İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALDA DEPOLAMA SIRASINDA ESMERLEŞME REAKSİYONU KİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
LATİFE BULUT

Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ŞUBAT 2007

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALDA DEPOLAMA SIRASINDA ESMERLEŞME REAKSİYONU KİNETİĞİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
LATİFE BULUT

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 5 Mart 2007
Tezin Savunulduğu Tarih : 5 Şubat 2007

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Meral KILIÇ
Diğer Jüri Üyeleri Prof.Dr. E.Özgül EVRANUZ
Doç.Dr. Hale GÜRBÜZ

ŞUBAT 2007

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Doç.Dr. Meral KILIÇ'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca eğitimim boyunca emeği geçen tüm hocalarıma, mesai arkadaşlarıma ve eski ev arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmam sırasında bana gösterdikleri anlayış ve maddi, manevi desteklerinden dolayı eşime ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

Şubat 2007 Latife BULUT

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	ii
KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Bal	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Ürün Özellikleri	3
2.1.3. Balın Bileşimi	4
2.1.4. Balın Fizikokimyasal Özellikleri	5
2.2. Balda Kalite Değişimleri	7
2.2.1. Kristallenme	7
2.2.2. Fermentasyon	8
2.2.3. Esmerleşme Reaksiyonu	8
2.2.3.1. Esmerleşme Reaksiyonuna Etki Eden Faktörler	9
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Materyal	14
3.2. Metot	14
3.2.1. Bal örneklerinin hazırlanması	14
3.2.2. Nem tayini ve bileşimin belirlenmesi	15
3.2.3. HMF tayini	16
3.2.4. Camsı geçiş sıcaklığı tayini	16
3.2.5. Renk tayini	16
3.2.6. Viskozite tayini	17
3.2.7. Su Aktivitesi tayini	17
3.3. İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	18
4.1. Orijinal ve Farklı Nem İçeriğine Sahip Balların Fizikokimyasal Özellikleri	18

4.1.1. Camsı geçiş sıcaklığı 19
4.1.2. Viskozite 21
4.2. Esmerleşme Reaksiyonu Kinetiğinin Belirlenmesi 23
4.2.1. Farklı sıcaklıklarda depolanan bal örneklerindeki HMF konsantrasyonunun değişimi 22
4.2.1.1. Reaksiyon hızına sıcaklığın etkisi 24
4.2.2. Farklı sıcaklıklarda depolanan bal örneklerindeki renk değişimi 29
4.2.2.1. Farklı sıcaklıklarda depolanan bal örneklerindeki toplam renk değişimi 34
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 36
KAYNAKLAR 37
EKLER 40
ÖZGEÇMİŞ 55

KISALTMALAR

HMF	:	Hidroksimetil furfural
Tg	:	Camsılığa Geçiş Sıcaklığı
WLF	:	Williams-Landel-Ferry Eşitliği
TGKY	:	Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği
VTF	:	Vogel-Taumman-Fulcher Eşitliği
DSC	:	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
Tm	:	Erime Sıcaklığı
ΔH	:	Erime Entalpisi
L*	:	CIE Renk Sistemine göre (CIE 1976) açıklık/ koyuluğu ifade
	:	etmektedir. Pozitif değer daha açık , negatif değer daha koyu
	:	anlamına gelmektedir.
a*	:	CIE Renk Sistemine göre a* değeri pozitif olduğu zaman kırmızı ,
	:	negatif olduğu zaman yeşil tonları ifade etmektedir.
b*	:	CIE Renk Sistemine göre b* değeri pozitif olduğu zaman sarı ,
	:	negatif olduğu zaman mavi tonları ifade etmektedir.
hue	:	CIE Renk Sistemine göre renk açısını (tonunu) ifade eder .
	:	1. renk bölgesi için pozitif değer daha sarı , negatif değer
	:	daha kırmızı ; 2 . renk bölgesi için pozitif değer daha kırmızı , negatif
	:	değer daha mavi ; 3 . renk bölgesi için pozitif değer daha mavi ,
	:	negatif değer daha yeşil ; 4 . renk bölgesi için pozitif değer daha
	:	yeşil , negatif değer daha sarı rengi anlamına gelmektedir .
kroma	:	CIE Renk Sistemine göre doygunluğu , parlaklığı ifade etmektedir.
	:	Kroma değerindeki azalma rengin koyulaştığını ve parlaklığın
	:	azaldığını ifade etmektedir.
ΔE	:	Toplam Renk Değişimi

TABLO LİSTESİ

		Sayfa No
Tablo 2.1	**:** Balın ürün özellikleri (Anonim, 2005)	4
Tablo 2.2	**:** Balın farklı kaynaklara göre genel kompozisyonu	5
Tablo 2.3	**:** Balın farklı kaynaklara göre şeker kompozisyonu	7
Tablo 4.1	**:** Orijinal balın fizikokimyasal özellikleri	18
Tablo 4.2	**:** Farklı nem içeriğindeki balların su aktivitesi, camsı geçiş sıcaklığı, erime sıcaklığı ve erime entalpisi değerleri	20
Tablo 4.3	**:** Farklı nem içeriğindeki balların farklı depolama sıcaklıklarında HMF oluşumu için sıfırıncı dereceden reaksiyon hız sabitleri ve lineer regresyon sonuçları	24
Tablo 4.4	**:** Reaksiyon hızının sıcaklık ile değişimini ifade eden log-lojistik eşitliğinin parametreleri	28
Tablo 4.5	**:** Farklı nem içeriklerinde farklı sıcaklıklarda depolanan bal örneklerinin ΔE^* değerlerinin Arrhenius ve WLF eşitliklerine göre modellenmesi	34

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 4.1 : Nem içeriği % 15 olan balın DSC cihazından elde edilen termogramı 20
Şekil 4.2 : Farklı nem içeren balların DSC cihazından elde edilen termogramları 21
Şekil 4.3 : Farklı nem içeren balların viskozitelerinin sıcaklık ile değişimi 22
Şekil 4.4 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarındaki HMF konsantrasyonunun değişimi 23
Şekil 4.5 : Farklı nem içeriğindeki balların reaksiyon hız sabitlerinin sıcaklık ile değişimi 25
Şekil 4.6 : Nem içeriği % 15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ile değişimi ve hız sabitinin Arrhenius modeline göre tahmin edilen değişimi 26
Şekil 4.7 : Nem içeriği % 15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ile değişimi ve hız sabitinin WLF modeline göre tahmin edilen değişimi 26
Şekil 4.8 : Nem içeriği % 15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ile değişiminin modellenmesinde artık değerlerinin log-lojistik eşitliğinden tahmin edilen değerler ile değişimi 27
Şekil 4.9 : Nem içeriği % 15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ile değişimi ve log-lojistik eşitliğinden tahmin edilen değerler 28
Şekil 4.10 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında L* değerindeki değişim 29
Şekil 4.11 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında a* değerindeki değişim 30
Şekil 4.12 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında b* değerindeki değişim 31
Şekil 4.13 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında b* ile a* değeri arasındaki ilişki 31
Şekil 4.14 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında hue değerindeki değişim 32
Şekil 4.15 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında kroma değerindeki değişim 33
Şekil 4.16 : Nem içeriği % 15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında ΔE* değerindeki değişim 33
Şekil 4.17 : Nem içeriği % 15 olan balın ΔE* değerlerinin sıcaklık ile değişimi ve hız sabitinin Arrhenius modeline göre tahmin edilen değişimi 35
Şekil 4.18 : Nem içeriği % 15 olan balın ΔE* değerlerinin sıcaklık ile değişimi ve hız sabitinin WLF modeline göre tahmin edilen değişimi 35

ÖZET

Balda esmerleşme reaksiyonu depolama sırasında sıcaklığa bağlı olarak meydana gelmekte, hidroksimetilfurfural (HMF) konsantrasyonu yükselerek ve renk değişerek ürünün kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır. Balın depolandığı sıcaklıklar camsılığa geçiş sıcaklığı (Tg) ile bu sıcaklığın 100°C üzerindeki sıcaklık aralığında olduğundan kalite değişimleri incelenirken Tg'nın etkisi incelenmelidir. Bu çalışmada, balın Tg değeri nem içeriği %15-22 aralığında ayarlanarak değiştirilmiştir. Elde edilen bal örnekleri, balın Tg ile bunun 100°C üzerindeki sıcaklık aralığındaki farklı sıcaklıklarda (20-60°C) on gün depolanarak esmerleşme reaksiyonu HMF konsantrasyonu ve renk değerleri ölçülerek izlenmiştir. Esmerleşme reaksiyonunun kinetiği HMF konsantrasyonu ve toplam renk değişimi değerleri kullanılarak belirlenmiştir. Bal örneklerindeki HMF konsantrasyonu ve toplam renk değişimi değeri depolama süresinde doğrusal olarak artmıştır. Balın nem içeriği arttıkça reaksiyon hızının arttığı gözlenmiştir. HMF konsantrasyonu belirli bir depolama sıcaklığına kadar (~40-46°C) düşük hızda artmış ve bu sıcaklıktan sonra artış hızı yükselmiştir. Toplam renk değeri değişimi ise sıcaklık artışı ile sürekli olarak artış göstermiştir. Bu değişim yüksek nem içeriğinde düşük viskoziteye bağlı olarak molekül hareketliliğinin artmasından kaynaklanmıştır. Toplam renk değişiminin hız sabiti değerleri için Arrhenius ve WLF eşitliklerinin her ikisinin de uygun olduğu bulunmuştur. HMF hız sabiti değerleri sıcaklığa göre iki farklı bölgeye ayrıldığı için iki eşitlik te tüm sıcaklık aralığına uygulanamamıştır. Bu eşitliklerin yerine literatürde tavsiye edilen log-lojistik eşitliğinin HMF hız sabiti değerlerine uygun olduğu saptanmıştır. Ancak elde edilen eşitliklerin doğrulanması ve pratikte kullanılabilmesi için farklı ballarda daha uzun süreli depolama çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç vardır.

SUMMARY

Browning reaction in honey occurs during storage depending on temperature and quality of the product is lowered due to the increase in concentration of hydroxymethylfurfural (HMF) and change in color. As the temperatures at which honey is stored are between its glass transition temperature (Tg) and 100°C above this temperature, effect of Tg should be investigated when the quality changes are evaluated. In this study, Tg of honey is changed by adjusting moisture content in the range of 15-18%. Obtained honey samples were stored at different temperatures (20-60°C) in the range of Tg of honey and temperature 100°C above it for ten days and browning reaction was followed by measurements of concentration of HMF and color values. Kinetics of browning reaction was determined by using concentration of HMF and total color change value. Concentration of HMF and total color change value in the honey samples increased linearly during storage time. As the moisture content of honey was increased, the rate of reaction increased. The concentration of HMF increased at a low rate at temperatures below a certain temperature (~40-46°C) and the rate increased after this temperature. Total color change value increased continuously with increasing temperature. This change was due to enhanced molecular mobility with reduced viscosity at high moisture content. Both Arrhenius and WLF equations were found applicable to reaction rate constant values for color. As rate constant values for HMF were divided into two regions according to temperature, both equations could not be applied to whole temperature range. Log-lojistic equation suggested in the literature was found applicable for the rate constants for HMF. However, storage studies with different honeys and longer time are required for validation and use in practice of the equations obtained.

1. GİRİŞ

Bal ülkemizin ürettiği önemli gıda ürünlerinden biridir. Balın önemli kalite kriterlerinden birisi bileşiminde bulunan hidroksimetilfurfural (HMF) konsantrasyonudur. HMF balda asidik koşullarda heksoz dehidrasyonu ve Maillard reaksiyonu sonucunda oluşabilmektedir (Tosi ve diğ., 2002). HMF mutajenik etkiye sahip olduğu bildirilen bir maddedir (Bozkurt ve diğ., 1996; Altuğ, 2002). HMF taze balda düşük konsantrasyonda bulunur ve balın işlenmesi sırasında uygulanan ısıl işlem derecesine ve depolama sıcaklığına bağlı olarak miktarı artar. Bu nedenle HMF bala uygulanan ısıl işlem derecesinin ve balın tazeliğinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Dennis, 2005). Depolama sırasında HMF artışı balın kalitesini ve raf ömrünü etkileyen bir faktördür. HMF konsantrasyonu yüksek olan ballar düşük fiyatla gıda üretiminde ingrediyen olarak kullanılmak üzere satılmaktadır (Dennis, 2005).

Balda bulunabilecek HMF konsantrasyonu yasal olarak sınırlandırılmıştır. Balda bulunmasına izin verilen maksimum HMF konsantrasyonu Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre 40 mg/kg (Anonim, 2000) ve Dünya Kodeks Komitesi'ne göre 80 mg/kg (Anonim, 2000) olarak bildirilmektedir. Ancak Avrupa Birliği balda bulunabilecek HMF konsantrasyonuna 40 mg/kg sınırlama getirmiştir. Bunun nedeni 80 mg/kg değerinin tropikal iklime sahip bölge veya ülkelerdeki ballardan elde edilmiş olmasıdır (Zappala ve diğ., 2004).

Balın amber rengi fenolik bileşiklerden ve Maillard reaksiyonu sonucunda oluşan maddelerden kaynaklanmaktadır (Belitz ve diğ., 2004). İşleme ve depolama sırasında balın rengi Maillard reaksiyonu ve fenolik maddelerin reaksiyonları sonucunda esmerleşmektedir (Gonzales ve diğ., 1999; Belitz ve diğ., 2004).

Son yıllarda gıdaların depolanması sırasındaki dayanıklılığın belirlenmesinde camsılığa geçiş sıcaklığı (Tg) kullanılmaktadır. Camsılığa geçiş özellikle karbonhidrat içeren düşük neme sahip gıdalarda dayanıklılığı etkilemektedir. Camsı hal oluşturabilen bir bileşen içeren herhangi bir gıda için maksimum dayanıklılık Tg'nın altındaki sıcaklıklarda depolama ile sağlanabilir. Depolama sıcaklığı Tg'nın

üzerindeki sıcaklıklarda ise, dayanıklılık depolama sıcaklığı ile Tg arasındaki fark arttıkça azalır.

Gıdalardaki kimyasal reaksiyonların kinetiği incelenirken sıcaklık bağımlılığı yaygın olarak Arrhenius eşitliği ile belirlenmektedir. Arrhenius eşitliği hal değişimlerini içermez. Camsılığa geçiş sıcaklığının üzerindeki sıcaklıklarda kauçuğumsu halde, reaksiyonların sıcaklık bağımlılığının belirlenmesinde Williams-Landel-Ferry (WLF) eşitliği kullanılmaktadır. WLF eşitliği Tg'nı parametre olarak içermektedir. Genel olarak, Arrhenius eşitliği camsılığa geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda ve Tg'nın 100ºC üzerindeki sıcaklıklarda uygulanırken, WLF eşitliği Tg - Tg+100 °C sıcaklık aralığında kullanılmaktadır (Roos, 1995).

Balın Tg sıcaklığı -40 - -50ºC aralığında bildirilmektedir (Kantor ve diğ., 1999; Lazaridou ve diğ., 2003). Literatür verilerine göre balın işlendiği ve depolandığı sıcaklıklar bal için Tg - Tg+100 ºC sıcaklık aralığındadır.Balda esmerleşme reaksiyonu üzerine yapılan çalışmalarda sıcaklık bağımlılığı Arrhenius eşitliği kullanılarak modellenmiştir (Yılmaz ve Küfrevioğlu, 2001; Fallico ve diğ., 2004) (Tosi ve diğ., 2002; Tosi ve diğ., 2004). Bu modelleme çalışmalarında camsılığa geçiş sıcaklığı ve WLF eşitliği kullanılmamıştır. Ancak balın viskozitesi üzerine sıcaklığın etkisinin incelendiği bazı çalışmalarda WLF eşitliği , Arrhenius eşitliği yanında kullanılmıştır (Sopade ve diğ., 2002; Lazaridou ve diğ., 2003).

Bu çalışmanın amacı, balda depolama sırasında esmerleşme reaksiyonunun kinetiğinin incelenmesi ve sıcaklık bağımlılığının farklı modeller kullanılarak modellenmesidir. Bu amaçla, balın Tg değeri nem içeriği ayarlanarak değiştirilmiş ve bu örneklerdeki HMF konsantrasyonu ve renk değişimi farklı sıcaklıklarda depolama sırasında ölçülmüştür. Her sıcaklıkta elde edilen hız sabiti değerleri kullanılarak Arrhenius ve WLF eşitliklerine göre sıcaklık bağımlılığı incelenmiş ve modeller karşılaştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Bal

2.1.1. Tanımı

Türk Standartları Enstitüsü'ne göre bal, "Bitkilerin çiçeklerinde ya da diğer canlı kısımlarında bulunan nektar bezlerinden salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı böceklerin, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı tali maddelerin, bal arıları tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir üründür". Bal, arıların yararlandığı kaynağa göre çiçek balı ve salgı balı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (TSE, 2002).

Bal temel olarak besin maddesi ve enerji kaynağı olarak kullanılmakta bunun yanı sıra insan sağlığı bakımından da önem taşımakta ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir(Schmidt, 1997). Balda antioksidan etkiye sahip tokoferoller, alkaloidler, askorbik asit, flavonoidler, fenolikler ve çeşitli enzimler düşük miktarda bulunmaktadır (Frankel ve diğ., 1998). Balın antibakteriyel özelliği ile, ağız, boğaz ve bronş enfeksiyonlarına karşı da kullanıldığı bildirilmektedir (Krell, 1996).

2.1.2. Ürün Özellikleri

Balın özellikleri elde edildiği kaynağa göre değişmektedir. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) Bal Tebliği'ne göre balın ürün özellikleri Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1: Balın ürün özellikleri (Anonim, 2005)

	Çiçek balı	Salgı balı	Çiçek ve salgı balı karışımı	Fırıncılık balı
Nem (en fazla)	%20 %23 (püren-*Calluna* ballarında)	%20	%20	%23 %25 (püren-*Calluna* kaynaklı fırıncılık ballarında)
Sakkaroz (en fazla)	5 g/100g 15g/100g (Elde edildiği bitki nektarına göre)	5 g/100g 10 g/100g (Kızılçam *Pinus brutia* ve fıstık çamlarından *Pinus pinea* elde edilen salgı ballarında)	5 g/100g	5 g/100g
Fruktoz+Glukoz (en az)	100 g'da 60 g	100 g'da 45 g	100 g'da 45 g	-
Fruktoz/Glukoz	0,9 – 1,4	1,0 – 1,4	1,0 – 1,4	-
Suda çözünmeyen madde (en fazla)*	0,1 g/100 g	0,1 g/100 g	0,1 g/100 g	0,1 g/100 g
Serbest asitlik (en fazla)	50 meq/kg	50 meq/kg	50 meq/kg	80 meq/kg
Diastaz sayısı (en az)	8 3 (Narenciye balı gibi yapısında doğal olarak düşük miktarda enzim bulunan ve doğal olarak HMF miktarı 15 mg/kg 'dan fazla olmayan balda)	8	8	-
HMF (en fazla)**	40 mg/kg	40 mg/kg	40 mg/kg	-
Balda protein ve ham bal delta C13 değerleri arasındaki fark	-1.0 veya daha pozitif	-1.0 veya daha pozitif -1,6 veya daha pozitif (Kızılçam *Pinus brutia* ve fıstık çamlarından *Pinus pinea* elde edilen salgı ballarında)	-1.0 veya daha pozitif	-1.0 veya daha pozitif
Balda protein ve ham bal delta C13 değerlerinden hesaplanan C4 şekerleri oranı (en fazla)	%7 %10 (Kızılçam *Pinus brutia* ve fıstık çamlarında *Pinus pinea* elde edilen salgı ballarında)	%7 %10 (Kızılçam *Pinus brutia* ve fıstık çamlarında *Pinus pinea* elde edilen salgı ballarında)	%7	%7

*Pres balında suda çözünmeyen madde miktarı 0.5 g/100g'ı geçemez.

**Üretildiği bölge etiketinde belirtilmek koşulu ile tropikal iklim bölgeleri kaynaklı ballarda HMF miktarı en çok 80 mg/kg olmalıdır.

***Bal mumunda naftalin miktarı 10 ppb'den fazla olamaz.

2.1.3. Balın Bileşimi

Balın farklı kaynaklara göre genel bileşimi Tablo 2. 2.'de belirtildiği gibidir.

Tablo 2.2: Balın farklı kaynaklara göre genel kompozisyonu.

Bileşen (%)	White (1962)	Ötleş (1995)	Şahinler (2001)
Nem	17,2	17,2	17,2
Fruktoz	38,2	38,4	-
Glukoz	31,3	30,3	-
Sakkaroz	1,3	1,3	-
Maltoz[1]	7,3	7,3	-
Yüksek şekerler	1,5	1,4	-
Serbest asit Glukonik	0,43	0,43	-
Toplam asit Glukonik	0,57	0,50	0,57
Kül	0,17	0,169	0,17
Azot	0,041	0,041	
Protein (Nx6.25)			0,26
pH	3,91	3,91	-
Diastaz Sayısı[2]	20,8	20,8	-

[1]: İndirgen disakkaritler maltoz olarak hesaplanmıştır.

[2]:Diastaz sayısı 1 g bal içindeki enzimin 40°C'de hidrolize edebildiği %1 nişasta çözeltisinin ml olarak miktarıdır (AOAC, 1998).

2.1.4. Balın Fizikokimyasal Özellikleri

Balın önemli bileşenlerinden biri sudur. Arı tarafından nektarın olgunlaştırılması sırsındaki hava şartları, nektardaki nem miktarı, nektarın salgılanma hızı ve koloni büyüklüğü gibi olgunlaşma üzerinde etkili olan faktörler, baldaki nem miktarı üzerinde de etkili olmaktadır. Sıcak ve kuru iklim bölgelerinden elde edilen

ballardaki nem miktarı %16-19 arasında değişmektedir. Serin ve bol yağışlı alanlardan elde edilen ballarda ise %17-20 arasında değişmektedir (Ötleş, 1995). Su içeriği balın raf ömrünü belirleyen önemli kalite parametresidir. Balın nem miktarı, su aktivitesini de etkilediği için depolama sırasında fermentasyon gibi istenmeyen özelliklerin oluşmasında en önemli faktördür (Rüegg ve Blane, 1981). Su içeriği balın, viskozite ve kristalizasyon gibi fiziksel özelliklerini etkilemektedir (Bogdanov ve diğ., 2004). Balın nem içeriğindeki artış ayrıca camsı geçiş sıcaklığını etkilemektedir. Kantor ve diğ. (1999) %100, 98, 90, 80 bal içeren seyreltilmiş balların T_g değerinin su oranı arttıkça düştüğünü bulmuşlardır. Balın kırılma indisi ve nem miktarı arasında bir ilişki vardır. Bu ilişkiden faydalanılarak nem tayini refraktometrik metot ile yapılabilmektedir. Balın kırılma indisi ile nem miktarı arasındaki ilişkiyi gösteren tablolar bulunmaktadır. Viskozite, balın kompozisyonuna özellikle nem içeriğine bağlıdır. Sıcaklık ve nem içeriği arttıkça viskozite azalmaktadır (Junzheng ve diğ., 1998; Lazaridou ve diğ., 2003; Recondo ve diğ., 2006; Yanniotis ve diğ., 2006).

