

Bal, Propolis, Arı Sütü, Çıvanperçemi (*Achillea millefolium*) ve Ekinezya (*Echinacea paradoxa*) Karışımından Fonksiyonel Gıda Üretimi, Ürünün Fizikokimyasal ve Biyokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

Pervin SOYLU¹

Bahri BAYRAM²

¹Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gümüşhane
²Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Erzurum
(bbayram@atauni.edu.tr)

Öz

Bu çalışmada, bal, propolis, arı sütü, ekinezya ve çıvanperçemi otlarının karışımından fonksiyonel gıda üretimi amaçlanmıştır. Söz konusu karışımlardan oluşan bu fonksiyonel gıdanın fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi amacıyla, Gümüşhane Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarında analizler yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre, fonksiyonel ürüne ait pH değeri 4.46±0.10, nem %19.98±1.54, diastaz sayısı 27.26±3.69, glikoz %28.53±0.33, früktoz %34.33±0.57, invert şeker (glikoz+früktoz) %62.86±0.9, früktoz/glikoz oranı %1.20, kül %1.85, serbest asitlik 102.43±6.52 meq/kg, elektriksel iletkenlik 25.93 mS/cm olarak ölçülmüştür. Fonksiyonel ürün içeriğinde Ca, Mg, Fe, Zn, Al, Mn minerallerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Analizlerden elde edilen sonuçlara göre, nem, şeker oranı ve diastaz sayısı bakımından fonksiyonel gıdanın, Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde bildirilen değerlere uygunluk göstermiştir. Suda çözünmeyen madde miktarı, serbest asitlik, elektrik iletkenliği, mineral madde ve kül bakımından ise, bal için bildirilen standartlardan çok yüksek olmuştur. Bu sonucun, fonksiyonel ürüne katılan arı sütü, propolis ve otlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Fonksiyonel gıdanın antioksidan başta olmak üzere, prolin, vitamin ve mineral madde bakımından oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Arı sütü, bal, çıvanperçemi, ekinezya, fonksiyonel gıda, propolis

Functional Food Production from a Mixture of Honey, Propolis, Royal Jelly, Yarrow (*Achillea Millefolium*) and Echinacea (*Echinacea Paradoxa*) herbs, Investigation of Physicochemical and Biochemical Properties of the Product

Abstract

In this study, it was aimed to produce functional food from honey, propolis, royal jelly, echinacea and yarrow grass mixture. Functional product consisting of honey, propolis, royal jelly, yarrow and echinacea mixture was analyzed in Gumushane University Food Department Laboratory. The results obtained from the analysis are as follows, ph value 4.46±0.10, humidity 19.98±1.54, the number of diastases 27.26±3.69, glucose 28.53±0.33%, fructose 34.33±0.57%, examines sugar 62.86±0.9%, fructose/glucose 1.20%, ash 1.85%, free acidity 102.43±6.52 meq/kg, electrical conductivity 25.93 mS/cm. It was determined that Ca, Mg, Fe, Zn, Al, Mn minerals were high in the content of functional product. According to the results obtained from the analysis, it has been determined that the functional food in terms of moisture, sugar content and diastase number complies with the values reported in the Turkish Food Codex Honey Communiqué. However, the amount of water insoluble matter, free acidity, electrical conductivity, mineral matter and ash were much higher than the standards reported for honey. This result is thought to be caused by royal jelly, propolis and herbs added to the functional product. It has been determined that functional food is quite rich in proline, vitamins, minerals and especially antioxidants.

Keywords: Royal jelly, honey, yarrow, echinacea, functional food, propolis

*Bu çalışma, Pervin SOYLU'ya ait Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir.

Giriş

Fonksiyonel gıdalar; doğal vitamin ve mineral gibi maddeleri barındıran, günlük tüketime uygun, sağlığa faydalı bir besin ögesi olarak tanımlanmaktadır (Pelvan, 2009). Türk Gıda Kanununda fonksiyonel gıdalar: "besleyici etkilerinin yanında bilimsel ve klinik çalışmalar ile ispat edilen, aynı zamanda bir veya birden çok etkili bileşene bağlı olarak sağlığı koruyan, düzelten ya da hastalık riskini azaltabilen etkiye sahip olan gıdalar" olarak tanımlanmaktadır.

Türk Standartları Enstitüsüne göre bal; bitkinin çiçeklerinden veya canlı kısımlarından oluşan nektar bezlerindeki nektarları ve bitkinin üzerinde bulunan bazı böceklerin canlı kısımlardan yararlanarak salgıladıkları tali maddesini, bal arılarının (*Apis mellifera*) toplayıp vücutlarında bileşimlerinin değişmesiyle petek gözlerine depo edilip olgunlaşması ile oluşan tadı tatlı olan, bir ürün olarak tanımlanmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre (2020/7), balın sahip olması gereken özellikler Çizelge 1'de özetlenmiştir (Anonim, 2020).

Propolis; çam, meşe, kavak, kestane vb. ağaçların, bazı otsu bitkilerinin tomurcuk, yaprak vs. kısımlarından arılar aracılığıyla toplanıp mumla karıştırılmasıyla oluşturulan maddededir. Arılar propolisi, polen ve başı thoraksı arasında bulunan bezlerin salgılamış olduğu aktif enzimler ile karıştırma gerçekleştirmektedir (Gençay ve Sorkun, 2002). Bu arı ürünü içeriğinde antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar, antiülser, lokal anestetik, antitümör özellikler göstermektedir (Kumova ve ark., 2002).

Arı sütü; arının vücudundan salgıladığı bir ürün olup, hammaddesi polen ve nektar olan baldan daha kuvvetli besleyici bir üründür. İçeriğinde %12-15 protein, %10-16 karbonhidrat, %3-6 lipit ve geri kalan kısım vitamin, tuz, serbest amino asitler gibi maddeler yer almaktadır (Tamura ve ark., 2009; Nagai ve Inoue, 2004). Arı sütü antioksidan, antiinflamatuvar, antitümör, antibiyotik gibi özelliklere sahip olduğundan, tüketiciler tarafından tedavi amacıyla da kullanılmaktadır.

Troye savaşında Achilles, yaralanan askerlerin kanamalarını durdurmak için Çıvanperçemi bitkisinin yapraklarını ilaç olarak kullandığı için ismini bu komutandan alarak "Archillea" olarak isimlendirilmiştir. Çok ince ve hassas ayrılmış yapraklı olması nedeniyle "Millefolium" kelimesi verilmiştir (Hylton, 1974). Herba kısmında uçucu yağ, %0.2-0.4 oranında bulunmaktadır. Uçucu yağda azulen, limonen, sineol, borneol, pinenler, seskiterpenler içermektedir (Baytop, 1999). Çıvanperçemi çayır, yol kenarları, dar tarla yollarının kenarlarında topluluk halinde yaşar. Eski çağlardan beri tıbbi olarak kullanılan bitki en çok hazımsızlık ve soğuk algınlığında kullanılmıştır. Ateş düşürücü, diyare, iltihap giderici, gebelik önleyici, dizanteri, sinir ve kas hastalıklarında iyileştirici etkisi olduğu bilinmektedir (Fritz, 1994; Duke, 1986).

Ekinezya bitkisi, Asteraceae/Compositae familyasından olan, 10 ile 100 cm arasında değişen boya sahip, otsu bir bitkidir. Bu türler antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar, bağışıklık sistemi güçlendirme ve yara iyileştirme gibi özelliklere sahiptir (Gruenwald ve ark., 2004). Avrupa'da bitki merhem, tentür, losyon, sıvı ve kuru ekstrat gibi bitkiden ürün elde edilerek pazara sunulmaktadır (Adam, 2002). Ekinezya türlerinin çoğu, alkolsüz içecekler ve şekerleme gibi ürünlere katılarak fonksiyonel gıda elde edilmektedir (Wills ve Stuart, 2000).

