

PAKETLİ BALLARIN BOTANİK ORJİN TESPİTİ VE MİKROSKOBİK ANALİZLERİ: ETİKET BİLGİLERİ İLE İÇERİK UYUMLULUĞUNUN KARŞILAŞTIRILMASI

**Çiğdem Özenirler^{1,2,*}, Nazlı Mayda¹, Ömür Gençay Çelemlı^{1,2},
Aslı Özkök², Kadriye Sorkun^{1,2}**

¹Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe, Ankara-Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Arı ve Arı Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi, Beytepe, Ankara-Türkiye

Geliş / *Received*: 14.03.2019; Kabul / *Accepted*: 18.08.2019; Online baskı / *Published online*: 04.09.2019

Özenirler, Ç., Mayda, N., Gençay Çelemlı, Ö., Özkök, A., Sorkun, K. (2019). Paketli balların botanik orijin tespiti ve mikroskopik analizleri: etiket bilgileri ile içerik uyumluluğunun karşılaştırılması. *GIDA* (2019) 44 (5): 861-865 doi: 10.15237/gida.GD19058

Özenirler, Ç., Mayda, N., Gençay Çelemlı, Ö., Özkök, A., Sorkun, K. (2019). Botanic origin detection and microscopic analysis of packaged honeys: comparison of content with label information. GIDA (2019) 44 (5): 861-865 doi: 10.15237/gida.GD19058

ÖZ

Bal, çiçekli bitkilerin nektarlarından ya da bitki özsuyla ile beslenen böceklerin salgılarından köken alır. İçeriğindeki polen ve bal çiği elementlerinin tanımlanması, balın botanik kökeninin belirlenmesinde kullanılan en önemli araçlardır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre gıda maddesi olarak tüketime sunulacak balların botanik kökeninin standartlar çerçevesinde yapılan analizler ile tespit edilmesi ve paket üzerindeki etiket ile alıcıların bilgilendirilmesi gerekir. Bu çalışmada Türkiye'de satışı sunulmuş paketli balların mikroskopik analizleri gerçekleştirilerek elde edilen sonuçların etiket bilgisi ile uyumluluğunun karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda balların polen kompozisyonları, bal çiği elementleri (BÇE), 10 gram baldaki toplam polen sayısı (TPS-10 g) ve bal çiği elementi sayıları, yüzde nem ve nişasta miktarı incelenmiştir. Sonuç olarak tüm bal örneklerinin nem değerlerinin tebliğde verilen değerlerle uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Mikroskopik incelemeler sonucunda 10 balın etikette yer alan botanik orijini ile uyum göstermediği, üç balda %10'dan fazla nişasta bulunduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Piyasa balları, botanik orijin, kalite

BOTANIC ORIGIN DETECTION AND MICROSCOPIC ANALYSIS OF PACKAGED HONEYS: COMPARISON OF CONTENT WITH LABEL INFORMATION

ABSTRACT

Honey originates from the nectars of flowering plants or excretions of plant-sucking insects on plants. The identification of pollen and honeydew elements is the most important tool used to determine the botanical origin. According to the Turkish Food Codex Communiqué on Honey, it's necessary to determine the botanical origin of the honey to inform the buyers with the label on the package. Our aim was to detect the botanic origin and comparison with their label information content compliance of packaged honeys produced in Turkey. In this context, pollen compositions of honeys, the number of honeydew elements, total number of pollen and honeydew elements in 10 grams of honey, percentage of moisture and starch were examined. As a result, moisture values were found suitable. 10 honeys didn't match with the botanical origin declared in the label, and in three honey samples more than 10% starch was found.

Key words: Packed honeys, botanical origin, quality

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding author*

✉ cozenir@hacettepe.edu.tr,

☎ (+90) 0312 297 8055

☎ (+90) 312 299 2028

GİRİŞ

Bal; bitkilerin çiçeklerinde veya diğer canlı kısımlarında bulunan nektaryumlardan salgılanan nektarlardan, ya da bitki özsuyu ile beslenen böceklerin salgılarından köken alır (Anklam, 1998). Karbonhidrat kaynağı olan bu tatlı salgıların bal arılarınca toplanması, arının vücudunda değişik enzimlerle metabolize olması ve petek gözlerine depolanması, suyunun uçurulması ve olgunlaşması ile arıların ve insanoğlunun da besin maddesi olarak kullandığı bal üretimi gerçekleşir (Sorkun, 2008).