Bal, beyazdan açık sarı, koyu kahverengi, hatta siyaha kadar uzanan farklı renklere sahip olabilmektedir (Bogdanov ve diğ., 2004). Balın rengi, mineral ve yapısındaki polifenollerden kaynaklanmaktadır (Gonzales ve diğ., 1999). Bal rengi balın tüketici tarafından kabul edilebilirliğini etkileyen bir faktördür(Gonzales ve diğ., 1999). Balın rengi ile içerdiği kül miktarı arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır.Genelde koyu renkli ballar, açık renkli ballardan daha çok mineral içermektedir (Şahinler ve diğ., 2001). Mineral maddeler arasında, potasyum, klor, kükürt, kalsiyum, sodyum, fosfor, magnezyum, demir, manganez ve bakır gibi mineral maddeler bulunmaktadır (Şahinler ve .diğ., 2001).

Bal, yapısında bulunan farklı organik asitlerin ve asidik tuzların etkisiyle, zayıf asidik özellik gösterirler. Balın pH'sı 3,5–5,5 arasındadır (Bogdanov ve diğ., 2004). Balın pH değeri ekstraksiyon ve depolama süresince tekstür, dayanıklılık ve raf ömrünü etkilemektedir (Terrab ve .diğ., 2003). Balda bulunan organik asitler, balın lezzetine etki etmekte ve balı mikroorganizmalara karşı dayanıklı hale getirmektedir. Balda bulunan en önemli asit, glukozun parçalanması sonucu oluşan glukonik asittir (Bogdanov ve diğ., 2004).

Balın yapısında bulunan enzimler diastaz (amilaz), invertazlar, glukoz oksidaz ve katalazdır. Diastaz, olgunlaşma sırasında arı tarafından nektara ilave edilir. Ayrıca

depolama sırasında miktarı değişmektedir. Diastaz analizi kolay yapıldığı için balın ısıl işleme tabi tutulduğunun tesbitinde kullanılmaktadır. İnvertaz, nektarda bulunan sakkarozu invert şekere (glukoz ve fruktoz) çeviren bir enzimdir (Ötleş, 1995).

Glukoz oksidaz, glukozu okside ederek glukonolaktona ve glukonik aside çevirerek asitliği arttırmakta bu şekilde balın fermentasyona karşı daha iyi korunmasını sağlamaktadır (Ötleş, 1995).

Balın kuru maddesinin yaklaşık % 95'ini karbonhidratlar oluşturmaktadır.Tablo 2.3'te belirtildiği gibi balda en fazla bulunan monosakkaritler, glukoz ve fruktozdur. Bu iki şeker, bal karbonhidratlarının % 85-95'ini kapsarlar. Disakkaritlerden en önemlileri ise sakkaroz, laktoz ve maltozdur . Balda ayrıca raffinoz, erloz, melezitoz, maltotrioz gibi trisakkaritler de bulunmaktadır (Lazaridou ve diğ., 2003).

Tablo 2.3: Balın farklı kaynaklara göre şeker kompozisyonu.

Karbonhidratlar (%)	White (1962)	Lazaridou ve diğ.(2003)	Yanniotis ve diğ. (2006)
Fruktoz	38,2	22,1-41,3	29,9-44,1
Glukoz	31,3	13,5-36,3	20,1-34,9
Sakkaroz	1,3	0,2-2,7	0,3-0,8
Maltoz	7,3	1,9-6,7	2,7-4,0
Melezitoz	-	9,1-14,4	0,3
Raffinoz	-	0,2-1,0	1,7

2.2. Balda Kalite Değişimleri

Balda görülen kalite değişimleri, balın kristallenmesi, fermentasyonu ve renginin esmerleşmesidir.

2.2.1. Kristallenme

Balın yapısı, ticarette önemli bir kalite kriteridir, kristaller, ağızda dil üstünde hissedilmeyecek büyüklükte olmalıdır (Ötleş, 1995). Bal, içerdiği glukoz miktarına

göre doygun bir çözeltidir ve bu nedenle α-D-glukoz monohidrat fromunda zamanla kristallenmektedir (Lupano (1997). Balın kristallenme eğilimi ve süresi, içerdiği şeker bileşimine, nem içeriğine ve sıcaklığa bağlıdır. Isıtılmamış bir bal, genellikle doğal olarak içerdiği kristallerin sayısına bağlı olarak ince tanelidir. Isıtma ile kristaller erimektedir (Lupano (1997). Kristal oluşumunun çeşitli dezavantajları vardır. İşleme ve taşımada sıkıntılar yaşanmakta özellikle dozajlama, doldurma ve ambalajlama makinaları optimum çalıştırılamamakta ve ürün yapısı değişmektedir (Assıl ve diğ., 1991). Tüketiciler kristallenmiş balı tercih etmemektedir. Ayrıca kristalizasyon sonucu orijinal bala göre su aktivitesi artmakta ve mikrobiyal bozulmada artış gözlenmektedir (Tosi ve diğ., 2002).

2.2.2. Fermentasyon

Bal, işlenmesi sırasında genel olarak mezofilik ve aerobik bakteriler, küf ve mayalar tarafından kontamine olmaktadır. Balda ozmofilik floranın glukozu kullanmaları sonucu karbondioksit, etil alkol ve oksijen varlığında asetik asit oluşmaktadır. Depolama sırasında ortaya çıkan bal fermentasyonu, kristallenmeden sonra açığa çıkan suyun yüzey tabakaları tarafından absorbe edilmesi ile genellikle kristallenmeden sonra meydana gelmektedir (Ötleş, 1995).

Baldaki fermentasyona baldaki su oranı (bal su oranı %17 olduğunda kısmen, %19'un üstünde ise tamamen fermente olabilmektedir), bünyesindeki mayaların türü, sayısı ve depolama sıcaklığı etki etmektedir (Ötleş, 1995). Soğukta (<10°C) depolama ve ısıl işlem ile fermentasyon önlemektedir (Ötleş, 1995; Tosi ve diğ., 2002).

2.2.3. Esmerleşme Reaksiyonu

Balda renk değişimi Maillard reaksiyonu ve fenolik maddelerin reaksiyonları sonucunda meydana gelmektedir (Gonzales ve diğ., 1999). Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu diğer adıyla Maillard reaksiyonu, üretim sırasında uygulanan ısıl işlem sonucu meydana geldiği gibi, depolama sırasında da sıcaklığa bağlı olarak yavaş bir hızla devam etmektedir. Maillard reaksiyonu, indirgen şekerler ile aminler arasında gelişen bir reaksiyonlar zinciridir. Balda bulunan indirgen şeker kaynakları esas olarak glukoz ve fruktozdur. Reaksiyonun ilk aşamasında, amino grubu, şekerin indirgen hidroksil grubuna bağlanarak N-glikozitler oluşmaktadır. Bunu izleyerek gelişen karmaşık polikondensasyon reaksiyonları sonucunda, esmer renkli

melanoidin adı verilen bileşikler oluşmaktadır. HMF, Maillard reaksiyonunun ara ürünlerinden birisidir (Tosi ve diğ., 2002). Isıl işlemin derecesi, Maillard reaksiyonunun belli aşamalarında oluşan HMF oluşumu nedeniyle kontrol altında tutulmalıdır (Bozkurt ve diğ., 1996; Altuğ, 2002). Balda bulunmasına izin verilen maksimum HMF konsantrasyonu Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre 40 mg/kg (Anonim, 2000) ve Dünya Kodeks Komitesi'ne göre 80 mg/kg (Anonim, 2000) olarak bildirilmektedir. Ancak Avrupa Birliği balda bulunabilecek HMF konsantrasyonuna 40 mg/kg sınırlama getirmiştir. Bunun nedeni 80 mg/kg değerinin tropikal iklime sahip bölge veya ülkelerdeki ballardan elde edilmiş olmasıdır (Zappala ve diğ., 2004).

Balda oluşabilecek enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarından birisi de şeker-karamelizasyonudur. Karamelizasyon, yüksek sıcaklıklarda (>80°C) yürütülen ısıl işlem sırasında meydana gelmektedir (Labuza ve diğ., 1992). Balın depolama sıcaklık aralığı, balda daha çok Maillard reaksiyonunun gerçekleşebileceğini mümkün kılmaktadır.

2.2.3.1. Balda Esmerleşme Reaksiyonuna Etki Eden Faktörler

Balda esmerleşme reaksiyonuna etki eden faktörler balın nem içeriği, bileşimde bulunan Maillard reaksiyonuna giren maddelerin konsantrasyonları (glukoz konsantrasyonu, azot ve serbest aminoasit konsantrasyonu), balın bileşiminde bulunan glukoz/fruktoz mol oranı, fenolik maddelerin türleri ve konsantrasyonu, işleme ve depolama sırasındaki sıcaklık ve süredir (Gonzales ve diğ., 1999). Ayrıca su aktivitesi de esmerleşme reaksiyonunun hızına etki etmektedir (Davies ve Labuza, 1994).

a. Sıcaklık

Bal, işleme ve ambalajlamayı kolaylaştırmak için viskoziteyi azaltmak, kristal oluşumunu önlemek ve balın işlenmesi sırasında bulaşan mikroorganizmaları yok ederek fermentasyonu önlemek için ısıl işleme tabi tutulmaktadır (Fallico ve diğ., 2003).

Ancak, bala işleme sırasında uygulanan ısıl işlemin olumsuz etkisi bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada bal örnekleri, 50 ve 60^{o}C'de 12 gün ve 70 ^{o}C'de 10 gün depolanarak esmerleşme reaksiyonu sonucu oluşan kahverengi pigment oluşumunun kinetiği araştırılmıştır. Depolama sıcaklığı ve süresi arttıkça kahverengi pigment

oluşumunun arttığı bulunmuştur (Türkmen ve diğ., 2004). Balda depolama sıcaklığı ve süresinin artması sonucu ayrıca balın tat ve aroması değişmekte, vitamin ve diğer besin maddeleri zarar görmekte, diastaz aktivitesi düşmekte ve HMF konsantrasyonu artmaktadır (Tosi ve diğ., 2002).

HMF miktarı ve diastaz aktivitesi, balın tazeliği ve aşırı ısıtılmasının bir göstergesi olarak kullanılan parametrelerdir. Taze balda HMF bulunmamaktadır. Ancak balın pH'sı ve depolama sıcaklığına bağlı olarak depolama boyunca artmaktadır. Taze ballarda genelde 10 mg/kg seviyesinde bulunan HMF seviyesi depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak yüksek seviyelere çıkmaktadır (Tosi ve diğ., 2004).

Balda esmerleşme reaksiyonunun önlenebilmesi veya en düşük seviyede tutulması için ısıl işlemin sıcaklık ve süresi olabildiğince düşük tutulmalıdır. Balda esmerleşme reaksiyonu sonucu kalite kaybını en alt seviyede tutacak pastörizasyon kriterleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Gonnet ve diğ. (1964) balın optimum pastörizasyon şartları olarak 78 ^{o}C'de 6-7 dakika ısıl işleme tabi tutulmasını önermişlerdir. Tosi ve diğ. (2004) ise , HMF artışının maksimum kabul edilebilir değeri ve diastaz sayısının minimuma düştüğü ısıl işlem derecesini araştırmışlardır. Bal 80-140ºC arasında çok kısa zaman aralıklarında (60 s - 90 s) ısıl işleme tabi tutulduğunda HMF konsantrasyonunda ve diastaz aktivitesinde önemli bir değişme olmadığı saptanmıştır.

Fallico ve diğ. (2003), dört farklı balı 50^{o}C'de 144 saat, 70^{o}C'de 96 saat ve 100^{o}C'de 60 saat boyunca ısıl işleme tabi tuttuklarında. ısıl işlem sıcaklığı ve süresi arttıkça HMF konsantrasyonun arttığını bulmuşlardır . Tosi ve diğ. (2002), başlangıç HMF konsantrasyonu 3,9 ve 26,6 mg/kg olan iki bal örneğini 100^{o}C- 160^{o}C sıcaklık aralığında 14-60 saniye boyunca ısıl işleme tabi tutmuşlar ve başlangıç HMF konsantrasyonunun reaksiyon kinetiğini etkilemediğini, sıcaklık ve süre arttıkça HMF konsantrasyonunun arttığını saptamışlardır.

Balda pastörizasyon koşulları yanında ayrıca depolama sıcaklık ve süresinin HMF artışına etkisini inceleyen çalışmalar da yapılmıştır. Yılmaz ve Küfrevioğlu (1999), Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde üretilen 45 bal örneğini 1 yıl boyunca 20^{o}C'de depolamışlar ve HMF konsantrasyonunun depolama sonunda 3,3 mg/kg'dan 19,1 mg/kg'a kadar arttığını saptamışlardır.

b. Nem İçeriği ve Su Aktivitesi

Su içeriği balın raf ömrünü etkileyen bir parametredir. Su içeriği balın viskozite ve kristalizasyon gibi fiziksel özelliklerini etkilemektedir. Esmerleşme reaksiyonunun ilk aşamasında su gerekmektedir. Esmerleşme reaksiyonunun hızı serbest su miktarına bağlı olarak değişmektedir. Reaksiyonun en hızlı olduğu su aktivitesi aralığı 0,6-0,8'dir. Su aktivitesi 0,6'nın altında olduğunda su aktivitesi arttıkça reaksiyon hızı artmakta iken 0,8'in üstünde su aktivitesi arttıkça reaksiyon hızı azalmaktadır. Balın su aktivitesi yaklaşık olarak 0,6'dır ve esmerleşme reaksiyonu için elverişli bir koşuldadır.

c. Viskozite

Balın Newton tipi davranış gösterdiği bildirilmiştir (Sopade ve diğ., 2002). Sopade ve diğ. (2002), dokuz farklı balın 2-40^{o}C aralığında viskozitenin sıcaklık ilişkisinin ifade edilmesinde WLF (Williams-Landel-Ferry), Arrhenius, VTF (Vogel-Taumman-Fulcher) ve Power-law modellerinden WLF Modelinin uygun olduğunu saptamışlardır..

d. Balın Bileşimi

Esmerleşme reaksiyonu, reaksiyona giren bileşiklerin türü ve konsantrasyonuna da bağlıdır. Balda esmerleşme reaksiyonuna giren indirgen şekerler ksiloz, riboz, glukoz ve fruktozdur. Esmerleşme reaksiyonunda, pentoz şekerlerinin (riboz), heksozlardan daha reaktif olduğu ve fruktozun glukozdan daha reaktif olduğu bildirilmiştir (Davies ve Labuza, 1994). Kroh ve Westphal (1989) bazik aminoasitlerin, nötral veya asidik aminoasitlerden daha reaktif olduğunu saptamışlardır.

Gonzales ve diğ. (1999), bal 37^{o}C'de 90 gün boyunca depolandığında esmerleşme reaksiyonuna etki eden faktörleri saptamaya çalışmışlardır. Balın başlangıç renginin ve polifenollerin renk değişimi üzerinde etkili olduğunu saptamışlardır. Esmerleşmenin en yüksek olduğu balın, başlangıç renk değeri en yüksek olan bal olduğunu bildirmişlerdir. Buera ve diğ. (1992) ise asidik pH değerlerinde (3,8-4,5), esmerleşme reaksiyonuna fruktozun glukozdan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

e. Balın pH'sı ve Toplam Asitliği

Fallico ve diğ. (2003), 50^{o}C'de 144 saat, 70^{o}C'de 96 saat ve 100^{o}C'de 60 saat ısıl işleme tabi tutulan ballarda 50°C ve altındaki sıcaklıklarda HMF konsantrasyonunun

balın pH'sı ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. pH değeri yüksek olan (pH>4) balda aynı ısıl işlem parametrelerinde HMF artışı yavaş olmaktadır. Bu sıcaklık aralığında sadece sıcaklık ve süre değil toplam asitlik ve pH, HMF oluşumunda etkili bulunmuştur. Fallico ve diğ. (2003), 100^{o}C gibi yüksek sıcaklıkda HMF oluşumunda asıl etkenin balın bileşiminden çok ısıl işlemin süresi olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle pH değeri 4'den düşük balların HMF limitleri 40 mg/kg iken pH değeri 4'den yüksek olan balların HMF konsantrasyon limitleri daha düşük (20-25 mg/kg) olması gerektiği bildirilmiştir.

f. Camsı Geçiş Sıcaklığı

Amorf bir katıda kauçuğumsu ve viskoz halden camsı ve sert hale geçişin görüldüğü sıcaklık camsılığa geçiş sıcaklığı (T_g) olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda amorf bileşen içeren düşük nemli gıdaların depolanması sırasındaki dayanıklılığın belirlenmesinde camsılığa geçiş sıcaklığı kullanılmaktadır. Katı bir madde, sıcaklık ve nem artışı ile camsı halden kauçuğumsu hale geçebilmektedir. Genel olarak T_g, nem içeriği arttıkça düşer. Camsı halde molekül hareketliliği azaldığı için reaksiyonların hızı ihmal edilebilecek seviyeye düşer ve dolayısıyla dayanıklılık artar (Kılıç ve Evranuz, 2006).

Camsı hal oluşturabilen bir bileşen içeren herhangi bir gıda için maksimum dayanıklılık T_g'nın altındaki sıcaklıklarda depolama ile sağlanabilir. Depolama sıcaklığı T_g'nın üzerindeki sıcaklıklarda ise, dayanıklılık depolama sıcaklığı ile T_g arasındaki fark arttıkça azalır. Bal gibi karbohidrat içeriği yüksek ve nem oranı düşük olan bir gıda maddesi için dayanıklılık belirlenirken camsılığa geçiş sıcaklığının önemi olabilir .

Gıdalarda kimyasal reaksiyonların sıcaklık bağımlılığı yaygın olarak Arrhenius eşitliği (Eşitlik 2.1) ile modellenmektedir. Arrhenius eşitliği hal değişimlerini içermez. Burada k hız sabiti, k_o başlangıç hız sabiti, Ea aktivasyon enerjisi (kcal/mol), T sıcaklık (K) ve R evrensel gaz sabitidir (1,987 cal/mol.K).

$$k = k_0 e^{-\frac{Ea}{RT}} \qquad (2.1)$$

Camsılığa geçişin söz konusu olduğu koşullarda reaksiyonların sıcaklık bağımlılığını belirlenmesinde Williams-Landel-Ferry (WLF) (Eşitlik 2.2) eşitliği kullanılmaktadır. WLF eşitliği T_g'nı parametre olarak içermektedir. Burada k hız sabiti, k_o başlangıç

hız sabiti, T sıcaklık (K), Tg camsı geçiş sıcaklığı(K), C_1 ve C_2 evrensel sabit sayılardır.

$$\log\left(\frac{k}{k_g}\right) = -\frac{C1(T - T_g)}{C2 + (T - T_g)} \qquad (2.2)$$

Genel olarak, Arrhenius eşitliği camsılığa geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda ve T_g'nın 100°C üzerindeki sıcaklıklarda uygulanırken, WLF eşitliği T_g-T_g+ 100°C sıcaklık aralığında kullanılmaktadır (Roos, 1995; Sopade ve diğ., 2002).

Balın T_g sıcaklığı -40--50°C aralığında bildirilmektedir (Kantor ve diğ., 1999; Lazaridou ve diğ., 2003). Balın işlendiği ve depolandığı sıcaklıklar balın T_g-T_g+100°C sıcaklık aralığındadır. Bu nedenle kinetik çalışmalarında T_g göz önünde bulundurulmalı ve WLF modeli de kullanılmalıdır. Bugüne kadar balda esmerleşme reaksiyonunun incelendiği çalışmalarda camsılığa geçiş sıcaklığı ve WLF eşitliği kullanılmamıştır. Ancak balın viskozitesi üzerine sıcaklığın etkisinin incelendiği bazı çalışmalarda WLF eşitliği , Arrhenius eşitliği yanında kullanılmıştır (Sopade ve diğ., 2002; Lazaridou ve diğ., 2003 ; Recondo ve diğ., 2006).

Literatürde bugüne kadar yapılan balda esmerleşme reaksiyonunun incelendiği çalışmalarda reaksiyon hızının sıcaklık ile ilişkisini belirlemek için Arrhenius eşitliği kullanılmıştır. Depolama sıcaklığında kauçuğumsu halde bulunan balda reaksiyon hızının sıcaklık ile ilişkilendirilmesinde, Tg-Tg+100°C sıcaklık aralığında, WLF Eşitliğinin uygun olup olmadığı bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı, balın depolanması sırasında esmerleşme reaksiyonunun kinetiğinin ve sıcaklık bağımlılığının farklı modeller kullanılarak modellenmesidir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada piyasadan temin edilen süzme çiçek balı materyal olarak kullanılmıştır. Bal, 5ºC sıcaklıkta buzdolabında depolanmıştır ve dolum tarihinden yaklaşık 1 ay sonra analizlere başlanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Bal Örneklerinin Hazırlanması

Piyasadan temin edilen parti numarası aynı olan on adet 850 gram çiçek ballarından homojen bir karışım elde edilmiştir. Buzdolabında depolanan balda viskozite ve su aktivitesini etkileyebilecek var olabilecek α-D-glukoz kristallerinin çözünmesi, örneklerin homojenize edilmesi ve örneklerin hazırlanması sırasında akışkanlığın sağlanması için ısıl işlem uygulanmıştır. Ballar, su banyosunda sıcaklıkları 55^{o}C'ye ulaştıktan sonra 10 dakika bekletilerek, meş numarası 150 olan (göz açıklığı 150 mikron) elekten süzülüp, karıştırılacak kabın çeperlerinden akıtılarak hava kabarcığı oluşturmayacak şekilde aktarılmıştır ve su banyosunda 20^{o}C'ye soğutulmuştur (Tosi ve diğ., 2004 ; Sopade ve diğ., 2002). Ağzı sıkıca kapatılan kap oda sıcaklığında 4 saat bekletilerek aktarma sırasında az da olsa oluşan hava kabarcıklarının kendiliğinden kaybolması sağlanmıştır.Balın neminin ölçülmesi için kabın 5 farklı yerinden bal örnekleri alınarak ortalama nem değeri bulunmuştur. Orijinal baldaki ortalama nem miktarı %16 olarak bulunmuştur.

İkinci aşamada balın camsı geçiş sıcaklığının değiştirilmesi amacıyla nem içeriği değiştirilmiştir. Bal neminin %15, %18 ve %22 olmak üzere üç farklı değere ayarlanması için steril kavanozlara aktarılıp nemi tekrar ölçülmüştür. Nem değeri %16 olan orijinal baldan %18 ve %22 neme sahip bal elde etmek için saf su ilave edilmiştir. Steril boş kavanozlara önce gerekli miktarda saf su konulup üzerine kavanoz çeperlerinden olacak şekilde bal örneği aktarılmış ve kavanozun ağzı sıkıca kapatılmıştır. Nem oranı %15 olan bal elde etmek için orijinal baldan su

uzaklaştırılması gerekmektedir. Suyun ısıl işlem uygulanarak buharlaştırılıp uzaklaştırılması HMF artışına neden olacağı için uygulanmamıştır. Bunun yerine bal yüksekliği 1 cm olacak şekilde çapı 20 cm olan bir kaba aktarılıp 20°C ortam sıcaklığında, vakumlu desikatöre yerleştirilmiştir. Desikatöre vakum uygulanarak basınç 80-90 mmHg'ya düşürülmüş bal içindeki suyun buharlaşması sağlanmıştır. Baldan buharlaşan su vakum ile uzaklaştırılmış ayrıca desikatör içindeki silikajeller yardımı ile balın tekrar nem alması önlenmiştir. Balın nemi belli aralıklarla kontrol edilerek %15'e indirilmiştir. Nem ayarı yapılan ballar ağzı sıkıca kapanabilen steril kavanozlara aktarılmıştır.

