve tanımlanması, ışık mikroskobunda polen atlasları kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Ohe ve ark., 2004). Bal örneklerinin monofloral olup olmadığının tespit edilmesi için ayrıca bal numunelerinden elde edilen karışım taramalı electron mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir.

3.2.2 Fizikokimyasal Analiz

3.2.2.1 Prolin

Balda prolin tayini, prolinin ve ninhidrinin renkli bir bileşik oluşturmaları ve bu oluşan renk yoğunluğunun belirli bir dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu bağlamda, 5 gram tartılan bal, saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak çözülür. Bu çözeltilerden 0.5 mL alınarak, içerisinde %3'lük ninhidrin çözeltisi ve 1 mL formik asit eklenir. Farklı deney tüplerine, bal çözeltisinin yerine kör numune olarak kullanılmak üzere 0.5 mL su, standart olarak kullanılmak üzere ise içerisinde prolin bulunan standart çözeltisinden 0.5 mL eklenerek hazırlanır. Deney tüpleri, 15 dakika boyunca orta hızda karıştırıldıktan sonra 15 dakika süreyle kaynar su banyosuna, ardından 10 dakika süreyle 70°C'lik su banyosuna konulur. Bu işlemlerden sonra her bir tüpe, 45 dakika bekledikten sonra, %50'lik 2-propanol-su karışımında (V/V) 5 mL eklenir. Numunelerin absorbanans değerleri, 510 nm dalga boyundaki spektrofotometre (Perkin Elmer Lambda 25) ile ölçülür. Prolin standart çözeltisi, 40 mg prolin standartının saf su ile 50 mL'ye tamamlanması ve bu çözeltilerden 1 mL alınarak 2 mL saf su ile seyreltilmesi yoluyla elde edilmektedir (IHC, 2009).

Aşağıdaki formülle ballardaki prolin miktarı mg/kg cinsinden hesaplanır.

$$\text{Prolin (mg/kg)}: E_p/E_s \times m_1/m_2 \times 80$$

Bu bağlamda;

E_p : Numune çözeltisinin absorbanansı

E_s : Prolin standart çözeltisinin ortalama absorbanansı

m_1 : Prolin stok çözeltisinin numune kütlesi, mg (m_1 : 40 mg)

m_2 : Balın başlangıç numune kütlesi, g (m_2 : 5 g)

80: 1 g balın seyreltme faktörü

3.2.2.2 Diastaz sayısı

Diastaz sayısı tayininde Phadebas® tablet kullanılmıştır. Bu analiz fotometrik bir metottur ve spektrofotometre cihazında okuma işlemleri ile gerçekleştirilir. Bu metot, çapraz bağ yapan nişasta substratını kullanarak diastaz aktivitesini belirler. Nişasta enzim tarafından hidrolize edilir, mavi renkli çözülebilen kısımlara ayrılır ve

620 nm dalga boyunda ölçüm yapılır. Çözeltinin absorbansı, direkt olarak örnekteki diastaz aktivitesine bağlıdır.

Analiz için, 1 gram bal, 0.1 gram hassasiyetle tartılarak bir behere konulur. Ardından, sodyum asetat trihidrat tampon çözeltisi (pH 5.2) eklenir ve çözelti 100 mL'lik balon jode sodyum asetat trihidrat tampon çözeltisi ile çizgiye kadar tamamlanır. Hazırlanan numuneden 15 mL'lik falkon tüplere 5 mL alınır. Ayrıca, kör numunesi olarak kullanılmak üzere tampon çözeltisinden 5 mL alınarak başka bir falkon tüpe konulur. Kör ve numuneler, 40°C 'ye ayarlı su banyosuna konularak 5 dakika bekletilir.

Süre sonunda, her tüpe bir adet Phadebas tablet eklenir, vorteks ile karıştırılır ve tekrar 40°C 'ye ayarlı su banyosuna alınarak 30 dakika bekletilir. Analizi sonlandırmak için bütün tüplere 1 mL 0.5 M NaOH eklenir, karıştırılır ve 3662 devirde 5 dakika santrifüj edilir. Elde edilen süpernatant küvetlere alınarak spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda okuma işlemi yapılır. Okuma öncesi spektrofotometre sıfırlanır. Okunan değerden kör numunesinin absorbansı çıkartılır ve bulunan absorbans, denk gelen diastaz sayısı ile ilişkilendirilerek sonuç değerlendirilir (IHC, 2009).

3.2.2.3 Nem

Nem içeriği, balın kırılma indisinden tespit edilen bir parametredir ve bu değer, belirli bir standart tabloya dayanmaktadır. Bu yöntem, kırılma indisindeki artışın katı içeriği ile ilişkili olduğu prensibine dayanmaktadır. IHC (2009) tarafından geliştirilen bu metodoloji, kırılma indisine ait standart tablonun logaritması alınarak, vakum kurutma yöntemi kullanılarak belirlenen nem içeriğine karşı çizilen bir grafik ile tanımlanmıştır. Dijital refraktometre ise örneğin belirli bir sıcaklık (20°C) elde edildiğinde, standart tablo referans alınarak balın kırılma indisinden elde edilen % rutubet ölçüm değerini ekrana yansıtmaktadır (IHC, 2009).

3.2.2.4 Brix

Nem ile aynı yöntem uygulanarak refraktometre cihazı ile numunelerin brix değerleri belirlenmiştir (IHC, 2009).

3.2.2.5 pH

Bal örneklerinden 10 gram tartılarak çözündürülmüş ve elde edilen çözeltinin pH değeri, pH metre ile kalibre edilmiş tampon çözeltiler (pH 4.00, 7.00 ve 10.00) kullanılarak ölçülmüştür (IHC, 2009).

3.2.2.6 Elektriksel İletkenlik

Bal çözeltisinin (100 mL suda 20 g kuru bal) bir iletkenlik hücresi kullanılarak direncinin ölçülmesi yoluyla elektriksel iletkenliğinin tespiti prensibine dayanır. Bu metot balın elektriksel iletkenliğini 0.1-3 mS.cm aralığında tayini için geçerlidir (IHC, 2009).

3.2.2.7 Serbest Asitlik

pH, asitlik düzeyinin bir göstergesi olarak kabul edilir ve H iyonlarının aktivitesinin ölçülmesini içerir. Bu ölçüm, laboratuvarında bulunan standardize edilmiş pH metre kullanılarak, primer standart pH tampon çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilir. Örnek çözeltisi, bir cam elektrot ile referans elektrot arasındaki elektrik potansiyelini ölçmek için pH metre ile daldırılır.

Deneyde, 10 gram numune, 1 mg hassasiyetle tartılır. Numune, bir behere konularak 75 mL karbondioksitsiz su ile çözülür. Manyetik balık yardımıyla beher içinde karıştırılır ve pH elektrodları çözeltiye daldırılarak pH değeri kaydedilir. Çözelti, 0.1 M NaOH çözeltisi ile pH 8.3'e kadar titrasyon yapılır. Balın serbest asiditesi, 1 kg bal içinde bulunan asitlerin toplam mili eşdeğer sayısı (mEq/kg) olarak hesaplanır.

Kullanılan sodyum hidroksit çözeltisinin miktarı kaydedilerek, aşağıdaki formül kullanılarak milli eşdeğer birim veya millimol asit/kg bal cinsinden ifade edilir (IHC, 2009).

$$V * 1000 * M$$

$$A(\text{meq/kg}) = \frac{\text{-----}}{m}$$

V : Harcanan NaOH miktarı

M : Molarite

m :Tartım Miktarı

3.2.2.8 Hidroksimetilfurfural (HMF)

HMF analizleri, HPLC cihazı (Thermo, Ultimate 3000) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu analizde dedektör olarak RS Diode Array Detector, kolon olarak ise ODS HYPERSIL (250x4,6 mm) kullanılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce belirli miktarlarda HMF standardı tartılarak, yüzdelik farklı konsantrasyonlarda (%0,1, %0,2, %0,5, %1, %2, %5, %10, %25) kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve cihazın HMF kalibrasyonu tamamlanmıştır. Daha sonra bu kalibrasyon eğrisi, örneklerin ölçümünde referans olarak kullanılmıştır.

Analiz için, 5 g bal örneği, 0,1 hassasiyetle tartılarak 100 mL'lik bir beher içerisine alınmıştır. Örnek, saf su eklenerek çözülmüş ve üzerine 25 mL metanol ilave edilerek 100 mL'lik balonjojeye aktarılmıştır. Çözeltinin hacmi, çizgiye kadar saf su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden bir miktar alınarak, 0,45 mikron filtre ile filtrelenmiş ve 1,5 mL'lik viallere aktarılmıştır. Bu vialler, HPLC cihazının numune bölümüne yerleştirilmiş ve cihazda ölçüm başlatılmıştır. Yaklaşık 10 dakika sonra sonuçlar, mg/kg birimi ile elde edilmiştir (IHC, 2009).

3.2.2.9 Şeker Kompozisyonu Analizi

Şeker analizleri, Thermo marka Ultimate3000 model HPLC cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde RefractoMax52 dedektörü ve İnertsil NH2 5um (250X4.6 mm) kolonu kullanılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce, belirli miktarlarda şeker standartları tartılarak çeşitli yüzdelik oranlarda (%0.1, %0.2, %0.3, %0.5, %1, %2, %5) kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisi, cihazın şeker analizi için referans noktalarını sağlamaktadır.

Analiz için 5 gram örnek, 0.1 gram hassasiyetle tartılarak 100 mL'lik bir beher içine alınmıştır. Belirli bir miktar saf su eklenerek örnek çözündürülmüş, ardından 25 mL methanol ilave edilerek 100 mL'lik balon jojeye aktarılmış ve çizgiye kadar tamamlanmıştır. Hazırlanan örnekten bir miktar enjektöre çekilerek, enjektörün ucundaki 0.45 mikron filtrelerden geçirilerek 1.5 mL'lik viallere alınmıştır. Bu vialler, HPLC cihazındaki numune bölümüne yerleştirilmiş ve cihazdan okuma talimatı alarak çalıştırılmıştır. Yaklaşık on dakika sonra elde edilen sonuçlar, g/100 g olarak raporlanmıştır (IHC, 2009).

3.2.3 Toplam Fenolik İçerik

Çalışmada incelenen bal örneklerinin toplam fenolik madde içerik miktarları için Folin-Ciocalteu ayırıcı oksitleyici olarak kullanılmış ve bu sayede fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayırıcı ile oksitlendiği redoks reaksiyonuna dayanan yöntem takip edilmiştir. Numunedeki fenoliklerle bir araya gelerek yeterli süre sonunda ayırıcının indirgenmesi ile ortaya çıkan mavi rengin şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle bal numunelerinin fenolik bileşiklerin toplam miktarları hesaplanmıştır. Açığa çıkan renk şiddeti numune içeriğindeki fenolik maddelerin konsantrasyonu ile orantılı şekilde değişmektedir (Slinkard ve Singleton, 1977; Singleton ve Rossi, 1965).

Bu amaçla %20 (w/v) oranında bal içerecek şekilde su ile hazırlanan çözeltilerin yeterli miktarlarının üzerine 1/10 oranında su ile seyreltilerek hazırlanmış, Folin-Ciocalteu alfa reaktifinden (FCR) 600 µL ilave edildikten sonra şiddetli bir şekilde çalkalanmış ve oda sıcaklığında 10 dakika süreyle beklemeye bırakılmıştır. Süre sonunda ise her bir tüpe su ile hazırlanmış olan %2'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisinden 500 µL ilave edilmiş ve tekrar iyi bir şekilde karıştırılmıştır. Bu haliyle bütün içerik oda sıcaklığında karanlıkta 1 saat süreyle bekletilmiştir. Ayrıca numunelerin kendinden kaynaklanabilecek muhtemel etkilerinin elimine edilmesi için karşılık gelecek tüplerde ise aynı miktarda alınan numune üzerine 600 µL su ve 500 µL Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilerek numune körleri oluşturulmuştur.

Toplam fenolik içerik (TFİ) değerlerinin gallik asit (GA) eşdeğeri olarak belirlenmesi amacıyla aynı şartlar altında eşzamanlı olarak 0.125 mg/mL'lik gallik asit çözeltisinden farklı hacimlerde (0-10-25-50-100 µL) alınarak son hacim (100 µL) aynı olacak şekilde hazırlanan tüplerdeki numuneler üzerine ilave edilerek eşit miktarda folin reaktifi ve Na_2CO_3 çözeltisi eklenmiştir. Bir saatlik süre sonunda hem numunelerin, hem de standart olarak kullanılan gallik asidin değişik miktarlarının bulunduğu tüm tüplerin 760 nm'de absorbansları kaydedilmiştir (Doğan ve ark., 2017). Öncelikle gallik asidin ortamdaki konsantrasyonuna karşı ölçülen absorbans değerinden yararlanarak standart çalışma grafiği çizilmiş ve bu grafiğin doğru denkleminde faydalanılarak tüm örneklerin (numune absorbansı değerinden numune körü için ölçülen absorbans değerinin çıkarılmasıyla hesaplanan net

absorbans değeri) TFİ değerleri gallik asit eşdeğeri olarak mg GAE/g bal olacak şekilde hesaplanmıştır.

3.2.4 Antioksidan Aktivite

3.2.4.1 DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi

Antioksidan etkinliğin belirlenebilmesi amacıyla in vitro olarak uygulanan çeşitli spektrofotometrik yöntemlerden biri ortamdaki DPPH radikalının doğal yada sentetik kaynaklı bileşikler tarafından süpürülme kabiliyetinin belirlenmesidir.

Test edilen kestane balı numunelerinin su ekstraktlarının DPPH radikalının süpürücü etkileri ticari olarak satın alınan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil stabil radikalının metanolik çözeltisinin menekşe/mor rengini giderebilme gücü ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla ekstraktların 10 mg/mL'lik kısımları 30 dakika süre boyunca karanlıkta metanolik DPPH çözeltisi ile bir arada tutulmuştur. Süre sonunda 517 nm de absorbans ölçülmüş ve DPPH radikal süpürme yüzdesi aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Süpürme Aktivitesi} = [(A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kör}}] * 100$$

Akör: Numune hacmi (100 µL) kadar su (numune çözücüsü) ile DPPH çözeltisinin karıştırılması ile hazırlanan (son hacmi 1200 µL) karışımın absorbansı,

Anumune: Numune (100 µL) ile DPPH çözeltisinin karıştırılması ile hazırlanan (son hacmi 1200 µL) karışımın absorbansıdır.

3.2.4.2 Fe²⁺ ile Şelat Oluşturma Aktivitesi

Metabolik olarak düzenlenen hücre ölümünün bir türü olan ferroptoz, kanser biyolojisinde önemli bir yol olarak ortaya çıkmıştır. Dixon ve ark., (2012) ferroptozu, Fe²⁺'ya bağımlı lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin aşırı üretiminin neden olduğu apoptotik olmayan hücre ölümünün Fe²⁺'ya bağımlılığı olarak tanıtmıştır. Herhangi bir doğal kaynağın yada sentetik bileşiğin Fe²⁺'yı bağlayarak ferroptozu önlemesi antioksidan aktivitenin diğer bir şekilde ortaya konulması demektir.

Bu sebeple bal örneklerinin antioksidan aktiviteleri Fe²⁺ ile şelat oluşturma potansiyellerinin incelenmesiyle de karşılaştırılmıştır. Bu metoda göre ortama ilave edilen antioksidan bileşikler Fe²⁺ iyonunun ferrozin ile oluşturduğu kompleksin

azalmasına sebep olur buna renk yoğunluğunun azalması eşlik eder (Sethi ve ark., 2022).

Bu amaçla gerçekleştirilen deneysel yöntemde bal numunelerinin su ekstralarının yeterli miktarları (50 µL), 2 mM FeCl₂. 4H₂O çözeltisinin 50 µL'si ile bir tüp içinde bir araya getirilmiş, 30 dakika sonra aynı tüp içerisine 5 mM ferrozin (3-(2-Piridil)-5.6-difenil-1,2,4-triazine-p,p'-disülfonik asit monosodium hidrattuzu) çözeltisinden 100 µL eklenmiş ve son hacmin su ile 1300 µL'ye tamamlanmasının ardından 10 dakika sonra tüp içeriklerinin absorbansları suya karşı 562 nm de ölçülmüştür. Aynı işlem şelatlayıcı ajan (Bageri ve ark., 2023) olan EDTA'nın çeşitli konsantrasyonları içinde gerçekleştirilmiştir. Hem EDTA'nın farklı konsantrasyonları hem de numunenin 5 mg/mL'lik konsantrasyonu için aşağıdaki eşitlik yardımıyla şelatlama potansiyeli (%) hesaplanmıştır.

$$\text{Şelatlama potansiyeli (\%)} = [(A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kör}}] * 100$$

$A_{\text{kör}}$: Numune hacmi kadar su yanında diğer tüm reaktifleri de içeren karışımın (son hacmi 1300 µL) absorbansı,

A_{numune} : Numune ve diğer tüm reaktifleri de içeren karışımın (son hacmi 1300 µL) absorbansıdır.