Çizelge 1. Bal Tebliği'ne (2020/7) göre balın sahip olması gereken bazı özellikler

Özellik	Çiçek balı	Salgı balı	Çiçek ve salgı balı karışımı	Fırıncılık balı
Nem (en fazla)	%20	%20	%20	%23
Sakkaroz (en fazla)	5g/100g	5g/100g	5g/100g	5g/100g
Fruktoz+Glukoz(en az)	100 g'dan 60 g	100 g'da 45 g	100 g'da 45 g	-
Fruktoz/ Glukoz oranı	0.9-1.4	1.0-1.4	1.0-1.4	-
Serbest asitlik(en fazla)	50 meq/kg	50 meq/kg	50 meq/kg	80 meq/kg
Elektrik iletkenliği	En fazla 0.8 mS/cm	En az 0.8 mS/cm	En az 0.8 mS/cm	En fazla 0.8 mS/cm
Diastaz sayısı (en az)	8	8	8	-
HMF (en fazla)	40 mg/kg	40 mg/kg	40 mg/kg	-
C ₄ şekerleri oranı (en fazla)	%7	%7	%7	%7
Prolin miktarı (en az)	180 mg/kg	180 mg/kg	180 mg/kg	180 mg/kg
Naftalin miktarı (en fazla)	10 ppb	10 ppb	10 ppb	10 ppb

Fonksiyonel gıdaların insan sağlığı üzerine olumlu etkide bulunması ve hastalıklara karşı direnç oluşturması sonucu, bilim insanları ve beslenme uzmanları tarafından çok sayıda çalışmaya konu olmuştur (Wildman, 2001). Bununla birlikte, Ülkemizde fonksiyonel gıdalarla ilgili bilimsel çalışma sınırlı sayıdadır. Bu durum esas alınarak, bu çalışmada bal, propolis, arı sütü, çivanperçemi ve ekinezya otlarının karışımı ile fonksiyonel bir gıda üretilerek tüketiciye sunmak, ayrıca üretilen bu ürünün fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Hazırlanan fonksiyonel ürünün içeriğinde, %64.1 bal, %16.0 propolis, %13.2 arı sütü, %4.90 ekinezya ve %1.80'ini çivanperçemi oluşturacak şekilde, 4 kg olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan ürünün bal numunesi olarak, kestane balı kullanılmıştır. Propolisin gıda saflığında etil alkolde çözülmüş kısmı kullanılmıştır. Ekinezya ve Çivanperçemi bitkileri öğütülerek 345 mikron elekten geçirilen kısımları üründe kullanılmıştır. Karışım 4 kg'lık ev tipi yoğurma makinasında homojen hale getirilinceye kadar karıştırılmıştır. Analizleri yapılmaya kadar +4 °C'de saklanmıştır. Ürün materyalinin hazırlanmasında, özel bir ticari firmadan hammadde desteği alınmıştır (Tabib Gıda Doğal Ürünler Kozmetik Arıcılık Araştırma Geliştirme San. Tic. Ltd. Şti.-Trabzon).

Metot

Nem, protein, kül, şeker, HMF, pH, asitlik, antioksidan, mineral, prolin, diastaz sayısı, iletkenlik ve suda çözünmeyen katı madde gibi analizler yapılarak, Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde belirtilen standartlara uygunluğu belirlenmeye çalışılmıştır. Analizler aşağıda belirtilen şekillerde yapılmıştır:

Nem Analizi: Analiz numunesi olarak hazırlanan bal numunesinden 10 g 100 ml'lik behere 0.01 g hassasiyetle tartılmış, üzerine bir miktar damıtık sıcak su ilave edilip, cam bagetle iyice çözünmesi sağlanmıştır. Çözelti soğuduktan sonra, 200 ml'lik ölçülü balon beherde bakiye kalmayacak şekilde aktarılıp, işaret çizgisine gelinceye kadar saf su ile tamamlanmıştır. Çözelti katlamalı ve kütlesi belli süzgeç kağıdında süzdürüldükten sonra, 20 °C'de refraktometre'de okunmuştur (Anonim, 2008).

Protein Analizi: Homojenize edilmiş 1 gr numune kuru Kjeldahl balonuna konularak, üzerine 1 adet katalizör eklenmiştir. 20 ml derişik H₂SO₄ yavaş şekilde ilave edilip, kaynama taşı ya da cam boncuk atılarak hazırlanan Kjeldahl balonu yakma setine yerleştirilmiştir. Önce 200–250 °C'de 15 dakika daha sonra 350–380 °C'de 30–45 dakika siyah nokta

kalmayana denk yakılma işlemi yapılmıştır. Kjeldahl balonu soğutulduktan sonra 150–200 ml saf su ilave edilip, balon döndürülerek eklenmiştir. Destilasyon (damıtma) işlemi Kjeldahl balonundaki çözelti damıtma düzeneğine aktarılmıştır. Daha sonra 75 ml %40'lık NaOH çözeltisi eklenmiştir. 500 ml'lik erlene 50 ml %2'lik H₃BO₄ çözeltisi ve üzerine 5–6 damla indikatör konulup, erlen soğutucunun altına ve soğutucunun ucu H₃BO₄ çözeltisine sadece bir kaç ml girecek şekilde yerleştirilmiştir. 10–20 dakika kadar yaklaşık 150 ml damıtık toplanacak kadar damıtma yapılıp, damıtma sonucunda mavi-mor renkli borik asit çözeltisi yeşil renge döndüğünde, 0.1 N HCl ile titre edilmiştir (Anonim, 2016).

Kül Miktarı Tayini: Porselen kapsül, kül fırınında yaklaşık 2 saat tutulmuş, soğuduktan sonra desikatöre alınmıştır. Kül tayini için 2 g numune krozelere tartılmıştır. Bek alevinde duman çıkmayınca kadar ön yakma işlemi yapılmıştır. Kül fırınında 525 ±10 °C'de beyaz veya kül rengi alıp sabit tartıma gelinceye kadar yakılıp, desikatörde 20 dk bekletildikten sonra hemen tartılıp, kapsülün darası çıkarıldıktan sonra kül miktarı hesaplanmıştır (Anonim, 2001).

Toplam Şeker, Glikoz, Früktoz ve Sakaroz Tayini: Toplam şeker, glikoz, früktoz ve sakkaroz analizleri IHC 2009'a (International Honey Commission) göre HPLC-RID cihazında yapılmıştır (IHC, 2009).

pH Analizi: 20 g numuneye, 50 ml saf su ilave edilip homojen hale getirilinceye kadar homojenizatörde işleme tabii tutulmuştur. pH metre cihazı, homojen hale getirilmiş numuneye daldırılıp, 20±2 °C'de okuma yapılmıştır (Anonim, 2001).

Asitlik Tayini: Bal numunesinden, yaklaşık 10 g, 0.01 g erlende tartılmıştır. Üzerine 75 ml saf su eklenip, erlenin ağzı kapatılıp iyice karıştırılarak bal çözülür hale getirilmiştir. Çözeltiye 4.6 damla fenolftalein çözeltisi damlatıldıktan sonra, bir büretten akıtılan standard sodyum hidroksit çözeltisi ile eşdeğerlik noktasına kadar titre edilip, sonuç meq/kg olarak hesaplanmıştır (IHC, 2009).

Toplam Antioksidan Madde İçeriği: 500 µL fonksiyonel ürün alınarak üzerine 2500 µL deiyonize su ilavesi yapılmıştır. Karışımın üzerine 1000 µL molybdate eklenip, akabinde karışım vortekslenip, 90 dakika 95 °C su banyosunda ağzı kapalı bir biçimde bekletilip, süre bittikten sonra su banyosundan alınarak oda sıcaklığına düşene kadar bekletilmiştir. Kör olarak fonksiyonel ürün yerine 500 µL saf su kullanılmıştır. Elde edilen reaksiyon karışımlarının absorbanı 695 nm Spektrofotometre ile okunmuştur. Fonksiyonel üründe toplam antioksidan madde miktarları; askorbik asidin çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak toplam antioksidan mg AA Eşdeğeri/ L olarak tespit edilmiştir (Kasangana ve ark., 2015).