Orijinal bal ve nemleri ayarlanan bal örnekleri, kavanozların ağzı sıkıca kapatılıp buzdolabında 5ºC'de depolanmışlardır (Assıl ve diğ., 1991; Anupama ve diğ., 2002). Bal örnekleri buzdolabından çıkarıldıktan sonra oluşabilecek kristalleri gidermek için 55^{o}C'de su banyosunda 10 dakika bekletildikten sonra sıcak iken süzülüp 20ºC'ye soğutulmuş ve sonraki işlemler ve analizler bu işlemden sonra yapılmıştır. Bu işlem sırasında meydana gelebilecek esmerleşme reaksiyonunun her örnekte aynı düzeyde meydana gelmesi için tüm örneklerin aynı şekilde muamele edilmesine dikkat edilmiştir.. Orjinal balın nem, pH, asitlik, HMF, şeker, mineral madde ve diastaz aktivitesi tayinleri yapılmıştır.

Üçüncü aşamada nem değeri %15, %18 ve %22 olan bal örnekleri yeterli miktarda deney tüplerine aktarılmış ve 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55 ve 60±1ºC sıcaklıklarda 10 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan bal örneklerinden 24 saatte bir örnek alınarak HMF ve renk analizi yapılmıştır. Farklı neme sahip bal örneklerinin su aktiviteleri ve farklı sıcaklıklardaki viskozite değerleri de ölçülmüştür. Denemeler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür.

3.2.2. Nem tayini ve bileşimin belirlenmesi

Bal örneklerinin 20^{o}C'de dijital refraktometre ile (Mettler Toledo RE 40, İsviçre) kırılma indisi ölçülmüş ve bal için bildirilen tablo (Ek-A) kullanılarak kırılma indisi değerine göre nem içeriği bulunmuştur (AOAC, 1990).

Balda asitlik titrimetrik metot ile saptanmıştır (AOAC, 1990). Balda sukroz ve invert şeker tayini, Lane-Eynon metodu ile TS 3036 bal standardına göre belirlenmiştir (TSE, 2002). Orijinal bal örneğinde diastaz sayısı tayini TS 3036 bal standardına göre belirlenmiştir (TSE, 2002).

3.2.3. HMF tayini

Bal örneklerinde HMF konsantrasyonunun ölçülmesinde White Metodu uygulanmıştır (AOAC, 1990). Bal örnekleri (5 g) saf su ile ısıtılmaksızın çözüldükten sonra karez çözeltisi ilave edilip süzülerek berrak çözelti elde edilmiştir. Elde edilen berrak çözeltinin absorbansı, sodyum bisülfit ilave edilen referans çözeltiye karşı UV/VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-160 A, Japonya) kullanılarak 284 ve 336 nm'de okunmuştur. $(A_{284}-A_{336})*14.97*5*10$ formülünden HMF değeri mg/kg olarak hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

3.2.4. Camsı geçiş sıcaklığı tayini

Nem içeriği %15, %18 ve %22 olan balların camsı geçiş sıcakları Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (Perkin Elmer DSC 6, A.B.D.) kullanılarak ölçülmüştür. Numune analizinden önce indium ile cihaz kalibre edilmiştir. Bal örneği alüminyum kaplara 1 mg tartılıp, cihazın numune kapatma ünitesi kullanılarak alüminyum kabın kapağı hermetik olarak kapatılmıştır. Boş alüminyum kap referans olarak kullanılmıştır. Balda, homojenliği sağlamak için DSC cihazı kullanılarak 55°C'de 10 dakika ön ısıl işlem uygulanmıştır. Ön ısıl işlemden sonra bal sıvı azot kullanılarak 10°C/dakika soğutma hızı ile –100°C'ye soğutulup yine aynı hızda 200°C'ye ısıtılmıştır ve ısı akışı sıcaklığa karşı ölçülmüştür. Balda soğutma hızı 40°C/dakika seçildiğinde Tg gözlenemediği için hız 10°C/dakika seçilmiştir. Balda yapılan başka çalışmalarda da bu hız kullanılmıştır (Lupano, 1997; Kantor ve diğ.,1999; Cordella ve diğ., 2002; Lazaridou ve diğ.,2003). DSC cihazından elde edilen sıcaklığa karşı ısı akışı termogramlarında , türev grafiğindeki değişimi esas alan cihaz bilgisayarındaki program (Perkin Emler Pyris Software version 3.81) kullanılarak camsı geçiş sıcaklığı, erime sıcaklığı ve erime entalpisi belirlenmiştir.

3.2.5. Renk tayini

Renk, spektrofotometrik metot ile ölçülmüştür (X-Rite SP 78, A.B.D.). Cihazda D_{65} ışık kaynağı ve 10° standart gözlemci kullanılarak analizler yapılmıştır. Cihazın kalibrasyonu standart beyaz plaka kullanılarak yapıldıktan sonra örneğin renk ölçümü yapılmıştır. Bal örneği, renk özellikleri kuvars ile aynı olan cam petri kabına 1 cm kalınlığında konulup, numune yüzeyi üzerine, beyaz renk plaka konularak ölçüm yapılmıştır(Anupama ve diğ., 2002). Bal örneğinin konduğu petri kabı referans olarak değerlendirilmiştir. Petri kabının L^*, a* ve b* değerleri ölçülüp daha

sonra numune için ΔL^*, Δa^*, Δb^* değerleri okunmuş ve referans değerlere eklenerek bal örneğinin L^*, a* ve b* değerleri hesaplanmıştır. Böylelikle spektrofotometreden çıkan ışığın direk bal örneğine geldiği kabul edilmiştir. Ölçülen L^*, a* ve b* değerleri kullanılarak hue, kroma ve ΔE^* değerleri hesaplanmıştır (CIE, 1986).

3.2.6. Viskozite tayini

Hava kabarcıklarını azaltmak ve kristalleri gidermek için öncelikle bal örnekleri 55°C'de 10 dakika ısıtılmış ve sıcaklık ölçüm sıcaklığına düşürülmüştür (Sopade ve diğ., 2002). Farklı nem düzeyindeki bal örneklerinin farklı depolama sıcaklıklarındaki viskoziteleri 5 dakika içinde 10-100 1/s aralığında artan kayma hızlarında ve 5 dakika içinde 100-10 1/s aralığında azalan kayma hızlarında reometre (Haake Roto Visco RT-20, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.7. Su Aktivitesi tayini

Farklı nemlerdeki bal örneklerinin su aktiviteleri 55°C'de 10 dakika tutularak muhtemel α-D-glukoz kristalleri giderildikten sonra 20°C'de ölçülmüştür.

3.3. İstatistiksel Analiz

Depolanan bal örneklerinin HMF konsantrasyonlarındaki değişimin hız sabiti değerleri MS Excel programı kullanılarak doğrusal regresyon yöntemi ile bulunmuştur. HMF oluşumunun hız sabiti değerlerinin sıcaklık ile değişiminin modellenmesinde Arrhenius ve WLF eşitlikleri doğrusal formda (Eşitlik 3.1, 3.2) kullanılarak MS Excel programı ile eşitliklerin parametreleri bulunmuştur. Log-lojistik eşitliğinin verilere uygulanmasında SPSS programı kullanılarak doğrusal olmayan regresyon yöntemi kullanılmıştır.

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R}\left(\frac{1}{T}\right) \tag{3.1}$$

$$\ln\left(\frac{k}{k_g}\right)^{-1} = -\frac{1}{C1} - \frac{C2}{C1}\left(\frac{1}{T - T_g}\right) \tag{3.2}$$

Depolanan bal örneklerinin toplam renk değişimi (ΔE^*) değerlerindeki değişim MS Excel programı kullanılarak doğrusal regresyon yöntemi ile modellenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Orijinal ve Farklı Nem İçeriğine Sahip Balların Fizikokimyasal Özellikleri

Bu çalışmada öncelikle orjinal balın nem, pH, asitlik, HMF, şeker, mineral madde ve diastaz aktivitesi analizleri yapılmıştır (Tablo 4.1). Yapılan fizikokimyasal analizler sonucunda orijinal balın nem içeriği %16 ve başlangıç HMF konsantrasyonu 4,05 mg/kg bulunmuştur. Orijinal balın fizikokimyasal özelliklerinin Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) Bal Tebliğine (Anonim, 2005) uygun olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.1: Orjinal balın fizikokimyasal özellikleri

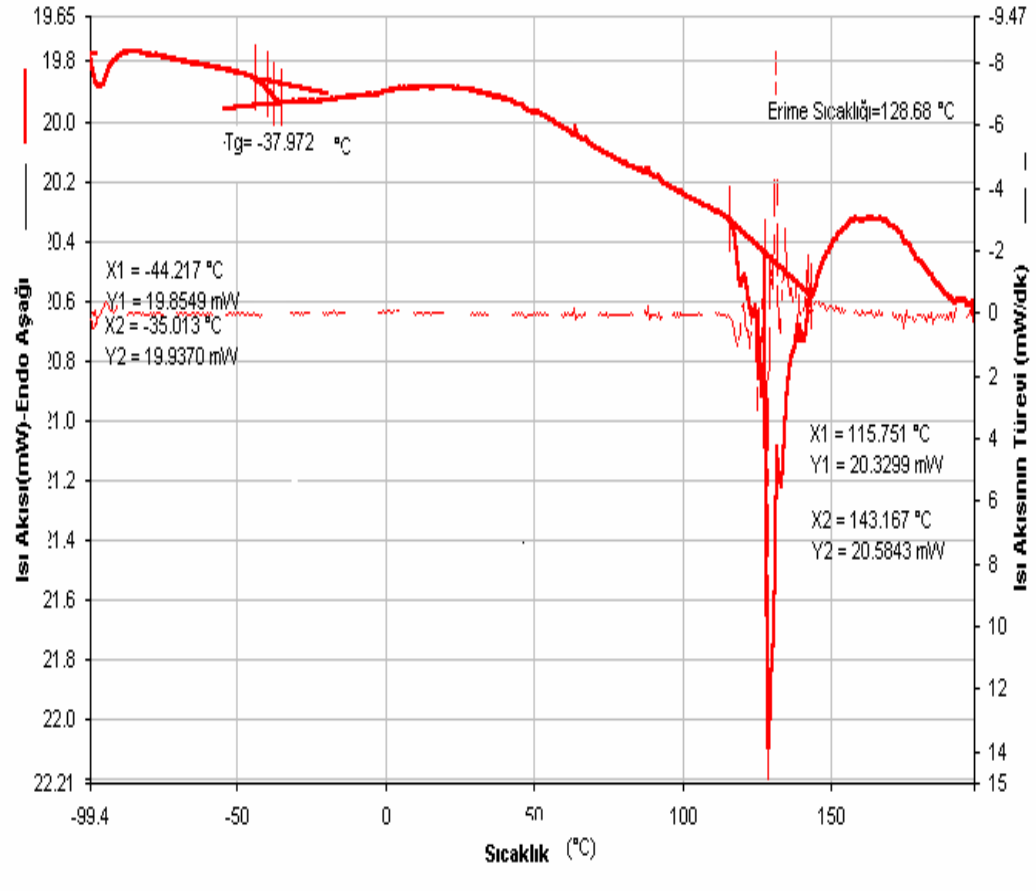
Bileşen	**Ortalama**
Nem (%)	16,0
pH	4,03
Asitlik (meq/kg)	18,99
HMF (mg/kg)	4,05
İnvert Şeker (%)	77,37
Toplam Şeker (%)	82,34
Sakkaroz (%)	4,72
Mineral Madde (%)	0,24
Diastaz Aktivitesi	10,9

4.1.1. Camsı Geçiş Sıcaklığı

Bal α-D-glukoz monohidratın aşırı doygun bir çözeltisidir ve bileşiminde fruktozun yanında diğer mono-, di-, tri- ve oligosakkaritler de bulunmaktadır. Bal bileşiminde bulunan karbonhidratlar ve su sebebiyle sıcaklığa bağlı olarak hal değişimleri göstermektedir. Baldaki hal değişimleri termal tarama yapılarak saptanmıştır. Camsılığa geçiş sıcaklığının ölçülmesinde bal örneklerine 55°C'de 10 dakika ön ısıl işlem uygulanarak bulunabilecek kristallerin erimesi ve farklı nem içeriğindeki ballarda esmerleşme reaksiyonunun aynı şartlarda oluşması amaçlanmıştır. Ön denemeler yapılarak bu ön ısıl işlemin camsılığa geçiş sıcaklığı ve erime özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Ön ısıl işlemler camsı geçiş sıcaklığını etkilememiştir. Buzdolabında depolanan örnekler ön ısıl işlem uygulanmadan veya 20°C'de 12 saat bekletildikten sonra analiz edildiklerinde erime sıcaklığının düştüğü ve erime entalpisinin yükseldiği gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre ön ısıl işlem ile depolama koşullarında oluşan kristaller çözündürülebilmekte ve örnekler arasında bundan kaynaklanan farklılık ortadan kaldırılabilmektedir.

Şekil 4.1'de %15 nem içeren balın DSC cihazından elde edilen termogramı örnek olarak verilmiştir. Termogramlarda uygulanan sıcaklık aralığında dört ayrı bölge gözlenmiştir. İlk bölgede, -50°C civarında, camsı geçiş gözlenmiştir. Balda camsı hal oluşumu su içeriğine bağlı olarak düşük sıcaklıkta meydana gelebilmektedir. Sıcaklığın yaklaşık olarak 30-110°C arasında olduğu bölgede endotermik bir değişim gözlenmiştir. Burada şeker kristallerinin çözünmesinden dolayı bu şekilde bir pik gözlenmiştir (Lupano, 1997; Cordella ve diğ., 2002). Sıcaklığın 110-150°C aralığında olduğu üçüncü bölgede ise keskin bir endotermik pik gözlenmektedir ve pik sıcaklığı yaklaşık olarak 130°C'dir. Bu sıcaklık glukozun erime sıcaklığı 146°C ve fruktozun erime sıcaklığı 103°C arasında bir değerdir (Rahman, 1995). Balda yüksek oranda glukoz ve fruktoz bulunduğundan erime sıcaklığını bu iki şeker belirlemektedir (Mora-Escobedo ve diğ., 2006). Balda daha düşük oranlarda bulunan diğer sakkaritler de bu bölgede eriyebilirler ve sakkaritlerin birbiriyle olan etkileşimleri ve beraber erimeleri tek bir endoterm pik olarak gözlenmiş olabilir (Rahman, 2004; Mora-Escobedo ve diğ., 2006). Dördüncü bölgede 150-200°C arasında bir endoterm gözlenmiştir ve bu endotermin erime sıcaklığı 188°C olan sukrozun erimesinden kaynaklandığı düşünülmüştür (Rahman, 1995). Termogramlarda suyun erime piki gözlenmemiştir. Çünkü Cordella ve diğ. (2002)

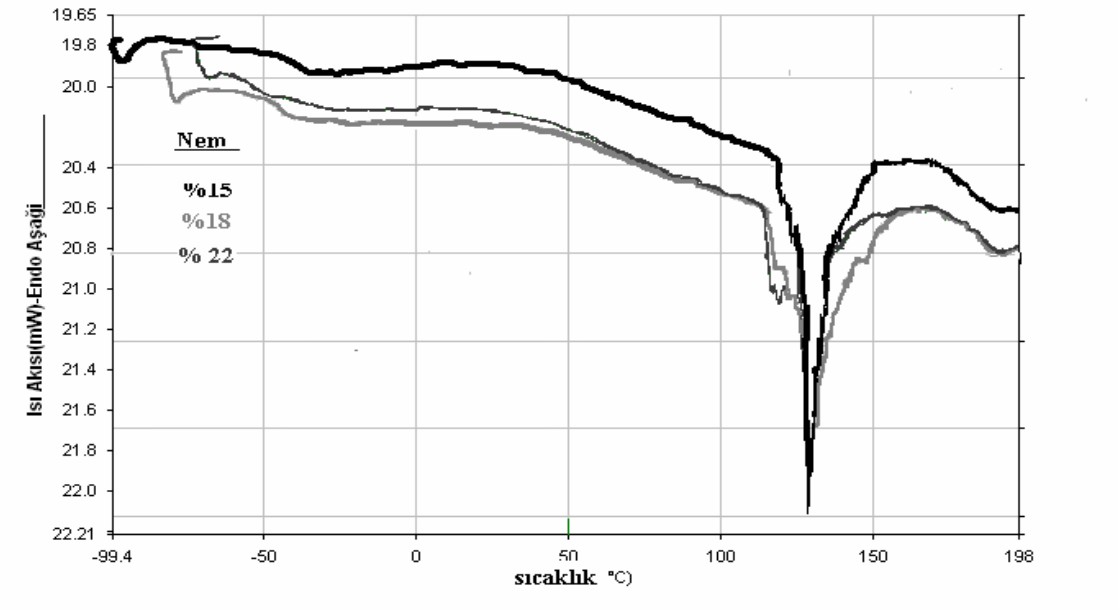
tarafından da bildirildiği gibi balda su şeker ağ örgüsü içinde bağlı durumdadır. Cordella ve diğ. (2002) de saf bal termogramlarında bu çalışmada gözlenenlere benzer termal olaylar bildirmişlerdir.



Şekil 4.1: Nem içeriği %15 olan balın DSC cihazından elde edilen termogramı

Tablo 4.2: Farklı nem içeriğindeki balların su aktivitesi, camsı geçiş sıcaklığı, erime entalpisi ve erime sıcaklığı değerleri

Nem İçeriği (%)	a_w (20°C)	Tg (°C)	ΔH (J/g)	Tm (°C)
15	0,54 ± 0,00	-39,42 ± 1,44	62,32 ± 11,36	131,02 ± 4,94
18	0,60 ± 0,01	-47,22 ± 0,51	75,79 ± 2,62	129,28 ± 2,80
22	0,67 ± 0,01	-54,05 ± 0,82	68,31 ± 13,46	131,01 ± 7,76



Şekil 4.2: Farklı nem içeren balların DSC cihazından elde edilen termogramları

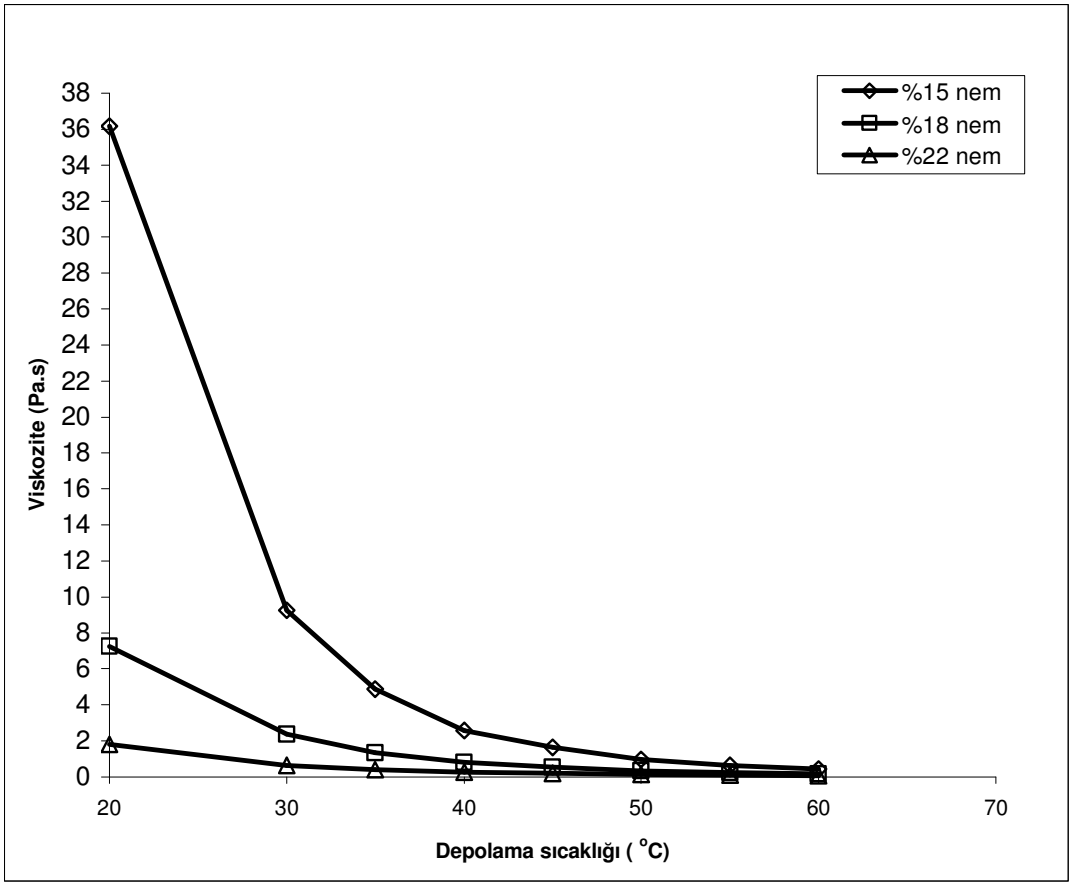
Orijinal balın nem içeriği camsı geçiş sıcaklığının değiştirilmesi amacıyla farklı değerlere ayarlanmıştır. Orijinal balın nem içeriği %16 iken nemi ayarlanan örneklerinin nem içerikleri %15, %18 ve %22 olacak şekilde ayarlanmıştır ve camsı geçiş sıcaklıkları ölçülmüştür (Tablo 4.2). Kantor ve diğ. (1999) ve Lazaridou ve diğ. (2003) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda bulunan Tg değerlerine yakın Tg değerleri elde edilmiş ve bu çalışmaların sonuçlarına paralel olarak nem içeriği ve su aktivitesi arttıkça balın Tg sıcaklığının düştüğü görülmüştür (Şekil 4.2).

Termogramda gözlenen erime pikinde pik sıcaklığı eriyen şekerin cinsi ile ve erime entalpisi ise balda bulunabilecek kristallerin miktarı ile değişmektedir. Tablo 4.2.'de de belirtildiği gibi nem değeri %18 olan balda erime entalpisi en fazla olmuştur, bu da bu örnekteki kristal oranının diğer nem değerindeki ballardakine göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Ancak örnekler arasındaki farklılık nem düzeyleri birbirine yakın olduğu için çok açık değildir.

4.1.2. Viskozite

Farklı nem içeriğindeki balların farklı depolama sıcaklıklarındaki viskoziteleri de ölçülmüştür (Şekil 4.3, Ek B, Ek C). Sıcaklık ve nem içeriği arttıkça viskozite beklendiği gibi azalmıştır.Benzer sonuçlar diğer çalışmalarda da bildirilmiştir (Junzheng ve diğ., 1998; Lazaridou ve diğ., 2003; Recondo ve diğ., 2006; Yanniotis ve diğ., 2006). İncelenen bal örneğinin %15-22 nem aralığında ve 20-60°C sıcaklık

aralığında 10-100 1/s kayma hızı aralığında Newton tipi bir akış davranışı sergilediği gözlenmiştir.