Balın sınıflandırılması, arıların balın kökenini oluşturan maddeyi topladıkları kaynak göz önünde bulundurularak yapılır. Bu kapsamda bal, çiçek ve salgı balı olarak iki genel sınıfta incelenir (Moar, 1985). Çiçek balının kökeni nektar, salgı balının kökeni ise bitkilerin canlı kısımlarının salgıları ve/veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki özsuyu emici böceklerin salgıdır (Anonim, 2012).

Balın kaynağını belirlemek için kullanılan geleneksel yöntem, balların mikroskopik olarak değerlendirilmesine dayanır. Buradaki temel prensip balın kökenini dolaylı yoldan tespit etmektir. Balların üretimi sırasında arıların ziyaret ettiği bitkileri belirlemek için bal içindeki polenlerin tanımlanması (Soares vd., 2015) ve salgı kökenli balların mikroskopik analizlerinde bal çiği elementi olarak nitelendirilen spor, hif ve alglerin tespiti ve bu verilerin sayısal olarak değerlendirilmesi söz konusudur (Louveaux vd., 1978). Polen taneleri, çoğunlukla nektarlı bitkilerden, bal arılarının diyetinin amino asit, yağ asidi ve mineral ihtiyacını karşılamak için gerçekleştirilen yiyecek arama davranışları sırasında taşınır (Yang vd., 2013; Avni vd., 2014; Belay vd., 2017).

Balda tespit edilen taksanın polenlerinin yüzdeleri hesaplanarak dominat ($45 \leq x$), sekonder ($16 \leq x \leq 44$), minör ($4 \leq x \leq 15$) ve eser ($3 \leq x$) olmak üzere dört farklı kategoride balların bitki kaynakları kategorize edilir (Pérez-Arquillué vd., 1995). Herhangi bir balın monofloral (tek bir bitkisel kaynaktan köken almış) olarak nitelendirilebilmesi için bahsi geçen bitkiye ait

polenlerin, mikroskopik incelemeler sonucunda, balda dominant halde bulunduğunun tespit edilmesi gerekir (Day vd., 1990). Balın polen içeriğinin belirlenmesi, sahteciliğin tespiti için kullanılmakta olan önemli araçlardandır (Bayram ve Demir 2018).

Mikroskopik incelemeler sonucunda tespit edilen 10 gram baldaki bal çiği elementi (BÇE) sayısı ile toplam polen sayısı (TPS-10 g) oranları da salgı balını kendi içinde kategorize edebilmemize yardımcı olur. BÇE/TPS-10 g oranının 1.5-3.0 değerleri arasında olması balın salgı-çiçek karışık bal olduğunu, 3.0-4.5 değer aralığında olması yoğun çam balı olduğunu gösterirken, bu oran >4.5 şeklinde ifade buluyorsa da çok kaliteli çam balı olarak nitelendirilir (Sorkun, 2008).

Balın paketlenmesi ve etiketlenmesi aşamasında Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği çerçevesinde konulmuş kurallar bulunur. Etiketle balın orijini; salgı veya çiçek balı olduğu, bal ifadesinin yanında aynı punto ile belirtilir. Etiketinde botanik orijini belirtilen ballarda bu özellikleri polen analizi ile belirlenir. Nişasta/polen oranının maksimum 10/100 olması gerekir. Balın ihtiva ettiği nem miktarının en fazla % 20 olması beklenir (Anonim, 2012).

Bu çalışmada hedefimiz paketlenmiş ve hâlihazırda marketlerde satılmakta olan ballardan alınan 29 örneğin mikroskopik analizleri, botanik orijinlerinin tespit edilmesi ve etiket bilgisi ile içerik uyumluluğunun karşılaştırılmasıdır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bal Örnekleri

Araştırmada kullanılan materyal, 2017 yılında marketlerde satılmakta olan ballar arasından alınmıştır. Etiketleri üzerinde yapılan tanımlamalar doğrultusunda, 21 çiçek balı ve 8 salgı balı olmak üzere 29 örnek üzerinde incelemeler yapılmıştır. Çiçek ballarının dört tanesi petekli baldır.

