ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI TİP BALLARDAN ÜRETİLEN BAL ŞARAPLARINDA ANTİOKSİDAN KAPASİTE ve KİMYASAL ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ

Hüsne AKALIN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2010

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI TİP BALLARDAN ÜRETİLEN BAL ŞARAPLARINDA ANTİOKSİDAN KAPASİTE ve KİMYASAL ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ

Hüsne AKALIN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. R.Ertan ANLI

Bu çalışma ile, Türkiye florasından elde edilen farklı bal çeşitlerinin bal şarabı üretimine uygunluğu saptanarak bal şarabı üretiminin teşviki amaçlanmıştır. Fermantasyon çalışmalarında Pamuk, Çam, Keven-Kekik, Portakal, Çiçek ve Mezda balları kullanılmıştır. Bal şarabı üretimlerinde *Saccharomyces cerevisiae* ve saf kültür *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası starter kültür olarak kullanılmış ve iki farklı üretim prosesi uygulanmıştır. Fermantasyon her iki şarap için de 23-25 °C sıcaklıkta sürdürülmüştür. Şaraplar arasında, *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası kullanılarak üretilen Çam balı şarabının fermantasyon süresinin en kısa olduğu saptanmıştır (25 gün sonunda öksele derecesi: 8.5). Buna karşın, Pamuk ve Mezda karışım balından *S.cerevisiae* mayası ile elde edilen şarabın fermantasyon süresinin daha uzun olduğu belirlenmiştir (29 gün sonunda öksele derecesi sıfır). Diğer yandan, *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası ile Çiçek balı (Adana Bölgesi), Pamuk balı, Mezda balı, Portakal balı ve Keven-Kekik balı; *S.cerevisiae* mayası ile Keven-Kekik, Portakal ve Pamuk balı şarap denemeleri sonucunda fermantasyon gerçekleşmemiştir. Bal şaraplarının fenolik yapıları belirlenirken HPLC yardımıyla antioksidan özellikleri bilinen beş fenolik asit (gallik asit, protokateşuik asit, syrinjik asit, p-kumarik asit, ferulik asit) ile iki flavonoid (kuersetin ve kateşin) standardı kullanılmıştır. Fenolik asitlerden en fazla konsantrasyona sahip bileşen protokateşuik asit (75.12-179.03 ppm), flavonoidlerden ise kateşin (10.38-125.55 ppm) olarak saptanmıştır. Gallik asit, protokateşuik asit, kateşin ve *p*-kumarik asit örneklerin tamamında tespit edilirken, syrinjik asit ise sadece Pamuk-Mezda balının *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası ile fermente edildiği örnekte görülmüştür. Ayrıca, bal şaraplarında modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol içerikleri ve trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) yöntemi ile toplam antioksidan aktiviteleri analiz edilmiştir. Gallik asit ekivalanı birimi olarak bulunan toplam fenol içeriği, 103.56 mg/L ile 167.89 mg/L değerleri arasında belirlenmiştir.

Nisan 2010, 50 sayfa
Anahtar Kelimeler: Bal şarabı, fenolik bileşikler, TEAC, HPLC

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY and CHEMICAL COMPOSITION OF MEAD PRODUCED FROM DIFFERENT TYPES OF HONEY

Hüsne AKALIN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. R.Ertan ANLI

In this study, it was aimed to promote honey wine (mead) production by testing the mead production appropriateness of different honey varieties which were obtained from flora of Turkey. Cotton (*Gossypium spp.*), Pine (*Pinus spp.*), Milk vetch (*Astragalus spp*.) –Thyme (*Thymus spp.*), Orange (*Citrus spp*), Flower and Mezda (local) honeys were used in the fermentation studies. Pure culture *S.cerevisiae*-Narince 3 and *Saccharomyces cerevisiae* yeasts were used in the honey wine (mead) studies. Both wine fermentations were conducted at temperatures of 23-25 °C. The shortest fermentation time of wines was found out in pine honey wine, which was produced by using *S.cerevisiae*-Narince 3 yeast (8.5 oechsle scale in 25 days). The fermentation time of the honey wine obtained from Cotton and Mezda mixture, which was produced by using *S.cerevisiae* yeast, was 29 days and its oechsle scale was measured as zero at the end of the fermentation. On the other hand, no fermentation was observed in the flower honey obtained from Adana Province, cotton honey, mezda (local) orange and milk vetch –thyme honeys with *S.cerevisiae*-Narince 3 yeast and milk vetch –thyme, orange and cotton honeys with *S.cerevisiae* yeast. While determining the phenolic contents of meads via HPLC method, five phenolic acids (gallic acid, protocatechuic acid, syringic acid, *p*-cumaric acid, ferulic acid) and two flavonoids (quercetin and catechin) were used as standards which were known as antioxidant properties. Among phenolic acids, the most abundant one was protocatechuic acid (75.12-179.03 ppm) and among flavonoids it was catechin (10.38-125.55 ppm). While gallic acid, protocatechuic acid, catechin and *p*-cumaric acid were detected in all samples, gallic acid was detected only the sample fermented with *S.cerevisiae*-Narince 3 yeast and cotton-mezda honey. Besides, total phenolic content by the Folin-Ciocalteu method and total antioxidant activity using trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) were analysed in honey wines. It was found out that phenolic content expressed as gallic acid equivalent ranged from 103.56 mg/L to 167.89 mg/L.

April 2010, 50 pages

Key Words: Mead, phenolic compounds, TEAC, HPLC

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam ve araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri, yardım ve tecrübesiyle desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. R.Ertan ANLI' ya, (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) çalışmamın deneysel aşamalarında benden yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Mustafa BAYRAM'a, (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) analizlerin yapılmasında desteklerini esirgemeyen işyerindeki meslektaşlarım ve özellikle Gıda Mühendisi Aydın KERİMOĞLU'na, çalışmalarımın HPLC analizi kısmında bana yardım eden Doç. Dr. Ender S. POYRAZOĞLU'na, (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) çalışmalarım süresince daima yanımda olan ve hayattaki her türlü zorluğu aşmamda bana destek olan aileme ve arkadaşlarıma en derin duygularla teşekkür ederim.

Hüsne AKALIN
Ankara, Nisan 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET……i
ABSTRACT……ii
TEŞEKKÜR……iii
SİMGELER DİZİNİ……vi
ŞEKİLLER DİZİNİ……vii
ÇİZELGELER DİZİNİ……viii
GİRİŞ……1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI……3
2.1 Balın Bileşimi ve Fiziksel Özellikleri……6
2.2 Bal Şarabı……12
3. MATERYAL ve YÖNTEM……15
3.1 Materyal……15
3.2 Yöntem……15
3.2.1 Bal analizleri……15
3.2.1.1 Nem tayini……15
3.2.1.2 Asitlik tayini……15
3.2.1.3 Hidroksimetil furfurol tayini……16
3.2.1.4 Toplam şeker, invert şeker ve diastaz sayısı tayinleri……16
3.2.2 Bal şarabının hazırlık ve üretim aşamaları……16
3.2.3 Bal şarabı analizleri……17
3.2.3.1 Kimyasal analizler……17
3.2.3.1.1 Toplam asitlik tayini……17
3.2.3.1.2 Uçar asitlik tayini……17
3.2.3.1.3 Toplam alkol tayini……17
3.2.3.1.4 Yoğunluk tayini……17
3.2.3.1.5 pH analizi……17
3.2.3.2 Fenolik bileşenlerin HPLC ile analizi……17
3.2.3.3 Duyusal analiz……18
3.2.3.4 Toplam fenol analizi……18
3.2.3.5 Toplam antioksidan analizi……19
3.2.3.6 İstatistiksel analiz……19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA……20
4.1 Bal Örneklerinin Bileşimine Ait Araştırma Bulguları……20
4.2 Bal Şaraplarının Bileşimine Ait Araştırma Bulguları……21
4.3 Bal Şaraplarının Fermantasyon Gelişim Kurvelerine Ait Araştırma Bulguları……23
4.4 Bal Şarabı Fenoliklerine Ait Araştırma Bulguları……34
5. SONUÇ……38
KAYNAKLAR……40
EKLER……43
EK 1 Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae* örneğine (1 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı……44
EK 2 Çiçek balı[1], *S.cerevisiae* örneğine (2 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC Kromatogramı……45
EK 3 Çam balı, *S.cerevisiae* örneğine (3 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC Kromatogramı……46

EK 4 Çiçek balı[2], *S.cerevisiae* örneğine (4 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC Kromatogramı……..…47
EK 5 Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 örneğine (5 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı……..48
EK 6 Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 örneğine (6 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı……...…49
ÖZGEÇMİŞ…….……..50

SİMGELER DİZİNİ

CE	Kapiler Elektroforez
GAE	Gallik Asit Ekivalanı
HMF	Hidroksimetil furfurol
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
MS	Kütle Spektrofotometresi
ORAC	Oksijen Radikal Absorbans Kapasite
ppm	Milyonda Bir Parça
TEAC	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
TGKY	Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği
TS	Türk Standardı

KISALTMALAR

Çiçek balı[1]	Çiçek balı (Adana bölgesi)
Çiçek balı[2]	Çiçek balı (Sivas bölgesi)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Çiçek balının[1] *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……..…23

Şekil 4.2 Çiçek balının[1] *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……..…..…24

Şekil 4.3 Çam balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……....24

Şekil 4.4 Çam balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……...…25

Şekil 4.5 Pamuk Mezda karışım balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……...…25

.

Şekil 4.6 Pamuk Mezda karışım balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi…….26

Şekil 4.7 Çiçek balının[2] *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi…….26

Şekil 4.8 Çiçek balının[2] *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim Kurvesi……...27

Şekil 4.9 Mezda balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi…….27

Şekil 4.10 Mezda balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……..…28

Şekil 4.11 Pamuk balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……..28

Şekil 4.12 Pamuk balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……..…29

Şekil 4.13 Keven-Kekik balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……..…29

Şekil 4.14 Keven-Kekik balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……....30

Şekil 4.15 Portakal balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi…….30

Şekil 4.16 Portakal balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi……...…..31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 A.B.D.'de 490 bal örneği ile yapılan analizler sonucu elde edilen ortalamalara göre balın bileşimi ……7

Çizelge 2.2 Balın ürün özellikleri ……...11

Çizelge 3.1 Bal şarapları için HPLC çalışma koşulu ve gradient elüsyon programı…...18

Çizelge 4.1 Bal örneklerinin bileşimi……..……20

Çizelge 4.2 Farklı ekolojik bölgelere özgü bal örneklerine ait şarapların kimyasal analiz sonuçları……22

Çizelge 4.3 Bal şaraplarının duyusal değerlendirilmesi …….32

Çizelge 4.4 Bal şarabı üretiminde fermantasyon süreleri ve öksele dereceleri……..….33

Çizelge 4.5 Bal şarabı örneklerindeki HPLC ile tespit edilen fenolik bileşiklerin konsantrasyonları…….….34

Çizelge 4.6 Bal şaraplarının toplam fenol ve antioksidan aktiviteleri…….35

Çizelge 4.7 Bazı fenolik bileşiklerin istatistiki analiz değerleri……..36

1. GİRİŞ

Bal şarabı, değişik oranlarda sulandırılmış balın fermantasyonu ile elde edilen alkollü bir içkidir. Prehistorik dönemlerden beri insanlar tarafından bilinen ve kökleri Babil dönemine kadar uzanan bal şarabı, günümüzde Yeni Zelanda'dan Amerika'ya İngiltere'den Güney Afrika'ya kadar dünyanın pek çok ülkesinde tüketilmektedir (Anonim 2004). Bal şarabı, günümüzde ekonomik ve ticari önemini büyük ölçüde yitirmekle birlikte yine de; Polonya, Rusya, Finlandiya, Etiyopya, Fransa, İngiltere, Çek Cumhuriyeti, Makedonya, Sırbistan gibi ülkelerde üretimi yapılmakta ve başta Fransa olmak üzere Kuzey Avrupa ülkelerinde hala sevilen ve ilgi çeken bir içecektir (Anonim 2009). Özellikle, Fransa'da "hydromel" olarak bilinen bal şarabı çok popüler olup, alkol derecesi hacmen 8 ile 18 derece arasında değişmekte ve üretim şekline göre tatlı ya da sek olarak içilebilmektedir. Ayrıca, bal şarabı adına dünyada kulüpler kurulmakta, festivaller ve yarışmalar düzenlenmektedir. 1999 yılında ABD'de 28 ve dünya çapında 40 bal şarabı üreticisi varken, dünya çapında bal şarabına olan ilgi ve bal şarabı üreticilerinin sayısı gün geçtikçe artmaktadır (NHB 1999, bknz:http://www. talisman.com/mead/meadery.html).

Türkiye, yüksek yaylalarında, geniş ovalarında ve binlerce hektarlık ormanlarında çok zengin bir flora barındırmakta ve yüzlerce bitki türüne ev sahipliği yapmaktadır. Bu zenginlik kaliteli ve farklı çeşit ve lezzette bal üretimine olanak sağlamaktadır (Anonim 1999). Ancak, bal zengini Türkiye'de bal şarabı üzerine çok az çalışma yapılmıştır ve bal şarabı endüstriyel düzeyde üretilmemektedir.

Bu çalışmada, Türkiye'de yaygın olarak üretimi yapılan Pamuk, Çam, Keven-Kekik, Portakal, Çiçek ve Mezda balları kullanılmış ve her bir bal çeşidinden iki farklı şarap mayası kullanılarak mikrovinifikasyonla bal şarabı üretilmiştir. Elde edilen bal şaraplarında bazı fenol bileşenleri, kimyasal yapı ve duyusal özellikler yanında antioksidan kapasiteler belirlenerek, Türkiye florasından elde edilen farklı bal çeşitlerinden üretilen bal şaraplarının temel kimyasal kalite kriterleri ve antioksidan özellikleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışma ile, Türkiye florasından elde edilen farklı bal çeşitlerinin bal şarabı üretimine uygunluğu tespit edilerek bal şarabı üretiminin teşviki

ve farklı tip bal şaraplarının duyusal ve bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

Arıcılığın tarihçesi, insanlık tarihi kadar eskidir. Balın ve arıcılığın başlangıç tarihine ait tahminler binlerce yıl öncesine kadar gitmektedir. Bu tahmin, Fransa'da III. devir tabakalarında bulunan bir arı fosili ile daha belirgin hale gelmiştir (Tutkun 2000).