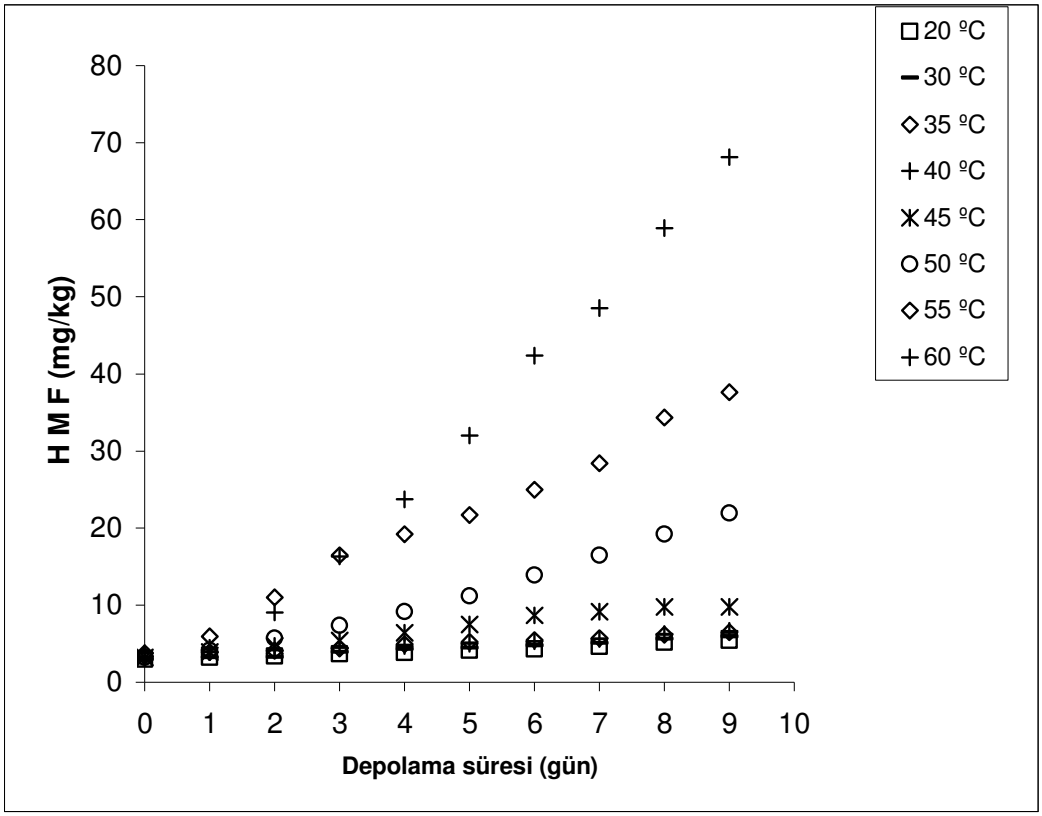
Şekil 4.3: Farklı nem içeriğindeki balların viskozitesinin sıcaklık ile değişimi

4.2. Esmerleşme Reaksiyonu Kinetiğinin Belirlenmesi

Balda depolama sırasında esmerleşme reaksiyonunun kinetiğinin belirlenmesinde bir ara ürün olan HMF konsantrasyonu ve son ürünlerin etkisi sonucu oluşan renk değerleri kullanılmıştır. HMF oluşumu, L* ve ΔE* renk değerlerinin depolama süresindeki değişimi için hız sabiti değerleri hesaplanmış ve hız sabitinin depolama sıcaklığı ile değişimi incelenmiştir.

4.2.1. Farklı Sıcaklıklarda Depolanan Bal Örneklerindeki HMF Konsantrasyonunun Değişimi

Bal örneklerinde depolama sıcaklığı yükseldikçe HMF konsantrasyonu artmıştır (Şekil 4.4, Ek D).



Şekil 4.4: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarındaki HMF konsantrasyonunun değişimi

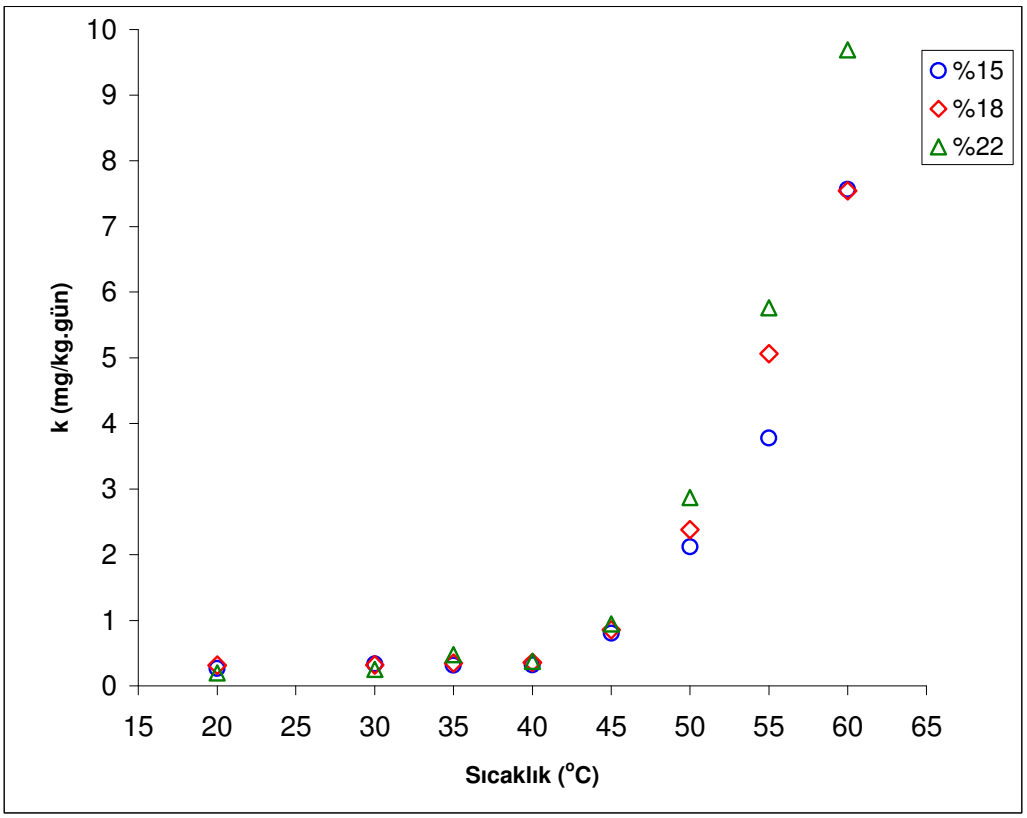
Balda esmerleşme reaksiyonunun kinetik modellemesi için belirlenmesi gereken ilk parametre reaksiyon derecesidir. Farklı nem içeriğine sahip balların farklı sıcaklıklarda depolanması sırasındaki HMF konsantrasyonu verileri incelendiğinde, tüm örneklerde konsantrasyonun zamanla değişiminin genel olarak lineer olduğu ve reaksiyonun sıfırıncı dereceden olduğu gözlenmiştir. Sıfırıncı derece reaksiyon için farklı sıcaklıklarda hız sabiti değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Farklı nem içeriğindeki balların farklı depolama sıcaklıklarında HMF oluşumu için sıfırıncı dereceden reaksiyon hız sabitleri ve lineer regresyon sonuçları

Nem İçeriği (%)	Sıcaklık (°C)	k (mg/kg.gün)	R^2
15	20	0,27 ± 0,03	0,98
15	30	0,34 ± 0,01	0,99
15	35	0,31 ± 0,02	0,99
15	40	0,32 ± 0,00	0,98
15	45	0,81 ± 0,01	0,98
15	50	2,12 ± 0,01	0,98
15	55	3,77 ± 0,10	0,99
15	60	7,56 ± 0,10	0,98
18	20	0,32 ± 0,01	0,98
18	30	0,32 ± 0,02	0,99
18	35	0,35 ± 0,02	0,96
18	40	0,36 ± 0,05	0,99
18	45	0,86 ± 0,05	0,99
18	50	2,38 ± 0,11	0,99
18	55	5,06 ± 0,07	0,97
18	60	7,54 ± 0,11	0,99
22	20	0,20 ± 0,01	0,98
22	30	0,25 ± 0,02	0,97
22	35	0,47 ± 0,07	0,97
22	40	0,37 ± 0,03	0,99
22	45	0,94 ± 0,11	0,99
22	50	2,87 ± 0,08	0,96
22	55	5,76 ± 0,18	0,99
22	60	9,69 ± 0,07	0,98

4.2.1.1. Reaksiyon Hızına Sıcaklığın Etkisi

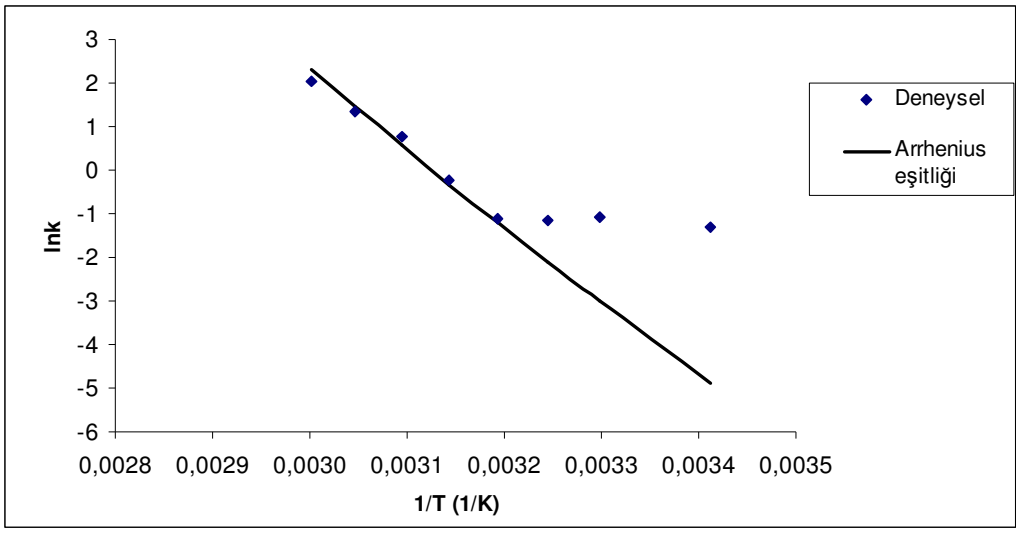
Balda esmerleşme reaksiyonuna depolama sıcaklığının etkisinin saptanması için hız sabiti ve sıcaklık ilişkisi incelenmiştir. HMF oluşumu için hesaplanan hız sabitleri ile sıcaklık arasında doğrusal olmayan bir ilişki olduğu saptanmıştır (Şekil 4.5). Hız sabitinin 40ºC'ye kadar sabit olduğu ve 40ºC'den sonra arttığı gözlenmiştir. Bal gibi viskozitesi yüksek konsantre bir çözeltide oluşan bir reaksiyon için bu şekilde bir eğilim beklenebilir (Şekil 4.3).



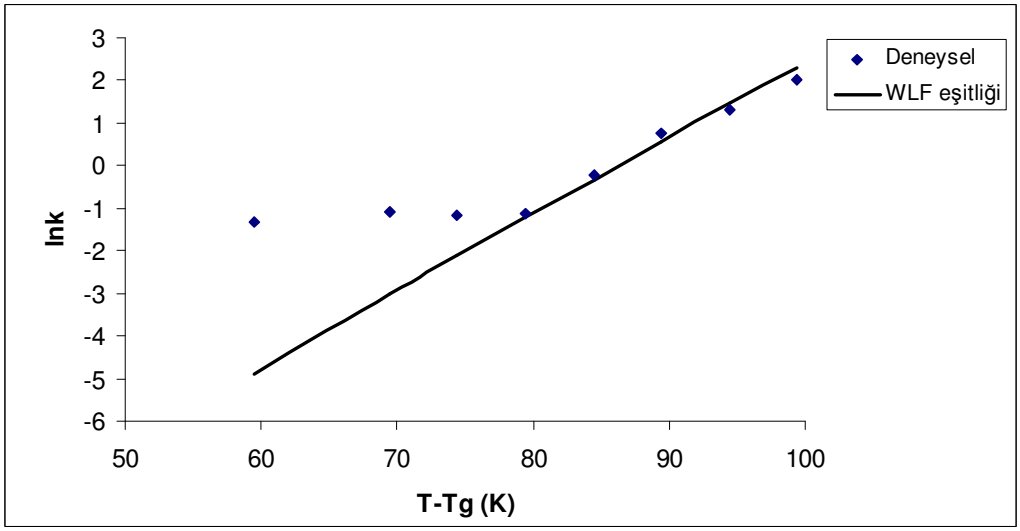
Şekil 4.5: Farklı nem içeriğindeki balların reaksiyon hız sabitlerinin sıcaklık ile değişimi

Reaksiyonların sıcaklık bağımlılığı incelenirken Arrhenius eşitliği camsılığa geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda ve T_g'nın 100°C üzerindeki sıcaklıklarda kullanılmakta, WLF eşitliğinin ise T_g - T_g+ 100°C sıcaklık aralığında geçerli olduğu bildirilmiştir (Roos, 1995; Sopade ve diğ., 2002). Çalışmada seçilen depolama sıcaklıkları balın T_g sıcaklığı ile T_g+ 100°C arasındaki sıcaklıklardır. Bu nedenle çalışılan koşullarda WLF eşitliğinin uygun olacağı düşünülmekteydi. Ancak elde edilen verilerin Arrhenius ve WLF eşitliklerine uymadıkları ve sıcaklığa göre iki bölgenin bulunduğu saptanmıştır (Şekil 4.6, 4.7). Arrhenius ve WLF modellerine göre logaritmik hız sabiti sıcaklık artışı ile doğrusal olarak değişmektedir. Çalışmada elde edilen logaritmik hız sabiti değerlerinin ise belli bir sıcaklığa kadar yaklaşık olarak sabit olduğu ve bu sıcaklıktan sonra değiştiği bulunmuştur. Bu iki model sıcaklık aralığı ikiye bölünerek verilere uygulanabilir. Ancak bu durumda veri sayısı modeli uygulamak için yeterli olmayacaktır. Hız sabiti değerlerinin sıcaklığa göre iki bölgeye ayrılmış olması reaksiyonun sıcaklığa bağlı olarak iki farklı mekanizma ile gerçekleştiğini göstermektedir. Bu nedenle hızlandırılmış raf ömrü testinde yapıldığı

gibi yüksek sıcaklıkta elde edilen değerler düşük sıcaklıktaki değerleri tahmin etmek için kullanılamaz.



Şekil 4.6: Nem içeriği %15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ile değişimi ve hız sabitinin Arrhenius eşitliğine göre tahmin edilen değişimi



Şekil 4.7: Nem içeriği %15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık (T-Tg) ile değişimi ve hız sabitinin WLF eşitliğine göre tahmin edilen değişimi

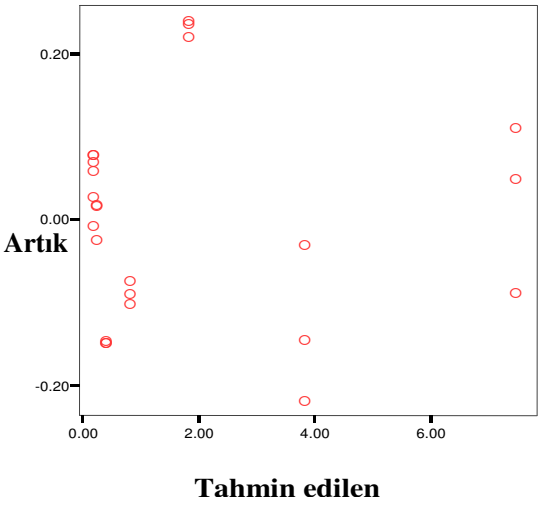
Arrhenius ve WLF modellerinin verilere uygun olmadığı saptandığından başka bir model arayışına girilmiştir. Peleg (2002) bu çalışmada hız sabitinde gözlenen eğilime sahip gıda bozulma reaksiyonlarının WLF ve Arrhenius eşitliğinden farklı eşitlik ile ifade edilebileceğini bildirmiştir ve log-lojistik eşitliğini tavsiye etmiştir (Eşitlik 4.1). Eşitlik verilere uygulanırken hız sabiti değerleri 0'dan başlamadığı ve düşük

sıcaklıklarda değerler sabit olmadığı için eşitliğe a adı verilen bir parametre daha eklenmiştir (Eşitlik 4.2). Bu eşitlikte k hız sabiti, a başlangıç hız sabiti, Tc reaksiyon hızının artmaya başladığı kritik sıcaklık, c ve m ise sabit sayılardır. M değeri 1 olduğunda kritik sıcaklıktan sonra reaksiyon hızının artışı lineer olmaktadır. Log-lojistik eşitliğine göre kritik sıcaklığa kadar hız düşüktür, kritik sıcaklıktan sonra hız sabiti artış göstermektedir (Peleg, 2002).

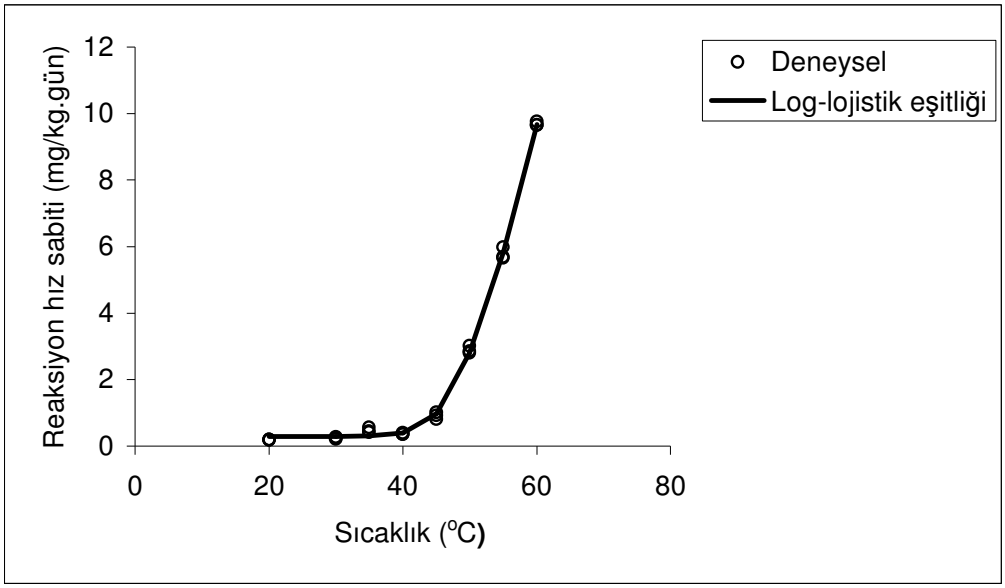
$$k = \ln\left\{1 + e^{[c(T-T_c)]}\right\}^m \qquad (4.1)$$

$$k = a + \ln\left\{1 + e^{[c(T-T_c)]}\right\}^m \qquad (4.2)$$

Log-lojistik eşitliğinin deneysel verilere uygunluğu regresyon katsayısı ve artık analizi ile saptanmıştır. Regresyon katsayısı 0,99 ve artıkların tahmin edilen değerlere karşı grafiğinde belirgin bir eğilim gözlenmediği için eşitliğin verilere uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 4.8, Ek F). Deneysel veriler ile eşitlikten tahmin edilen verilerin uyumlu olduğu da bulunmuştur (Şekil 4.9, Ek E).



Şekil 4.8: Nem içeriği %15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ile değişiminin modellenmesinde artık değerlerinin log-lojistik eşitliğinden tahmin edilen değerler ile değişimi



Şekil 4.9: Nem içeriği %15 olan balın reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ile değişimi ve log-lojistik eşitliğinden tahmin edilen değerler

Log-Lojistik eşitliği deneysel verilere uygulandığında eşitlikteki parametrelerin farklı nem içeriğine sahip ballar için farklı olduğu bulunmuştur (Tablo 4.4). Nem içeriği %18 olan bal için m değeri 1 olarak bulunmuştur, buna göre bu nem içeriğinde k sabitinin artışı Tc'den sonra doğrusaldır.

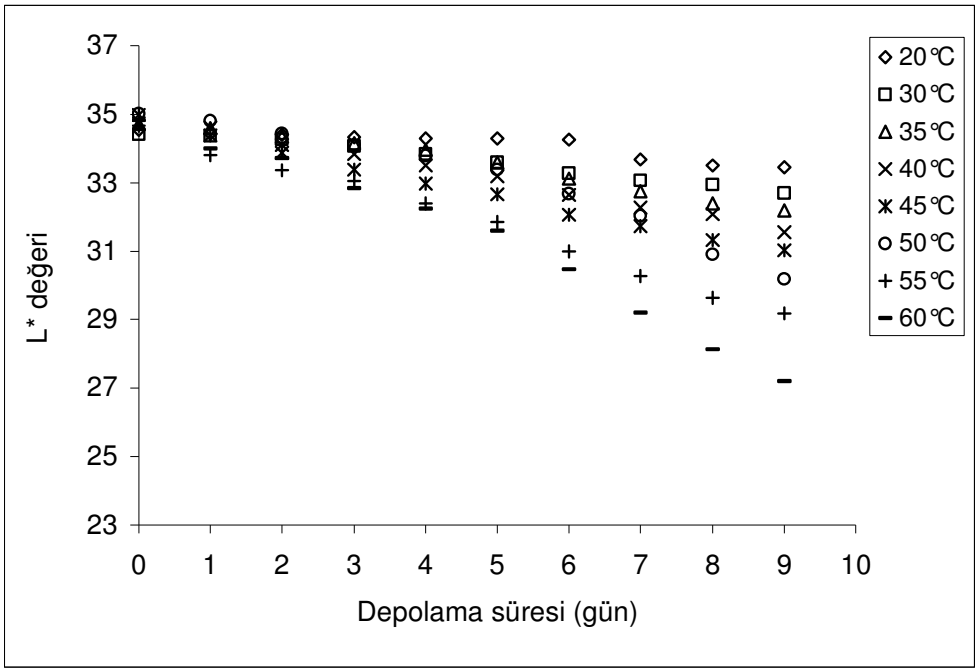
Tablo 4.4: Reaksiyon hızının sıcaklık ile değişimini ifade eden log-lojistik eşitliğinin parametreleri

Nem İçeriği (%)	a	c	Tc (°C)	m	R^2
15	0,238 ± 0,110	0,101 ± 0,074	41,9 ± 4,7	2,90 ± 1,64	0,997
18	0,339 ± 0,057	0,509 ± 0,097	46,1 ± 0,6	1,01 ± 0,08	0,999
22	0,286 ± 0,082	0,333 ± 0,078	44,6 ± 0,9	1,37 ± 0,16	0,999

4.2.2. Farklı Sıcaklıklarda Depolanan Bal Örneklerindeki Renk Değişimi

Farklı nem içeriğine ayarlanan balların L*, a*, b* değerleri, balların renk değerlerini inceleyen bazı çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermiştir (Terrab ve diğ., 2003; Terrab ve diğ., 2004). Balın L*, a*, b* değerleri bal bileşimine bağlı olarak geniş bir aralıkta değişmektedir. Bu nedenle farklı L*, a*, b* değerleri ölçen çalışmalar da bulunmaktadır (Anupama ve diğ., 2002; Lazaridou ve diğ., 2003).