Balın Mikroskopik Analizi

Balın mikroskopik analizi için iki farklı yöntem ile preparasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bunlardan birincisi balda polen analizi, diğeri ise

baldaki toplam polen ya da bal çiği elementi sayısını belirleme analizidir. Polen analizi için hazırlanan preparatlarda nişasta sayımı da yapılmıştır.

Balda polen analizi için preparasyon işlemleri
Sorkun (2008) metodu ile preparasyon yapılmıştır. Bu kapsamda cam baget yardımıyla stok baldan 10 g alınıp deney tüpüne aktarılmış ve üzerine 20 mL distile su ilave edilmiştir. Balın su içerisinde çözülmesini sağlamak amacıyla tüpler yaklaşık sıcaklığı 45° C'lik su banyosunda 20-25 dakika bekletilmiş ve su banyosundan çıkarılan tüp karıştırıcı yardımı ile karıştırılmıştır. Çözelti 3500 rpm'de 45 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj edilen tüplerin süpernatant kısmı dökülmüştür. İğne ucuna alınan bir miktar (1-2 mm³) bazık fuksinli gliserin-jelatinin dipteki çökeltiyeye bulaştırılmasıyla alınan materyal lam üzerine aktarılmış, bu materyalin ısıtma tablasında 30-40° C'de ısıtılarak erimesi sağlanmıştır. Eriyen kısmın üzerine 18x18 mm'lik lamel kapatılarak ters çevrilip preparatın kuruması sağlanmıştır. Hazırlanan preparat yaklaşık 12 saat bu şekilde bekletildikten sonra incelemeye hazır hale gelmiştir. Polen sayımları, Nikon Eclipse E400 mikroskobu kullanılarak yapılmıştır.

Balların toplam polen sayısının ve bal çiği elementi sayılarının belirlenmesi için preparat hazırlanması

Toplanan bal örneklerinde TPS ve BÇE, Moar (1985) ve Sorkun (2008)'ün bildirdiği metoda göre hazırlanıp ışık mikroskobunda incelenmiştir. Homojen hale getirilmiş stok baldan 10 g alınmış ve deney tüpüne aktarılmıştır. Örneğin üzerine 20 mL distile su ilave edilerek tüp içerisine şahit olarak bir tanesine 9666 adet *Lycopodium* spp. sporu içeren tablet atılmıştır. Tablet erimesini sağlamak amacıyla tüpler 45 C°'lik su banyosunda bekletilmiştir. Tablet eridikten sonra polenlerin ve sporların boyanmasını sağlayan iki damla bazık fuksin ilave edilmiştir. Tüpler 3500 rpm'de 45 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen tüplerin süpernatant kısmı dökülmüştür. Tüpün içerisine 0.1 mL kadar %50'lik gliserin ilave edilerek dipteki çökeltinin gliserin ile homojen bir biçimde karışması sağlanmıştır. Bu karışımdan pipetle 0.01 mL alınarak, 0.09 mL %50'lik gliserin konulmuş

başka bir tüpe aktarılmıştır. Bu tüpteki çözeltiden 0.01 mL alınarak lam üzerine konulmuş ve üzerine lamel kapatılarak mikroskopta incelenmeye hazır hale getirilmiştir.

Hazırlanan preparatlar, Nikon Eclipse E400 marka mikroskopta incelenmiş olup 18x18 mm'lik alan tamamen taranmıştır. Bu alanda bulunan tüm polenler, bal çiği elementleri ve *Lycopodium* spp. sporları sayısal olarak tespit edilmiştir. Sayılan spor ve polenlerden “sayılan polen sayısı x 9666 / sayılan *Lycopodium* sporu” formülü ile TPS bulunmuştur.