Bala ait ilk güvenilir bilgiler günümüzden 4.000 yıl öncesine ait bulunmaktadır. Mısır'da o dönemde arıcılığın göçebe olarak yapılmakta olduğu bilinmekteydi. Eski Mısırlılar kovanlarını mavnalara yükleyip Nil nehri üzerinde taşıyarak çeşitli bölgelerin bitki örtüsünden faydalanmışlardır. Son yıllarda Mısır'da yapılan araştırmalarda, Firavun mezarlarında, tahminen 3.200 yıl öncesine ait kurumuş halde bulunan bala rastlanmıştır. Tabletlerin okunmasından sonra Mısırlıların balı beslenme, dini ve tıbbi amaçlarla kullandıkları saptanmıştır.

İnsan tarafından bilinçli olarak üretimi M.Ö. 4000 yıllarına ve tüketimi ise daha eskilere dayanan bal, tarih boyunca insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemini almış, mağara resimlerine konu olmuş ve keşfedildiği günden bugüne değin besinler arasında dikkatleri üzerinde toplamayı başarmıştır.

Milattan 3.000 yıl önce Mezopotamya'da yaşayan Sümerler, balı bir ilaç gibi kabul ederek tedavi amacıyla kullanmışlardır (Tutkun 2000).

M.Ö. VI. asırda yaşamış olan Yunanlı filozof Pythagoras beslenme konusunda balın hayati kudretini belirten yazılar yazmış, haleflerine her sabah kahvaltıda bal yemek suretiyle hastalıktan salim ve uzun ömürlü olmalarını tavsiye etmiştir. Kendisi 90 yaşında ölmüş, ölmeden önce uzun ömürlülüğü, bal yeme alışkanlığına borçlu olduğunu söylemiştir.

Aristo (M.Ö. 350), balın yaralar ve ağrıyan gözler için iyi bir merhem olduğunu yazmıştır. Fizik tedavi hekimi Dioscorides (MS 40-90), güneş yanıkları ve yüzdeki lekeler için balın iyileştirici etkisi olduğunu, ayrıca tüm ağır ülser türlerinde

kullanılabileceğini kaydetmiştir. Yazar, balın boğazda ve bademciklerdeki iltihaplı yaraları tedavi ettiğini ve öksürüğü geçirdiğini de bildirmiştir.

Tıbbın babası sayılan Hippokrates, balı, hava ve suya eşdeğer olarak kabul etmiştir. Eski Yunanlılar, ölülerini çürümekten korumak amacıyla bal içinde saklamaktaydılar. Filozof Democrit ve Büyük İskender'in bu şekilde bal içine gömülmek suretiyle saklandıkları kaydedilmektedir. Keza Democrit 109 yaşında vefat etmeden önce, kendisine çok yaşamak için nasıl bir rejim yaptığı sorulduğunda "İçeriye bal, dışarıya yağ" diye cevap vermiştir (Tutkun 2000).

İnsan beslenmesinde alınması zorunlu görülen enerjinin çay şekeri olarak bilinen sakkaroz yerine balla alınması sağlık açısından ayrı bir öneme sahiptir. Sakarozun organizmada emilebilmesi için gerekli olan enzimler sindirim sistemi üzerinde tahriş edici bir etkisinin yanı sıra, aşırı sakaroz kullanımı kanda kolesterolün yükselmesine, damarların sertleşmesine ve aşırı kilo almalara neden olmaktadır (Doğaroğlu 2004). Baldaki şekerler ise doğrudan organ ve sistemler içerisine girerek hazır enerji olarak kullanılmaktadır. Bal, sindirime doğrudan etkili bir madde olup diğer besinlerin de daha iyi emilmesini ve bunlardan yararlanma düzeyini yükseltmektedir (Anonim 2004, Doğaroğlu 2004).

Prehistorik dönemlerden beri insanlar tarafından tanınan değerli bir gıda olan bal; bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı *Apis mellifera=Apis mellificia* tarafından toplandıktan sonra, kendine özgü maddelerle birleştirerek değişikliğe uğratılması, su içeriğinin düşürülmesi ve petekte depolanarak olgunlaştırılması sonucu oluşan doğal ürün olarak adlandırılır (Anlı vd. 1997). Bal, başlıca glukoz ve fruktoz gibi şekerleri ihtiva eder. Balın rengi su beyazından koyu kahverengine kadar değişebilir ve akıcı, viskoz, kısmen veya tamamen kristalize halde bulunabilir. Tadı ve aroması bitkinin türüne göre değişir (Zander 1975, Anonim 2002, Doğaroğlu 2004).

Ballar, kaynağına göre çiçek balı ve salgı balı olmak üzere temel olarak iki sınıfa ayrılır.

- Çiçek balı: Bitki nektarlarından elde edilen baldır. (Ihlamur balı, yonca balı, turunçgil balı, pamuk balı, üçgül balı, kekik balı, püren balı, akasya balı, funda balı vb.)
- Salgı balı: Bitkilerin canlı kısımlarının salgılarından veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin-Hemiptera-salgılarından elde edilen baldır (Çam balı, meşe balı, köknar balı, yaprak balı vb.) (Anonim 2005).

Türkiye'de üretilen farklı bal çeşitlerinin kimyasal yapısı ve biyolojik aktiviteleri üzerinde araştırmacılar bazı çalışmalar yapmış ve toplam asitlik, toplam fenol değerleri gibi özelliklerini incelemişlerdir. Küçük vd. (2007) Anadolu'ya özgü üç farklı balda kimyasal yapıyı ve invitro olarak biyolojik aktiviteleri saptamışlar, aynı zamanda balların kül, toplam protein, invert şeker, diastaz aktivitesi, HMF ve asitlik gibi kimyasal özelliklerini saptamışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre Anadolu bağları antimikrobiyel ve antioksidan özellikler bakımından zengin bir kaynak olarak değerlendirilmiştir.

Andrae vd. (1997), değişik floralardan elde edilen çiçek ballarında, Kapiler Elektroforez (Capillary Zone Electrophoresis-CZE) yöntemiyle yaptıkları bir araştırmada, 26 farklı fenolik bileşene rastlamışlardır. Çok farklı fenolik bileşene rastlanmasının nedeni, bal örneklerinin farklı bitki floralarından elde edilmesi ile açıklanabilir.

Arráez-Román vd. (2006), bal örneklerinde Kapiler Elektroforez (CE) ve Kütle Spektrofotometresi (MS) yardımıyla kaempferid, quersetin, chrysin, kaempferol, pinobanksin, pinocembrin, myricetin gibi fenolik bileşiklerini tespit etmişlerdir.

Ferreira vd. (2009), Portekiz ballarının antioksidan aktivitesi üzerine bütün örneklerin birleşimini ve fenolik ekstraktlarını dikkate alarak çalışmalar yapmışlardır. Ayrıca numunelerin fenol, flavonoid, askorbik asit, likopen ve şeker içeriklerini de tespit etmişlerdir. En yüksek antioksidan içeriğinin koyu renkli ballarda olduğu sonucuna varmışlardır.

Bertoncelj vd. (2007), Slovenya'daki en bilindik 7 bal çeşidinin rengi, fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteleri üzerine bir araştırma yapmışlardır. Toplam fenol içeriğini Folin-Ciocalteu metodu ile ve antioksidan aktivitesini ise FRAP testi ile belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, toplam fenol içeriği, antioksidan aktivite ve renk parametreleri bal örneklerinde çeşitlilik göstermektedir. Açık renk balın en düşük, koyu renk balın ise en yüksek antioksidan içeriğine sahip olduğunu saptamışlardır. Benzer bir çalışmada, Aljadi ve Kamaruddin (2004), iki çeşit Malezya balında aynı yöntemlerle toplam antioksidan ve toplam fenol içeriklerini araştırmışlar ve antioksidan aktivite ile fenolik yapı arasında pozitif bir korelasyonun olduğu sonucuna varmışlardır.

Yao vd. (2003), Avustralya ve Yeni Zelanda ballarında HPLC yöntemiyle flavonoid, fenolik asit ve absisik asit içeriği üzerine bir çalışma yapmışlardır. Avustralya ballarında myricetin, luteolin ve tricetin başta olmak üzere 15 çeşit flavonoid, Yeni Zelanda ballarında ise quersetin, isorhamnetin, chrysin ve luteolin tespit edilmiştir. Fenolik asit içeriğine bakıldığında ise, Avustralya ballarında gallik ve kumarik asit; Yeni Zelanda ballarında ise gallik asit ana bileşen olarak tespit edilmiştir.

Yine, Yao vd. (2004), Shimadzu Class-VP HPLC sistemi ile, sadece Avustralya'ya özgü 9 okaliptüs balının fenolik asit içeriğini incelemişlerdir. Gallik, klorojenik, kumarik ve kafeik asidin bütün okaliptus ballarında mevcut olduğunu, gallik asidin ise, bir bal çeşidi hariç, diğer bütün balların ana fenolik maddesi olduğunu saptamışlardır. Liang vd.'nin (2009) yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise, Çin'deki turunç ballarında HPLC-ECD yöntemi ile kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve hesperetinin olduğunu tespit etmişlerdir.

2.1 Balın Bileşimi ve Fiziksel Özellikleri

Bal, içeriğindeki maddelerin çeşitliliği nedeniyle oldukça karmaşık yapıya sahiptir. Çeşitli yörelere ve elde ediliş zamanlarına göre de oldukça farklı yapılar gösterebilmektedir. Bu nedenle balın bileşimi ile ilgili analizler oldukça geniş sayıda örnek içermektedir. A.B.D.'de White (1975) tarafından 490 bal örneği ile yapılan analiz

sonuçlarının ortalamalarına göre balın bileşimi çizelge 2.1'de gösterildiği gibi saptanmıştır.

Çizelge 2.1 A.B.D.'de 490 bal örneği ile yapılan analizler sonucu elde edilen ortalamalara göre balın bileşimi (White 1975)

Bileşimi Oluşturan Maddeler	**Oranları (%)**
Su	17.20
Şekerler	79.59
Fruktoz (D-Fruktoz, Meyve Şekeri)	38.19
Glikoz (D-Glikoz, Üzüm Şekeri)	31.28
Sakaroz (Çay Şekeri)	1.31
Maltoz ve Diğer İndirgenmiş Şekerler	7.31
Yüksek Şekerler	1.50
Asitler	0.57
Ham Protein	0.26
Kül	0.17
İz Elementler	2.21

Genel yapı ile karbonhidratlı olan balın, kuru maddesinin % 95-99'unu şekerler oluşturur. Şekerler genellikle viskozite, nem çekme özelliği, enerji değeri, kristalizasyon gibi balın fiziksel yapısından sorumludur. Balda bulunan şekerlerin önemli bir kısmını ise glikoz ve fruktozdan oluşan invert şekerler meydana getirmektedir. Bu şekerlerin oranları nektarın yapısına göre değişmektedir. Balın bileşiminde bulunan şekerler molekül yapılarına göre üç gruba ayrılır:

a) Monosakkaritler: fruktoz ve glikoz
b) Disakkaritler: sakaroz, maltoz, izomaltoz, turanoz
c) Polisakkaritler: I-kestoz, melezitoz, rafinoz, erloz

Balın reaksiyonu asit karakterdedir. Ancak baldaki şekerler asitliğin fark edilmesini güçleştirmektedir. Balda bulunan asitler sadece balın tad ve lezzetine katkıda

bulunmayıp, balda mikroorganizma gelişimini önleyici etkiye sahiptir. Birçok mikroorganizma asitli ortamı sevmez. Balın olgunlaşma süreci içinde arılar asitliği artırmaktadır. Baldaki malik, sitrik ve formik asitler doğada bitkilerin bileşiminde geniş ölçüde vardır ve balın içinde bulunması normal bir durumdur.

Balda kesin olarak tespit edilen asitler; asetik, butirik, sitrik, formik, oksalik, glukonik, laktik, malik, süksinik asittir.

Balın mineral madde kapsamı çok olmamakla birlikte, mineral alımını artırmak için bazı diyetlerde şeker yerine verilebilmektedir. Balda en fazla bulunan mineral maddeler sırasıyla Potasyum (K), Kalsiyum oksit (CaO), Kükürt (S), Klor (Cl), Kalsiyum (Ca), Fosfor (P), Magnezyum (Mg) ve Silisyum oksit (SiO)'dir.

Yapılan analizlerde, koyu renkli balların madensel maddeler bakımından açık renkli ballara oranla daha zengin olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca canlılar için büyük önem taşıyan iz elementlerden Bakır (Cu), İyot (I), Demir (Fe), Çinko (Zn) da balda eseri miktarda bulunmaktadır.

Bal proteince zengin bir besin maddesi olmamasına karşın, sayıca zengin bir aminoasit kaynağına sahip bulunmaktadır. Bulunan aminoasitler; lisin, histidin, arginin, aspartik asit, treonin, serin, glutomik asit, prolin, glisin, alanin, sistin, valin, methionin, lösin, izolösin, tirosin, fenilalanin ve triptofan.

Ballarda nem miktarı önemli bir faktördür. Çünkü balın esası yoğun şeker solüsyonu olduğundan, özgül ağırlığı ve bozulmadan kalabilmesi, yapısındaki su miktarı ile yakından ilişkilidir. Balın nem miktarına; bitki kaynağı, sıcaklık, yağışlar, sırlanma durumu, süzme ve pazarlama sırasında yapılan işlemler ve balın olgunlaşma derecesi gibi faktörler etkili olmaktadır. Olgunlaşmış bir balda standarda göre nem miktarının % 23'ü geçmemesi gerekmektedir. Fakat depolama sırasında bir güçlükle karşılaşmamak için en ideali, balda nem miktarının % 17-18 civarında olmasıdır.