Toplam Fenolik Madde İçeriği: 300 µL fonksiyonel ürün alınarak üzerine 3.4 ml deiyonize su ilave edilmiş, karışıma 0.5 mL metanol ve ardından 200 µL folin–ciocalteus reaktifi ilave edilmiştir. Karışım vortekslenip 10 dakika inkübe edildikten sonra üzerine 600 µL %10'luk Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Son karışım tekrar vortekslenildikten sonra, 120 dakika karanlıkta inkübe edilip inkübasyon süresinin sonunda karışımın 760 nm'deki absorbanı okunmuştur. Kör olarak 3.7 mL su, 500 µL metanol + 100 µL folin–ciocalteus reaktifi + 600 µL Na₂CO₃ karışımı kullanılmıştır. Fonksiyonel ürün fenolik madde miktarları; gallik asidin çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak toplam fenolik mg GA Eşdeğeri/ L olarak ifade edilmiştir (Kasangana ve ark., 2015).

DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini: 100 µL fonksiyonel üründen alınarak 300 µL DPPH çalışma çözeltisine ilave edilmiştir. Karışım vortekslenip 30 dk bekletilmiştir. Elde edilen çözelti 517 nm Spektrofotometrede okunmuştur. Kör olarak 100 µL metanol kullanılmıştır. Standartlardan 100 µL alınıp aynı işlemler yapılmıştır (Ahmed ve ark., 2015).

Toplam Demir İndirgeme Antioksidan Kapasitesi: 250 µL fonksiyonel örnekten alınarak 2 750 µL FRAP çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım vortekslenip, 30 dk bekletilmiştir. Kör olarak 250 µL saf su kullanılmıştır. Standartlardan 250 µL alınıp aynı işlemler yapılmıştır. Örneklerin toplam flavanoid madde miktarları; AA çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak, toplam demir indirgeme antioksidan kapasitesi mg AA Eşdeğeri/ L olarak tespit edilmiştir (Ahmed ve ark., 2015).

Toplam Flavanoid Madde İçeriği: 500 µL fonksiyonel üründen alınarak, 3200 µL metanol (%30 v/v) ilave edilip, karışım vortekslenip, üzerine 0.5 mL Sodyumnitrit çözeltisinden, 1500 µL ilave edilip, ardından da 150 µL 0.3 mL Alüminyumklorür ilave edilmiştir. Beş dakika beklenildikten sonra, 1 mL NaOH çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım tekrar vortekslenildikten sonra, spektrofotometerde absorbası okunmuştur. Kör olarak da 500 µL saf su kullanılmıştır. Standartlardan 500 µL alınıp aynı işlemler yapılmıştır. Örneğin toplam flavanoid madde miktarları; Qercetin çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi kullanılarak toplam flavanoid mg Kateşin Eşdeğeri/ L olarak tespit edilmiştir (Ahmed ve ark., 2015).

Mineral Analizi: Yaklaşık 2.0 g örnek daha önce 550 °C'de kurutulup, soğutulup darası alınan krozeye konulmuştur. Kroze etüve konulup, 105 °C'de 1–2 saat kurutulmuştur. Kurutulan örnek kül fırınına alınıp, 500-550 °C'lerde beyazlaşmaya kadar yakılmıştır. Kül fırınından alınan kroze üzerine birkaç damla hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılıp, krozelerde kalan kalıntı %20 HNO₃ ile çözündürülüp, ICP-MS cihazında okuması yapılmıştır (NMKL, 2007).

Prolin Analizi: 5 g bal bir beherde tartılıp, kantitatif olarak 100 ml hacimli bir şişeye transfer edilip, 50 ml suda çözdürülmüştür. Suyla seyreltip, iyice çalkalanmıştır. Tek bir tüpte 0.5 ml numune çözeltisi bir şırınga yardımı ile 0.5 ml su tüpe ve diğer üç tüpe 0.5 ml prolin standart çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra her tüpe 1 ml formik asit ve 1 ml ninhidrin çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler dikkatlice kapatılıp, 15 dk boyunca çalkalanmıştır. Tüpler 15 dakika 70 °C'de su banyosunda çözelti seviyesinde bekletilmiştir. Bekletildikten sonra, her tüpe 2 propanol-su çözeltisi eklenip soğumaya bırakılmış ve 510 nm'de absorbans değeri okunmuştur (IHC, 2009).

Diastaz Sayısı Analizi: Ön ısıtma işlemine tabi tutulmuş 10 g bal tartılıp, uygun bir beherde 40-50 mL damıtık suda çözdürülmüştür. Karışım, kantitatif olarak 100 mL'ik ölçülü bir balona alınıp, su ile işaret çizgisine kadar seyreltilmiştir. Daha sonra, bir seri halinde dizilmiş ve 1'den itibaren numaralanmış 12 deney tüpüne damıtık su ve nişasta + tampon karışımı kullanılarak, bütün tüplerdeki karışım hacimlerinin 18 mL olması sağlanmıştır. Tüplerin her biri alt-üst edilerek iyice karıştırıldıktan sonra, su banyosunun tüp taşıyıcısına sırası bozulmadan yerleştirilmiştir. Su banyosunun sıcaklığı 38-40 °C'a ayarlanıp, tüpler bu sıcaklıkta tam 1 saat bekledikten sonra, sonuç elde edilmiştir (IHC, 2009).

İletkenlik Analizi: Su taze damıtılmıştır. Potasyum Klorür (KCl) çözeltisi (0.1 M), 7.4557 g çözündürüp, 130 °C'de kurutulduktan sonra, 1000 ml'lik bir şişede damıtılmış su ile tamamlanmıştır. KCl 40 ml'si bir behere aktarılmıştır. İletkenlik hücrelerini iletkenlik ölçere bağlayıp, hücreyi KCl çözeltisi ile iyice durulayıp ve hücreyi çözeltiye batırıp termometre ile sıcaklık 20 °C'ye geldikten sonra mS cinsinden okunmuştur (IHC, 2009).

Suda Çözünmeyen Katı Madde Analizi: Balda 0.01 g yaklaşımla, 20 g ve 250 mL'lik bir kuru beherde konulmuştur. Deney numunesi üzerine, yaklaşık 40-50 mL, 80 °C'de ısıtılmış su konulup, homojenlik sağlanıncaya kadar döndürülerek karıştırılmıştır. Cam kroze, 135±2 °C'a ayarlanmış kurutma dolabında sabit tartıma getirildikten sonra bir desikatörde soğutulmuştur. Krozenin darası, bir analitik terazi ile alınıp, kayıt edilmiştir. Belirtildiği şekilde hazırlanan bal çözeltisi, sıcak halde cam krozeden süzülüp, krozede kalan katı, yine 80 °C'a ısıtılmış su ile yıkanmıştır. Yıkanarak şekerlerden arındırılmış katı

maddelerin bulunduğu kroze, sıcaklığı ayarlanmış (135 ± 2) kurutma dolabında en az 1 saat tutulmuştur. Bir desikatörde soğutulduktan sonra, terazi ile tartılıp, krozenin bilinen darası çıkarılarak suda çözünmeyen katı madde kütlesi kayıt edilmiştir. Baldaki suda çözünmeyen katı madde, kütlece yüzde olarak hesaplanmıştır (Anonim, 2010).