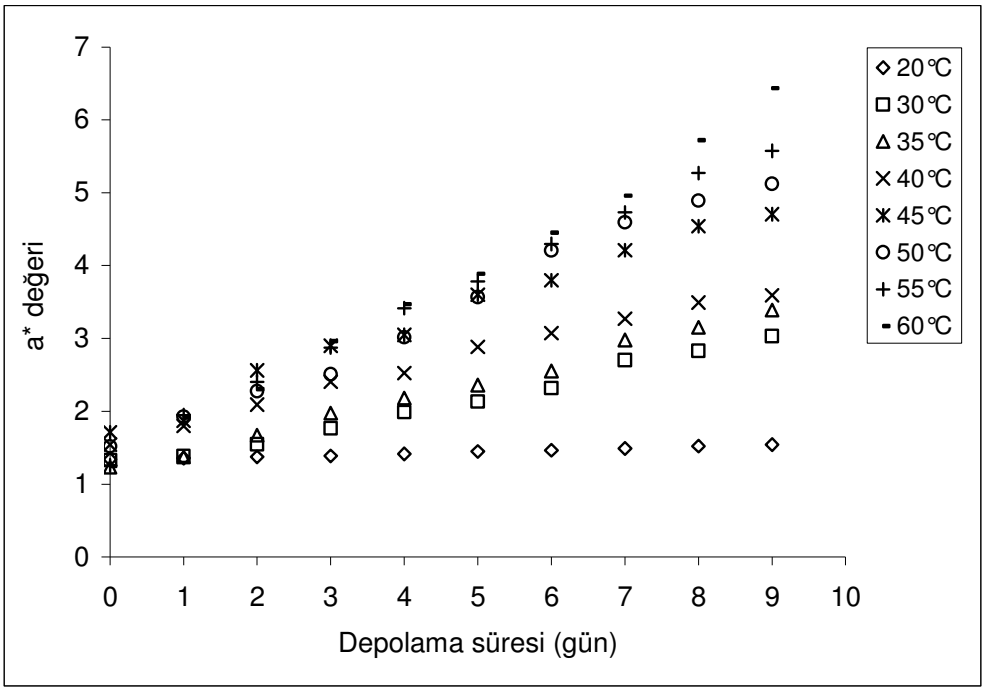
Bal örneklerinde depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça esmerleşme meydana gelmiştir. Bu da renk değerlerine yansımıştır. Bal örneklerinin L* değeri depolama süresince düşmüş bu da rengin koyulaştığını göstermiştir (Şekil 4.10). L* değerindeki azalma depolama sıcaklığı yükseldikçe daha fazla olmuştur. Ayrıca nem içeriği arttıkça L* değerindeki azalma daha fazla olmuştur (Ek G). Bu sonuca göre nem içeriği arttıkça esmerleşme reaksiyonunun hızı artmıştır. Benzer olarak, Garza ve diğ. (1999) tarafından şeftali püresinde depolama süresi arttıkça L* değerinin azaldığı bildirilmiştir.



Şekil 4.10: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında L* değerindeki değişim

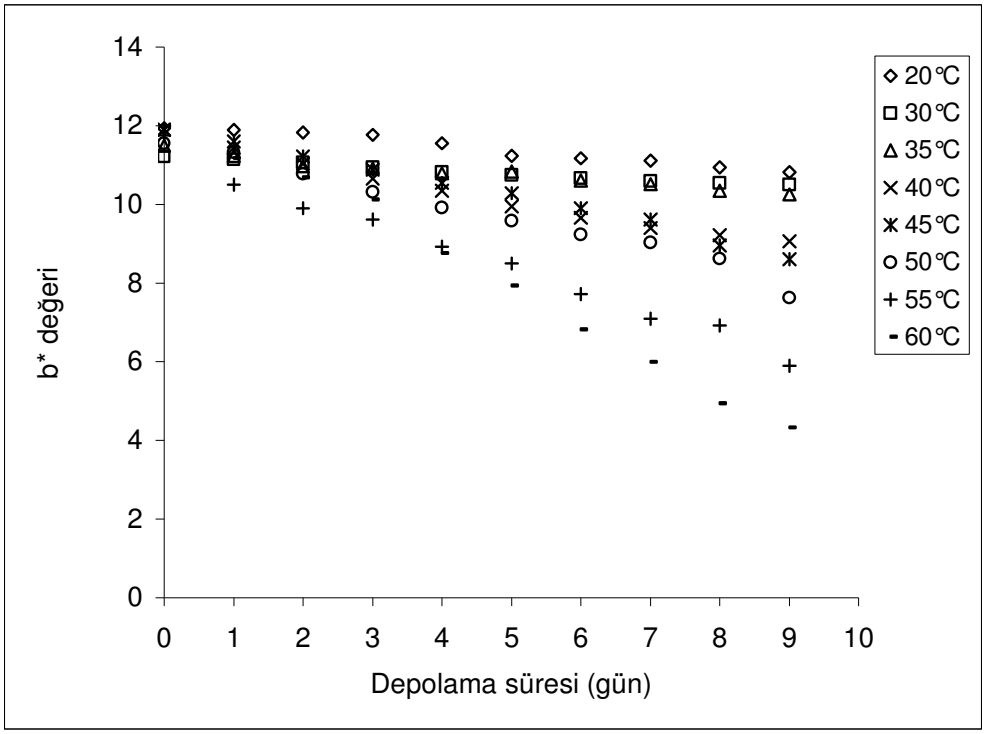
Bal örneklerinde depolama süresi arttıkça a* değeri artmıştır (Şekil 4.11). a* değeri pozitif olduğunda kırmızı, negatif olduğunda yeşil tonları ifade etmektedir. Bal örneklerindeki a* değerinin değişimi depolama süresinde balların rengindeki kırmızı

tonların arttığını göstermiştir. a* değerindeki artış sıcaklık yükseldikçe daha fazla olmuştur. Ayrıca nem içeriği arttıkça a* değerindeki artma daha yüksek olmuştur (Ek H).

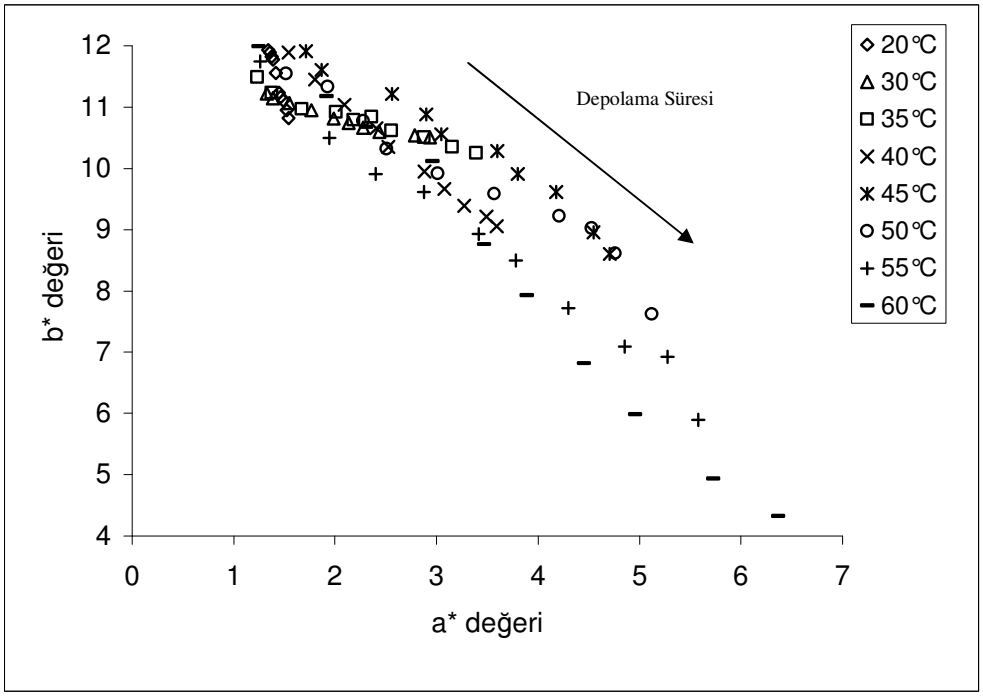


Şekil 4.11: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında a* değerindeki değişim

Bal örneklerinde depolama süresi arttıkça b* değeri de azalmıştır (Şekil 4.12). b* değeri pozitif olduğunda sarı, negatif olduğunda mavi tonları ifade etmektedir. Bal örneklerinde depolama süresinde b* değerindeki azalma balların rengindeki sarı tonların azaldığını göstermiştir. Sıcaklık yükseldikçe b* değerindeki azalma daha fazla görülmüştür. Ayrıca nem içeriği arttıkça b* değerindeki azalma daha yüksek olmuştur (Ek I). Ayrıca depolama süresinde b* ve a* değerlerinin değişimine bakıldığında sarı renkten kırmızı renge bir geçiş olduğu ve sıcaklık arttıkça bu geçişin daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.13, Ek J). Benzer sonuçlar Garza ve diğ. (1999) tarafından da şeftali püresi için bildirilmiştir.

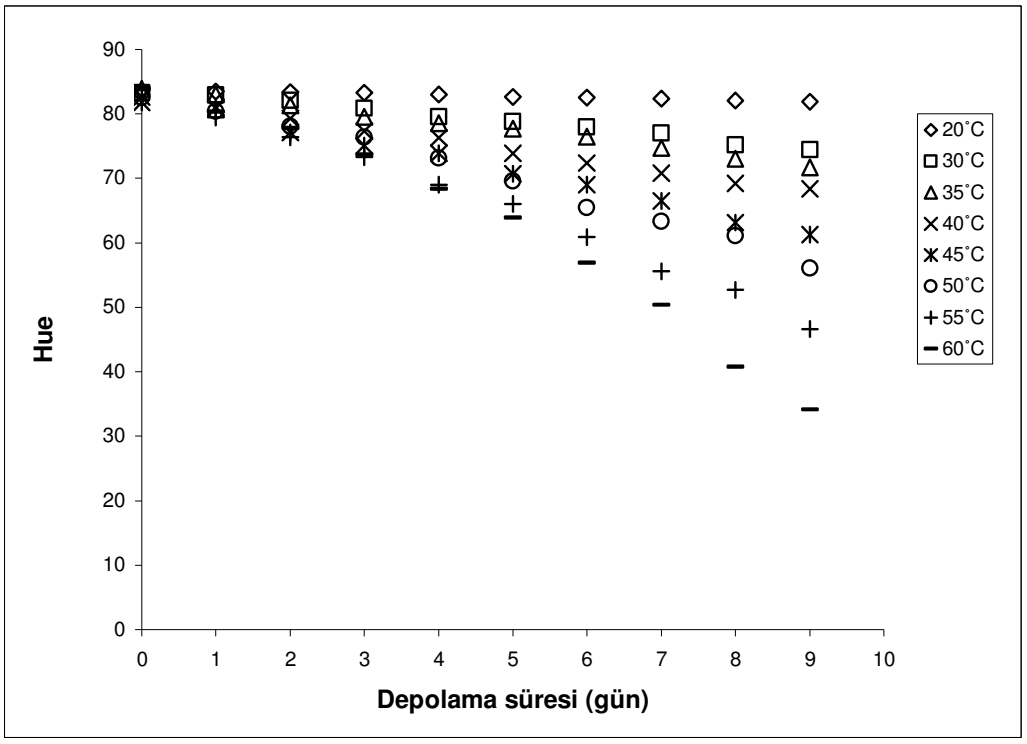


Şekil 4.12: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında b* değerindeki değişim

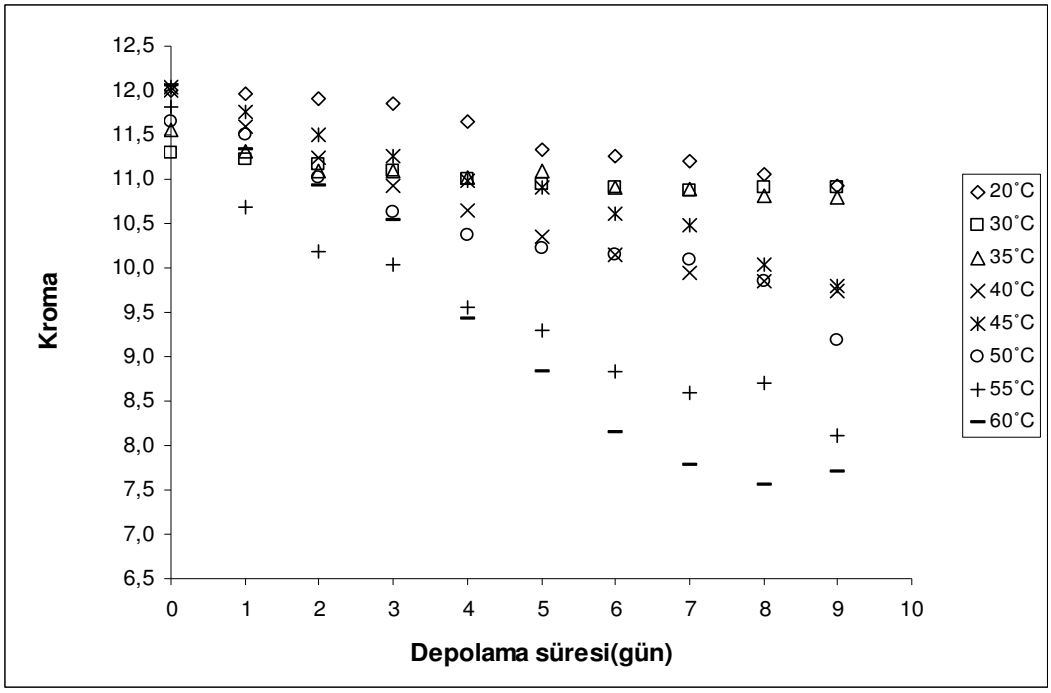


Şekil 4.13: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında b* ve a * değeri arasındaki ilişki

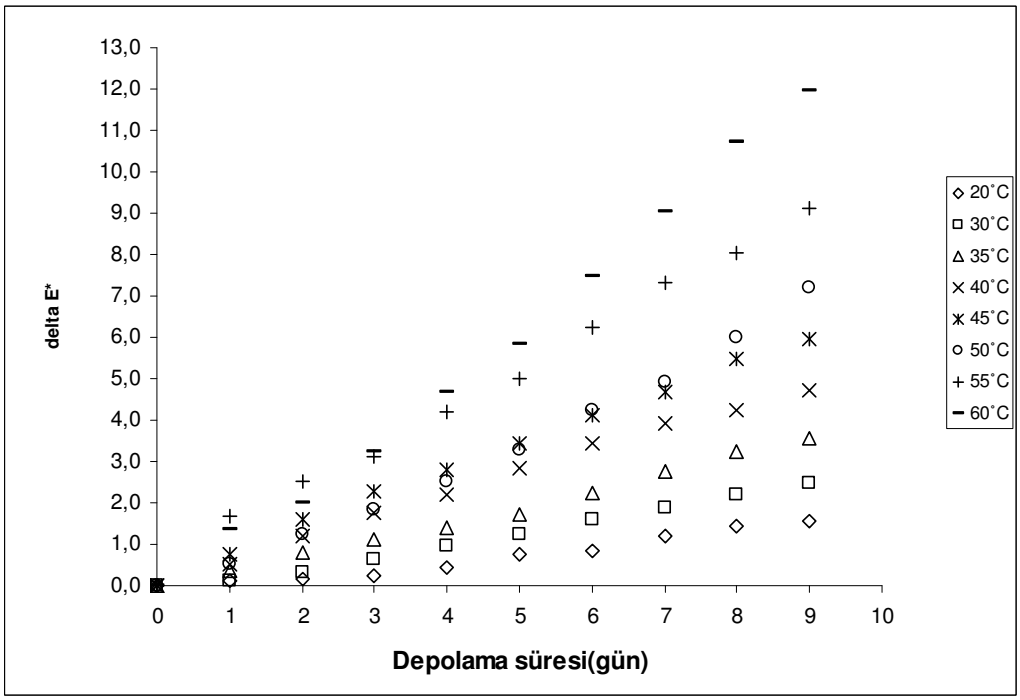
Bal örneklerinde ölçülen L*, a* ve b* değerleri kullanılarak hue (renk tonu), kroma (doymuşluk, yoğunluk) ve toplam renk değişimi (ΔE*) değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.14, Ek K, Şekil 4.15, Ek L, Şekil 4.16, Ek M). Depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça hue ve kroma değerleri azalmış, ΔE* değeri ise artmıştır. Hue değerlerindeki azalış sarıdan kırmızı tonlarına doğru bir değişimin olduğunu ifade etmektedir. Kroma değerindeki azalma da kırmızı tonlarının arttığı ve rengin koyulaştığını ifade etmektedir.



Şekil 4.14: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında hue değerindeki değişim



Şekil 4.15: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında kroma değerindeki değişim



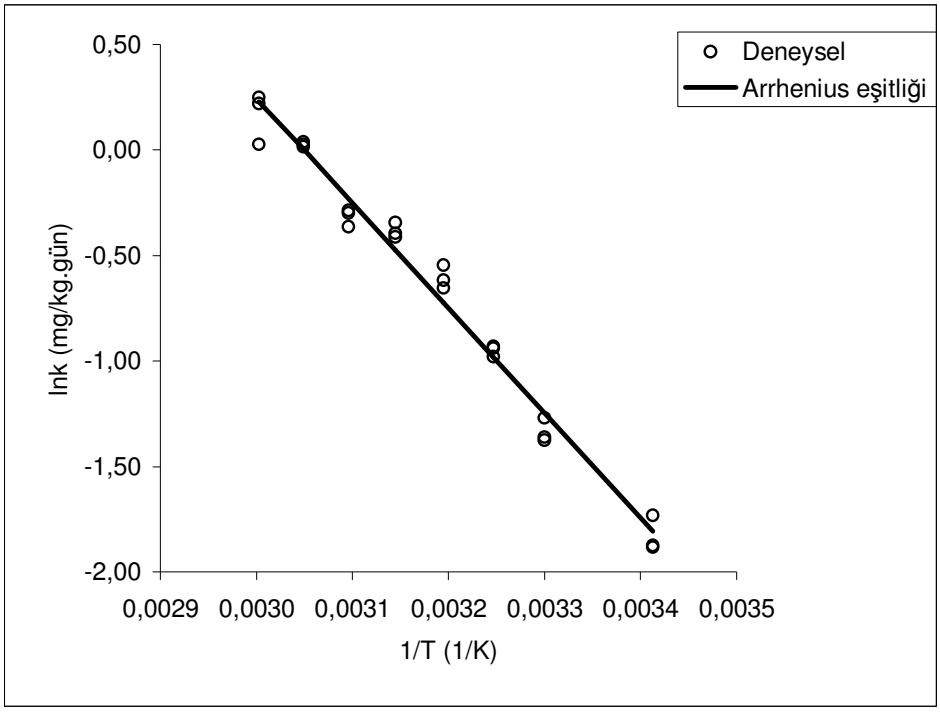
Şekil 4.16: Nem içeriği %15 olan balın farklı depolama sıcaklıklarında ΔE* değerindeki değişim

4.2.2.1. Farklı Sıcaklıklarda Depolanan Bal Örneklerindeki Toplam Renk Değişimi

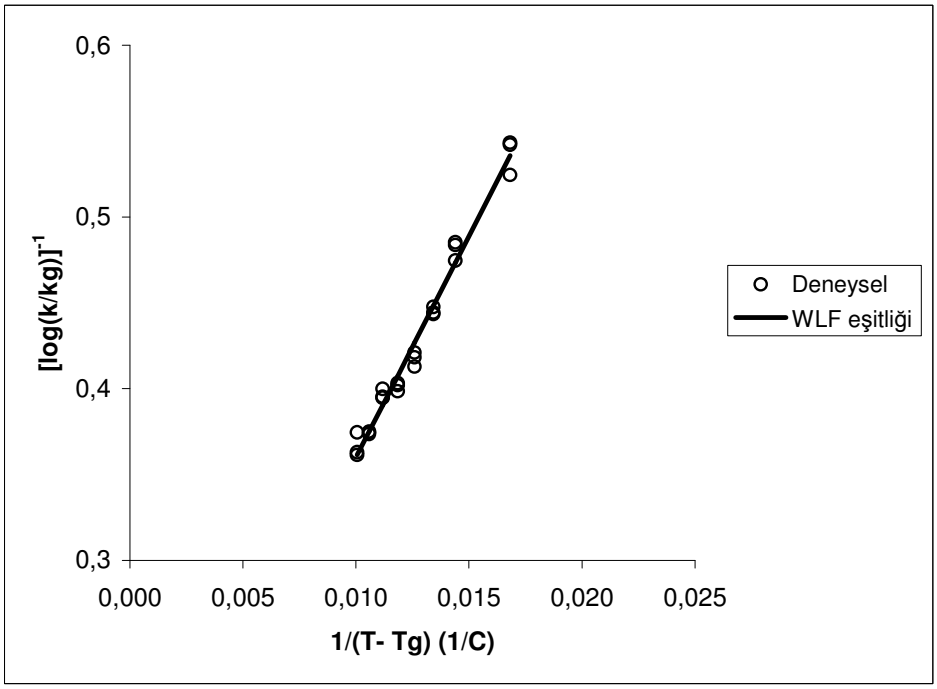
Bal örneklerinin depolama süresinde toplam renk değişim ΔE* değerinin ölçülmesi ile izlenmiştir. Belirli bir sıcaklıkta ΔE* değerlerinin depolama süresiyle doğrusal olarak arttığı bulunmuş ve buna dayanarak hız sabiti değerleri sıfırıncı dereceden reaksiyona göre hesaplanmıştır. Hız sabiti değerlerinin sıcaklıkla değişimi Arrhenius ve WLF eşitlikleri ile modellenmiştir. Her iki model de yüksek korelasyon katsayısı değerleri vermiştir (Tablo 4.5). Her iki model de renk değişiminin ifade edilmesi için kullanılabilir (Şekil 4.17, Şekil 4.18, Ek N, Ek O).

Tablo 4.5: Farklı nem içeriklerinde farklı sıcaklıklarda depolanan bal örneklerinin ΔE* değerlerinin Arrhenius ve WLF eşitliklerine göre modellenmesi

	Arrhenius		WLF				
Nem içeriği (%)	Ea (kcal/mol)	R^2	Tg (°C)	k_g	C1	C2 (°C)	R^2
15	9,87 (0,62)	0,98	-39,42	0,002193	9,76 (2,29)	251,30 (40,68)	0,98
18	9,89 (0,57)	0,98	-47,22	0,001452	9,60 (2,03)	226,78 (29,72)	0,98
22	12,18 (1,08)	0,96	-54,05	0,000143	11,04 (0,07)	190,20 (24,24)	0,95



Şekil 4.17: Nem içeriği %15 olan balın ΔE* değerlerinin sıcaklık ile değişimi ve hız sabitinin Arrhenius eşitliğine göre tahmin edilen değişimi



Şekil 4.18: Nem içeriği %15 olan balın ΔE* değerlerinin sıcaklık ile değişimi ve hız sabitinin WLF eşitliğine göre tahmin edilen değişimi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Balda farklı sıcaklıklarda depolama sırasında esmerleşme reaksiyonunun kinetiği, neme bağlı olarak farklı camsılığa geçiş sıcaklığına sahip bal örneklerinde HMF konsantrasyonu ve toplam renk değişimi değerleri kullanılarak belirlenmiştir. HMF konsantrasyonu ve renk değişimi değeri depolama süresinde doğrusal olarak artmıştır. Reaksiyonun sıcaklık bağımlılığı farklı sıcaklıklardaki verilerden elde edilen hız sabiti değerlerinin Arrhenius ve WLF eşitliklerine uygulanması ile belirlenmiştir. Bu iki eşitliğin HMF konsantrasyonu verilerine uymadığı saptanmış bu nedenle verilere daha uygun bulunan log-lojistik eşitliği kullanılmıştır. Renk değişimi değeri verilerine ise Arrhenius ve WLF eşitliklerinin uygun oldukları bulunmuştur.