Isıya karşı hassasiyetinden dolayı enzimler, özellikle beslenme açısından bal kalitesinin belirleyicisi olarak kullanılmaktadır. Çünkü balın biyolojik ve besleyici kalitesi, yapısında bulunan enzimlerin tahrip edilip edilmemesi ile yakından ilgilidir. Bal enzimleri, doğal ve yapay ballar arasındaki farklılıklar için bir işaret olarak kullanılmaktadır. Balda en fazla rastlanan enzimler; diastaz, invertaz ve katalaz'dır. Bunun yanı sıra maltaz, laktaz, proteaz, oksidaz gibi enzimlerin de balda eser miktarda bulunduğu saptanmıştır. Saf ve hiçbir şekilde ısıtılmamış balda enzim miktarı oldukça fazladır. Özellikle diastaz enzimi ısıya karşı dayanıksız olduğundan balda yapılabilecek herhangi bir hile veya tahşiş, bu enzim miktarında meydana gelen azalma ile belirlenebilir.

Balda ısı etkisi sonucunda Hidroksimetil furfurol (HMF) oluşmaktadır. Ayrıca balda bazı toksik maddeler, lipidler, karboniller, esterler ve biyolojik aktivite gösteren mikroorganizmalar (özellikle maya sporları) bulunmaktadır (Tutkun 2000).

Balların doğal olup olmadıkları flavonoid bileşiklerin varlığı ile kanıtlanmaktadır. Balda bulunan flavonoid bileşikler şunlardır: Myricetin, tricetin, quercetin, luteolin, kaempferol, pinocembrin, isorhamnetin, pinobanksin ve genkwanindir (Artık 2004).

Balda bulunan baskın bitki türü, balın tadını ve lezzetini belirlemektedir (Zander 1975, Anonim 2002). Ayrıca balın bileşiminde bulunan şekerler değişik oranlarda bulunduğundan ve bunlar da farklı tatlara sahip olduklarından tüm ballar farklı tatlara sahip olmaktadırlar.

Aynı şekilde balın kokusu da bitki türlerine göre büyük farklılık gösterdiğinden balın oluşumu sırasında, bitki türlerinin katılımı oranında elde edilen balın da yöreden yöreye ve hatta aynı arılıkta bulunan kovandan kovana büyük değişiklikler görülebilmektedir (Doğaroğlu 2004). Bu nedenle bal, elde edildiği bitki türüne özgü tat ve koku içermektedir.

Avrupa'da kendine özgü koku ve tadı belirlenen kolza, yonca, akasya, portakal, lavanta, kestane, ıhlamur vb. ballar vardır. Bu balların lezzet profilinde tarçın, çilek, vanilya, et

suyu tatlarında oldukları belirlenmiştir. Bazen meyve, baharat ve çiçek kokuları da bu balların özgün kokularını oluşturmuştur (Zander 1975).

Balın rengi su beyazından koyu kahverengine kadar değişebilmektedir (Anonim 2002). Balların rengi, doğrudan doğruya bitki türüne ve nektar çeşidine bağlıdır. Balın rengi, bileşimini oluşturan çeşitli maddelerin farklı dalga boyundaki ışınları değişik ölçülerde absorblanmasıyla oluşan optik bir özelliktir. Balda renk oluşumu optik özellikten başka yapısında bulunan karoten, klorofil türleri ksantofil ve diğer bazı renk maddelerinden de etkilenmektedir.

Viskozite, akışkanlığa karşı direnci ifade etmektedir. Balın viskozitesi balın bileşimine ve özellikle nem içeriğine bağlı bir özelliktir. Sıcaklık ve nem içeriği arttıkça viskozite azalmaktadır (Yanniotis vd. 2006). Koyu, yavaş akan ve kıvamlı bir balın viskozitesi yüksektir. Açık renkli ve gevşek bünyeli ballarda viskozite azdır, akıcılığı çok fazladır.

Bal, uzun yıllar sofralık olarak kullanılmış olmasına rağmen, daha sonra çeşitli sanayi kollarında da hammadde veya katkı maddesi olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Bal, son yıllarda ilaç, kozmetik ve gıda sanayinde kullanılmaktadır. Standart dışı kabul edilen ve sofralık olarak tüketilmeyen ballar, ABD, Kanada ve Avrupa'da özellikle hububat teknolojisinde çok eski yıllardan beri değerlendirilmektedir. Ballı ekmek, ballı çörek, ballı kraker ve ballı kek gibi çeşitli ürünler piyasaya sürülmüştür. ABD'de ekmek yapımında bal, una % 6 oranında karıştırılmaktadır. Bal, higroskopik (nem çekici) olduğu için, ballı ekmeğin bayatlaması 3-4 gün kadar gecikmekte, tazelik ve lezzeti kaybolmamaktadır. ABD'de sadece ekmek yapımında kullanılan yıllık bal miktarı yılda yaklaşık 25.000 ton'dur. Ülkemizde balın ekmeğe katılarak tüketilmesi henüz söz konusu değildir.

ABD ve Avrupa ülkelerinde bal, çeşitli pasta ve tatlı yapımında ve bebek mamalarının bileşiminde şeker yerine kullanılmaktadır. Rusya, Avrupa ülkelerinde ve Çin'de baldan şarap, likör ve sirke üretilmektedir (Yılmaz ve İnci 2002).

Balın özellikleri elde edildiği kaynağa göre değişmektedir. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Bal Tebliği'ne göre balın ürün özellikleri çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2 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)
Sakaroz (en fazla)	5 g/100g 15 g/100g (Yalancı akasya –*Robina psedoacacia*, adi yonca-*Medicago sativa, Banksia meziesii* çiçek balı, tatlı yonca-*Hedysarum*, kırmızı okaliptüs-*Eucalyptus camadulensis*, meşin ağacı-*Eucryhia lucida- Eucyrphia milliganii*, narenciye ballarında) 10 g/100g (Lavanta çiçeği-*Lavandula spp., Boraga officinalis* ballarında)	5 g/100g 10 g/100g (Kızıl çam *Pinus brutia* ve fıstık çamlarından *Pinus pinea* elde edilen salgı ballarında)	5 g/100g	5 g/100g
Fruktoz +Glukoz (en az)	100g'da 60 gram	100g'da 45 gram	100g'da 45 gram	-
Fruktoz / Glukoz	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
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 Cl3 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 Cl3 değerlerinden hesaplanan C4 şekerleri oranı (en fazla)	%7%10 (Kızılçam *Pinus brutia* ve fıstık çamlarından *Pinus pinea* elde edilen salgı ballarında)	%7 %10 (Kızılçam *Pinus brutia* ve fıstık çamlarından *Pinus pinea* elde edilen salgı ballarında)	%7	%7

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

2.2 Bal Şarabı

Bal, genellikle meyve ağaçlarının çiçeklerinden elde edilir ve şarabı meyve şarabı yapım yöntemlerine benzer yöntemle yapılır (Amerine ve Cruess 1960). Bal şarabı, değişik oranlarda sulandırılmış balın fermantasyonu ile elde edilen alkollü bir içkidir. Tipik rengi üretildiği balın rengine de bağlı olarak berrak sarımsıdan koyu kahverengiye kadar çeşitli olup alkol içeriği % 8-18 arasında değişmektedir. Ayrıca üretiminde kullanılan balın kaynağına, özelliklerine, kullanılan bal ve su oranına ve fermantasyonun sonlandırıldığı zamana göre farklı renk, tat ve sertlikte üretimi yapılmaktadır. Şişeleme prosesine bağlı olarak köpüklü ya da köpüren bal şarabı üretimi de yapılmaktadır (Pursley 1999).

Fermantasyonda şampanya ya da şarap mayası kullanılır. İstenilirse, hacmen % 18-20 alkole dek brendi ile fortifiye edilebilir. Asit dengeleyici olarak sitrik asit, maya besini olarak diamonyumfosfat, kalsiyum ve magnezyum klorür katılır (Fidan ve Anlı 2000, Gogol ve Tuszynski 1996).

İnsanlar ilk içkiyi, yabani arıların ağaç kovuklarına yaptıkları balı sulandırarak elde etmişlerdir. Sonraki yıllarda bal şarabının bazı yabancı otlar ve meyvelerle üretildiği görülmüştür.

Mead (med) olarak tanımlanan bal şarabının çok eski devirlere kadar uzandığını gösteren en gerçekçi kanıtlar, M.S. 100. yılda Kuzey Almanya'da bulunan içki kaplarıdır.

Bal şarabının eski Yunan ve Romalılar tarafından çok beğenilen ve anılan bir içecek olduğu, özellikle Plato, Plutrach, Theocritus ve Pliny gibi tanınmış filozofların eserlerinde yer almasından anlaşılmaktadır. Bal şarabının M.Ö.334 yıllarında Orta ve Kuzey Avrupa'da moda olduğu, hatta bal ve arpa karıştırılarak içki üretildiği kanıtlanmıştır. Bal şarabı Yunanistan'dan sonra Fransa, İspanya ve Portekiz'de önemli yer bulmuş, daha sonra Kuzey Avrupa'da yayılmıştır. 1600'lü yıllarda ise İngiltere'de önemli ölçüde tüketilmiştir (Crane 1976).

"Mead" adlı, bal ile yapılan içki, eski Avrupa'da biradan çok daha önce bilinmektedir. Bu içki aynı zamanda kutsal bir değer de taşımıştır. Çünkü harpte ölen kahramanlara Vallaha'da (harpte ölen kahramanların ruhlarının şenlik içinde yaşadıkları sanılan saray) bu içkiden ikram edildiği inancı vardı. İlkin yalnız bal şurubunun ihtimarı ile elde edilen bu içki, bilahare diğer şaraplarla da karıştırılmıştır. Eski bir Töton adetine göre, evlenen çift 30 gün müddetle Mead içmek itiyadında idi. Bu sebeple "Balayı" tabirinin ta o günlerden bize geldiği ifade edilmektedir (Tutkun 2000).

Bal şarabı üzerinde farklı yönde araştırmalar vardır. Bahiru vd. (2005), Etiyopya orijinli 200 farklı bal şarabını (tej) mikrobiyel flora açısından araştırmışlar *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyvermycces bulgaricus'* un dominant mayalar arasında olduğunu, laktik flora açısından da *Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc* ve *Pediococcus* türlerinin dominant türler olduğunu saptamışlardır.

Gençosman (2006), yüksek lisans çalışmasında, Edirne Arı Yetiştiriciliği birliğinden temin ettiği ayçiçeği balından şarap üretmiştir. Bal şarabı üretiminde, ticari şarap mayaları ve farklı ballardan izole edilmiş yabani mayalar kullanmıştır. Araştırıcı, bal şarabı yapımında en uygun mayanın "Gervin Wine Yeast Varietal B *S.cerevisiae* Narbonne Selection (GVY VB)" olduğunu tespit etmiştir. Bu mayanın, fermantasyonda şekeri fermente etme gücünü % 89, fermantasyon sonunda oluşturduğu alkol miktarını ise %12 v/v olarak saptamıştır.

Wintersteen vd. (2005), ısı uygulamasının, bal şarabının antioksidan aktivitesi ve uçucu tat maddelerine etkisi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Araştırmada kullandıkları iki çeşit bal şarabındaki fenolik bileşen içeriğini, HPLC metodu ile; antioksidan aktivitesini ise ORAC (Oxygen Radial Absorbance Capacity) testi ile belirlemişlerdir. Isının, bir bal şarabının toplam fenol içeriği üzerine hiçbir etkisi olmazken, diğerinde fark edilir derecede fenolik konsantrasyon artışı gözlenmiştir. Ayrıca ısının uçucu tat maddelerinde farklılık yarattığı sonucuna da varmışlardır.

Kahoun vd. (2008), 50 çeşit bal şarabında fenolik bileşenleri ve HMF içeriklerini incelemişlerdir. Şarapların fenolik içeriklerini HPLC-CAD yöntemiyle tespit

etmişlerdir. Araştırıcılar, kullandıkları örneklerde 25 fenolik bileşen tespit etmişler ve örneklerin %98'inde protokateşuik asit ve vanilik asit bulmuşlardır. Yine örneklerde (+)-kateşin ve sinapik asit en az rastlanan fenolik bileşenler olarak saptanmıştır.

Bal şarabı genel olarak, yapıldığı balın adına göre değil, yapımı aşamasında içeriğine eklenen birtakım ilave maddelere göre sınıflandırılmıştır (Pursley 1999).

Geleneksel Bal Şarabı: Sadece bal, su ve maya ile yapılan, bazen duyusal özellikleri dengelemek için az miktarda asit ilave edilen bal şarabıdır.

Metheglin: Bitkisel droglar, baharatlar ve tarçın ilave edilerek yapılan bir çeşit bal şarabıdır.

Melomel: Geleneksel bal şarabına meyve veya meyve sularının ilavesiyle üretilen bir çeşit bal şarabıdır.

Pyment: Üzüm veya üzüm suyu ile yapılan özel bir çeşit melomel'dir.

Cyser: Elma veya elma suyu ile yapılan özel bir çeşit melomel'dir.

Hydromel: Su oranı normalden daha fazla olan ve zayıf karakterli olarak nitelendirilen bal şarabıdır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada Karlıova balevinden temin edilen Keven-Kekik balı (Bingöl yöresi), Portakal balı (Adana Karataş Bölgesi, Portakal çiçeği), Mezda-Pamuk karışım balı, Mezda balı (Adana Aladağ Bölgesi), Pamuk balı (Urfa Harran-Siverek Bölgesi) ve Atatürk Orman Çifliği (A.O.Ç.) bal işletme tesislerinden elde edilen Çam balı (Aydın yöresi), Çiçek balı (Adana Bölgesi) ve Çiçek balı (Sivas bölgesi) kullanılmıştır. Her bir bal örneğinden 3 kg. tartılarak örnek alınmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Bal analizleri

Bal örneklerinde nem tayini, serbest asitlik, HMF, invert şeker, toplam şeker ve diastaz sayısı TS 3036 bal standardına göre yapılmıştır (Anonim 2002).