3.2.4.3 Demir (III) İndirgeme Gücü (FRAP)

Bir başka antioksidan aktivite tayin yöntemi olan FRAP metodu, ferrik tripiridiltriazin (Fe(III)-TPTZ) kompleksinin antioksidanlar varlığında ferröz tripiridiltriazin (Fe(II)-TPTZ) oluşturacak şekilde indirgenmesi sonucu 595 nm'de maksimum absorbans veren mavi renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır (Benzie ve Strain, 1999). Taze olarak hazırlanan 1.2 mL FRAP reaktifi (2.5 mL FeCl₃.6H₂O, 2.5 mL TPTZ (2,4,6-tris (2-piridil)-S-triazin) ile 25 mL 0.3 M asetat tamponu (pH 3.6)) (Öztürk, 2023) daha önce hazırlanmış olan bal ekstraktlarının uygun miktarları ile karıştırılıpve 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan mavi rengin şiddeti spektrofotometre de 595 nm dalga boyunda suya karşı okunmuştur. Troloks'un farklı konsantrasyonları kullanılarak aynı koşullar altında gerçekleştirilen işlem ile kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Bu standart kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak bal numunelerinin

FRAP değerleri troloks eşdeğeri (mg TXE/ g bal) olarak hesaplanmıştır. Çizelge 3.1’de bazı ilgili parametrelerin birbirileri ile korelasyon (R^2) değerleri gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Bazı ilgili Parametrelerin Birbirileri ile Korelasyon (r) Katsayıları

	TPI	DPPH	FRAP	ŞELAT	RENK	PROLİN	AChE
DPPH	0.9999						
FRAP	0.9864	0.9842					
ŞELAT	0.9937	0.9934	0.9816				
RENK	0.9538	0.9565	0.9032	0.9665			
PROLİN	0.9892	0.991	0.953	0.977	0.9683		
AChE	0.3976	0.406	0.2898	0.408	0.5891	0.4848	
BuChE	0.0571	0.0605	0.0228	0.0337	0.0745	0.1089	0.3446

3.2.5 Antikolinesteraz Aktivitesi

Bal örneklerinin biyolojik etkinliklerinin ortaya konulabilmesi amacıyla kolinesteraz enzimlerini inhibe edebilme etkinlikleri incelenmiştir. Örneklerin asetilkolin esterase (AChE) ve butirikolinesteraz (BuChE) enzimlerini inhibe edebilme potansiyelleri Ellman ve ark., (1961) tarafından modifiye edilen spektrofotometrik yöntem izlenerek ölçülmüştür.

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesini ölçmek için 0.1 mM sodyum fosfat tamponu (pH 8.0) içerisinde oluşturulan reaksiyon karışımında bal ekstraktlarının 30 µL’lik kısımları ayrı tüpler içerisinde enzim kaynağı olarak kullanılan yılan balığı asetilkolinesterazı (EC 3.1.1.7) ile 0.2 M DTNB (5.5’-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) ile oda sıcaklığında 15 dakika boyunca bir araya getirilmiştir. Süre sonunda ekstraktın inhibe etmediği enzim miktarını saptamak amacıyla nihai konsantrasyonu 0.2 M olacak şekilde substrat olarak kullanılan asetil tiyokolin iyodür çözeltisinden her bir tüpe ilave edildi ve enzimatik reaksiyonun gerçekleşmesi sağlanmıştır.

Etkinliğini kaybetmeden tüpte kalmış olan enzimin ilave edilen substratla hidrolizi sonucu açığa çıkan tiyokolinlerle ortama ilave edilmiş olan DTNB'nin etkileşimi sonucunda 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun oluşumuna bağlı olarak gelişen sarı rengin şiddeti 412 nm'de ölçülmüştür. Potansiyel enzim inhibitörü olarak test edilen bal numunelerinden içermeyen tüp, kör tüp olarak belirlenmiş ve gelişen rengin şiddetinin absorbansı $A_{\text{kör}}$ olarak kaydedilmiştir. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır. Numunelerin butirilkolinesteraz enzim inhibisyonu potansiyeli ise sadece enzim ve susbtrat olarak sırasıyla at serum butirilkolinesterazı (EC 3.1.1.8) ve bütiriltiyokolinkloridin kullanılmasıyla değerlendirilmiştir. 2003'te FDA onayı almış olan bir alkaloid türevi olan galantaminin ayrıca AChE'yi seçici olarak inhibe etme potansiyeli bilinmektedir (Yıldırım ve Ulusoy Güzeldemirci, 2023). Bu sebeple değerlendirme esnasında karşılaştırma yapmak adına 0.025 mg/mL'lik kısmı pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Şenol ve ark., 2010). AChE / BuChE'nin inhibisyon yüzdesi, aşağıdaki eşitliğin kullanılması ile numuneye göre kör örneğin (Tampon içerisinde ekstraksiyon çözücüsü olarak su) reaksiyon hızlarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir:

$$\text{İnhibisyon yüzdesi (\%)} = (\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{kör}} * 100$$

3.2.6 Antibakteriyel ve Antifungal Analiz

Antibakteriyel ve antifungal aktiviteler agar plaklarında disk difüzyon türlerine göre ölçülmüştür (Ertürk, 2006). Antibakteriyel ve antifungal aktiviteyi test etmek için kestane ballarının fraksiyonları test edilmiştir. Tüm bakteri türleri ve mantar suşları optimum koşullarda büyütülmüştür. Bakteriyel süspansiyon ve mantar süspansiyon standartı hazırlanmıştır. Daha sonra, bal örnekleri (40 mg / mL) kurulum için steril kağıt disklere (6 mm çapında) yerleştirilmiştir. İnhibisyon bölgeleri, 27 °C'de 48 saatte inkübasyondan sonra belirlenmiştir. Antibakteriyel ve antifungal madde hedefinin kestirimi için dijital kumpas içeriği ile farklı organizmaların farklı bölgelerdeki inhibisyon bölgeleri ölçülmüştür. Testler üç tekerrür olarak yapılmıştır.

3.2.7 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

Mikroorganizmaların büyümesini tam olarak engelleyen en düşük bal ekstraksiyon konsantrasyonunu temsil eden minimum inhibitor konsantrasyon (MİK) değerleri bir mikro kuyucuk seyreltme metodu ile belirlenmiştir (Ertürk, 2006). Bal ekstreleri %100 etanol, su içinde çözülmüş ve daha sonra 96 oyuklu bir plakada

(Corning) seyreltme serileri hazırlanmıştır. Bal ekstralarının her biri 1500, 750, 375 ve 187.5 µg/mL konsantrasyonlarında test edilmiştir. Aşılanma test organizmasının bir gecelik broth kültüründen elde edilmiştir. Her bakterinin aşı maddesi hazırlanmış ve süspansiyonlar bakteriler ve mantarlar için 10⁷CFU/mL ayarlanmıştır. Ortam 24 saat 37 °C' de inkübe edilmiştir. Bakterilerde pozitif kontrol olarak Amoksisilin ve Cefazolin 1500, 750, 375, 187.5, 23.375 ve 11.687 g/mL ve negatif kontrol olarak %70 etanol kullanılmıştır. Bundan sonra, her kuyucuğa taze hazırlanmış su içinde 0.5 mg/mL nihai konsantrasyonda 30 µL 3-(4.5-dimetil-tiyazol-2-il)-2.5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) ilave edilmiş ve sonrasında 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Kırmızı renge geçiş, bakterilerin biyolojik olarak aktif olduğunu göstermiştir. MİK, MTT'nin rengine bir değişiklik gözlenmeyen kuyuya alınmıştır. MİK değerleri üç tekerrür olarak yapılmıştır.

3.2.8 Renk Analizi

Bal örneklerinin renk analizleri için UV/Görünür Bölge spektroskopisi yöntemi kullanılmış ve sonuçlar Pfund skalası ile verilmiştir (Kaskoniene ve ark., 2009). Bu amaçla örnekler önce şeker kristallerinin çözünmesi için 40 °C'ye kadar ısıtılmış, sonra saf su kullanılarak %50 (a/h) bal çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltilerin 635 nm'deki absorbansları ölçülerek sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{mmPfund} = -38.70 + 371.39 * \text{Abs}$$

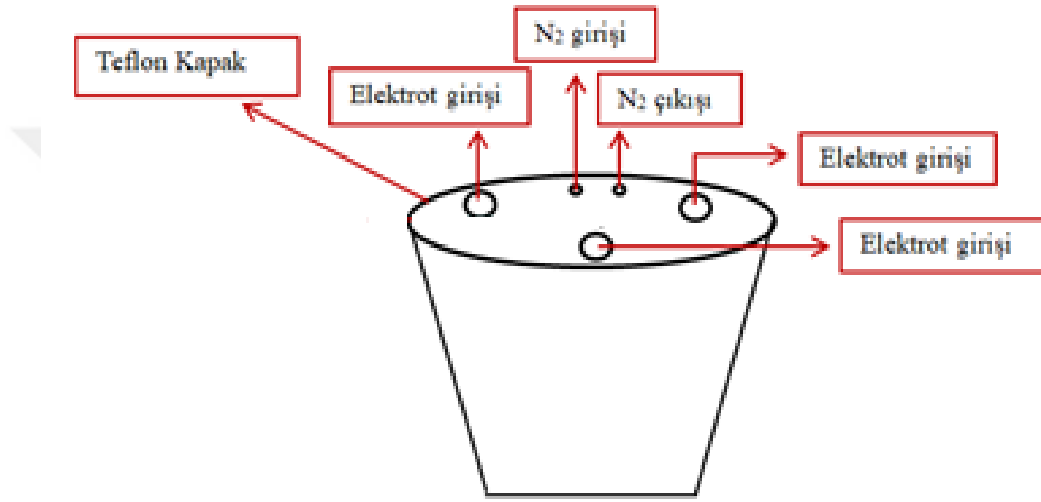
mmPfund: Pfund skalasındaki renk şiddeti;

Abs: 635 nm'deki absorbansdır.

3.2.9 Elektrokimyasal Antioksidan Aktivite

Elektrokimyasal antioksidan aktivite tayini için dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılmıştır. Tüm elektrokimyasal ölçümler için 3 elektrotlu sistemde yapılmış olup çalışma elektrotu olarak camsı karbon elektrot (CKE), referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot, karşıt elektrot olarak ise Pt tel kullanılmıştır. Her deneyden önce çözeltiden saf azot gazı geçirilmek suretiyle ortamda çözünmüş olan oksijen uzaklaştırılmıştır. Deneylerde kullanılmış olan elektrokimya hücresinin şematik gösterimi Şekil 3.1'de verilmiştir. Dönüşümlü voltametri yöntemi ile bal örneklerinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi için bal örnekleri pH 7.0 fosfat

tamponunda (100 mM PBS) çözülmüş ve derişimi 0.2 mg/mL olan bal çözeltileri hazırlanmıştır. Kullanılan tampon çözeltinin derişimi 100 mM olarak ayarlanmış ve bu çözelti aynı zamanda destek elektrolit olarak fonksiyon göstermiştir. Diğer taraftan antioksidan aktiviteleri karşılaştırmak için kullanılan standartlar olan askorbik asit (AA) ve gallik asitin (GA) de aynı koşullarda çözeltileri hazırlanmış ve dönüşümlü voltamogramları (CV) kaydedilmiştir. Bu sayede bal örneklerinin AA ve GA ile karşılaştırması yapılabilmektedir.



Şekil 3.1 Elektrokimyasal Hücre

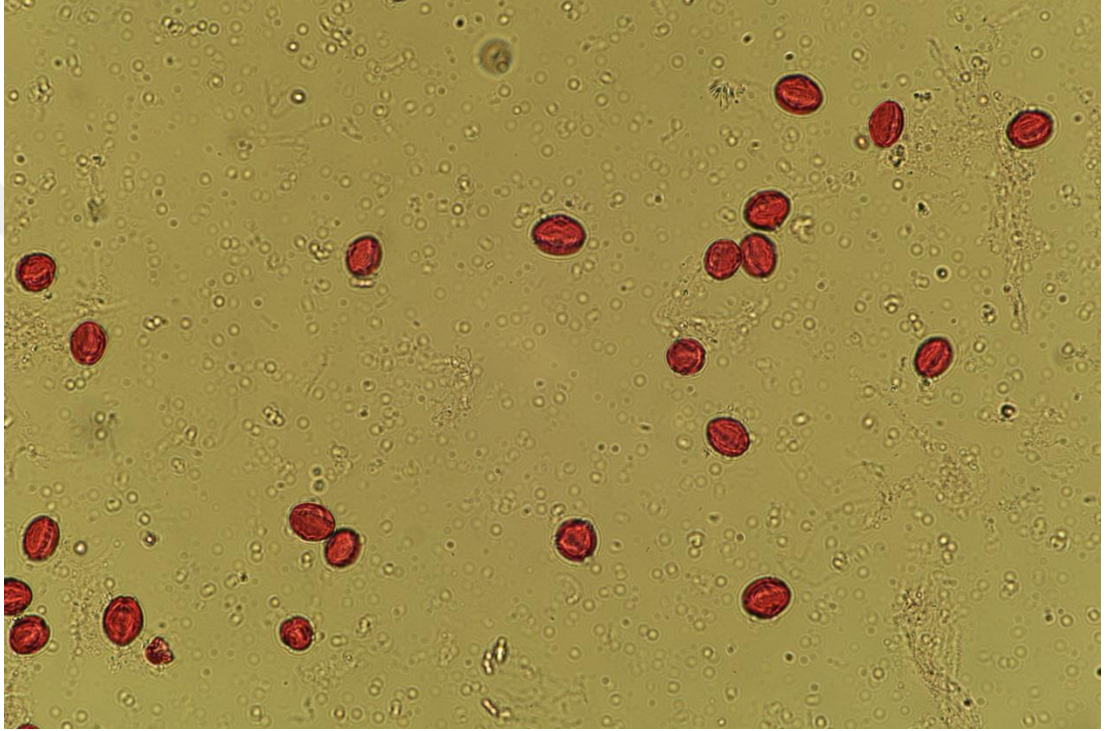
3.2.10 İstatistik Analizi

Sayısal değişkenlerin ortalama ve standart sapma gibi tanıtıcı istatistik değerleri hesaplanmıştır. Kategorik değişkenler frekans ve yüzde frekans şeklinde ifade edilmiştir. Tüm hesaplamalar SPSS v30 (IBM Corporation, Amork, NY, USA) istatistik programı ile yapılmıştır.

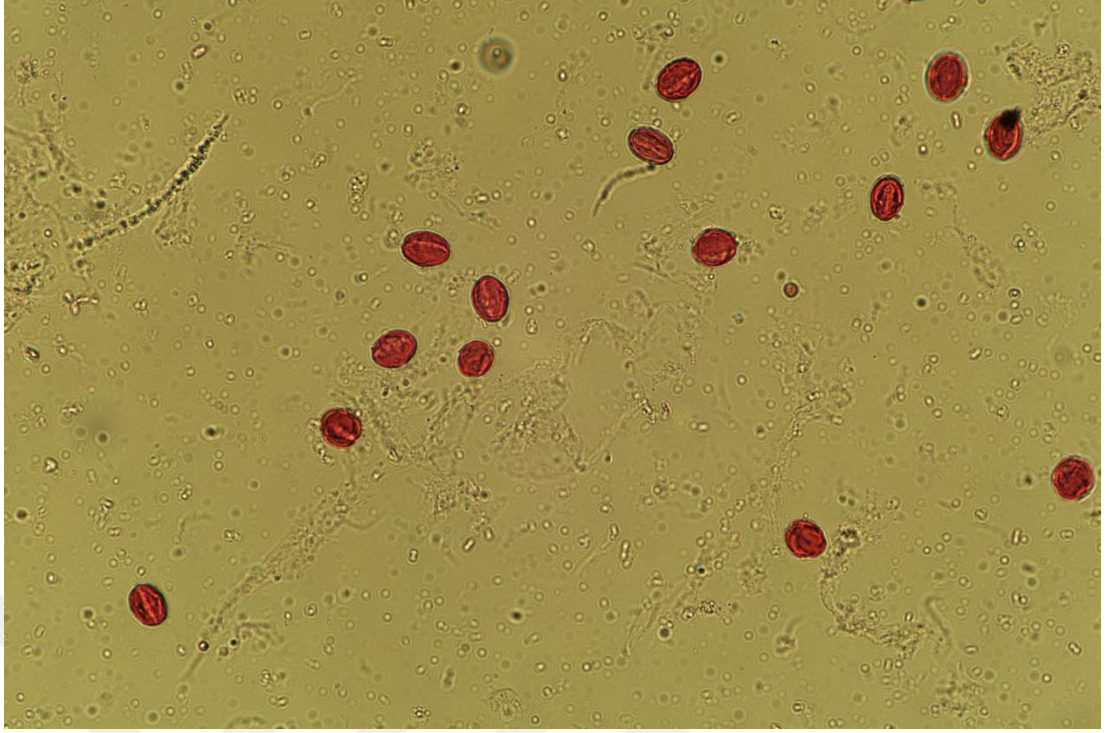
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Işık Mikroskobu ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme

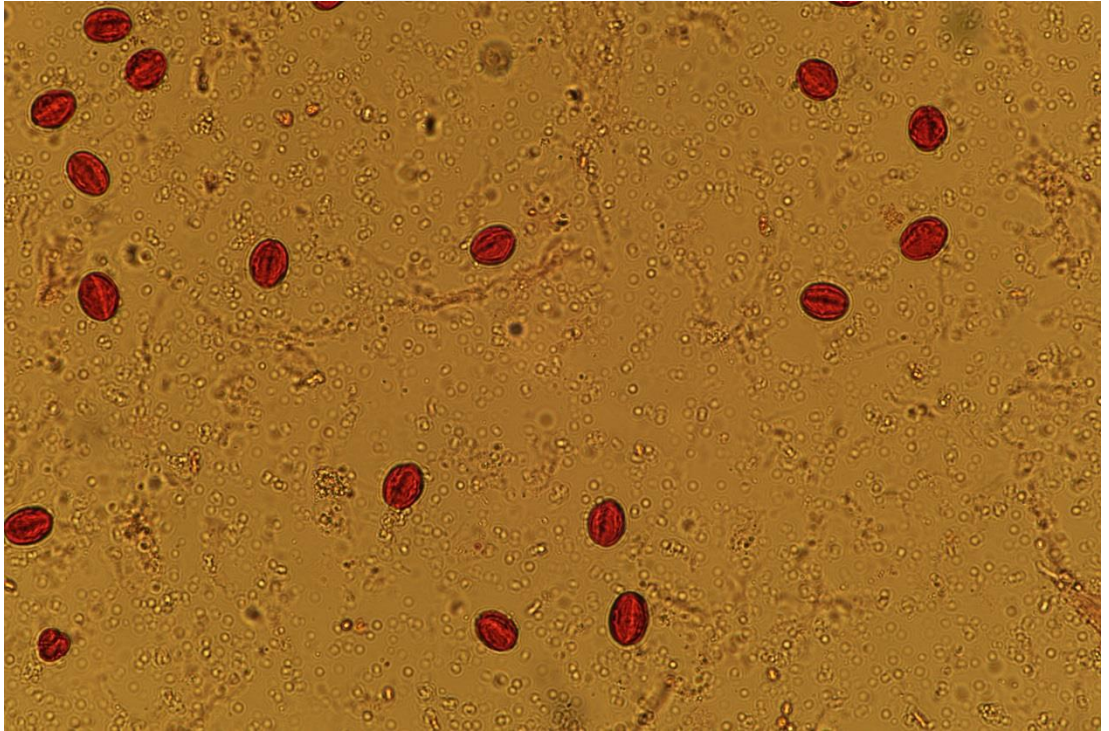
Bal örneklerinin monofloral olup olmadığının tespit edilmesi için bal numuneleri ışık mikroskobu ile görüntülenmiştir (Şekil 4.1-Şekil 4.4). Görüntülerden anlaşıldığı üzere, tüm numuneler monofloral yapıda olup kestane balları için karakteristik yapıdadır (Mayda ve ark., 2018).



