

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

**ARI EKMEKLİ VE POLENLİ KREM BAL ÜRETİM PROSESİNİN
IN VITRO BİYOAKTİVİTE VE BİYOERİŞEBİLİRLİK
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

DAVUT KARAHAN

ARI VE ARI ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. BAYRAM YURT**

**İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ESRA ÇAPANOĞLU GÜVEN**

BİNGÖL-2024

**ARI EKMEKLİ VE POLENLİ KREM BAL ÜRETİM PROSESİNİN *IN VITRO*
BİYOAKTİVİTE VE BİYOERİŞEBİLİRLİK ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Doç. Dr. Bayram YURT danışmanlığında, Davut KARAHAN tarafından hazırlanan bu çalışma 07/03/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Arı ve Arı Ürünleri Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Doç. Dr. Bayram YURT	İmza	:
Üye	: Prof. Dr. Mehmet AKBULUT	İmza	:
Üye	: Prof. Dr. Hakan İNCİ	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. Mubin KOYUNCU	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Nurullah DEMİR	İmza	:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/
nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Bingöl Üniversitesi Pilot Üniversite Koordinasyon Merkez Birimi (PİKOM) projesi kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: PİKOM-KP.2021.003

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

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim ve bu tezin tamamlanması sürecinde bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bayram YURT'a. Alanında oldukça fazla başarı, bilgi ve mesleki tecrübeye sahip olmasına rağmen mütevazılığı ile bilimi ve akademiye bana daha çok sevdiren ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN'e ve çalışma ekibine. Bu çalışmanın daha iyi konuma gelmesi hususunda değerli katkılar sunan Tez İzleme Komitesi Üyeleri hocalarım Sayın Doç. Dr. Cüneyt ÇAĞLAYAN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nurullah DEMİR'e.

Doktora eğitimimde bana ayrıca katkı sunan Sayın Prof. Dr. Kenan Sinan DAYISOYLU'ya,

Çalışmanın analizler kısmının gerçekleştirildiği Bingöl Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Analiz ve Araştırma Laboratuvarı, İstanbul Teknik Üniversitesi Fonksiyonel Gıda Araştırma Laboratuvarı ve Bingöl Üniversitesi Arı ve Doğal Ürünler Ar-Ge ve Ür-Ge Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve mesai arkadaşlarıma.

PIKOM-KP.2021.003 nolu proje ile çalışmanın maddi desteğini sağlayan Bingöl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Pilot Üniversite Koordinasyon Merkez Birimi ve çalışanlarına.

Hayatım boyunca hiçbir zaman dualarını, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, bu günlere gelmemde çok büyük katkıları olan değerli anneme, babama ve kardeşlerime.

Tanıştığım günden beri sevgisini benden esirgemeyen, dua, sabır ve anlayışla her zaman yanımda olan değerli eşime ve ailesine en kalbi duygularıyla şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	7
2.1. Arıcılık	7
2.2. Arı Ürünleri	9
2.2.1. Arı Polenleri	10
2.2.2. Arı Ekmegi (Perga)	16
2.2.3. Bal	20
2.2.3.1. Balın Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	24
2.2.3.2. Nem içeriği	24
2.2.3.3. Mineraller ve Ağır Metaller	25
2.2.3.4. Proteinler ve Amino Asitler	26
2.2.3.5. Hidroksi Metil Furfural (HMF)	27
2.2.3.6. Enzimler	28
2.2.3.7. Balın Viskozitesi	29
2.2.3.8. Elektrik İletkenliği	29
2.2.3.9. Su Aktivitesi	30
2.2.3.10. Karbonhidratlar	30
2.2.3.11. Balın Kristalizasyonu	33
2.2.4. Krem Bal	37
2.3. <i>In Vitro</i> Biyoerişebilirlik	40
3. MATERYAL VE YÖNTEM	44
3.1. Arı Ekmekli ve Polenli Krem Bal Üretimi	44

3.2. Fizikokimyasal Analizler	46
3.2.1. HMF Tayini	46
3.2.2. Prolin Değeri Tayini	47
3.2.3. Balda Şeker Tayini	48
3.2.4. Diastaz Tayini.....	49
3.3. <i>In Vitro</i> Sindirim Simülasyonu.....	50
3.4. Toplam Fenolik Madde İçeriği Tayini	51
3.5. Toplam Flavonoid Madde İçeriği Tayini	51
3.6. Bal Örneklerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi	52
3.6.1. ABTS Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite.....	52
3.6.2. DPPH Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite.....	52
3.6.3. CUPRAC Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite	53
3.7. İstatistiksel Analiz	53
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	54
4.1. Fizikokimyasal Analizler	54
4.2. <i>In Vitro</i> Gastrointestinal Sindirimin Toplam Fenolik, Üzerindeki Etkisi	58
4.2.1. Toplam Fenolik İçerik	58
4.2.2. Toplam Flavonoid İçerik	61
4.2.3. ABTS Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite.....	64
4.2.4. CUPRAC Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite	67
4.2.5. DPPH Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite.....	69
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
¹² C	: Karbon 12 izotopu
¹³ C	: Karbon 13 izotopu
¹³ δC _{bal}	: Balın ¹³ C/ ¹² C oranı
¹³ δC _{protein}	: Baldan izole edilen proteinin ¹³ C/ ¹² C oranı
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-Etilbenzotiazolin-Sulfonik asit)
ANOVA	: Varyans Analizi
CUPRAC	: Bakır indirgeyici antioksidan kapasite
DAD	: Diyot dizisi dedektörü
DPPH	: 1,1-Difenil-2-Pikril Hidrazil
f/g	: Fruktoz/glikoz oranı
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
g	: Gram
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
HMF	: Hidroksimetil furfural
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IHC	: Uluslararası Bal Komisyonu
L	: Litre
meq	: Miliekivalent
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir kısım
RID	: Kırılma indeksi dedektörü
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
TE	: Troloks eşdeğeri
TGK	: Türk Gıda Kodeksi

Troloks	: 6-Hidroksi-2,5,7,8-Tetrametilkroman-2-Karboksilik asit
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
µl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Yazarın arıcılık faaliyetinden görsel-1.....	8
Şekil 2.2 Yazarın arıcılık faaliyetinden görsel-2.....	9
Şekil 2.3. Bal arısı <i>Apis mellifera</i> (Berk, 2020)	9
Şekil 2.4. Bitki poleni örneği (Anonim, 2023).....	11
Şekil 2.5. Arı poleni örneği (Anonim, 2023)	11
Şekil 2.6. Farklı renklere sahip arı polenleri (Krell, 1996)	12
Şekil 2.7. Polen toplayan bal arısı (Anonim, 2023)	12
Şekil 2.8. Polen toplayan bal arısı (Anonim, 2023)	13
Şekil 2.9. Polenleri kovana getiren arılar (Anonim, 2023)	14
Şekil 2.10. Petek hücrelerine paketlenmiş polenler (Fuenmayor et al., 2014).....	16
Şekil 2.11. Petek hücrelerinden çıkarılmış arı ekmeği (Kieliszek et al., 2018)	17
Şekil 2.12. Balların sınıflandırılması (TGK, 2020).....	21
Şekil 2.13. Çam balı	22
Şekil 2.14. Çiçek balı (Bergamo et al., 2019)	23
Şekil 2.15. Prolinin kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.16. Hidroksimetilfurfural (HMF)’nin açık kimyasal yapısı	28
Şekil 2.17. Glikozun kimyasal yapısı (Berk, 2020)	31
Şekil 2.18. Fruktozun kimyasal yapısı (Berk, 2020).....	31
Şekil 2.19. Sakarozun kimyasal yapısı (Berk, 2020)	32
Şekil 2.20. Maltozun kimyasal yapısı (Berk, 2020).....	32
Şekil 2.21. Kristalize olmuş bal	33
Şekil 2.22. Kristalize olmuş bal	34
Şekil 2.23. Krem bal.....	38
Şekil 2.24. <i>in vitro</i> sindirim aşamaları (Özkan et al., 2023)	41
Şekil 3.1. Krem bal yapma makinesi	44
Şekil 3.2. Krem bal üretim şeması	45
Şekil 3.3. Laboratuvarımızda üretilen krem bal örneği.....	45
Şekil 3.4. HPLC cihazı.....	46
Şekil 3.5. Cihaz kalibrasyonuna ait kromatogram örneği	47

Şekil 3.6. Cihaz kalibrasyon grafiği örneği	47
Şekil 3.7. Spektrofotometre cihazı	48
Şekil 3.8. Şeker standartlarına ait kalibrasyon grafikleri örneği	49
Şekil 3.9. Şeker standartlarına ait kromatogram örneği	49
Şekil 3.10. <i>in vitro</i> sindirim özeti (Özkan et al., 2023)	51
Şekil 4.1. Diastaz sayısı dağılımı	55
Şekil 4.2. HMF değerleri dağılımı	55
Şekil 4.3. Prolin değerleri dağılımı	56
Şekil 4.4. Toplam fenolik içeriği dağılımı	59
Şekil 4.5. Toplam fenolik içeriği dağılımı	62
Şekil 4.6. ABTS antioksidan kapasite dağılımı	65
Şekil 4.7. CUPRAC antioksidan kapasite dağılımı	68
Şekil 4.8. DPPH antioksidan kapasite dağılımı	70

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Balın ortalama bileşimi	24
Tablo 2.2. Balların taşınması gereken özellikler (Türk Gıda Kodeksi, 2020)	25
Tablo 4.1. Numunelerin fizikokimyasal değerleri	54
Tablo 4.2. Polen ve perga numunelerinin şeker profili	56
Tablo 4.3. Örneklerin <i>in vitro</i> sindirim öncesi ve sonrası toplam fenolik içeriği	59
Tablo 4.4. Örneklerin <i>in vitro</i> sindirim öncesi ve sonrası toplam flavonoid içeriği	62
Tablo 4.5. Numunelerin <i>in vitro</i> sindirim ABTS antioksidan kapasitesi	65
Tablo 4.6. Numunelerin <i>in vitro</i> sindirim CUPRAC antioksidan kapasitesi	67
Tablo 4.7. Numunelerin <i>in vitro</i> sindirim DPPH antioksidan kapasitesi	69

ARI EKMEKLİ VE POLENLİ KREM BAL ÜRETİM PROSESİNİN IN VITRO BİYOAKTİVİTE VE BİYOERİŞEBİLİRLİK ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

ÖZET

Arıcılık faaliyeti modern bir buluş olmayıp, bilinen en eski gıda üretim faaliyetlerinden biridir. Son zamanlarda ortaya çıkan hastalıklar, salgınlar ve toplumun refah düzeyinin artması sonucunda insanların doğal ürünlere olan talebi artmıştır. Tüketicilerin doğal, biyoaktif bileşenler açısından zengin ve sağlığa ek faydaları olan fonksiyonel gıdalara talepleri giderek artmaktadır. Bal, yaklaşık %18'lik bir su içeriği ve %70'den fazla şeker içeriğine sahip aşırı doymuş bir şeker çözeltisi olduğundan dolayı kristalleşmeye eğilimlidir. Sıvı balda kristalleşme genellikle arzu edilmezken, damak tarafından algılanmayacak kadar çok sayıda küçük boyutlu kristallerin bulunduğu krem bal gibi arzu edilen bir ürünü yapmak için kontrollü kristalleştirme işlemi kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın iki temel amacı bulunmaktadır; birincisi sade, pergalı ve polenli üç farklı krem bal üretiminin gerçekleştirilmesi, ikincisi ise krem bal üretim prosesinin balın fizikokimyasal özelliklerine, *in vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonu ile biyoerişilebilirliğine etkisinin ve antioksidan kapasitesinin incelenmesidir.

Çalışma bulgularına göre; en yüksek diastaz sayısı (15,63), HMF içeriği (11,52 mg/kg) ve prolin içeriğine (562,24 mg/kg) sahip numune pergalı krem bal numunesidir. En az diastaz sayısı (12,48), HMF içeriği (10,77 mg/kg) ve prolin içeriğine (419 mg/kg) sahip numune ise süzme bal numunesidir. Krem bal prosesinin etkisi göz önünde bulundurulduğunda diastaz sayısı, HMF içeriği ve prolin içeriği bakımından tüm numuneler arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Toplam fenolik içerik (mg GAE/g örnek) bakımından başlangıç, mide ve bağırsak fazlarının tümünde en yüksek değerlere (sırasıyla 11,88; 10,68; 8,35) pergalı krem bal numunesi sahiptir. Toplam fenolik içerik, *in vitro* gastrointestinal sindirim boyunca tüm numunelerde azalmıştır. Toplam flavonoid içerikte de, toplam fenolik içeriğe benzer şekilde *in vitro* gastrointestinal sindirim boyunca tüm numunelerde azalma görülmüştür. ABTS yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite değerleri, *in vitro* gastrointestinal sindirim boyunca tüm numunelerde artmıştır. CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite sonuçları, tüm numunelerde başlangıca göre mide fazında azalma gösterirken, bağırsak fazında tekrar artmıştır. DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite değerlerinde ise toplam flavonoid içerik ve toplam fenolik içeriğe benzer şekilde *in vitro* gastrointestinal sindirim boyunca tüm numunelerde azalma görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bal, polen, perga, kristalizasyon, krem bal, *in vitro* biyoerişilebilirlik, biyoaktivite.

EFFECT OF CREAMED HONEY WITH BEE BREAD AND POLLEN PRODUCTION PROCESS ON *IN VITRO* BIOACTIVITY AND BIOACCESSIBILITY

ABSTRACT

Beekeeping is not a modern invention, but is one of the oldest known food production activities. In recent years, balanced and healthy nutrition has gained importance due to increasing diseases and concerns about synthetic foods or food additives. Consumers are increasingly demanding functional foods that are natural, rich in bioactive ingredients and have additional health benefits. Honey is prone to crystallization because it is a supersaturated sugar solution with a water content of approximately 18% and a sugar content of more than 70%. The new product, which consists of very small crystals that cannot be perceived by the palate, and is formed as a result of controlled crystallization to improve the sensory and physical properties of honey, such as giving natural honey a spreadable feature, is called creamed honey. This study has two main aims; The first aim is to produce three different creamed honeys, plain, with perga and pollen. The second aim is to examine the effect of the creamed honey production process on the physicochemical properties of honey, its bioaccessibility with *in vitro* gastrointestinal digestion simulation and its antioxidant capacity.

According to the study findings; The sample with the highest diastase number (15,63), HMF content (11,52 mg/kg) and proline content (562,24 mg/kg) is the creamed honey with perga sample. The sample with the lowest diastase number (12,48), HMF content (10,77 mg/kg) and proline content (419 mg/kg) is the filtered honey sample. Considering the effect of the creamed honey process, there was no significant difference between all samples in terms of diastase number, HMF content and proline content ($p>0.05$). In terms of total phenolic content (mg GAE/g sample), creamed honey with perga sample had the highest values in all initial, gastric and intestinal phases (11,88; 10,68; and 8,35, respectively). Total phenolic content decreased in all samples throughout *in vitro* gastrointestinal digestion. Total flavonoid content also decreased in all samples throughout *in vitro* gastrointestinal digestion, similar to the total phenolic content. Antioxidant capacity values determined by the ABTS assay increased in all samples throughout *in vitro* gastrointestinal digestion. Antioxidant capacity results determined by the CUPRAC assay showed a decrease in the gastric phase when it is compared to the initial in all samples but increased again in the intestinal phase. Antioxidant capacity values determined by the DPPH analysis decreased in all samples throughout *in vitro* gastrointestinal digestion, similar to the total flavonoid content and total phenolic content.

Keywords: Honey, pollen, perga, crystallization, creamed honey, *in vitro* bioaccessibility, bioactivity.

1. GİRİŞ

Son zamanda ortaya çıkan hastalıklar, salgınlar ve toplumun refah düzeyinin artması sonucunda insanların doğal ürünlere olan talebi artmıştır. İnsan beslenmesi ve sağlığı arasında çok güçlü ilişki mevcuttur. Doğal gıdalar veya doğal besin takviyeleri insan beslenmesinde önemli bir yer edinmiştir. Tüketicilerin doğal, biyoaktif bileşenler açısından zengin ve sağlığa ek faydaları olan bu tür ürünlere olan tercihleri oldukça önemli hale gelmektedir. Örneğin; gıdalardaki doğal antioksidanların fizyolojik yararlarına olan ilgi giderek artmaktadır.

Arıcılık faaliyeti tarih boyunca hemen her çağda insanoğlunun ilgisini çeken ve geçim kaynağı haline gelmiş bir meslek olmuştur. Arıcılık, insan sağlığı açısından taşıdığı önem, gelir kaynağı olma ve istihdama sağladığı katkı nedeniyle günümüzde de yaygın olarak uygulanan bir tarımsal faaliyettir. Örneğin; 2021 yılında Bingöl ilinde arıcılık yaklaşık 157413 kovan ve 1724 ton bal üretimiyle (TÜİK, 2022) önemli bir gelir kaynağı haline gelmiştir.

Üretim bakımından kayda değer miktarda bal depolayanlar yalnızca sosyal türlerin oluşturduğu bu büyük kolonilerdir. Bu arılar, bal arıları olarak bilinen *Apis* cinsine aittir. İnsanlar bu arı türlerinden geçmişten günümüze kadar hem şifa hem de besin amaçlı faydalanmışlardır. Kontrollü bir şekilde arı ürünlerinden faydalanma (bal üretimi gibi) uygulaması, Minos Çağına ait arıcılığı gösteren mezar resimlerinde yansıtılmaktadır (Engel ve ark. 2009; Reybroeck et al. 2014).

En çok bilinen arı ürünleri bal, arı poleni ve propolistir. Ancak bunun yanı sıra arı sütü, balmumu ve arı zehiri de son derece önemli ürünlerdir. Bu ürünlerin arı kolonisinde ve insan sağlığında farklı rolleri vardır. Arı ürünleri antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, anti-tümör, antiinflamatuvar gibi birçok özellikler sağlayan biyoaktif bileşikler açısından son derece zengindir. Arı ürünlerinin çok sayıda farklı bileşik ve kompozisyonu içermesi, çevre koşullarına göre değişmesi, ülkemizin dünyada en büyük bal üreten ülkelerinden biri olması nedeniyle arı ürünleri önemli bir konuma sahiptir.

Arı poleni, işçi bal arıları tarafından çiçekli bitki polenlerinin nektar ve kendilerine has salgılarıyla (tükürük bezlerinden gelen enzimlerle) karıştırılmasıyla elde edilen pelet görünümlü bir üründür. Arı poleni, protein, lipitler, vitaminler veya polifenoller bakımından besinsel ve biyoaktif değeriyle iyi bilinmektedir. Geleneksel tıpta, alternatif diyetlerde ve tamamlayıcı beslenmede arı poleni, besleyici özellikleri ve sağlığa olan faydaları nedeniyle uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Raporlar, polenin, ekzin tabakası nedeniyle insan sindirim sistemine girerken yeterince sindirilmediğini gösteriyor. Ancak polenin besin değeri yüksektir (Rebiai et al., 2013). Arılar hayatta kalmak için en önemli protein kaynağı olan poleni toplamak ve tüketmek zorundadır. Arı polenin kimyasal bileşimi önemli ölçüde botanik kökenine, coğrafi bölgeye, depolama şartlarına, işleme şartlarına, iklim koşullarına ve bazı çevresel faktörlere bağlıdır (Almeida-Muradian et al., 2005).

Bal arıları tarafından toplanan polenler petek gözlerinde depolanır ve vücutlarındaki enzimlerle işlerler. Bu süreç sonucunda, peteklerde depolanan ve arı ekmeği (perga) olarak adlandırılan bir ürün ortaya çıkmaktadır. Perga, arılar için önemli bir besin deposu olarak işlev görür ve içeriğinde polen, nektar, bal, arı salgıları ve bitkisel özler bulunmaktadır. Arılar, perga depolarını yavrularını beslemek ve koloniyi beslemek için kullanırlar. İnsan tüketimi için de uygun olan perga, çeşitli besin maddeleri içerir ve doğal antibakteriyel ile antioksidan özelliklerinden dolayı sağlık açısından önemli görülmektedir. Bu nedenle, beslenme takviyeleri veya sağlık ürünleri içinde kullanılmaktadır. Arı ekmeğinin bileşimi polenden farklıdır. Laktik asit varlığı ve daha fazla miktarda K vitamini nedeniyle daha yüksek asitliğe sahiptir. Laktik asit fermentasyonu süreci polenin kalite kaybına uğramasını engellemek yanı sıra, aynı zamanda enzimatik dönüşümlerin sonucunda eskisinden farklı yeni maddelerin oluşmasına da katkı sağlamaktadır. Arılar için en besleyici ürün olan arı ekmeği proteinlerin, lipitlerin, mikro elementlerin ve vitaminlerin ana kaynağıdır.

Özellikle şeker kamışının yaygınlaşmasına kadar en önemli tatlandırıcı madde olarak kullanılmaktaydı (Khan et al., 2018). Balın bileşimi botanik köken, arı türü, iklim, çevre şartları ve işleme koşullarına göre değişebilmektedir (Ramos et al., 2018). Balda bitki nektarından kaynaklı 300'ün üzerinde farklı bileşik tespit edilmiştir (Bentivenga et al., 2004). Bal dünyada en yaygın olarak tüketilen ve en eski gıda ürünlerinden biridir (Meo

et al., 2017). Ayrıca günümüzde fonksiyonel gıda olarak da sınıflandırılmaktadır (Badolato et al., 2017). Bal antiülser, antiviral, antitümör, antimikrobiyal, antioksidan ve tedavi edici aktivitelere sahip olduğundan tam gıda olarak kabul edilmektedir (Bueno-Costa et al., 2016). Balın üretiminden tüketimine kadar standartlara uygun ve hijyenik bir şekilde üretilmesi, muamele edilmesi, işlenmesi, muhafaza edilmesi, transfer ve pazara arz edilmesi süreçlerinde balın kalite parametrelerini korunması ve güvenliği için balların asgari düzeyde taşınması gereken özellikler ve limitler bulunmaktadır.

Balın içerdiği nem miktarı %15-20 arasında değişmekte olup, karbonhidratlardan sonra balın toplam bileşimi içerisinde en yüksek orana sahiptir (Ramalhosa et al., 2011). Balın mineral içeriği %0,1 ile %0,8 arasında değişmekte olup bu oran, bitkinin kökenine, ortam koşullarına ve işleme yöntemine bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir.

Balın içerdiği farklı miktarlardaki mineraller ve ağır metaller, başlıca toprağın bileşiminden etkilenmektedir. Mineraller insan metabolizması ve sağlığı için hayati bir rol oynar. İnsan beslenmesinde bulunmaları kritik öneme sahiptir ancak güvenli limitlerinin üzerine çıkarlarsa olumsuz etki meydana çıkabilmektedir (Madejczyk and Baralkiewicz, 2008).

Baldaki toplam protein miktarı %0,22 ile %2,93 arasında değişmektedir. Bal fizyolojik olarak esansiyel amino asitlerin neredeyse tamamını içermektedir (Santos-Buelga et al., 2017). Balın amino asit içeriği (a/a) yaklaşık %1'dir (Hermosin et al., 2003). Balda 20'den fazla farklı amino asit bulunmaktadır.

Hidroksimetil furfural (HMF) balda bulunan heksoz şekerlerinin asidik ortamda dehidrasyonu veya Maillard reaksiyonu sonucunda oluşan bir bileşiktir. HMF oluşumu yüksek sıcaklık, nem içeriği, metalik kapların kullanımı, kötü depolama şartları, pH, toplam asitlik, mineral içeriği gibi faktörlere bağlıdır (Saxena et al., 2010). Bala ısı işlem uygulaması, kötü muhafaza şartları zamanla HMF miktarını artırabilmektedir. Baldaki HMF miktarının artması kalitenin düşmesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Zirbes et al., 2013). HMF nörotoksik, kanserojen, genotoksik ve mutajenik dahil olmak üzere insan sağlığında diğer risklere neden olan toksik bir madde olarak kabul edilmektedir (Shapla et al., 2018).

Balın olgunlaşması sırasında arıların salgılayıp bala karıştırdığı çeşitli enzimler mevcuttur. İnvertaz, diastaz, glikoz oksidaz, katalaz, amilaz, α -glukosidaz, β -glukosidaz balın içerisinde bulunan bazı enzimlerdir (Ramalhosa et al., 2011). Balın elektriksel iletkenliğinin ölçümü, genellikle balın çiçek mi yoksa salgı balı mı olduğu, botanik ve coğrafi kaynağı gibi bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır (Acquarone et al., 2007; Yadata, 2014).

Balın elektriksel iletkenliğindeki farklılaşma baldaki minerallerden, organik asitlerden, poliol içeriklerinden ve proteinlerden kaynaklanmaktadır. Elektriksel iletkenlik, iyonlaşabilen çözünen madde konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (Hermosin et al., 2003).

Bal, kuru ağırlık bazında sakarozdan yaklaşık %25 daha tatlıdır. Balın tamamının yaklaşık %80'i (glikoz %31 ve fruktoz %38,5 başta olmak üzere), kuru madde içeriğinin ise yaklaşık %95'i karbonhidratlardan oluşmaktadır (Kasprzyk et al., 2018; Anthony, 2021). Balın su içeriği düşüktür ve ana bileşenleri fruktoz ve glikozdan oluşan karbonhidratlardır. Bal, yaklaşık %18'lik bir su içeriği ve %70'den fazla şeker içeriğine sahip aşırı doymuş bir şeker çözeltisi olarak düşünülebilir (Bogdanov, 2016). Bu düşük su içeriği nedeniyle bal kristalleşmeye eğilimlidir.

Balda kristalleşme, balın aşırı doymuş yapısından dolayı farklı boyutlarda monohidrat glikoz kristallerinin oluşumu, çökmesi ve balın katılaşması olarak tanımlanmaktadır (Zamora and Chirife, 2006). Kristalizasyon işlemini ve hızını etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Yaygın olarak glikozdan daha fazla fruktoz içeren ballarda kristalleşmenin daha yavaş gerçekleştiği kabul edilmektedir. Glikoz-fruktoz içeriğine ek olarak, balın içerisinde bulunan ve önceden oluşan kristaller (çekirdek görevi görür) veya safsızlıkların (polen, toz vb.) varlığı gibi kristalleşmeyi etkileyen başka faktörler de vardır.

Kristalleşme sürecinin tersi olan dekrizalizasyon, balın katıdan sıvı faza sıvılaştırılması olarak tanımlanmaktadır (Subramanian et al., 2017). Geleneksel bir ısıtma yöntemi olan su banyosunda balın dekrizalizasyonu işlemi, arıcılıkta kullanılan en yaygın uygulamadır. Bu ısıtma metodu sadece dekrizalizasyon için değil aynı zamanda

mikroorganizmaları uzaklaştırmak için de uygulanmaktadır. Geleneksel ısıtma işlemi çoğunlukla 24-48 saat boyunca 40°C'den yüksek olmayan sıcaklıkta bir su banyosunda gerçekleştirilmektedir. Ancak gerek bilinçli gerekse bilinçsiz olarak bu şartların dışına çıkılmaktadır (Džugan et al., 2021).

İnsanlar çoğu zaman doğal gıdaların tüketiminin herhangi bir risk oluşturmayacağını düşünürler. Ancak bir gıda ürünü doğal olmasına rağmen zamana bağlı olarak veya uygulanan işlemler sonrasında doğallığını kaybedebilir, yapısı bozulabilir veya içeriğinde zararlı maddeler oluşabilir. Gıdalarda oluşan bu maddelerin bir kısmı toksiktir. Bu toksik bileşikler zaman zaman insan sağlığı açısından risk oluşturabilmektedir.

Yukarıda da bahsedildiği gibi bal, zamana bağlı kristalleşmeye duyarlı, genellikle aşırı doymuş, oldukça viskoz bir şeker çözeltisidir. Ticari balların çoğunda kristalleşme, faz ayrılması, çökelme ve su aktivitesinin artması nedeniyle kalite kaybına neden olan bir kusurdur. Ballarda arzu edilmeyen kristalizasyon olayını asgari düzeye indirmek veya dekrizalizasyon işlemlerinden olan bala ısıtma işlemi uygulamasını önlemek amacıyla kontrollü bir şekilde kristalizasyon uygulanabilir.