3.2.1.1 Nem tayini

Bal örneklerinin 20 °C'de dijital refraktometre ile (Kyoto Electronics, Ra510, 1998) kırılma indisi ölçülmüş ve bal için bildirilen tablo kullanılarak kırılma indisi değerine göre nem içeriği bulunmuştur (Anonim 2002).

3.2.1.2 Asitlik tayini

Ballarda asitlik, titrimetrik metot ile saptanmıştır. Tartılan ballar, su ile seyreltildikten sonra, fenolftalein indikatörüne karşı, ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edildi ve 1 kg baldaki asitlerin toplam mili eşdeğer sayısı hesaplanarak asitlik değerleri bulunmuştur (Anonim 2002).

3.2.1.3 Hidroksimetil furfurol tayini

Balda bulunan ve karbonhidratların ısıtılmasından oluştuğu bilinen hidroksimetil furfurol, para-toluidin ve barbitürik asit ile renkli bir maddeye dönüştürüldükten sonra, oluşan renkli çözeltinin absorbansı Shimadzu Uv1601 Spektrofotometre'de ölçülmüş ve buradan hidroksimetil furfurol içeriği hesaplanmıştır (Anonim 2002).

3.2.1.4 Toplam şeker, invert şeker ve diastaz sayısı tayinleri

Balda toplam şeker ve invert şeker (baldaki glikoz ve fruktoz) tayini ve diastaz sayısı tayini TS 3036 bal standardına göre belirlenmiştir (Anonim 2002).

3.2.2 Bal şarabının hazırlık ve üretim aşamaları

Her bir bal çeşidi distile suyla sulandırılarak öksele değerleri 95'e; asitlik ise sitrik asit katımı ile (4 g/l) yaklaşık olarak 3'e ayarlanmıştır. Arı balı düşük konsantrasyonda azotlu bileşikler içerdiğinden, maya yemi olarak azotlu bileşiklerin katımı zorunludur (Fidan ve Anlı 2000). Bu amaçla bal şıralarına amonyum sülfat (0,15 g/l) katılmıştır. Yine alkol fermantasyonu süresince mayaların gelişimi için B_1 (Tiamin Mononitrat) vitamini ilave edilmiştir.

Fermantasyon, 2,5 litrelik dar ağızlı şişelerde, her bir bal şırasına *S.cerevisiae* (Oenoferm Rouge, Erbslöh, Germany) (4g/l oranında) ve Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan sağlanan saf kültür *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası inoküle edilerek başlatılmıştır. İnokülasyon öncesinde her iki maya için bal şırası ve sıcak su karışımından 30-35 °C sıcaklıkta besiyeri hazırlanmış ve mayalar bu besiyerinde 1 gün bekletildikten sonra fermantasyon ortamlarına ilave edilmiştir.

Fermantasyon kontrollü olarak sürdürülmüş ve şaraplarda fermantasyon gidişi yoğunluk ölçümü ile izlenerek fermantasyon gelişim kurveleri çizilmiştir. Fermantasyon her iki

şarap için de 23-25 °C sıcaklıkta sürdürülmüştür. Şaraplar daha sonra aktarma ile tortudan ayrılmış ve hava almayacak şekilde ağızları kapalı olarak saklanmışlardır.

3.2.3 Bal şarabı analizleri

3.2.3.1 Kimyasal analizler

3.2.3.1.1 Toplam asitlik tayini

Bal şarabı örneklerinde, toplam asitlik sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edilerek Fidan (1975)'e göre yapılmıştır.

3.2.3.1.2 Uçar asitlik tayini

Bal şaraplarında uçucu asitlik buharlı damıtma ile Fidan (1975)'e göre belirlenmiştir.

3.2.3.1.3 Toplam alkol tayini

Bal şaraplarında alkol tayini, şaraptaki alkolün damıtılmasıyla Fidan (1975)'e yapılmıştır.

3.2.3.1.4 Yoğunluk tayini

Bal şaraplarında yoğunluk, SG: hidrometre vasıtasıyla Anonymous (1989)'a göre bulunmuştur.

3.2.3.1.5 pH analizi

Bal şarabı örneklerinde pH, Jenway pH-metre ile Anonymous (1989)'a göre belirlenmiştir.

3.2.3.2 Fenolik bileşenlerin HPLC ile analizi

Fenolik madde ekstraksiyonu sonucu elde edilen örnekler vorteksle karıştırıldıktan sonra HPLC kolonuna enjekte edilmiştir. Tüm analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Bal şarabı örneklerinin fenolik bileşiklerinin analizi için HPLC çalışma koşulları ve gradient elüsyon programı çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Bal şarapları için HPLC çalışma koşulu ve gradient elüsyon programı

HPLC çalışma koşulu			Gradient elüsyon programı		
			süre	A (%)	B (%)
Model	:	Shimadzu	0	7	93
Kolon	:	Intersil ODS-3 (250x4.6 mm, 5µm ID)	10	7	93
Kolon Fırını	:	CTO-10A SVp	55	17	83
Sistem Kontrol Ünitesi	:	SCL-10 AVp			
Dedektör	:	PDA			
Pompa	:	LC-10 ADVp			
Mobil Faz	:	A:Asetonitril			
	:	B: % 0.1 fosforik asit (w/v) içeren su			
Dedeksiyon	:	280 nm			
Akış Hızı	:	1 ml/dk			
Kolon Sıcaklığı	:	40 °C			
Enjeksiyon Hacmi	:	20 µl			

3.2.3.3 Duyusal analiz

Fermantasyonunu tamamlayan bal şaraplarında duyusal test, 5 panelistin katılımıyla 20 puan üzerinden pozitif puanlama yöntemine göre yapılmıştır (Spurrier ve Dovaz 1986).

3.2.3.4 Toplam fenol analizi

Toplam fenol analizi, Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her bir bal şarabı örneğinden 10 ml cam tüplerin içine alınmış, üzerlerine 2.5 mL % 10'luk Folin-Ciocalteu ayracı eklenmiş, vortex'de karıştırıldıktan sonra 3 dakika Na_2CO_3 ile reaksiyona sokulmuş ve vortex'de karıştırılmıştır. Renk değişimi, 15 dakika sonra 765 nm'de absorbans değerler okunarak ölçülmüştür (Shimadzu Uv1601 Spektrofotometre). Kalibrasyon kurvesi gallik asit standardına göre hazırlanmış (0-50-

100-150-200 mg/ml) ve sonuçlar gallik asit ekivalanı (GAE) olarak verilmiştir (Wintersteen vd. 2005).

3.2.3.5 Toplam antioksidan analizi

Gıdaların toplam antioksidan aktivite düzeyinin belirlenmesinde çok sayıda yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle belirlenen, standart bir antioksidan maddeye göre gıdanın serbest radikali bağlama veya oksidasyonu durdurma gücüdür. Standart antioksidan olarak genellikle sentetik bir E vitamini olan TROLOX kullanılmaktadır. Uygulanan yönteme göre toplam antioksidan kapasite; TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity) veya DPPH (Diphenyl Picrylhydrazyl Scavenging Activity) olarak tanımlanmaktadır. Bu araştırmada antioksidan kapasitenin belirlenmesi için TEAC yöntemi (3) uygulanmış, bu amaçla bal şarabı örneklerinin antioksidan kapasitesi, 0,025 – 0,0450 mmol/L TEAC içeren çözelti dizisi ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

3.2.3.6 İstatistiksel analiz

Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak SPSS programı ve ANOVA testine göre değerlendirilmiştir (Özdamar 1997).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Bal Örneklerinin Bileşimine Ait Araştırma Bulguları

Bu çalışmada öncelikle bal örneklerinde HMF, invert şeker, toplam şeker, serbest asitlik, nem ve diastaz aktivitesi analizleri altı tekrar üzerinden yapılmıştır. Çizelge 4.1'de araştırmada kullanılan bal örneklerinin bileşimleri görülmektedir. Her bir kimyasal analiz değeri Türk Standartları Enstitüsü'nün (TSE) değerleri ile karşılaştırıldığında, bütün değerlerin kabul edilebilir aralıklarda olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.1 Bal örneklerinin bileşimi

	PAMUK	*ÇİÇEK [1]	MEZDA	KEVEN-KEKİK	*MEZDA-PAMUK	PORTAKAL	*ÇAM	*ÇİÇEK[2]	TGK Bal Tebliği
HMF (mg/kg)	15,93	36,16	4,80	17,12	12,04	8,77	18,75	10,17	Max. 40
İNVERT ŞEKER (% kütlece)	75,96	64,02	66,83	62,30	58,14	64,05	63,28	69,45	Min. 60
SAKAROZ (% kütlece)	3,64	4,76	3,27	0,45	1,93	0,79	2,27	1,56	Max. 5
TOPLAM ŞEKER (% kütlece)	79,60	68,78	70,10	62,75	60,07	64,84	65,55	71,01	Min. 45
ASİTLİK (mmol/kg)	25,90	27,20	30,30	24,65	35,18	19,08	31,17	27,12	Max. 40
NEM (%)	15,80	16,08	14,74	15,13	16,08	17,19	16,20	14,67	Max. 20
DİASTAZ SAYISI	17,90	23,00	23,00	17,90	23,00	17,90	23,00	29,40	Min: 8.0

[1]: Adana Bölgesi
[2]: Sivas Bölgesi
* işareti bulunan ballardan bal şarabı üretimi gerçekleştirilmiştir.
1) HMF = Hidroksimetil furfurol, invert şeker, toplam şeker, asitlik, rutubet ve diastaz sayısı tayinleri Mart 2002 tarih ve TS 3036 sayılı Bal Türk Standardına göre yapılmıştır.
2) Analizler 6'şar tekrar üzerinden yapılmış olup, ortalama değerler tabloya konmuştur ($z<0,5$)

Ballar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında, en fazla su miktarının Portakal balında olduğu görülmektedir. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) Bal Tebliğine göre bal örneklerinde nem % 20'den fazla olmamalıdır. Bu değer, balların su miktarlarının belirtilen sınırlarda olduğunu göstermektedir (Anonim 2005). Balın nem miktarına; bitki kaynağı, sıcaklık, yağışlar, sırlanma durumu, süzme ve pazarlama sırasında yapılan işlemler ve balın olgunlaşma derecesi gibi faktörler etkili olmaktadır. Nitekim,

Abu-Tarboush, Al-Kahtani ve El-Sarrage (1993) tarafından balların su içeriğinin bitki kaynağı ile ilintili olduğu belirtilmiştir.

Ballarda, Mezda-Pamuk balı invert şeker miktarı en az olan bal olarak saptanmış olup, değeri % 58,14'tür. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği, çiçek ve salgı balı karışımında ağırlıkça en az % 45 invert şeker bulunabileceğini belirtmektedir (Anonim 2005).

Sakaroz miktarları da çizelge 4.1'de gösterildiği değerlerde olup, bu değer standartlara göre en fazla kütlece % 5 olmalıdır (Anonim 2005). Saptanan miktarlar bu sınırlar içindedir.

Şekerler ile aminoasitler arasında ısıl işlem ile oluşan HMF, balın kalitesi açısından önemli bir kriterdir (Artık 2004). HMF taze balda düşük konsantrasyonda bulunur ve balın işlenmesi sırasında uygulanan ısıl işlem derecesine ve depolama sıcaklığına bağlı olarak miktarı artar (Tosi vd. 2002). HMF balda 40 mg/kg sınırını aşmamalıdır (Anonim 2005). Ballarda, Çiçek (Adana) balının HMF değeri en yüksek olan bal olarak saptanmış olup, değeri 36,16 mg/kg'dır.

Diastaz sayısı balın tazeliğinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yüksek kaliteli balın yüksek diastaz aktivitesine sahip olması beklenir. Ballarda diastaz sayısı en düşük olan ballar, Pamuk ve Portakal balı olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine göre diastaz sayısı en az 8 olmalıdır (Anonim 2005). Saptanan değerler bu sınırlar içindedir.

Ballarda asitlik, 19,08 ile 35,18 mmol/kg değerleri arasında tespit edilmiş olup, Türk Standardına göre asitlik en fazla 40 mmol/kg olabilir.

4.2 Bal Şaraplarının Bileşimine Ait Araştırma Bulguları

Bal şaraplarında toplam asitlik, uçucu asitlik, toplam alkol (% v/v), yoğunluk, ve pH analizleri iki tekrar üzerinden yapılmıştır. Ballardan elde edilen şarapların genel bileşimleri çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Farklı ekolojik bölgelere özgü bal örneklerine ait şarapların kimyasal analiz sonuçları

Bal Şarabı Örnekleri	**Kimyasal Analizler**				
	Toplam Asitlik (g/L) (tartarik asit cinsinden)	**Uçar Asit (g/L) (asetik asit cinsinden)**	**Alkol (% v/v)**	**Yoğunluk (g/mL)**	**pH**
Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*	7.35	0.280	10.19	1.004	2.99
Çiçek balı[1], *S.cerevisiae*	8.64	0.736	9.20	1.008	2.91
Çam balı, *S.cerevisiae*	7.50	0.240	10.19	1.010	3.10
Çiçek balı[2], *S.cerevisiae*	6.51	0.764	11.38	1.006	2.74
Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3	7.50	0.680	8.72	1.011	3.03
Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3	9.91	0.480	9.29	1.009	2.98