HMF (Hidroksimetilfurfural) Analizi: Bütün numuneler homojen bir hale getirilip, fonksiyonel örnek karıştırıcıda tamamen parçalanmıştır. Numune hazırlamada belirtilen şekilde hazırlanmış, 5 g numune tartılarak 50 ml balon jojeye konulup, 25 ml saf su ilave edilerek numunenin çözülmesi sağlanmıştır. HMF'nin bozulmasını önlemek amacıyla 0.5 ml Karrez I ve 0.5 Karrez II ml çözeltileri ilave edilmiştir. Huni yardımıyla hazırlanan örnek süzülüp, çözelti 0.45 mikronluk filtreden geçilerek viallere alınır ve şartlanmış olan HPLC sistemine enjekte edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 ve 12.0 mg/L HMF standartı kullanılmıştır (IHC, 2009).

Bulgular ve Tartışma

Üretilen fonksiyonel gıda ile ilgili Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde (TGK 2020/7) yer alan ve Çizelge 2'de belirtilen analizler yapılmış ve elde edilen sonuçlar tartışılmıştır:

Balın nem miktarı, balın olgunlaşması durumuna, iklim koşullarına, balın kaynağı olan nektara, balın peteklerden alındıktan sonra depolama koşullarına bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Balın içerisinde %17.1'den az nem varsa mikrobiyal üreme artışı olmaz, bu oran %17.1-20.0 arasında ise, ürün kararlı bir yapı sergiler, %20.0 üzerinde ise ozmofilik mayalar hızla üremeye başlar (Tosi ve ark., 2004). Bu nedenle, balın nem oranı ile ilgili olarak Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde çiçek ve salgı balları için ≤ 20 olarak, fırıncılık balları için ≤ 23 belirlenmiştir. Yüksek nem oranı, bazı ballarda kristalleşmeyi hızlandırabilir ve fermantasyona sebep olarak mayaların gelişmesini sağlayacak şekilde su aktivitesinde bir artış oluşturabilir. Nem içeriği yüksek olan ballarda fermantasyon, nem içeriğinin düşük olduğu ballarda ise glukozun kristalleşmesi ve balda granül yapı oluşması gibi balda istenmeyen özellikler ortaya çıkabilmektedir.

Bu çalışmada, kestane balı ve fonksiyonel gıdaya ait nem sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Kontrol örneği olarak kestane balının nem sonuçları 18.99 ± 0.98 , hazırlanan ürüne ait nem sonucu ise 19.98 ± 1.54 olmuştur. İlgili Çizelgeden anlaşılacağı üzere, kestane balı için üretilen ürünün nem değeri birbirine oldukça yakın çıkmıştır. Her iki sonuçta Türk Gıda Kodeksi Bal tebliğine uygundur.

Çizelge 2. Kestane balı ve üretilen ürünün bal tebliğine göre yapılan analiz sonuçları

Özellik	Kestane balı	Fonksiyonel ürün	Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği	Uygunluk
Nem % m/m	18.99 ± 0.98	19.98 ± 1.54	≤ 20	Uygun
Sakkaroz % m/m	3.38 ± 0.38	0.27 ± 0.17	≤ 5	Uygun
Fruktoz % m/m	38.25 ± 1.65	34.33 ± 0.57	---	Uygun
Glukoz % m/m	29.91 ± 1.79	28.53 ± 0.33	---	Uygun
Fruktoz+Glukoz	68.16 ± 3.76	63.13 ± 0.93	≥ 60	Uygun
Fruktoz/Glukoz oranı	1.27 ± 0.54	1.20 ± 0.01	1.0 – 1.4	Uygun
Suda çözünmeyen madde	0.01 ± 0.002	7.61 ± 0.38	≤ 0.1	Uygun
Serbest asitlik %m/m	36.82 ± 2.43	102.43 ± 6.52	≤ 50 meg/kg	Uygun
Elektrik iletkenliği	1.32 ± 0.13	1165.67 ± 25.93	≤ 0.8 mS/cm	Uygun
Diastaz sayısı	29.40 ± 4.51	27.26 ± 3.69	≥ 8	Uygun
HMF mg/kg	17.79 ± 2.88	34.99 ± 3.81	≤ 40 mg/kg	Uygun
Prolin miktarı mg/kg	518.08 ± 25.43	964.68 ± 35.39	≥ 300 mg/kg	Uygun

Bal muhteviyatının çok önemli kısmını (%95) karbonhidratlar oluşturmaktadır. Balın karbonhidrat miktarı, balın akışkanlığı, nem çekme, kristalleşme özelliği ve enerji sağlama gibi özelliklerini oluşturur (Ötleş, 1995). Karbonhidratların her bir g'ı 4 kcal bir enerji verdiği için önemli enerji kaynakları olarak bilinmektedir. Söz konusu bileşikler, ayrıca vücutta asidosiz ve ketosiz gibi olayların meydana gelmesini engeller (Baysal, 2007). Fonksiyonel gıdaya ait şeker miktarı Çizelge 2'de verilmiştir. Yapılan çalışmada, sakaroz miktarları kestane balı ve üründe sırasıyla, 3.38 ± 0.38 ve 0.27 ± 0.17 olmuştur. Bu değerler TKG 2020/7 kriterlerine uygundur. Bal tebliğde sakaroz miktarı en fazla ≤ 5.00 olarak verilmiştir. Fruktoz/glukoz oranı artıçça balın kristalleşme eğilimi düşer. Fruktoz/glukoz oranı 1.0-1.2 aralığında kristalleşme daha erken, 1.3 ve üstünde olduğunda ise kristalleşme daha geç olmaktadır. Diğer taraftan olgunlaşması tamamlanmamış bir balda glukoz miktarına göre daha fazla miktarda sakaroz bulunduğundan dolayı kristalleşme daha yavaş olmaktadır. Ballardaki fruktoz/glukoz oranı hem balın orijini hakkında hem de kristalleşme durumu hakkında önemli bir kalite parametresidir (Kaplan, 2014).

Kontrol grubu olarak kullanılan kestane balı ve fonksiyonel gıdaya ait früktoz ve glikoz değerleri sırasıyla; 38.25 ± 1.65 , 29.91 ± 1.79 ve 34.33 ± 0.57 , 28.53 ± 0.33 olmuştur. 2020/7 sayılı Bal Tebliğinde, früktoz ve glikoz değerine ait herhangi bir sınırlama bulunmamaktadır. Söz konusu tebliğde, früktoz ve glikoz toplamının ≥ 60.0 olması ve früktoz/glikoz oranının ise 1.20-1.85 olması gerektiği bildirilmiştir. Hem kontrol örneği olarak kullanılan kestane balı hem de üretilen ürüne ait fruktoz + glukoz miktarları ve oranları, tebliğde bildirilen değerlere uygunluk göstermiştir.

Gıda ürünleri içerik bakımından, su ve kuru madde olarak ikiye ayrılmaktadır. Gıdadan su uzaklaştırıldıktan sonra, kalan kısma toplam kuru madde olarak isimlendirilmektedir. Toplam kuru maddede iki kısımdan oluşmaktadır. Birinci kısım suda çözünür, diğer kısım ise suda çözünmeyen özelliğe sahiptir. Bal örneği için suda çözünmeyen madde miktarı, Bal Tebliği (Anonim, 2005) ve Bal Standardına (Anonim, 2002) göre en çok %0.01 oranında olması gerektiği bildirilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar incelendiğinde (Çizelge 2), kontrol örneği olarak kullanılan kestane balında suda çözünmeyen madde oranı 0.01 ± 0.002 , fonksiyonel gıdaya ait değer ise 7.61 ± 0.38 olmuştur. Kontrol örneğinin suda çözünmeyen madde analiz sonucu TKG 2020/7 uygun çıkarken, ürüne ait sonuç oldukça yüksek çıkmıştır. Bu sonuç, ürüne katılmış olan bitkilerden kaynaklanmış olabilir. Toz olarak katılan bitkilerin çözünürlüğü olmadığından ya da çok düşük olduğundan, suda çözünmeyen madde oranı yüksek çıkmış olabilir.