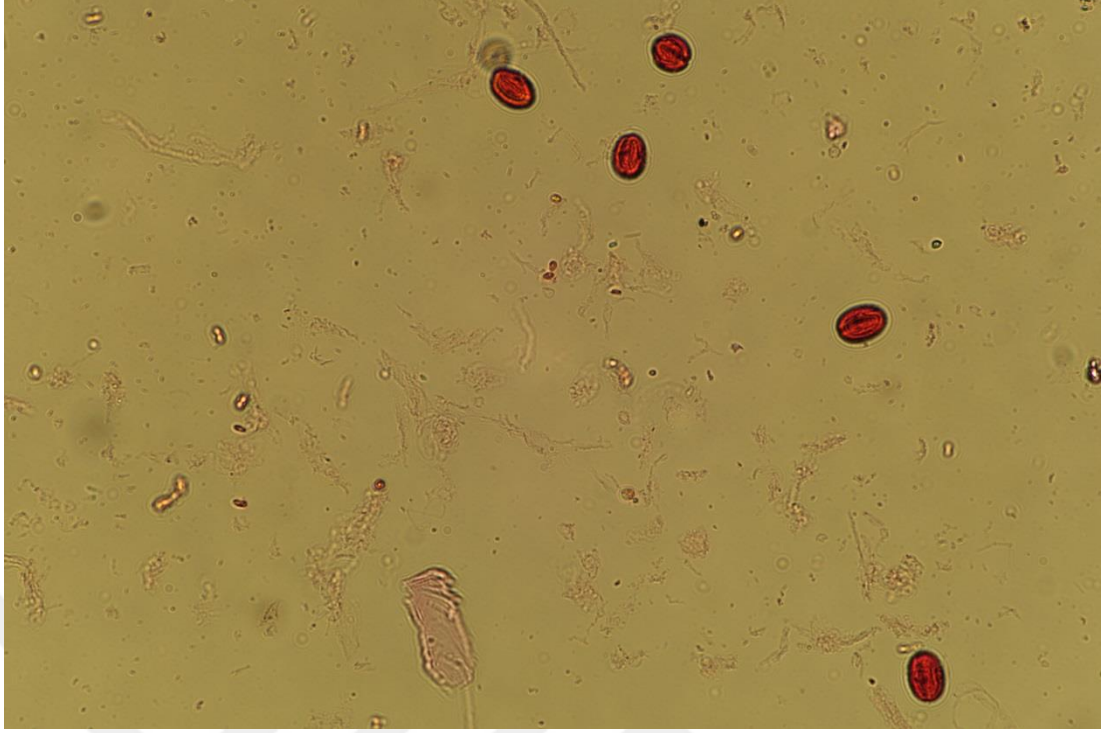
Şekil 4.1 Gülyalı 1 Örneği İçin Işık Mikroskobunda Çekilen Polen Görüntüsü



Şekil 4.2 Gülyalı 2 Örneği İçin Işık Mikroskopunda Çekilen Polen Görüntüsü

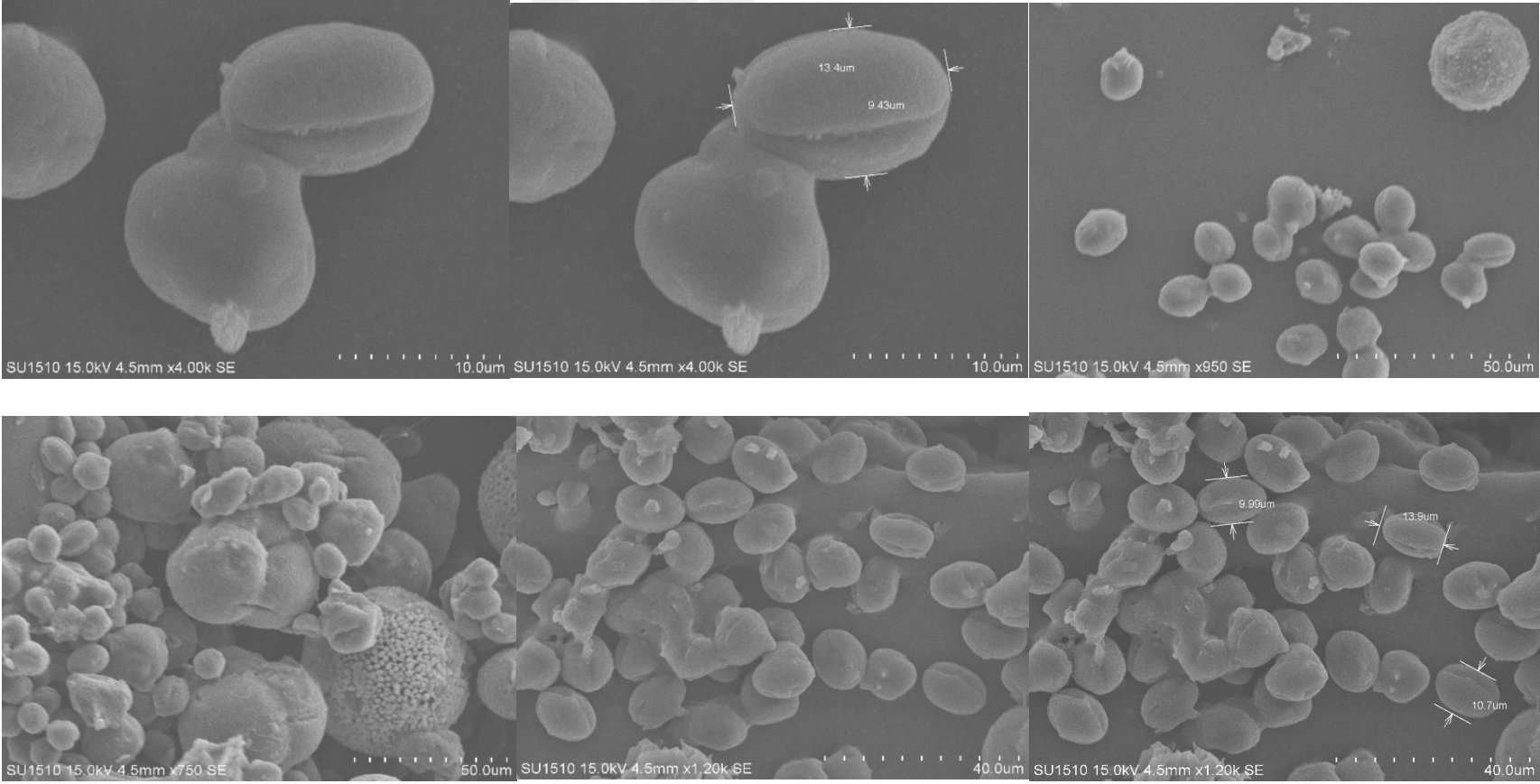


Şekil 4.3 Gürgentepe 1 Örneği İçin Işık Mikroskopunda Çekilen Polen Görüntüsü



Şekil 4.4 Gürgentepe 2  rneği için Işık Mikroskobunda  ekilen Polen Görüntüsü

Bal  rneklerinin monofloral olup olmadığının tespiti için ikinci bir yöntem olarak taramalı electron mikroskobu (SEM) ile görüntüleme kullanılmıştır. Bu amaçla, temin edilen 4 adet bal numunesinden elde edilen karışıma ait SEM görüntüleri kaydedilmiştir ( ekil 4.5). SEM görüntüleri de ışık mikroskobu ile kaydedilen görüntüleri destekleyecek şekilde, bal  rmeklerinin monofloral olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.5 Kestane Ballarından Elde Edilen Karışımın Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri

4.2 Fizikokimyasal Analiz

Araştırmada kullanılan kestane balı örneklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.1.de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Kestane Balı Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Özellikler	Gülyalı			Gürgentepe		
	1	2	Ort.	1	2	Ort.
Prolin (mg/kg)	556.50	737.70	647.10	262.10	347.60	304.85
Diastaz	13.70	24.10	18.90	14.55	9.90	12.22
Nem (%)	17.46	17.65	17.55	19.66	17.83	18.74
Brix (%)	80.92	80.76	80.84	78.75	80.47	79.61
pH	4.58	4.43	4.50	3.91	4.47	4.19
Elektriksel İletkenlik (mS/cm)	1.16	1.42	1.29	0.34	0.66	0.50
Serbest asitlik (mEq/kg)	14	30	22	14	16	15
HMF (mg/kg)	4.00	6.50	5.25	8.50	5.30	6.90
Maltoz (g/100 g)	TEDB	TEDB	TEDB	1.00	1.20	1.10
Sakkaroz (g/100 g)	0.10	0.10	0.10	0.40	0.20	0.30
Fruktoz/glukoz	1.50	1.60	1.55	1.20	1.20	1.20
Fruktoz+glukoz (g/100 g)	64.10	65.30	64.70	67.10	66.70	66.90
Glukoz (g/100 g)	26.00	25.60	25.80	31.00	29.70	30.35
Fruktoz (g/100 g)	38.10	39.70	38.90	36.10	37.00	36.55

Kestane ballarının prolin değerleri incelendiğinde, Gülyalı ilçesinden elde edilen kestane ballarının (647.1) Gürgentepe ilçesi'nden elde edilen kestane ballarına (304.85 mg/kg) göre prolin değerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Gülyalı ilçesi'ndeki balların prolin değerleri 556.5-737.7 mg/kg arasında değişirken, Gürgentepe ilçesi'ndeki balların prolin değerleri ise 262.1-347.6 mg/kg arasında değişmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre, ballarda en az 300 mg/kg prolin bulunmalıdır. Balın olgunluk seviyesini ve dolayısıyla kalitesini yansıtan prolin miktarı, balın diğer bileşenleriyle birlikte arıya bağlı olup balın gerçekliği için bir kriter olarak kabul edilmektedir. Elde edilen balların prolin değerleri Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde belirtilen en az değerden daha yüksek bulunmuştur.

Gülyalı ilçesinden elde edilen kestane ballarının diastaz aktivitesi (18.90) Gürgentepe ilçesinden elde edilen kestane ballarından (12.22) daha yüksek bulunmuş olup Gülyalı ilçesindeki ballarda bu değer 13.70-24.10 arasında değişirken Gürgentepe ilçesinde 9.90 ile 14.55 arasında değişmiştir. Diastaz kaybı balda istenmeyen bir durumdur; ancak çok yüksek seviyelerde diastaz bulunması da arzu edilmez. Yüksek düzeyde diastaz içeren bal, yüksek asit oluşumuna ve buna bağlı olarak fermentasyona neden olabilir. Sıcaklık ve ışık başta diastaz olmak üzere baldaki enzimlerin aktivitelerini olumsuz yönde etkilemektedir. Türk Gıda Kodeksi'ne göre kaliteli bir baldaki diastaz sayısının en az 8 olması gerekmektedir. Bu çalışmada elde edilen diastaz sayısı Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen değerlere uygun olarak belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen diastaz değerleri arasındaki farklılığın arıların faaliyet gösterdikleri bölgelerdeki flora yapısının ve aynı zamanda da enzim aktivitesinin farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Balların nem oranları incelendiğinde Gürgentepe ilçesinden elde edilen kestane ballarının nem içeriğinin (%18.745) Gülyalı ilçesindeki kestane ballarına (%17.555) göre az da olsa daha yüksek olduğu görülmektedir. Balın nem içeriği balın kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan önemli bir parametredir. Nem, balın stabilitesi ve raf ömrü üzerinde doğrudan etkisi olan bir faktördür. Yüksek nem içeriği, mikroorganizma sayısının artmasını ve fermentasyon riskini artırabilmekte ve bu durum balın bozulmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle balın nem içeriği belirlenirken, optimal değerlerin korunması ve uygun depolama koşullarının sağlanması önemlidir. Balın nem içeriğine etki eden önemli faktörler iklim koşulları ve erken hasat işlemidir. Türk Gıda Kodeksi Bal tebliğinde istenen ideal nem seviyesi %20 dir. Gülyalı ve Gürgentepe ilçesinde elde edilen kestane ballarının nem içeriğinin Türk Gıda Kodeksi bal tebliğine uygun olduğu tespit edilmiştir.

Gülyalı ve Gürgentepe ilçelerindeki kestane ballarının Brix değeri sırasıyla %80.84 ve %79.61 olarak belirlenmiş ve birbirine çok yakın olarak saptanmıştır. Refraktometre ve hidrometre ile ölçümü yapılan brix değeri şarap, meyve suyu, salça, bal gibi gıda ürünlerinde gıda işleme sürecinin, ayrıca meyve olgunluğu ve hasat zamanının takibi için kullanılan önemli bir parametredir. Brix kısaca suda çözünen kuru madde miktarıdır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde Brix için herhangi bir alt ve üst sınır belirtilmemiştir.

Elektriksel iletkenlik balların kaynağını belirlemede kullanılan bir kriterdir. Elektriksel iletkenlik değerleri, balın içindeki minerallerin ve diğer çözünmüş maddelerin miktarını belirler. Gülyalı ve Gürgentepe ilçelerindeki kestane ballarının Elektriksel iletkenlik değerleri sırasıyla 1.29 ve 0.5mS/cm olarak belirlenmiştir. Gülyalı ilçesindeki kestane ballarının elektriksel iletkenlik değerleri 1.16-1.42 mS/cm arasında değişirken, Gürgentepe ilçesindeki balların ise 0.34- 0.66mS/cm arasında değişmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde balın elektriksel iletkenlik değerinin 0,8mS/cm'den az olmaması gerektiği belirtilmiştir. Gülyalı ilçesindeki kestane ballarının daha yüksek elektriksel iletkenlik değerinde sahip olması bu balların içinde daha fazla mineral madde ya da diğer çözünmüş maddelerin bulunduğuna işaret etmektedir. Yüksek elektriksel iletkenlik genellikle balın içeriğinin zengin olduğunu gösterir ve bu da balın besin değerini artırabilmektedir. Ancak, aşırı yüksek iletkenlik değerleri bazen kirlilik veya diğer olumsuz faktörlerin bir göstergesi de olabilmektedir. Bu nedenle, elektriksel iletkenlik değerlerinin dikkatle incelenmesi ve yorumlanması balların kalitesinin belirlenmesinde oldukça önemlidir.

Serbest asitlik, balın mayalanma süreci sırasında meydana gelen asitlerin toplam miktarını ifade eder ve balın olgunluk derecesini yansıtabilir. Serbest asitlerin artışı, bal şekerleri ve alkollerin baldaki mayalar tarafından asitlere dönüştürülmesi sebebiyle balda fermentasyonun göstergesi olarak sayılmaktadır (Karadal ve Yıldırım, 2012). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre ballardaki serbest asitlik en fazla 50 mEq/kg olmalıdır. Serbest asitlik değerleri incelendiğinde, numuneler arasında belirgin farklılıklar görülmektedir. Serbest asitlik değeri Gülyalı ilçesindeki kestane ballarında 22 mEq/kg ve Gürgentepe ilçesindeki ballarda ise 15 meq/kg olarak belirlenmiş olup Gülyalı ilçesindeki kestane ballarının serbest asitliği daha yüksektir.

Hidroksimetilfurfural (HMF) balların ısıtılma işlem görmesi veya uzun süre depolanması sırasında oluşan bir yan ürün olup yüksek HMF değerleri balların kalitesini etkileyebilmektedir. Taze ya da daha az işlenmiş ballarda düşük HMF değerleri beklenirken, daha fazla işlenmiş ya da uzun süre depolanmış ballarda yüksek HMF değerleri gözlemlenebilir. Bal içerisinde Hidroksimetil Furfural (HMF) tespiti, balda taşıdığı yapıldığının göstergesidir. Hidroksimetil Furfural (HMF)'ın gıda maddelerinde bulunma miktarı sınırlandırılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne

göre balda 40 mg/kg'a kadar HMF (Hidroksimetil Furfural) bulunmasına izin verilmektedir. HMF balın ısıtılmasıyla oluştuğu gibi uzun süre bekletilmesiyle de oluşabilmektedir. Uygun olmayan şartlarda depolanan ballarda HMF miktarı ciddi oranda artmaktadır. Işık, depo sıcaklığı ve nem baldaki HMF miktarını etkileyen en önemli faktörler arasındadır. Örneğin; bal cam kavanoz gibi şeffaf bir ambalajdaysa, karanlık bir ortamda saklanmalıdır. Bunlarla beraber depolama süresinin de normalden fazla olması HMF miktarını etkilemektedir. Bu çalışmada elde edilen HMF incelendiğinde, her iki ilçeden elde edilen kestane ballarının HMF değerleri sınır değerinin altında (5.25 ve 6.9 mg/kg) benzer bulunmuştur. Gıda kaynaklı 5-HMF nin insanlarda potansiyel sağlık riski oluşturup oluşturmadığı açık değildir (Severin ve ark. 2010). HMF'nin yüksek derişimlerinin, toksik etkisinin yanı sıra, üst solunuma, göz, deri ve mukoza membranlarına karşı tahriş edici özelliğinin bulunduğu belirtilmektedir (Batu ve ark., 2014).