Refraktometre ile Nem Tayini

Baldaki nem miktarı, Bogdanov vd. (1997) ve Devillers vd. (2004)'nin uyguladığı metoda göre, taşınabilir refraktometre aracılığı ile tespit edilmiştir. Buna göre, cam baget ile alınan yaklaşık 1 g bal, refraktometrenin cam bölmesine konulmuştur. Nemin miktarı merceklili kısımdan bakılarak % olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Balın polen analizi sonuçlarına göre yapılan sınıflandırma, TPS-10 g, BÇE/TPS-10 g, nem ve nişasta başlıkları altında yapılan değerlendirmeler sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 1'de verilmiştir.

Tüm bal örneklerinin nem değerlerinin %13.5 - %18.3 aralığında değerler ile temsil edildiği saptanmış olup, Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne uygun oldukları tespit edilmiştir. Mikroskobik incelemeler sonucunda, BÇE/TPS-10 g bulguları doğrultusunda, 19 balın etiket bilgisi ile uyumlu olduğu, 10 balın ise etikette yer alan botanik orijini ile uyum göstermediği bulunmuştur. Dört adet petekli çiçek balı, polen içeriği bakımından karışık çiçek balı olarak sınıflandırılmıştır. Ancak bu ballardan bir tanesinin etiketinde yer alan “akasya” ibaresi, balın monofloral bir bal olduğunun bilgisini verirken, polen analizi sonuçları balın multifloral kaynaklı olduğunu göstermiştir. 7 adet bal süzme çam balı, bir adet bal ise süzme salğı balı olarak etiketlenmiştir. Toplamda 8 adet olan salğı balından, yalnızca bir tanesinin çam balı kriterlerine uygun olduğu, 5 tanesinin orta yoğun çam ve çiçek balı, 2 tanesinin ise az yoğun çiçek

balı olduğu bulunmuştur. Etiket bilgileri ile ilgili uyumsuzluğun çam ve çiçek ballarının karıştırılarak satılmasından kaynaklandığı düşünölmektedir. 16 adet süzme çiçek balı olarak etiketlenmiş balın 14'ünün karışık çiçek balı, 1 tanesinin yoğun çam balı ve bir diğerinin ise eser bal çiği elementi içeren karışık çiçek balı olduğu

tespit edilmiştir. Bir adet süzme kestane balı etiketli ürünün polen içeriğinin %93'ünün kestane olduğu bulunmuş ve etiket bilgisi ile uyumluluğu onaylanmıştır. Üç balda %10'dan fazla nişasta bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 1. Bal örneklerinin etiket bilgisi, polen analiz sonuçları, TPS-10 g, BÇE/TPS-10 g, nem ve nişasta değerleri

Table 1. Label information of honeys, pollen compositions, total number of pollen in 10 grams of honey (NTP-10 g), the number of honeydew element (NHE)/NTP-10 g, percentage of moisture and percentage of starch in honey

Etiket Bilgisi <i>Label Information</i>	Polen Analizi Sonuçları <i>Pollen Analysis Results</i>	TPS-10 g <i>TPN-10g</i>	BÇE/TPS-10 g <i>HDE/TPN-10 g</i>	Nem (%) <i>Moisture (%)</i>	Nişasta (%) <i>Starch (%)</i>
Petekli Çiçek Balı <i>Comb Flower Honey</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	20642	-	15.9	0
Petekli Çiçek Balı <i>Comb Flower Honey</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	2612	-	15.7	0
Petekli Çiçek Balı <i>Comb Flower Honey</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	1247	-	13.5	0
*Petekli Çiçek Balı (Akasya) <i>Comb Flower Honey (Acacia)</i>	Karışık Çiçek Balı <i>Mix Flower Honey</i>	6444	-	16.5	80
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	13367	2.8	17.4	5
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Az Yoğun, Çiçek Balı <i>Less Intense, Flower Honey</i>	37137	0.51	17	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Az Yoğun, Çiçek Balı <i>Less Intense, Flower Honey</i>	39113	0.63	16.8	0
Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Yoğun Çam Balı <i>Dense Pine Honey</i>	68540	3	17.4	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	110192	2.8	18.3	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	45913	2.3	17.9	0
*Süzme Çam Balı <i>Drained Pine Honey</i>	Orta Yoğun, Çam +Çiçek Balı <i>Medium Dense, Pine +Flower Honey</i>	19332	1.56	17.1	0
*Süzme Çiçek Balı <i>Drained Flower Honey</i>	Yoğun Çam Balı <i>Dense Pine Honey</i>	9666	3.6	18.1	1