Çok küçük boyutlardaki kristal yapıların (dondurma vb. ürünlerde olduğu gibi) bulunduğu, bala sürülebilir ve yayılabilir özellik katmak gibi balın organeleptik ve fiziksel özelliklerinin geliştirilmesi için kontrollü kristalizasyon işlemi yapılmaktadır. Bu kontrollü kristalizasyon işlemi sonucu oluşan ve balın başlangıç halinden neredeyse farklı olmayan yeni ürün, krem bal olarak tanımlanmaktadır (Karasu et al., 2015). Krem bal, normal koşullar altında ham balda oluşabilecek daha büyük kristallerin oluşumunu önleyen çok sayıda küçük kristaller içerir. Tereyağına benzer pürüzsüz, sürülebilir bir kıvama sahip ve kontrollü koşullar altında üretilen krem bal, nektar balı ile aynı besin değerini korur. Krem balın kimyasal içeriği ham balın kimyasal içeriğinden neredeyse farksızdır. Farklılığın büyük çoğunluğu fiziksel ve duyuşal özelliklerdir (Džugan et al., 2017).

Biyoaktif bileşiklerin az da olsa uzun süreli alımlarının, hücreleri potansiyel oksidatif zararlardan koruyarak kanser olasılığını önleme potansiyeli gösterebileceğine dair kanıtlar vardır. Bununla birlikte, zengin fitokimyasal diyetlerin alımı ve etkinliği bu

bileşiklerin insan gastrointestinal sisteminden farklı şekillerde etkilenebileceğinden ve sonuç olarak biyolojik aktivitelerine yansıyabileceğinden dolayı sindirimden önceki durumundan farklı olabilmektedir. Bu nedenle, gastrointestinal sisteme maruz kalan biyoaktif bileşiklerden kaynaklanan değişikliklerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Sindirim süreçlerini simüle eden *in vitro* yöntemler, gıda veya ilaçların gastrointestinal davranışını incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

İnsan beslenmesi çalışmalarında *in vitro* yöntemler daha hızlı, daha ucuz, daha az emek avantajına sahiptir ve etik kısıtlamalara gerek duymamaktadır. Bu, tarama amacıyla nispeten çok sayıda numunenin paralel olarak daha kolay ve daha hızlı ölçülmesine olanak sağlar. İnsan sindirimi sırasında gıdada meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikler biyoerişilebilirliği, biyoyararlanımı ve sonuç olarak belirli bir bileşiğin veya bileşik grubunun biyoaktivitesini etkileyebilmektedir (Lucas-González et al., 2018). Gıda bileşenlerinin biyoerişilebilirliği ve biyoyararlanımının değerlendirilmesi, esas olarak besinlerin biyoaktif bileşiklerle ilişkili sağlık yararları ve aynı zamanda toksik etkilerinin araştırılması dünya çapındaki araştırmacıların ve bazı şirketlerin dikkatini üzerine çekmektedir.

Bu çalışmanın iki temel amacı bulunmaktadır. Birincisi; sade, pergalı ve polenli üç farklı krem bal üretiminin gerçekleştirilmesi, ikincisi ise; krem bal üretim prosesinin balın fizikokimyasal özelliklerine, *in vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonu ile biyoerişilebilirliğine etkisinin ve antioksidan kapasitesinin incelenmesidir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Arıcılık

Arıcılık faaliyeti modern bir buluş olmayıp, bilinen en eski gıda üretim faaliyetlerinden biridir. Geç Paleolitik ve hatta Mezolitik dönem eserlerinin kanıtladığı üzere, insanların arılar ile tanışması ve bal üretimi ile uğraşması oldukça eskiye dayanmaktadır (Reybroeck et al. 2014). Arıcılığın yapıldığına dair en eski kanıtlarından birisi, milattan önce yaklaşık 13.000 yıllarına ait kaya resimlerinin olduğu düşünülmektedir (Harissis and Harissis 2009). Dünya geneline bakıldığında arıcılık geçmişte en çok Mısır'da iyi gelişmiştir ve Romalı yazarlar tarafından tartışılmıştır (Gupta et al. 2014).

Şimdiye kadar keşfedilip sınıflandırılan yaklaşık 30.000 arı türü vardır. Bu türlerin çoğu sosyal olmayıp tek yaşamaktadır. Ancak bazı arılar da sosyal türler olup bitkilerden nektarı toplar, bunu bala dönüştürür ve bir besin kaynağı olarak depolamaktadır (Engel et al. 2009). Üretim bakımından kayda değer miktarda bal depolayanlar yalnızca sosyal türlerin oluşturduğu bu büyük kolonilerdir. Bu arılar, bal arıları olarak bilinen *Apis* cinsine aittir. İnsanlar bu arı türlerinden geçmişten günümüze kadar hem şifa hem de besin amaçlı faydalanmışlardır. Kontrollü bir şekilde arı ürünlerinden faydalanma (bal üretimi gibi) uygulaması, Minos Çağına ait arıcılığı gösteren mezar resimlerinde yansıtılmaktadır (Engel ve ark. 2009; Reybroeck et al. 2014).

İnsanlar dünya çapında bal ve diğer arı ürünlerini elde etmek amacıyla arılardan birçok farklı yolla faydalanmaktadır. Günümüzde arıcılık için en yaygın olarak kullanılan bal arısı türleri Avrupa, Asya ve Afrika'ya özgüdür (Wenke and Olszewski, 2007). Farklı arı kovanları tasarımı, üretimi, yönetimi, yetiştirme sistemleri geliştirme, yüksek verimlilikle bal üretme ve pazarlama metotlarını mükemmelleştiren yenilikçiler 19. Yüzyılda son derece popüler hale gelmiştir (Luo et al. 2008).

Türkiye'de arıcılık, Anadolu uygarlıkları, Anadolu Türkleri Beylikleri, Selçuklular ve Osmanlı döneminde olduğu gibi günümüzde de yaygın olarak yapılan bir tarım

faaliyetidir (Reybroeck et al. 2014). Türkiye'nin yedi coğrafi bölgesinde flora yapısı (yaygın olarak bilinen bitki türleri *Papaver*, *Castanea*, *Tamarix*, *Rosa*, *Carduus* ve *Malus*), mevcut bitki türlerinin farklı çiçeklenme dönemleri, topografik konumu, farklı mevsimlerin aynı zamanda görülmesi, ayçiçeği ve pamuk gibi sanayi bitkilerinin geniş alanlara yayılması ve çam bolluğu gibi faktörler nedeniyle arıcılık sektörünün çok hızlı gelişmesine neden olmuştur. Ayrıca bu faktörler, Türkiye'nin arıcılık faaliyetleri açısından çok daha ileri bir konumda olmasını ve bu faaliyete bağlı olarak yüksek oranda ürün üretilmesini zorunlu kılmaktadır (Özkırım 2006).

2020 yılı verilerine göre Türkiye 8.179.085 koloni ile koloni sayısı bakımından dünyada üçüncü ülke olup, dünya stokundaki payı %9'dur. Dünya bal üretim miktarlarına bakıldığında; Çin 466 bin ton bal üretimi ile (yaklaşık %40'lık paya sahip) birinci sıradadır. Türkiye ise 104 bin ton bal üretimi (yaklaşık %9 paya sahip) ile ikinci sırada yer almaktadır (Kadiroğlu 2022; FAOSTAT 2022). Arıcılık, dünyanın çeşitli bölgelerinde olduğu gibi ülkemizde de bazı bölgelerde geçim kaynağı haline gelmiştir. Örneğin; arıcılık, 2021 yılında 157,413 kovan ve 1,724 ton bal üretimi ile TRB-1 bölgesinde ilk sırada yer alan Bingöl (Türkiye) ilinde geçim kaynağı haline gelmiştir (Kadiroğlu 2022; TÜİK 2022). Yazarın bilimsel araştırma ve hobi amaçlı Bingöl ilinde yaptığı arıcılık faaliyetinden görseller Şekil 2.1 ve Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Yazarın arıcılık faaliyetinden görsel-1



Şekil 2.2. Yazarın arıcılık faaliyetinden görsel-2

Türkiye’de *Apis mellifera caucasica* (Türkiye’nin kuzey doğusu), *Apis mellifera anatoliaca* (İç Anadolu) ve bunların Muğla, Gökçeada, Marmara ve Karadeniz ekotipleri gibi farklı arı ırkları ve ekotipleri mevcuttur. Bal arısı *Apis mellifera*’ya ait görsel Şekil 2.3’de verilmiştir. Her bal arısı ırkı ve ekotipi, yaşadığı bölgeye bağlı olarak morfolojisinde, davranışında ve endemik aralığının çevresel özelliklerini yansıtmaktadır. Önemli miktarda çiçek balı ve salgı balı üretimi gerçekleştirilmektedir (Reybroeck et al. 2014).



Şekil 2.3. Bal arısı *Apis mellifera* (Berk, 2020)

2.2. Arı Ürünleri

Son zamanlarda hızlıca yayılan hastalıklar, yapay besinler veya gıda katkı maddeleri ile ilgili endişeler artmaktadır. Bu faktörlerden dolayı dengeli ve sağlıklı beslenme kadar

doğal beslenme de önem kazanmıştır. Tüketicilerin doğal, biyoaktif bileşenler açısından zengin ve sağlığa ek faydaları olan fonksiyonel gıdalara talepleri giderek artmaktadır. Bu bağlamda bal, propolis, arı poleni ve arı ekmeği gibi arı ürünlerini içeren, besin değeri yüksek ve sağlığa olumlu etkileri olan doğal fonksiyonel ürünlerin bulunmasına yönelik araştırmalara ilgi giderek artmaktadır (Kieliszek et al., 2018).

Arı ürünleri arasında en çok bilineni ve tüketileni baldır. Ancak arı sütü, arı zehri, polen, perga (arı ekmeği) ve propolis hem sağlık hem de beslenme açısından insan için en az bal kadar değerli diğer arı ürünleridir. Bu gıda ürünleri antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, anti-tümör, antiinflamatuvar özellikler sağlayan biyoaktif bileşikler açısından zengindir. Arı ürünlerinin çok sayıda farklı bileşik ve kompozisyonu içermesi, çevre koşullarına göre değişmesi, ülkemizin dünyadaki bal üretiminde önemli bir yere sahip olması nedeniyle arı ürünlerinin karakterizasyonu ve kalitesinin korunması son derece önemlidir.

Arı ürünleri biyouyumluluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve toksik olmayan bir yapı gibi çok yönlü biyolojik özelliklere sahiptir (Kaškonienė et al., 2008). Bu nedenle, ilacın dolaşımının artması, taşıma yüklerinin artması, ilaçların bozulmaya karşı korunması ve sistemik uygulamayı zorlaştıran doğal farmakolojik özelliklere sahip ilaçları çözündürme yeteneği nedeniyle geleneksel ilaçlar için tamamlayıcı bileşenler olarak veya nanopartikül üretiminde birçok avantaj sunarlar. Örneğin; arı ekmeğinin benzersiz özellikleri, nanopartiküllerin üretimini önemli ölçüde arttırmak için kullanılabilir ve gelecekteki çabalar, gelişmiş görüntüleme, sondalama ve kanser tedavisi için rasyonel olarak tasarlanmış arı ürünleri-nanopartiküllerden yararlanılabilir (Khalifa et al., 2020).

2.2.1. Arı Poleni

Polenler tohumlu bitkilerin üremesinde görev alan çapı 2,5 µm ila 250 µm arasında değişen mikrosporlardır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Bitki poleni örneği (Anonim, 2023)

Arı poleni, işçi bal arıları tarafından çiçekli bitki polenlerinin nektar ve kendilerine has salgılarıyla (tükürük bezlerinden gelen enzimlerle) karıştırılmasıyla elde edilen pelet görünümlü bir üründür (Şekil 2.5) (Rebiai et al., 2013).



Şekil 2.5. Arı poleni örneği (Anonim, 2023)

Arı poleni, Şekil 2.6’te gösterildiği gibi beyazdan siyaha kadar değişebilen, çoğunlukla sarı, turuncu veya sarımsı kahverengi farklı renk ve şekillerle karakterize edilir. Ancak botanik kaynaklarına göre çeşitli farklı renkler de mümkündür (Popov-Raljić et al., 2010). Arı polenin geometrik şekli genelde küresel şekiller baskın olsa da polenin görünümü, çeşitli şekil ve boyutlarda heterojen taneler formundadır (Popov-Raljić et al., 2010).



Şekil 2.6. Farklı renklere sahip arı polenleri (Krell, 1996)

Her bir polen tanesi, intin ve ekzin kısımlarından oluşan matriks tipi iki hücre katmanla çevrelenmiş bitkisel ve üretken hücrelerden oluşmaktadır (Denisow and Denisow-Pietrzyk, 2016). İntin olarak adlandırılan iç kısım esas olarak selüloz ve pektinden oluşur, ekzin olarak bilinen dış kısım ise ağırlıklı olarak kompleks bir karbonhidrat olan sporopollenin (sporoderm) tarafından oluşmaktadır (Denisow and Denisow-Pietrzyk, 2016). Dış katmanın görevi fizikokimyasal faktörlere karşı koruma sağlamaktır (Komosinska-Vassev et al., 2015). Bal arısı sindirim enzimleri sporopollenin ve selülozu sindirimi çok zor veya neredeyse imkânsız olsa da, hemiselüloz ve pektik asit bileşenlerinin bal arıları tarafından kısmen sindirilebildiği ileri sürülmektedir (Roulston and Cane, 2000).



Şekil 2.7. Polen toplayan bal arısı (Anonim, 2023)

İşçi arılar doğadaki gezileri sırasında çiçeklerin başçıklarından geçerken polenler vücutlarına yapışır. Arılar, çiçeklerden polen tanelerini toplayıp, çeşitli taraklar ve kıllar yardımıyla arka ayakları üzerinde polen toprakları halinde depolarlar. Bu işlem sırasında bu bacakların her birinde bir polen yükü oluşur ve arılar daha sonra bu polen yüklerini kovanlarına taşırlar (Şekil 2.7 ve Şekil 2.8.) (Almeida-Muradian et al., 2005).



Şekil 2.8. Polen toplayan bal arısı (Anonim, 2023)

Arıcılar, arıların getirdiği polenleri çeşitli tiplerdeki polen tuzakları kullanarak rahatlıkla toplayabilmektedir. Kovan girişine sabitlenen polen tuzakları sayesinde, arılar kovanlarına girdiklerinde polen yüklerinin büyük kısmı tuzaklara takılmakta (Şekil 2.9) ve arıcılar tarafından toplanmaktadır (Barth et al., 2010). Arıcılar her arı kolonisinden günde yaklaşık 50-250 g, yılda ise yaklaşık 7 kg'a kadar polen toplayabilmektedir (Komosinska-Vassev et al., 2015). Arı poleninin hasadı, saflaştırılması ve depolanması, optimum kaliteyi korumak için önemli basamaklardır. Hasat edilen taze arı poleninin nem içeriği (su aktivitesi değeri 0,66-0,82) küflerin gelişmesi için uygun bir ortam olduğundan dolayı polenin toplandıktan sonra 1 gün içinde kurutulması gerektiği ve taze polenin nem içeriğinin yaklaşık %25'ten %6'nın altına düşürülerek karanlık bir yerde saklanması veya kurutma yapılmayacaksa dondurularak muhafaza edilmesi gerektiği belirtilmektedir (Gupta et al., 2014).



Şekil 2.9. Polenleri kovana getiren arılar (Anonim, 2023)

Arıcı, arıların getirdiği tüm polen yüklerini toplamamalı, kolonilerde nüfusun geri kalanı için yeterli polenin (ana protein kaynağı) bulunduğundan emin olmalıdır. Polen insanlar için iyi bir besin takviyesi olmasının yanı sıra koloni popülasyonunu arttırmak için de kullanılmaktadır (Barth et al., 2010). Arı poleni yavru gelişimi, normal koloninin büyümesi ve bakımı amacıyla çiçek poleni aglütinasyonu sonucu arılar tarafından üretilen bir besindir (Feás et al., 2012). Arılar hayatta kalmak için en önemli protein kaynağı olan poleni toplamak ve tüketmek zorundadır (Almeida-Muradian et al., 2005).

Arı poleninin kimyasal bileşimi önemli ölçüde botanik kökenine, coğrafi bölgeye, depolama şartlarına, işleme şartlarına, iklim koşullarına ve bazı çevresel faktörlere bağlıdır. Arı poleninin ortalama bileşimi; %13-55 karbonhidratlar, %10-40 protein, %0,3-20 ham lifler ve %1-10 lipitlerdir (Nogueira et al., 2012). Ayrıca arı poleni vitaminler (C, B1, B2, B6, tokoferol, folik asit, β -karoten, B-kompleksi gibi), mineraller (Mg, Ca, K, Fe, Cu, Zn gibi) eser elementler, fenolik bileşikler (rutin, kuersetin, kafeik asit, resveratrol, kaempferol, kateşin gibi), flavonoidler, sterol ve terpenler gibi yaklaşık 250 bileşen içermektedir (Conte et al., 2018). Arı poleni içerdiği ham lif, lipit, karbonhidrat, protein ve diğer doğal önemli bileşikler sayesinde mükemmel gıdalar arasında anılır (Kostić et al., 2015).

Arı poleninin besin değeri özellikle protein fraksiyonundan gelmektedir. Arı poleni yaklaşık %35 protein içerir ve proteinlerinin yarısı serbest aminoasit formunda olduğundan vücutta doğrudan emilebilmektedir (Campos et al., 1997). Arı poleni valin,

fenilalanin, treonin, histidin, izolösin, metiyonin, lösin, lizin, triptofan, tirozin ve sistein gibi önemli amino asit kaynağıdır (Taha et al., 2017). Arı poleni içerdiği değerli bileşenler sayesinde eski çağlardan beri hem hastalıklardan korunmak hem de besin maddesi olarak kullanılmıştır. Arı polenin antikanser, antioksidan, antibakteriyel, antineoplastik, antifungal ve antiinflamatuvar aktiviteler gibi birçok terapötik özelliği vardır (Denisow and Denisow Pietrzyk, 2016).

Arı polenin antioksidan aktivitesi yani oksijen radikallerinin inaktivasyonu, antioksidan enzimler, fenolik maddeler, vitaminler ve diğer sekonder bileşiklerin içeriğinden kaynaklanmaktadır (Carpes et al., 2007). Flavonoidler, düşük moleküler ağırlıklı polifenollerin en bol ve en sık çalışılan sınıfıdır. Arı poleni diğerlerinin yanı sıra apigenin, galangin, kafeik asit, kafeik asit fenetil ester (CAPE), kuersetin, rutin, kaempferol bakımından zengindir (Denisow and Denisow-Pietrzyk 2016).

Arı polenin içeriğinde var olan flavonoidlerin elektrofilleri inaktif ettiği, serbest radikalleri, reaktif oksijen türlerini (ROS) temizlediğini ve buna bağlı olarak mutajeniteyi önlediği bildirilmiştir (Pascoal et al., 2014). Flavonoidlerin fenolik hidroksil gruplarından gelen hidrojen, serbest radikal zincir oksidasyonunu yakalar, böylece daha fazla oksidasyonu engelleyen kararlı son ürünler oluştururlar (Campos et al., 2008). Flavonoidlerin diğer bir görevi de metal iyonlarını kendine bağlayarak toksik metalleri vücuttan uzaklaştırmaktır (Rzepecka-Stojko et al., 2012). Flavonoidler serbest radikallere karşı savunmayı destekler ve genotoksik maddelere veya kanserojenlere karşı bir savunma faktörü olarak görev görür. Bununla birlikte, arı polenin antioksidan etkisi türe özgüdür ve bitkiler arasında önemli ölçüde farklılık gösterir (Campos et al., 2003). Arı poleni biyobileşiklerinin hücre fonksiyonu üzerindeki etkisinin bir diğer önemli mekanizması, protein fosforilasyonunu uyarma veya inhibe etme ve böylece hücre proliferasyonunun inhibisyonu da dâhil olmak üzere hücre sinyal yollarını değiştirme kapasitesine de sahiptir (Richardson et al., 2000).

Polenin antimikrobiyal aktivitesi, arılar tarafından üretilen ve salgılanan glikoz oksidaz enziminin varlığı ile bağlantı kurulmaktadır. Glikoz oksidaz enzimi, polen granülleri oluşma aşamasında polene eklenir (Erkmen and Özcan, 2008). Mikrobiyolojik aktivitenin fenolik asitler ve flavonoidlerle ilişkili olduğu da gösterilmiştir (Carpes et al., 2007).

Flavonoidlerin ve fenollerin bakteri ve mantar hücrelerine karşı etki mekanizması, potasyum iyonlarının kaybına ve hücre otolizinin başlamasına yol açan sitoplazma zarının bozulmasıdır (Fatrčová-Šramková et al., 2013).Yapılan bir çalışmada Avrupa’da üretilen arı polenin, örneğin *Staphylococcus aureus* ve *Candida glabrata*’ya karşı bazı antimikrobiyal etkileri gözlemlenmiştir (Salles et al., 2014) .

Duclos et al. (2007), deneysel bir klinik çalışmada arı poleni ekstraktlarının prostat sekresyonunun oksidatif stresini azaltma ve antioksidan aktivitede artış gözlemlenmiştir.

Bazı çalışmalar arı polenin lipit metabolizmasını artırma ve kan serumundaki triaçilgliserol ve toplam lipitleri azaltma, kan akışını düzenleme ve insan kan damarlarındaki aterosklerotik değişiklikleri önleyebilme yeteneğine sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Komosinska-Vassev et al., 2015). Ayrıca yüksek oranda içerdiği flavonoidler ve fenolik asitler sayesinde toksik maddelerin miktarını azaltma ve karaciğer dokusunu hasardan koruyarak detoksifikasyon sürecinde önemli bir rol oynamaktadır (Komosinska-Vassev et al., 2015).

2.2.2. Arı Ekmeği (Perga)

Polenin arılar tarafından sahadan kovana transferinin bir sonraki fazı, polenin kovanda bulunan petek hücrelerine paketlenmesidir (Fuenmayor et al., 2014). Şekil 2.10’da petek hücrelerinde paketlenmiş polen örneklerine ait görsel verilmiştir.



Şekil 2.10. Petek hücrelerine paketlenmiş polenler (Fuenmayor et al., 2014)

Polen, petek hücrelerine paketlenirken arılar tarafından bala ilaveten arıların kendi salgı bezlerinde bulunan organik asitler, sindirim enzimleri ve arı mumu ile karıştırılarak zenginleştirilir (Deveza et al., 2015). Bu karışım, farklı enzimlerin, mikroorganizmaların, nem ve sıcaklığın (yaklaşık 35–36°C) etkisiyle farklı kimyasal işlemlere tabi tutulur ve yaklaşık 2 hafta içinde laktik fermentasyonu sonucunda arı ekmeği adını almaktadır (Deveza et al., 2015). Yeni çıkan arılar daha yüksek miktarda bal ve arı ekmeği tükettiğinden, böylece arılardaki glikojen ve azot içeriğini artırdığından, sonbaharda genç arılar için yaza göre yüksek protein içeriği bildirilmiştir. Kuru ağırlık, ortaya çıktıktan sonraki ilk günlerde de yükselir (Fuenmayor et al., 2014).

Arı ekmeği çoğu zaman petek hücrelerinden çıkarılarak tüketilmektedir. Şekil 2.11’de petek hücrelerinden çıkarılıp tüketime hazır hale getirilen arı ekmeği gösterilmektedir.



Şekil 2.11. Petek hücrelerinden çıkarılmış arı ekmeği (Kieliszek et al., 2018)

Lactobacillus mikroorganizmalarının meydana getirdiği polenin laktik fermentasyon prosesi, anaerobik koşullar altında peteklerde meydana gelmektedir. Polenin yapısında bulunan dış kılıflar, polenin arı ekmeğine dönüşmesi sürecinde parçalandığı için arı ekmeğinin çoğu bileşimi polene kıyasla daha kolay emilmektedir (Kieliszek et al., 2018). Arı ekmeğinin bileşimi polenden farklıdır. Laktik asit varlığı ve daha fazla miktarda K vitamini nedeniyle daha yüksek asitliğe sahiptir (Isidorov et al., 2009). Arı ekmeğindeki laktik asidin kalitesi polenle karşılaştırıldığında altı kat daha yüksektir. Arı ekmeğinin daha yüksek aktivitesi, küflerin ve mikroorganizmaların büyümesinin engellenmesi nedeniyle arı ekmeğinin iyi bir şekilde korunmasına neden olur (Deveza et al., 2015).

Laktik fermentasyon süreci polenin kalite kaybına uğramasını engellemenin yanı sıra, aynı zamanda enzimatik dönüşümlerin sonucunda eskisinden farklı yeni maddelerin oluşmasına da katkı sağlamaktadır. Arılar için en besleyici ürün olan arı ekmeği proteinlerin, lipidlerin, mikro elementlerin ve vitaminlerin ana kaynağıdır. Arı ekmeği ile yapılan çalışmalar kısmen az olduğundan dolayı elde edilen veriler azdır ve karşılaştırılması zordur. Arı ekmeğinin ortalama bileşimi yaklaşık %25-30 karbonhidrat, %20 protein, %3 lipid, %3 mineral ve vitamin içeriği gösterilmiştir (Nagai et al., 2004).

Polendeki protein konsantrasyonu arı ekmeğinden daha yüksektir. Polen proteinleri, fermentasyon işlemi sırasında peptitlere ve serbest amino asitlere indirgenebilmektedir (Kieliszek et al., 2018). Arı ekmeğinin yüksek serbest amino asit seviyesi, polipeptit seri içinde mevcut olan ve peptit bağlarının kırılmasını sağlayan özgün proteolitik enzimlerin etkinliğinin neden olduğu düşünülmektedir (Nagai et al., 2004).

Arı ekmeği, B vitaminlerinin yanı sıra taze polende bulunmayan K vitamini açısından da zengindir. Ancak nadirde olsa arı ekmeğinde bazı amino asitlerin (triptofan gibi) konsantrasyonu polene kıyasla daha düşük olabilir. Bu olay, fermentasyon sürecindeki mikrobiyal aktivitenin neden olduğu indirgeme süreci ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Bazı mikroorganizmalar, büyümeleri için amino asitleri bir karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilir. Ayrıca, serbest amino asitler de proteinlerin yapısına dahil edilebilir ve bu da konsantrasyonlarını azaltır. Arı ekmeğindeki bu bileşiklerin içeriği sadece polen kaynağına bağlı değil, aynı zamanda arı ekmeğine dönüşümü gerçekleştiren arıların genotipi faktörü de etkilidir (DeGrandi-Hoffman et al., 2013).

Bir arı ekmeği örneğinde atomik absorpsiyon spektrometrisi kullanılarak mineral içeriği ölçülmüştür. Çalışma sonucunda arı ekmeğinin Ca, Mg, K, Zn, Pb, P, Fe, ve Mn elementleri tespit edilmiştir (Andelković et al., 2012). Arı ekmeğinin mineral içeriğinin, çiçek poleni kaynağına bağlı olarak değişiklik gösterebileceği ileri sürülmüştür.

İçerdiği biyoaktif bileşenlerin miktar ve kalitesi sebebiyle perga, insan vücudunun vitamin ve diğer bazı besin eksikliğini tamamlayabilecek mükemmel bir gıda ürünüdür. Bir organizmayı güçlendirmek ve düzgün işleyişini sağlamak için farklı yönlerde hareket eder. Arı ekmeği tüm esansiyel amino asitleri içerdiğinden dolayı hayvansal proteinlere

dayalı olarak tüketilen çoğu doğal ve kaliteli üründen daha iyi bir besin olarak değerlendirilir. Arı ekmeğinin endüstriyel olarak toplanması prosedürü; kurutma, bölümlere ayırma, filtreleme ve dezenfekte etme olmak üzere dört adıma ayrılabilir (Markiewicz-Żukowska et al., 2013).

Bazı araştırmacılar tarafından arı ekmeğinin baldan daha fazla besin değerine sahip olduğu iddia edilmektedir. Çünkü arı ekmeği fenolik bileşikler, vitaminler ve magnezyum, kalsiyum, potasyum ve çinko gibi temel mineraller bakımından daha zengindir (Baltrušaitytė et al., 2007).

Abouda et al. (2011), arı ekmeği ekstraktlarının bazı patojenik bakterilere (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Pseudomonas aeruginosa*) karşı antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Tüm numuneler, test edilen bakteri suşlarına karşı belirgin bir etki sergilediğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca; gram-pozitif bakterilerin arı ekmeğine karşı gram-negatif bakterilerden daha duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada, Brezilya'nın çeşitli bölgelerinden arı ekmeğinin etanol ekstraktı Streptokok büyümesini inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca arı ekmeğinin gram pozitif bakterilere karşı, gram negatif bakterilerden daha fazla etki gösterdiği bildirilmiştir (Baltrušaitytė et al., 2007).