Kestane ballarının ortalama maltoz içeriği incelendiğinde, Gülyalı numuneleri için tespit edilebilir düzeyin altında iken, Gürgentepe numuneleri için yaklaşık olarak 1.1 g/100g olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, numunelerin düşük seviyelerde maltoz içerdiğini göstermektedir.

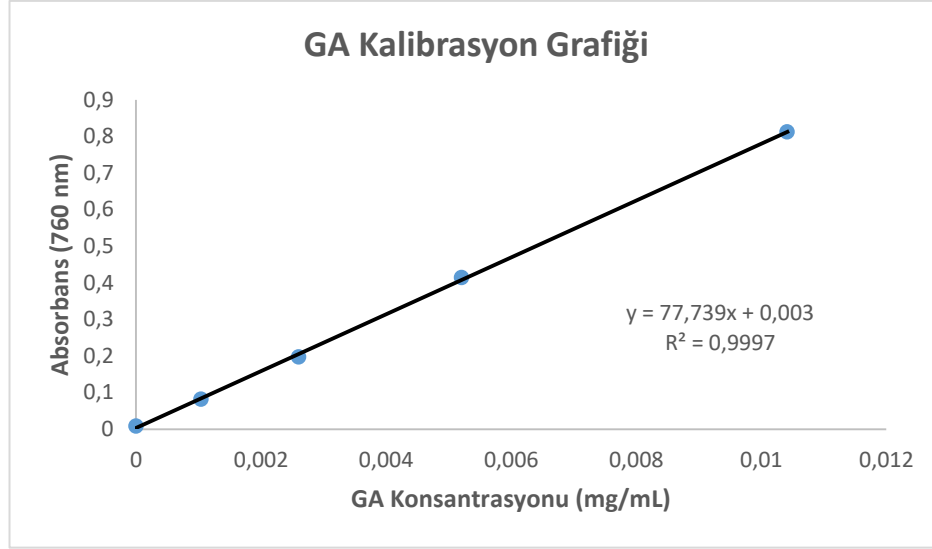
Ortalama sakkaroz içerikleri Gülyalı ilçesinden elde edilen kestane ballarında 0,10 g/100g olarak bulunurken, Gürgentepe ilçesinden elde edilen ballarda ise 0.3 g/100g olarak hesaplanmıştır. Sakkaroz, insan vücudu tarafından kolay sindirilen bir besin olup vücut için kolay bir enerji kaynağıdır. Ancak sakkarozun fazla tüketilmesi insan sağlığı açısından bazı zararlara yol açmaktadır. Çünkü aşırı sakkaroz tüketimi diş çürümesine, obeziteye ve şeker hastalığı gibi hastalıklara sebep olabilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre balda sakkaroz içeriği en fazla 5 g/100 g olmalıdır. Bu çalışmada elde edilen sakkaroz değerleri Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde belirtilen değerden oldukça düşüktür. Sakkaroz miktarının yüksek oluşu balların erken hasat edildiğini ve bu nedenle sakkarozun henüz yeterince indirgenmediğini veya arıların sakkaroz içeren şurup ile beslediğini ya da bala direkt olarak sakkaroz katıldığını gösterebilmektedir. Bu nedenle sakkaroz miktarı ballarda önemli bir kalite kriteridir. Yine incelenen balların ortalama fruktoz miktarı Gülyalı ilçesindeki ballarda 38.90 g/100g ve Gürgentepe ballarında ise 36.55 g/100g olarak belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde balın fruktoz miktarı için herhangi

bir sınırlayıcı değer belirtilmemiştir. Glukoz içerikleri incelendiğinde, Gülyalı ilçesinden elde edilen balların ortalama glukoz içeriği 25.80 g/100 g, Gürgentepe ilçesinden elde edilen balların ise 30.35g/100 g olduğu belirlenmiştir. Fruktoz içeriğinde olduğu gibi Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği’nde balın glukoz miktarı için de herhangi bir sınırlayıcı değer belirtilmemiştir. Gülyalı ve Gürgentepe ilçelerinden elde edilen kestane ballarının ortalama fruktoz+glukoz içerikleri sırasıyla 64.7 g/100 g ve 66.9 g/100 g olarak, fruktoz/glukoz oranı ise 1.55 ve 1.2 olarak saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği’nde fruktoz+glukoz miktarının en az 60g/100g olması, fruktoz/glukoz oranının ise 1.0-1.85 arasında olması gerektiği belirtilmiştir.

4.3 Toplam Fenolik İçerik

Arılar balın üretimi sırasında vct sıvılarını, su, şeker, protein ve fenolik bileşiklerden oluşan iek nektarları veya bitki salgılarıyla karıştırdıkları için bal, fenolik bileşikler içerir (Becerril-Snchez ve ark., 2021).

Ordu ilinin Gülyalı ve Gürgentepe ilçelerinden temin edilen iki adet kestane balı örneğinin su ekstraktlarının toplam fenolik içerik değerleri Folin-Ciocalteau yöntemine gore gallik asit eř değeri cinsinden hesaplanmış ve izelge4.2’de sıralanmıştır. Bu amaçla ilk olarak 0.125 mg/mL konsantrasyondaki gallik asit çözeltisinin değişen miktarlarının alınması ile yapılan ölçüm sonucu kaydedilen absorbans değerlerinin konsantrasyona karşı grafiğe geçirilmesi ile gallik asit standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (şekil 4.6). Toplam fenolik miktarı araştırılan bal numunelerinin de aynı şartlar altında analize tabii tutulması sonucu elde edilen absorbans değerlerinin gallik asit standart kalibrasyon eğrisinin doğru denkleminde ($y = 77.739 x + 0.003$) “y” yerine konulmasıyla her bir numune için “x” değeri yani ne kadar gallikasiteeşdeğer fenolik içerdiği hesaplanmıştır. Sonuçlar 1gram ba liin μg gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden olacak şekilde belirtilmiş.



Şekil 4.6 Toplam Fenolik İçerik Mitralarının Belirlenmesi İçin Çizilen Gallik Asit Standart Kalibrasyon Grafiği

Fenolik bileşikler genelde bitkilerin yaprak, çiçek, meyve gibi canlı dokularında glikozitler şeklinde, odunsu dokularında aglikonlar şeklinde, çekirdeklerinde ise her iki formda da bulunmaktadır. Fenolik maddeler gıdaların besin değeri ve duyu kalitesi ile de yakından ilişkilidir. Düşük konsantrasyonlarda gıdaları oksidatif bozulmalardan korurken, yüksek konsantrasyonlarda çökerek ürünün rengini bozmaktadırlar.

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi Gülyalı ilçesinden (düşük rakım) temin edilen örneklerin toplam fenolik içerik değerleri Gürgentepe ilçesinden (yüksek rakım) temin edilen bal örneklerine göre daha fazla olacak şekilde belirlenmiştir.

Koyu renkli balların genellikle fenolik bileşenler açısından zengin olduğu ve bu sayede de biyolojik olarak daha aktif olduğu bilinmektedir (Saral, 2023). İncelenen bal örneklerinin Pfund skalasına göre belirlenen renk yoğunlukları da bu bilgiyi doğrular niteliktedir. Gürgentepe’den temin edilen balların renk yoğunlukları daha düşük, Gülyalı’dan temin edilen balların renk yoğunluğu ise daha yüksektir. Baldaki polifenoller balın biyoaktif bileşenlerini oluşturan ikincil metabolitlerin başlıcalarıdır. Yapılan araştırmalar kestane balının dünya çapında en yüksek biyolojik aktif değere sahip ballardan biri olduğunu ortaya koymaktadır. Artvin ilinden temin edilen ve polen analizine göre farklı derecelerde baskın polen olarak kestane poleni içerdiği tespit edilen 8 farklı bal üzerinde yapılan toplam fenolik içerik araştırmasına göre, kestane polenini en fazla içeren balda en yüksek, en az

içeren balda ise en düşük olacak şekilde, 100 gram bal başına 92.42-52.19 mg GAE aralığında değişiklik gösteren fenolik içerik değerlerini içerdiği tespit edilmiştir (Saral, 2023).

Fenolik bileşikler, balın botanik kökenine göre sınıflandırılması amacıyla kullanılabilir. Balın polifenol bileşimi, bu bileşiklerin çoğunlukla arılar tarafından toplanan nektardan kaynaklanması nedeniyle çoğunlukla botanik kökene bağlıdır. Fenolik bileşiklerin doğası ve miktarı da mevsime, iklim koşullarına ve işleme faktörlerine göre değişiklik gösterir (Pauliucve ark., 2020).

Çizelge 4.2 Bal Örneklerinin Toplam Fenolik İçerik Değerleri (μg GAE/g bal)

Numune	1	2
Gürgentepe	95.70 $\pm$ 8.20	131.50 $\pm$ 2.70
Gülyalı	271.90 $\pm$ 1.90	345.50 $\pm$ 4.60

Doğal kaynaklardaki fenolik bileşikler antioksidan olarak rol oynadığından, yüksek fenolik içerik yüksek antioksidan aktivite anlamına gelmektedir (Zhang ve ark., 2023).

4.4 Antioksidan Aktivite

Fenolik bileşikler çiçek ve coğrafi kökenin biyobelirteçleri olarak kullanılabilmenin yanı sıra antioksidan aktiviteyi ve duyuşal özellikleri de belirlemektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi, hidrojen atomları, elektronlar veya metalik katyonlar bağışlayarak serbest radikalleri ortadan kaldırma kapasitelerine atfedilir; serbest radikallerle etkileşime girme kapasitesi, yapılarından kaynaklanır (özellikle hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonları ve aromatik halkalardaki ikamelerin doğası nedeniyle). Ayrıca bu bileşiklerin organik asitlere ve şekerlere bağlanmasına dayanır. Antioksidan kapasite, sindirilen, emilen ve metabolize edilen besin sayısı gibi dış kaynağa ve diğer kaynaklarla etkileşime göre in vivo olarak azalabilir. Yukarıda belirtilenlerden dolayı, gıdalardaki antioksidanların toplam içeriği ve biyoyararlanımı, antioksidan kapasitelerini belirlemek için önemlidir (Becerril-Sánchez ve ark., 2021). Fenolik bileşikler balın antioksidan aktivitesinden esas olarak sorumlu olanlardır. Oksidatif reaksiyonlar çok

karmaşıktır, bu da balın antioksidan kapasitesinin tahmininin tek bir deney uygulandığında yetersiz görünmesine neden olmaktadır. Bu nedenle Pentós ve ark. (2020) deneyin güvenilirliğini artırmak için en az iki yöntem kullanılmasını önermektedir.

Bu bilgiler ışığında incelenen bal numunesi örneklerinin antioksidan aktiviteleri çok yaygın kullanılan üç farklı metod takip edilerek ortaya koyulmuştur. İlk olarak bal numunelerinin su ekstraktlarının ticari olarak satın alınan DPPH radikalini süpürme etkinliği test edilmiştir. Bu amaçla numunelerin 10 mg/mL'lik kısımlarının metanolik DPPH çözeltisine ilave edilmesini takiben 30 dakika sonra tüp içeriklerinin absorbanslarının, numune içermeyen sadece DPPH çözeltisi ve numune çözücüsü ihtiva eden tüp içeriğinin absorbansına göre azalma dereceleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Numunelerin DPPH radikallerini süpürme aktiviteleri % olarak ifade edilmiş ve Çizelge 4.3'te sıralanmıştır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi toplam fenolik içerik değerleri ile korelasyon gösterecek şekilde Gülyalı mevkisinden temin edilen bal numunelerinin DPPH radikalini süpürme yüzdeleri daha fazla iken daha yüksek lokasyondan (Gürgentepe) temin edilen kestane balı numunelerinin DPPH radikali süpürme aktiviteleri daha düşüktür. İki farklı rakımdan temin edilen 2'şer olmak üzere toplam 4 farklı kestane balı numunesine ait Gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanan toplam fenolik içerik değerleri ile bu balların 10 mg/mL'lik miktarlarının ortamdaki DPPH radikallerini süpürme yüzdeleri arasındaki korelasyon katsayısı 0.9999 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.7)

Yapılan birçok çalışmada toplam fenolik içerik değerleri ile balların antioksidan kapasitesi arasında yüksek bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Džugan ve ark., 2018; Hailu ve Belay, 2020).

Ayrıca baldan özüt yada fraksiyon hazırlanırken kullanılan yöntem ve çözücüler farklı fenolik bileşik konsantrasyonları ve antioksidan aktivite sonuçlarının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Çalışmalar, çözücü etil asetat ile elde edilen özütlerin daha yüksek fenolik bileşik geri kazanımı sunduğunu ve ayrıca dietil eter, n-heksan, kloroform, etil asetat ve n-bütanol ile elde edilenden daha fazla antioksidan ve biyolojik aktivite gözlemlediğini bildirmiştir (Becerril-Sánchez ve ark., 2021).

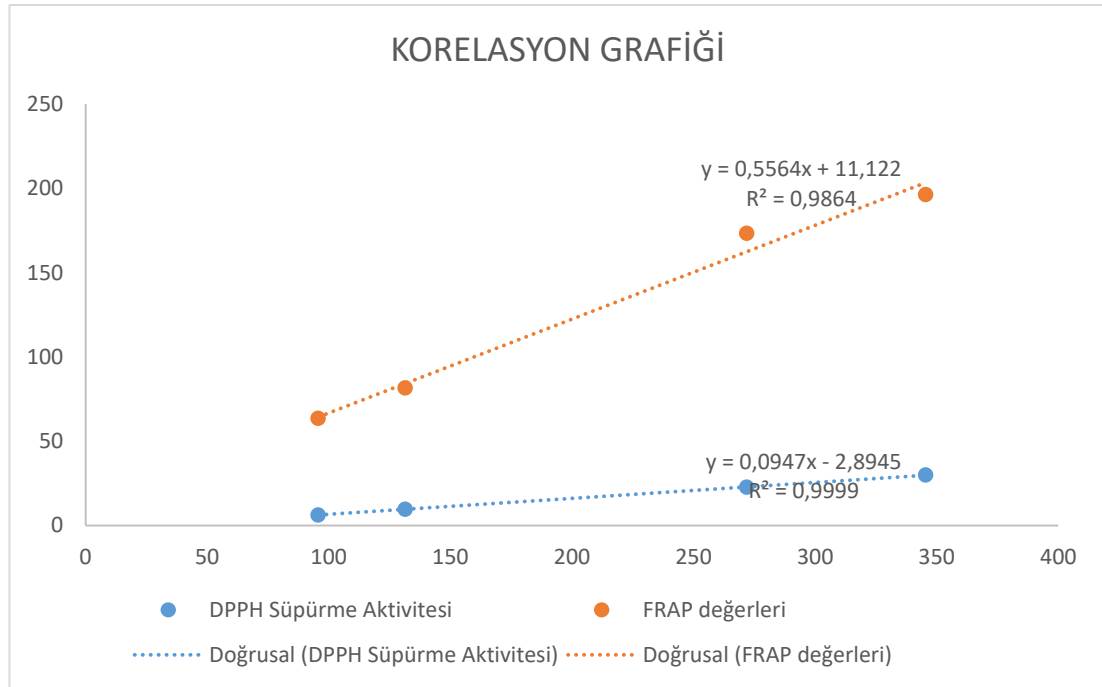
100 gramında gallik asit eşdeğeri olarak 88.8 mg fenolik içeriği saptanan Bosnia and Herzegovina bölgesinden temin edilmiş olan kestane balı numunesinin DPPH radikallerinin yarısını süpüren miktarı 193 µg/mL olarak saptanmıştır (Sakaç ve ark., 2022). Temizer ve arkadaşları (2018) ise yapmış oldukları çalışmada Giresun'dan temin edilen kestane ballarının su ile hazırlanmış ekstraktlarının toplam fenolik içerik değerlerini 93.8-173.2 mgGAE/100 g bal aralığında bildirirken, aynı ballara ait DPPH radikal süpürme aktiviteleri için hesaplanan SC₅₀ değerleri ise ortalama olarak 590 µg/mL olarak bildirilmiştir.

Çizelge 4.3 Bal Örneklerinin DPPH Radikalini Süpürme Aktiviteleri (%)

Numune	DPPH Süpürme Aktivitesi (%)*		FRAP Değerleri (µg TXE/g bal)		Şelat Oluşturma (%)**	
	1	2	1	2	1	2
Gürgentepe	6.17±0.37	9.60±0.18	63.53±3.56	81.56±5.04	20.097±1.77	21.772±2.80
Gülyalı	22.71±0.76	29.91±0.65	173.22±2.69	196.14±4.98	41.425±3.56	51.030±4.12

Ortalama±Standart Sapma

*DPPH radikal süpürme yüzdeleri numunelerin 10 mg/mL, **şelat oluşturma potansiyeli ise 5 mg/mL konsantrasyonları için hesaplanmıştır.