Esmerleşme reaksiyonun ürünleri olan HMF konsantrasyonu ve renk maddelerinin oluşumu farklı sıcaklık bağımlılığı göstermiştir. HMF konsantrasyonunun düşük sıcaklıklarda (20-40°C) düşük hızda arttığı ve 40°C'den yüksek sıcaklıklarda artış hızının yükseldiği saptanmıştır. Renk maddelerinin ise çalışılan sıcaklık aralığında sıcaklık artışı ile eksponansiyel olarak arttığı gözlenmiştir. HMF balda heksozların dehidrasyonundan ve Maillard reaksiyonundan kaynaklanabilmektedir. HMF Maillard reaksiyonunun bir ara ürünüdür ve reaksiyonun ileri safhalarında tüketilmektedir, bu nedenle esmerleşme reaksiyonunun hızını tam olarak ifade etmemektedir. Bu sebeple renk maddeleri esmerleşme reaksiyonunun hızının belirlenmesinde daha güvenilir bir üründür. Ancak balın kalitesini belirlemek için kullanılabilecek bir limit renk değeri bulunmamaktadır. Bu çalışmada bir bal örneği kullanılmıştır, farklı balların bileşimi ve fizikokimyasal özellikleri farklı olacağından reaksiyon hızı farklı olacaktır. Bu nedenle farklı ballarda uzun süreli depolama çalışmaları yapılarak elde edilen eşitliklerin doğrulanması gerekmektedir. Bu şekilde eşitliklerin kullanılması ile yapılacak tahminlerin kesinliği değerlendirilebilecektir.

KAYNAKLAR

Abdel-Aal, E-S.M., Ziena, H. M. and Youssef, M. M., 1993. Adulteration of honey with high-fructose corn syrup: Detection by different methods, Food Chemistry, 48, 209-212.

Altuğ, T., 2002. Introduction to Toxicology and Food, CRC Press, Florida, 25.

Anonim, 2000**.** Codex Alimentarius Commission (Alinorm 01/25 2000).

Anonim, 2005**.** Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği. (Tebliğ No:2005/49) Resmi Gazete Sayı: 26026, 17 Aralık 2005.

Anupama, D., Bhat, K. K. and Sapna, V. K., 2003. Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey, *Food Researc International,* 36, 183-191.

Assıl, H.I., Sterling, R., and Sporns, P., 1991. Crystal control in processed liquid honey, *Journal of Science*, 56, 1034-1041.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of AOAC International (Patricia Cunniff, Ed.).

Belitz, H.D., Grosch, W., and Schieberle, P., 2004. Food Chemistry, Springer Press, Berlin, 888-889.

Bogdanov, S., Ruoff, K. and Oddo, L. P., 2004. Physico-chemical method foor the characterisation of unifloral honeys: a review, *Apidologie,* 35, S4-S17.

Bozkurt, H., Gögüş, F. ve Eren, S., 1998. Pekmezde Maillard Esmerleşme Reaksiyonlarının Kinetik Modellenmesi, *Tr. J. of Engineering and Environmental Science,* 22, 455-460.

Cemeroğlu, B. ve Acar, J., 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, *Gıda Teknolojisi Derneği*, Yayın No: 6, Ankara.

Champion, D., Le Meste, M. and Simatos, D., 2000. Towards an improved understanding of glass transition and relaxations in foods: molecular mobility in the glass transition range, *Trends in Food Sciense and Technology*, 11**,** 41-55.

CIE (Commission Internationale de I'Éclairage) , 1986. *Colorimetry,*30-31.

Cordella, C., Antinelli, J. F., Aurieres, C., Faucon, J. P., Bass, D. C. and Sbırrazzuolı, N., 2002. Use of Differantial Scanning Calorimetry (DSC) as a New Technique for Detection of Adulteration in Honeys. 1. Study of Adulteration Effect on Honey Thermal Behavior, *J. Agric. Food Chem*, 50, 203-208.

Dennis, B.P., 2005. Extracting honey. http://www.bbka.org.uk/freefiles/extracting honey.pdf.

Ergüneş, G., Tarhan, S., 2005. Color retention of red peppers by chemical pretreatments during greenhouse and open sun drying, *Journal of Food Engineering*, **xxx,** xxx-xxx.

Fallico, B., Zappala, M., Arena, E. and Verzera, A., 2004. Effect of conditioning on HMF content in unifloral honeys, *Food Chemistry*, 85, 305-313.

Garza, S., Ibarz, A., Pagan, J. and Giner, J., 1999. Non-enzymatic browning in peach puree during heating, *Food Research International*, 32, 335-343.

Gonzales, A. P., Burin, L. and Buera, M. P., 1999. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color, *Food Research International*, 32, 185-191.

Kantor, Z., Pitsi, G. and Thoen, J., 1999. Glass Transition Temperature of Honey as a Function of Water Content As Determined by Differential Scanning Calorimetry, *Journal of Agricultural Food Chemistriy*, 47, 2327- 2330.

Kasapis, S., Mitchell, J., Abeysekera, R. and Macnaughtan, W., 2004. Rubber-to-glass transitions in high sugar / biopolyner mixtures, *Treends in Food Science and Technology*, 15, 298-304.

Kılıç, M., Evranuz, E. Ö., 2006, Gıdalarda camsılığa geçiş ve kalite ilişkisi, *Gıda,* 31, 253-257.

Kus, S., Gogus, F. ve Eren, S., 2005, Hydroxymethylfurfural content of concentrated food products, *Intarnational Journal of Food Properties,* 8, 367-375.

Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Bacandritsos, N. and Sabatini, A. G., 2003. Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys , *Journal of Food Engineering*, **xxx,** xxx-xxx.

Lupano, C. E., 1997. DSC study of honey granulation stored at various temperatures, *Food Research international*, 30, 683-688.

Malacalza, H. N., Caccavari, A. M., Fagundez, G. and Lupano, C. E., 2005. Unifloral honeys of the province of Buenos Aires, Argentine, *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 85, 1389-1396.

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

Mossel, B., Bhandari, B., D'Arcy, B. and Caffin, N., 2000. Use of an Arrhenius Model to Predict Rheological Behaviour in some Australian honeys, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol,* 33, 545-552. .

Ötleş, S., 1995. Bal ve Bal Teknolojisi, *Alaşehir Meslek Yüksek Okulu Yayınları*, Yayın No: 2, İzmir.

Peleg, M., Engel, R., Martinez, C. G., and Corradini, M. G., 2002. Non-Arrhenius and non-WLF kinetics in food systems, *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 82, 1346-1355

Rahman, S., 1995. Food Properties handbook, CRC Press, Bocaraten, 92.

Rahman, S., 2004. State Diagram of Date Flesh Using Differential Scanning Calorimetry, *International Journal of Food Properties,* 7, 407-428.

Ross, Y.H., 1995. Phase Tarnsitions in Foods. New York: Academic Press.

Rüegg, M. and Blane, B., 1981. The Water Activity of Honey and Related Sugar Solutions, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol,* 14, 1-6.

Sopade, P.A., Halley, P., Bhandari, B., D'Arcy, B., Doebler, C. and Caffin, N., 2002. Application of the Williams-Landel-Ferry model to the viskosity-temperature relationship of Austrialian honeys, *Journal of Food Engineering*, 56, 67-75.

Şahinler, N., Şahinler, S., ve Gül, A., 2001. Hatay Yöresi Ballarının Bileşimi ve Biyokimyasal Analizi, *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi,* 6, 93-108.

Terrab, A., Diez, M. J. and Heredia, F. J., 2003. Palynological, physico-chemical and colour characterization of Moroccan honeys: I. River red gum (Eucalyptus camaldulensis Dehnh) honey, *Intarnational Journal of Food Science and Technology*, 38, 379-386.

Terrab, A., Diez, M. J. and Heredia, F. J., 2003. Palynological, physico-chemical and colour characterization of Moroccan honeys: II. Orange (Citrus sp.) honey, *Intarnational Journal of Food Science and Technology*, 38, 387-394.

Terrab, A., Escudero, M. L., Gonzalez, M. L. and Heredia, F. J., 2004. Colour characteristics of honeys as influenced by pollen grain content: a multivariate study, *Journal of the Food Science and Agriculture,* 84, 380-386.

Tosi, E., Ciappini, M., Re, E. and Lucero, H., 2002. Honey thermal treatment effect on hydroxymedhylfurfural content, *Food Chemistry,* 77, 71-74.

Tosi, E. A., Re, E., Lucero, H. and Bulacio, L., 2004. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibion, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol,* 37, 669-678.

Truong, V., Bhandari, B. R., Howes, T. and Adhikari, B., 2004. Glass transition behaviour of fructose, *Intarnational Journal of Food Science and Technology*, 39, 569-578.

TS-3036, 2002. Bal, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.

Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S. ve Velioglu, Y. S., 2006. Effect of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey, *Food Chemistry,* 95, 653-657.

Yanniotis, S., Skaltsi, S. and Karaburnioti, S., 2006. Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures, *Journal of Food Engineering*, 72, 372-377.

Yılmaz, H. ve Küfrevioğlu, İ., 2001. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinden Toplanan Balların Bileşimi ve Depolamanın HMF Miktarı ve Diastaz Aktivitesine Etkisi, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **25,** 347-349.

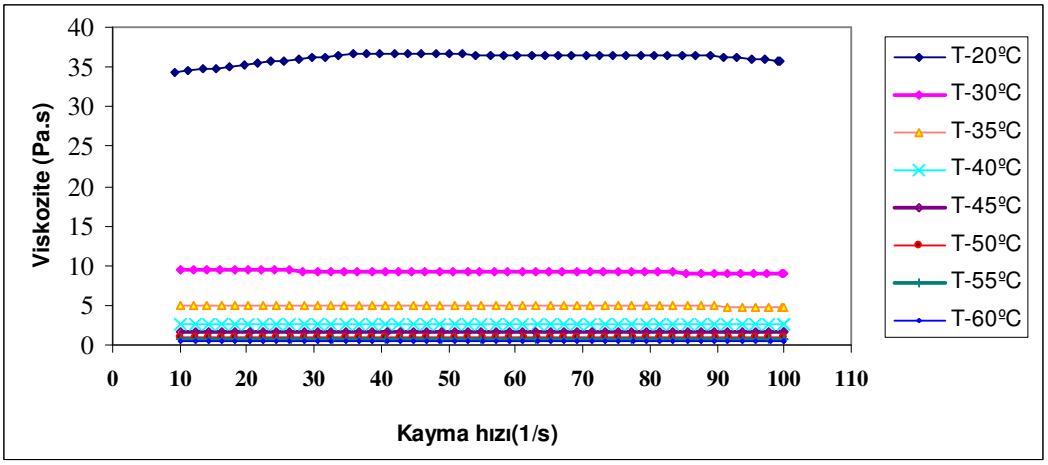
Zappala, M., Fallico, B., Arena, E. and Verzera, A., 2005. Methods for the determination of HMF in honey, *A comparison. Food Control*, 16, 273-277

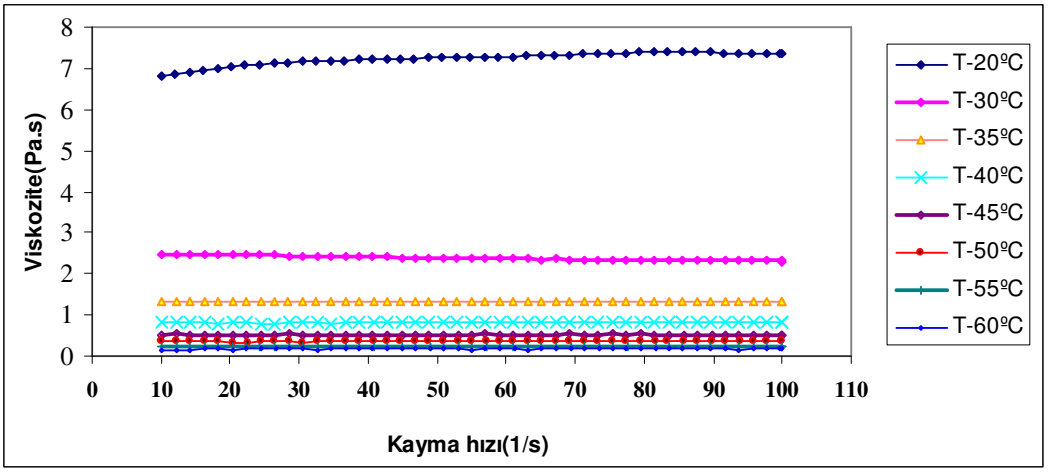
EKLER

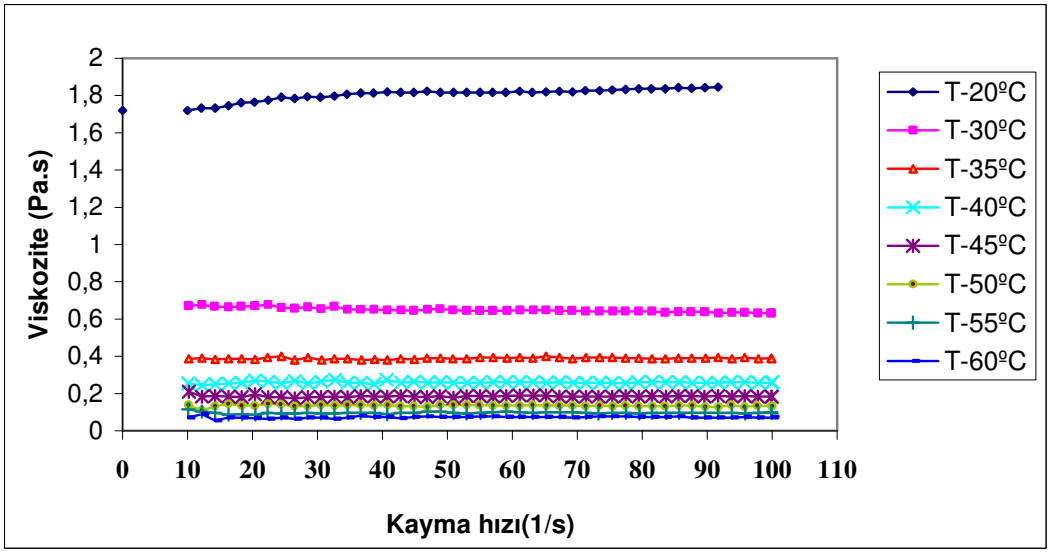
EK A: Balın 20°C sıcaklıktaki kırılma indisi ile yüzde rutubet muhtevası arasındaki ilişki (AOAC , 1990)

Kırılma İndisi (20^oC)	Rutubet Muhtevası (%)	Kırılma İndisi (20^oC)	Rutubet Muhtevası (%)	Kırılma İndisi (20^oC)	Rutubet Muhtevası (%)
1,5044	13,0	1,4940	17,0	1,4840	21,0
1,5038	13,2	1,4935	17,2	1,4835	21,2
1,5033	13,4	1,4930	17,4	1,4830	21,4
1,5028	13,6	1,4925	17,6	1,4825	21,6
1,5023	13,8	1,4920	17,8	1,4820	21,8
1,5018	14,0	1,4915	18,0	1,4815	22,0
1,5012	14,2	1,4910	18,2	1,4810	22,2
1,5009	14,4	1,4905	18,4	1,4805	22,4
1,5002	14,6	1,4900	18,6	1,4800	22,6
1,4997	14,8	1,4895	18,8	1,4795	22,8
1,4992	15,0	1,4890	19,0	1,4790	23,0
1,4987	15,2	1,4885	19,2	1,4785	23,2
1,4982	15,4	1,4880	19,4	1,4780	23,4
1,4976	15,6	1,4875	19,6	1,4775	23,6
1,4971	15,8	1,4870	19,8	1,4770	23,8
1,4966	16,0	1,4865	20,0	1,4765	24,0
1,4961	16,2	1,4860	20,2	1,4760	24,2
1,4956	16,4	1,4855	20,4	1,4755	24,4
1,4951	16,6	1,4850	20,6	1,4750	24,6
1,4946	16,8	1,4845	20,8	1,4745	24,8

EK B: Nem içeriği %15, %18 ve %22 olan balların viskozitelerinin kayma hızı ile değişimi





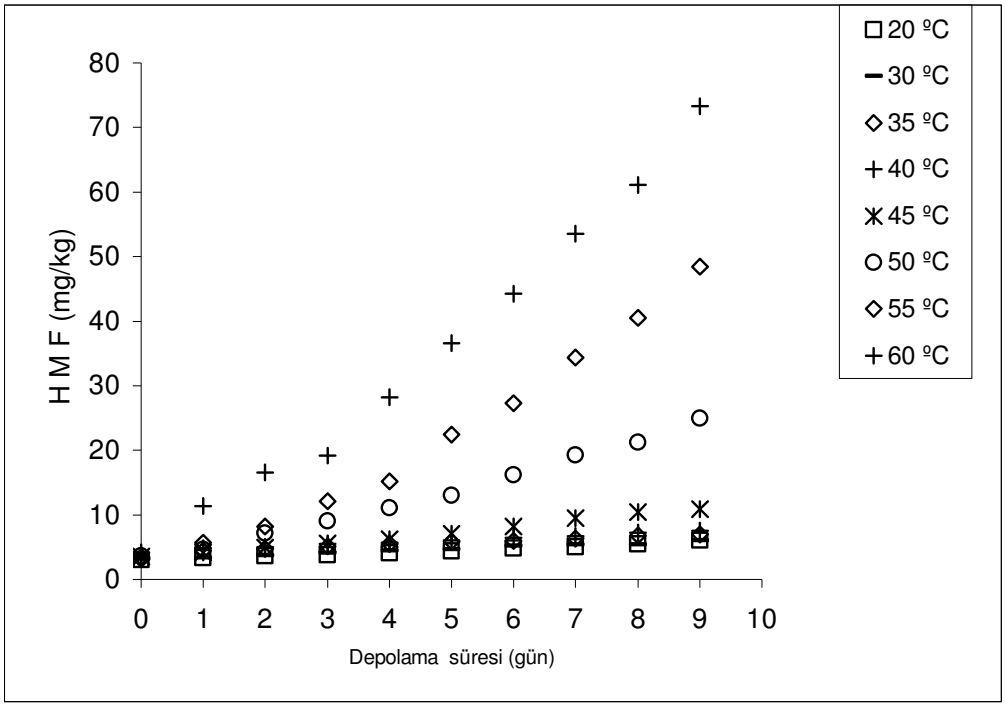


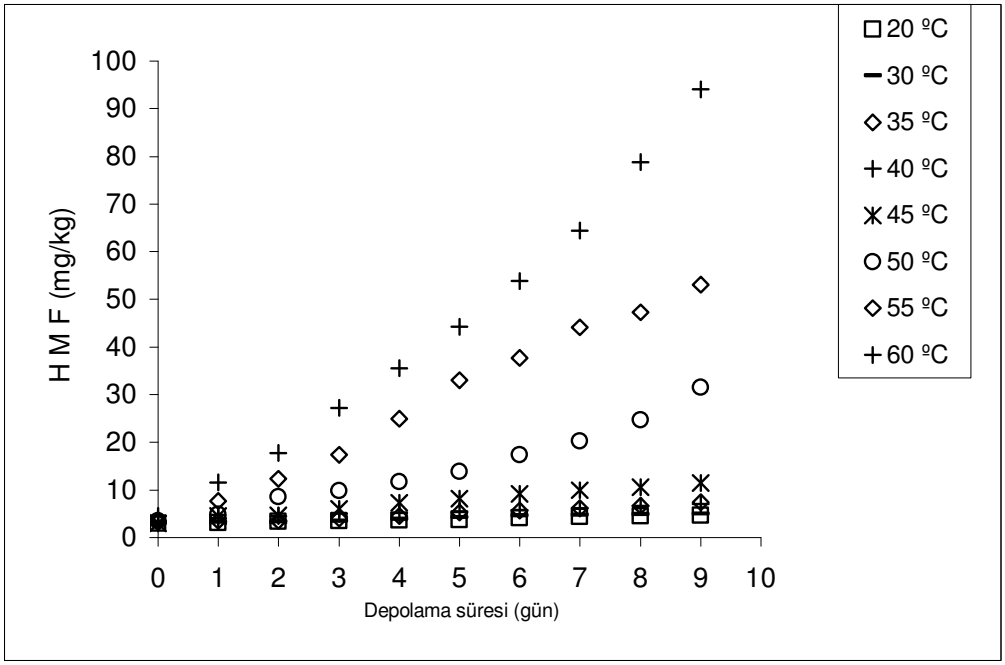
EK C: Farklı nem içeriğindeki ve depolama sıcaklığındaki balların viskozite değerleri

Nem İçeriği (%)	Sıcaklık (^oC)	Viskozite* (Pa.s)
15	20	36,15 ± 0,62
15	30	9,24 ± 0,10
15	35	4,88 ± 0,03
15	40	2,58 ± 0,01
15	45	1,64 ± 0,01
15	50	0,99 ± 0,01
15	55	0,64 ± 0,01
15	60	0,43 ± 0,00
18	20	7,24 ± 0,15
18	30	2,38 ± 0,05
18	35	1,32 ± 0,01
18	40	0,81 ± 0,01
18	45	0,52 ± 0,01
18	50	0,35 ± 0,00
18	55	0,24 ± 0,00
18	60	0,16 ± 0,00
22	20	1,80 ± 0,04
22	30	0,65 ± 0,01
22	35	0,39 ± 0,00
22	40	0,26 ± 0,00
22	45	0,19 ± 0,01
22	50	0,13 ± 0,01
22	55	0,10 ± 0,00
22	60	0,07 ± 0,00

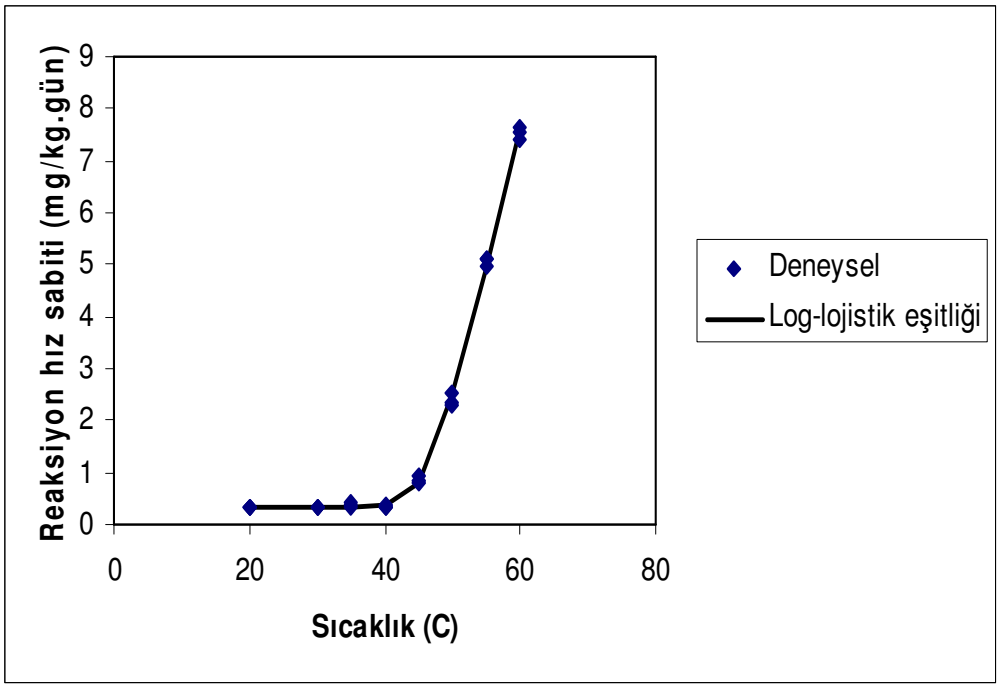
*: Viskozite, 10 - 100 1/s kayma hız aralığında ölçülmüştür