[1]: Adana Bölgesi
[2]: Sivas Bölgesi

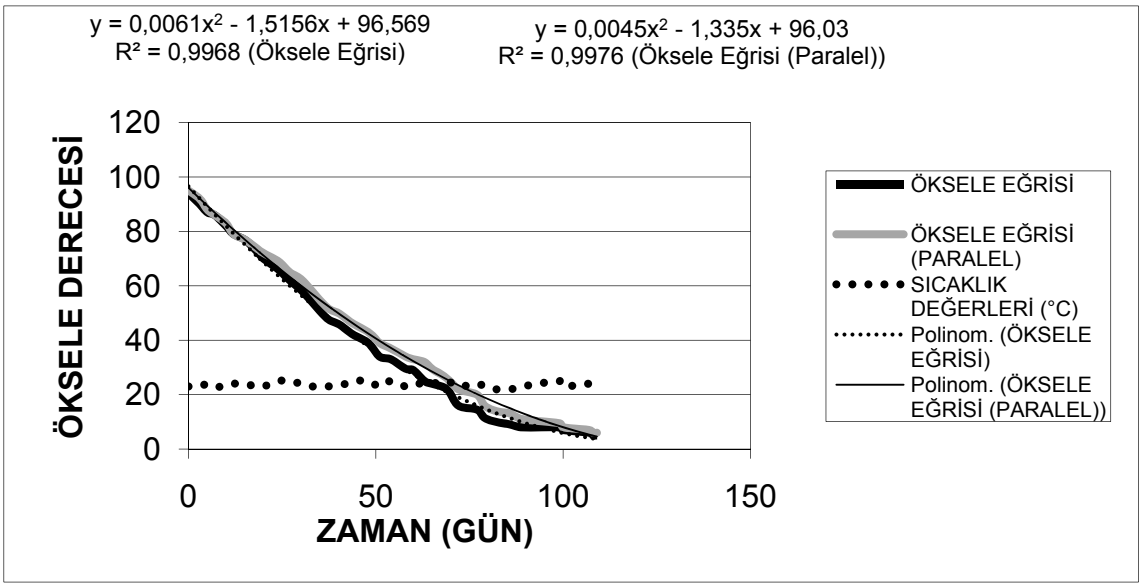
Alkol fermantasyonu sonucunda bir yan ürün olarak ortaya çıkan organik asitler, fermantasyon sırasında ortam pH'sını azaltarak, fermantasyon hızının azalmasına neden olurlar (Sroka ve Tuszynski 2007). Sroka ve Tuszynski (2007), 1:2(v/v) ve 1:3(v/v) oranında hazırladıkları karabuğday bal şaraplarında toplam asit miktarını sırasıyla 4,1 g/l ve 3,8 g/l; uçucu asitlik miktarını ise sırasıyla 1,0 ve 0,6 g/l olarak tespit etmişlerdir. Yine Anlı vd. (1997) A.O.Ç. bal işletmesinden sağlanan ayçiçek, pamuk ve çam balından elde ettikleri bal şaraplarında genel asit içeriğini 6.6 ile 7.1 g/l aralığında; uçar asit miktarını ise 0,71 ile 0,82 g/l aralığında saptamışlardır. Araştırmada kullanılan bal şarapları örneklerinde toplam asitlik (tartarik asit cinsinden) 6.51 ile 9.91 g/l arasında; uçar asitlik ise 0.24 ile 0.764 g/l arasında değişmiştir.

Wintersteen vd. (2005), ısı uygulamasının, bal şarabının antioksidan aktivitesi ve uçucu tat maddelerine etkisi üzerine yaptıkları bir araştırmada, bal şaraplarının alkol içeriğini % 6.44 ile11.49 olarak tespit etmişlerdir. Yine araştırmada kullanılan bal şaraplarında alkol içeriği, 8.72-11.38 değerleri arasında tespit edilmiş olup, saptanan değerler Wintersteen vd. (2005)'nin bulduğu değerlerle paralellik arz etmektedir.

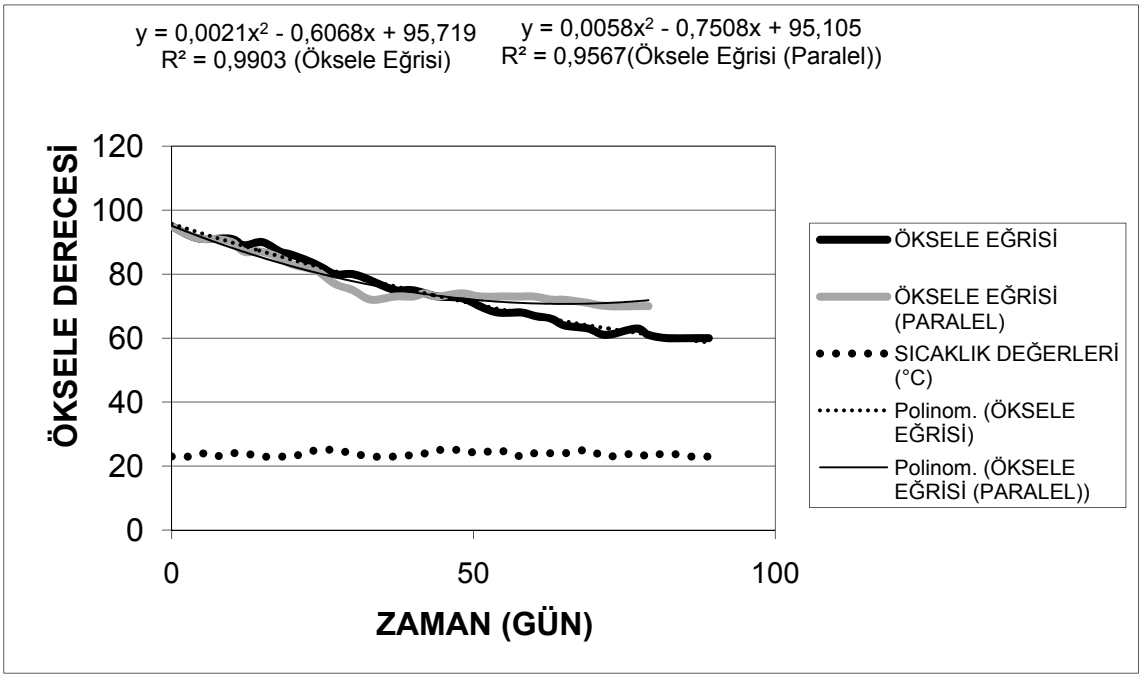
Bal şaraplarının yoğunluk ve pH değerleri örnekler arasında çok farklılık göstermemekle birlikte, *S.cerevisiae* mayası ile üretilen Çiçek balı[2] şarabının 2.74 olan pH değeri, diğerlerine oranla daha düşük olarak tespit edilmiştir.

4.3 Bal Şaraplarının Fermantasyon Gelişim Kurvelerine Ait Araştırma Bulguları

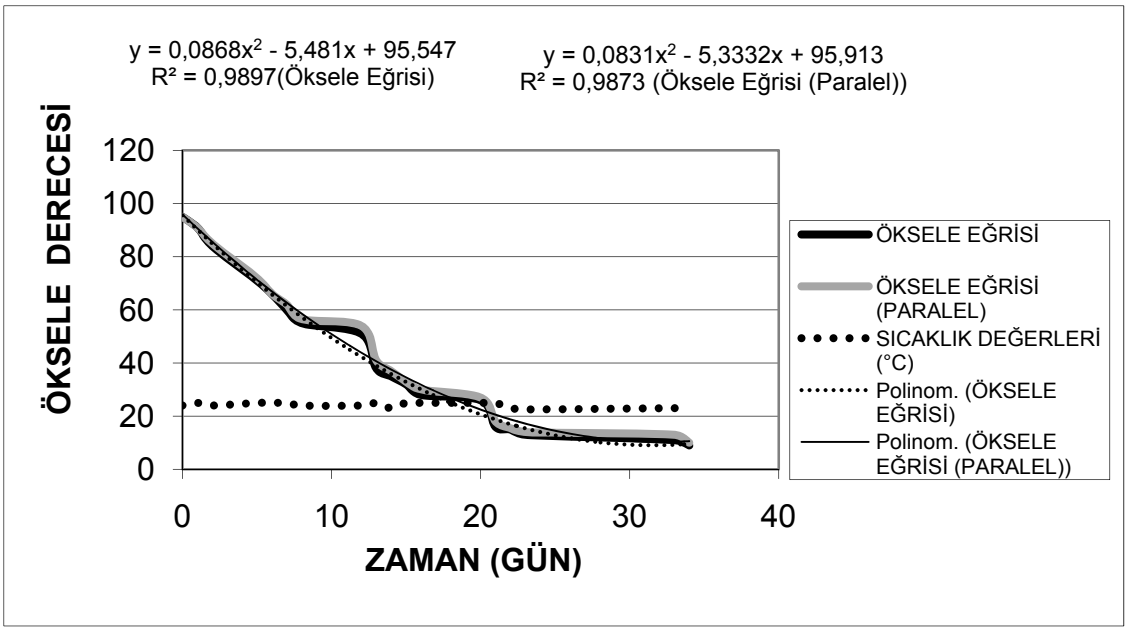
Şaraplarda fermantasyon gidişi yoğunluk ölçümü ile izlenerek fermantasyon gelişim kurveleri çizilmiştir (Şekil 4.1-4.16).



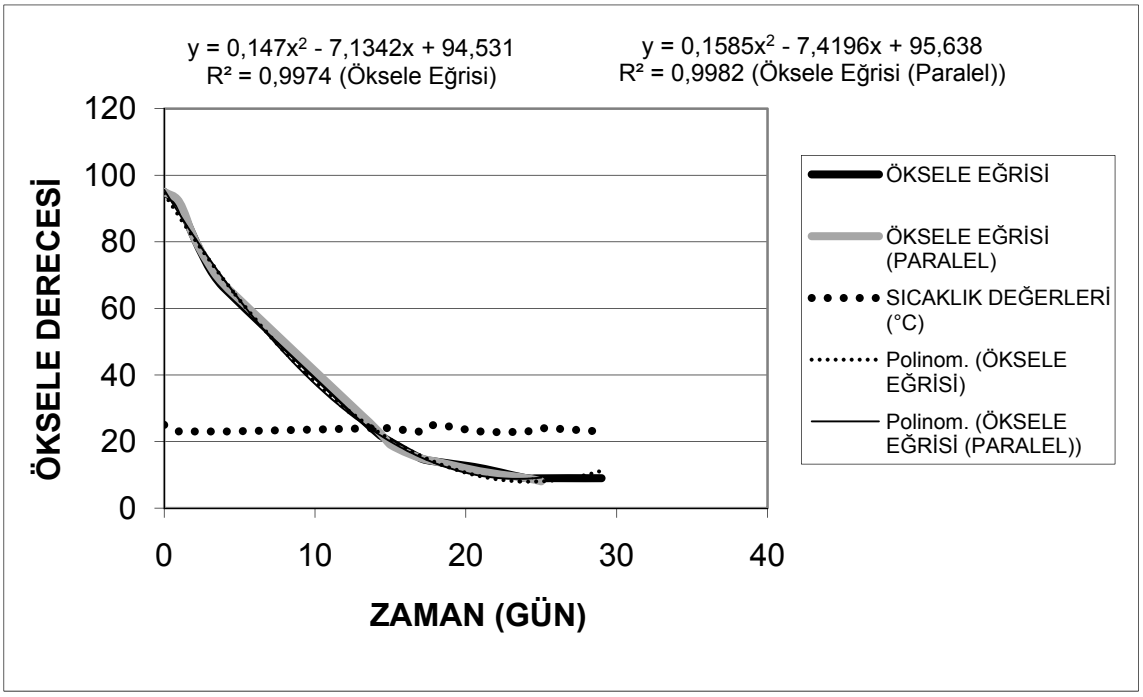
Şekil 4.1 Çiçek balının[1] *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



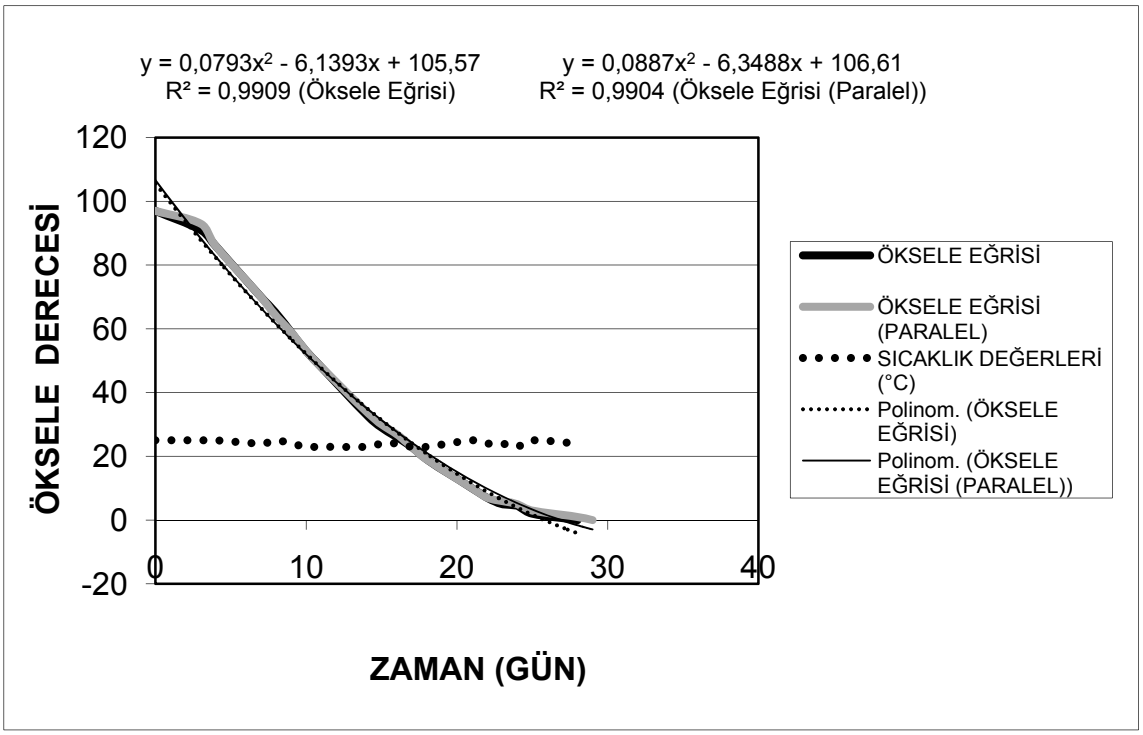
Şekil 4.2 Çiçek balının[1] *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