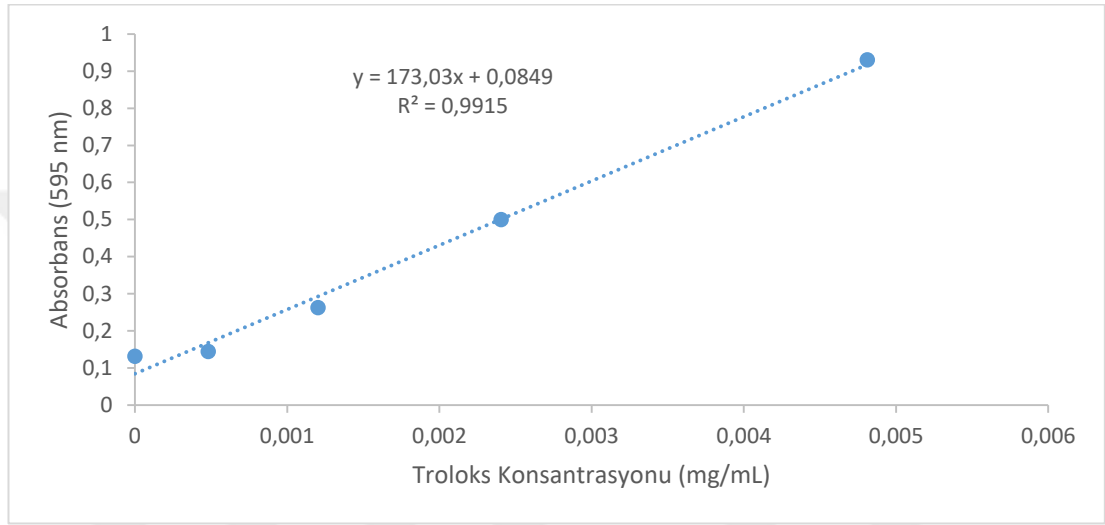
Şekil 4.7 Toplam Fenolik İçerik Değerleri ile DPPH Süpürme Yüzdeleri ve FRAP Değerleri Arasındaki Korelasyonu Gösteren Grafik

Bal numunelerinin antioksidan aktiviteleri DPPH radikalini süpürme kabiliyetine ilave olarak ortamdaki Fe^{3+} 'yı indirgeyebilme yeteneklerine göre de araştırılmıştır.

Tıbbi bir bakış açısıyla, Fe^{3+} insan organizmasındaki çeşitli zararlı oksidasyon süreçlerinde önemli rol oynar. Bu durum, iyonun hiperfosforiletau'nuna gregasyonundan sorumlu olması ve nörofibriler yumaklar ve ilerleyici supranükleer paksi (PSP) ile ilişkili olmasından kaynaklanmaktadır. Fe^{3+} 'ın Fe^{2+} 'ya indirgenmesi bu süreci tersine çevirebilir ve nörodejenerasyonun karakteristiği olan tau türlerini çözündürebilir. Bu sebeple Fe^{3+} 'yı Fe^{2+} 'ya indirgeyerek antioksidan aktivitesini gösterebilen doğal kaynaklar önemlidir. Fe^{3+} 'ın Fe^{2+} 'ya indirgenme yeteneğini belirlemek için kullanılan yöntemler arasında, antioksidanların renksiz $[Fe^{3+}-(2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazin)2]^{3+}$ kompleksini asidik ortamda yoğun mavi renkli kompleks $[Fe^{2+}-(TPTZ)2]^{2+}$ 'ye indirgeme yeteneğini kullanan bir kolorimetrik yöntem olan ve tek elektron transfer mekanizmasına dayanan ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) bulunur. Bu tür renk değişimleri spektrofotometrik olarak 593 nm'de ölçülür. Sonuçlar, demir iyon standart çözeltisi ve belirli antioksidan standartları (çoğu durumda troloks) kullanılarak hesaplanır. Sonuç, bir FRAP biriminin 1 M demir iyonunun bir demir iyonuna indirgenmesi olarak tanımlanabileceği FRAP birimlerinde dikkate alınır. Bu yöntem, bitkilerin, gıda özlerinin, biyolojik sıvıların, baharatların, sebzelerin, meyvelerin ve birçok özüt ve uçucu yağın antioksidan aktivitesini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Wojtunik-Kulesza, 2020).

Balların FRAP değerlerini hesaplamak için öncelikle E vitamininin suda çözünen bir analogu olan ve E vitamini gibi bir antioksidan olup oksidatif stresi veya hasarı azaltmak için biyolojik veya biyokimyasal uygulamalarda kullanılan Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilokroman-2-karboksilik asit) ile aynı şartlar altında gerçekleştirilen deneme ile standart çalışma grafiği hazırlanmıştır (Şekil4.8). Standart çalışma grafiğinin doğru denkleminde $(y= 173.03 x + 0.0849)$ yararlanılarak troloks eşdeğeri cinsinden hesaplanan FRAP değerleri Çizelge 4.3'te görüldüğü gibidir. Hem toplam fenolik içerik değerleri hem de DPPH değerleri ile

korelasyon gösterecek şekilde Gülyalı mevkiinden elde edilen ballar için daha yüksek olarak hesaplanmıştır. Çalışmada incelenen 4 adet kesatane balı numunesine ait Gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanan toplam fenolik içerik değerleri ile troloks cinsinden hesaplanan FRAP değerleri arasındaki korelasyon katsayısı 0.9864'tür (Şekil 4.7).



Şekil 4.8 FRAP Değerlerinin Troloks Eşdeğeri Olarak Hesaplanması İçin Oluşturulan Troloks Standart Çalışma Grafiği

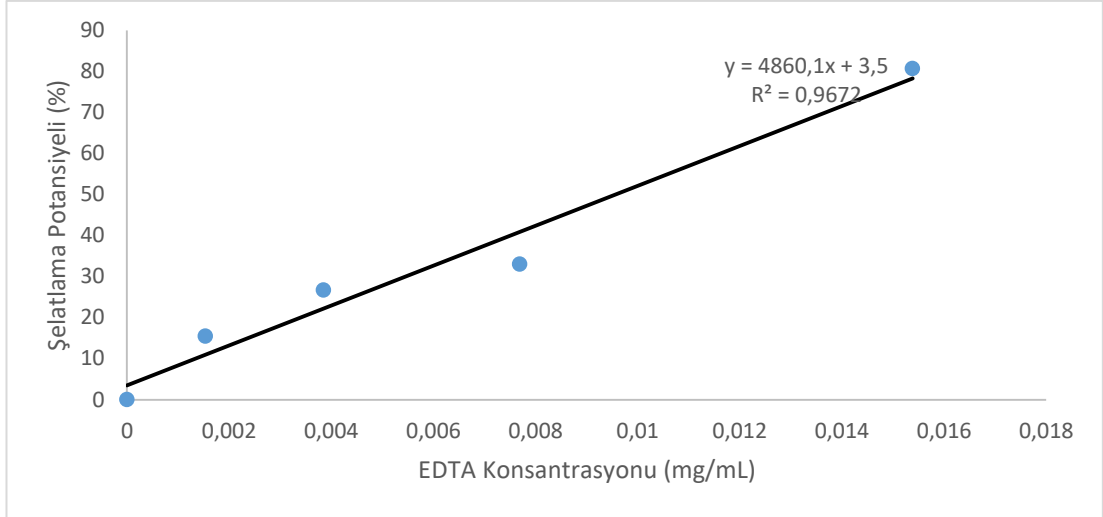
Toplam fenolik içeriğin belirlendiği Folin-Ciocalteu testi ve FRAP değerinin belirlendiği test tek elektron transfer mekanizmasına dayanmaktadır. DPPH radikalının giderilmesinin incelendiği yöntem ise hem hidrojen atomu transferi hem de tek elektron transfer mekanizmalarına örnek olarak verilebilecek bir testtir (Munteanu ve Apetrei, 2021). Her bir test ile hesaplanan değerlerin birbirine göre korelasyonlarının yüksek çıkmasının sebebi buna bağlanabilir.

Çol Ayvaz ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada, Karadeniz Bölgesi illerinden arıcılardan doğrudan temin edilen ve ticari olarak satın alınan 56 farklı kestane balı numunesinin su ve metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, FRAP değerleri ile toplam fenolik içerik miktarları ve DPPH radikali süpürme aktiviteleri arasında saptanan korelasyonlar çok yüksek bulunmamıştır. Su ekstraktlarına ait FRAP değerlerinin ortalamaları 145.82-263.87 $\mu\text{mol Trolox}/100 \text{ g bal}$ aralığında değişiklik göstermiştir. Yine Ordu ili Gürgentepe

ilçesinden temin edilen kestane balının FRAP değeri 1.49 mg TXE/g bal olarak tespit edilmiştir. Bu değer aynı çalışmada karşılaştırılan ormangülü, akasya ve çiçek ballerine nazaran daha yüksek bulunmuştur (Akgün ve ark., 2021).

Geçiş metallerinin ön radikal oluşumunu katalize ettiğine inanılmaktadır. Şelat oluşturan ajanlar, canlı organizmalardaki geçiş metallerini sabitleyebilir ve serbest radikallerin oluşumunu engelleyebilir, dolayısıyla serbest radikaller tarafından indüklenen oksidatif hasarı azaltır. Herhangi bir özütün otoksidasyon etkisini daha iyi bir şekilde değerlendirmek için, şelat oluşturma etkisi her zaman ferrik (Fe^{2+}) iyonlarına karşı değerlendirilir. Metalleri şelatlama kapasitesi hayati önem taşır, çünkü geçiş metali konsantrasyonlarını azaltabilir ve bu da gıda ve biyolojik sistemlerde radikal kolaylaştırılmış zincir reaksiyonları otoksidasyonunu başlatan ilk küçük radikal sayılarının oluşumunu katalize edebilir. Pal ve ark., (2010), iyon şelatlama ajanlarının da hidroperoksit ayrışmasını ve Fenton reaksiyonunu önleyebileceğini bildirmiştir (Mwangi ve ark., 2022).

Çizelge 4.3’de görüldüğü gibi test edilen kestane balı numunelerinin reaksiyon ortamındaki Fe^{2+} ’yı bağlama yüzdeleri gibi hem toplam fenolik içerik değerleri ile hemde diğer iki antoksidan aktivite testi sonuçlarına göre beklenildiği şekilde değişiklik göstermiş olup örneklerin 5 mg/mL’lik miktarları için hesaplanan değerler yaklaşık olarak %20-50 aralığındadır. Pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA’nın ise 9.56 μ g/mL’lik kısmı ortamdaki demirin yarısını bağlayabilmektedir (Şekil 4.9). Örneklerimizin şelatlama potansiyelinin EDTA’ya göre oldukça düşük olduğu söylenilebilir. Aynı şekilde Temizer ve ark. (2018) yapmış oldukları çalışmanın sonuçlarına göre 3 farklı kestane balı numunesinin Fe^{2+} ile şelat oluşturma potansiyellerinin yaklaşık olarak %36 olduğunu, ancak test edilen standartlara (Butillenmiş hidroksi anisol, butillenmiş hidroksi toluene, Tokoferol) göre düşük olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.9 EDTA'nın Fe^{2+} ile Şelat Oluşturma Potansiyelinin Konsantrasyona Göre Değişimi

Artvin, Bursa, Düzce, İstanbul, Kastamonu, Sakarya, Samsun, Zonguldak illerinin farklı ilçelerinden temin edilen toplam 41 kestane balı numunesinin şelatlama potansiyelleri incelenmiş ve ortamdaki Fe^{2+} 'nın %50'sini bağlayan bal ekstraktı konsantrasyonu 1.40-9.70 mg/mL aralığında saptanmıştır (Taş-Küçükaydı ve ark., 2023). Ayrıca amino asitler de baldaki antioksidan bileşenlerden biridir (Meda ve ark., 2005). Bazı serbest amino asitlerin (histidin, taurin, glisin, alanin) ve bunların kombinasyonlarının antioksidan aktivitesi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Wu ve ark., 2003). Bu çalışma kapsamında bal örneklerinin Prolin içerikleri de hesaplanmış ve elde edilen değerlerin antioksidan aktivite ile korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Prolinin spesifik katkısını anlamak için baldaki serbest amino asitlerin ve radikal süpürme aktivitelerinin detaylı bir incelemesi gereklidir (Meda ve ark., 2005).

4.5 Antikolinesteraz Aktivitesi

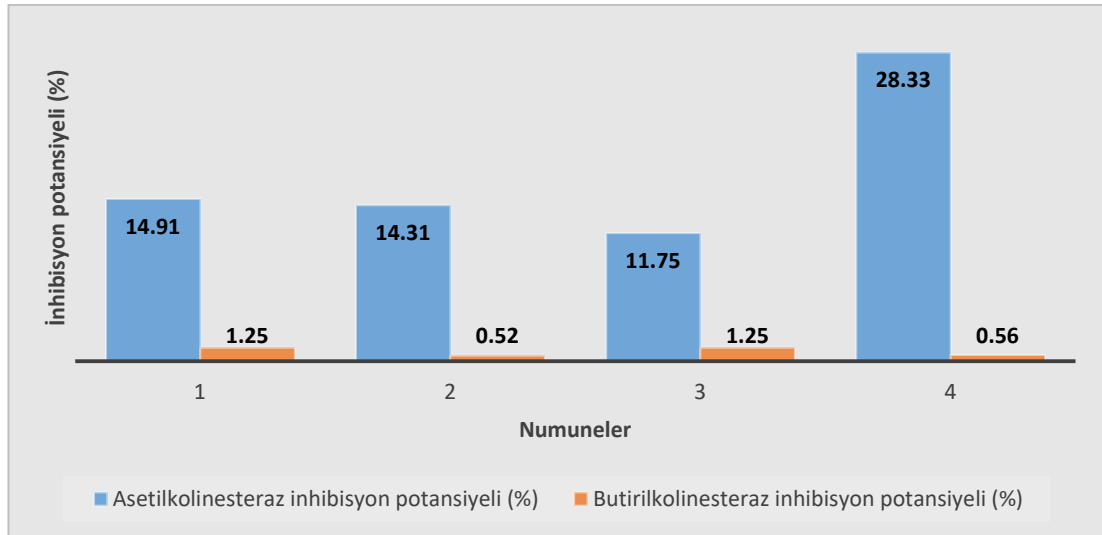
Demans son yıllarda dünyada en hızlı yayılan hastalıklardan biridir. Yaklaşık 36 milyon insanın bu durumdan, özellikle Alzheimer hastalığı (AH)'ndan muzdarip olduğu tahmin edilmektedir. Araştırmalara göre, 2050 yılına kadar dünya çapında 100 milyon insanın bu tür sorunlarla mücadele etmesi bekleniyor ve bu, hastalığın yaygınlığında şu anda kaydedilen sayılara göre üç kat artış anlamına gelmektedir. AH'nin gelişimi, asetilkolinesteraz (AChE) nedeniyle asetilkolinnöro transmitterinin (ACh) tükenmesinden kaynaklanmaktadır. AChE ve butilkolinesteraz (BChE),

sinaptik aralıktaki ACh'yi hidrolize eder; bu nedenle, olası tedavi stratejilerinden biri, kolinerjik teoriye göre beyindeki asetilkolin konsantrasyonunun yükselmesine ve dolayısıyla AH hastalarında bilişsel işlevin iyileşmesine neden olan AChE kullanımını gerektirir. Şu anda mevcut ilaçlar (kolinesteraz inhibitörleri dahil: rivastigmin, galantamin ve donepezil), hastalığın ilerlemesinin sonraki aşamalarında dahil edilmektedir. Ancak ilaçların bazı sınırlamaları vardır: kolinerjik aktivitenin iyileşmesi sadece 3 yıla kadar sürebilir ve maddeler AH'nin semptomatik fazında etkili olsa da, bu bileşiklerin AH'nin seyri üzerinde düşük bir etkisi vardır. Kolinesteraz enzimleri için sıklıkla araştırılan yeni inhibitörlerin potansiyel kaynaklarından biri de baldır. Balın hafızayı güçlendirmede önemli bir rol oynayabileceği ve bunamayı önleyici bir madde olarak da kullanılabileceği belirtilmiştir (Szwajgierv ark., 2022). Balın uzun zamandır gıda takviyesi olarak tüketiliyor olması ve ölçülü tüketildiğinde hiçbir yan etki göstermiyor oluşu sayesinde nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde bal kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Fadzil ve ark., 2023).

Othman ve ark. (2015) tarafından yapılan derlemede, hastalar (bilişsel gerileme ve bunamanın önlenmesi) veya hayvanlar (kısa ve uzun vadeli mekansal hafızanın iyileştirilmesi, kaygının azaltılması, yaşlanmayla ilişkili bilişsel işlevlerin iyileştirilmesi, antidepresan etkiler ve iskemi kaynaklı bilişsel bozuklukların hafifletilmesi) tarafından çeşitli bal türlerinin tüketilmesinin olumlu etkilerini doğrulayan çalışmalar gösterilmiştir. Balın nöro dejeneratif hastalıkların önlenmesindeki etkisine yönelik araştırmalar çoğunlukla polifenol veya fenolik bileşiklerin varlığına odaklanmaktadır (Fadzil ve ark., 2023).

Tüm bu nedenlerden dolayı fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri saptanmış olan kestane balı örneklerimizin 8 mg/mL'lik kısımlarının hem asetil hem de butirilkolinesteraz enzimlerini inhibe edebilme etkinlikleri böylelikle Alzheimer tedavisinde kullanılabile potansiyelleri incelenmiştir. Şekil4.10'da görülebileceği gibi aynı miktardaki balın asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki inhibisyon etkinliği daha fazladır. Aynı durum kolinesterazın hibitörü galantamin durumunda da göze çarpmakta olup 0.025 mg/mL konsantrasyonda gallant aminasetilkolinesterazı %85 oranında inhibe ederken butirilkolinesterazı %56 oranında inhibe edebilmektedir.

Kolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığı için standart bir tedavidir. Asetilkolinesteraz (AChE), kolinerjik nörotransmitter asetilkolinin hidrolizini katalize ederken, butirilkolinesteraz (BuChE) da asetilkolini parçalar ve aynı klinik kolinesteraz inhibitörleri tarafından hedef alınır. Dolayısıyla inhibitörlerin her iki enzim üzerindeki etkinlikleri de farklıdır. Donepezil, galantamin ve huperzin asetilkolinesteraz, rivastagmin ve Bisnorsimserin ise butirilkolinesteraz spesifik inhibitörleridir. AChE düzeyleri AH beyinde önemli ölçüde azalırken, BuChE düzeylerinin arttığı veya aynı kaldığı bulunmuştur. Ayrıca, AH'nin patogenezindeki kesin rolü tam olarak anlaşılmamış olsa da, BuChE'nin sürekli olarak AH'nin nöropatolojik yapıları, nöritik plaklar ve nöro fibriler düğümlerle ilişkili olduğu bulunmuştur. Özellikle, AH ilerlemesiyle birlikte AChE düzeylerinin azalması göz önüne alındığında, buenzimininhibisyonu, kolinerjiknörotoksisite nedeniyle azalan beyin asetilkolin düzeylerinin artırılması için azalan getiriler sağlayabilir. Özellikle, BuChE'nin seçici inhibisyonunun beyindeki asetilkolin düzeylerini yükselttiği gösterilmiştir. Bu, BuChE'nin AH tedavisi için AChE'den daha iyi bir hedef olabileceğini düşündürmektedir (Macdonald ve ark., 2014).