Balda serbest asitlik, birçok fonksiyonel özelliğe sahip olmakla birlikte, ürünün kaynağı ile ilgili bilgi önemli sağlamaktadır. Asitlik çeşitli organik asitlerden, fosfat ve klorid gibi inorganik iyonlardan ve en önemlisi de glukonik asitten oluşmaktadır. Balda fermentasyon oluşumu serbest asitliğin artışı ile başlanmaktadır. Nedeni ise balın içeriğindeki şekerler ve alkoller mayalar aracılığı ile asitlere çevrilir (Karadal ve Yıldırım, 2012). Bal içeriğinde aşırı seviyede diastaz bulunması ile serbest asitlik artışı gözlemlenir böylece fermentasyona yol açar. Bal içeriğindeki asetik asit, bütirik asit, sitrik asit, formik asit, laktik asit, malik asit, süksinik asit, glikonik asit, oksalik asit en önemlileridir (Ötleş, 1995). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre bal numuneleri için kabul edilecek en yüksek serbest asitlik değeri 50 meq/kg'dır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Kontrol örneği olarak kestane balının asitlik analiz sonuçları 36.82 ± 2.43 meq/kg, hazırlanan ürünün ise 102.43 ± 6.52 meq/kg olmuştur. Kontrol örneğinin asitlik analiz sonucu TKG 2020/7 uygun çıkmıştır. Ürüne ait sonuçlar oldukça yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, ürüne katılmış olan bitki ile arı sütü ve propolisten kaynaklanmış olabilir.

Elektrik iletkenliği, bal örneğinin salgı veya çiçek balı tespiti için kullanılan çok önemli parametredir (Marghitaş ve ark., 2008). Salgı balları, çiçek ballarına oranla daha

yüksek değerlerde elektrik iletkenliği özelliğine sahiptir. Balın içerisindeki kül, şeker, asit ve protein miktarına göre ise, elektrik iletkenliğinde değişimler olabilmektedir. AB Standartlarına göre, çiçek ballarında elektrik iletkenliği 0.80 Ms/cm'den düşük olması gerekmektedir (Belay ve ark., 2013). Bal Tebliği'nde salgı ballarının elektrik iletkenliği en az 0.80 mS/cm, çiçek ballarının ise 0.80 mS/cm'den fazla olması gerektiği bildirilmiştir (Batu ve ark., 2013; Çınar, 2010; Anonim, 2020). Bu çalışmada, kontrol örneği olan kestane balının iletkenlik analiz sonucu 1.32 ± 0.13 , fonksiyonel gıdanın ise 1165.67 ± 25.93 mS/cm olmuştur (Çizelge 2). Kontrol örneğinin iletkenlik analiz sonucu TGK 2020/7 uygun çıkarken, ürünün sonucu ise yüksek olmuştur. Bu farklılık, fonksiyonel ürüne katılmış olan bitkiler ile arı sütü ve propolisten kaynaklanmış olabilir. Fakat bu konun tam olarak aydınlanması için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bala ait kalite ve kimyasal nitelikleri incelenirken, kullanılan parametrelerden birisi de diastaz sayısıdır (Bogdanov, 2002). Diastaz sayısı, ayrıca yüksek ısısal işleme tabi tutulmuş veya uzun bir süre depo edilmiş bal ile taze balın ayırt edilmesinde kullanılan bir kriterdir (White, 1994). Balda diastaz değeri olması gereken değerden düşük ise balın ısısal işleme tabi tutulduğu anlaşılır ve istenilmeyen bir durumdur. Ayrıca yüksek değerlerde diastaz bulunması da olumsuzluktur ve bu durum aşırı asit oluşumu ile fermantasyon oluşmasına sebep olmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre çiçek ballarındaki diastaz sayısı değeri 8 birimin altında olmaması gerektiği bildirilmiştir (Anonim, 2020). Diastaz sayısının sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Kontrol örneği olan kestane balının diastaz sayısı analiz sonucu 29.40 ± 4.51 , ürüne ait sonuç ise 27.26 ± 3.69 olmuştur.

Balda kristalleşmeyi önlemek, kristalleşme olduğunda ise kaldırmak ayrıca bulaşan mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için bala ısısal işlem uygulanmaktadır. Hidroksimetilfurfural (HMF), ısısal işlem ile birlikte ürün içeriğindeki şeker ve aminoasit arasındaki bağlardan oluşan tepkime olarak tanımlanmakta ve çoğu üründe yüksek ısısal işlem uğratılmasını engellemek amacı ile miktarı belirli sınırdaki bileşiktir. HMF ayrıca balların uzun bir süre depolanması ile oluşumu gözlenebilmektedir. Bekleme süresi uzun olduğunda oluşabilme ihtimali olduğu için taze bal içeriğinde az miktarda içermektedir. HMF gelişimi pH, sıcaklık, ısıtma süresine ve şeker parametrelerine bağlıdır ve bu parametreler balın kalitesini belirlediğinden kalite kriterlerindedir (Yıldız ve ark., 2010). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre, tropikal iklimde oluşan ve ısısal işleme tabi tutulmamış bal içeriğinde bulunması gereken HMF miktarı 40 mg/kg yüksek olabileceği belirtilmiştir (Tosi ve ark., 2002; Çınar, 2010; Anonim, 2020; Çiftci, 2014; Kaplan, 2014; Kambur ve ark., 2015). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde ekvator bölgesi hariç diğer bölgelerde üretilen balların HMF değeri 40 mg/kg olarak belirtilmiştir. Tropikal bölgeler için belirlenen değer 80 mg/kg olarak belirtilmiştir (Güney, 2010). Kestane balı için elde edilen HMF değeri 17.79 ± 2.88 mg/kg ve ürüne ait HMF değeri 34.94 ± 3.8 mg/kg değerinde olup (Çizelge 2), bal tebliğinde belirtilen değere (≤ 40) uygundur.

Bal proteini, aminoasitlerin %50-85'inde bulunan prolin miktarı ile tespit edilir (Bogdanov, 2002; Hermosin ve ark., 2003). Bal içeriğinde protein miktarı oldukça azdır ve bu miktar genel olarak %0.5'den düşüktür. Balların çeşidine göre içeriğindeki prolinde farklılık gözlenmektedir (Meda ve ark., 2005; Cengiz ve ark., 2018). Nektarın bala dönüşümü sırasında prolin, arılar aracılığıyla aktarılmış tek aminoasittir. Balın içeriğinde prolin hariç 26 amino asit olduğu tespit edilmiş ve oranı balın çeşidine bağlı olarak farklılık gösterir (Hermosin ve ark., 2003). Türk Gıda Kodeksinde bal içeriğinde bulunması gereken prolin değeri çiçek ballarında minimum 300 mg/kg olması gerektiği belirtilmiştir. Kanola, ıhlamur, narenciye, lavanta, okaliptüs balların içeriğinde ise miktar 180 mg/kg olarak saptanmıştır. Biberiye, akasya balında bu değer 120 mg/kg olması gerektiği belirtilmiştir (Anonim, 2020). Bu çalışmada, kestane balı için belirlenen prolin miktarı 518.08 ± 25.4 , fonksiyonel gıda için elde edile değer ise, 964.68 ± 35.39 mg/kg olup, ≥ 300 değerine uygundur. Fonksiyonel gıdaya

ait prolin değerinin yüksek çıkması, fonksiyonel gıdaya katılan arı sütünden kaynaklanmış olabilir.

pH balın önemli kalite parametresinden olup, pH değeri balın raf ömrünü, stabilizesini ve tekstürel yapısını etkilemektedir (Gomes ve ark., 2010). Ayrıca baldaki pH değeri, içeriğindeki iyonize asitlere ve minerallere bağlı olup, mikroorganizmaların çoğalmasında, enzimatik reaksiyon gibi özelliklerine etki etmektedir. Salgı balları toprağın tampon, tuz ve demir değerlerindeki fazlalığına göre, asitlik değeri az olduğundan pH değeri daha fazladır (Keskin, 1982). Bal içeriğindeki glikoz balın en önemli bileşenidir. Glikozun, hidrojen peroksiti oluşturması ile birlikte zayıf olan glikonik asit kalmakta ve bu asit pH'ın sınırlı bir değer altında kalmasını sağlamaktadır. Böylece mikrobiyolojik ajanlar üreyip, çoğalamaz (Doğan, 2007). Mikroorganizma oluşumu en iyi pH miktarı 7.20-7.40 aralığında gerçekleşmektedir (Yıldırım, 2013). pH değeri 5'in altında olduğunda bal içeriğindeki früktoz ve glukoz dehidrasyon oluşturması ile HMF ortaya çıkmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde balın içeriğinde bulunması gereken pH miktarı için standart bir değer bildirilmemiştir. Türk Standartları Enstitüsü Bal Standardında belirtilen bal içeriğindeki pH değeri 3.40-6.10 olarak bildirilmiştir (Anonim, 2020; Kaplan, 2014). Kestane balı için bulunan değer pH 5.80 ± 0.43 mg/kg'dır ve fonksiyonel üründe pH değeri 4.46 ± 0.10 mg/kg değerindedir.