Litvanya balı ve arı ekmeği örneklerinin serbest radikal süpürücü aktivitesinin belirlenmesi üzerine bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda arı ekmeğinin baldan daha fazla kaempferol içeriği nedeniyle baldan daha güçlü antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir (Baltrušaitytė et al., 2007).

Arı ekmeği, yetişkin arıların ve arı larvalarının gelişimi ve büyümesi için önemli bir protein kaynağıdır. Proteinden zengin diyetlerin tüketimi bal arısı işçilerinde hipofaringeal bez gelişimini etkiler. Bal arısı işçileri arı ekmeği ile beslendiğinde hipofaringeal bezin maksimum gelişimi gözlenmiştir (Al-Ghamdi et al, 2011; Yoder et al., 2013). Arı ekmeği ayrıca bazı hayvanlar için de gıda takviyesi olarak kullanılmıştır. Tavukların arı ekmeği gıda takviyesi ile beslenmesi üzerine yapılan bir çalışmada, pozitif kontrole kıyasla farklı daha ağır vücut ağırlıkları sergilediği, dolayısıyla arı ekmeğinin

tavuk diyetlerinde büyüme destekleyicisi ve doğal antioksidan olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Doğurganlık yüzdesi kontrol gruplarına göre anlamlı olarak iyileşirken, set yumurtaların kuluçka yüzdesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (Awad et al., 2013).

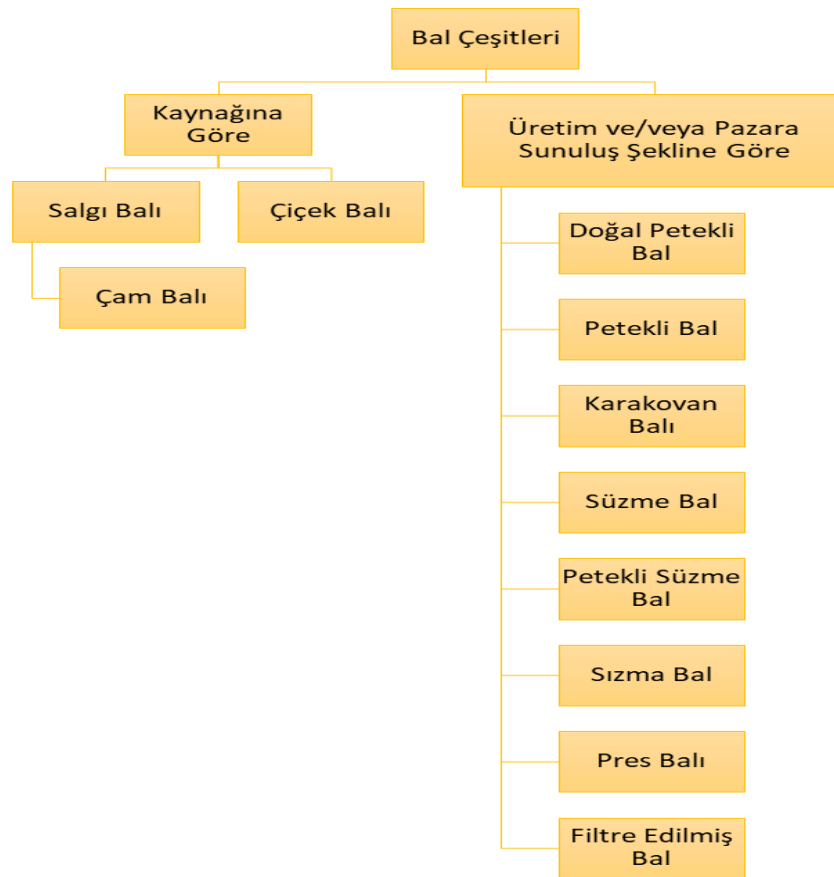
Arı ekmeğinin mevcut popülaritesi yanı sıra, yaygın bir gıda koruyucusu olarak kullanılmasına yol açan antibakteriyel ve antifungal özelliklerine de sahip olmasıdır (Anderson et al., 2014). Arı ekmeği, yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip yüksek düzeyde bakteriyosin üretir (Audisio et al., 2005). Diğer arı ürünleri ile karşılaştırıldığında, arı ekmeği yüksek asitlik, düşük su aktivitesi, büyük miktarlarda laktik asit ve yüksek oksidasyon-indirgeme potansiyeli gösterir, bu da gıda muhafazasının altında yatan mekanizmayı açıklamaktadır (Leistner, 2000; Nagai et al., 2004).Çeşitli toksinlerin vücuttan atılmasına katkı sağlayan arı ekmeği, bu özelliğinden dolayı da değer görmektedir (Gibriel et al., 2016).

Arı ekmeği, tüm esansiyel amino asitlerin ve önemli miktarda protein, vitamin ve doğal antioksidanlar gibi fenolik bileşiklerin varlığı nedeniyle birçok hayvansal protein ürününden daha iyi bir bileşime sahiptir (Abouda et al., 2011; Nagai et al., 2005). Arı ekmeğinin ayrıca lipid metabolizmasını düzenlemeye yardımcı olduğu ve kronik eklem ve kardiyovasküler hastalıklardan muzdarip hastalar üzerinde olumlu bir etkisi olduğu da bildirilmektedir (Nagai et al., 2004).

2.2.3. Bal

Türk Standartları Enstitüsü (TSE) bal tebliği (TS 3036) balı şu şekilde tanımlamaktadır; “Bal esas olarak yüksek oranda glukoz ve fruktoz gibi indirgen şekerleri içerir. Balın genel olarak rengi beyazdan koyu kahverengine kadar farklılık gösterebilmektedir. Avrupa Ekonomik Topluluğu (AET) konseyi balı *Apis mellifera* arıları tarafından bitkilerin nektarından, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarından veya bitki emen böceklerin bitkilerin canlı kısımları üzerindeki salgılarından toplandıktan sonra kendilerine ait belirli maddelerle birleştirerek değişikliğe uğrattığı nem içeriğini düşürdüğü ve olgunlaştırmak için peteklere depoladıkları doğal ürün olarak tanımlanmıştır (Kasprzyk et al., 2018). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (Tebliğ No:

2020/7)’nde (TGK) de yukarıdaki tanıma benzer olmak beraber “doğası gereği kristallenebilen” ifadesi 2020 yılındaki tebliğde eklenmiştir. Bal akışkan, viskozitesi yüksek, doğal olarak tümü ya da bir kısmı kristalleşebilir, tadı ve aroması botanik kökenine bağlı olarak değişir” ifadesi yer almaktadır. Bal, tarihte bilinen ve tüketilen en kadim gıdalardandır. Bilhassa şeker kamışının yaygınlaşmasına dek en önemli tat verici madde olarak kullanılmaktaydı (Khan et al., 2018). Gıdalarda hem tatlandırıcı amaçlı hem de fermentasyon için temel substrat olarak işlenmiştir. Besleyici ve şifa özelliği sebebi ile bal, eski çağlardan beri tatlandırıcı ve aroma verici olarak kullanılmakta ve iyi bir enerji kaynağıdır. Bal dünyada en yaygın olarak tüketilen gıdalardan biridir (Bogdanov, 2016; Meo et al., 2017). Ayrıca günümüzde fonksiyonel gıda olarak da sınıflandırılmaktadır (Badolato et al., 2017). Bal anti ülser, anti viral, anti tümör, anti mikrobiyal, antioksidan ve tedavi edici aktivitelere sahip olduğundan dolayı tam gıda olarak düşünülmektedir (Martos et al., 2000). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği’ne (Tebliğ No: 2020/7) göre balların sınıflandırılması “kaynağına göre” ve “üretim ve/veya pazara sunuluş” şekline göre yapılmıştır (Şekil 2.12).



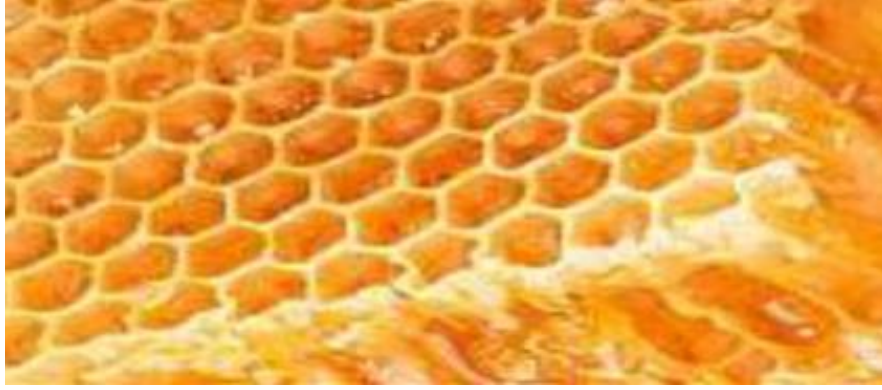
Şekil 2.12. Balların sınıflandırılması (TGK, 2020)

Bal arıları bitkilerin nektarının yanı sıra diğer tatlı bileşiklerle de beslenebilmektedir. Ağaçlarda yaşayan bazı emici böceklerin salgıları buna örnek olabilir. Dolayısıyla ortaya çıkan salgı balının iki farklı organizmanın işbirliğinin ürünü olduğunu söylemek mümkündür (de-Miguel et al., 2014). Bitki üzerinde yaşayan emici böcek bitkiden bir salgı üretir, daha sonra bal arısı bu salgıyı tüketerek bal üretir. Çam, kestane, meşe gibi bitkilerin canlı parçalarının ve/veya çeşitli böceklerin salgılarından arılar tarafından üretilen bir bal türüdür (de-Miguel et al., 2014; Pita-Calvo, 2018). Türkiye’de üretilen çam balının büyük çoğunluğunun kökeni Türk Çamı olarak adlandırılan çam ağaçlarından (*Pinus brutia*) gelmektedir (Crane, 1999). Bu süreçte en çok bulunan böcekler özellikle *Marchalina hellenica* türleridir (Gounari, 2006). Çam balları genel olarak nektar ballarına göre daha koyu renk, belirgin yoğun bir aromaya sahip olup elektrik iletkenliği gibi fizikokimyasal özellikleri yüksektir. Ayrıca; genel olarak çam balının probiyotikler için prebiyotik özellik taşıyan oligosakkarit içeriği, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri çiçek balına göre daha yüksektir. Çam balının ticari değeri, nektar balıyla karşılaştırıldığında tedavi edici özellikleri sayesinde artmaktadır. Çam balının çiçek ballarına göre daha koyu bir renge (Bkz. Şekil 2.13) ve belirgin yoğun bir aromaya sahip olduğu belirtilmektedir (Marchese, 2009; Pita-Calvo, 2017).



Şekil 2.13. Çam balı

Çiçek balı, bitkilerin nektarlarından üretilen (Bkz. Şekil 2.14) bir bal türüdür (Pita-Calvo, 2017). Türkiye’de hem salgı balı hem de çiçek balı olmak üzere her iki bal çeşidi de mevcuttur. Çam balı ülkemizde çoğunlukla çam ağaçlarının bulunduğu bölgelerden üretilirken, çiçek balı ise ülkenin farklı yerlerinde üretilmektedir.



Şekil 2.14. Çiçek balı (Bergamo et al., 2019)

Balları ayrıca monofloral ve multifloral olarak sınıflandıran kaynaklar da mevcuttur (Alvarez- Suarez et al., 2014). Monofloral bal söz konusu olduğunda arıların beslenmesinde baskın olan bir bitki türü vardır ve bal bu bitki adı ile anılır. *Prunus* spp. ve *Citrus* spp. biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), devedikeni (*Cirsium* sp.), ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) ve anason (*Pimpinella anisum* L.) monofloral bal üretimi için önemli bitkilerdir (Makhloufi et al., 2015). Monofloral balların kökeninin tespiti için polen analizi yapılabilmektedir. Ancak multifloral bal arılar tarafından farklı botanik kaynaklardan üretilir ve baskın bir kaynak yoktur (Alvarez- Suarez et al., 2014). Bitki nektarındaki aromatik bileşikler nedeniyle ortaya çıkan bal da doğası gereği farklı özellikler taşıyabilmektedir. Balda bitki nektarından kaynaklı 400'ün üzerinde farklı aromatik bileşik tespit edilmiştir (Bentivenga et al., 2004). Bu aromatik uçucu bileşikler o kadar güçlüdür ki, bir grup spesifik bileşiğe göre balın kökeni bile tespit edilebilir (Moreira et al., 2002).

Balın bileşimi botanik köken, arı türü, iklim, çevre şartları ve işleme koşullarına göre değişebilmektedir (Rababah et al., 2014; Ramos et al., 2018). Balda yaklaşık %75-80 karbonhidrat, %15-20 su, %0,1-0,4 protein ve %0,2 kül bulunmaktadır. Ayrıca fenolik bileşikler, vitaminler, organik asitler, amino asitler, mineraller, enzimler, karetenoidler, flavonoidler ve aroma maddeleri gibi yaklaşık 200 kadar daha başka bileşen bulunmaktadır. Bu bileşenler balın kalitesini ve karakteristik özelliklerini belirlemede yardımcı olmaktadır (Kasprzyk et al., 2018; Saroğlu, 2018). Tablo 2.1 balın parametrelere göre ortalama bileşimini göstermektedir (Bogdanov, 2009).

Tablo 2.1. Balın ortalama bileşimi

Parametreler	Ortalama Değer (%)	Min-Maks Değerler (%)
Asit	0,50	0,2-0,8
Mineraller	0,36	0,11-0,72
Diğer şekerler	8,50	0,1-16
Fruktoz	39,44	37,07-42,65
Glikoz	28,15	18,2-32,1
Sakaroz	3,19	0,36-16,57
Nem içeriği	17,90	13,1-26,5
Fenolik bileşikler	0,10	0,02-0,2
Vitaminler, Enzimler	<0,10	0,17-1,17
Toplam protein	1,13	0,22-2,93

2.2.3.1. Balın Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Balın üretiminden tüketimine kadar standartlara uygun ve temiz bir şekilde imal edilmesi, muamele edilmesi, muhafaza edilmesi, transfer edilmesi ve pazara arz edilmesi aşamalarında balın kalite parametrelerini korunması ve güvenliği için Türk Gıda Kodeksi 2020 yılında 2020/7 nolu tebliğ yayınlamıştır. İlgili tebliğe göre piyasaya arz edilen bazı çiçek ve salgı ballarının asgari düzeyde taşınması gereken özellikler ve limitleri Tablo 2.2’de verilmiştir.

2.2.3.2. Nem içeriği

Balın içerdiği nem miktarı %15-20 arasında değişmekte olup (Tablo 2.1. karbonhidratlardan sonra balın toplam bileşimi içerisinde en yüksek orana sahiptir (Ramalhosa et al., 2011). Balın nem içeriği raf ömrü, kalite stabilitesi ve fermentasyona karşı stabilitede rol oynadığı için balın hayati fizikokimyasal parametreleri arasında yer almaktadır. Balın antimikrobiyal aktiviteye sahip olmasının en önemli özelliğinden biri de düşük nem içeriğine sahip olmasıdır (Lawal et al., 2009; Ramalhosa et al., 2011). Yeterince olgunlaşmış balda su aktivitesi yaklaşık 0,56-0,62 arasında değişmektedir. Düşük su aktivitesine sahip olan balda bakteri ve mayaların büyümesine karşı direnç olmaktadır. Genel olarak çiçek ballarının nem içeriği yaklaşık %17,2 olup, çam

ballarının nem içeriğinden (yaklaşık %16,3) yüksektir. Ancak bu durum botanik kaynak, sıcaklık vb. çevresel faktörlere göre değişebilmektedir (Lawal et al., 2009). Türk Gıda Kodeksi'ne göre balın nem içeriği hem çiçek hem de salgı balı için en fazla yüzde yirmi olmalıdır (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Balların taşınması gereken özellikler (Türk Gıda Kodeksi, 2020)

Parametreler	Çiçek Balı	Salgı Balı
Nem (en fazla)	%20	%20
Sakaroz (en fazla)	5 g/100 g	5 g/100 g
Fruktoz +Glukoz (en az)	100 g'da 60 g	100 g'da 45 g
Fruktoz / Glukoz	0,9 - 1,4	1,0-1,4
Maltoz (% , en fazla)	4	4
Suda çözünmeyen madde (en fazla)	0,1 g/100 g	0,1 g/100 g
Serbest asitlik (en fazla)	50 meq/kg	50 meq/kg
Elektrik iletkenliği	En fazla 0,8 mS/cm	En az 0,8 mS/cm
Diastaz sayısı (en az)	8	8
HMF (en fazla)	40 mg/kg	40 mg/kg
Bal $\delta^{13}\text{C}$ değeri ($\delta^{13}\text{C}_{\text{bal}}$)	-23 ve daha negatif	- 23 ve daha negatif
Balda protein ($\delta^{13}\text{C}_{\text{protein}}$) ve bal ($\delta^{13}\text{C}_{\text{bal}}$) $\delta^{13}\text{C}$ değerleri arasındaki fark	-1,0 veya daha pozitif	-1,0 veya daha pozitif
Balda protein ve bal $\delta^{13}\text{C}$ değerlerinden hesaplanan C4 şekerleri oranı (en fazla)	%7	%7
Prolin miktarı (en az)	300 mg/kg	300 mg/kg
Naftalin miktarı (en fazla)	10 ppb	10 ppb

2.2.3.3. Mineraller ve Ağır Metaller

Balın mineral içeriği %0,1 ile %0,8 arasında değişmekte olup bu oran, bitkinin kökenine, ortam koşullarına ve işleme yöntemine bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir. Balın içerdiği farklı miktarlardaki mineraller ve ağır metaller, başlıca toprağın bileşiminden etkilenmektedir. Çünkü mineraller kökler sayesinde bitkinin diğer

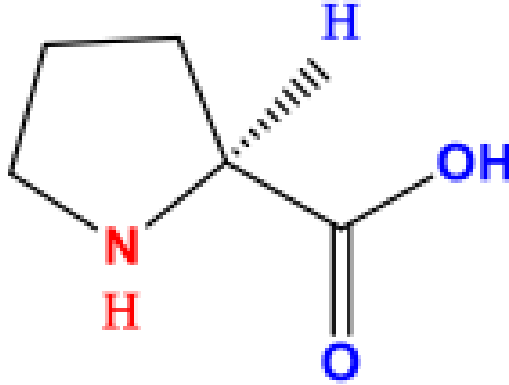
bölmelerine geçmekte ve daha sonra bu nektardan üretilen bala geçmektedir. Balın mineral ve ağır metal içeriği toprak yapısının yanı sıra çiçek ve bitki türüne göre de farklılık gösterebilmektedir. Ayrıca bu faktörlere ilaveten çevre kirliliği, arıcılık uygulamaları, bal işleme vb. yer almaktadır (Pohl, 2009). Balın mineral içeriği balın açıktan koyuya kadar değişen rengine katkıda bulunur. Genellikle salgı balının mineral içeriği daha fazla olduğundan dolayı çiçek balına kıyasla rengi daha koyudur (Dhahir and Hemed, 2015).

Mineraller insan metabolizması ve sağlığı için hayati bir rol oynar. İnsan beslenmesinde bulunmaları kritik öneme sahiptir ancak güvenli limitlerinin üzerine çıkarlarsa olumsuz etki meydana çıkabilmektedir (Madejczyk and Baralkiewicz, 2008). Farklı bal türlerinin benzersiz kimyasal bileşen kombinasyonlarına sahip olduğu bulunmuştur. Bakır, arsenik, kobalt, iyot, çinko, lityum, nikel, kadmiyum, sodyum, fosfor, potasyum, magnezyum, kalsiyum, demir, baryum, selenyum, krom, mangan çeşitli ballarda bulunan bazı mikro ve makro element minerallerine örnektir (da Silva et al., 2016).

2.2.3.4. Proteinler ve Amino Asitler

Baldaki toplam protein miktarı %0,22 ile %2,93 arasında değişmektedir. Bal fizyolojik olarak esansiyel amino asitlerin neredeyse tamamını içermektedir (Santos-Buelga et al., 2017). Globulin, proteoz, albümin ve pepton balda bulunan bazı proteinlerdir (Chua et al., 2013). Baldaki proteinler, stabil karbon izotop oranıyla baldaki taşıyışın belirlenmesinde uluslararası standart olarak kullanılmaktadır (Chua et al., 2013). Balın amino asit içeriği (a/a) yaklaşık %1'dir (Hermosin et al., 2003). Balda 20'den fazla farklı amino asit bulunmaktadır. Bunlar arasından başlıca bilinenleri; arginin, aspartik asit, glutamin, glutamik asit, histidin, glisin, metionin, alanin, sistein, valin, treonin, tirozin, fenil alanin, izolösin, serin, aminobütirik asit, ornitin, lösin, triptofan, alanin asparajin, triptofan, sistein ve prolindir. Balın olgunluğunu belirleyen ve başlıca amino asit olan prolin, toplam amino asit içeriğinin yaklaşık %50-85'ini oluşturan baskın amino asittir (Ramalhosa et al., 2011; Sakaç et al., 2019). Prolinin kimyasal yapısı Şekil 2.15'te verilmiştir. Prolin, bal arıları (*Apis mellifera L.*) tarafından nektardan bal yapma sürecinde tükürük bezlerinden salgılanmaktadır (Belay et al., 2017).

Türk Gıda Kodeksi'ne göre hem çiçek hem de salgı balı için prolin miktarı en az 300 mg/kg olmalıdır (Tablo 2.1).



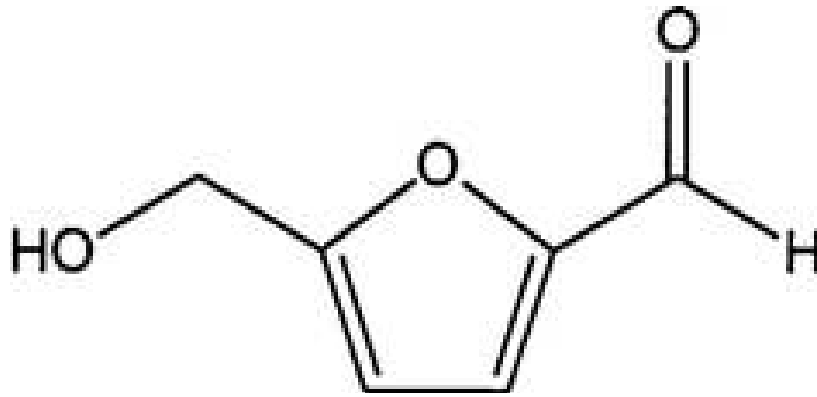
Şekil 2.15. Prolinin kimyasal yapısı (NIH, 2024)

2.2.3.5. Hidroksi Metil Furfural (HMF)

HMF balda bulunan heksoz şekerlerinin asidik ortamda dehidrasyonu veya Maillard reaksiyonu sonucunda oluşan bir bileşiktir. HMF altı karbonlu heterosiklik bir organik bileşiktir. Yapısında hem aldehit hem de alkol grupları bulunur. HMF'nin yapısı (Şekil 2.16), furan halkası üzerindeki ikinci karbona formilin ve beşinci karbona hidroksi-metilin eklenmesiyle oluşturulur. HMF oluşumu ikinci dereceden bir kinetik (oto-katalitik) ile tanımlanabilmektedir. HMF oluşumu yüksek sıcaklık, nem içeriği, metalik kapların kullanımı, kötü depolama şartları, pH, toplam asitlik, mineral içeriği gibi faktörlere bağlıdır (Saxena et al., 2010). HMF miktarı tayini, balın kalitesini ve tazeliğini değerlendirmek için kullanılmaktadır. HMF genellikle taze balda bulunmaz veya çok az miktarda bulunmaktadır. Bala ısıtma işlemi uygulaması, kötü muhafaza şartları zamanla HMF miktarını artırabilmektedir.

Burdurlu ve Karadeniz (2002)'in yaptıkları “Gıdalarda Maillard Reaksiyonu” adlı çalışmada her 10°C'lik sıcaklık artışının reaksiyon hızını yaklaşık olarak 4 katı artırdığını ileri sürmektedirler.

Baldaki HMF miktarının artması kalitenin düşmesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Zirbes et al., 2013). HMF nörotoksik, kanserojen, genotoksik ve mutajenik dahil olmak üzere insan sağlığında diğer risklere neden olan toksik bir madde olarak kabul edilmektedir (Shapla et al., 2018). Pek çok gıdada bulunması, bazı kurutulmuş meyvelerde ve karamel ürünlerinde bazen 1 g/kg'dan fazla bulunması nedeniyle insan sağlığı açısından potansiyel risklere neden olabilmektedir (Durling et al., 2009; Zirbes et al., 2013). Türk Gıda Kodeksi'ne göre hem çiçek hem de salgı balı için HMF miktarı en fazla 40 mg/kg olmalıdır (Tablo 2.1).



Şekil 2.16. Hidroksimetilfurfural (HMF)'nin açık kimyasal yapısı (NIH, 2024)

2.2.3.6. Enzimler

Balın olgunlaşması sırasında arıların salgılayıp bala karıttığı çeşitli enzimler mevcuttur. İnvertaz, diastaz, glikoz oksidaz, katalaz, amilaz, α -glukosidaz, β -glukosidaz balın içerisinde bulunan bazı enzimlerdir (Ramalhosa et al., 2011). Amilaz enzimi nişastayı bir disakkarit olan maltoza parçalarken, invertaz enzimi sakkarozun glikoz ve fruktoza dönüşümü gibi birçok reaksiyonu katalizler. Glikoz oksidaz ve katalaz gibi diğer önemli enzimler, balın antibakteriyel özelliklerinden biri olan hidrojen peroksitin (H_2O_2) üretimini kontrol etmektedir (Khan et al., 2018). İnvertaz ve amilaz enzimlerinin miktarı balın botanik kökenine göre değişiklik gösterebilmektedir. Diastaz ve invertaz enzimleri balın tazeliğinin göstergesi olarak kullanılır ve bal kalitesinin değerlendirilmesinde anahtar rol oynamaktadır (Sanchez et al., 2001). Türk Gıda Kodeksi'ne göre hem çiçek hem de salgı balı için diastaz sayısı en az 8 olmalıdır (Tablo 2.1).

2.2.3.7. Balın Viskozitesi

Viskozite bir akışkanın akmaya karşı gösterdiği mukavemetin ölçüsü olarak tanımlanmaktadır (Şahin et al., 2016). Bal, yüksek katı madde ve düşük su içeriğinden dolayı viskoz bir madde olarak sınıflandırılmaktadır. Balın viskozitesini etkileyen başlıca faktörler sıcaklık, su içeriği, kuru madde içeriği ve kristalliktir. Balın toplandığı botanik köken balın duysal özelliklerini etkilediğinden dolayı viskoziteyi de etkilediği kabul edilmektedir. Ancak aynı su içeriğine sahip olmasına rağmen farklı botanik kökenli bal örneklerinin viskoziteleri arasında zaman zaman farklar görülebilmektedir (Rybak-Chmielewska and Szczesna Pulawy, 1999; Berk, 2020). Sıcaklık farkları nerdeyse tüm malzemelerin viskozitesini ve akışkanlık davranışını önemli ölçüde etkilemektedir. Diğer çoğu maddelerde olduğu gibi bala ısıtılınca iç sürtünme kuvveti azalır ve böylece bal daha akışkan hale gelebilmektedir. Sıcaklık ile viskozite ters orantılıdır. Yani sıcaklık arttıkça balın viskozitesinde azalma görülmektedir. Bu ilişki Arrhenius denklemi ile açıklanabilir (Gómez-díaz et al., 2009). Sıcaklık ve su içeriği faktörleri göz önünde bulundurulduğunda, düşük sıcaklıklarda su içeriğinin viskoziteyi önemli ölçüde etkilediği ancak daha yüksek sıcaklıklarda etkisinin azaldığı bildirilmiştir (Bakier, 2017). Bunların yanı sıra balın içerdiği kristal miktarı değiştikçe matristeki küçük veya büyük partikül oluşumu nedeniyle viskozitesi de etkilenmektedir. Al Habsi et al. (2013) bundan dolayı viskoziteyi ölçmek, balın kristal içeriğini anlama potansiyelinin olduğunu ileri sürmektedirler. Ayrıca; viskoziteyi ölçerek baldaki tağşişi belirleme potansiyelinin bile olduğu rapor edilmiştir (Yılmaz et al., 2014).