Şekil 4.10 Kestane Balı Örneklerinin Asetil- ve Butirilkolinestrez Enzimlerini İnhibe Edebilme Potansiyelleri

Yayla balı, kestane balı ve arı sütünde aralarında olduğu asetilkolinesteraz inhibisyon etkilerinin araştırıldığı doğal kaynaklar üzerinde yapılan çalışmanın

sonuçlarına göre denenen kestane balı örneğinde inhibisyon potansiyeli saptanamadığı belirtilmiştir (Camadanve Akkemik, 2022).

Elde edilen sonuçlar, kestane balının günlük olarak tüketilmesinin, hafıza bozukluğunu ve beyindeki değişiklikleri önleyerek Alzheimer hastalığının etkilerini azaltabileceğini göstermektedir.

4.6 Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

Kestane ballarının dokuz bakteri ve bir mantar suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş, ortaya çıkan inhibisyon bölgeleri ölçülerek sonuçlar hesaplanmışve Çizelge 4.4’de minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleriile birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.4 Kestane Ballarının Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktiviteleri (mm) ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları($\mu\text{g/mL}$)

Mikroorganizma	Gürgentepe 1	Gürgentepe 2	Gülyalı 1	Gülyalı 2	Gentamisin	Ampicillin	Nystin
<i>M. luteus</i>	14.39 $\pm$ 0.56 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	17.98$\pm$0.65 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	11.76 $\pm$ 0.83 6.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	19.76$\pm$0.54 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	48.67 $\pm$ 0.74	6.00 $\pm$ 0.00	NT
<i>S. aureus</i>	14.79 $\pm$ 0.44 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	13.57 $\pm$ 0.35 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	13.58 $\pm$ 0.054 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	14.79 $\pm$ 0.44 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	43.45 $\pm$ 0.73	11.76 $\pm$ 0.54	NT
<i>L.monocytogenes</i>	18.86$\pm$0.73 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	16.52 $\pm$ 0.32 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	11.08 $\pm$ 0.67 6.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	19.25$\pm$0.66 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	47.33 $\pm$ 0.83	26.34 $\pm$ 0.54	NT
<i>E. fecalis</i>	15.73 $\pm$ 0.83 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	15.67 $\pm$ 0.73 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	16.42 $\pm$ 0.44 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	16.58$\pm$0.054 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	30.43 $\pm$ 0.053	33.50 $\pm$ 0.23	NT
<i>K. pneumoniae</i>	15.86 $\pm$.73 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	14.17 $\pm$ 0.45 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	12.19 $\pm$ 0.67 6.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	16.73 $\pm$ 0.83 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	29.33 $\pm$ 0.83	12.79 $\pm$ 0.44	NT
<i>P.aeruginosa</i>	11.36 $\pm$ 0.67 6.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	15.34 $\pm$ 0.66 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	10.18 $\pm$.73 6.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	13.00 $\pm$ 0.12 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	28.34 $\pm$ 0.54	30.67 $\pm$ 0.74	NT
<i>B. cereus</i>	6.00 $\pm$ 0.00 12.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	6.00 $\pm$ 0.00 12.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	6.00 $\pm$ 0.00 12.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	6.00 $\pm$ 0.00 12.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	35.67 $\pm$ 0.98	22.50 $\pm$ 0.054	NT
<i>E. coli</i>	16.48 $\pm$ 0.88 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	15.86 $\pm$.73 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	17.56$\pm$0.56 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	13.17 $\pm$ 0.56 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	34.67 $\pm$ 0.74	22.00 $\pm$ 0.23	NT
<i>S. enterica</i>	14.95 $\pm$ 0.87 3.125 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	9.43 $\pm$ 0.12 6.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	6.00 $\pm$ 0.00 12.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	6.00 $\pm$ 0.00 12.25 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	35.56 $\pm$ 0.65	34.68 $\pm$ 0.34	NT
<i>S. cerevisiae</i>	19.99 $\pm$ 0.87 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	21.22$\pm$0.87 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	20.45 $\pm$ 0.73 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	18.34 $\pm$ 0.54 1,5625 $\leq$ $\mu\text{g/mL}$	NT	NT	17.34 $\pm$ 0.56
<i>Mikroorganizmalarınörnekl erüzlerindekiortalamaaktivit esi</i>	14.54$\pm$0.88	14.38$\pm$.73	12.56 $\pm$ 0.56	14.13 $\pm$ 0.83	NT	NT	NT

Ortalama $\pm$ Standart Sapma

-: inhibisyon yok, NT: Test edilmedi, *Listeria monocytogenes* ATCC®7677, *Enterococcus feacalis* ATCC® 29121(+), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC®10876) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Salmonella enterica* ATCC® 14028™, *Escherichia coli*, ATCC®25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883, and yeast *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 976, *Micrococcus luteus* B1018

Elde edilen sonuçlara göre, *B. cereus* haricinde seyreltilmiş kestane balı örnekleri iyi inhibisyon etkileri göstermiştir. En yüksek inhibisyon *M. luteus*, *L.monocytogenes*, *E. Fecalis*, *E. coli*'nin patolojik bakterilerine ve *S. Cerevisiae* fungusuna karşı elde edilmiştir. Sırasıyla bu zon çapları şöyledir: Gülyalı 2 balı *M. luteus* 19.76 ± 0.54 mm, *L.monocytogenes* 19.25 ± 0.66 mm, *E. Fecalis*, 16.58 ± 0.054 mm ve *E. coli*'ye karşı Gülyalı 1balı 17.56 ± 0.56 mm zon çapı gösteren numuneler olmuştur. Diğer taraftan *S. Cerevisiae* mayasına karşı en etkili numune olarak Gürgentepe 2 balı 21.22 ± 0.87 mm zon çapı göstererek çalışmadaki en etki numune olmuştur. Tüm mikroorganizmalar üzerinde en etkili olan numune 14.54 ± 0.88 mm zon çapı ortalamasıyla Gürgentepe 1 ve 14.38 ± 0.73 mm zon çapıyla Gürgentepe 2 örnekleri olmuştur.. Buna karşın Kolaylı ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada fungusa karşı hiç bir kestane balının antifungal etki göstermediği belirlenmiştir. Bu durumun balların yapıldığı bitki folarasından kaynaklandığını söyleyebiliriz. Bununla beraber bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivite benzerlik göstermiştir. Bal çoğunlukla glikoz oksidaz enzimi tarafından katalize edilen glikozun glukonik aside dönüşümünün bir ürünü olan hidrojen peroksitin (H_2O_2) varlığına atfedilir (Strelec ve diğerleri, 2018). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önce kestane balı için elde edilen sonuçlarla uyumludur (Strelec ve ark., 2018; Yıldız ve ark., 2013). H_2O_2 ile birlikte balın yüksek ozmolaritesi ve asitliği antimikrobiyal aktivitesine katkıda bulunur. Yukarıda bahsedildiği gibi, fenolik bileşenler gibi peroksit olmayan maddeler antimikrobiyal aktiviteye katkıda bulunur. Yapılan birçok çalışma balın antioksidan kapasitesi, fenolik içeriği ve bileşimi ile antibakteriyel aktivitesi arasındaki ilişkiyi kanıtlamaktadır (Güneş ve ark., 2016; Kolaylı ve ark., 2017; Küçük ve ark., 2007). Genel olarak, daha koyu ballar (örneğin kestane balı) daha yüksek toplam fenolik içeriğe, daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir ve daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Yapılan bir çalışmada analiz edilen kestane balı örneklerinin toplam fenolik içeriği ve antioksidan kapasiteleri arasında ilişki bulunmuştur (Cviljević, ve ark.,2020). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literature verileriyle benzerlik göstermiştir (Bertoceljeve ark. 2007). Bu durum fenolik bileşenlerin balın antimikrobiyal aktivitesine katkıda bulunduğunu, ancak genel antimikrobiyal aktivitenin balın farklı bileşenlerinin sinerjistik etkisinin bir sonucu olduğunu ve bunlardan sadece bir kısmının bu çalışmada belirlendiğini

göstermektedir. Genel anlamda bal iyi bir antimikrobiyal karışım olduğu için çeşitli yara ve yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Weston,2000).

4.7 Renk Analizi

Her bir bal örneğinin renk analizleri için UV/Görünür Bölge spektroskopisi yöntemi kullanılmış ve sonuçlar Pfund skalası ile ifade edilmiştir:

$$\text{mmPfund} = -38.70 + 371.39 \cdot \text{Abs}$$

mmPfund: Pfund skalasındaki renk şiddeti; Abs.: 635 nm'deki absorbans

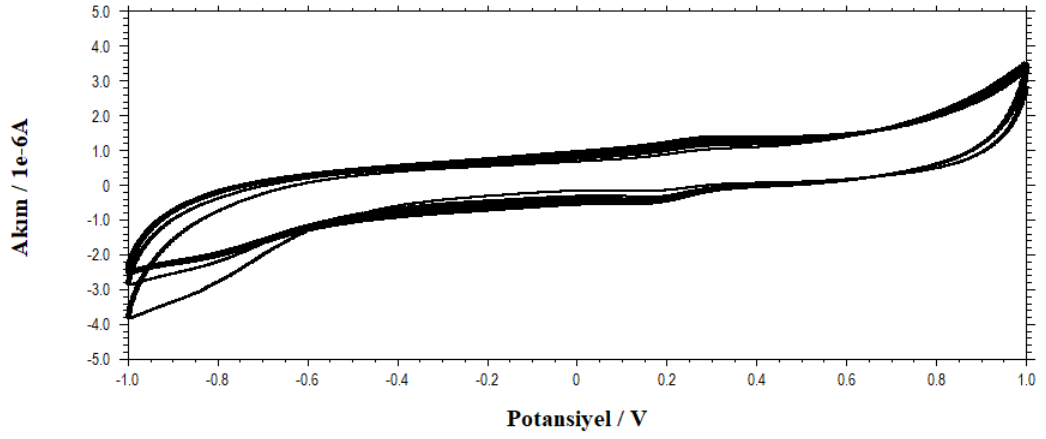
Analizi yapılan 4 adet bal örneği için ölçülen absorbans değerleri ile hesaplanan Pfund skalası renk şiddeti Çizelge 4.5'de verilmektedir.

Çizelge 4.5 Kestane Balı Örneklerinin Renk Analiz Sonuçları

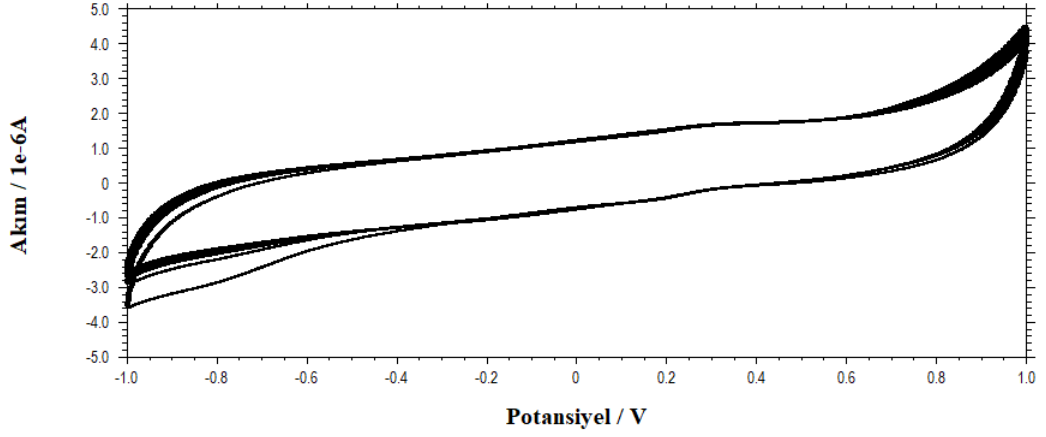
Numune	Absorbans (635nm)		Pfund skalası renk şiddeti (mm Pfund)	
	1	2	1	2
Gürgentepe	0.126	0.127	8.09	8.47
Gülyalı	0.202	0.278	36.30	64.50

4.8 Elektrokimyasal Antioksidan Aktivite

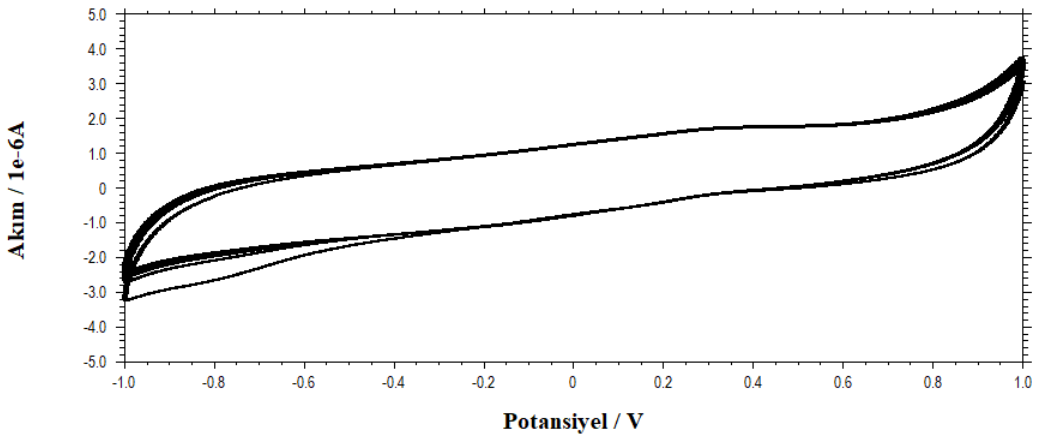
Elektrokimya, doğal antioksidanların antioksidan gücünün değerlendirilmesinde kullanılan klasik biyokimyasal yöntemlere alternatif olarak kullanılabilecek basit ve uygun maliyetli yöntemler sunmaktadır (Avila ve ark., 2006). Bala antioksidan aktivite kazandıran özellikle polifenoller gibi bileşenlerin elektroaktif özellik göstermesi, elektrokimyasal yöntemlerin bu amaçla kullanılabilmesini sağlamaktadır. Bu amaçla, Gürgentepe ve Gülyalı lokasyonlarından elde edilen bal örnekleri pH 7.0 fosfat tamponunda (100 mM PBS) çözölmüş ve derişimi 0.2 mg/mL olan bal çözeltileri hazırlanmıştır. Karşılaştırma yapmak için ise 100 mM PBS (pH=7.0) ile derişimi 0.2 mg/mL olan askorbik asit ve gallik asit çözeltileri hazırlanmış ve -1.0 V ↔ +1.0 V potansiyel aralığında her bir çözeltinin çok döngölü dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.11-4.15).



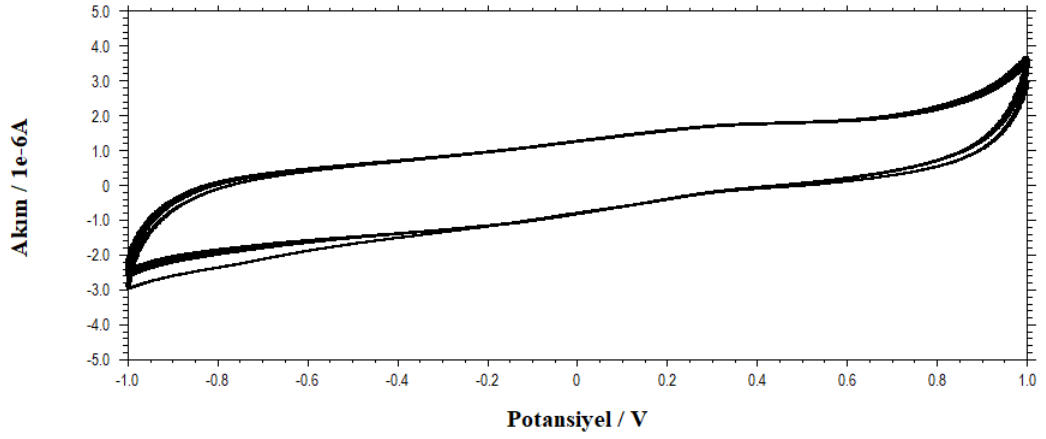
Şekil 4.11 Gürgentepe 1 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngüsayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs⁻¹)



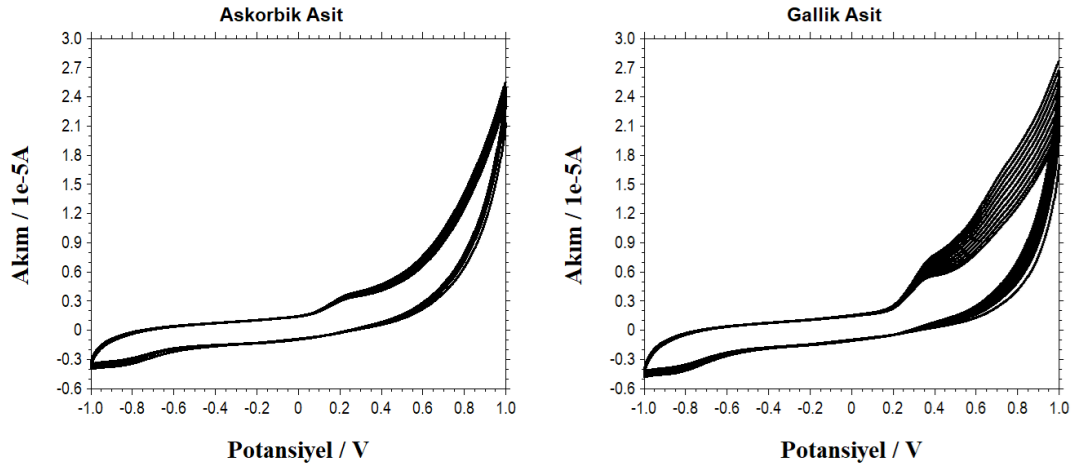
Şekil 4.12 Gürgentepe 2 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngüsayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs⁻¹)