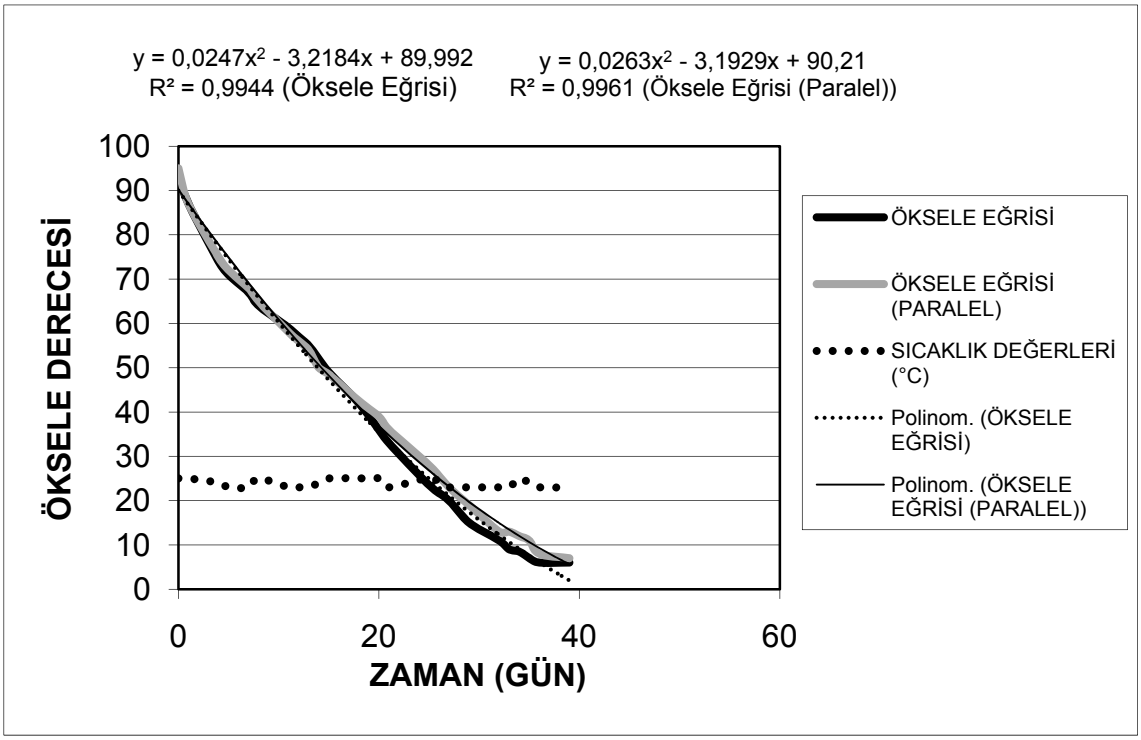
Şekil 4.3 Çam balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



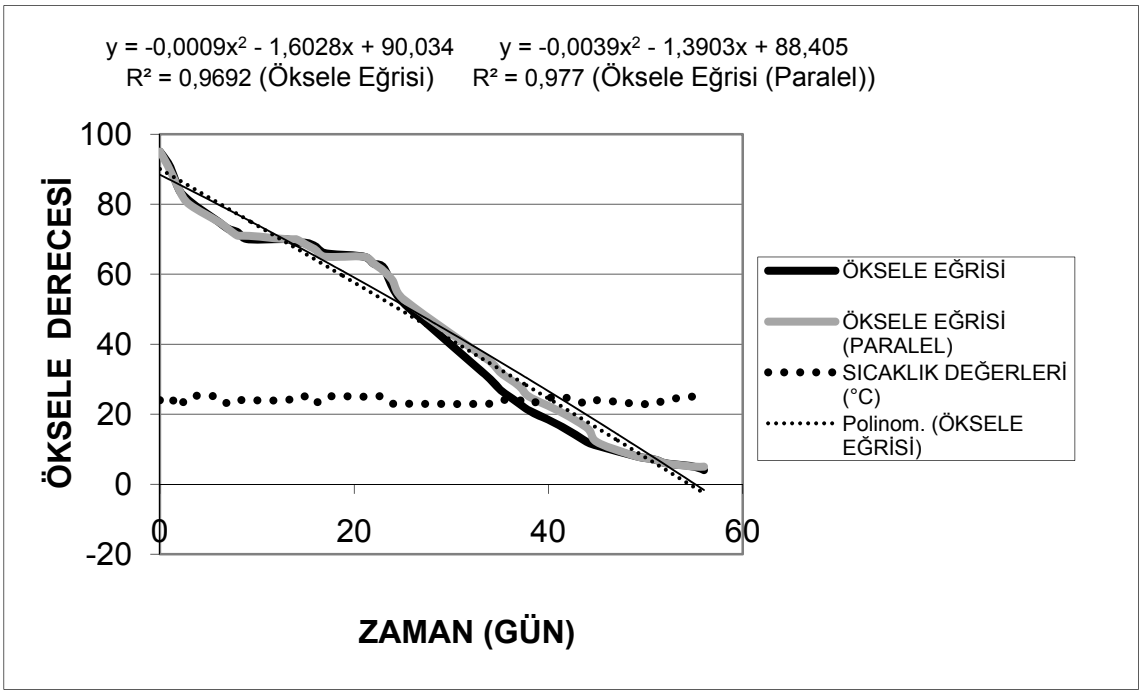
Şekil 4.4 Çam balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



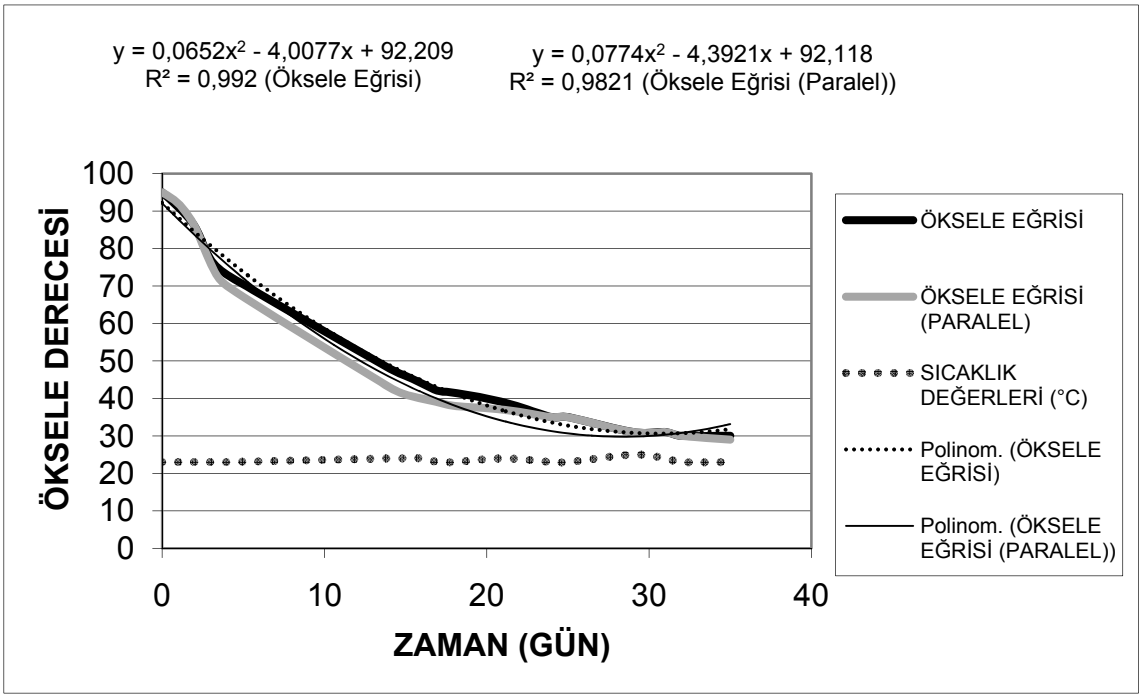
Şekil 4.5 Pamuk Mezda karışım balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



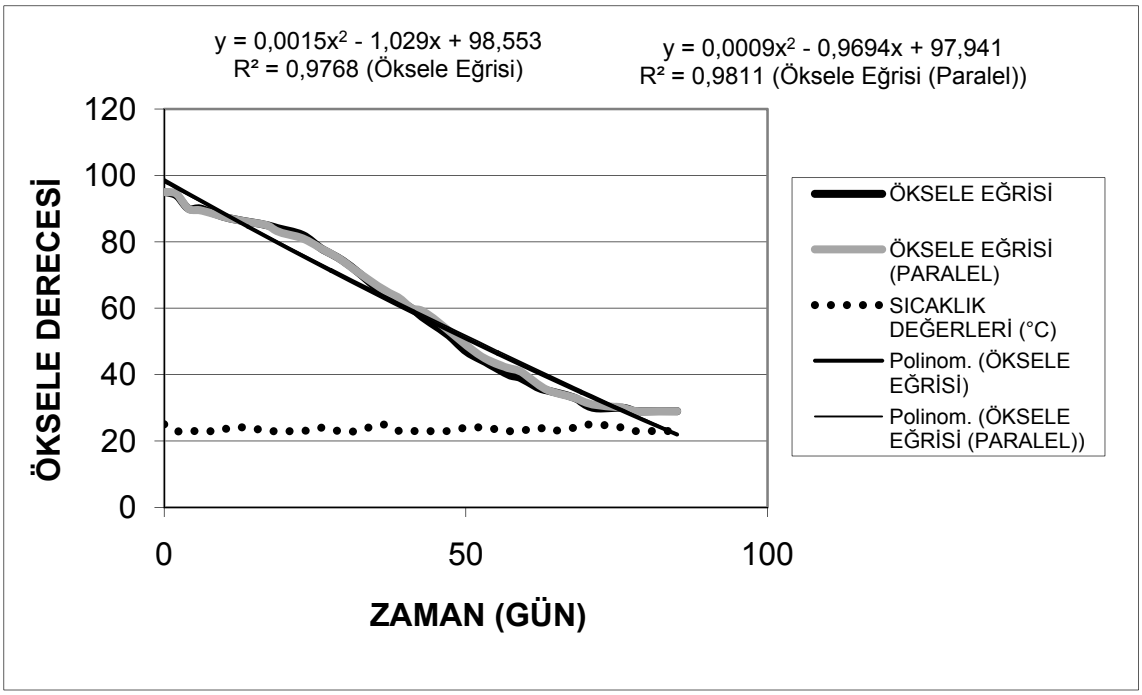
Şekil 4.6 Pamuk Mezda karışım balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



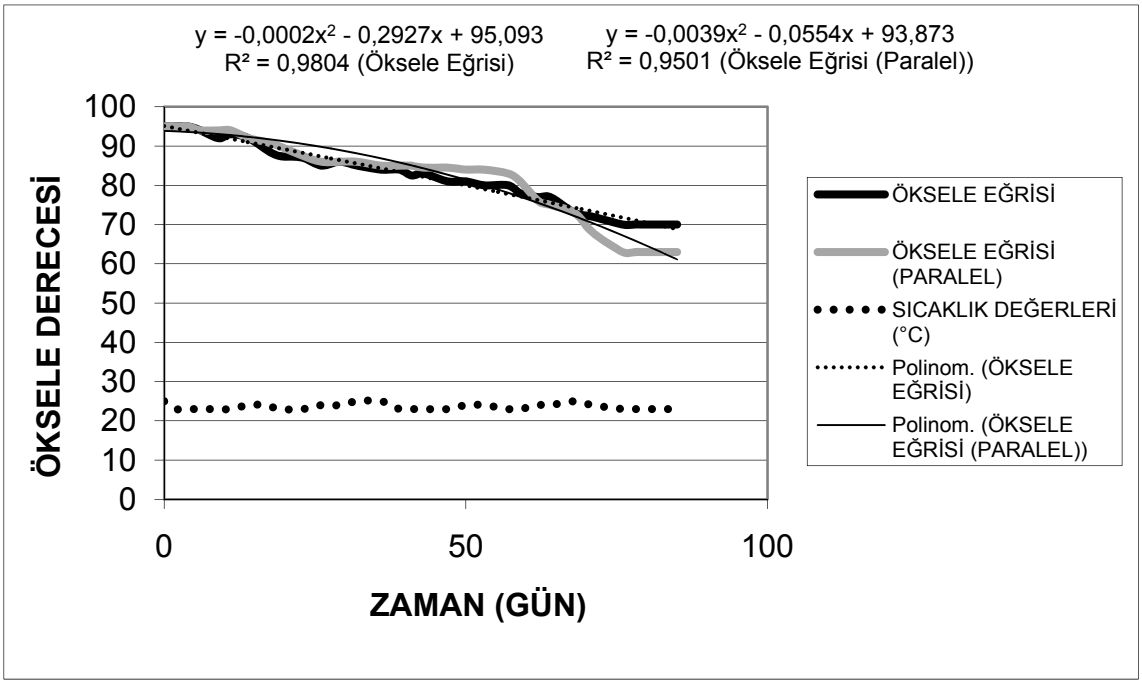
Şekil 4.7 Çiçek balının[2] *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



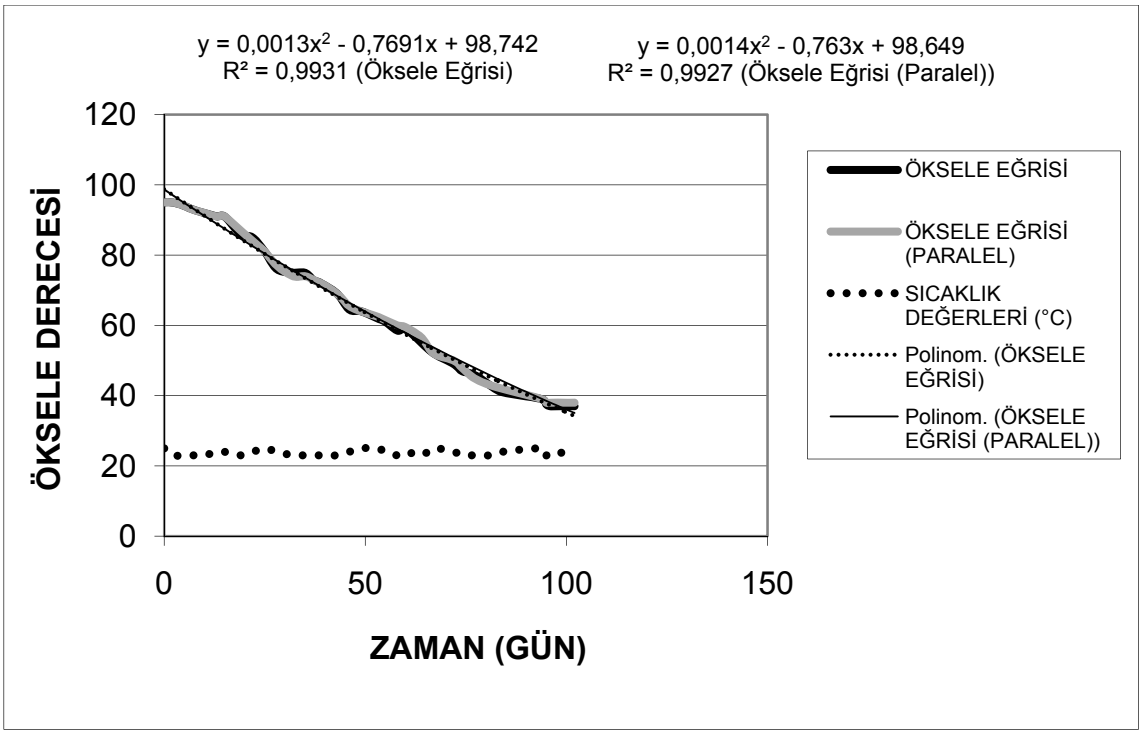
Şekil 4.8 Çiçek balının[2] *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