2.2.3.8. Elektrik İletkenliği

Balın elektriksel iletkenliğinin ölçümü, genellikle balın çiçek mi yoksa salgı balı mı olduğu, botanik ve coğrafi kaynağı gibi bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır (Acquarone et al., 2007; Yadata, 2014). Balın elektriksel iletkenliğindeki farklılaşma baldaki minerallerden, organik asitlerden, poliol içeriklerinden ve proteinlerden kaynaklanmaktadır. Elektriksel iletkenlik, iyonlaşabilen çözünen madde konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Balın elektrik iletkenliği, 20°C'de çözeltideki %20 (a/h) ağırlıklı balın santimetre başına mili Siemens (mS/cm) cinsinden ölçülen elektrik iletkenliği olarak tanımlanmaktadır (Acquarone et al., 2007).

Yapılan bir araştırmada balın türünü belirlemek için bir prosedür üzerinde çalışılmış ve asitlik ölçümüyle birlikte elektriksel iletkenliğin, balın botanik kaynağını tahmin etmede önemli bir yöntem olduğu bulunmuştur (Popek, 2002).

Türk Gıda Kodeksi'ne göre çiçek ballarında bulunması gereken elektrik iletkenliği miktarı en fazla 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iken, salgı ballarında ise bu değer en az 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 'dir (Tablo 2.1).

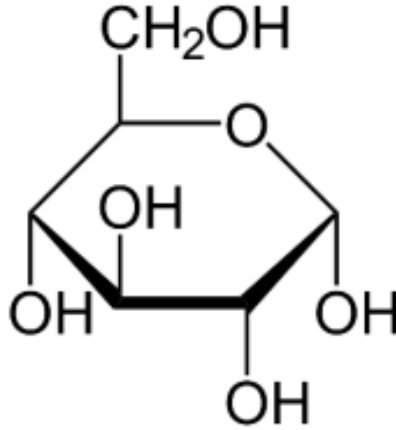
2.2.3.9. Su Aktivitesi

Bal, içerdiği kaliteli besin içeriği sayesinde canlılar için adeta mükemmel bir gıdadır. Bu özelliğinden dolayı sadece insanların veya bazı hayvanların odak noktası olmakla sınırlı kalmayıp, ayrıca mikroorganizmaların (özellikle mayalar) da besin listesinde yer almaktadır. Mayalar, uygun şartlar sağlandığında fermentasyon amacıyla balda fazla oranda gelişmektedir. Bunun sonucunda bal, mikroorganizmaların fermentasyon ürünleri nedeniyle bozulabilmektedir. Balda maya ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini tetikleyen en önemli faktör balın nem içeriğidir. Ancak mikroorganizmaların kullanabileceği su, serbest su olmasından dolayı mikrobiyal büyüme faktörünü açıklamak için nem içeriği tek başına yeterli değildir (Berk, 2020). Matristeki diğer içeriklerle etkileşimden dolayı serbest suyun durumunda değişiklik olabilmektedir. Bu etkileşimler, mikroorganizmaların kullanabileceği suyu sınırlayabilmektedir (Caurie, 2011). Suyun kimyasal potansiyelini, su aktivitesi adı verilen bir kavram ile açıklanabilmektedir. Su aktivitesi, matristeki suyun buhar basıncının standart durumdaki saf suyun buhar basıncına oranı olarak tanımlanmaktadır (Caurie, 2011). Bir mikroorganizmanın herhangi bir gıdada veya başka bir ortamda yaşayıp yaşayamayacağını ifade etmek için su aktivitesi değeri kullanılır. Su aktivitesi değeri, mikroorganizmaların ortamdaki kullanabileceği mevcut su hakkında bilgi verir.

2.2.3.10. Karbonhidratlar

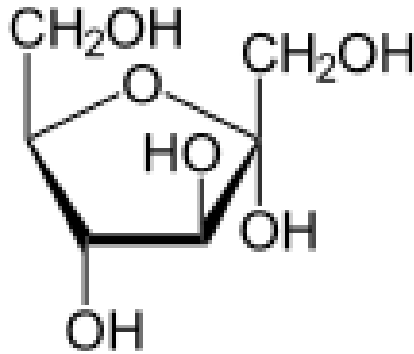
Bal, kuru ağırlık bazında sakkarozdan yaklaşık %25 daha tatlıdır. Balın tamamının yaklaşık %80'i (glikoz %31 ve früktoz %38,5 başta olmak üzere), kuru madde içeriğinin ise yaklaşık %95'i karbonhidratlardan oluşmaktadır (Kasprzyk et al., 2018; Anthony,

2021). Glikoz, 20°C’de 100 g çözelti içinde 47 g glikozun suda çözünürlüğüne sahip altı karbonlu bir monosakkarittir (Alves et al., 2007). Şekil 2.17’de Glikozun kimyasal yapısı verilmiştir.



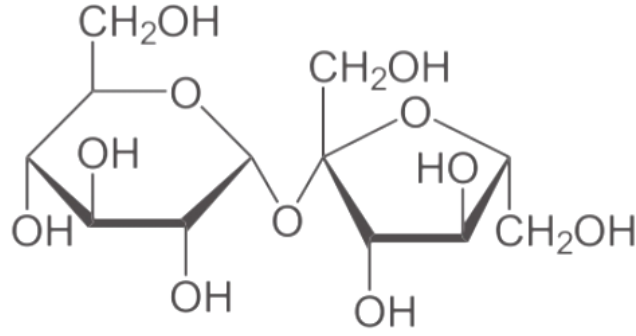
Şekil 2.17. Glikozun kimyasal yapısı (Berk, 2020)

Fruktoz ise 20°C’de 100 g çözelti içinde 79 g fruktoz suda çözünürlüğü olan altı karbonlu bir monosakkarittir (Crestani et al., 2013). Şekil 2.18’de Fruktozun kimyasal yapısı verilmiştir.



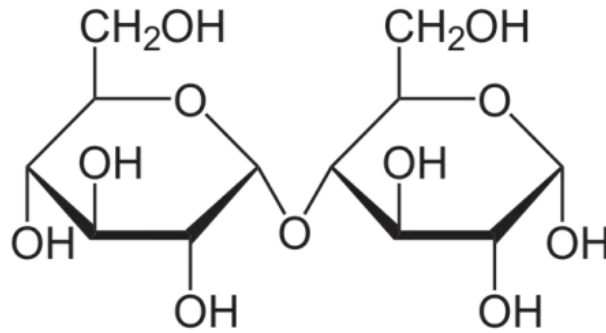
Şekil 2.18. Fruktozun kimyasal yapısı (Berk, 2020)

Sakaroz ve maltoz oranı ise sırasıyla yaklaşık %1,5 ve %7’dir (Anthony, 2021). Baldaki şekerlerin yaklaşık %75’i monosakkaritler, %10-15’i disakkaritler olup az miktarda diğer şekerler de mevcuttur (da Silva et al., 2016). Şekil 2.19’da sakarozun kimyasal yapısı verilmiştir. Glikoz, fruktoz ve galaktoz balın monosakkaritleridir. İzomaltoz, kojibioz, maltoz, sukroz, turanoz balın ana disakkaritleridir.



Şekil 2.19. Sakarovun kimyasal yapısı (Berk, 2020)

Şekil 2.20’de maltozun kimyasal yapısı verilmiştir. Sellobiyoz, gentiyobiyoz, maltuloz, nigeroz ve palatinoz balın minör disakkaritleridir. Ayrıca bal eser miktarda izomaltuloz, maltotetraoz, izomaltopentaoz ve nistoz içermektedir (Santos-Buelga and González-Paramás, 2017). Balın nem, enerji değeri, granülasyon ve viskozite gibi temel özellikleri şekerlere bağlı olarak değişebilmektedir (Kamal and Klein, 2011). Sakarov disakkaritlerinin hidrolizi sonucu, monosakkarit olan fruktoz ve glikoz oluşmaktadır.



Şekil 2.20. Maltozun kimyasal yapısı (Berk, 2020)

Genel olarak çiçek balının içerdiği fruktoz miktarı glikoza göre daha fazladır (El Sohaimy et al., 2015). Ayrıca bal kalitesiyle bağlantılı diğer önemli parametreler arasında toplam fruktoz ve glikoz, fruktoz/glikoz oranı ve glikoz/su oranı yer alır. Örneğin: Türk Gıda Kodeksi’ne göre çiçek ballarının fruktoz+glikoz toplamı asgari %60, fruktoz/glikoz oranı 0,9-1,4; salgı ballarında ise fruktoz+glikoz toplamı en az %45 ve fruktoz/glikoz oranı 1,0-1,4’tür (Tablo 2.1). Balın kristalleşme kapasitesi fruktoz/glikoz oranına göre belirlenmektedir (Özler ve ark., 2019). Şeker kompozisyonu bakımından çiçek balı ile salgı balı arasında bir zıtlık vardır; çiçek balında sakarov, maltoz, selüloz ve turanoz gibi

disakkaritler ana şekerler iken, salgı balında trisakkaritler melibiyoz ve rafinoz, tetrasakkaritler ve penta-sakaritler de izole edilmiştir. Fruktoz ve glikoz monosakkaritlerinin miktarı ve aralarındaki ilişki, monofloral balın sınıflandırılması için etkilidir (Shabarshov, 2002). Balın higroskopikliği fruktoz tarafından, kristalleşme oranı ise glikoz tarafından belirlenir. Balın fruktoz/glikoz oranı balın tadını ve balın kristalleşmesini etkiler çünkü fruktozun suda çözünürlüğü glikoza göre daha yüksektir ve fruktoz glikozdan daha tatlıdır (Ramalhosa et al., 2011).

2.2.3.11. Balın Kristalizasyonu

Balın su içeriği düşüktür ve ana bileşenleri fruktoz ve glikozdan oluşan karbonhidratlardır. Bal, yaklaşık %18'lik bir su içeriği ve %70'den fazla şeker içeriğine sahip aşırı doymuş bir şeker çözeltisi olarak düşünülebilir (Bogdanov, 2016). Bu düşük su içeriği nedeniyle bal kristalleşmeye eğilimlidir. Balda kristalleşme, balın aşırı doymuş yapısından dolayı farklı boyutlarda monohidrat glikoz kristallerinin oluşumu, çökmesi ve balın katılaşması olarak tanımlanmaktadır (Zamora and Chirife, 2006). Kristalleşme, bazı özel prosesler dışında istenmeyen bir süreçtir. Bunun nedeni viskozite ve su aktivitesi gibi balın fizikokimyasal özelliklerinin etkilenmesidir (Laos et al., 2011). Kristalleşme, balın akışkanlığını doğrudan etkilemekte ve gerek işleme hatlarında gerekse saklama kaplarından akışını sınırlamaktadır (Subramanian et al., 2017). Kristalize olmuş ballara ait görseller Şekil 2.21 ve Şekil 2.22'de sunulmuştur. Bu, bal üreticileri, bal işletme sahipleri ve tüketiciler için genellikle istenmeyen bir durumdur.



Şekil 2.21. Kristalize olmuş bal

Kristalleşmenin diğer bir olumsuz yanı da kristalizasyon ilerledikçe bal kabındaki üst sıvı katman, alt kristalize kısımdan daha fazla su içerecektir yani su aktivitesi artmaktadır. Bu da balın üst sıvı tabakasını maya büyümesine ve fermentasyona karşı daha duyarlı hale getirmekte ve bozulmasına neden olabilmektedir. Tüketiciler genellikle kristalize olmayan akışkan balı tercih etmektedir (Bogdanov, 2016; Kowalski et al., 2012).



Şekil 2.22. Kristalize olmuş bal yüzeyi

Kristalizasyon işlemini ve hızını etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Yaygın olarak glikozdan daha fazla fruktoz içeren ballarda kristalleşmenin daha yavaş gerçekleştiği kabul edilmektedir. Yani bal için glikoz/su ve glikoz/fruktoz oranları dahil olmak üzere farklı kristalleşme göstergeleri kullanılmıştır. Her bal çeşidi farklı şekilde ve hızlarda kristalleşmektedir (Subramanian et al., 2017). Glikoz-fruktoz içeriğine ek olarak, balın içerisinde bulunan ve önceden oluşan kristaller (çekirdek görevi görür) veya safsızlıkların (polen, toz vb.) varlığı gibi kristalleşmeyi etkileyen başka faktörler de vardır.

Kristalizasyon balda bulunan glikozun hareketliliği ile doğrudan ilişkili olduğundan dolayı, viskozite parametresi kristalizasyon üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Viskozite doğası gereği maddenin bileşimine ve sıcaklığa bağlıdır. Genel olarak sıcaklık düştükçe viskozite artar, glikozun moleküler hareketliliği azalır ve glikozun çözünürlüğü de azalmaktadır. Bu nedenle düşük sıcaklıkların doğrudan kristalleşmeyi tetiklediğini veya tek faktör olduğunu söylemek doğru değildir (Al-Habsi et al., 2013). Kristalizasyon süreci hem düşük (<5 °C) hem de yüksek (>25 °C) sıcaklıklarda yavaşlar ve hızlı kristalleşme için optimum sıcaklık 14 °C civarındadır (Bogdanov, 2016). Balda bulunan fruktozun çözünürlüğü glikozdan yüksek olduğundan kristalleşmeye katkısı neredeyse yoktur.

Hangi koşullar altında kristalleşmenin ne kadar hızlı gerçekleştiği, sürecin izlenmesi ve kontrol edilebilmesine yardımcı olabilmektedir. Kristalleşme oranını belirlemek için balda bulunan kristal içeriğinin ölçülmesine dayanan çeşitli yöntemler vardır. Bunlardan bazıları su aktivitesinin, şeker profilinin ve erime entalpisinin ölçülmesine dayanmaktadır.

Su aktivitesi göz önünde bulundurulduğunda; baldaki kristalleşme ilerledikçe glikoz suyla etkileşime girer ve glikoz monohidrat formunda çöker. Su ile etkileşimin azalması nedeniyle balın su aktivitesi artmaktadır (Gleiter et al., 2006; Machado De-Melo et al., 2018).

Şeker profili analizinde, santrifüj edilen kristal balın süpernatant kısmının şeker bileşimi incelenerek kristalleşmenin sadece glikoz içeriğinden kaynaklandığı hipotezine dayanarak basit bir kütle dengesi hesabıyla kristal miktarı hesaplanabilir (Al-Habsi et al., 2013).

Erime entalpisi yaklaşımı için ise kristalize bal numunesi ısıtma tabi tutularak kristali eritmek için gereken enerji ölçülür. İhtiyaç duyulan enerji ve kütlenin oranı ile kristal miktarı hesaplanabilir (Lupano, 1997, Berk, 2020). İstenmeyen formda olan kristalize balın tekrar sıvılaştırılması için çeşitli metotlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında en yaygın geleneksel ısıtma olmakla birlikte ultra ses uygulaması, yüksek basınç uygulaması, mikrodalga gibi yöntemleridir.

Kristalleşme sürecinin tersi olan dekrizalizasyon, balın katıdan sıvı faza sıvılaştırılması olarak tanımlanmaktadır (Subramanian et al., 2017). Geleneksel bir ısıtma yöntemi olan su banyosunda balın dekrizalizasyonu işlemi, arıcılıkta kullanılan en yaygın uygulamadır. Bu ısıtma metodu sadece dekrizalizasyon için değil aynı zamanda mikroorganizmaları uzaklaştırmak için de uygulanmaktadır.

Geleneksel ısıtma işlemi çoğunlukla 24-48 saat boyunca 40°C'den yüksek olmayan sıcaklıkta bir su banyosunda gerçekleştirilmektedir. Ancak gerek bilinçli gerekse bilinçsiz olarak bu şartların dışına çıkılmaktadır (Džugan et al., 2021). İşletmeler ve/veya üreticiler zamandan tasarruf etmek için bazen yüksek sıcaklıklar uygulayabilmektedir. Balı

40°C’den daha fazla sıcaklıkta ısıtmak dekristalizasyon süresini kısaltmaktadır (Kowalski et al., 2012). Dekristalizasyon prosesinin parametreleri (sıcaklık, süre gibi) büyük ölçüde balın kökenine bağlıdır (Chua et al., 2014). Nerdeyse tüm bal türleri ısıtıldığında benzer şekilde davranır ve kristal fazın kaybına neden olur. Gerçekleştirilen işlemlere rağmen, bal kristalleri tamamen ortadan kalkmaz, çok küçük formda mevcudiyetini sürdürür ve bu da yeniden kristalleşmeye neden olabilmektedir. Uygun olmayan dekristalizasyon veya kontrolsüz ısıtma işlemi, balın aşırı ısınmasına ve kalitesinin düşmesine neden olur (Bhandari et al., 2009). Balın aşırı ısınmasının temel olumsuz etkileri; balın renginin koyulaşması, tazeliğini yitirmesi, nektar işleme sırasında bal arıları tarafından bala salgılanan önemli bir enzim olan diastaz sayısında azalma ve HMF içeriğinin artışıdır (Džugan et al., 2018).

Burdurlu ve Karadeniz (2002)’in yaptıkları “Gıdalarda Maillard Reaksiyonu” adlı çalışmada, baldaki 10°C’lik sıcaklık yükselmesinin tepkime hızını yaklaşık olarak 4 katı arttırdığını ileri sürmektedirler. Doğal besinlerdeki biyoaktif bileşiklerin çoğunun yüksek sıcaklıklarda kararsız olması nedeniyle, ısıtma işlemi sırasında önemli ölçüde kaybolabileceği iyi bilinmektedir. Ayrıca bala ısıtma işlemi uygulaması sonucunda şekerler, proteinler vb. besin maddelerinin termal ayrışmaya yatkın olduğu bildirilmektedir (Al-Diab and Jarkas, 2015). Sıvı balda kristalleşme genellikle arzu edilmezken, damak tarafından algılanmayacak kadar çok sayıda küçük boyutlu kristallerin bulunduğu krem bal gibi arzu edilen bir ürünü yapmak için kontrollü kristalleştirme kullanılabilir (Conforti et al., 2006).

Kahraman (2012)’in yaptığı çalışmadan elde ettiği sonuçlara göre, 12 ay boyunca 10°C ve 22°C’de depolanan bal numunelerinin ortalama HMF değerleri 40 mg/kg’ın altında iken, 35°C’de depolanan bal numunelerinde ise bu değerler ani bir şekilde artış göstererek 180. günden itibaren 40 mg/kg’ın üzerinde olduğunu saptamıştır. Ayrıca bal örneklerinin 12 ay boyunca 10°C ve 22°C’deki ortalama diastaz sayısı, 8 limitini geçmezken, 35°C’de depolanan bal örnekleri 6. aydan itibaren 8’in altında olduğunu belirtilmiştir.

Tosi et al. (2002), balda kristalizasyonun ortadan kaldırılması veya pastörizasyon gibi teknolojik amaçlar için ısıtma işlemlerinin kullanılması HMF içeriğini artırdığını, bu nedenle belirli sıcaklığın ve sürenin üstüne çıkılmaması gerektiğini ileri sürmektedirler.

Yapılan bir çalışmada ısıtma işlemi uygulanmış ballarda HMF değeri yükselirken, prolin ve diastaz miktarının düştüğü sonucuna varılmıştır (Güney, 2010).

Samira (2016), yaptığı çalışmada bala ısıtma işlemi sonrasında, rengin koyulaştığı, HMF ve serbest asitliğin arttığını rapor etmiştir.

Al-Diab and Jarkas (2015), depolama koşullarının ve ısıtma işlem uygulamasının bazı bal örneklerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada, sıcaklık uygulamasının balda HMF miktarını artırdığı sonucuna varmışlardır.

Šarić et al. (2013)'in yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlar, ısıtma işlem uygulamasının bazı balların antioksidan aktivitesini düşürdüğünü göstermektedir.

Samborska and Czelejewska (2014) yaptıkları çalışmada, ısıtma işlem sırasında baldaki diastaz aktivitesi kabul edilebilir limitin altına düşerken, HMF'nin ise üst sınırı aştığını gözlemlemişlerdir.

2.2.4. Krem Bal

İnsanlar günümüzde olduğu gibi tarih boyunca arı ürünlerini, özellikle de balı şifa ve gıda amaçlı olarak kullanmışlardır (Dobre et al. 2012). Son zamanlarda, bal sadece beslenme amaçlı değil, sağlık yararları için de tüketildiğinden daha kaliteli bala olan talep artmaktadır. Bu nedenle, daha kaliteli bal üretebilen alternatifler aramak için çaba sarf edilmektedir. Yukarıda da bahsedildiği gibi bal, zamana bağlı kristalleşmeye duyarlı, genellikle aşırı doymuş, oldukça viskoz bir şeker çözeltisidir. Ticari balların çoğunda kristalleşme, faz ayrılması, çökelme ve su aktivitesinin artması nedeniyle kalite kaybına neden olan bir kusurdur.

Ballarda arzu edilmeyen kristalizasyon olayını asgari düzeye indirmek veya dekristalizasyon işlemlerinden olan bala ısıtma işlem uygulamasını önlemek amacıyla kontrollü bir şekilde kristalizasyon uygulanabilir.

İnsan damağı tarafından neredeyse algılanmayacak düzeyde çok küçük boyutlardaki kristal yapıların (dondurma vb. ürünlerde olduğu gibi) bulunduğu, bala sürülebilir ve yayılabilir özellik katmak gibi balın organeleptik ve fiziksel özelliklerinin geliştirilmesi

için kontrollü kristalizasyon işlemi yapılmaktadır. Bu kontrollü kristalizasyon işlemi sonucu oluşan ve balın başlangıç halinden neredeyse farklı olmayan yeni ürün, krem bal olarak tanımlanmaktadır (Karasu et al., 2015). Şekil 2.23’de krem bal görseli verilmektedir. Yani, bala tereyağı gibi sürülebilme ve yayılma özelliği kazandırmak ve damlamasını önlemek için kontrollü bir şekilde kristalizasyona uğratılır (Karasu et al., 2015). Kontrollü kristalizasyon, krem bal gibi çok düzgün bir dokuya yol açan, çok sayıda çok küçük boyutlu kristallerin bulunduğu bir ürünü elde etmek için kullanılabilir. Birçok ülkede, balın krem formu sıvı formundan daha yaygın ve daha fazla tercih edilmektedir (Chen et al., 2009). Krem bal, normal koşullar altında ham balda oluşabilecek daha büyük kristallerin oluşumunu önleyen çok sayıda küçük kristaller içerir.



Şekil 2.23. Krem bal

Krem bal ürünü, bal girişimcileri için pazar değerini artıracak heyecan verici bir üründür (Suriwong et al., 2021). Kristalizasyon sürecinin kontrol edilmesi ve uygun hammadde hazırlıkları sayesinde katma değerli yeni bir ürün elde edilebilir. Krem bal, mevcut en iyi kovan ürünlerinden biridir. Yumuşak bir tada sahiptir, normal oda sıcaklığında tereyağı gibi yayılır ve sıvı balın aksine damlamaz. Kremalı bal aslında kontrollü bir şekilde kristalize edilmiş veya granüle baldır (Calderone, 2002).

İyi üretilmiş krem bal, kristalleşme süreci hassas bir şekilde kontrol edildiğinden kremsi bir dokuya sahiptir. Ancak ne yazık ki krem bal genellikle bir arıcının ürün yelpazesinde en az tanıtılan ürünlerden biridir. Bu durum çoğu kontrolsüz şekilde gelişen kristalize

balın genellikle sert, yayılması zor ve özellikle lezzetli olmayan büyük, kaba kristallerle sonuçlanmasına dayanmaktadır. Doğal kristalizasyon, genellikle fermente olma eğilimi yüksek olan kaba bir ürün üreten kontrolsüz bir işlemdir. Ne yazık ki bu aynı zamanda çoğu insanın aşına olduğu kristalize bal türüdür (Calderone, 2002).

Tereyağına benzer pürüzsüz, sürülebilir bir kıvama sahip ve kontrollü koşullar altında üretilen krem bal, nektar balı ile aynı besin değerini korur. Krem balın kimyasal içeriği ham balın kimyasal içeriğinden neredeyse farksızdır. Farklılığın büyük çoğunluğu fiziksel ve duyuşsal özelliklerdir (Džugan et al., 2017). Krem balın çeşitli avantajları mevcuttur. Kristalize olmuş ballara yüksek derece ısıtıl işlem uygulamadan değerlendirilerek tüketilebilmesine olanak tanımaktadır. Böylece yüksek ısıtıl işlem uygulaması sonucu oluşan olumsuzlukların önüne geçilebilmektedir. İnsanların dengeli beslenmesinde özellikle de yaşlılar ve gelişme çağındaki çocuklar için çok önemli olan balın, dokusu gibi negatif unsurlar krem bal üretimi sonucunda ortadan kalkarak yumuşak bir tada sahip, oda sıcaklığında tereyağı gibi sürülebilir ve yayılabilir özellikte olması bal tüketimini teşvik etmede rol oynamaktadır.

Krema bal üretimini ve kristalizasyon sürecini etkileyen çeşitli faktörler mevcuttur. Bunlar arasında çekirdek kristal tipi, şekerlerin konsantrasyonu, depolama sıcaklığı, bal tipi ve diğer bazı spesifik özellikler dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır.

Ayrıca santrifüj ve pompalar, ürünün kristalleşme eğilimini etkileyen küçük hava kabarcıkları tohumlama etkisi üretir (Mora-Escobedo et al., 2006). Bu istenmeyen bir süreçtir ve kremalı balın kumlu dokusuna neden olabilir. İyi bir dokuya sahip olan krem bal, tereyağı gibi yayılır ve damlamaması gerekir, bu da kristalizasyonun kontrol altına alınması için uygun bir işlemle elde edilebilir. Bu nedenle krem balda kristalleşmeyi kontrol etmek için özel önlemlerin belirlenmesine gerek duyulmaktadır. Krem balın kalitesini belirleyen en önemli kriter kristalleşmedir. Çoğu ham bal petekte iken, bazısı ise süzildükten birkaç gün, hafta veya ay sonra kristalleşir. Bazı bal çeşitleri sağıldıktan sonra yıllarca bile sıvı halde kalabilmektedir. İkinci önemli kriter ise kristalleşme süreci sırasında balın hem kristalleşme hızını hem de son ürünün dokusunu büyük ölçüde etkileyen balın sıcaklığıdır (Džugan et al., 2017).

Depolama sıcaklığı, su aktivitesi ve fruktoz/glikoz (F/G) oranı üründe oluşan kristal boyutu için belirleyici faktörler olarak kabul edilir (Karasu et al., 2015).

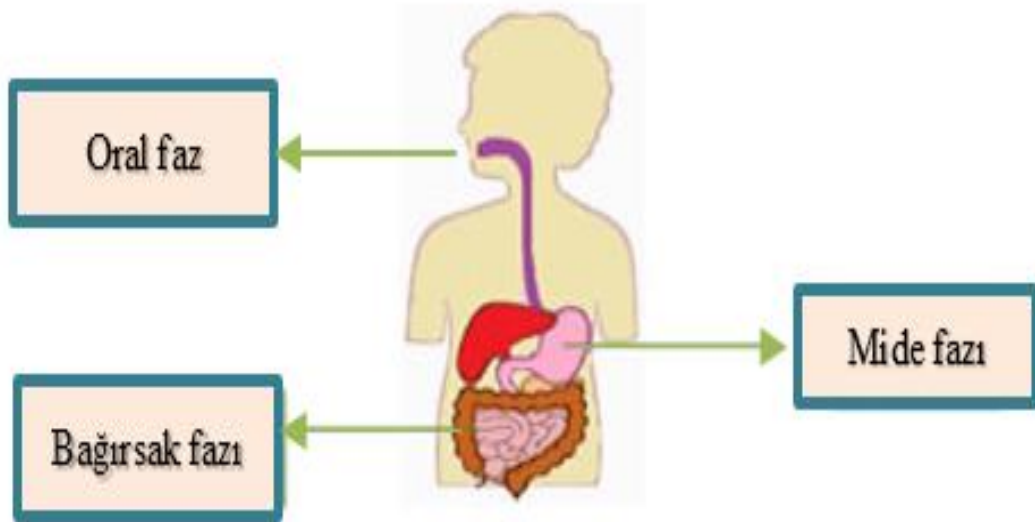
Yapılan bir çalışmada kristal oluşumunun kinetiği, farklı kristalizasyon proseslerine göre değerlendirilmiştir. Çalışmada 1,05 G/F oranına sahip bal, 1,25 G/F oranına sahip bala göre kristalizasyon süreci daha hızlı ulaşmıştır.