Şekil 4.13 Gülyalı 1 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngüsayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs⁻¹)



Şekil 4.14 Gülyalı 2 Balı İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogram (Döngü sayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs⁻¹)

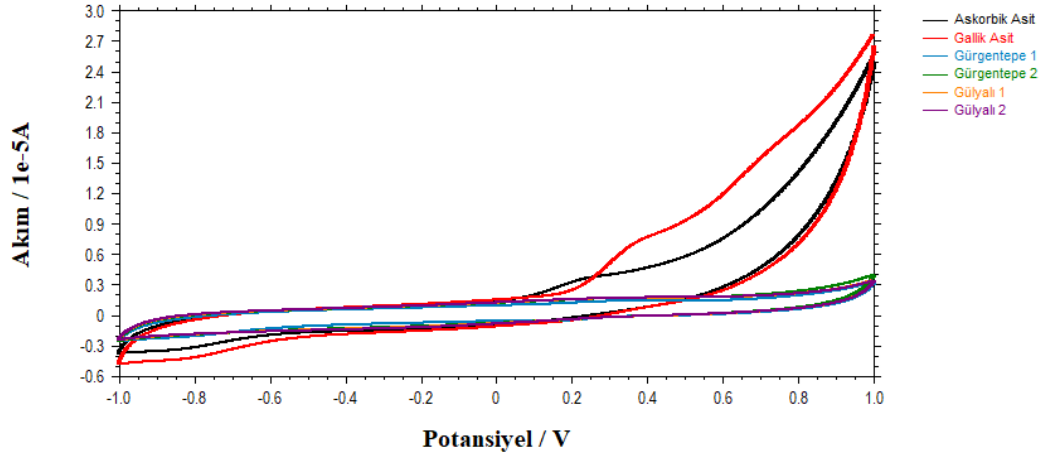


Şekil 4.15 Askorbik Asit ve Gallik Asit Çözeltileri İçin Kaydedilen Çok Döngülü Dönüşümlü Voltammogramlar (Döngü sayısı: 10, Tarama hızı: 100 mVs⁻¹)

Bal gibi antioksidan aktivite gösteren besinlerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılabilmesi için bazı referans bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle sıklıkla, yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bilinen askorbik asit ve gallik asit bileşikleri referans olarak kullanılmakta ve incelenen numunelerin aktiviteleri bu bileşikler ile karşılaştırılmaktadır. Elektrokimya açısından değerlendirme yaparken, bir bileşiğin yükseltgenme potansiyeli, kavramsal olarak, o bileşiğin beklenen antioksidan aktivitesi ile ilgili bilgi verir. Dahası, yükseltgenme potansiyeli ile antioksidan güç arasında ters orantı bulunmaktadır. Yani, yükseltgenme potansiyelinin düşük olması, analitlerin kolay yükseltgenebildiği, diğer bir deyişle daha fazla “antioksidan kapasiteye” sahip olduğu anlamına gelmektedir.

Örneğin, elektrokimyasal açıdan askorbik asit ile gallik asit bileşiklerinin antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında, yükseltgenme piklerini karşılaştırmak gerekir. Dolayısıyla daha düşük yükseltgenme potansiyeline sahip olan askorbik asitin (yaklaşık 0.2 V), gallik asite göre (yaklaşık 0.35 V) daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu söylenebilir. Diğer taraftan bu çalışma kapsamında çalışılan bal örneklerinin dönüşümlü voltamogramları incelendiğinde, her birinin 0.2 V ile 0.3 V arasında keskin olmayan yükseltgenme piki gösterdiği gözlenmiştir. Dolayısıyla bal örneklerinin antioksidan aktivite gösterdikleri anlaşılmaktadır.

Bu çalışma kapsamında incelenen kestane ballarının antioksidan kapasitelerini referans bileşiklerle karşılaştırmak için ise her bir çok döngülü dönüşümlü voltamogramdaki son döngüler çakıştırılmış ve Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.16 Bal Örnekleri, Askorbik Asit ve Gallikasit Çözeltilerine Ait Dönüşümlü Voltammogramlar (Tarama hızı: 100 mVs⁻¹)

Pik akımları karşılaştırıldığında, aynı derişimdeki saf askorbik asit ve gallik asit molekülleri ile karşılaştırılabilir akımlar gözleendiği göz önüne alındığında, incelenen kestane ballarının oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. Diğer taraftan, Gürgentepe ve Gülyalı lokasyonlarından temin edilen bal örnekleri kendi içinde karşılaştırıldığında, elektrokimyasal antioksidan aktivitenin balın üretildiği bölgenin rakımı ile doğrudan ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Ordu ilinde farklı iki rakımda (Gülyalı ve Gürgentepe ilçeleri) üretilen kestane (*Castanea sativa* Mill.) balların fizikokimyasal, antioksidan ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmiştir.
- Işık mikroskobu ve taramalı electron mikroskobu (SEM) ile görüntüleme sonuçlarına göre tüm numuneler monofloral yapıda olup kestane balları için karakteristik yapıda bulunmuştur.
- Gülyalı ilçesinden (düşük rakım) temin edilen örneklerin toplam fenolik içerik değerleri Gürgentepe ilçesinden (yüksek rakım) temin edilen bal örneklerine göre daha fazla olarak belirlenmiştir. Koyu renkli balların genellikle fenolik bileşenler açısından zengin olduğu ve bu sayede de biyolojik olarak daha aktif olduğu bilinmektedir. İncelenen bal örneklerinin Pfund skalasına göre belirlenen renk yoğunlukları da fenolik içeriği doğrular niteliktedir. Gürgentepe'den temin edilen balların renk yoğunlukları daha düşük, Gülyalı'dan temin edilen balların renk yoğunluğu ise daha yüksektir.
- Çalışma kapsamında bal örneklerinin Prolin içerikleri hesaplanmış ve elde edilen değerlerin antioksidan aktivite ile korelasyon gösterdiği belirlenmiştir.
- Antikolinesteraz aktivitesi çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre kestane balının günlük olarak yeterli miktarda tüketilmesinin, hafıza bozukluğunu ve beyindeki değişiklikleri önleyerek Alzheimer hastalığının etkilerini azaltabileceğini görülmüştür.
- Elde edilen sonuçlara göre, *B. cereus* haricinde seyreltilmiş kestane balı örnekleri iyi inhibisyon etkileri göstermiştir. En yüksek inhibisyon *M. luteus*, *L. monocytogenes*, *E. Fecalis*, *E. coli*'nin patolojik bakterilerine ve *S. Cerevisiae* fungusuna karşı elde edilmiştir.
- Elektrokimyasal antioksidan aktivite çalışmalarına göre, incelenen kestane ballarının oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan, Gürgentepe ve Gülyalı lokasyonlarından temin edilen bal örnekleri kendi içinde karşılaştırıldığında, elektrokimyasal antioksidan aktivitenin balın üretildiği bölgenin rakımı ile doğrudan ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

- Genel anlamda bal iyi bir antimikrobiyal karışım olduğu için çeşitli yara ve yanıkların tedavisinde ve apiterapide kullanılması önerilmektedir. Ayrıca elde edilen sonuçlar, kestane balının günlük olarak tüketilmesinin, hafıza bozukluğunu ve beyindeki değışiklikleri önleyerek Alzheimer hastalığının etkilerini azaltabileceğini göstermektedir.



6.KAYNAKLAR

- Akdeniz, G., Şahin, S., Yılmaz, Ö., Karataş, Ü., Karmaz, E., Kabakçı, D. & Yaşar, N. (2013). Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Miller) ve ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) ballarının mikroskopik yapısı ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 5(9), 22-25.
- Akgün, M. (2019). Farklı orman gülü (*Rhododendron* L.) türlerinden elde edilen balların antimikrobiyal, antioksidan ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalı, Ordu.
- Akgün, N., Çelik, ÖF. & Kelebekli, L. (2021). Physicochemical properties, total phenolic content, and antioxidant activity of chestnut, rhododendron, acacia and multifloral honey. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 3501-3508. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00937-3>
- Alvarez-Suarez, JM., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: A review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 15-23. <https://doi.org/10.1007/s12349-009-0051-6>
- Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63(4), 549-562. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00057-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00057-0)
- Anşin, R. (1980). Doğu karadeniz bölgesi florası ve asal vejetasyon tiplerinin floristik içerikleri. Doçentlik Tezi, KTÜ Orman Fakültesi. Trabzon.
- Apaydın, D. (2022). Trakya Yöresi Ballarının Mineral İçeriği Ve Bazı Tipik Kalite Parametreleri Açısından Değerlendirilmesi. *Gıda*, 47(5), 804-819.
- Aşkan, E. (2023). Increasing Honey Production Effectiveness in Erzincan and Van Provinces. *Sustainability*, 15(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/su15097524>
- Ávila, M., Crevillén, AG., González, MC., Escarpa, A., Hortigüela, LV., de Lorenzo Carretero, C. & Pérez Martín, RA. (2006). Electroanalytical approach to evaluate antioxidant capacity in honeys: proposal of an antioxidant index. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 18(18), 1821-1826.
- Başoğlu, FN., Sorkun, K., Löker, M., Doğan, C. & Wetherilt, H. (1996). Saf ve sahte balların ayırt edilmesinde fiziksel, kimyasal ve palinolojik kriterlerin saptanması. *Gıda*, 21(2), Article 2.
- Batu, A., Aydoymuş, RE. & Batu, H. S. (2014). Gıdalarda hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu ve insan sağlığı üzerine etkisi. *Electronic Journal of Food Technologies*, 9(1), 40-55
- Becerril-Sánchez, AL., Quintero-Salazar, B., Dublán-García, O. & Escalona-Buendía, H. B. (2021). Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color. *Antioxidants*, 10(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/antiox10111700>.

- Bengü, AŞ. & Kutlu, MA. (2018). Bingöl’de üretilen ballarda bazı kalite kriterlerinin belirlenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 7(1), 7-10.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Maffei Facino, R. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.11.010>
- Berger, M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24(2), 172-183. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.10.003>
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M. & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food chemistry*, 105(2), 822-828.
- Bilgen Çınar, S. (2010). Türk çam balının analitik özellikleri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Ankara.
- Bradbear, N. (2009). Bees and their role in forest livelihoods: A guide to the services provided by bees and the sustainable harvesting, processing and marketing of their products. *Non-Wood Forest Products*, No.19. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20093225520>
- Camadan, Y. & Akkemik, E. (2022). Searching for new natural inhibitors of acetylcholinesterase enzyme. *Cumhuriyet Science Journal*, 43(1), 66-71.
- Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, MC., de Torres, C. & Pérez-Coello, MS. (2010). Effect of geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. *Food Research International*, 43(10), 2335-2340. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.007>
- Chib, A., Gupta, N., Bhat, A., Anjum, N. & Yadav, G. (2020). Role of antioxidants in food. *International Journal of Chemical Studies*, 8(1), 2354-2361. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i1aj.8621>
- Chua, LS., Abdul-Rahaman, NL., Sarmidi, MR., & Aziz, R. (2012). Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chemistry*, 135(3), 880-887. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.106>
- Coronado, HM., Vega Y León, S., Gutiérrez, TR., Vázquez, FM. & Radilla, VC. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206-212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Cviljević, S., Bilić Rajs, B., Primorac, L., Strelec, I., Gal, K., Cvijetić Stokanović, M. & Flanjak, I. (2020). Antibacterial activity of chestnut honey (*Castanea sativa* Mill.) against *Helicobacter pylori* and correlation to its antioxidant capacity. *Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 9(2), 52-56.
- Çınar, SB. & Ekşi, A. (2012). Türkiye’de üretilen çam balının kimyasal profili. *Gıda*, 37(3), 149-156.
- Çol Ayvaz, M., Ömür, B., Ertürk, Ö. & Kabakçı, D. (2018). Phenolic profiles, antioxidant, antimicrobial, and DNA damage inhibitory activities of chestnut

- honeys from Black Sea Region of Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 42(3), e12502. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12502>
- da Silva, PM., Gauche, C., Gonzaga, LV., Costa, ACO. & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Daci-Ajvazi, M., Mehmeti, A., Zeneli, L. & Daci, N. (2017). Evaluation of antioxidant activity, heavy metals and colour intensity of honeys from different parts of Kosovo. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 18(2), 737-748.
- Dağ, B. (2017). Investigation of some properties of chestnut honey produced in black sea region of Turkey. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 7(2/2), 118-123.
- Dixon, LR., McQuage, MR., Lonon, EJ., Buehler, D., Seck, O. & Rueppell, O. (2012). Pleiotropy of segregating genetic variants that affect honey bee worker life expectancy. *Experimental Gerontology*, 47(8), 631-637. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.05.017>
- Doğan, M. (2013). Ege bölgesinde üretilen hayıt ve çam ballarında ısıtmanın ve depolama süresinin hidroksimetilfurfural miktarı ve diastaz sayısı üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Ana Bilim Dalı. Aydın.
- Doğan, C., Çelik, Ş. & Doğan, N. (2017). Siirt bölgesi melengiçlerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(3), 293-298.
- Dżugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P. & Grabek-Lejko, D. (2018). Antioxidant activity as biomarker of honey variety. *Molecules*, 23(8), 2069. <https://doi.org/10.3390/molecules23082069>
- Efem, SEE. (1988). Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of Surgery*, 75(7), 679-681. <https://doi.org/10.1002/bjs.1800750718>
- Ellman, GL., Courtney, KD., Andres, V. & Featherstone, RM. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Erdoğan, Y. & Turan, M. (2022). Physicochemical properties of honey produced at different altitudes. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(4), 710-718.
- Ertop, U., Şevik, H. & Ertop, MH. (2023). Mineral composition and heavy metal contents of chestnut honey collected from kastamonu region. *Journal of Apitherapy and Nature*, 6(2), 73-87.
- Ertürk, Ö. (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia*, 61(3), 275-278. <https://doi.org/10.2478/s11756-006-0050-8>
- Etxegarai-Legarreta, O. & Sanchez-Famoso, V. (2022). The role of beekeeping in the generation of goods and services: the interrelation between environmental,

- socioeconomic, and sociocultural utilities. *Agriculture*, 12(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/agriculture12040551>
- Fadzil, MAM., Mustar, S. & Rashed, AA. (2023). The potential use of honey as a neuroprotective agent for the management of neurodegenerative diseases. *Nutrients*, 15(7), 1558. <https://doi.org/10.3390/nu15071558>
- Fallico, B., Zappalà, M., Arena, E. & Verzera, A. (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85(2), 305-313. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.010>
- FAOSTAT. (2022). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL%20fao2022>
- Ferreira, H., Henriques, D., Neves, CJ., Machado, CAS., Azevedo, JC., Franco, T. M. & Pinto, M. A. (2020). Historical and contemporaneous human-mediated processes left a strong genetic signature on honey bee populations from the Macaronesian archipelago of the Azores. *Apidologie*, 51(3), 316-328. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00720-w>
- Frankel, S., Robinson, GE. & Berenbaum, MR. (1998). Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research*, 37(1), 27-31. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100951>
- Gutiérrez-Grijalva, EP., Ambriz-Pérez, DL., Leyva-López, N., Castillo-López, RI. & Heredia, JB. (2016). Review: Dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(2), 87-100.
- Güler, A. (2017). Bal arısı (*Apis mellifera* L.) yetiştiriciliği hastalıkları ve ürünleri. *Basım. Azim Matbaacılık. Ankara*, 419.
- Güneş, ME., Şahin, S., Demir, C., Borum, E. & Tosunoglu, A. (2016): Determination of phenolic compounds profile in chestnut and floral honeys and their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Food Biochemistry*, 41, e12345. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12345>
- Güngör, E. & Şen, G. (2018). Selecting suitable forest areas for honey production using the ahp: A case study in Turkey. *Cerne*, 24. <https://doi.org/10.1590/01047760201824012511>
- International Honey Commission (IHC). (2009). Harmonised methods of the international honey commission. International Honey Commission. <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- Hadjmohammadi, MR., Nazari, S. & Kamel, K. (2009). Determination of flavonoid markers in honey with SPE and LC using Experimental Design. *Chromatographia*, 69(11-12), 1291-1297. <https://doi.org/10.1365/s10337-009-1073-4>
- Hailu, D. & Belay, A. (2020). Melissopalynology and antioxidant properties used to differentiate *Schefflera abyssinica* and polyfloral honey. *PLOS ONE*, 15(10), e0240868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240868>
- Hermosín, I., Chicón, RM. & Dolores Cabezudo, M. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83(2), 263-268. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00089-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00089-X)