* Etiket bilgileri ile polen analizi sonuçları uyuşmayan bal örnekleri

*Honeys which are not match with the botanical origin declared in the label

TPS-10 g: Toplam polen sayısı, TPN-10 g: Total Pollen Number

BÇE: Bal çiği elementi, HDE: Honeydew Element

Türkiye'nin altı farklı bölgesinde bulunan çeşitli illerdeki büyük ve küçük ölçekli marketlerden toplanan 47 adet süzme bal örneği yapılan bir çalışmada incelenmiştir. Monofloral ballarda yanlış etiketleme tespit edilen çalışmada, 47 adet bal örneğinden, 7 örnekte *Nosema* sp. sporları değişik yoğunluklarda bulunmuştur (Bölükbaşı, 2009).

Yapılan kısıtlı sayıda çalışma, ülkemizde paketli olarak satışa sunulan ballarda etiket bilgileri ve genel içerik durumları ile ilgili olarak tüketicilerde güvensizliğe yol açacak uygulamaların olduğunu göstermektedir. Nektar ya da salgıdan kovana, kovandan sofralara gelinceye kadar yaşanan süreçte geçirilen dönüşüm değerlendirildiğinde, her ne kadar pek çok noktada gıda olarak tüketilen bu ürünün kontrolü yapılıyor olsa da, vardığımız sonuçlar belli düzeylerdeki sıkıntılıların göstergesi olarak sunulmuştur. Balın kaynağı ile ilgili olarak üreticiden alınan sözlü bilgi yerine, polen analizlerinin yapılarak etiketleme işlemlerinin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bu çerçevede, balın botanik orijininin belirlenmesi aşamasında daha sıkı denetimlerinin yapılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem*, 63: 549-562.

Anonim (2012). Türk gıda kodeksi. Bal tebliği (2012/58). Tarım ve Orman Bakanlığı. 27 Temmuz 2012 tarih ve 28366 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Avni, D., Hendriksma, H.P., Dag, A., Uni, Z., Shafir, S. (2014). Nutritional aspects of honey bee-collected pollen and constraints on colony development in the eastern Mediterranean. *J Insect Physiol*, 69: 65-73.

Bogdanov, S., Martin, P., & Lüllmann, C. (1997). Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie (France)*.

Bayram, N.E., Demir, E. (2018). Specifying some quality characteristics of monofloral and

multifloral honey samples. *Hacettepe J Biol & Chem*, 46: 417-423.

Belay, A., Haki, G.D., Birringer, M., Borck, H., Addi, A., Baye, K., Melaku, S. (2017). Rheology and botanical origin of Ethiopian monofloral honey. *Lwt-Food Sci Technol*, 75: 393-401.

Bölükbaşı, D.N. (2009). Melissopalynologic analysis of packed honey. *Mellifera*, 9: 2-8.

Day, S., Beyer, R., Mercer, A., Ogden, S. (1990). The nutrient composition of honeybee-collected pollen in Otago, New Zealand. *J Apic Res*, 29: 138-146.

Devillers, J., Morlot, M., Pham-Delegue, M. H., & Dore, J. C. (2004). Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chem*, 86(2): 305-312.

Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59(4): 139-157.

Moar, N. (1985). Pollen analysis of New Zealand honey. *N Z J Agric Res*, 28: 39-70.

Pérez-Arquillué, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T., Herrera, A. (1995). Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chem*, 54: 167-172.

Soares, S., Amaral, J.S., Oliveira, M.B.P., Mafra, I. (2015). Improving DNA isolation from honey for the botanical origin identification. *Food Control*, 48: 130-136.

Sorkun, K., (2008). *Türkiye'nin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları*. Palme Yayınları: 462, Ankara, Türkiye, 341s.

Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J., Sun, P. (2013). Characterization of chemical composition of bee pollen in China. *J Agric Food Chem*, 61: 708-718.