2.3. *In Vitro* Biyoerişebilirlik

Son zamanda ortaya çıkan hastalıklar, salgınlar ve toplumun refah düzeyinin artması sonucunda insanların doğal ürünlere olan talebi artmıştır. İnsan beslenmesi ve sağlığı arasında çok güçlü ilişki mevcuttur. Bu bağlamda, bal, arı poleni ve arı ekmeği gibi arı ürünlerini içeren, besin değeri yüksek ve sağlık üzerinde olumlu etkileri olan doğal fonksiyonel ürünlere yönelik araştırmalara da giderek ilgi artmaktadır.

Bal, arı poleni ve arı ekmeği başta karbonhidratlar, proteinler ve fenolik bileşikler olmak üzere temel besin maddelerine ve fitokimyasallara dayanan besleyici zenginlikleri ile karakterize edilir. Bu arı ürünlerinin kimyasal bileşimi bitki orijinine, bitkinin besin durumuna, coğrafi bölge koşullarına, toprağa, hasada, depolama ve işleme gibi faktörlere göre değişebilmektedir. Ayrıca, bu değişkenler genellikle biyolojik aktivitelerinden sorumlu fenolik bileşikler gibi fitokimyasalların çeşitliliğini ve miktarını etkiler ve sonuç olarak farklı terapötik özelliklere neden olur. Diyetimizin bir parçası olan fitokimyasalların koruyucu rolü, insan beslenmesi araştırmalarının giderek daha önemli bir alanı haline gelmiştir. Biyoaktif bileşiklerin genelde bilinen en önemli aktivitesi antioksidan aktiviteleri olsa da, artık ilgili bileşiklerin antioksidan aktivitelerinden daha fazlası olduğu bilinmektedir. Biyoaktif bileşiklerin az da olsa uzun süreli alımlarının, hücreleri oksidatif zarardan koruyarak kanser hastalığını önleme potansiyeli gösterebileceğine dair kanıtlar vardır. Bununla birlikte, zengin fitokimyasal diyetlerin alımı, bu bileşikler insan gastrointestinal sisteminden farklı şekillerde etkilenebileceğinden ve sonuç olarak biyolojik aktivitelerine yansıyabileceğinden, etkinliğini sindirimden önceki durumu gibi garanti etmez. Bu nedenle, gastrointestinal sisteme maruz kalan biyoaktif bileşiklerden kaynaklanan değişikliklerin belirlenmesi oldukça önemlidir.

Sindirim süreçlerini simüle eden *in vitro* yöntemler, gıda veya ilaçların gastrointestinal davranışını incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan beslenmesi çalışmalarında *in vitro* yöntemler daha hızlı, daha ucuz, daha az emek avantajına sahiptir ve etik kısıtlamalara gerek duymamaktadır. Bu, tarama amacıyla nispeten çok sayıda numunenin paralel olarak daha kolay ve daha hızlı ölçülmesine olanak sağlar. Simüle edilmiş sindirim yöntemleri tipik olarak oral, mide ve ince bağırsak fazlarını içermektedir (Şekil 2.24). Bu yöntemler, diğer etkenlere ek olarak sindirim enzimlerinin kullanılması, pH'sını, sindirim süresini ve tuz yoğunluğunu dikkate alarak *in vivo* fizyolojik koşulları taklit etmeye çalışır. Bazı gastrointestinal sistem modelleri sindirilmiş yemeklerin taşınması, değişken enzim konsantrasyonları ve zaman içindeki pH değişiklikleri gibi sindirimin dinamik yönlerinin simülasyonuna olanak tanır. Bununla birlikte, literatürde bildirilen modellerin çoğunluğu statik olanlardır. Yani sindirimin her adımında enzimlere, asitlere, safra tuzlarına vb. sabit oranlarda müdahale edilebilen modellerdir.



Şekil 2.24. *in vitro* sindirim aşamaları (Özkan et al., 2023)

İnsan sindirimi sırasında gıdada meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikler biyoerişilebilirliği, biyoyararlanımı ve sonuç olarak belirli bir bileşiğin veya bileşik grubunun biyoaktivitesini etkileyebilmektedir (Lucas-González et al., 2018). Biyoyararlanım sindirim işlemi tarafından salınan ve bağırsak duvarı tarafından emilen bir bileşiğin miktarı, vücut dokularına iletilmek üzere kan dolaşımında bulunması olarak tanımlanmaktadır. Biyoerişilebilirlik ise sindirim işlemi sırasında matristen salınan ve

bağırsak duvarından emilebilen bir bileşiğin miktarı olarak tanımlanmaktadır (Alminger et al., 2014). Gıda bileşenlerinin biyoerişilebilirliği ve biyoyararlanımının değerlendirilmesi, esas olarak besinlerin biyoaktif bileşiklerle ilişkili sağlık yararları ve aynı zamanda toksik etkilerinin araştırılması dünya çapındaki araştırmacıların ve bazı şirketlerin dikkatini çekmektedir. Bunun nedeni, geliştirilen yeni ürünlerin veya formülasyonların, işlemenin, paketlenmenin, depolamanın matrisin hedef bileşiklerinin salınımı ve emilimi üzerindeki etkisi hakkındaki ilgili bilgilerin, *in vivo* ve *in vitro* sindirim modelleri tarafından değerlendirilebilmesi veya verimli bir şekilde tahmin edilebilmesidir. Arı ürünlerinin *in vitro* sindirimi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır (Shani-Levi et al., 2017).

Yapılan bir çalışmada, *in vitro* gastrointestinal sindirimin balın biyoaktif bileşikleri ve aktiviteleri araştırılmıştır. Bunun için toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik ve antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda sindirimden sonra balın toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik ve antioksidan aktivitesinde ciddi azalma olduğunu gözlemlenmiştir (Cianciosi et al., 2020).

Schramm et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada, bazı bal örneklerinin tüketildikten sonra, toplam fenolik içeriğinin ve antioksidan etkisinin arttığı bildirilmiştir. Bu veriler ışığında, baldan elde edilen fenolik bileşiklerin biyolojik olarak kullanılabilir olduğu ve oksidatif strese karşı savunmayı geliştirdiği ileri sürülmüştür.

Chang (2019), çeşitli gıda işleme tekniklerinin besin içeriğini ve bunların biyoyararlanımını olumsuz veya olumlu bir şekilde etkileyebileceğini ileri sürmektedir. Gıda matrisi, çeşitli besin maddeleri ve fitokimyasalların gıda işleme, depolama ve gastrointestinal sindirimi sırasında bozulmasını önlemek için müdahale edilebileceği sonucuna varmıştır.

Parada and Aguilera (2007), ısıtma gibi gıda işleme proseslerinin biyoyararlanımı değiştirebileceğini ileri sürmektedirler.

Kamiloğlu (2012), yaptığı çalışmada geleneksel kurutmanın bazı meyve polifenollerini ve *in vitro* biyoyararlılığına etkisini incelemiştir. Kurutma sonrasında iki meyvenin de fenolik

madde içeriğinde meydana gelen düşüşün istatistiksel olarak önemsiz olduğu sonucuna varmıştır.

Bu çalışmanın iki temel amacı bulunmaktadır; birincisi arı ekmekli ve polenli iki farklı krem bal üretiminin gerçekleştirilmesi, ikincisi ise krem bal üretim prosesinin balın fizikokimyasal özelliklerine, *in vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonu ile biyoerişilebilirliğine etkisinin ve antioksidan kapasitesinin incelenmesidir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan süzme bal, polen ve perga numuneleri Bingöl İli Arı Yetiştiricileri Birliği'nden temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan analitik veya HPLC dereceli kimyasallar, standartlar ve enzimlerin (pepsin (541 U/mg, EC 3.4.23.1), pankreatin (8x USP, EC 232.468.9)) tümü Sigma-Aldrich'ten (Steinheim, Almanya) tedarik edilmiştir.

3.1. Arı Ekmekli ve Polenli Krem Bal Üretimi

Krem bal üretimi Sunay vd. (2011), Mortaş (2016) ve Sereti (2021) metotları modifiye edilerek Üniversitemiz Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Analiz ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Bingöl ilinde üretilen çiçek balı, arı ekmeği ve poleni kullanılmıştır. Bal sıvı formda olduğundan dolayı herhangi bir ön işlem yapılmamıştır. Balın bünyesinde bulunan safsızlıkların arındırılması için eleklerden süzölmüştür. Süzme işleminin ardından krem bal yapma makinesine (Civan Arıcılık, Bursa, Türkiye) (Şekil 3.1) çekirdek kristal görevi görmesi için yerel bir firmadan temin edilen %10 oranında krem bal eklenmiştir.



Şekil 3.1. Krem bal yapma makinesi

Arı ekmeği ve polen de %3 oranlarında eklendikten sonra sabit 60 rpm’de 2 dakika karıştırma 54 dakika dinlenme süresi olmak üzere toplamda 4 adet karıştırma olacak şekilde işlem başlatılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Krem bal üretim şeması

Karıştırma işlemi bittikten sonra cam ambalajlara doldurulup 14 °C’ de yaklaşık 48 saat süre ile olgunlaşmaya bırakılmıştır. Üretilen krem bala ait görsel Şekil 3.3’de mevcuttur.



Şekil 3.3. Laboratuvarımızda üretilen krem bal örneği

3.2. Fizikokimyasal Analizler

Krem bal üretim prosesinin balın bazı kalite parametreleri üzerindeki etkisini incelemek üzere HMF tayini, prolin değeri tayini ve diastaz sayısı tayini gerçekleştirilmiştir.

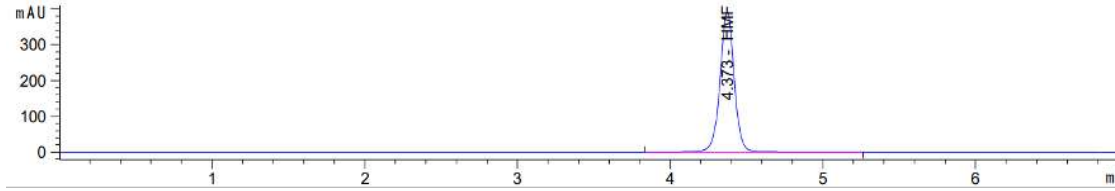
3.2.1. HMF Tayini

Baldaki HMF miktarı HPLC-DAD dedektör (Agilent 1260 WR) kullanılarak Uluslararası Bal Komisyonu'nun (IHC) önerdiği metot modifiye edilerek yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) (Agilent 1260 Infinity II, Santa Clara, ABD) kullanılarak tayin edilmiştir (Şekil 3.4.). Bal numuneleri analize alınmadan önce karıştırılıp homojenize edilmiştir. Homojenize edilmiş bal örneklerinden 50 mL'lik balon jojelere 0.001 g hassasiyetle 10 g tartılmıştır. Numuneler, ultra saf suda çözülerek balon jojeler 50 ml çizgisine kadar ultra saf su ile tamamlanmıştır. Sonra çalkalayıcıya yerleştirilerek balların tamamen çözülmesi sağlanana kadar yaklaşık 15 dk süre ile çalkalanmıştır. Çözeltiler 0.45 µm filtreden geçirilip 2 mL'lik viallere enjekte edilmiştir. Viale alınan numuneler şartlanmış olan HPLC cihazına verilmiştir. HPLC analiz koşulları şu şekildedir; detektör ve kolon sıcaklığı 30 °C, enjeksiyon hacmi 10 µ, mobil faz akış hızı 1 ml/dakika, sabit faz (kolon) 5 C18-PAQ 150x4.6 mm id (Cosmosil- Kyoto, Japonya), dalga boyu 285 nm, mobil faz metanol:ultra saf su – 10:90 (hacim/hacim).



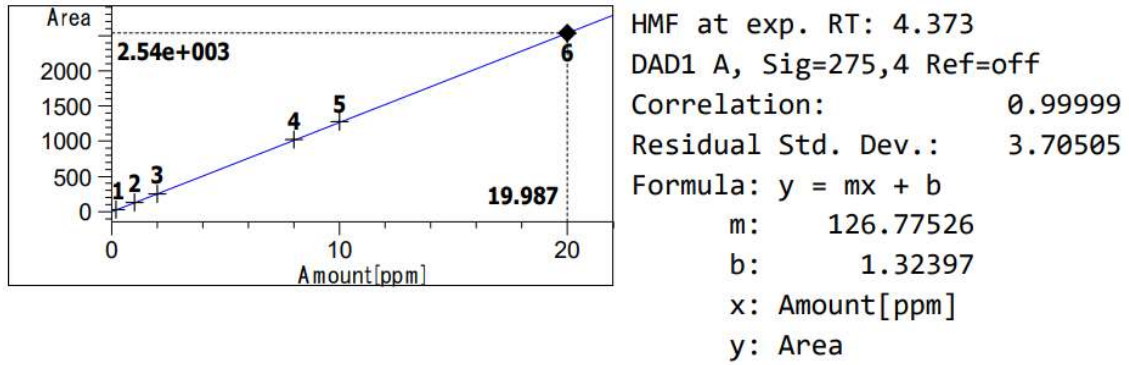
Şekil 3.4. HPLC cihazı

Cihaz kalibrasyonuna ait kromatogram örneği ve grafiği sırasıyla Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.5. Cihaz kalibrasyonuna ait kromatogram örneği

Analiz sonunda Agilent ChemStation Software kullanılarak HMF miktarı mg/kg (ppm) olarak alınmıştır (Anonymous 2009).



Şekil 3.6. Cihaz kalibrasyon grafiği örneği

3.2.2. Prolin Değeri Tayini

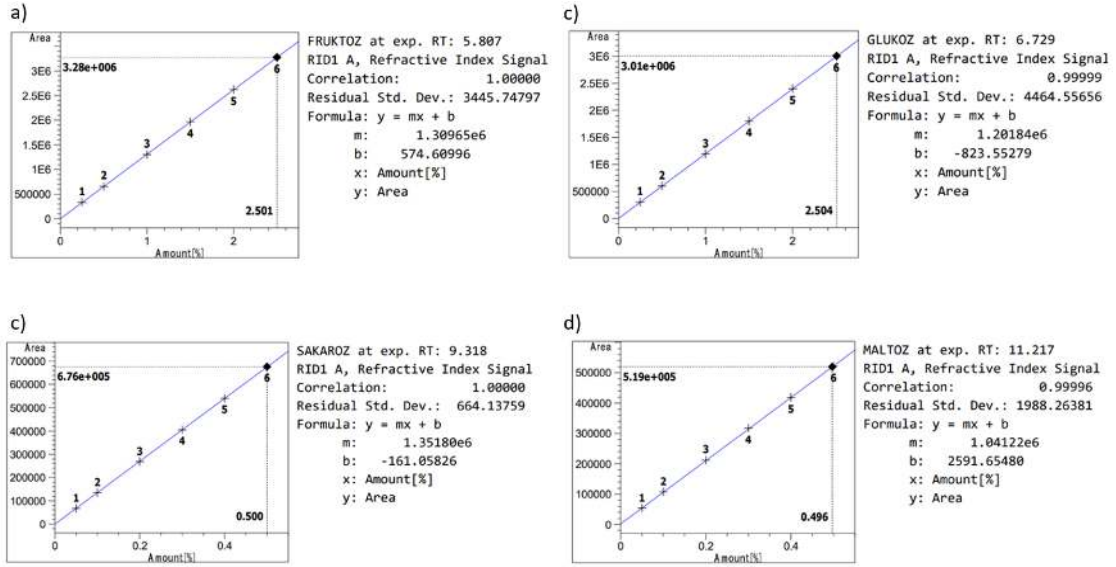
Prolin değerinin tayininde spektrofotometrik (ThermoFisher Scientific Genesys-ABD) yöntem kullanılmıştır. Deney tüpüne 0,5 ml örnek çözeltisi, diğer tüpe 0,5 ml saf su, kalan tüplere de 0,5 ml prolin standart çözeltisi eklenmiştir. Sonra tüm tüplere 1 ml formik asit ve 1 ml ninhidrin solisyonu eklenmiştir. Yaklaşık 15 dakika süresince iyice çalkalandıktan sonra 15 dakika kaynar su banyosuna bırakılmıştır. Bu işlem bittikten sonra 10 dakika süresince 70°C'de bekletilmiştir. Tüm tüplere 5 ml 2 propanol-su çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler su banyosundan alındıktan sonra 45 dakika soğumaya bırakılmıştır. En son olarak da spektrofotometrede (Şekil 3.7) 510 nm'de absorbans miktarı okunup ilgili hesaplamalar ile sonuç alınmıştır (Anonymous, 2009).



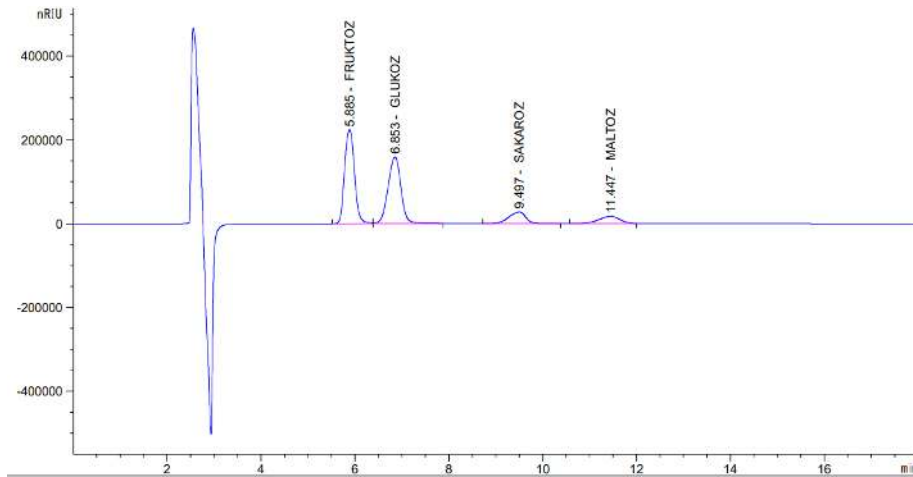
Şekil 3.7. Spektrofotometre cihazı

3.2.3. Balda Şeker Tayini

Balın şeker profili analizi için hem süzme bal hem de krem bal numuneleri Türk Standartları Enstitüsü metoduna (TS 13359) göre HPLC cihazı (Agilent 1260 Infinity II, Santa Clara, ABD) ile analiz edilmiştir (TSE, 2008). HPLC sistemi bir otosampler, pompa ve kırılma indeksi dedektöründen (RID) (tümü Agilent, Santa Clara, ABD) oluşmaktaydı. Analizler bir NH_2 kolonu (250 mm x 4,6 mm, 5 μm boyutu-Zorbax) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. HPLC analizi sırasında mobil faz ultra saf su:asetonitril 20:80 (hacim/hacim), akış hızı 1,3 ml/dakika, enjeksiyon hacmi 10 μL ve okuma sıcaklığı 30°C olarak ayarlanmıştır. Kalibrasyon için farklı konsantrasyonlarda glikoz, fruktoz, sakaroz ve maltozun standart çözeltileri (SigmaAldrich, Steinheim, Almanya) hazırlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltileri viallere aktarıldıktan sonra HPLC cihazında okutulmuştur. Okunan standart çözeltilerden elde edilen pik alanları ile kalibrasyon grafikleri (Şekil 3.8a,b,c,d) çizilmiştir. Numune hazırlama; homojen hale getirilen bal numunesinden 5 g tartılıp yaklaşık 35 ml ultra saf su içerisinde iyice çözdürülmüştür. Daha sonra üzerine 25 ml HPLC dereceli metanol eklenerek ölçülü balona aktarıldı ve ultra saf su ilave edilerek hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti iyice karıştırıldıktan sonra yaklaşık 1 mL'si bir şırınga ve 0,45 μm 'lik şırınga filtresi yardımıyla viallere aktarılmıştır. Daha sonra HPLC cihazında enjeksiyon ve okuma işlemi başlatılmıştır. Elde edilen veriler Agilent ChemStation Yazılımı kullanılarak şeker konsantrasyonları % olarak hesaplanmıştır. Şeker standartlarına ait kromatogram örneği Şekil 3.9'da gösterilmektedir.



Şekil 3.8. Şeker standartlarına ait kalibrasyon grafikleri örneği



Şekil 3.9. Şeker standartlarına ait kromatogram örneği

3.2.4. Diastaz Tayini

Yaklaşık 100 mL'lik beherde 10 g bal numunesi tartıldıktan sonra 30-45 mL saf suda çözündürülmüştür. Daha sonra 100 mL'lik ölçülü bir balon jojeye alınıp işaret çizgisine kadar saf su eklenmiştir. Deney tüpleri iyice karıştırılıp 38°C'lik su banyosunda 60 dakika bekletilmiştir. 60 dakikalık sürenin bitiminde tüpler su banyosundan alınıp acı bir şekilde daha önce hazırlanan buzlu suya daldırılarak soğutulmuştur. Tüm tüplere birer damla 0.1 N iyot çözeltisi damlatıldıktan sonra tekrar karıştırılmıştır. Mavilik gözlenen

ilk tüp limit olarak belirlenmiştir. Mavi tüpten önceki deney tüpüne karşılık gelen diastaz sayısı, ilgili tablodan okunup kaydedilmiştir (Anonim 2002).

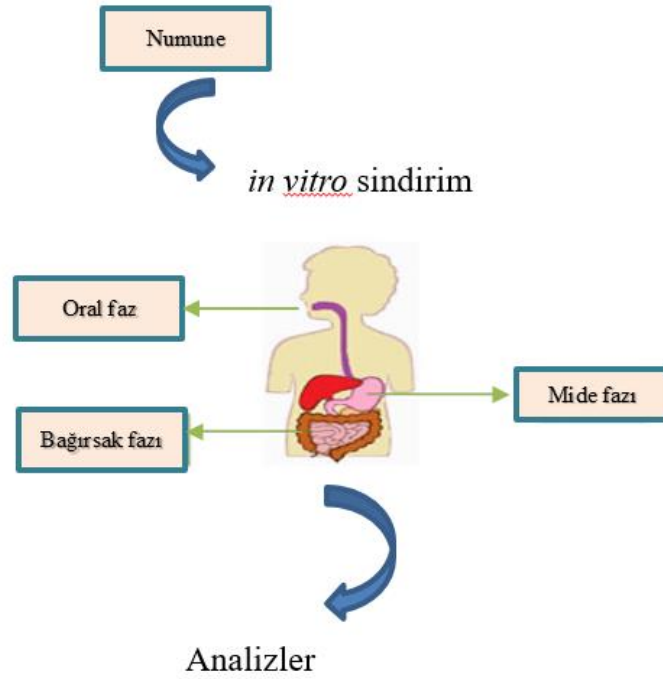
3.3. *In Vitro* Sindirim Simülasyonu

In vitro gastrointestinal sindirim protokolü, İstanbul Teknik Üniversitesi Fonksiyonel Gıda Araştırma Laboratuvarı'nda Minekus et al., (2014) tarafından bildirilen yönteme bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu protokol oral, mide ve bağırsak fazlarının sindirim sürecini simüle etmeyi amaçlamaktadır (Vahapoğlu, 2022; Özkan et al., 2023). İlk başta tükürük salgısı, mide salgısı ve bağırsak salgısı hazırlanmıştır.

Oral faz; 5 g numunenin 4 mL tükürük sıvısı, 25 µL 0,3 mol/L CaCl₂ ve 975 µL distile su ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Daha sonra bu karışım çalkalamalı su banyosunda (Memmert SV 1422, Memmert GmbH & Co. Nürnberg, Germany) 37°C'de 2 dakika süreyle inkübe edilerek oral faz tamamlanmıştır.

Mide fazı; oral faz karışımına 7,5 mL mide sıvısı, 1,6 mL pepsin solüsyonu, 5 µL CaCl₂ ve pH'ı 3,0'a ayarlamaya yetecek miktarda HCl solüsyonu ve distile su eklenerek mide fazı başlatılmıştır. Karışım 120 dakika boyunca 37°C'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. Mide fazı tamamlandıktan sonra her karışımdan 5 mL'lik kısımlar alınıp 5000 rpm ve 4°C'de 5 dakika süreyle santrifüj (Hettich, Tuttlen, Germany) edilmiştir.

Bağırsak fazı; mide fazından alınan 5 mL'lik karışıma 8,25 mL bağırsak sıvısı, 3,75 mL pankreatin çözeltisi, 1,875 mL safra çözeltisi, 30 µL CaCl₂, pH'ı 7'ye ayarlamak için yeterli miktarda NaOH çözeltisi ve toplam hacim 30 mL olacak şekilde distile su eklenmiştir. Karışımlar 120 dakika süresince çalkalamalı su banyosunda 37°C'de çalkalanarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 5000 rpm ve 4°C'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra elde edilen tüm süpernatantlar bir sonraki analize kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Oral, mide ve bağırsak fazından geçen numuneler toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik, ABTS, CUPRAC ve DPPH yöntemlerini içeren ve toplam antioksidan analizleri gerçekleştirilmiştir. *in vitro* sindirim sistemini özetleyen görsel Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. *in vitro* sindirim özeti (Özkan et al., 2023)

3.4. Toplam Fenolik Madde İçeriği Tayini

Sindirim öncesi ve sonrası numunelerin toplam fenolik içeriği Singleton and Rossi (1965) yöntemine göre tayin edilmiştir. Bu amaçla 0,1 mL numune, 0,75 mL 1/10 seyreltilmiş Folin Ciocaltue reaktifi ile karıştırılmıştır. 5 dakika sonra karışıma 0,75 mL %6 Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 60 dakika gün ışığından korunarak inkübe edilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede 765 nm’de okunarak kaydedilmiştir. Sonuçlar, okunan absorbans değerlerinin gallik asit standartı ile hazırlanan kalibrasyon grafiğinde hesaplanarak gram numune başına mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE/ g numune) olarak ifade edilmiştir.

3.5. Toplam Flavonoid Madde İçeriği Tayini

Sindirim öncesi ve sonrası numunelerin toplam flavonoid içeriği, Dewanto et al. (2002) tarafından uygulanan yöntem kullanılarak belirlenmiştir. 0,25 mL numuneye 75 µL %5’lik NaNO₂ eklendi ve oda sıcaklığında 6 dakika bekletilmiştir. Daha sonra karışıma 150 µL %10 AlCl₃·H₂O ilave edildi ve 5 dakika beklendikten sonra karışıma 500 µL 1 M

NaOH ilave edilmiştir. Distile su eklenerek hacim 2,5 mL'ye ayarlandı ve spektrofotometre ile 510 nm'de absorbans değerleri okunarak kaydedilmiştir. Analizi yapılan numunelerin toplam flavonoid madde içeriğini belirlemek için kateşin standartı ile hazırlanan kalibrasyon grafiğinde hesaplanarak gram numune başına mg kateşin asit eşdeğeri (mg GAE/ g numune) olarak ifade edilmiştir.