- Kalın, S. (2013). Türkiye'nin farklı illerinden toplanan balların antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve biyoaktif bileşenlerinin tayini. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı. Ordu.
- Karadal, F. & Yıldırım, Y. (2012). Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(3), 197-209.
- Kartal, H. (2012). Bolu yöresi ballarının bazı fizikokimyasal özelliklerinin Türk Gıda Kodeksi'ne uygunluğunun incelenmesi üzerine araştırma. Yüksek lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- Keskin, H. (1982). Besin Kimyası: Cilt II. Fatih Yayınevi, İstanbul.
- Khalifa, SAM., Elshafiey, EH., Shetaia, AA., El-Wahed, AAA., Algethami, AF., Musharraf, SG., AlAjmi, MF., Zhao, C., Masry, SHD., Abdel-Daim, MM., Halabi, MF., Kai, G., Al Naggar, Y., Bishr, M., Diab, MAM. & El-Seedi, HR. (2021). Overview of bee pollination and its economic value for crop production. *Insects*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/insects12080688>
- Koca, I., Tekgüler, B., Turkyılmaz, B. & Taşcı, B. (2018). Some physical, chemical and antioxidant properties of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honey produced in Turkey. *Acta Horticulturae*, 1220, 227-234. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1220.32>
- Kolaylı, S., Küçük, M., Ulusoy, E., Sarıkaya, A., Karaoğlu, Ş. & Duran, C. (2006). kestane ve çiçek ballarının antioksidan ve antimikrobiyal yönden karşılaştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon.
- Kolaylı, S., Baltas, N., Sahin, H. & Karaoglu, S. (2017). Evaluation of anti-Helicobacter pylori activity and urease inhibition by some Turkish authentic honeys. *JFSE*, 7, 67-73.
- Korkmaz, A. (2010). Arıcılık. *Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü. Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi. Samsun.*
- Krpan, M., Marković, K., Šarić, G., Skoko, B., Hruškar, M. & Vahčić, N. (2009). Antioxidant activities and total phenolics of acacia honey. *Czech Journal of Food Sciences*, 27(Special Issue 1), S245-S247. <https://doi.org/10.17221/1112-CJFS>
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C. & Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food chemistry*, 100(2), 526-534.
- Landaverde, R., Rodriguez, MT. & Parrella, JA. (2023). Honey production and climate change: beekeepers' perceptions, farm adaptation strategies, and information needs. *Insects*, 14(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/insects14060493>
- Macdonald, IR., Rockwood, K., Martin, E. & Darvesh, S. (2014). Cholinesterase inhibition in alzheimer's disease: is specificity the answer? *Journal of Alzheimer's Disease*, 42(2), 379-384. <https://doi.org/10.3233/JAD-140219>

- Mariod, AA., Ibrahim, RM., Ismail, M. & Ismail, N. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, 116(1), 306-312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.051>
- Mayda, N., Özkök, A. & Sorkun, K. (2018). Some characteristic properties of chestnut and rhododendron honeys in Turkey. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 46(1), 135-145.
- Meda, A., Lamien, CE., Romito, M., Millogo, J. & Nacoulma, OG. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- Miakhil, A., Kamkar, A. & Attaul Haq Banuree, S. (2024). Physicochemical properties and antioxidant activity of honey brands distributed in Tehran city, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 18(02), 243-252. <https://doi.org/10.32598/IJVM.18.2.1005348>
- Minatel, IO., Borges, CV., Ferreira, MI., Gomez, HAG., Chen, CYO. & Lima, GPP. (2017). Phenolic compounds: Functional properties, impact of processing and bioavailability. *Phenolic Compd. Biol. Act*, 8, 1-24.
- Mohammed, MEA. (2022). Factors affecting the physicochemical properties and chemical composition of bee's honey. *Food Reviews International*, 38(6), 1330-1341. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1810701>
- Munteanu, IG. & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Mwangi, RW., Macharia, JM., Wagara, IN. & Bence, RL. (2022). The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 147, 112621. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112621>
- Noroozi, J., Zare, G., Sherafati, M., Mahmoodi, M., Moser, D., Asgarpour, Z. & Schneeweiss, G. M. (2019). Patterns of endemism in turkey, the meeting point of three global biodiversity hotspots, based on three diverse families of vascular plants. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fevo.2019.00159>.
- Nugent, K. (2019). Oxidative stress. *The Southwest Respiratory and Critical Care Chronicles*, 7(27), 1-3.
- Ohe, WVD., Oddo, LP., Piana, ML., Morlot, M. & Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S18-S25. <https://doi.org/10.1051/apido:2004050>.
- Orhan, F., Sekerel, B. E., Kocabas, C. N., Sackesen, C., Adalioglu, G., & Tuncer, A. (2003). Complementary and alternative medicine in children with asthma. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 90(6), 611-615. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61864-9](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61864-9).

- Othman, Z., Zakaria, R., Hussain, N., Hassan, A., Shafin, N., Al-Rahbi, B. & Ahmad, A. (2015). Potential Role of Honey in Learning and Memory. *Medical Sciences*, 3(2), 3-15. <https://doi.org/10.3390/medsci3020003>.
- Ömür, B. (2015). Karadeniz bölgesinde üretilen kestane (*Castanea Sativa* Mill.) ballarının biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Ordu.
- Özkarakaş, İ. (2008). Kestane ağacı ve kestane meyvesi: (*castanea*), yaşam rehberi, http://www.eyasamrehberi.com/photo/meyva_agaclari/kestane.25.4.2024
- Özkırım, A. (2018). Beekeeping in Turkey: Bridging Asia and Europe. *Asian beekeeping in the 21st century*, 41-69.
- Öztürk, A. (2001). Arıcılık, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayın Serisi. Yayın Serisi, Ankara, Yayın, 33.
- Pal, J., Ganguly, S., Tahsin, KS. & Acharya, K. (2010). In vitro free radical scavenging activity of wild edible mushroom, *Pleurotus squarrosulus* (Mont.) Singer.
- Palma, JM. & Seiquer, I. (2020). To Be or Not to Be. An Antioxidant? That Is the Question. *Antioxidants*, 9(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/antiox9121234>
- Patel, V., Pauli, N., Biggs, E., Barbour, L. & Boruff, B. (2021). Why bees are critical for achieving sustainable development. *Ambio*, 50(1), 49. <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01333-9>
- Pauliuc, D., Dranca, F. & Oroian, M. (2020). Antioxidant activity, total phenolic content, individual phenolics and physicochemical parameters suitability for Romanian honey authentication. *Foods*, 9(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/foods9030306>
- Pentoś, K., Łuczycka, D., Oszmiański, J., Lachowicz, S. & Pasternak, G. (2020). Polish honey as a source of antioxidants – a comparison with Manuka honey. *Journal of Apicultural Research*, 59(5), 939-945. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1723837>
- Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A. & Gambacorta, E. (2013). A comparative study on phenolic profile, vitamin C content and antioxidant activity of Italian honeys of different botanical origin. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(9), 1899-1908. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12169>
- Persano Oddo, L. & Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys: Descriptive sheets. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S38-S81. <https://doi.org/10.1051/apido:2004049>
- Phiri, BJ., Fèvre, D. & Hidano, A. (2022). Uptrend in global managed honey bee colonies and production based on a six-decade viewpoint, 1961–2017. *Scientific Reports*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25290-3>
- Popkova, MA., Budnikova, NV. & Paramzina, IA. (2021). Water-soluble vitamins in honeys of various botanical origin and their change during storage of honey.

IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 845(1), 012116.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/845/1/012116>

- Portakal, P., Aşkar, Ş. & Özgen, S. (2023). Çankırı'nın Farklı Bölgelerinde Üretilen Balların Antibakteriyel, Antioksidan Özellikleri ve Bazı Kimyasal Parametreleri. *Van Veterinary Journal*, 34(3), 256-262.
- Qamar, W. & Rehman, MU. (2020). Brief History and Traditional Uses of Honey. İçinde M. U. Rehman & S. Majid (Ed.), *Therapeutic Applications of Honey and its Phytochemicals: Vol.1* (ss. 1-10). Springer.
https://doi.org/10.1007/978-981-15-6799-5_1
- Rivera-Mondragón, A., Marrone, M., Bruner-Montero, G., Gaitán, K., de Núñez, L., Otero-Palacio, R., Añino, Y., Wcislo, W. T., Martínez-Luis, S. & Fernández-Marín, H. (2023). Assessment of the quality, chemometric and pollen diversity of apis mellifera honey from different seasonal harvests. *Foods*, 12(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/foods12193656>
- Sakač, M., Jovanov, P., Marić, A., Četojević-Simin, D., Novaković, A., Plavšić, D., Škrobot, D. & Kovač, R. (2022). Antioxidative, antibacterial and antiproliferative properties of honey types from the western balkans. *Antioxidants*, 11(6), 1120. <https://doi.org/10.3390/antiox11061120>
- Salehizadeh, A., Khodagholi, M. & Gandomkar, A. (2020). Temperature conditions for determination of beekeeping regions in the light of climate change. Case study: Fars Province. *Environmental and Climate Technologies*, 24, 88-104.
<https://doi.org/10.2478/rtuct-2020-0006>
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T. & Samini, F. (2017). Honey and health: A review of recent clinical research. *Pharmacognosy Research*, 9(2), 121-127.
<https://doi.org/10.4103/0974-8490.204647>
- Santos-Buelga, C. & González-Paramás, AM. (2017). Chemical composition of honey. İçinde JM. Alvarez-Suarez (Ed.), *Bee Products—Chemical and Biological Properties* (ss. 43-82). Springer International Publishing.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1-3>
- Saral, Ö. (2023). An investigation into chestnut honeys from Artvin province in Türkiye: their physicochemical properties, phenolic profiles and antioxidant activities. *Chemistry & Biodiversity*, 20(3), e202201162.
- Sethi, S., Prakash, O., Kumar, R., Dubey, SK., Arya, M. & Pant, AK. (2022). Phytochemical analysis, antioxidant and antifungal activity of essential oil and extracts of alpinia malaccensis (Burm.f.) roscoe flowers. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e201209.
<https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e201209>
- Severin, I., Dumont, C., Jondeau-Cabaton, A., Graillot, V. & Chagnon, MC. (2010). Genotoxic activities of the food contaminant 5-hydroxymethylfurfural using different *in vitro* bioassays. *Toxicology Letters*, 192(2), 189-194.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.10.022>
- Shapla, UM., Solayman, Md., Alam, N., Khalil, Md. I. & Gan, SH. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products:

- Effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3>
- Sıralı, R. & Cınırtoğlu, Ş. (2018). Bal arılarının tozlaşmadaki ve bitkisel üretimdeki önemi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 10(1), 28-33.
- Silici, S. (2018). Antioxidant and physicochemical properties of chestnut honeys from Turkey. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 27(2), 104-114.
- Singleton, VL. & Rossi, JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Slinkard, K. & Singleton, VL. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55. <https://doi.org/10.5344/ajev.1977.28.1.49>
- Storz, G. & Imlay, JA. (1999). Oxidative stress. *Current Opinion in Microbiology*, 2(2), 188-194. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(99\)80033-2](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(99)80033-2)
- Strelec, I., Brodar, L., Flanjak, I., Čačić Kenjerić, F., Kovač, T., Čačić Kenjerić, D. & Primorac, L. (2018). Characterization of Croatian Honeys by Right-Angle Fluorescence Spectroscopy and Chemometrics. *Food Analytical Methods*, 11(3), 824-838. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1059-z>
- Subaşı, B. (2004). *Kestane Sektör Profili*, İstanbul Ticaret Odası Etüt ve Araştırma Şubesi, İstanbul.
- Szwajgier, D., Baranowska-Wójcik, E., Winiarska-Mieczan, A. & Gajowniczek-Ałasa, D. (2022). Honeys as Possible Sources of Cholinesterase Inhibitors. *Nutrients*, 14(14), 2969. <https://doi.org/10.3390/nu14142969>
- Şenkul, Ç. & Kaya, S. (2017). Türkiye endemik bitkilerinin coğrafi dağılışı. *Türk Coğrafya Dergisi*, 69, Article 69. <https://doi.org/10.17211/tcd.322515>
- Şenol, FS., Orhan, İ., Yılmaz, G., Çiçek, M. & Şener, B. (2010). Acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and tyrosinase inhibition studies and antioxidant activities of 33 *Scutellaria* L. taxa from Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 781-788. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.004>
- Taş-Küçükaydın, M., Tel-Çayan, G., Çayan, F., Küçükaydın, S., Hazar Çiftçi, B., Ceylan, Ö., & Emin Duru, M. (2023). Chemometric classification of chestnut honeys from different regions in Turkey based on their phenolic compositions and biological activities. *Food Chemistry*, 415, 135727. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135727>
- Temizer, İ., Güder, A., Temel, F. & Cüce, H. (2018). Antioxidant activities and heavy metal contents of *Castanea sativa* honey. *Global NEST Journal*, 20(3), 541-550.
- Tolon, B. (1999). Muğla ve yöresi çam ballarının biyokimyasal özellikleri üzerine bir araştırma. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Ana Bilim Dalı, İzmir.

- Topal, E., Yücel, B., Yıldızdal, İ., Takma, Ç., Aydın, M. & Karaca, Ü. (2017). Kiraz tozlaşmasında bal arısı (*Apis mellifera* L.) ve bombus arısının (*Bombus terrestris*) kimi davranış özelliklerinin ve çevresel sıcaklık değişiminin bitki fenolojisi ile verim üzerine etkileri. *Hayvansal Üretim*. <https://doi.org/10.29185/hayuretim.340034>
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, OS., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M. & Kayacier, A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products*, 46, 124-131. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.042>
- Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E. & Lucero, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77(1), 71-74. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00325-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00325-9)
- Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H. & Re, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry*, 106: 883-887.
- Turhan, I., Tetik, N., Karhan, M., Gurel, F. & Reyhan Tavukcuoglu, H. (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1396-1399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.09.008>
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S. & Velioglu, YS. (2006). Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*, 95(4), 653-657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.004>
- Türe, A. (2019). Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden toplanan arı polenin protein düzeyleri ve amino asit kompozisyonunun belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Biyokimya Ana Bilim Dalı, Samsun.
- TÜRK GIDA KODEKSİ BAL TEBLİĞİ. (2020). <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=34459&MevzuatTur=9&MevzuatTertip=5>
- Türkiye İstatistik Kurumu. (2022). TÜİK 2022. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=Tarim-111>
- Türkiye İstatistik Kurumu. (2023). TÜİK 2023. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr>
- Umesh Hebbar, H., Rastogi, NK. & Subramanian, R. (2008). Properties of dried and intermediate moisture honey products: A review. *International Journal of Food Properties*, 11(4), 804-819. <https://doi.org/10.1080/10942910701624736>
- Ulubelen, A., Topcu, G., Tan, N., Ölçal, S., Johansson, C., Üçer, M., Birman, H., & Tamer, Ş. (1995). Biological activities of a Turkish medicinal plant, *Prangos platychlaena*. *Journal of Ethnopharmacology*, 45(3), 193-197. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)01215-L](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)01215-L)
- Valko, M., Rhodes, CJ., Moncol, J., Izakovic, M. & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-*

- Vit, P., Rodriguez-Malaver, A., Roubik, DW., Moreno, E., Souza, BA., Sancho, MT., Fernández-Muiño, M., Almeida-Anacleto, D., Marchini, LC., Gil, F., González, C., Aguilera, G. & Nieves, B. (2009). Expanded parameters to assess the quality of honey from Venezuelan bees (*Apis mellifera*), *Journal of ApiProduct and ApiMedical*. 1, 72-81.
- Wajnberg, E., Tel-Zur, N., Shapira, I., Lebber, Y., Lev-Yadun, S., Zurgil, U., Reisman-Berman, O. & Keasar, T. (2019). Pollinator behavior drives sexual specializations in the hermaphrodite flowers of a heterodichogamous tree. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1315. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01315>
- Weston, RJ. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food chemistry*, 71(2), 235-239.
- White, JW. (1979). Composition of Honey. In: Crane. E. (Ed.) Honey: A Comprehensive Survey. Heinemann, London, pp:157-158.
- Wojtunik-Kulesza, KA. (2020). Approach to optimization of FRAP methodology for studies based on selected monoterpenes. *Molecules*, 25(22), 5267. <https://doi.org/10.3390/molecules25225267>
- Wu, HC., Shiau, CY., Chen, HM. & Chiou, TK. (2003). Antioxidant activities of carnosine, anserine, some free amino acids and their combination. *Journal of Food and Drug analysis*, 11(2), 13.
- Yan, X., Murphy, BT., Hammond, GB., Vinson, JA. & Neto, CC. (2002). Antioxidant activities and antitumor screening of extracts from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5844-5849. <https://doi.org/10.1021/jf0202234>
- Yang, J., Liu, Y., Cui, Z., Wang, T., Liu, T. & Liu, G. (2024). Analysis of Free Amino Acid Composition and Honey Plant Species in Seven Honey Species in China. *Foods*, 13(7), 1065. <https://doi.org/10.3390/foods13071065>
- Yang, Y., Battesti, MJ., Djabou, N., Muselli, A., Paolini, J., Tomi, P. & Costa, J. (2012). Melissopalynological origin determination and volatile composition analysis of Corsican “chestnut grove” honeys. *Food Chemistry*, 132(4), 2144-2154. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.075>
- Yıldırım, A. (2013). Bingöl ili ballarının fenolik bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı. Bingöl.
- Yıldırım, E. R., & Güzeldemirci, N. U. (2023). Recent advances of cholinesterase inhibitors playing a critical role in the treatment of alzheimer’s disease (2020-2022). *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi*, 6(2), Article 2. <https://doi.org/10.26650/JARHS2023-1197992>
- Yıldız, İ., Göçrasgele, P. ve Keçeoğlu, M. (2016). Çal, pamuk, yayla ve ayçiçeği ballarının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 16 (11) 12-19.

- Yıldız, O., Can, Z., Saral, Ö., Yuluğ, E., Öztürk, F., Aliyazıcıoğlu, R. & Kolaylı, S. (2013). Hepatoprotective potential of chestnut bee pollen on carbon tetrachloride-induced hepatic damages in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 461478.
- Yılmaz, H. (1994). Doğu ve güneydoğu anadolu bölgesi ballarının kimyasal bileşimlerinin araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı. Erzurum.
- Yılmaz, SK. & Eskici, G. (2017). Erzincan ilinde üretilen balların biyokimyasal özellikleri. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University (JAFAG)*, 34(2), 36-42.
- Zumla, A. & Lulat, A. (1989). Honey-a remedy rediscovered. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 82(7), 384-385.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Güven YILMAZ
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	X T.C. ☐ Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Zootečni
Mezuniyet Yılı	01.07.2019
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Zootečni Anabilim Dalı
Programı	Program Adı
Mezuniyet Tarihi	06.02.2025
Doktora	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	
Mezuniyet Tarihi	
Yayınlar	