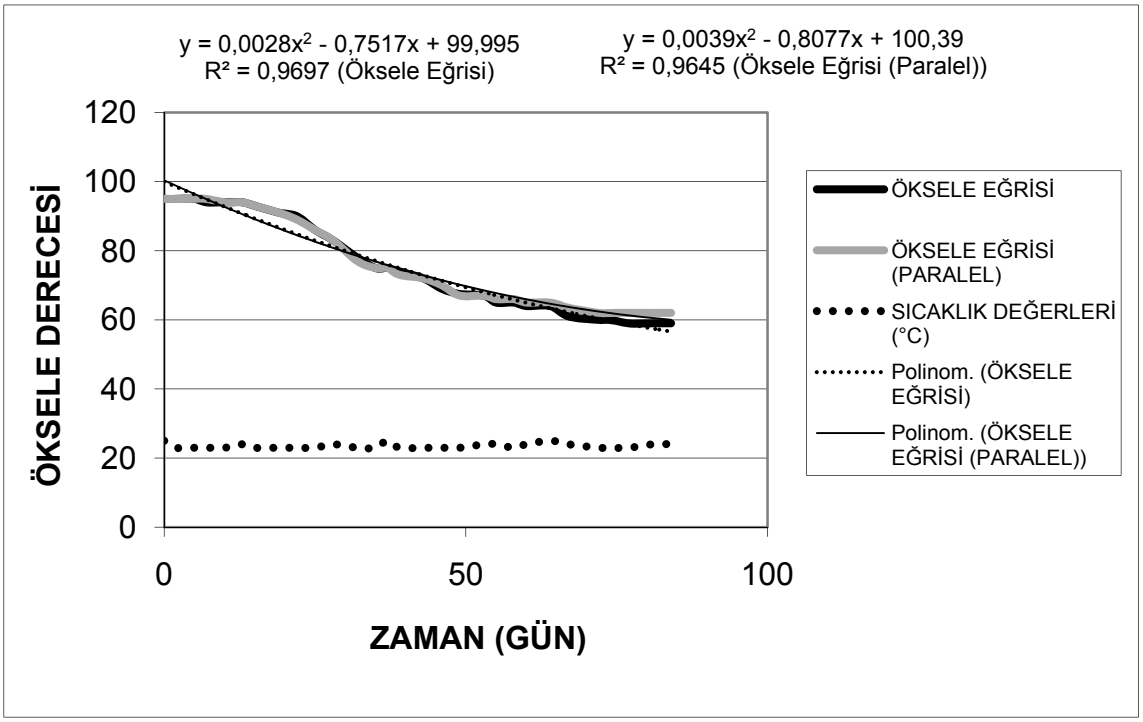
Şekil 4.9 Mezda balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



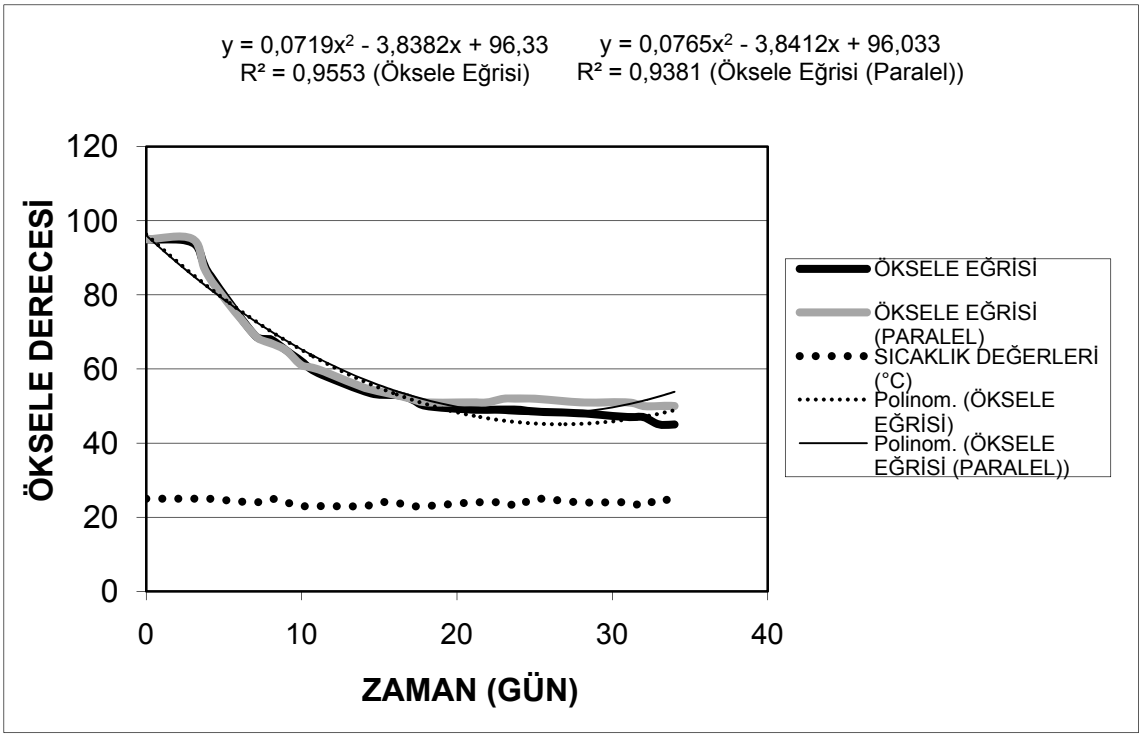
Şekil 4.10 Mezda balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



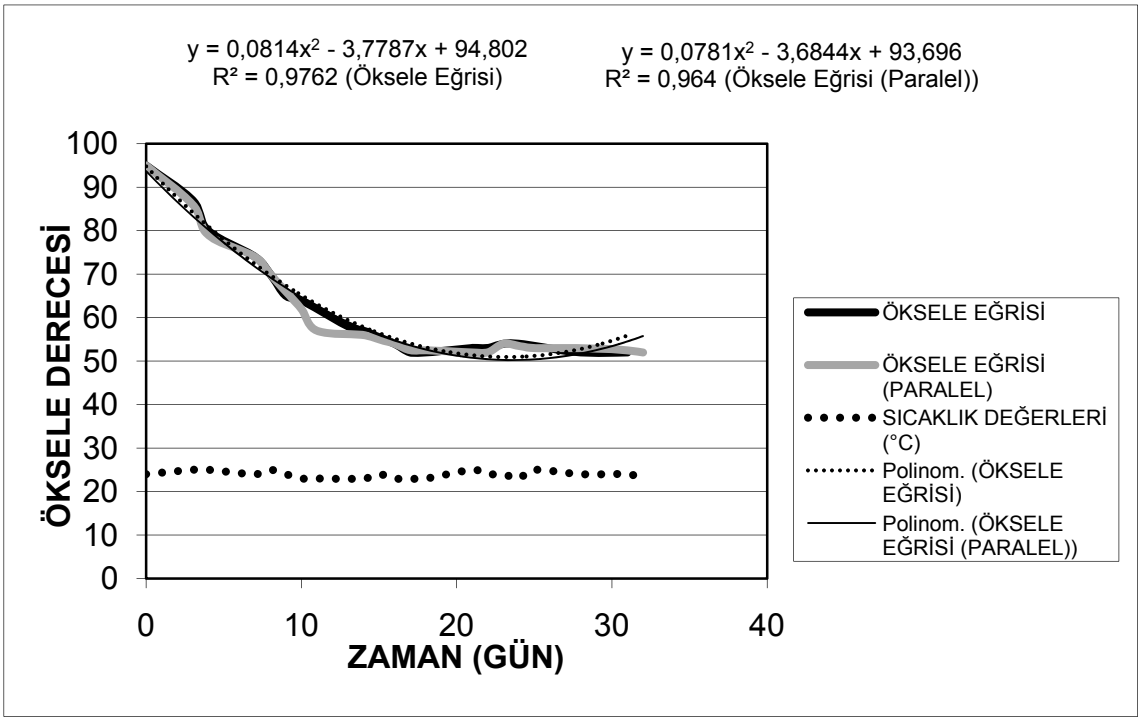
Şekil 4.11 Pamuk balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



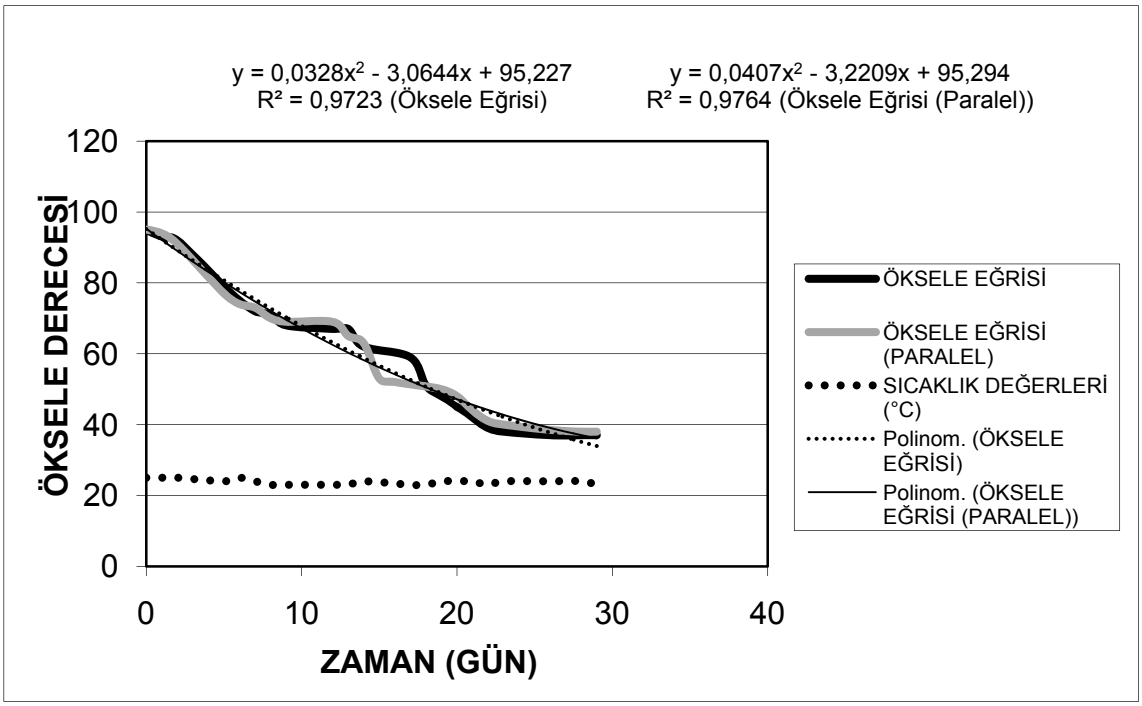
Şekil 4.12 Pamuk balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



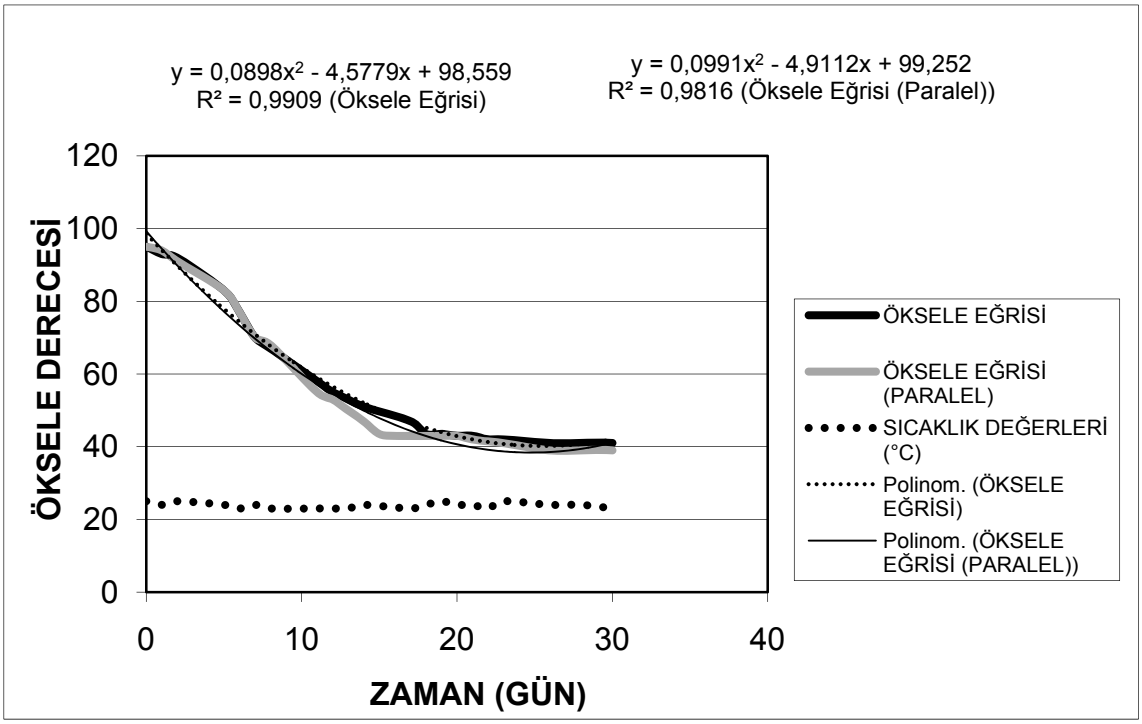
Şekil 4.13 Keven-Kekik balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



Şekil 4.14 Keven-Kekik balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



Şekil 4.15 Portakal balının *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi



Şekil 4.16 Portakal balının *S.cereviae*-Narince 3 mayası ile fermantasyon gelişim kurvesi

Ballardan elde edilen şarapların fermantasyon gelişim kurveleri incelenildiğinde, şaraplar arasında, *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası kullanılarak üretilen Çam balı şarabının fermantasyon süresi en kısadır (25 günde öksele derecesi: 8). Bunu *S.cerevisiae* mayası ile üretilen Pamuk Mezda balı şarabı izlemiştir (29 günde öksele derecesi: 0).