3.6. Bal Örneklerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Numunelerin antioksidan kapasitelerini belirlemek için ABTS (2,2' azinobis 3- etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ve CUPRAC (Kuprik azaltıcı antioksidan kapasite) olmak üzere üç farklı yöntem uygulanmıştır. Sonuçlar her üç yöntem için de gram numune başına mg Trolox eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.6.1. ABTS Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite

ABTS analizi Miller and Rice-Evans (2009) 'ın yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla analizden bir gün önce 100 mL distile su içerisinde çözündürülmüş 110 mg ABTS ve 1 mL distile su içerisinde çözündürülmüş 19 mg potasyum persülfat karıştırılarak ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti bir gece boyunca 4°C'de tutulmuştur. 0,05 M monopotasyum fosfat ve 0,05 M dipotasyum fosfatın karıştırılmasıyla potasyum fosfat tamponu (pH 8) hazırlanmıştır. Hazırlanan ABTS solüsyonu analizden hemen önce solüsyonun absorbansı 0,9'ye varana kadar potasyum fosfat tamponu ile karıştırılmıştır. Daha sonra potasyum fosfat tamponlu 2 mL ABTS çözeltisi 200 µl numune ekstraktı ile karıştırılıp çalkalandı ve 1 dakika sonra 734 nm'de absorbans değeri kaydedilmiştir. Sonuçlar kalibrasyon grafiği kullanılarak gram numune başına mg Trolox eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.6.2. DPPH Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite

Bu analiz, Brand-Williams et al. (1995) belirtilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 10 µL ekstrakt ve 0,1 mM metanol içerisinde çözündürülmüş 200 µL DPPH reaktifi karıştırıldı ve 10 saniye çalkalandıktan sonra ışık almayacak şekilde oda

sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda 517 nm’de absorbans okunarak kaydedilmiş ve sonuçlar kalibrasyon grafiği kullanılarak gram numune başına mg Trolox eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.6.3. CUPRAC Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite

CUPRAC analizi Apak et al. (2009)’ın yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 7 µL ekstrakta 70 µL’lik 10 mM bakır(II) klorür, 70 µL 7,5 mM neocuproin, 70 µL 1 mM amonyum asetat (pH 7,0) ve 70 µL damıtılmış su çalkalandıktan sonra ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 10 saniye bekletilip karanlıkta 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi bittiğinde 450 nm’de absorbans ölçülüp kaydedilmiştir. Sonuçlar kalibrasyon grafiği kullanılarak gram numune başına mg Trolox eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.7. İstatistiksel Analiz

Krem bal üretim prosesinin balın *in vitro* biyoaktivite ve biyoerişebilirlik, duyuşal özellikleri üzerine etkisini ilişkili grupların arasındaki farkın anlamlılık düzeyini test etmek için SPSS (version 24.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programında tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) analizi uygulanmıştır. ANOVA ile üretim prosesinin krem bal kalite ve fonksiyonel özellikleri etkisinin istatistiksel açıdan önemli olup olmadığı belirlendikten sonra posthoc analizde Tukey testi ile örnekler arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir. Veri dağılımlarının normalliği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiş olup, varyansların homojenliği Levene’s testi ile test edilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu. $p < 0.05$ seviyesi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Fizikokimyasal Analizler

Krem bal üretim prosesinin balın fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla diastaz, HMF, prolin ve şeker profili analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir.

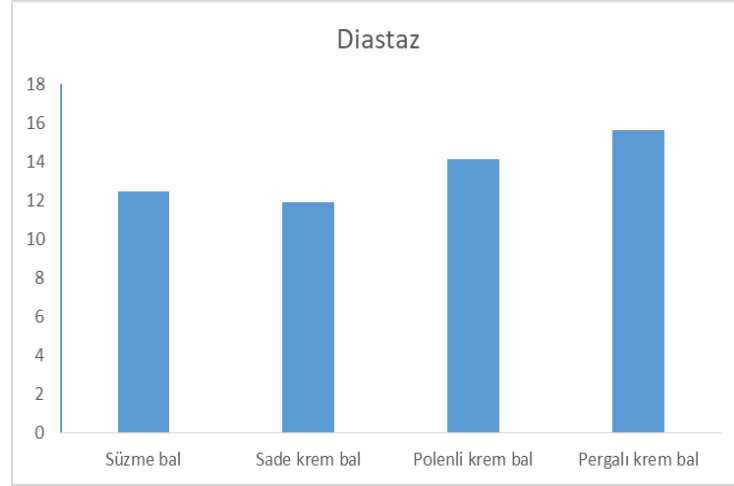
Tablo 4.1. Numunelerin fizikokimyasal değerleri

Numune	Diastaz	HMF (mg/kg)	Prolin (mg/kg)	Şekerler (%)			
				Fruktoz	Glukoz	Sakaro	Maltoz
Süzme bal	12,48±1,31 ^a	10,77±0,15 ^a	419,39±3,09 ^b	40,17±1,55 ^a	33,82±2,07 ^a	0,04±2,13 ^a	1,47±0,98 ^a
Sade krem bal	11,92±1,64 ^a	10,82±0,18 ^a	420,97±1,24 ^b	39,60±1,48 ^a	33,69±1,65 ^a	0,03±1,97 ^a	1,05±1,10 ^a
Polenli krem bal	14,15±1,84 ^a	10,88±0,64 ^a	534,46±1,71 ^a	43,61±0,95 ^a	41,57±1,22 ^a	0,09±1,34 ^a	1,73±1,07 ^a
Pergalı krem bal	15,63±2,16 ^a	11,52±0,79 ^a	562,24±1,66 ^a	44,27±1,06 ^a	42,38±1,57 ^a	0,08±2,10 ^a	1,68±1,13 ^a

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=3).

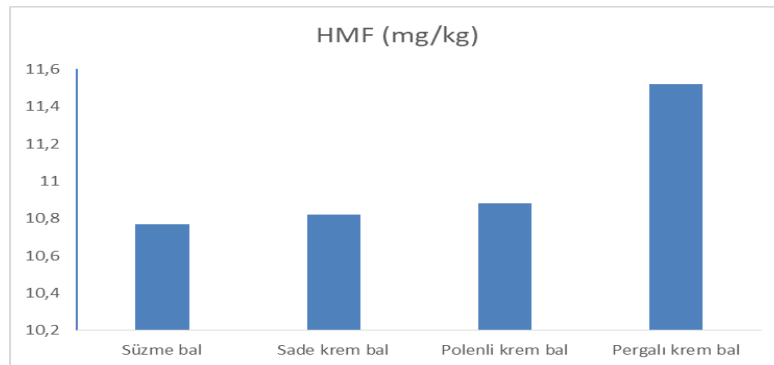
*Farklı küçük harfler, örnek grupları arasındaki farklılıkların anlamlı olduğunu gösterir (p<0,05).

Süzme bal numunesinin diastaz sayısı 12,48; sade krem balın 11,92; polenli krem balın 14,15 ve polenli krem balın ise 15,63’tür (Şekil 4.1). Diastaz sayısı bakımından tüm numuneler arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p>0,05). Süzme bal ve sade krem bal diastaz sayısı arasındaki fark yaklaşık 0,50 civarında olup anlamlı değildir (p>0,05).



Şekil 4.1. Diastaz sayısı dağılımı

Süzme bal, sade krem bal, polenli krem bal ve pergalı krem balın HMF değerleri ise sırasıyla 10,77; 10,82; 10,88; 11,52 mg/kg olup tüm numuneler arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Çalışma bulgularına göre en yüksek diastaz sayısı (15,63), HMF içeriği (11,52 mg/kg) ve prolin içeriğine (562,24 mg/kg) sahip numune pergalı krem bal numunesidir. En az diastaz sayısı (12,48), HMF içeriği (10,77 mg/kg) ve prolin içeriğine (419 mg/kg) sahip numune ise süzme bal numunesidir (Şekil 4.2.). Bu istatistikten, krem bal üretim prosesinin diastaz sayısı ve HMF içeriği üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadığı sonucu çıkarılabilmektedir. Bunun nedeni diastaz aktivitesini ve HMF içeriğini etkileyen sıcaklık gibi faktörlerin oluşmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Balın tazelik indikatöründen olan diastaz aktivitesi ve HMF içeriğini en çok etkileyen parametrelerden birisi yüksek sıcaklıktır (Costa et al., 2015). Yüksek sıcaklık uygulamasının diastaz aktivitesini azaltmasının sebebi, diastaz enziminde bulunan proteinlerin denatürasyonudur (Gomes et al., 2010).



Şekil 4.2. HMF değerleri dağılımı

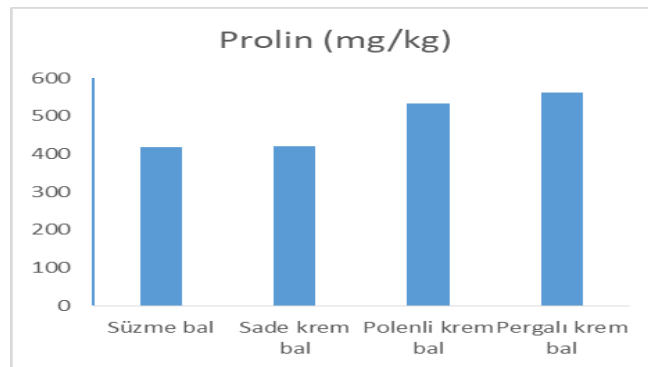
Chua et al. (2014)'ın yaptıkları çalışmada ısıtma işlem uygulamasının bal örneklerinin fizikokimyasal yapısı üzerinde etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda ısıtma işlem uygulamasının bazı bal numunelerinin diastaz aktivitesini yaklaşık yarı yarıya indirdiğini, HMF değerini ise artırdığını bulmuşlardır (Chua et al. (2014).

Tablo 4.2. Polen ve perga numunelerinin şeker profili

Numune	Şekerler (%)			
	Fruktoz	Glukoz	Sakaroz	Maltoz
Polen	34,81±0,86	26,94±1,13	2,09±0,80	1,26±0,74
Perga	30,27±0,89	23,81±1,20	1,59±0,87	1,04±0,81

*Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur (n=3).

Krem bal yapımında kullanılan süzme balın fruktoz miktarı ortalama %40,17; glukoz miktarı ortalama %33,82'dir. Sakkarozun ortalama miktarı ise %0,04; maltoz miktarı ise ortalama %1,47'dir. Sade krem balın % fruktoz, glukoz, sakaroz ve maltoz değerleri sırasıyla; %39,60; %33,69; %0,03 ve %1,05'dir. Polenli krem balın % fruktoz, glukoz, sakaroz ve maltoz değerleri sırasıyla; %43,61; %41,57; %0,09 ve %1,73'tür. Pergalı krem balın % fruktoz, glukoz, sakaroz ve maltoz değerleri sırasıyla %44,27; %42,38; %0,08 ve %1,68'dir. % fruktozun % glukozdan yüksek çıkması beklenen bir durum olup genel olarak balın fruktoz oranı glikozdan daha yüksektir. Balın fruktoz içeriği %38-40, glikoz içeriği ise %30-32 civarındadır (Alghamdi et al., 2020). Yapılan bal şeker analizlerinin tüm sonuçları literatürle uyumlu olup, TKG Bal Kodeksi limitleri dahilinde çıkmıştır. Polenli krem balın ve Pergalı krem balın şeker değerlerinin yüksek olması, polen ve pergadan da gelen şeker oranlarından kaynaklanmaktadır (Deveza et al., 2015).



Şekil 4.3. Prolin değerleri dağılımı

Yapılan başka bir çalışmada ısıtılmanın polifloral balın kalitesine etkisi incelenmiştir. Bunun için bal numunelerine 0,5-5 saatlik zaman aralığında 50°C, 80°C ve 100°C olmak üç farklı sıcaklık uygulanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, ısıtmanın diastaz aktivitesi ve HMF içeriği üzerinde güçlü bir etkisi olduğunu göstermektedir. Uzun süre yüksek sıcaklığa maruz bırakılan bazı bal numunelerinin diastaz aktivitesinin tamamen inaktive edildiği, HMF içeriğinde ise oldukça artışın olduğu gözlemlenmiştir (Cozmuta et al., 2011)

Tosi (2008), ısıtılma altında azaldığı tarafından rapor edilmiştir; Tosi (2008), 60°C’de 20 dakika ve 80°C’de 10 dakika ısıtma ile enzimatik aktivitede %0,8 azalma, 100°C’de 0-20 dakika ısıtma ile diastaz aktivitesinin tamamen yitirildiğini gözlemlemiştir.

Yapılan bir çalışmada ısıtılma sırasında balın fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerindeki değişikliklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Isıtılma sırasında farklı bal türlerinin HMF içeriğinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Zarei et al., 2019).

Ghoniemy et al. (2022) farklı depolama koşullarının balın prolin, diastaz enzimi ve HMF düzeyleri üzerindeki etkilerini çalışmıştır. Depolama süresi sonunda balın diastaz aktivitesinin azaldığı, HMF düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Prolin içeriği ise depolamanın ilk 6 ayı boyunca stabil kalmış, 6 aylık depolamadan sonra ise azaldığı rapor edilmiştir.

Işınlama ve buharlaştırma işleminin balın fizikokimyasal özellikleri ve prolin içeriği üzerinde etkisinin incelendiği bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, radyasyon ve buharlaşmayı takiben prolin içeriğini etkilemezken, HMF değeri artırdığı sonucuna varılmıştır (Khalil e al., 2015).

Adnan et al. (2014) ısıtılma etkisinin bal örneklerindeki prolin içeriği üzerine etkisinin araştırmışlardır. Bal ısıtıldıktan sonra tüm bal numunelerinde prolin değerinin önemli ölçüde azaldığını gözlemlemişlerdir. ısıtılma sonrasında prolin içeriğindeki azalmanın, indirgeyici şekerin karbonil grubu ile amino asitler arasındaki reaksiyona ilaveten prolinin denatürasyonundan kaynaklanabildiğini ileri sürmüşlerdir. Çünkü serbest amino

asitlerin bileşiminin ısıt işlemler sonrasında değişme ihtimalinin kanıtlandığını bildirmişlerdir.

Önceki bölümlerde de bahsedildiği gibi krem balın kimyasal içeriği ham balın kimyasal içeriğinden neredeyse farksızdır. Farklılığın büyük çoğunluğu fiziksel ve duyu özellikleridir (Džugan et al., 2017).

Bu çalışmada yer alan tüm krem bal numunelerinin diastaz, HMF ve prolin değerleri Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde belirtilen limitlere ve farklı botanik-coğrafi kökenlere ait ballardan elde edilen literatürdeki sonuçlarla uyumludur.

4.2. *In Vitro* Gastrointestinal Sindirimin Toplam Fenolik, Toplam Flavonoid İçerik ve Toplam Antioksidan Aktivite Üzerindeki Etkisi

Fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı, asit veya enzimler tarafından kolaylıkla parçalanabildiğinden dolayı genellikle sindirim sistemi boyunca stabilitelerini koruyamamaktadırlar. Ancak fenolik bileşiklerin vücutta sağlık etkilerini gösterebilmeleri ve verimli bir şekilde kullanılmalarını sağlamak için sindirim sistemindeki stabilitelerinin artırılması yani insan bağırsığına ulaşması ve bu kısımdan emilerek kana geçmesi çok önemlidir (Vahapoğlu, 2022).

Bu çalışmada, arı ekmekli ve polenli krem bal üretim prosesinin biyoaktif bileşikler üzerindeki etkisini değerlendirmek ve biyoerişilebilirlik özelliklerini belirlemek için *in vitro* sindirim simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Mide ve bağırsak fazında alınan numuneler toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite açısından incelenmiş ve sonuçlar başlangıç numunesi ile karşılaştırılmıştır.

4.2.1. Toplam Fenolik İçerik

Bal numunelerinin başlangıç (sindirimden önce), mide ve bağırsak fazlarının toplam fenolik içerik değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. Arı ürünlerinin toplam fenol içeriği çiçek kaynağına ve coğrafi kökene bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir (Alevia et al., 2021).

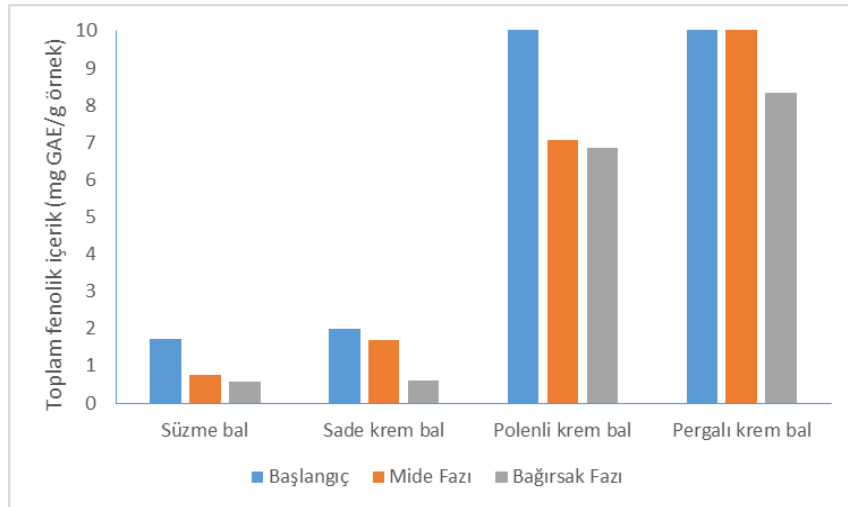
Tablo 4.3. Örneklerin *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası toplam fenolik içeriği (mg GAE/g örnek)

Numune	Başlangıç	Mide Fazı	Bağırsak Fazı
Süzme bal	1,71±0,67 ^{ba}	0,75±1,18 ^{ba}	0,58±0,37 ^{ba}
Sade krem bal	1,98±1,14 ^{ba}	1,68±0,30 ^{ba}	0,59±0,38 ^{ba}
Polenli krem bal	11,01±3,30 ^{aa}	7,06±2,64 ^{aa}	6,87±2,56 ^{aa}
Pergalı krem bal	11,88±2,43 ^{aa}	10,68±3,41 ^{aa}	8,35±3,59 ^{aa}

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=3).

*Farklı küçük ve büyük harfler, sırasıyla örnek gruplarının satırlar ve sütunlar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğunu gösterir (p<0,05).

Süzme bal numunesinin toplam fenolik başlangıç içeriği 1,71 mg GAE/g numune, mide fazı 0,75 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı 0,58 mg GAE/g numunedir. Sade krem bal numunesinin toplam fenolik içeriği başlangıç 1,98 mg GAE/g numune, mide fazı 1,68 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 0,59 mg GAE/g numunedir. Polenli krem bal numunesinin toplam fenolik içeriği başlangıç 11,01 mg GAE/g numune, mide fazı 7,06 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 6,87 mg GAE/g numunedir. Pergalı krem bal numunesinin ise toplam fenolik içeriği başlangıç 11,88 mg GAE/g numune, mide fazı 10,68 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 8,35 mg GAE/g numunedir (Şekil 4.4). Bu değerler, farklı botanik ve coğrafi kökenlere ait ballardan elde edilen literatürdeki sonuçlarla uyumludur (Socha et al., 2009; Alevia et al., 2021). İn vitro sindirimin bütün aşamalarında krem balın toplam fenolik içeriğini önemli derecede değiştirmedeği gözlemlenmiştir (p>0,05)



Şekil 4.4. Toplam fenolik içeriği dağılımı

Yapılan bir çalışmada *in vitro* gastrointestinal sindirimin manuka balının biyoerişilebilirliği ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda *in vitro* gastrointestinal sindirimin ABTS toplam antioksidan kapasitesinin önemli ölçüde azaldığını (yaklaşık altı kat azalma) bulmuşlardır (Ciancosi et al., 2020).

Rodriguez Romero (2012) *in vitro* sindirimin balın aktivitesi üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada sindirim sonrasında farklı fenolik bileşiklerde ciddi oranda azalma olduğu sonucuna varmıştır.

Zarei et al. (2019)'un yaptıkları bir çalışmada *in vitro* sindirimin balın fizikokimyasal ve biyoaktivite özelliklerindeki değişikliklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. *in vitro* sindirim sonunda farklı bal türlerinin toplam fenolik içeriğinde azalmanın belirgin bir şekilde olduğu gözlemlenmiştir.

Seraglio et al. (2017) mide fazından sonra balın fenolik içeriğinde herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir ancak bağırsak fazından sonra toplam fenoliklerde bir azalma gözlemlenmiştir.

Arı ürünlerinin biyoerişilebilirliği üzerine yapılan bir çalışmada sindirilen tüm örneklerde toplam fenolik içeriğin oral fazdan bağırsak fazına kadar önemli ölçüde arttığı görülmüştür (Gönül, 2016).

O'Sullivan et al. (2013), *in vitro* sindirimden sonra balın fenolik içeriğinde önemli bir değişiklik olmadığını ve bazı ballarda hafif bir artış gösterdiğini belirtmiştir.

Yapılan bir çalışmada güneşte kurutmanın bazı meyve polifenoller ve *in vitro* biyoyararlılığına etkisi üzerine araştırma gerçekleştirilmiştir. Kurutma sonrasında meyvelerin fenolik madde içeriğinde meydana gelen düşüşün istatistiksel olarak önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır (Kamiloğlu, 2012).

In vitro sindirimin bir gıdanın fenolik içeriği üzerindeki etkisi, gıda matrisi ve sindirim koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Örneğin balda bulunan şekerler ile Folin-Ciocalteu reaktifinin olası etkileşimi, sonuçların değişme nedeni olabilir. Bu nedenle literatürdeki çalışmaların sonuçları arasında farklılıkların bulunması

normaldir (Alevia et al., 2021). Bununla birlikte, toplam fenolik içeriği belirlemek için kullanılan reaktif olan Folin Ciocalteu, proteinlerle etkileşime girebilmektedir. Bu nedenle polenli krem bal ve pergalı krem balın protein değeri yüksek olduğundan dolayı belirlenen toplam fenolik içerik değerleri, reaktifin proteinlerle etkileşimi ile ilişkilendirilebilir (Vahapoğlu, 2022).

Mide fazından sonra toplam fenolik bileşik miktarındaki değişim incelendiğinde tüm numunelerde toplam fenolik bileşik miktarında azalma olduğu gözlemlenmiştir. Ancak numuneler kendi aralarında karşılaştırıldığında birbirinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olmadığı görülmüştür.

Mide fazında olduğu gibi bağırsak fazından sonra da örneklerin toplam fenolik içeriğinde azalma gözlemlenmiştir. Benzer şekilde bu azalma bağırsak fazında devam eden protein sindirimi ile ilişkili olabilir. Fenolik bileşik miktarındaki artışın protein sindirimi ile ilişkili olduğu varsayılırsa, toplam fenolik bileşik miktarındaki azalma protein-fenolik etkileşiminin protein sindirimi üzerindeki etkisinden kaynaklanabilmektedir. Ayrıca numunelerin toplam fenolik içeriğinin değişmesi, fenolik bileşiklerin sindirim sırasında stabilitelelerini koruyamamasından da kaynaklanabildiği ileri sürülmüştür (Chao Chen et al., 2019; Vahapoğlu, 2022).

4.2.2. Toplam Flavonoid İçerik

Bal numunelerinin başlangıç, mide ve bağırsak fazlarının toplam flavonoid içerik değerleri belirlenmiş olup sonuçlar Tablo 4.3’de verilmiştir. Arı ürünlerinin toplam fenol içeriği çiçek kaynağına ve coğrafi kökene bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir (Alevia et al., 2021).

Tablo 4.4. Örneklerin *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası toplam flavonoid içeriği (mg GAE/g örnek)

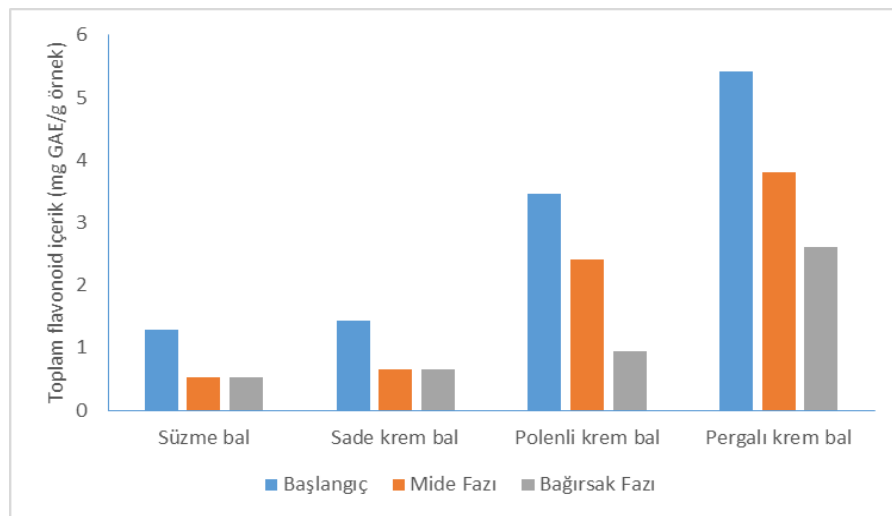
Numune	Başlangıç	Mide Fazı	Bağırsak Fazı
Süzme bal	1,29±1,06 ^{aA}	0,52±0,50 ^{cA}	0,53±0,52 ^{aA}
Sade krem bal	1,43±1,71 ^{aA}	0,65±0,71 ^{cA}	0,66±0,94 ^{aA}
Polenli krem bal	3,47±1,93 ^{aA}	2,41±1,75 ^{bA}	0,95±0,65 ^{aA}
Pergalı krem bal	5,42±2,18 ^{aA}	3,80±1,90 ^{aA}	2,61±1,29 ^{aA}

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=3).

*Farklı küçük ve büyük harfler, sırasıyla örnek gruplarının satırlar ve sütunlar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğunu gösterir (p<0,05).

Süzme bal numunesinin toplam başlangıç flavonoid içeriği 1,29 mg GAE/g numune, mide fazı 0,52 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı 0,53 mg GAE/g numunedir. Sade krem bal numunesinin toplam flavonoid içeriği başlangıç 1,43 mg GAE/g numune, mide fazı 0,65 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 0,66 mg GAE/g numunedir. Polenli krem bal numunesinin toplam flavonoid içeriği başlangıç 3,47 mg GAE/g numune, mide fazı 2,41 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 0,95 mg GAE/g numunedir. Pergalı krem bal numunesinin ise toplam flavonoid içeriği başlangıç 5,42 mg GAE/g numune, mide fazı 3,80 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 2,61 mg GAE/g numunedir (Şekil 4.5). Bu değerler, farklı botanik ve coğrafi kökenlere ait ballardan elde edilen literatürdeki sonuçlarla uyumludur (Socha et al., 2009; Alevia et al., 2021).

İn vitro sindirimin bütün aşamalarında krem balın toplam flavonoid içeriğini önemli derecede değiştirmedeği gözlemlenmiştir (p>0,05).



Şekil 4.5. Toplam fenolik içeriği dağılımı

Gönül (2016), arı poleni fermentasyonunun biyoerişebilirlik üzerindeki etkisini çalışmıştır. Çalışma sonucunda arı polenin toplam flavonoid içeriği, başlangıca göre yaklaşık 5-7 kat azaldığını gözlemlemiştir.

Cianciosi et al. (2020) balın *in vitro* sindirimi sonrasında, başlangıca göre toplam flavonoid miktarının 48,99 CatEq/Kg numune'den, 6,88 CatEq/Kg numune'ye düşerek yaklaşık 8 kat azalma olduğunu tespit etmiştir.

Guan-Lin Chen et al. (2015) farklı türde numunelerin sindirilmesinden sonra flavonoid içeriğinin nasıl değiştiğini değerlendiren çalışmada da benzer sonuçlar bulundu ve test edilen tüm örnek türlerinde flavonoid miktarının belirgin bir şekilde azaldığı kaydedilmiştir.

Ariza et al. (2018) farklı numunelerin sindirimden sonra toplam flavonoid içeriğinin azaldığını gözlemlemişlerdir.

Alevia et al., (2021) gastrointestinal sindirimi balın antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuar aktiviteleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışmada sindirim işleminden sonra toplam flavonoid değerlerinin değiştiğini bildirmişlerdir.

Rodriguez Romero (2012) *in vitro* sindirimin balın aktivitesi üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada sindirim sonrasında farklı flavonoid bileşiklerde ciddi oranda azalma olduğu sonucuna varmıştır.

Aylanc et al. (2021) bazı arı ürünlerinin simüle edilmiş gastrointestinal sindirimi altında biyoaktif bileşiklerin ve antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi üzerine araştırma gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda tüm numunelerde toplam flavonoid içeriğin simüle edilmiş gastrointestinal sindiriminden sonra genel olarak azalma eğiliminde olduğunu gözlemlemişlerdir.

Pinto et al. (2017), sindirim sonunda mürver meyvelerinin toplam flavonoid içeriğinde azalma olduğunu bildirmiştir.

Yenilebilir mantarlar ve keçiboynuzu unu üzerine yapılan diğer çalışmalarda da *in vitro* sindirimden sonra toplam flavonoid içeriğinde azalma olduğu sonuçları elde edilmiştir (Ortega et al., 2011; Ng and Rosman, 2019)

O’Sullivan et al. (2013) *in vitro* sindirimden sonra balın flavonoid içeriğinde önemli bir değişiklik olmadığını ve bazı ballarda hafif bir artış gösterdiğini belirtmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada ise *in vitro* sindirimin balın fizikokimyasal ve biyoaktivite özelliklerindeki değişikliklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. *in vitro* sindirim sonunda farklı bal türlerinin toplam flavonoid içeriğinde azalmanın belirgin bir şekilde olduğu gözlemlenmiştir (Zarei et al., 2019).