Normal balda protein değeri oldukça düşüktür (%0.05). Balın içeriğindeki protein, balın natürel ya da yapaylığı hakkında bilgi verdiği gibi beslenme açısından da önemlidir. Protein, bal oluşumu destekleyen arı tarafından ya da bitkiye bağlı olmakla beraber, miktarını ise balın türüne göre değişiklik göstermektedir. Polen, protein ve aminoasitin kaynağıdır ve protein kaynağı hayvansal ya da bitkiselidir (Ötleş, 1995). Aminoasitlerin %50-85'ini prolin oluşturduğu için protein içeriği genel olarak bal içeriğindeki prolin değerine bağlı olarak değerlendirilmektedir. Baldaki protein miktarı arıdaki nektar ve salgısına türüne bağlı olarak değişmektedir (Da Silva ve ark., 2016). Mısır şurubu ve şeker karışımının ucuz olması ve bal içeriğine katılması ile aromasını değiştirmesiyle beraber balın sağlığını bozmasıyla taşışe neden olmaktadır. Bu istenmeyen bir durum olması nedeni ile laboratuvarlarda çeşitli analitik analizler yapılmaktadır. Bal içeriğine aktarılmış şeker kamışı ya da mısır şurubu için yapılan en genel analiz karbon izotop ($\delta^{13}C$) metodudur. Bu analizdeki amaç bal içeriğindeki protein fraksiyonu ile balın karbon izotopları arasındaki fark incelenerek baldaki sağlığın kalitatif ve kantitatif belirtisinin göstergesidir. Bu analiz metodunun uygulanma nedeni ise mısır şurubu ya da şeker kamışı eklendiğinde balda karbon izotop oranı değişir ama proteinde herhangi bir değişiklik görülmemekte, böylece karbon izotop oranı ile protein karbon izotop oranındaki fark en düşük orandaki taşışe bile kanıtlayan nitelik göstermektedir (Çınar, 2010; Kambur ve ark., 2015). Arı sütü içeriğinde %12-15 oranında protein bulunmaktadır. Kestane balı için elde edilen protein değeri 0.44 ± 0.08 ve ürüne ait protein sonucu ise, 3.27 ± 0.27 'dir. Elde edilen ürünün protein miktarı yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, ürüne katılan arı sütünden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Normal bir bal, ortalama %0.18 oranında kül içermektedir. Kül miktarı aminoasit/şeker oranı ile birlikte balın renginde koyulaşma sağladığı, kül miktarı ile balın rengi arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Şahinler ve ark., 2001). Baldaki kül miktarı yüksek ise mineral madde oranı da yüksektir ve bu nedenle salgı balları çiçek ballarına göre daha çok mineral madde içermektedir. Baldaki kül içeriği, arılar tarafından yararlanan bitkinin türüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Abu-Tarboush ve ark., 1993; Singh ve Bath, 1997). En fazla kül miktarı çam ballarında olduğu tespit edilmiştir (Crane, 1975). Türk Standartları Enstitüsü Bal Standardına göre bal içeriğinde bulunan en yüksek kül değeri çiçek ballarında %0.60, salgı ballarında %1.20 olarak bildirilmiştir. Fonksiyonel üründe kül miktarı değeri %1.85 ve kestane balında %0.60 olarak saptanmıştır. Fonksiyonel gıdaya

Ekinezya ve Çıvanperçemi gibi otlarının karışımından dolayı, kül oranı yüksek çıktığı söylenebilir.

Çizelge 3. Kestane balı ve üretilen ürünün protein, kül ve pH analizleri

	Kestane balı	Üretilen ürünün analiz sonuçları
Protein % m/m	0.44 ± 0.08	3.27 ± 0.27
Kül % m/m	0.60 ± 0.04	1.85 ± 0.11
pH	5.80 ± 0.43	4.46 ± 0.10

Normal balda, yaklaşık olarak %0.02-%1.00 arasında mineral madde bulunmaktadır. Bal içeriğindeki demir, bakır, potasyum, magnezyum, fosfor, silisyum, aliminyum, krom, nikel, kobalt ve kalsiyum en önemli minerallerdir. Bal oluşumu gerçekleştikten sonra saklanma koşulu çok önemli olup, doğru depolanmama sonucu balın içeriğindeki mineral maddelerde azalma gözlenmekte, bu durum istenmeyen bir özelliktir. Bal içeriğindeki mineral madde oranı balın rengini de etkilemekte olup, açık renkli ballarda mineral madde miktarı düşük, koyu renge olan balların içeriğindeki mineral madde miktarı yüksek olduğu bildirilmiştir (Gomes ve ark., 2010). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre mineral madde miktarı ile kül miktarı aynı değerde olduğu belirtilmiş, çiçek balı için %0.6, salgı balı ise %1.2 değerlerini geçmemesi gerektiği bildirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, fonksiyonel gıdanın Ca, Mg, Fe, Zn, Al, Mn, Cr gibi mineral madde içeriği bakımından kestane balına göre daha yüksek değere sahip olmuştur. Bu sonuç, arı sütünden kaynaklanmış olabilir. Çünkü arı sütünde %0.7-1.2 oranında mineral madde bulunmaktadır (Korkmaz, 2003).

Antioksidan, kimyasal bir bileşenin oksitleme özelliğini yavaşlatan yada durduran molekül olarak tanımlanmaktadır (Moon ve Shibamoto, 2009). Doğal orjinli antioksidan özellikli ürünlerin, günümüzde diyet ürünleriyle de kullanılıp bitkisel ya da bitkilerden oluşan bal gibi ürünlerinin tüketiminin artırdığı ve fonksiyonel gıda terimi olarak betimlendiği gözlenmiştir. Bal içerisindeki antioksidan ve fenolik madde arasında yapılan araştırmalar sonucu birbirleri ile bağlantısı olduğu tespit edilmiştir (Zalibera ve ark., 2008). Bal içeriğindeki fenolik madde bala renk, tat, aroma ve sağlık açısından önemli etkiye sahip bileşiktir (Estevinho ve ark., 2008). Koyu renkte olan ballarda antioksidan madde içeriğinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Baltrusaityte ve ark., 2007). Bal içeriğinde bulunan bitkisel bileşikler neticesinde antioksidan özellik gösterdiği ve bu özellik bala koruyucu ve iyileştirici etken oluşturduğu gözlenmektedir (Weston ve ark., 1999). İyileştirici etkisi, balın içeriğinde bulunan bitkisel yapılarıdaki aktif bileşiklerdir. Bu aktif bileşikler bala, nektarda içeriğindeki bitkisel sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır. İçeriklerinde bulunan en fazla bileşik grubu ise fenolik bileşiklerdir ve bu bileşikler balda antioksidan özellik bulunmaktadır (Molan, 2006). Fenolik bileşikler 8000 çeşit yapıda bulunmaktadır (Bravo, 1998). Bal içerisindeki fenolik bileşikler incelendiğinde balın florası ile ilgili bilgiler elde edilebilmektedir. Fenolik bileşik grubundan kafeik asit, p-kumarik asit kestane balı içeriğinde bulunurken, protokatekuik asit çiçek balları içeriğinde olup florası hakkında bilgi vermektedir (Kassim ve ark., 2010). Antioksidanlar üzerinde yapılan çalışmalarda bitkisel kaynaklı antioksidanların, çoğu hastalıkları engellemede ve iyileştirici özelliği bulunduğu belirtilmiştir. Fenol bileşiklerden flavonoidin kimyasal yapısı nedeniyle yüksek antioksidan özelliği bulunmaktadır. Kimyasal yapısındaki benzen halkasındaki hidroksil grubu nedeniyle kolaylıkla iyonlaşmayı sağlayabilmekte ve yüklü metal grupları ile bağlanması ile grubun serbest radikallerini kaldırır. Yapısında oluşan halkasal aromatik yapı kararlı bir mekanizma oluşturur ve antioksidan ile şelatlama sonrasında herhangi bir yapıda bozulma izlenmez (Cam ve Hışıl, 2003). Bunun neticesinde herhangi bir hücre bozulmasında dejeneratif rahatsızlıkların korunmasında etkili olduğu tespit edilmiştir. Flavanoid bal