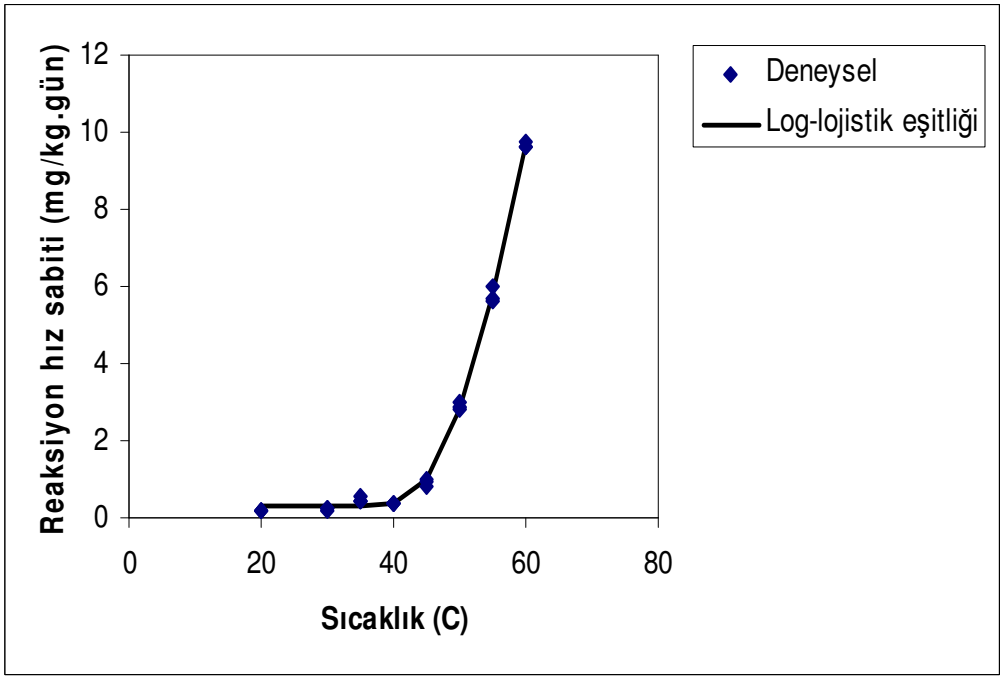
EK D: Nem içeriği %18 ve %22 olan balların farklı depolama sıcaklıklarındaki HMF konsantrasyonunun değişimi



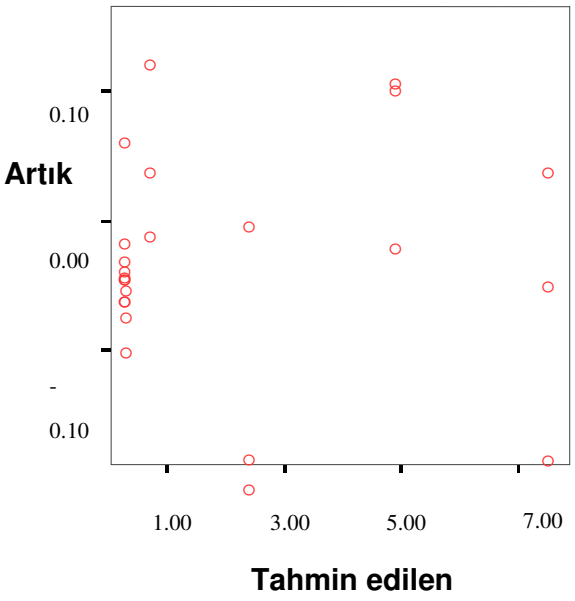


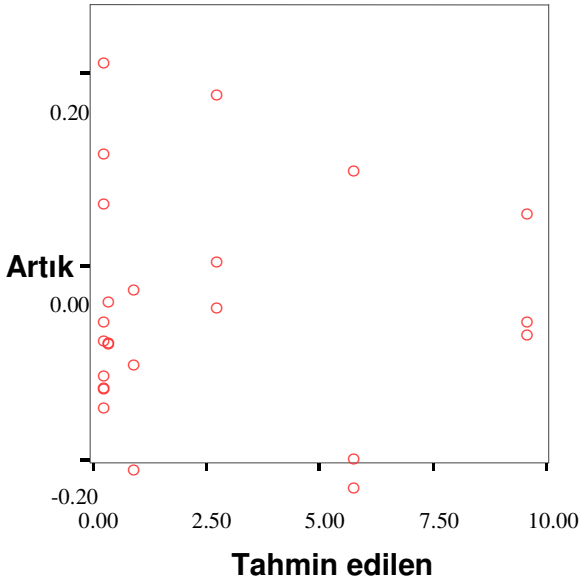
EK E: Nem içeriği %18 ve %22 olan balların reaksiyon hız sabitlerinin sıcaklık ile değişimi ve log-lojistik eşitliği



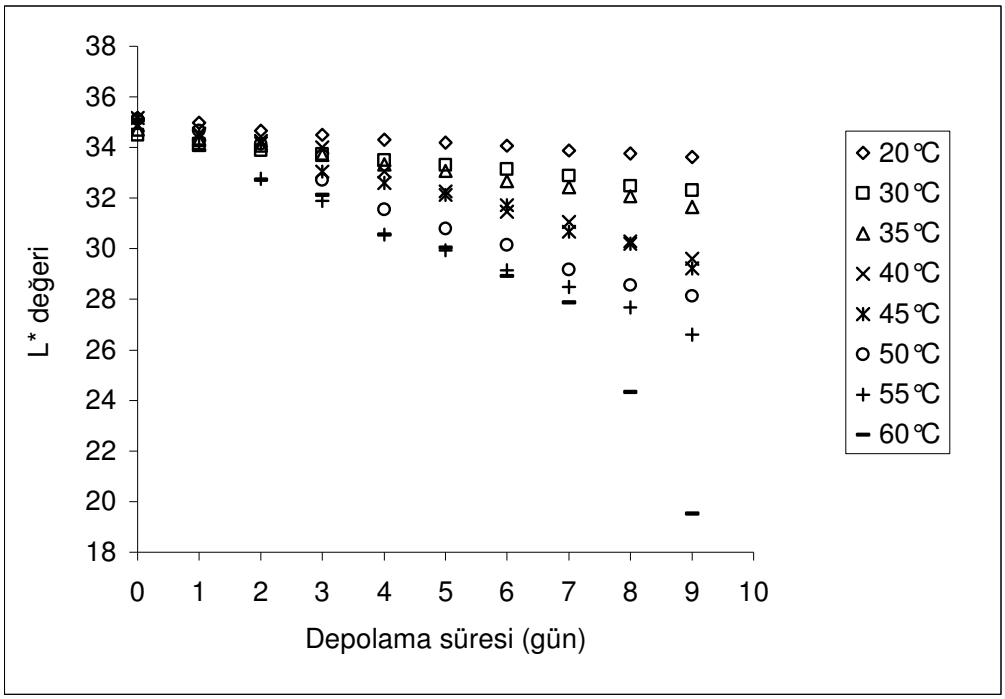


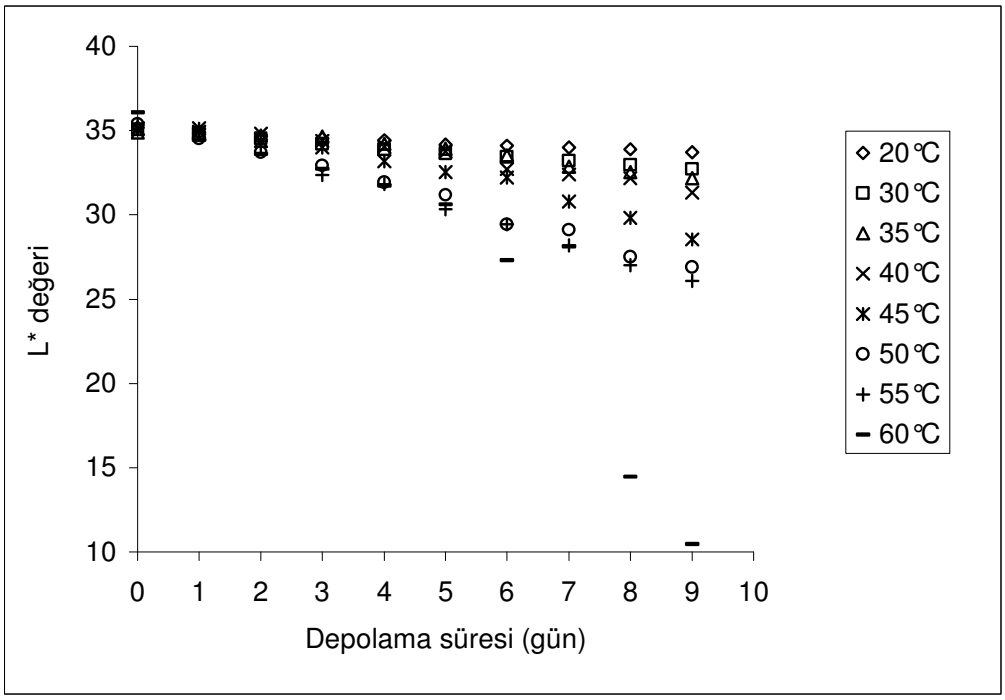
EK F: Nem içeriği %18 ve %22 olan balların reaksiyon hız sabitlerinin sıcaklık ile değişiminin modellenmesinde artık değerlerinin log-lojistk eşitliğinden tahmin edilen değerler ile değişimi



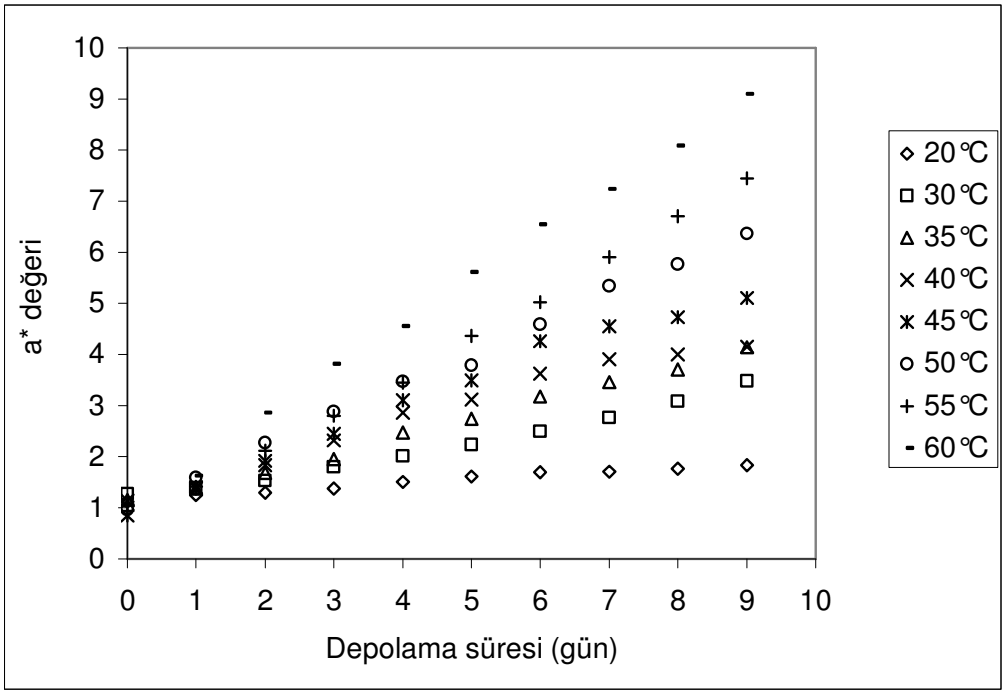


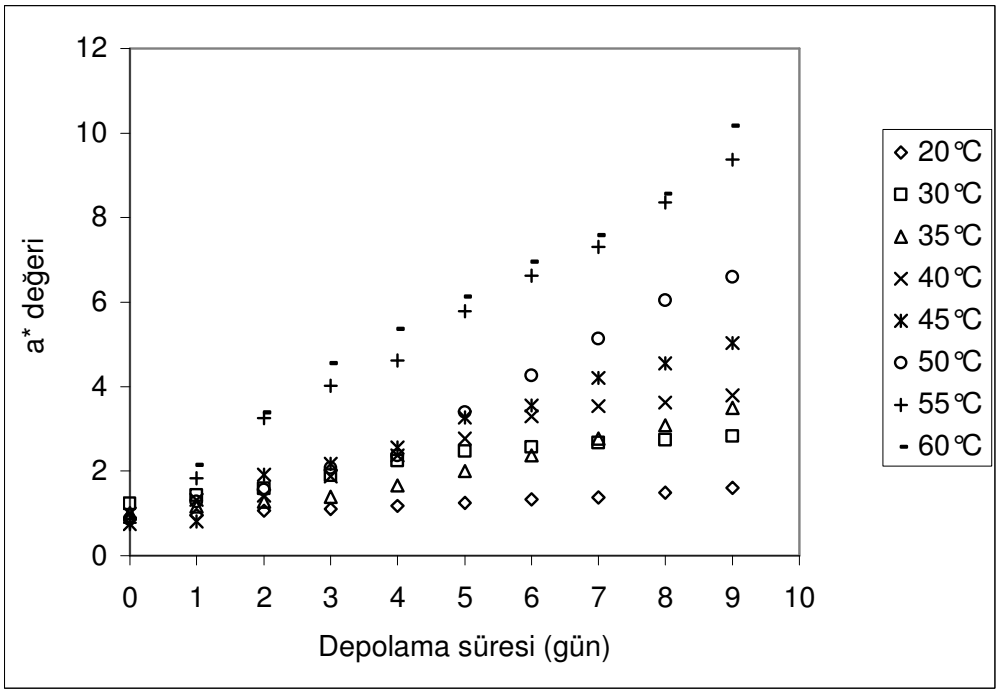
EK G: Nem içeriği %18 ve %22 olan balların farklı depolama sıcaklıklarında L* değerindeki değişim



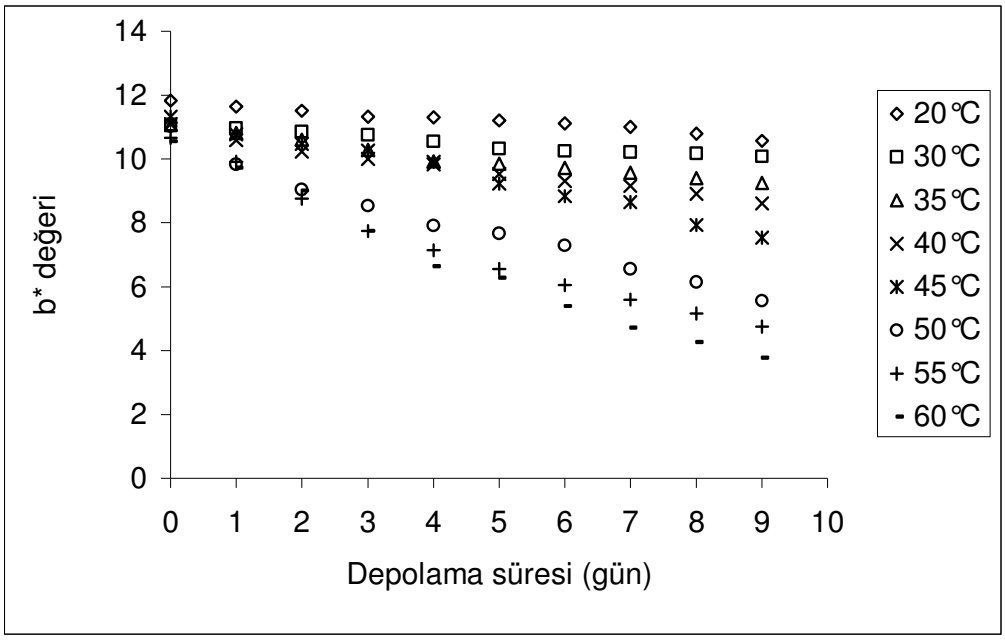


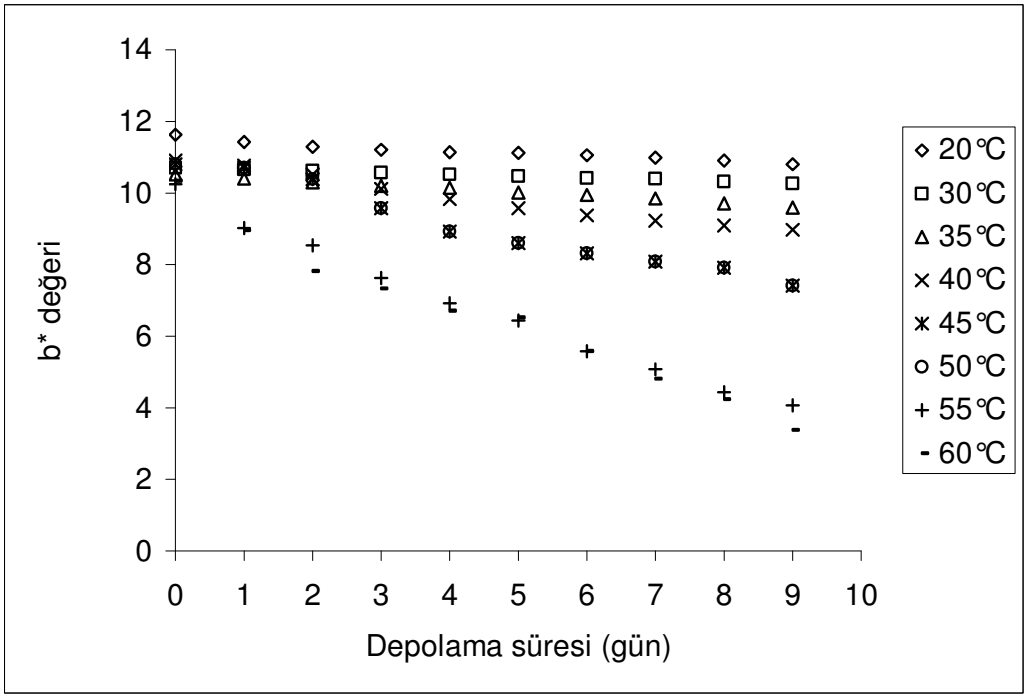
EK H: Nem içeriği %18 ve %22 olan balların farklı depolama sıcaklıklıklarında a* değerindeki değişim



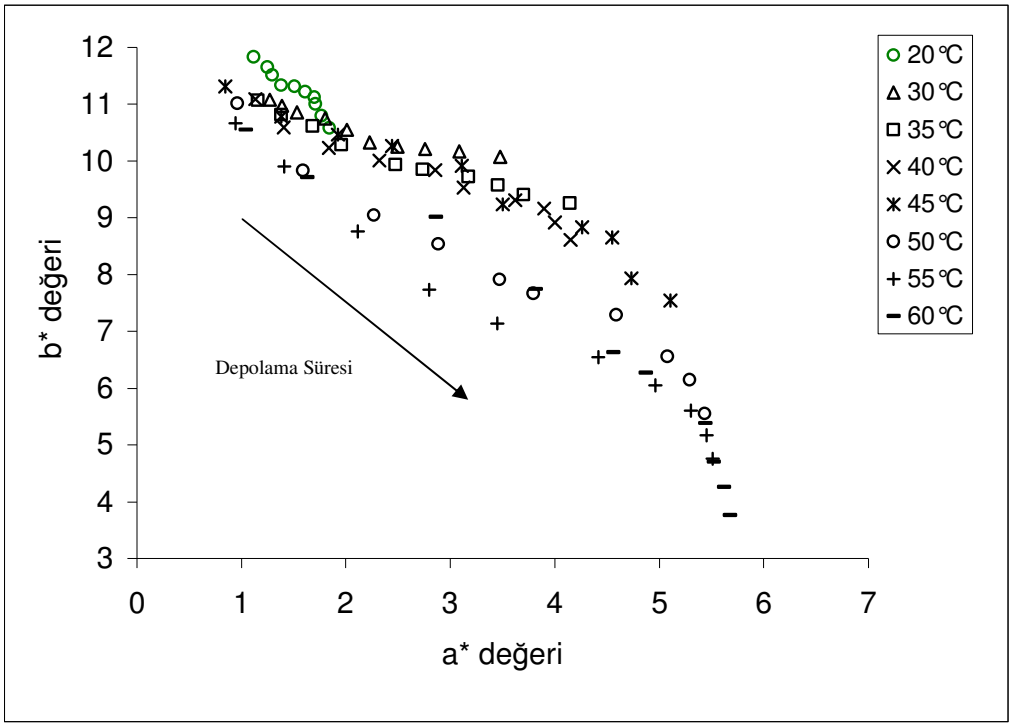


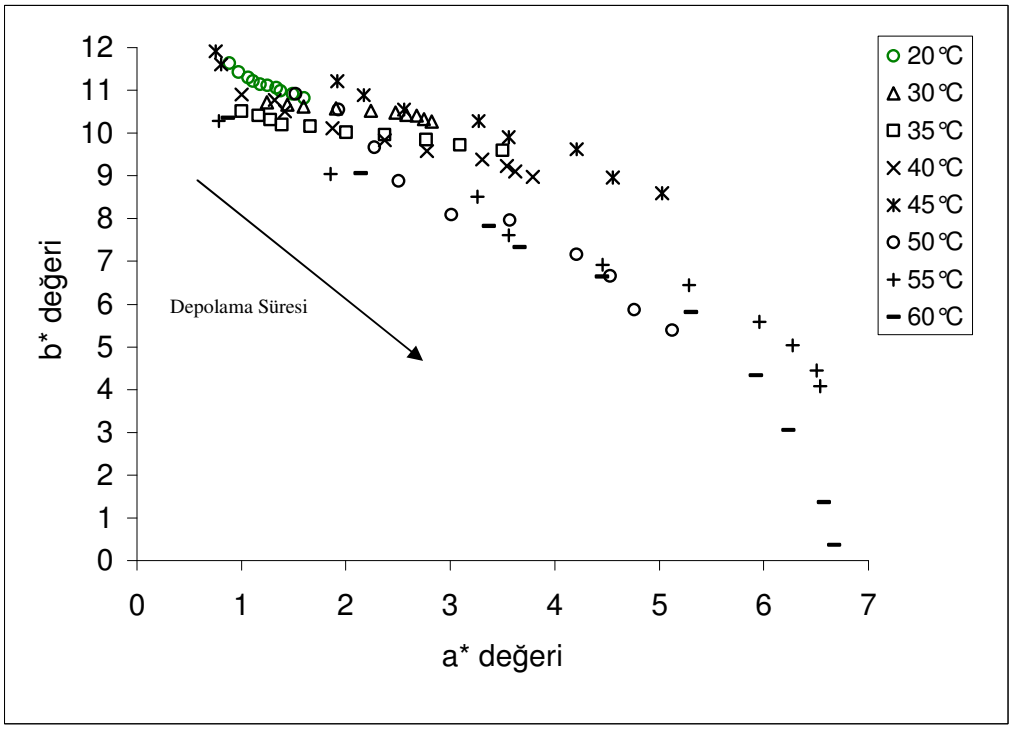
EK I: Nem içeriği %18 ve %22 olan balların farklı depolama sıcaklıklarında b* değerindeki değişim