Genel olarak flavonoidlerin metabolizması, hem bakteriler tarafından hem de endojen olabilen ve ince bağırsakta bulunan enzimler tarafından aktive edilen bir hidroliz etkileşimi ile başlar. Bu hidroliz, flavonoidlerin glikosile edilmiş formunun oluşumuna yol açar (Spencer et al., 1999). Gıda matrisi ve endojen enzimatik içeriği, flavonoid bileşiklerin daha fazla transformasyonuna yol açabilmekte, dolayısıyla biyolojik erişilebilirliklerini ve biyoyararlanımlarını etkileyebilmektedir (Scalbert and Williamson 2000). Ayrıca gastrointestinal sindirim sonrasında flavonoid içeriğindeki değişim, sindirim enzimlerinin veya farklı pH ortamlarının etkisiyle salınan flavonoidlerin parçalanmasına ve daha erişilebilir olmasından kaynaklanabilmektedir (Scalbert and Williamson 2000).

4.2.3. ABTS Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite

Bal numunelerinin başlangıç, mide ve bağırsak fazlarının ABTS yöntemiyle analiz edilen başlangıç örneğinin ve mide ve bağırsak fazlarının toplam antioksidan kapasite sonuçları (mg TE/g numune) Tablo 4.4’de verilmiştir.

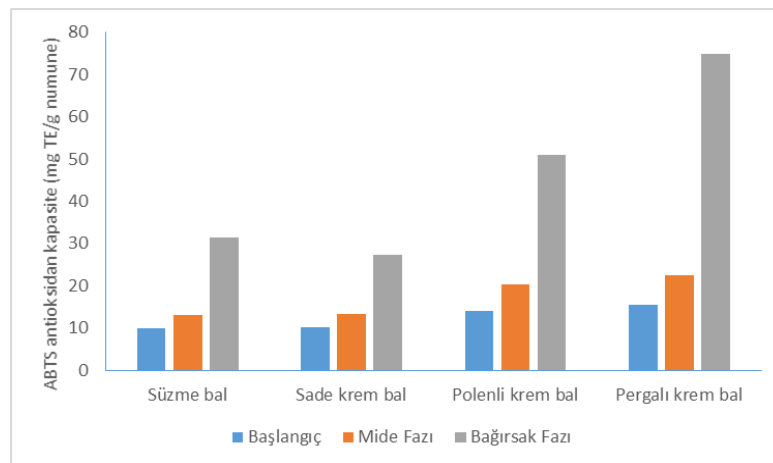
Tablo 4.5. Numunelerin *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası ABTS antioksidan kapasitesi (mg TE/g numune)

Numune	Başlangıç	Mide Fazı	Bağırsak Fazı
Süzme bal	10,01±4,27 ^{aB}	13,11±1,86 ^{bB}	31,33±4,58 ^{cA}
Sade krem bal	10,13±2,81 ^{aB}	13,19±2,77 ^{bB}	27,23±4,17 ^{cA}
Polenli krem bal	13,99±2,42 ^{aB}	20,39±3,27 ^{aB}	50,87±4,24 ^{bA}
Pergalı krem bal	15,58±3,17 ^{aB}	22,42±3,42 ^{aB}	74,84±4,49 ^{aA}

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=3).

*Farklı küçük ve büyük harfler, sırasıyla örnek gruplarının satırlar ve sütunlar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğunu gösterir (p<0,05).

Süzme bal numunesinin başlangıç, mide fazı ve bağırsak fazı ABTS antioksidan kapasitesi sonuçları sırasıyla 10,01; 13,11 ve 31,33 mg TE/g numunedir. Sade krem bal numunesinin ABTS antioksidan kapasitesi sonuçları; başlangıç 10,13 mg TE/g numune, mide fazı 13,19 mg TE/g numune ve bağırsak fazı için 27,23 mg TE/g numunedir. Polenli krem bal numunesinin ABTS antioksidan kapasitesi sonuçları; başlangıç 13,99 mg TE/g numune, mide fazı 20,39 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 50,87 mg TE/g numunedir. Pergalı krem bal numunesinin ABTS antioksidan kapasitesi sonuçları ise; başlangıç 15,58 mg TE/g numune, mide fazı 22,42 mg TE/g numune ve bağırsak fazı için 74,84 mg TE/g numunedir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. ABTS antioksidan kapasite dağılımı

Tüm bal numunelerinin *in vitro* sindirimin bütün aşamalarında toplam fenolik içerik azalmasına rağmen toplam antioksidan kapasite giderek artmıştır. Bu değerler, farklı botanik ve coğrafi kökenlere ait ballardan elde edilen literatürdeki sonuçlarla uyumludur

(Socha et al., 2009; Alevia et al., 2021). *in vitro* sindirimin bütün aşamalarında krem balın toplam flavonoid içeriğini önemli derecede değiştirmedeği gözlemlenmiştir ($p>0,05$).

Süzme bal ve sade krem bal numunelerine göre polenli krem bal ve pergalı krem bal numunelerinin toplam fenolik içeriğinin yüksek olması, bu numunelerin antioksidan kapasitesini artırmıştır. Ayrıca yine polenli krem bal ve pergalı krem bal numunelerinin protein içeriğinin yüksek olması da bu numunelerin antioksidan kapasitesini artırmış olabilir. Çünkü literatürdeki bazı çalışmalar, fenolik bileşiklerin proteinlere bağlandığında serbest hidroksil gruplarının antioksidan kapasite oluşturabildiğini, protein-fenolik komplekslerinin toplam antioksidan kapasitesini artırabildiğini göstermiştir (Vahapoğlu, 2022). Örneğin; kazein ve galik asit kompleksinin yanı sıra klorojenik asit ile kazein ve peynir altı suyu proteini komplekslerinin toplam antioksidan kapasiteyi arttırdığı belirtilmiştir (Zhao et al., 2020; Vahapoğlu, 2022).

Protein taşıyıcı sistemlerin polifenollerini bozulmadan koruduğu ve *in vitro* sindirim sırasında antioksidan aktivitelerini koruduğu ileri sürülmüştür (Xiong et al., 2020).

Çavdaroğlu (2023)'nın yaptığı çalışmada, numunelerin *in vitro* sindirim sürecinde toplam ABTS antioksidan kapasitenin değiştiğini bildirmiştir.

In vitro sindirimin çiçek balının antioksidan aktivitesi ve biyoerişilebilirliği üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ABTS antioksidan kapasitesinin yaklaşık %79 oranında azaldığı görülmüştür (Costa et al., 2019).

Pepsin ve pankreatin kullanılarak statik *in vitro* gastrik sindirimin İtalyan balı antioksidan kapasitesi üzerine etkisini araştırmak üzere bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bal numunelerinin ABTS antioksidan aktivite değerleri, başlangıç durumuna göre önemli ölçüde düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca bal türünün ve sindirimin, bal polifenollerini üzerindeki etkisi ile ilişkili olan antioksidan kapasite üzerinde doğrudan bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Simonetti et al., 2020).

Gönül (2016), arı ürünlerinin biyoerişebilirliği üzerine çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışma sonucunda sindirilen tüm örneklerde toplam antioksidan kapasitesinin oral fazdan bağırsak fazına kadar önemli ölçüde arttığı değiştiğini gözlemlemiştir.

Ciancosi et al. (2020) *in vitro* gastrointestinal sindirimin manuka balının biyoerişilebilirliği ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda *in vitro* gastrointestinal sindirimin ABTS toplam antioksidan kapasitesini değiştirdiğini bulmuşlardır.

Zhao et al., (2020) sindirim sonrasında toplam antioksidan kapasitesinde azalmaya ilişkin benzer bir sonuç bildirmiştir. Bu azalmayı gastrointestinal sistemdeki sindirim enzimlerine ve fenolik bileşiklerin sindirim sırasında stabiliteilerini koruyamamasına bağlamışlardır.

4.2.4. CUPRAC Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite

Bal numunelerinin başlangıç, mide ve bağırsak fazlarının toplam antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemiyle analiz edilmiştir. Başlangıç, mide ve bağırsak fazlarının CUPRAC toplam antioksidan kapasite sonuçları (mg TE/g numune) Tablo 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.6. Numunelerin *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası CUPRAC antioksidan kapasitesi

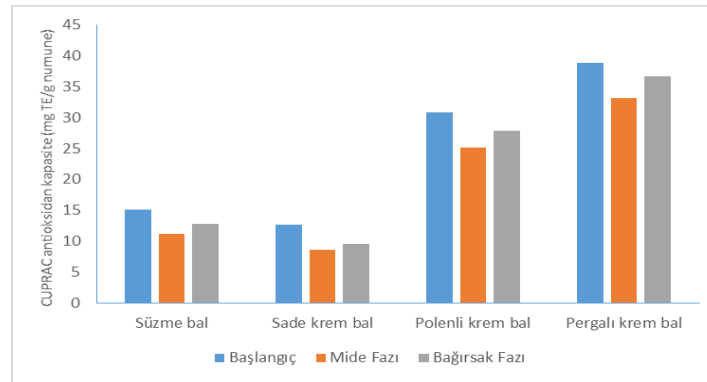
Numune	Başlangıç	Mide Fazı	Bağırsak Fazı
Süzme bal	15,08±1,54 ^{cA}	11,20±1,21 ^{cB}	12,82±1,45 ^{cAB}
Sade krem bal	12,65±1,32 ^{cA}	8,58±1,99 ^{cA}	9,53±1,66 ^{cA}
Polenli krem bal	30,83±1,52 ^{bA}	25,20±1,40 ^{bB}	27,82±2,12 ^{bAB}
Pergalı krem bal	38,99±2,05 ^{aA}	33,11±2,17 ^{aA}	36,66±2,90 ^{aA}

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=3).

*Farklı küçük ve büyük harfler, sırasıyla örnek gruplarının satırlar ve sütunlar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğunu gösterir (p<0,05).

Süzme bal numunesinin toplam CUPRAC antioksidan kapasitesi; başlangıç 15,08 mg TE/g numune, mide fazı 11,20 mg TE/g numune ve bağırsak fazı 12,82 mg TE/g numunedir. Sade krem bal numunesinin toplam CUPRAC antioksidan kapasitesi; başlangıç 12,65 mg TE/g numune, mide fazı 8,58 mg TE/g numune ve bağırsak fazı için 9,53 mg TE/g numunedir. Polenli krem bal numunesinin toplam CUPRAC antioksidan

kapasitesi; başlangıç 30,83 mg TE/g numune, mide fazı 25,20 mg TE/g numune ve bağırsak fazı için 27,82 mg TE/g numunedir. Pergalı krem bal numunesinin toplam CUPRAC antioksidan kapasitesi; başlangıç 38,99 mg TE/g numune, mide fazı 33,11 mg TE/g numune ve bağırsak fazı için 36,66 mg TE/g numunedir (Şekil 4.7.). Bu değerler, farklı botanik ve coğrafi kökenlere ait ballardan elde edilen literatürdeki sonuçlarla uyumludur (Socha et al., 2009; Alevia et al., 2021).



Şekil 4.7. CUPRAC antioksidan kapasite dağılımı

Tüm bal numunelerinin CUPRAC antioksidan kapasitesi başlangıca göre *in vitro* sindirimin mide fazında azalırken, bağırsak fazında tekrar artış göstermiştir. Oran olarak polenli krem bal ve pergalı krem bala nazaran, süzme ve sade krem bal daha fazla değişim göstermiştir.

Numunelerin toplam fenolik içeriği, *in vitro* sindirimin tüm aşamalarında giderek azalma göstermişti (Tablo 4.2). Toplam fenolik içerik göz önünde bulundurulduğunda, CUPRAC antioksidan kapasitesinin mide fazında azalma göstermesi beklenen bir durum olabilir, ancak bağırsak fazında tekrar artmıştır. Bu durum bazı fenolik bileşikler sindirime duyarlı olsa da antioksidan kapasitedeki artış, fenolik bileşik stabilitesini artıran protein-fenolik komplekslerinin oluşumuyla ilişkilendirilebilmektedir (Hanuka-Katz et al., 2022; Vahapoğlu, 2022).

Alevia et al. (2021) gastrointestinal sindirimin balın kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda gastrointestinal sindirimden sonra toplam fenolik içerik sonuçlarında olduğu gibi, antioksidan aktivitenin de arttığını rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, diğer gıda

matrislerinde, sindirimden sonra numunenin antioksidan aktivitesindeki bir artışın, enzimatik sindirimden antioksidan bileşiklerin salınmasından kaynaklandığını iddia etmişlerdir (Adnan et al., 2014; Alevia et al., 2021).

Yapılan başka bir çalışmada *in vitro* sindirim sonrası farklı numunelerin toplam antioksidan aktivitesinde anlamlı bir değişiklik olduğu bildirilmiştir (Özkan et al., 2023). Ayrıca; mide sindiriminden sonra antioksidan kapasitesindeki artışın, midede açığa çıkan bazı fenolik bileşiklerin daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu anlamına geldiği şeklinde yorumlamışlardır (Özkan et al., 2023).

4.2.5. DPPH Yöntemiyle Belirlenen Antioksidan Kapasite

Bal numunelerinin başlangıç, mide ve bağırsak fazlarının DPPH yöntemiyle analiz edilen toplam antioksidan kapasite sonuçları (mg TE/g numune) Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.7. Numunelerin *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası DPPH antioksidan kapasitesi (mg TE/g numune)

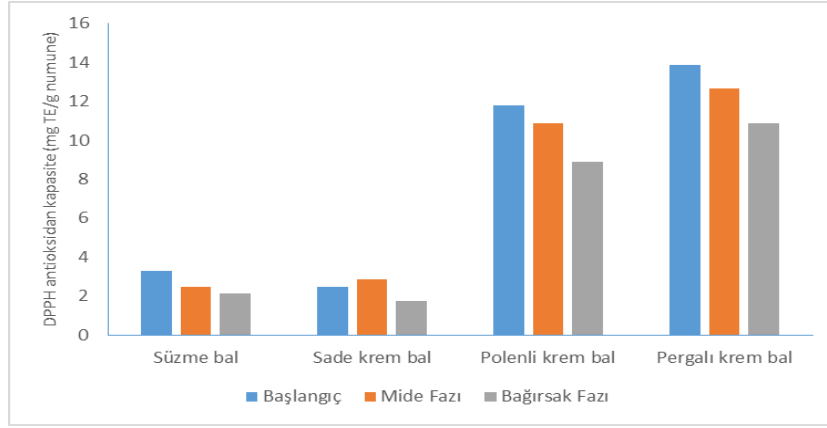
Numune	Başlangıç	Mide Fazı	Bağırsak Fazı
Süzme bal	3,28±1,28 ^{bA}	2,47±1,13 ^{bA}	2,12±1,45 ^{bA}
Sade krem bal	2,46±1,41 ^{bA}	2,84±1,52 ^{bA}	1,75±1,74 ^{bA}
Polenli krem bal	11,77±2,17 ^{aA}	10,87±2,52 ^{aA}	8,87±3,10 ^{aA}
Pergalı krem bal	13,89±3,31 ^{aA}	12,68±2,80 ^{aA}	10,85±3,87 ^{aA}

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=3).

*Farklı küçük ve büyük harfler, sırasıyla örnek gruplarının satırlar ve sütunlar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğunu gösterir (p<0,05).

Süzme bal numunesinin başlangıç, mide fazı ve bağırsak fazı DPPH antioksidan kapasitesi sonuçları sırasıyla 3,28; 2,47 ve 2,12 mg TE/g numunedir. Sade krem bal numunesinin DPPH antioksidan kapasitesi sonuçları; başlangıç 2,46 mg TE/g numune, mide fazı 2,84 mg TE/g numune ve bağırsak fazı için 1,75 mg TE/g numunedir. Polenli krem bal numunesinin DPPH antioksidan kapasitesi sonuçları; başlangıç 11,77 mg TE/g numune, mide fazı 10,87 mg GAE/g numune ve bağırsak fazı için 8,87 mg TE/g numunedir. Pergalı krem bal numunesinin DPPH antioksidan kapasitesi sonuçları ise; başlangıç 13,89 mg TE/g numune, mide fazı 12,68 mg TE/g numune ve bağırsak fazı için 10,85 mg TE/g numunedir (Şekil 4.8). Tüm bal numunelerinin *in vitro* sindirimin bütün

aşamalarında toplam fenolik içerik sonuçlarına benzer şekilde DPPH antioksidan kapasite giderek azalmıştır. Bu değerler, farklı botanik ve coğrafi kökenlere ait ballardan elde edilen literatürdeki sonuçlarla uyumludur (Socha et al., 2009; Alevia et al., 2021).



Şekil 4.8. DPPH antioksidan kapasite dağılımı

O'Sullivan et al. (2013), ticari balların *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası antioksidan aktivitesinin karşılaştırılması üzerine çalışma gerçekleştirilmişlerdir. Balın *in vitro* sindirimini takiben tüm bal numunelerinde toplam fenolik içeriğinin önemli ölçüde değişmediği ancak DPPH antioksidan aktivitesinin yaklaşık %52 oranında azaldığını gözlemlemişlerdir.

Özkan et al. (2023), *in vitro* sindirimin toplanan bazı numunelerin fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesinin üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitenin azdan çoğa olacak şekilde sırasıyla sindirilmemiş, bağırsak bazı ve mide fazı olarak bulmuşlardır.

Tagliazucchi et al. (2010) Bazı fenolik bileşiklerin serbest radikal süpürücü aktivitesinin bağırsak sindiriminden sonra arttığını bildirmişlerdir.

Çavdaroğlu (2023)'nın yaptığı çalışmada, numunelerin *in vitro* sindirim sürecinde toplam DPPH antioksidan kapasitenin değiştiğini bildirmiştir.

Seraglio et al. (2017) mide fazından sonra balın fenolik içeriğinde herhangi bir farklılık gözlemlememiştir ancak sindirimden sonra fazından sonra toplam DPPH antioksidan

kapasitede önemli ölçüde azalma gözlemlenmiştir. Bu durumu da fenolik bileşiklere ve DPPH'in diğer antioksidan kapasite belirleme yöntemlerine göre daha spesifik olduğuna bağlamaktadırlar. Bu çalışmada bildirilen sonuçlar, antioksidan bileşimindeki farklılıkların aynı bal türünde bile bulunabileceğini göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada, *in vitro* sindirimin çiçek ve çam ballarının antioksidan kapasitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *in vitro* sindirimden sonra bal numunelerinin DPPH antioksidan aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalmanın, *in vitro* sindirimde kullanılan pepsin, pankreatin, safra tuzları vb. faktörlerden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Celep and Yeşilada, 2017).

Çalışmada CUPRAC antioksidan kapasitesinin sonuçları, DPPH antioksidan kapasitesinin sonuçlarından daha yüksekti. Benzer şekilde, Özkan et al. (2023) ve Kılıçgün and Altınar (2010) DPPH antioksidan kapasitesine kıyasla CUPRAC antioksidan kapasitesini daha yüksek bulmuşlardır.

Chang (2019), çeşitli gıda işleme tekniklerinin besin içeriğini ve bunların biyoyararlanımını olumsuz veya olumlu bir şekilde etkileyebileceğini ileri sürmektedir. Gıda matrisi, çeşitli besin maddeleri ve fitokimyasalların gıda işleme, depolama ve gastrointestinal sindirimi sırasında bozulmasını önlemek için müdahale edilebileceği sonucuna varmıştır.

Antioksidan aktiviteyi etkileyen faktör yalnızca fenolik bileşiklerin olmadığını düşündürmektedir. Sindirim işlemi sırasında fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin içeriğinin değişebildiği, bunun sonucunda biyolojik olarak erişilebilir fraksiyonlarının da değişebileceği görülmektedir. Antioksidan potansiyel, sindirim koşulu sırasında değişiklik gösterebilmektedir. Çünkü fenolik bileşiklerin radikal süpürme kapasitesi ortamın pH'ına bağlıdır. Fenolik bileşiklerin radikal süpürme kapasitesinin çoğu, ortamın pH'ına bağlıdır ve bu da sindirim sırasında antioksidan kapasitede dalgalanmalara neden olabilmektedir. Ek olarak, fenolik maddeler, hidroksil gruplarının iyonlaşması nedeniyle gastrointestinal geçiş yoluyla yapısal değişikliklere uğrayabilir ve bu da daha yüksek pH değerlerinde antioksidan kapasitenin artmasına neden olabilmektedir (Özkan et al., 2022; Özkan et al., 2023).

Seraglio et al., (2017), sindirim koşullarına duyarlı fenolik bileşiklerin yanı sıra diğer biyoaktif bileşiklerin varlığı, manuka balının antioksidan kapasitesinin yoğun bir şekilde değişmesiyle ilişkilendirmiştir. Bununla birlikte, *in vitro* sindirimden sonra bazı spesifik fenolik bileşiklerin konsantrasyonundaki azalma, balın antioksidan aktivitesinin azalmasına önemli bir katkıda bulunduğu gerçeğini de göz ardı etmemekte fayda vardır (Afrin et al., 2020).

Schramm et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada, bazı bal örneklerinin tüketildikten sonra, toplam fenolik içeriğinin ve antioksidan etkisinin arttığı bildirilmiştir. Bu veriler ışığında, baldan elde edilen fenolik bileşiklerin biyolojik olarak kullanılabilir olduğu ve oksidatif strese karşı savunmayı geliştirdiği ileri sürülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Arı ürünleri (özellikle bal), besleyici ve biyoaktif potansiyele sahip çok fazla bileşenden oluşan doğal besinlerdir. Bu nedenlerden dolayı bu ürünler, özellikle sağlığı geliştirici özellikleri nedeniyle yaygın olarak tüketilmektedir.

Bu çalışmada, sade, pergalı ve polenli krem bal üretim prosesinin biyoaktif bileşikler üzerindeki etkisini değerlendirmek ve biyoerişilebilirlik özelliklerini belirlemek için *in vitro* sindirim simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Mide ve bağırsak fazında alınan numuneler toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid madde içeriği ve antioksidan kapasite açısından incelenmiş ve sonuçlar başlangıç durumu ile karşılaştırılmıştır.

Balın akış davranışının, viskozitesinin ve sıcaklığa bağlı değişiminin araştırıldığı bazı çalışmalar literatürde yer almaktadır. Ancak diğer arı ürünleri ilave edilmiş krem bal üretim prosesini ve bu prosesin balın fizikokimyasal özelliklerine ve biyoerişilebilirliğine etkisini ele alan çalışmalara literatürde rastlanmamıştır. Yapılan analiz sonuçları göz önünde bulundurulduğunda krem bal üretim prosesinin, süzme bal parametrelerini önemli miktarda değiştirmedeği görülmüştür.

Bu çalışma, sade, pergalı ve polenli krem bal üretim prosesinin biyoaktif bileşikler üzerindeki etkisini değerlendirmek ve *in vitro* sindirim simülasyonu gerçekleştirerek biyoerişilebilirlik özelliklerini belirleme sonuçları ile bu alandaki literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Bununla birlikte, balın diğer bileşenlerinin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi ve sindirimin balın biyolojik özellikleri üzerindeki etkileri ile ilgili literatürde hala az sayıda çalışma bulunmaktadır. Biyoyararlanım verileri de göz önüne alındığında bu bilgi daha da azdır. Bu anlamda somut sonuçlar çıkarmak daha zor hale gelmektedir.

Bu çalışmada sunulan bilgiler göz önüne alındığında, gelecekteki araştırmalar, sindirimin balın bileşimi ve biyoaktivitesi üzerindeki etkisi hakkındaki bilgileri derinleştirmenin,

proteinler, peptitler, organik asitler, vitaminler gibi antioksidan potansiyele sahip diğ er bileşiklerin de değerlendirilmesinin yanı sıra ilgili yaklaşımları ve sınırlamaları anlamayı amaçlamalıdır. Ayrıca; yapılacak olan çalışmalarda Caco-2 hücre kültürü modellerinin *in vitro* gastrointestinal sindirim yöntemi ile birlikte kullanılması, arı ürünlerinin biyoaktif maddelerinin akıbeti hakkında daha fazla bilgi sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abedi, F., Ghasemi, S., Farkhondeh, T., Azimi-Nezhad, M., Shakibaei, M., and Samarghandian, S. (2021). Possible potential effects of honey and its main components against Covid-19 infection. *Dose-Response*, 19(1), 1559325820982423.

Abouda, Z., Zerdani, I., Kalalou, I., Faïd, M., and Ahami, M. T. (2011). The antibacterial activity of Moroccan bee bread and bee-pollen (fresh and dried) against pathogenic bacteria. *Research Journal of Microbiology*, 6(4), 376.

Acquarone, C., Buera, P., and Elizalde, B. (2007). Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry*, 101(2), 695–703.

Adnan, N. A., Chua, L. S., and Sarmidi, M. R. (2014). Thermal treatment effect on free amino acids in honey samples. *Jurnal Teknologi*, 69(4), 29-33.

Akbulut, M., Çoklar, H. (2008). Physicochemical and rheological properties of sesame pastes (tahin) processed from hulled and unhulled roasted sesame seeds and their blends at various levels, *Journal of Food Process Engineering*, 31(4), 488-502.

Al-Diab, D., Jarkas, B. (2015). Effect of storage and thermal treatment on the quality of some local brands of honey from Latakia markets. *Journal of entomology and zoology studies*, 3(3), 328-334.

Alevia, M., Rasines, S., Cantero, L., Sancho, M. T., Fernández-Muiño, M. A., and Osés, S. M. (2021). Chemical extraction and gastrointestinal digestion of honey: Influence on its antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities. *Foods*, 10(6), 1412.

Al-Ghamdi, A. A., Al-Khaibari, A. M., and Omar, M. O. (2011). Consumption rate of some proteinic diets affecting hypopharyngeal glands development in honeybee workers. *Saudi journal of biological sciences*, 18(1), 73-77.

Alghamdi, B. A., Alshumrani, E. S., Saeed, M. S. B., Rawas, G. M., Alharthi, N. T., Baeshen, M. N., ... and Suhail, M. (2020). Analysis of sugar composition and pesticides using HPLC and GC–MS techniques in honey samples collected from Saudi Arabian markets. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3720-3726.

Al-Hatamleh, M. A., Hatmal, M. M. M., Sattar, K., Ahmad, S., Mustafa, M. Z., Bittencourt, M. D. C., and Mohamud, R. (2020). Antiviral and immunomodulatory

effects of phytochemicals from honey against COVID-19: Potential mechanisms of action and future directions. *Molecules*, 25(21), 5017.

Ali, A. M., and Kunugi, H. (2021). Propolis, bee honey, and their components protect against coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review of in silico, in vitro, and clinical studies. *Molecules*, 26(5), 1232.

Almeida-Muradian, L. B., Pamplona, L.C., Coimbra, S., and Barth, O.M. (2005). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of food composition and analysis*, 18(1), 105-111.

Alminger, M., Aura, A. M., Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., and Santos, C. N. (2014). In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 413-436.

Alvarez-Suarez, J. M., Gasparri, M., Forbes-Hernández, T. Y., Mazzoni, L. and Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: a focus on Manuka honey. *Foods*, 3(3), 420-432.

Anđelković, B., Jevtić, G., Mladenović, M., Marković, J., Petrović, M., and Nedić, N. (2012). Quality of pollen and honey bee bread collected in spring. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 1, 275-277.

Anderson, K. E., Carroll, M. J., Sheehan, T. I. M., Mott, B. M., Maes, P., and Corby-Harris, V. (2014). Hive-stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. *Molecular ecology*, 23(23), 5904-5917.

Anonim a. (2023). Biology Dictionary. URL: <https://biologydictionary.net/pollen/> Erişim: 10.12.2023

Anonim b. (2023). Apiscera. URL: <https://apiscera.com/en/pollen/> . Erişim: 10.12.2023

Ariza, M. T., Reboredo-Rodríguez, P., Cervantes, L., Soria, C., Martínez-Ferri, E., González-Barreiro, C., and Simal-Gándara, J. (2018). Bioaccessibility and potential bioavailability of phenolic compounds from achenes as a new target for strawberry breeding programs. *Food chemistry*, 248, 155-165.

Audisio, M. C., Terzolo, H. R., and Apella, M. C. (2005). Bacteriocin from honeybee beebread *Enterococcus avium*, active against *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6), 3373-3375.

Awad, A. L., Beshara, M. M., Ibrahim, A. F., and Fahim, H. N. (2013). Effect of using bee bread as a natural supplement on productive and physiological performance of local Sinai hens. *Egyptian Poultry Science Journal*, 33(4), 889-913.