içeriğinde düşük molekül ağırlığında olan aroma ve antioksidan özelliğini etkileyen bileşiktir (Khalil ve ark., 2012). Yapılan çalışmalar sonucunda balın antioksidan özelliği olduğu ve kalp hastalıklarına, kansere, immün sisteminde zayıflama ve farklı inflamasyon rahatsızlıklara etkili olduğu belirtilmiştir. Balın yapısındaki antioksidan özelliği kimyasal yapısına bağlı olduğu tespit edilmiştir (Khalil ve ark., 2012). Bal içerisindeki flavanoid miktarı 60-460 µg/100g aralığındadır. Bu belirtilen miktar kuru ve yüksek sıcaklıktaki yaz aylarında değişiklik göstermektedir (Bogdanov ve ark., 2008). Bal içeriğindeki, bileşen ve değerleri, kaynağı, yetiştiği bölgenin coğrafi yapısı, balın elde edilme işleminde uygulanan yöntem ve depolama koşulları gibi etkenler antioksidan özelliğini etkileyebilmektedir (Silici ve ark., 2010; Khalil ve ark., 2012).

Çizelge 4’de kestane balı ve üretilen fonksiyonel gıdaya ait antioksidan sonuçlarına ait ortalamalar verilmiştir. Toplam Fenolik kapasite (TFK) için mg gallik asit eşdeğeri/kg (GAE) ağırlık olarak saptanmıştır. Kestane balı için 1278.03±17.33 mg GAE/kg ve ürün için 1803.18 mg GAE/kg olarak bulunmuş olup kestane balı ile ürün arasında TFK bakımından önemli ölçüde farklıdır (P<0.05). Toplam antioksidan kapasite Kestane balı için 9834.64±785.47 mg AAE/kg ve ürün için 15204.58±604.99 mg AAE/kg olarak bulunmuş olup kestane balı ile ürün arasında TAK bakımından önemli ölçüde farklıdır (P<0.05). Demir indirgeme kapasitesi FRAP için mM FeSO₄/kg ağırlık olarak verilmiştir. FRAP kapasite kestane balı için 8126.15±529.15 mM FeSO₄/kg ve ürün için 31616.41±218.83 mM FeSO₄/kg olarak bulunmuş olup kestane balı ile ürün arasında FRAP kapasite bakımından önemli ölçüde farklıdır (P<0.05). DPPH için % inhibisyon olarak ifade edilmiştir. Radikal süpürme etkisi Askorbik asit ve Trolox için sırasıyla %96.42±2.43 ve %96.83±2.17, ürün için inhibisyon değeri %69.49±0.62 ve kestane balı için %19.13±0.78 bulunmuştur. DPPH inhibisyon kapasitesi bakımından önemli ölçüde farklıdır (P<0.05). Üretilen ürünün TFK, TFLK, TAK, DPPH ve FRAP antioksidan kapasite bakımından oldukça yüksek kapasiteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. Kestane balı ve üretilen ürünün antioksidan sonuçları

	Fonksiyonel ürün	Kestane balı	Ascorbic acid	Trolox
TFK ¹ mg GAE/kg	1803.18±79.53	1278.03±17.33	---	---
TFLK ² mg QUE/kg	4858.33±76.37	250.00±50.00	---	---
TAK ³ mg AA/kg	15204.58±604.99	9834.64±785.47	---	---
FRAP ⁴ mM(FeSO ₄)/kg	31616.41±218.83	8126.15±529.15	---	---
DPPH ⁵ %	64.49±0.62	19.13±0.78	96.42±2.43	96.83±2.17

¹TFK: Toplam fenolik kapasite, ²TFLK: Toplam flavonoid kapasite, ³TAK: Toplam antioksidant kapasite, ⁴FRAP: Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan kapasite, ⁵DPPH: Radikal söndürücü kapasite

Sonuç

Sonuç olarak; bal, propolis, arı sütü, ekinezya ve çivanperçemi karışımından elde edilen fonksiyonel ürünün nem içeriği, şeker oranı ve diastaz sayısı, kestane balına yakın, diğer ifade ile Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde bildirilen değerlere uygunluk göstermiştir. Ürün ait suda çözünmeyen madde miktarı, serbest asitlik elektrik iletkenliği ise, bal için bildirilen standartlardan çok yüksek bulunmuştur. Bu farklılık, fonksiyonel ürüne katılmış olan bitkiler ile arı sütü ve propolisten kaynaklanmış olabilir. Fakat bu konunun tam olarak aydınlanması için, ilave çalışmalara ihtiyaç vardır. Elde edilen ürünün antioksidan kapasite başta olmak üzere, prolin, vitamin ve mineral madde yönünden oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir.

Teşekkür

Materyal ve Metot kısmında belirtilen analizlerin yürütülmesine destek olan Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Cemalettin BALTACI'ya, fonksiyonel ürünün hazırlanmasında maddi destek sağlayan Trabzon Tabip Gıda Ltd.Şti. firmasına teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abu-Tarboush, H., Al-Kahtani, H., El-Sarrange, M. (1993). Floral type identification and quality evaluation of some honey types. *Food Chemistry*, 46, 13-17.
- Adam, K. L. (2002). *Echinacea* as an Alternative Crop. ATTRA (<http://ATTRA.org>) verified Oct, 10, 2002. Agricultural Experiment station Ser. MF-2532. Kansas State University, Manhattan, KS.
- Ahmed, D., Khan, M.M., Saeed, R. (2015). Comparative Analysis of Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant and Antibacterial Potential of Methanolic, Hexanic and Aqueous Extracts from *Adiantum caudatum* Leaves, *Antioxidants*, 4, 394-409.
- Anonim, (2001). Baharat ve çeşni veren bitkilerde kül tayini. TS 2131-2001, meyve ve sebze ürünlerde Ph tayini TS 1728-2001.
- Anonim, (2002). Bal Standardı. Türk Standartları Enstitüsü TS 3036/Mart 2002, 23 s. Ankara.
- Anonim, (2005). Bal Tebliği. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. 17.12.2005 tarih ve 26026 sayılı Resmi Gazete. Tebliğ No: 2005/49.
- Anonim, (2008). Bal-su muhtevası tayini. TS 13365-2008.
- Anonim, (2010). Suda çözünmeyen madde tayini, TS 3036-2010.
- Anonim, (2016). Makarna Türk Standardı, TS 1620-2016.
- Anonim, (2020). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (Tebliğ No: 2020/7). Tarım ve Orman Bakanlığı, 22 Nisan 2020 ve 31107 Sayılı Resmi Gazete.
- Baltrušaitytė, V., Venskutonis, P.R., Čeksterytė, V. (2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and beedread phenolic extract. *Food Chemistry*, 101, 502-514.
- Batu, A., Küçük, E., Çimen, M. (2013). Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz Bölgeleri çiçek ballarının fizikokimyasal ve biyokimyasal değerlerinin belirlenmesi. *Electronic Journal of Food Technologies*, 8,1, 52-62.
- Baysal, A. (2007). Beslenme. Hatipoğlu Yayıncılık. pp. 532.
- Baytop, T. (1999). Türkiye'de bitkilerle tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri. ISBN 975-420-021-1.
- Belay, A., Solomon, W.K., Bultossa, G., Adgaba, N., Melaku, S. (2013). Botanical origin, colour, granulation and sensory properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia, *Food Chemistry*, 167, 213-219.
- Bogdanov, S. (2002). Harmonized methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Center, FAM, Liebefeld, CH-3003 Beren, Switzerland.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review, *After American Journal of the College of Nutrition*, 27, 677-689.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 317-333.
- Cam M., Hışıl Y. (2003). Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 2-4 Ekim, pp. 67-82.
- Cengiz, M. M., Tosun, M., Topal, M. (2018). Determination of the physicochemical properties and 13C/12C isotope ratios of some honeys from the northeast Anatolia region of Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 69, 39-44.
- Crane, E. (1975). *Honey: a comprehensive survey*, Marrson and Gibb Ltd. London, pp. 608.
- Çınar, B. S. (2010). Türk çam balının analitik özellikleri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Doktora tezi), 81 s, Ankara.
- Çiftçi, E. (2014). Konya yöresel yayla balı ile püren balının kalite kriterleri yönünden karşılaştırılması. (Yüksek lisans tezi), Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., Fett, R. (2016). Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.