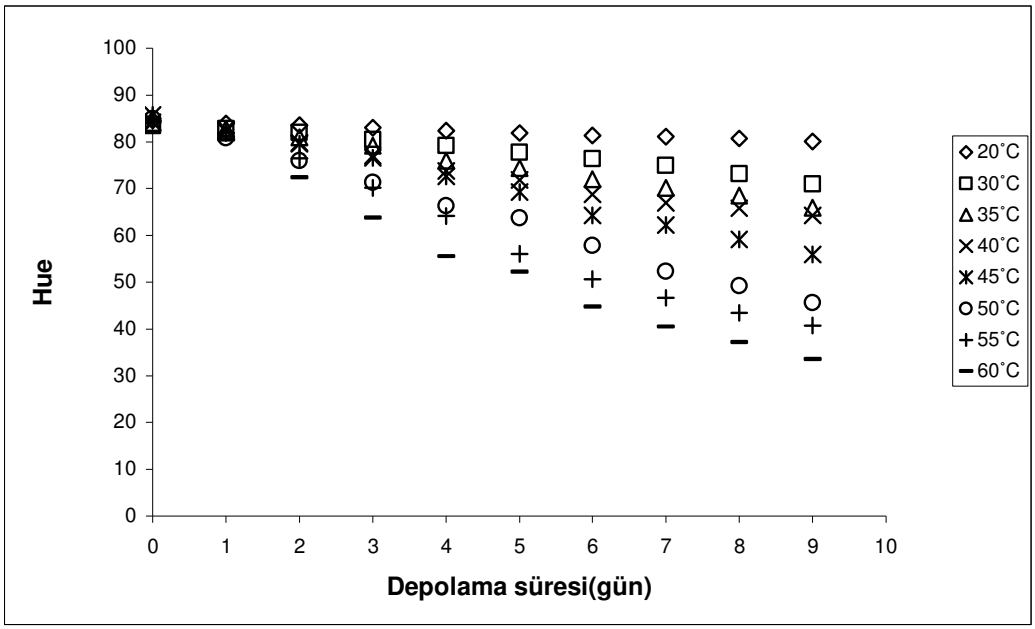


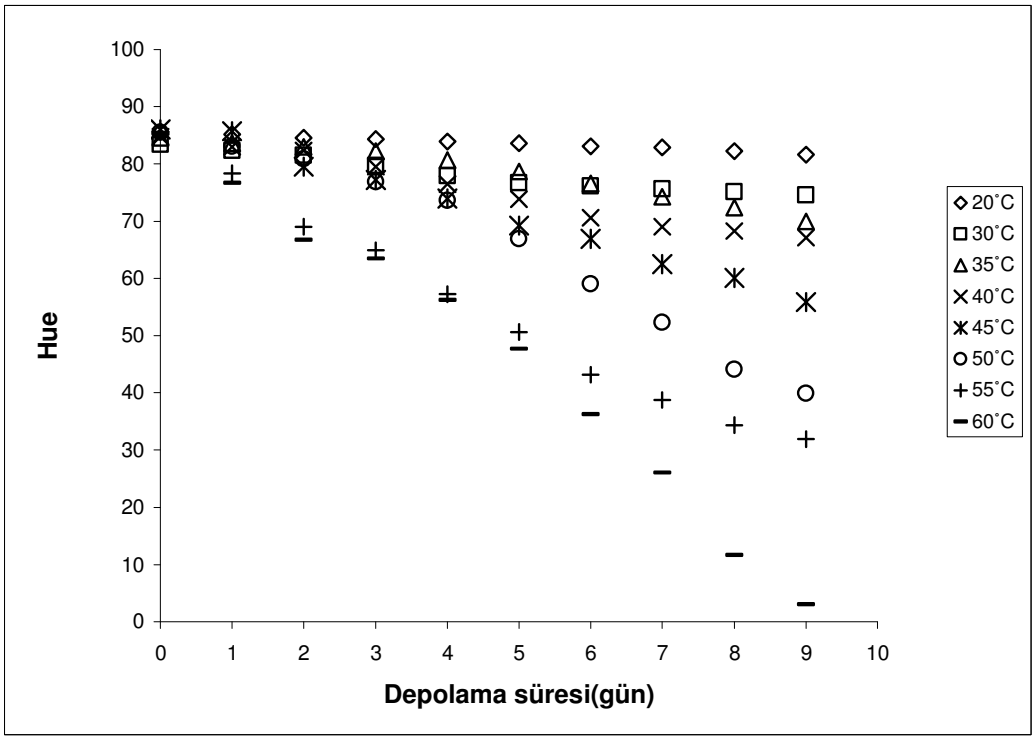
EK J: Nem içeriği %18 ve %22 olan balların farklı depolama sıcaklıklarında b* ile a * değeri arasındaki değişim



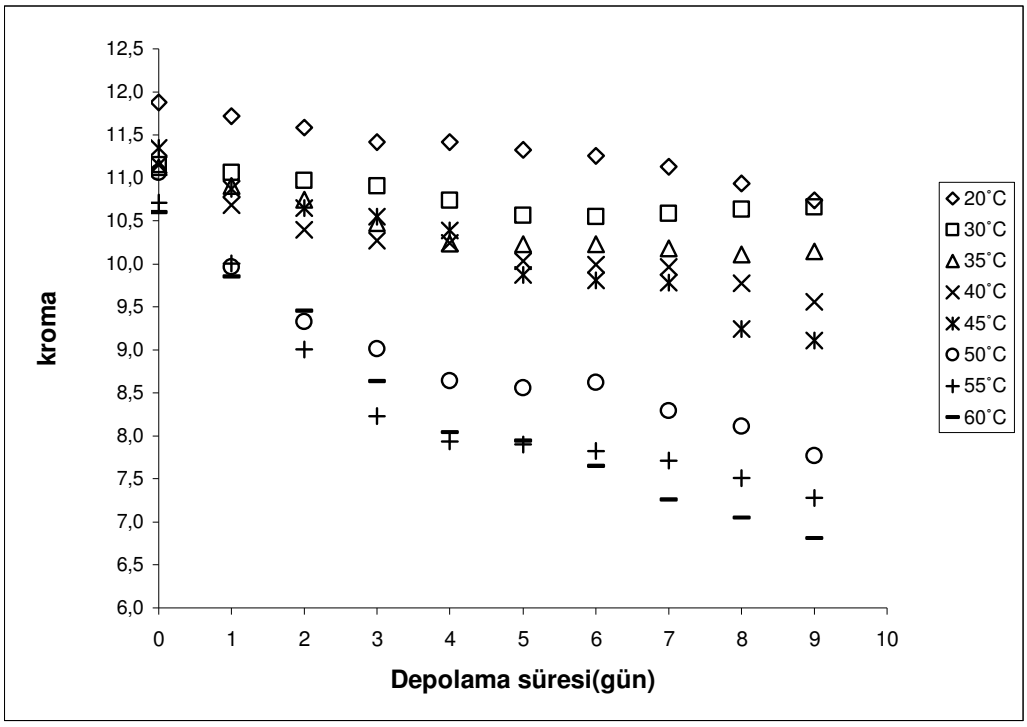


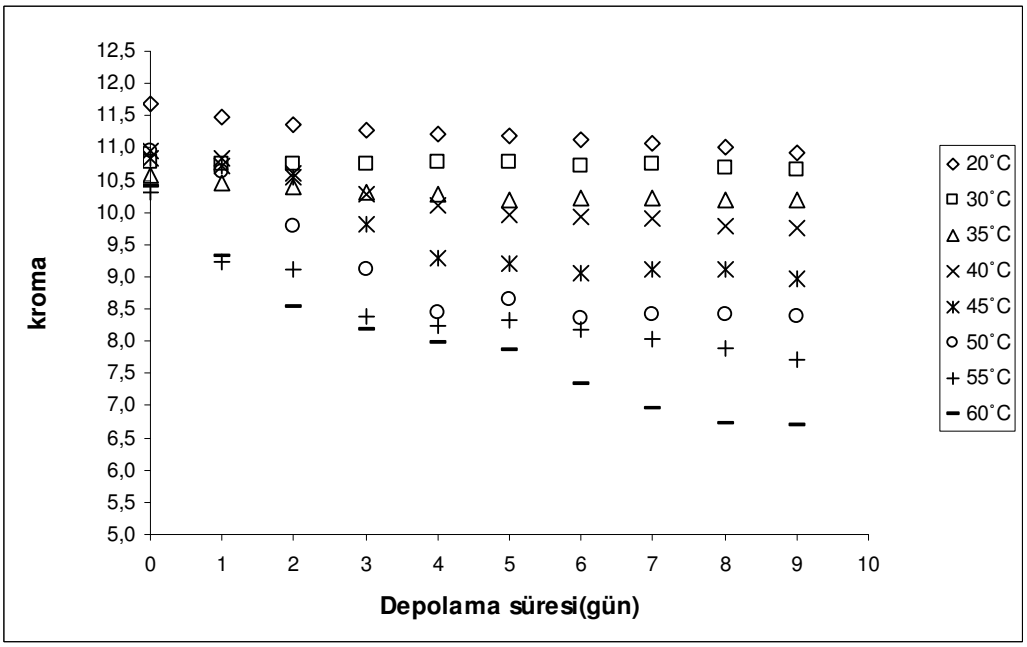
EK K: Nem içeriği %18 ve % 22 olan balların farklı depolama sıcaklıklarında hue değerindeki değişim



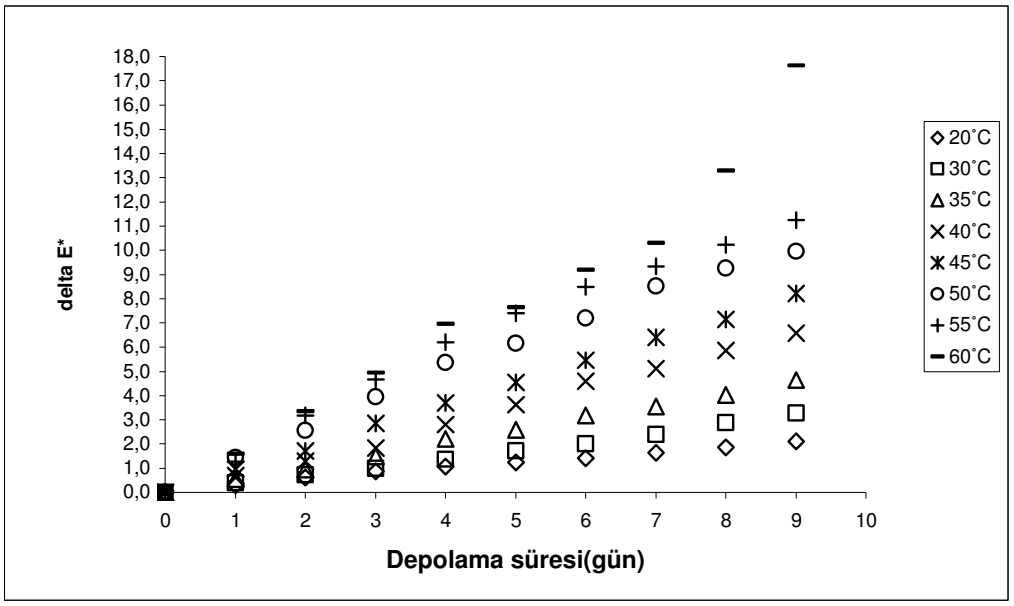


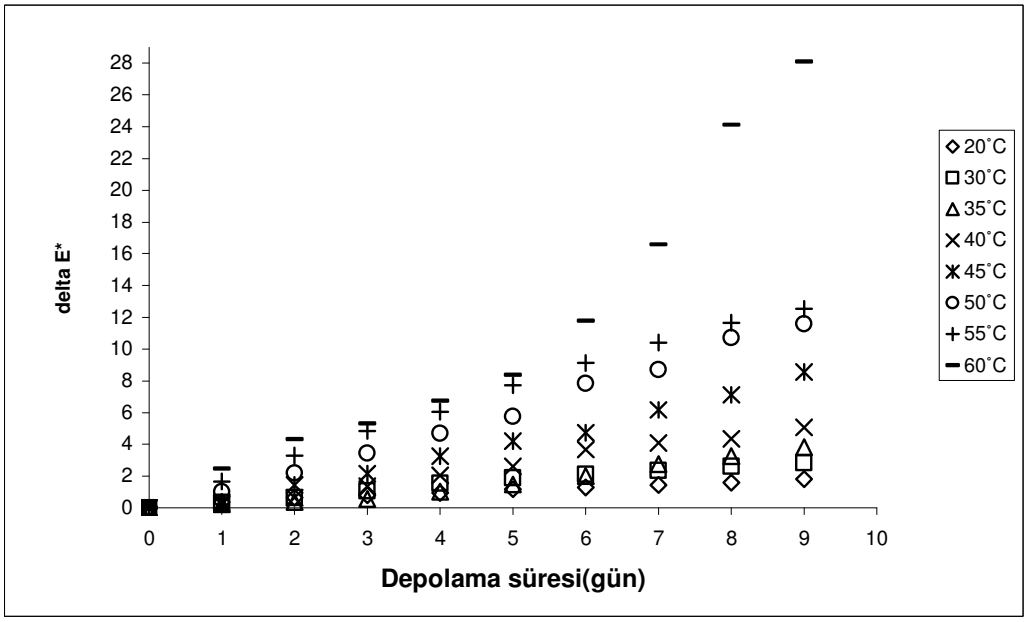
EK L: Nem içeriği %18 ve % 22 olan balların farklı depolama sıcaklıklarında kroma değerindeki değişim



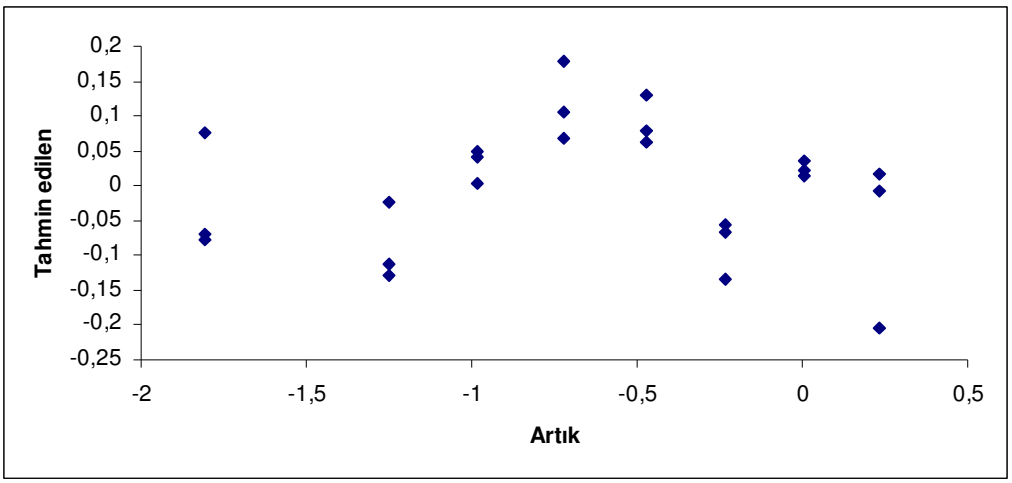


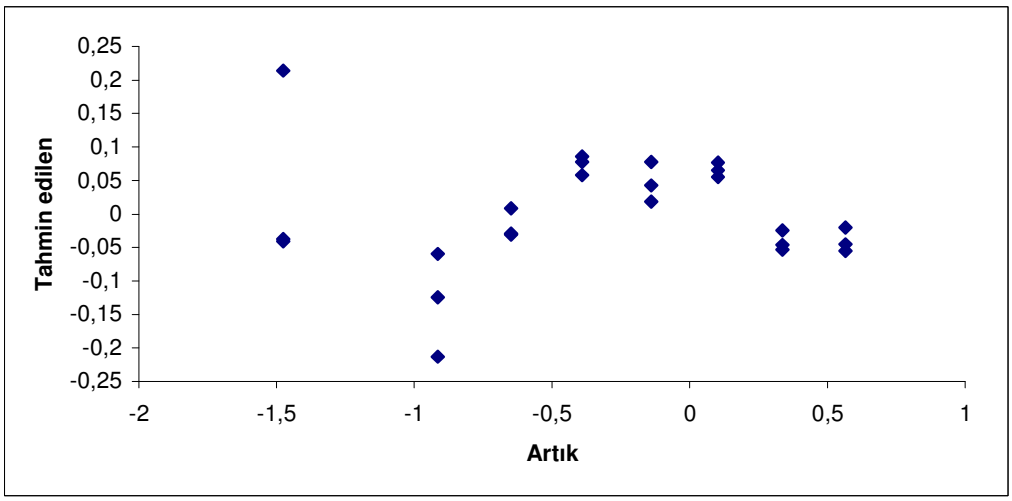
EK M: Nem içeriği %18 ve % 22 olan balların farklı depolama sıcaklıklarında ΔE* değerindeki değişim

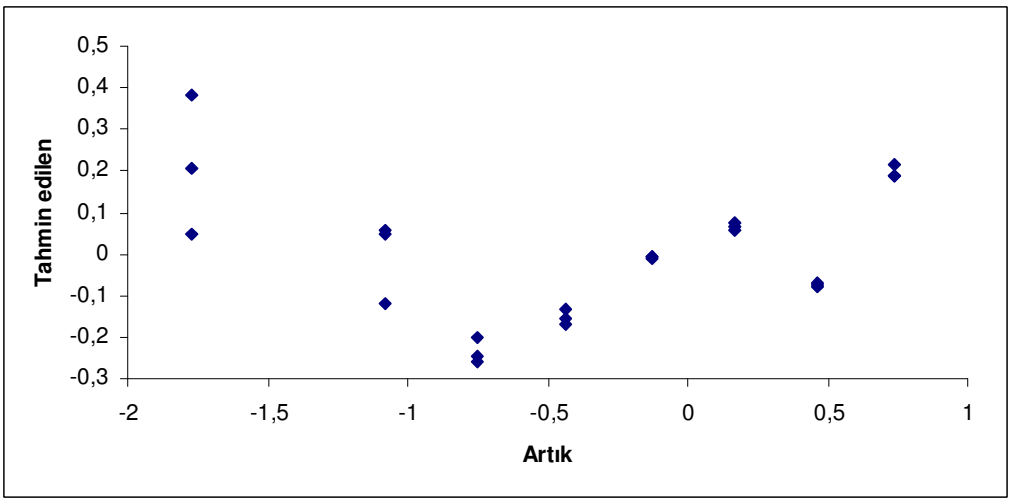




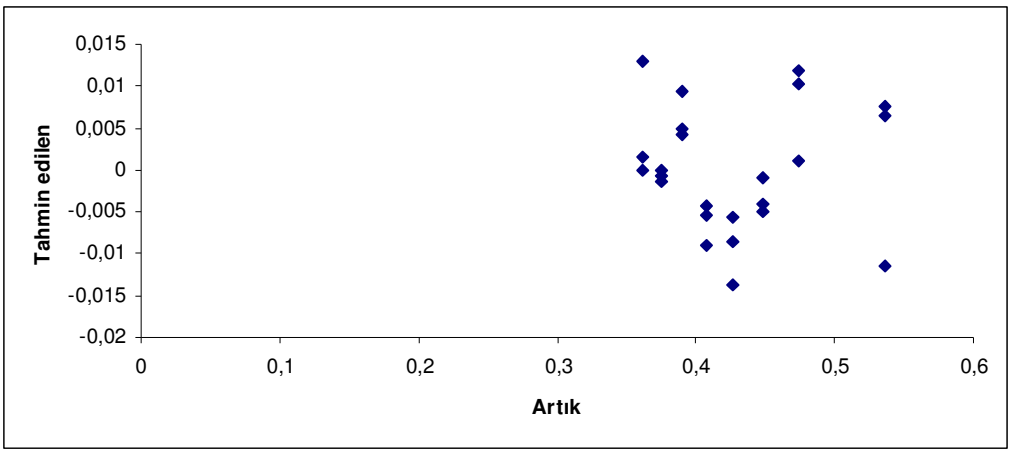
EK N: Nem içeriği %15 ,%18 ve %22 olan balların ΔE* değerlerinin sıcaklık ile değişiminin modellenmesinde artık değerlerinin Arrhenius eşitliğinden tahmin edilen değerler ile değişimi

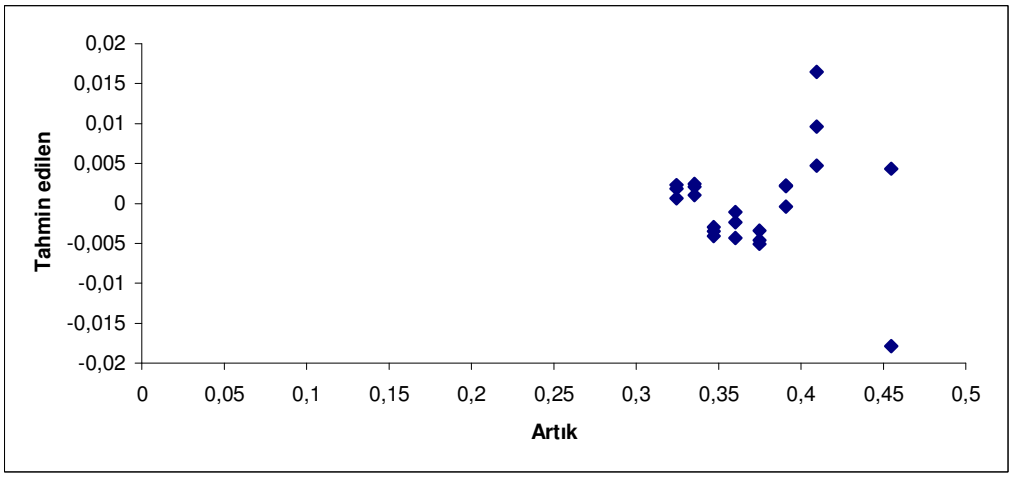


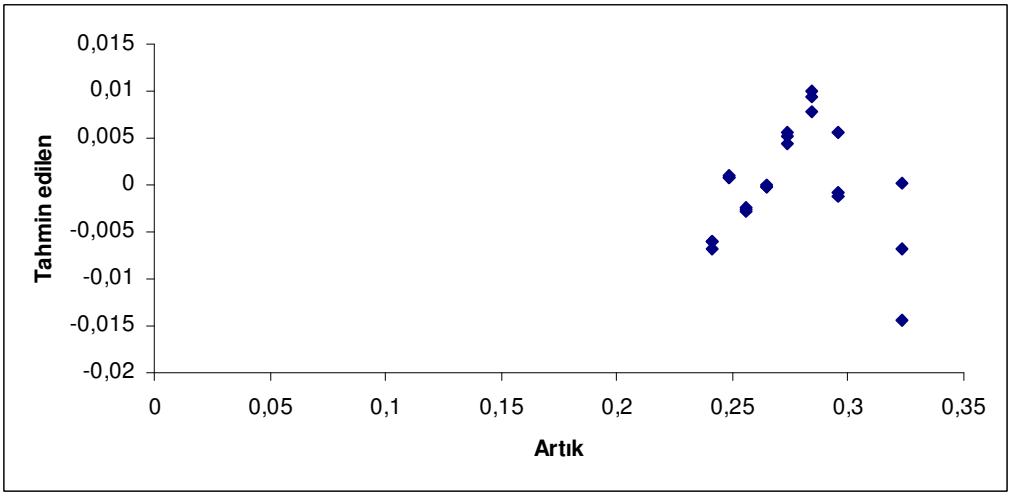




EK O: Nem içeriği %15 ,%18 ve %22 olan balların ΔE* değerlerinin sıcaklık ile değişiminin modellenmesinde artık değerlerinin WLF eşitliğinden tahmin edilen değerler ile değişimi







ÖZGEÇMİŞ

Tezde araştırmacı olarak görev yapan Latife GÜNDOGDU(BULUT), 20.07.1974 yılında Ankara'da doğdu. 1987 yılında Çankaya Yıldız İlkokulu, 1992 yılında ise Ankara Çankaya Lisesi'ni bitirdi.1998 yılında Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden mezun oldu. Eylül 2000-Mart 2003 yılları arası Milli Savunma Bakanlığı Erzurum Kalite Yönetim Bölge Başkanlığında Gıda Kontrol Uzmanı olarak görev yaptı ve halen Milli Savunma Bakanlığı İstanbul Kalite Yönetim Bölge Başkanlığında görev yapmaktadır.