Aylanc, V., Tomás, A., Russo-Almeida, P., Falcão, S. I., and Vilas-Boas, M. (2021). Assessment of bioactive compounds under simulated gastrointestinal digestion of bee pollen and bee bread: Bioaccessibility and antioxidant activity. *Antioxidants*, 10(5), 651.

Badolato, M., Carullo, G., Cione, E., Aiello, F., and Caroleo, M. C. (2017). From the hive: Honey, a novel weapon against cancer. *European journal of medicinal chemistry*, 142, 290-299.

Bakour, M., Al-Waili, N. S., El Menyiy, N., Imtara, H., Figuira, A. C., Al-Waili, T., and Lyoussi, B. (2017). Antioxidant activity and protective effect of bee bread (honey and pollen) in aluminum-induced anemia, elevation of inflammatory makers and hepato-renal toxicity. *Journal of food science and technology*, 54, 4205-4212.

Baltrušaitytė, V., Venskutonis, P. R., and Čeksterytė, V. (2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food chemistry*, 101(2), 502-514.

Barajas, J., Cortes-rodriguez, M. I. S. A. E. L., and Rodríguez-Sandoval, E. D. U. A. R. D. O. (2012). Effect of temperature on the drying process of bee pollen from two zones of Colombia. *Journal of Food Process Engineering*, 35(1), 134-148.

Barth, O. M., Freitas, A. S., Oliveira, É. S., Silva, R. A., Maester, F. M., Andrella, R. R., and Cardozo, G. M. (2010). Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: a proposal for technical standardization. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82(4), 893-902.

Belay, A., Haki, G.D., Birringer, M., Borck, H., Lee, Y.C., Kim, K.T., Baye, K. and Melaku, S. (2017). Enzyme activity, amino acid profiles and hydroxymethylfurfural content in ethiopian monofloral honey. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9): 2769-2778.

Bergamo, G., Seraglio, S. K. T., Gonzaga, L. V., Fett, R., and Costa, A. C. O. (2019). Physicochemical characteristics of bracatinga honeydew honey and blossom honey produced in the state of Santa Catarina: an approach to honey differentiation. *Food research international*, 116, 745-754.

Berk, B. (2020). Determination Of Honey Crystallization And Adulteration By Using Time Domain Nmr Relaxometry. (Master Of Science Thesis, Middle East Technical University).

- Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M. P., Albertini, M. C., and Piatti, E. (2006). Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food chemistry*, 97(2), 217-222.
- Bogdanov, S. (2016). Honey as nutrient and functional food. *Bee Product Science*, April 2016.
- Bueno-Costa, F. M., Zambiasi, R. C., Bohmer, B. W., Chaves, F. C., da Silva, W. P., Zanusso, J. T. and Dutra, I. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 333-340.
- Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. (2002). Gıdalarda maillard reaksiyonu. *Gıda*, 27 (2): 77-82.
- Džugan, M., Grabek-Lejko, D., Sidor, E., and Tomczyk, M. (2021). The impact of ultrasound decrystallization on enzymatic, antioxidant and antibacterial properties of honey. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 71, 102709.
- Calderone, N. W. (2002). Creamed Honey-Theory. Dyce Laboratory for Honey Bee Studies, Cornell University, 1-5.
- Campos, M. G. R., and Bogdanov, S. Bicudo de Almeida-Muradian L., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C., Ferreira F.(2008). Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 47(2), 156-163.
- Campos, M. G., Cunha, A., and Markham, K. R. (1997). Bee-Pollen. In *Bee Products* (pp. 93-100). Springer US.
- Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., and Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.
- Carabasa-Giribet, M., Ibarz-Ribas, A. (2000). Kinetics of colour development in aqueous glucose systems at high temperatures. *Journal of food Engineering*, 44: 181-189.
- Carpes, S. T., Begnini, R., Alencar, S. M. D., and Masson, M. L. (2007). Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência e agrotecnologia*, 31, 1818-1825.
- Carrillo, C., Rey, R., Hendrickx, M., del Mar Cavia, M., and Alonso-Torre, S. (2017). Antioxidant capacity of beetroot: traditional vs novel approaches. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72, 266-273.

Čeksterytė, V., Navakauskienė, R., Treigytė, G., Jansen, E., Kurtinaitienė, B., Dabkevičienė, G., and Balžekas, J. (2016). Fatty acid profiles of monofloral clover beebread and pollen and proteomics of red clover (*Trifolium pratense*) pollen. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 80(11), 2100-2108.

Celep, E. and Yeşilada, E. (2017). Influence of honey addition on the bioaccessibility of phenolic contents and antioxidant capacities of different coffee types. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(4), 906-914.

Chang, S. K. (2019). How food structure and processing affect the bioavailability of nutrients and antioxidants. *Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food Chemistry*, p. 158-166.

Chen, G. L., Chen, S. G., Xie, Y. Q., Chen, F., Zhao, Y. Y., Luo, C. X., and Gao, Y. Q. (2015). Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to *in vitro* digestion. *Journal of Functional Foods*, 17, 243-259.

Chua, L. S., Lee, J. Y. and Chan, G. F. (2013). Honey protein extraction and determination by mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(10), 3063-3074.

Chua, L. S., Adnan, N. A., Abdul-Rahaman, N. L., and Sarmidi, M. R. (2014). Effect of thermal treatment on the biochemical composition of tropical honey samples. *International food research journal*, 21(2).

Cienciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparini, M., Quiles, J. L., Gil, E., and Giampieri, F. (2020). The influence of *in vitro* gastrointestinal digestion on the anticancer activity of manuka honey. *Antioxidants*, 9(1), 64.

Conforti, P. A., Lupano, C. E., Malacalza, N. H., Arias, V. and Castells, C.B. (2006). Crystallization of honey at -20 °C. *International Journal of Food Properties*, 9(1), 99-107.

Conte, P., Del Caro, A., Balestra, F., Piga, A. and Fadda, C. (2018). Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach. *LWT*, 90, 1-7.

Costa, E. D. A., Sousa, P. H. M. D., Siqueira, A. C. P., Figueiredo, E. A. T. D., Gouveia, S. T., Figueiredo, R. W. D., and Gomes, D. S. (2019). Fruit pastes with organic honey texturized with gellan gum: bioaccessibility of antioxidant activity and sensory analysis fruit pastes with gellan and organic honey. *Food Science and Technology*, 39, 667-676.

Cozmuta, A. M., Cozmuta, L. M., Varga, C., Marian, M., and Peter, A. (2011). Effect of thermal processing on quality of polyfloral honey. *Romanian Journal of Food Science*, 1(1), 45-52.

Crane, E. (1999). *The World History of Beekeeping and Honey Hunting*. Routledge. <https://books.google.com.tr/books?id=ANTSvKj1AZEC>

da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O. and Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.

DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y., and Simonds, R. (2013). The effects of pesticides on queen rearing and virus titers in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insects*, 4(1), 71-89.

Demirtas, I., Erenler, R., Elmastas, M., and Goktasoglu, A. (2013). Studies on the antioxidant potential of flavones of *Allium vineale* isolated from its water-soluble fraction. *Food chemistry*, 136(1), 34-40.

Denisow, B., and Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303-4309.

Deveza, M. V., Keller, K. M., Lorenzon, M. C. A., Nunes, L. M. T., Sales, É. O. and Barth, O. M. (2015). Mycotoxicological and palynological profiles of commercial brands of dried bee pollen. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46, 1171-1176.

Dhahir, S. A. and Hemed, A. H. (2015). Determination of heavy metals and trace element levels in honey samples from different regions of Iraq and compared with other kind. *American Journal of Applied Chemistry*, 3(3).83-92.

Dobre, I., Georgescu, L. A., Alexe, P., Escuredo, O., and Seijo, M. C. (2012). Rheological behavior of different honey types from Romania. *Food Research International*, 49(1), 126-132.

Duclos, A. J., Lee, C. T., and Shoskes, D. A. (2007). Current treatment options in the management of chronic prostatitis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(4), 507-512.

Duffus, J. H. (2002). Heavy metals a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793-807.

Durling, L. J., Busk, L., and Hellman, B. E. (2009). Evaluation of the DNA damaging effect of the heat-induced food toxicant 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in various cell lines with different activities of sulfotransferases. *Food and Chemical Toxicology*, 47(4), 880-884.

Dżugan, M., Sowa, P., Kwaśniewska, M., Wesołowska, M., and Czernicka, M. (2017). Physicochemical parameters and antioxidant activity of bee honey enriched with herbs. *Plant foods for human nutrition*, 72, 74-81.

Erkmen, O., and Özcan, M. M. (2008). Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. *Journal of medicinal food*, 11(3), 587-592.

FAOSTAT (2022). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim Tarihi: 25.04.2023)

Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Kačániová, M., Máriássyová, M., Rovná, K., and Stričík, M. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health*, 48(2), 133-138.

Feás, X., Vázquez-Tato, M. P., Estevinho, L., Seijas, J. A. and Iglesias, A. (2012). Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17(7), 8359- 8377.

Fuenmayor, C. and Zuluaga, D. (2014). Evaluation of the physicochemical and functional properties of Colombian bee pollen Evaluación de las propiedades físicoquímicas y funcionales del polen apícola colombiano. *Rev MVZ Córdoba*, 19, 4003-4014.

Ghoniemy, H. A., Esmail, A. H. M., Mahmoud, A. A. E. T., and Saleh, A. M. (2022). Evaluation of vitamin C, proline, enzymes and hydroxymethylfurfural levels in clover honey at different storage conditions. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(13).

Gibriel, A. Y., Abdeldaiem, M. H., and Ali, H. G. M. (2016). Use of the ethanolic extract of bee pollen (bee bread) and gamma irradiation for keeping the quality of silver carp (*hypophthalmichthys molitrix*) fish patties. *Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications*, 49(2), 140-150.

Gomes, S., Dias, L.G., Moreira, L.L., Rodrigues, P., and Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 544–548.

Gounari, S. (2006). Studies on the phenology of *marchalina hellenica* (gen.) (hemiptera: Coccoidea, margarodidae) in relation to honeydew flow. *Journal of Apicultural Research*, 45(1), 8–12.

Gupta, R. K., Khan, M. S., Srivastava, R. M., and Goswami, V. (2014). History of beekeeping in developing world. In *Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security* (p. 3-62). Dordrecht, Springer.

Gupta, R. K. (2014). Quality and Regulation of Honey and Bee Products. In *Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security* (pp. 637-647). Springer, Dordrecht.

Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., and Küfrevioğlu, Ö. İ. (2004). Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food chemistry*, 87(3), 393-400.

Habryka, C., Kruczek, M. and Drygaś, B. (2016). Bee products used in apitherapy. *World Scientific News*, (48), 254-258.

Harissis, H. V., Harissis, A. V. (2009). Apiculture in the Prehistoric Aegean: Minoan and Mycenaean symbols revisited, *British archaeological reports* S1958. John and Erica Hedges, Oxford.

Hermosín, I., Chicon, R. M. and Cabezudo, M. D. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83(2), 263-268.

Hossain, K. S., Hossain, M. G., Moni, A., Rahman, M. M., Rahman, U. H., Alam, M., and Uddin, M. J. (2020). Prospects of honey in fighting against COVID-19: pharmacological insights and therapeutic promises. *Heliyon*, 6(12).

Isidorov, V. A., Isidorova, A. G., Szczepaniak, L., and Czyżewska, U. (2009). Gas chromatographic–mass spectrometric investigation of the chemical composition of beebread. *Food Chemistry*, 115(3), 1056-1063.

Kadiroğlu, A. (2022) Bingöl Üniversitesi Sosyal Ve Ekonomik Çalışmalar Araştırma Ve Uygulama Merkezi (BÜSEÇAM) Arıcılık Raporu <https://buseam.bingol.edu.tr/media/19215/bingol-aricilik-raporu-2022.pdf> (Erişim tarihi: 25.04.2023).

Kahraman, S. D. (2012). Süzme ballarda depolama sıcaklığının hmf değeri ve diastaz aktivitesi üzerine etkisi. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara.

Kamiloğlu, S. (2012). Güneşte kurutmanın sarılop ve bursa siyahi incirleri (*ficus carica* l.) polifenoller ve in vitro biyoyararlılığına etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.

Karasu, S., Toker, O. S., Yilmaz, M. T., Karaman, S., and Dertli, E. (2015). Thermal loop test to determine structural changes and thermal stability of creamed honey: Rheological characterization. *Journal of Food Engineering*, 150, 90-98.

Kaškonienė, V., Venskutonis, P. R., and Čeksterytė, V. (2008). Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. *Food Chemistry*, 111(4), 988-997.

Kasprzyk, I., Depciuch, J., Grabek-Lejko, D., and Parlinska-Wojtan, M. (2018). FTIR-ATR spectroscopy of pollen and honey as a tool for unifloral honey authentication. The case study of rape honey. *Food Control*, 84, 33-40

Khalifa, S. A., Elashal, M., Kieliszek, M., Ghazala, N. E., Farag, M. A., Saeed, A., and El-Seedi, H. R. (2020). Recent insights into chemical and pharmacological studies of bee bread. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 300-316.

Khalil, M. I., Islam, M. A., Alam, N., Gan, S. H. and Sulaiman, S. A. (2015). Irradiation and evaporation enhance physicochemical characteristics, AEAC, FRAP, protein and proline contents of tualang honey. *Journal of Food Biochemistry*, 39(6), 742-753.

Khan, S. U., Anjum, S. I., Rahman, K., Ansari, M. J., Khan, W. U., Kamal, S., and Khan, H. U. (2018). Honey: Single food stuff comprises many drugs. *Saudi journal of biological sciences*, 25(2), 320-325.

Kılıçgün, H. and Altın, D. (2010). Correlation between antioxidant effect mechanisms and polyphenol content of *Rosa canina*. *Pharmacognosy magazine*, 6(23), 238.

Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błażej, S., Chlebowska-Śmigiel, A., and Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 170-180.

Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kazmierczak, J., Mencner, L. and Olczyk, K., (2015). Bee pollen; chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-6.

Kostić, A. Ž., Barać, M. B., Stanojević, S. P., Milojković-Opsenica, D. M., Tešić, Ž. L., Šikoparija, B. and Pešić, M.B. (2015). Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 301-309.

Lawal, R.A., Lawal, A.K. and Adekalu, J.B. (2009). Physico-Chemical Studies on Adulteration of Honey in Nigeria. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 12(15), Pp.1080-1084.

- Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International journal of food microbiology*, 55(1-3), 181-186.
- Lima, W. G., Brito, J. C., and da Cruz Nizer, W. S. (2021). Bee products as a source of promising therapeutic and chemoprophylaxis strategies against COVID-19 (SARS-CoV-2). *Phytotherapy Research*, 35(2), 743-750.
- Liu, C. C., Hao, D. J., Zhang, Q., An, J., Zhao, J. J., Chen, B., and Yang, H. (2016). Application of bee venom and its main constituent melittin for cancer treatment. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 78, 1113-1130.
- Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J. A., and Fernández-López, J. (2018). In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Research International*, 107, 423-436.
- Luo, Q. H., Peng, W. J., An, J. D., and Guo, J. (2008). The potential causes of colony collapse disorder (CCD) and its countermeasures in China. *Chin. J. Entomol*, 45, 991-995.
- Madejczyk, M. and Baralkiewicz, D. (2008). Characterization of polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICPMS And F-AAS/AES. *Analytica Chimica Acta*, 617(1-2), 11-17.
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J. and Schweitzer, P. (2015). Characterisation of some monofloral Algerian honeys by pollen analysis. *Grana*, 54(2), 156-166.
- Marchese, C.M. (2009). Honeybee: Lessons from an Accidental Beekeeper. Black Dog and Leventhal Publishers, Incorporated.
- Máriássyová, M., Kropková, Z., Kačániová, M., Fatrcová-Šramková, K., and Nóžková, J. (2010). Microbial Properties, Nutritional Composition and Antioxidant Actiyity of Brassica napus subsp. naptis L. Bee Pollen Used in Human Nutrition. *Ecological Chemistry and Engineering. A*, 17(1), 45-54.
- Markiewicz-Żukowska, R., Naliwajko, S. K., Bartosiuk, E., Moskwa, J., Isidorov, V., Soroczyńska, J., and Borawska, M. H. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of beebread, and its influence on the glioblastoma cell line (U87MG). *Journal of Apicultural Science*, 57(2), 147-157.
- Martos, I., Ferreres, F., and Tomás-Barberán, F. A. (2000). Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1498-1502.

Meo, S. A., Al-Asiri, S. A., Mahesar, A. L. and Ansari, M. J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975-978.

Minekus, M. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food and function*, 5, 1113-1124.

Mora-Escobedo, R., (2006). The Composition, Rheological and Thermal Properties of Tajonal Mexican Honey, *International Journal of Food Properties*, 9,299-316.

Mortaş, M. (2016). Krem bal üretim parametrelerinin optimizasyonu. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.

Nagai, T., Nagashima, T., Myoda, T., and Inoue, R. (2004). Preparation and functional properties of extracts from bee bread. *Food/nahrung*, 48(3), 226-229.

Nagai, T., Nagashima, T., Suzuki, N. and Inoue, R. (2005). Antioxidant activity and angiotensin I-converting enzyme inhibition by enzymatic hydrolysates from bee bread. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60(1-2), 133-138.

Ng, Z. X., and Rosman, N. F. (2019). *In vitro* digestion and domestic cooking improved the total antioxidant activity and carbohydrate-digestive enzymes inhibitory potential of selected edible mushrooms. *Journal of food science and technology*, 56(2), 865-877.

NIH National Library of Medicine (2024). PubChem (nih.gov) (Erişim Tarihi: 01.03.2024)

Nogueira, C., Iglesias, A., Feas, X. and Estevinho, L.M., 2012, Commercial bee pollen with different geographical origins: A comprehensive approach, *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (9), 11173-11187.

O Sullivan, A. M., O Callaghan, Y. C., O Connor, T. P., and O Brien, N. M. (2013). Comparison of the antioxidant activity of commercial honeys, before and after in-vitro digestion. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 63(3).

Ortega, N., Macià, A., Romero, M. P., Reguant, J., and Motilva, M. J. (2011). Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model. *Food Chemistry*, 124(1), 65-71.

Osés, S. M., Nieto, S., Rodrigo, S., Pérez, S., Rojo, S., Sancho, M. T., and Fernández-Muiño, M. Á. (2020). Authentication of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honeys from southern Europe based on compositional parameters and biological activities. *Food Bioscience*, 38, 100768.

Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Capanoglu, E., and Esatbeyoglu, T. (2022). Investigating the effects of supercritical antisolvent process and food models on antioxidant capacity, bioaccessibility and transepithelial transport of quercetin and rutin. *Food & Function*, 13(8), 4469-4477.

Ozkan, G., Sakarya, F. B., Tas, D., Yurt, B., Ercisli, S. and Capanoglu, E. (2023). Effect of *In vitro* digestion on the phenolic content of herbs collected from eastern anatolia. *ACS omega*, 8(14), 12730-12738.

Özkırım, A. (2006). Detection Of Antibacterial Effects Of Some Synthetic Antibiotics And Essential Oils On The Honey Bees (*Apis Mellifera* L.) Foulbrood Diseases (American And European Foulbrood) (Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi).

Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., and Estevinho, L. M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 233-239.

Pinto, J., Spínola, V., Llorent-Martínez, E. J., Fernández-de Córdova, M. L., Molina-García, L., and Castilho, P. C. (2017). Polyphenolic profile and antioxidant activities of Madeiran elderberry (*Sambucus lanceolata*) as affected by simulated *in vitro* digestion. *Food Research International*, 100, 404-410.

Pita-Calvo, C., and Vázquez, M. (2018). Honeydew honeys: A review on the characterization and authentication of botanical and geographical origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(11), 2523-2537.

Pita-Calvo, C., and Vázquez, M. (2017). Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 59, 79-87.

Pohl, P. (2009). Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 28(1), 117-128.

Popek, S. (2002). A procedure to identify a honey type. *Food Chemistry*, 79(3), 401–406.

Popov-Raljić, J., Arsić, N., Zlatković, B., Basarin, B., Mladenović, M., Laličić-Petronijević, J., ... and Popov, V. (2015). Evaluation of color, mineral substances and sensory uniqueness of meadow and acacia honey from Serbia. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(5), 10784-10799.

Popov-Raljić, J.V., Laličić-Petronijević, J.G., Georgijev, A.S., Popov, V.S. and Mladenović, M.A. (2010). Sensory evaluation of pralines containing different honey products. *Sensors*, 10(9), 7913-7933.

- Rababah, T. M., Al-Omoush, M., Brewer, S., Alhamad, M., Yang, W., Alrababah, M., and Almajwal, A. (2014). Total phenol, antioxidant activity, flavonoids, anthocyanins and color of honey as affected by floral origin found in the arid and semiarid Mediterranean areas. *Journal of food processing and preservation*, 38(3), 1119-1128.
- Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, A. P., Dias, T. and Estevinho, L. M. (2011). Mead production: Tradition versus modernity. In *Advances in Food and Nutrition Research* (63, 101-118). Academic Press.
- Rebiai, A., Lanez, T., and Belfar, M. L. (2013). Determination of caffeic acid and gallic acid in Algerian bee pollen by HPLC method. 4 Phytochem and BioSub Conference. At Bechar, Algeria.
- Reybroeck, W., van Veen, J. W., and Gupta, A. (2014). Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security (pp. 80-90). New York, Springer.
- Richardson, M. A., Sanders, T., Palmer, J. L., Greisinger, A., and Singletary, S. E. (2000). Complementary/alternative medicine use in a comprehensive cancer center and the implications for oncology. *Journal of clinical oncology*, 18(13), 2505-2514.
- Rodríguez Romero, B. A. (2012). Caracterización química y evaluación de las actividades antioxidante y antimicrobiana de mieles florales: naranjo, cactáceas y campanilla (Doctoral dissertation).
- Roulston T. H., Cane J. H. (2000). Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant systematics and evolution*. 222, 187–209.
- Rzepecka-Stojko, A., Pilawa, B., Ramos, P., and Stojko, J. (2012). Antioxidative properties of bee pollen extracts examined by EPR spectroscopy. *Journal of Apicultural Science*, 56(1), 23-31.
- Sakač, M. B., Jovanov, P. T., Marić, A. Z., Tomićić, Z. M., Pezo, L. L., Dapčević-Hadnadev, T. R. and Novaković, A. R. (2019). Free Amino Acid Profiles of Honey Samples from Vojvodina (Republic of Serbia). *Food and Feed Research*, 46(2).179-187.
- Salles, J., Cardinault, N., Patrac, V., Berry, A., Giraudet, C., Collin, M. L., and Walrand, S. (2014). Bee pollen improves muscle protein and energy metabolism in malnourished old rats through interfering with the Mtor signaling pathway and mitochondrial activity. *Nutrients*, 6(12), 5500-5516.
- Samborska, K., and Czelejewska, M. (2014). The influence of thermal treatment and spray drying on the physicochemical properties of Polish honeys. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(1), 413-419.

- Samira, N. (2016). The effect of heat treatment on the quality of Algerian honey. *Researcher*, 8(9), 1-6.
- Sanchez, M. P., Huidobro, J. F., Mato, I., Muniategui, S., and Sancho, M. T. (2001). Evolution of invertase activity in honey over two years. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 416-422
- Sancho, M. T., Pascual-Maté, A., Rodríguez-Morales, E. G., Osés, S. M., Escriche, I., Periche, Á., and Fernández-Muiño, M. A. (2016). Critical assessment of antioxidant-related parameters of honey. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(1), 30-36.
- Santos-Buelga, C. and González-Paramás, A.M. (2017). Chemical Composition of Honey. In *Bee Products-Chemical and Biological Properties* (pp. 43-82). Springer, Cham.
- Saroğlu, Ö. (2018). Detection of some quality properties and antioxidant activity of bee products like; honey, pollen and propolis obtained from bayburt and different regions of Turkey (M.Sc. Thesis, İstanbul Technical University).
- Saxena, S., Gautam, S. and Sharma, A., 2010. Microbial decontamination of honey of indian origin using gamma radiation and its biochemical and organoleptic properties. *Journal of Food Science*, 75(1), Pp.M19-M27.
- Scalbert, A., and Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.
- Schramm, D. D., Karim, M., Schrader, H. R., Holt, R. R., Cardetti, M., and Keen, C. L. (2003). Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(6), 1732-1735.
- Seraglio, S. K. T., Valese, A. C., Daguer, H., Bergamo, G., Azevedo, M. S., Gonzaga, L. V., and Costa, A. C. O. (2016). Development and validation of a LC-ESI-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. *Food Research International*, 87, 60-67.
- Seraglio, S. K. T., Valese, A. C., Daguer, H., Bergamo, G., Azevedo, M. S., Nehring, P., and Costa, A.C.O. (2017). Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of Mimosa scabrella Benth honeydew honeys. *Food research international*, 99, 670-678.
- Sereti, V., Lazaridou, A., Tananaki, C., and Biliaderis, C. G. (2021). Development of a cotton honey-based spread by controlling compositional and processing parameters. *Food Biophysics*, 16(3), 365-380.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., and Fortuna, T. (2009). Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoney. *Food Chemistry*, 113(2), 568-574.

Spencer, J. P., Chowrimootoo, G., Choudhury, R., Debnam, E. S., Srai, S. K., and Rice-Evans, C. (1999). The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids. *FEBS letters*, 458(2), 224-230.

Subramanian, R., Umesh Hebbar, H., and Rastogi, N. K. (2007). Processing of honey: a review. *International Journal of Food Properties*, 10(1), 127-143.

Suriwong, V., Jaturonglumlert, S., Varith, J., Narkprasom, K., Tanongkankit, Y., Nitatwichit, C., and Thaisamak, P. (2021). Thai creamed honey: enthalpy of crystal melting and texture profile under different storage conditions. *International Food Research Journal*, 28(5).

Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., and Conte, A. (2010). *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, 120(2), 599-606.

Taha, E. K. A., Al-Kahtani, S., and Taha, R. (2019). Protein content and amino acids composition of bee-pollens from major floral sources in Al-Ahsa, eastern Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(2), 232-237.

Tosi, E., Ciappini, M., Re, E., and Lucero, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food chemistry*, 77(1), 71-74.

Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H. A. And Ré, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food chemistry*, 106(3), 883-887.

Türk Standardları Enstitüsü (2008). TS 13359 Bal-Fruktoz, glukoz, sakaroz, turanoz ve maltoz muhtevası tayini - Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (hplc) metodu.

Türkiye İstatistik Kurumu. (2022). TÜİK <https://www.tuik.gov.tr/> (Erişim Tarihi: 16.04.2023).

Urcan, A., Criste, A., Dezmirean, D., Bobiş, O., Mărghițaș, L., Mărgăoan, R., and Hrinca, A. (2019). Antimicrobial activity of bee bread extracts against different bacterial strains.

Wenke, R. J., Olszewski, D. I. (2007). Patterns in prehistory: humankind's first three million years. Oxford, Oxford University Press,

Xiong, J., Chan, Y. H., Rathinasabapathy, T., Grace, M. H., Komarnytsky, S., and Lila, M. A. (2020). Enhanced stability of berry pomace polyphenols delivered in protein-polyphenol aggregate particles to an *in vitro* gastrointestinal digestion model. *Food chemistry*, 331, 127279.

Yadata, D., 2014. Detection of the electrical conductivity and acidity of honey from different areas of Tepi. *Food Science and Technology*, 2(5), 59-63.

Yılmaz, H., Küfrevioğlu, İ. (2001). Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden toplanan balların bileşimi ve depolamanın HMF miktarı ve diastaz aktivitesine etkisi. *Turk J Agric For*, 25, 347-349.

Yoder, J. A., Jajack, A. J., Rosselot, A. E., Smith, T. J., Yerge, M. C., and Sammataro, D. (2013). Fungicide contamination reduces beneficial fungi in bee bread based on an area-wide field study in honey bee, *Apis mellifera*, colonies. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 76(10), 587-600.

Zarei, M., Fazlara, A., and Tulabifard, N. (2019). Effect of thermal treatment on physicochemical and antioxidant properties of honey. *Heliyon*, 5(6).

Zirbes, L., Nguyen, B.K., De Graaf, D.C., De Meulenaer, B., Reybroeck, W., Haubruge, E. and Saegerman, C. (2013). Hydroxymethylfurfural: A possible emergent cause of honey bee mortality?. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(49), Pp.11865-11870.

Zuluaga, C. M., Serratob, J. C., and Quicazana, M. C. (2015). Chemical, nutritional and bioactive characterization of Colombian bee-bread. *Chem. Eng*, 43, 175-180.