- Doğan, M. (2007). Marketlerde ve aktarlarda satılan balların antioksidan ve oksidan kapasitelerinin araştırılması. Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek lisans tezi), Şanlıurfa.
- Duke, A. J. (1986). Handbook of Medicinal Herbs. CRC press, Boca Raton. F.L., 9.
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effect of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. Food and Chemical Toxicology, 46, 3774-3779.
- Fritz, W. R. (1994). Herbal Medicine. Bath Pres, Avon. 92.
- Gençay, Ö., Sorkun, K. (2002). Propolis hakkında neler biliyoruz? Teknik Arıcılık, 75, 17-21.
- Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L. L., Rodrigues, P., Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. Food and Chemical Toxicology, 48,2, 544-548.
- Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C. (2004). PDR for Herbal Medicines. 3rd Ed. Montvale, NJ, Thomson Healthcare, 267-274.
- Güney, F. (2010). Isıtma ile Balın yapısında meydana gelen olumsuz değişiklikler. www.ordutarim.gov.tr, 11, 30-34.
- Hermosin, I., Chicon, R. M., Cabezudo, M. D. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. Food Chemistry, 83, 263-268.
- Hylton, W. H. (1974). The Rodale Herb Book. Rodale Press Book Division, Emmaus, PA.
- IHC, (2009). International Honey Commission, 2009 (<http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>)
- Kambur, M., Yıldız, İ., Kekeçoğlu, M. (2015). Düzce ili yığılca ilçesinde üretilen balların kimyasal ve paninolojik analiz yöntemleri ile değerlendirilmesi. Uludağ Arıcılık Dergisi, 15,12, 67-79.
- Kaplan, H. B. (2014). Ege Bölgesi ballarının kimyasal özellikleri, (Yüksek lisans tezi), Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Karadal, F., Yıldırım, Y. (2012). Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 9,3, 197-2009.
- Kasangana, P. B., Haddad, P. S., Stevanovic, T. (2015). Study of polyphenol content and antioxidant capacity of Myrianthus Arboreus (Cecropiaceae) Root Bark Extracts Antioxidants (Basel). Jun; 4,2, 410-426. doi:10.3390 /antiox4020410.
- Kassim, M., Achoui, M., Mustafa, M. R., Mohd, M. A., Yusoff, K. M. (2010). Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate in vitro anti- inflammatory activity. Nutrition Research 30, 650-659.
- Keskin, H. (1982). Besin Kimyası. Fatih Yayınevi, 450 s. Ankara.
- Khalil, M. I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M. A., Sulaiman, S. A., Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey, Molecules, 17, 11199-11215.
- Korkmaz, A. (2003). "Arıcılık". Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Samsun Tarım İl Müdürlüğü, Samsun.
- Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B. C., Ceyran G. (2002). Önemli bir arı ürünü: propolis. Uludağ Arıcılık Dergi., 2, 2, 10-24.
- Marghitaş, L. A., Dezmirean, D., Popescu, O., Maghear, O., Moise, A., Bobiş, O. (2008). Correlation between ash content and electrical conductivity in honeydew honey from Romania, 1st World Honeydew Honey Symposium, Tzarevo, Bulgaria, 30.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fason honey , as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, 91, 571-577.
- Molan, P. C. (2006). The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. Int J Low Extrem Wounds, 5: 40-54.
- Moon, J. K., Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. J. Agric. Food Chem., 57, 1655-1666.
- Nagai, T., Inoue, R. (2004). Preparation and Functional Properties of Water Extract and Alkaline Extract of Royal Jelly, Food Chem., 84, 181-186.
- NMKL, (2007). NMKL, 186-2007. Trace elements (<https://www.nmkl.org/index.php/en/list-of-nmkl-methods>)
- Ötleş, S. (1995). Bal ve Bal Teknolojisi (Kimyası ve Analizleri). Alaşehir Meslek Yüksekokulu Yayınları Yayın No:2. İzmir.
- Pelvan, E. (2009). Günümüz ve geleceğin gıdaları fonksiyonel gıdalar. Bilim ve Teknik Dergisi, 26-29.

- Singh, N., Bath, P. K. (1997). Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58, No. 1-2, 129-133.
- Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys, *Food Chemistry*, 121 238– 243.
- Şahinler, N., Şahinler, S., Gül, A. (2001). Hatay Yöresi ballarının bileşimi ve biyokimyasal analizi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6, 93-108.
- Tamura, S., Kono, T., Harada, C., Yamaguchi, K., Moriyama, T. (2009). Estimation and characterisation of major royal jelly proteins obtained from the honeybee *Apis mellifera*. *Food Chem.*, 114, 1491- 1497.
- Tosi, E., Ciappini, M., Lucero, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content, *Food Chemistry*, 77, 71, 71-74.
- Tosi, E.A., Ré, E., Lucero, H. Bulacio, L. (2004). Effect of honey high-temperature short-time heat parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *Lebensm-Wiss. U.-Technol.*, 37, 669-678.
- Weston, R. J., Mitchell, K. R., Allen, K. L. (1999). Antibacterial phenolic components of Nea activity of honey in an experimental bladder cancer implantation model: in vivo and in vitro studies. *Int J Urol.*, 10, 213-219.
- White, J. W. (1994). The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. *Bee World*, 75,3, 104-117.
- Wildman, R. E. (2001). “Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods”, CRC Press. Pp. 517-527.
- Wills, R. B. H., Stuart, D. L. (2000). Effect of handling and storage on alkylamides and cichoric acid in *Echinacea purpurea*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 9, 1402-6.
- Yıldırım, A. (2013). Bingöl ili ballarının fenolik bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkisinin araştırılması. (Yüksek lisans tezi). Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl.
- Yıldız, O., Sahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö., Kolaylı, S. (2010). Maillard Reaksiyonları ve Reaksiyon Ürünlerinin Gıdalardaki Önemi. *Akademik Gıda*, 8(6), 44-51.
- Zalibera, M., Staško, A., Šlebodová, A., Jančovičová, V., Čermáková, T., Brezová, V. (2008). Antioxidant and radical-scavenging activities of Slovak honeys-An electron paramagnetic resonance study. *Food Chemistry*, 110, 512-521.