S.cerevisiae-Narince 3 mayası ile üretilen Çiçek balı[2] ile *S.cerevisiae* mayası kullanılarak üretilen Mezda balı şaraplarının öksele dereceleri 29'a kadar inmiş ve fermantasyon daha fazla ilerlemeyerek tatlı bal şarapları üretilmiştir. Diğer yandan, Pamuk balı, Keven-Kekik balı ve Portakal balının her iki mayayla; Çiçek balı[1] ve Mezda balının *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası ile fermantasyonları belli bir noktaya kadar devam etmiş ve durmuştur.

Çizelge 4.3 Bal şaraplarının duyusal değerlendirilmesi (20 puan-Pozitif Puanlama)

		Renk (0-4)	Koku (0-4)	Tat (0-6)	Denge (0-6)	Toplam Puan * (0-20)
Çiçek balı[1]	*S.cerevisiae*	3	3	5	5	16
	S.cerevisiae-Narince 3	3	2	4	3	12
Çam balı	*S.cerevisiae*	2	3	4	3	12
	S.cerevisiae-Narince 3	2	2	3	3	10
Pamuk-Mezda balı	*S.cerevisiae*	3	5	4	5	17
	S.cerevisiae-Narince 3	3	4	4	4	15
Çiçek balı[2]	*S.cerevisiae*	3	4	5	5	17
	S.cerevisiae-Narince 3	3	4	4	5	16
Mezda balı	*S.cerevisiae*	3	4	4	5	16
	S.cerevisiae-Narince 3	3	3	3	4	13
Pamuk balı	*S.cerevisiae*	3	4	4	4	15
	S.cerevisiae-Narince 3	3	5	4	4	16
Keven-Kekik balı	*S.cerevisiae*	3	3	5	4	15
	S.cerevisiae-Narince 3	3	3	5	4	15
Portakal balı	*S.cerevisiae*	2	2	4	5	13
	S.cerevisiae-Narince 3	2	2	4	5	13

* Toplam puanlar, ekstrem değerlerin çıkartılması ile oluşturulmuştur.

Sonuçlar duyusal açıdan değerlendirildiğinde; Çiçek balı[2] ve Pamuk-Mezda ballarının diğer örneklere göre panelde daha yüksek not aldıkları görülmektedir. Ayrıca, genel olarak *S.cerevisiae* kültür mayası ile üretilen bal şaraplarının *S.cereviae*-Narince 3 mayasının starter kültür olarak kullanıldığı örneklere kıyasla daha başarılı sonuç verdiği belirlenmiştir. Ancak, pamuk balında farklı olarak *S.cereviae*-Narince 3 kültürü daha başarılı bulunmuştur (Çizelge 4.3). Çiçek ve pamuk-mezda karışım balları, genel olarak bal şarabına uygun örnekler olarak değerlendirilebilir. Diğer yandan, duyusal analiz sonuçları üzerinde balların fermantasyonunu tamamlayıp tamamlayamadıklarının da etkili olduğu düşünülmektedir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Bal şarabı üretiminde fermantasyon süreleri ve öksele dereceleri

		Fermantasyon Süresi (gün)	Ö	Fermantasyon Süresi (P)	Ö (P)
Çiçek balı[1]	*S.cerevisiae*	109	5	109	6
	S.cerevisiae-Narince 3	89	60	79	70
Çam balı	*S.cerevisiae*	34	9	34	10
	S.cerevisiae-Narince 3	29	9	25	8
Pamuk-Mezda balı	*S.cerevisiae*	28	0	29	0
	S.cerevisiae-Narince 3	39	6	39	7
Çiçek balı[2]	*S.cerevisiae*	56	4	56	5
	S.cerevisiae-Narince 3	35	30	35	29
Mezda balı	*S.cerevisiae*	85	29	85	29
	S.cerevisiae-Narince 3	85	70	85	63
Pamuk balı	*S.cerevisiae*	102	37	102	38
	S.cerevisiae-Narince 3	84	59	84	62
Keven-Kekik balı	*S.cerevisiae*	34	45	34	50
	S.cerevisiae-Narince 3	31	52	32	52
Portakal balı	*S.cerevisiae*	29	37	29	38
	S.cerevisiae-Narince 3	30	41	30	39

Ö: Öksele derecesi, P: Paralel

Çizelge 4.4'te bal şaraplarının fermantasyon süreleri ve fermantasyon sonundaki öksele dereceleri gösterilmiştir. Bu değerlere göre, Çiçek balı[1] ve Çiçek balının[2] *S.cerevisiae* mayası, Çam balı ve Pamuk-Mezda balının her iki mayayla şarap verme yeteneklerinin iyi oldukları sonucuna varılmıştır.

4.4 Bal Şarabı Fenoliklerine Ait Araştırma Bulguları

Araştırmada kullanılan altı bal şarabı örneğinde, HPLC yöntemiyle tespit edilen fenolik bileşik kromatogramları EKLER'de belirtilmiştir. Bu çalışma ile beş fenolik asit ve iki flavonoid olmak üzere toplam yedi fenolik bileşik saptanmıştır. Tespit edilen fenolik bileşikler, gallik asit, protokateşuik asit, kateşin, syrinjik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve kuersetindir.

Araştırmada kullanılan bal şarabı örneklerindeki fenolik bileşiklerin konsantrasyonları ise çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Fenolik asitler arasında en fazla konsantrasyona sahip bileşen protokateşuik asit, flavonoidler arasında ise kateşin olarak tespit edilmiştir. Protokateşuik asit için değerler, 75.12'den 179.03 ppm arasında, kateşin için ise 10.38'den 125.55 ppm arasında değişmiştir.

Çizelge 4.5 Bal şarabı örneklerindeki HPLC ile tespit edilen fenolik bileşiklerin konsantrasyonları

Bal Şarabı Örnekleri	**Fenolik Bileşenlerin Konsantrasyonları (ppm)**						
	Gallik asit	**Protokateşuik asit**	**Kateşin**	**Syrinjik asit**	***p*-kumarik asit**	**Ferulik *asit***	**Kuersetin**
Örnek 1	37.88	83.32	50.64	-	4.13	-	-
Örnek 2	50.78	107.49	125.55	-	2.95	-	-
Örnek 3	31.38	75.12	15.27	-	5.90	-	-
Örnek 4	88.10	179.03	10.38	-	3.37	16.87	16.60
Örnek 5	41.37	87.81	68.57	8.93	3.87	41.59	4.16
Örnek 6	45.57	112.08	14.18	-	4.12	2.44	3.38

Örnek 1: Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*; Örnek 2: Çiçek balı[1], *S.cerevisiae*; Örnek 3:Çam balı, *S.cerevisiae*; Örnek 4: Çiçek balı[2] , *S.cerevisiae*; Örnek 5: Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3; Örnek 6: Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3

Örnek 1'de, dört fenolik bileşen tespit edilmiştir. Syrinjik asit, ferulik asit ve kuersetin bulunmaz iken, bulunan ana bileşenler, çoktan aza doğru, protokateşuik asit, kateşin ve gallik asittir. Örnek 2 ve Örnek 3'te de, Örnek 1'deki aynı fenolik maddeler saptanmış olup, protokateşuik asit, kateşin ve gallik asit ana fenolik maddeleri oluşturmuştur. Örnek 4'te syrinjik asit dışındaki diğer bütün fenolik bileşenler tespit edilmiştir. Konsantrasyonları çoktan aza doğru, protokateşuik asit, gallik asit, ferulik asit, kuersetin, kateşin ve *p*-kumarik asit olarak sıralanmıştır. Örnek 5'te bütün fenolik bileşenlere rastlanmıştır. Konsantrasyonları çoktan aza doğru sırasıyla, protokateşuik asit 87.81 ppm, kateşin 68.57 ppm, ferulik asit 41.59 ppm, gallik asit 41.37 ppm, syrinjik asit 8.93 ppm ve p-kumarik asit 3.87 ppm olarak saptanmıştır. Örnek 6'da da Örnek 4'te olduğu gibi syrinjik asit dışındaki diğer bütün fenolik bileşenlere rastlanılmıştır. Wintersteen vd. (2005), ısı uygulamasının, bal şarabının antioksidan

aktivitesi ve uçucu tat maddelerine etkisi üzerine bir araştırma yapmışlar ve karabuğday ve soya bal şaraplarında, *p*-kumarik asit, kuersetin, pinobanksin ve pinoçembrin gibi fenolik maddeleri saptamışlardır. Kahoun vd. (2008), 50 çeşit bal şarabının fenolik içerikleri üzerine yaptıkları bir araştırmada, 25 fenolik bileşen tespit etmişlerdir. Ana fenolik bileşenlerin konsantrasyonları ise, vanillin için 0.12 ile 54.8 mg/L, klorojenik asit için 0.16 ile 14.1 mg/L, etilvanillin için 0.050 ile 31 mg/L ve gallik asit için 0.04 ile 6.63 mg/L değerleri arasında değişkenlik göstermiştir.

Gallik asit, protokateşuik asit, kateşin ve *p*-kumarik asit örneklerin %100'ünde de tespit edilmiştir. Diğer yandan, syrinjik asit ise sadece Örnek 5'te görülmüştür. Kahoun vd. (2008), 50 çeşit bal şarabında fenolik bileşenleri ve HMF içeriklerini inceledikleri bir araştırmada, örneklerde 25 fenolik bileşen tespit etmişler ve örneklerin % 98'inde protokateşuik asit ve vanilik asit bulmuşlardır. Yine örneklerde (+)-kateşin ve sinapik asit en az rastlanan fenolik bileşenler olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.6 Bal şaraplarının toplam fenol ve antioksidan aktiviteleri

	Toplam Fenol (mg/L GAE)[a]	**Toplam Antioksidan aktivite (mmol TE/L)***
Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*	116.67	3.11
Çiçek balı[1], *S.cerevisiae*	121.23	3.89
Çam balı, *S.cerevisiae*	103.56	2.16
Çiçek balı[2], *S.cerevisiae*	167.89	4.13
Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3	113.45	2.92
Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3	119.34	3.42

[1]: Adana Bölgesi
[2]: Sivas Bölgesi
[a] GAE : Gallik asit ekivalanı (n=3)
* Trolox ekivalan

Çizelge 4.6'da araştırmada kullanılan bal şarabı örneklerinin toplam fenol ve toplam antioksidan aktiviteleri gösterilmiştir. Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirilen toplam fenol içerikleri, *S.cerevisiae* mayası ile üretilen Çiçek balı[2]

şarabı dışında, diğer örneklerde benzerlik göstermiştir. En küçük değer, çam balının *S.cerevisiae* mayası ile fermente edildiği örnekte tespit edilmiş olup, 103.56 mg/L GAE'dir. Bunu sırasıyla, Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3; Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae* ve Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 örnekleri izlemiştir. En yüksek değer ise, *S.cerevisiae* mayası ile elde edilen Çiçek balı[2] şarabında 167.89 mg/L GAE olarak saptanmıştır.

Toplam antioksidan aktivitesi değerleri de örnekler arasında belirgin farklılıklar göstermemiştir (Çizelge 4.6). Toplam antioksidan aktivitesi değerlerindeki artışlar şu şekilde görülmüştür: Çam balı, *S.cerevisiae* < Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 < Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae* < Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 < Çiçek balı[1], *S.cerevisiae* < Çiçek balı[2], *S.cerevisiae*.

Çizelge 4.7 Bazı fenolik bileşiklerin istatistiki analiz değerleri

Fenolik Bileşen	Sınırlar (ppm)	Ortalama(ppm)	Mediyan (ppm)	Standart Sapma
Gallik asit	31.38-88.10	49.18	43.47	20.17
Protokateşuik asit	75.12-179.03	107.47	97.65	37.83
Kateşin	10.38-125.55	47.43	32.95	44.88
p-kumarik asit	2.95-5.90	4.05	3.99	1.01

α= 0.05 önem seviyesinde

Bu sonuçlara göre; *p*-kumarik asit ile protokateşuik asit değerleri belirgin olarak farklıdır. Bunlar arasında *p*-kumarik asitin ortalama değeri 4.05, protokateşuik asitin ortalama değeri ise 107.47'dir (Çizelge 4.7). Sonuç olarak protokateşuik asitin bal özütleri üzerine etkisinin daha fazla olduğu söylenebilir. Ayrıca gallik asit ile protokateşuik asit değerleri de birbirinden farklı bulunmuştur. Gallik asit için ortalama değer 49.18 iken protokateşuik asit için 107.47'dir Dolayısıyla protokateşuik asitin daha fazla bir etkiye sahip olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak %95 güvenilirlikle yapılan testler sonucunda karşılaştırılan bu 4 çeşit fenolik maddenin bal özütleri üzerindeki etkileri incelenmiştir ve en çok protokateşuik asitin etkisi olduğu görülmüştür.

5. SONUÇ

Yapılan bu çalışmada, Türkiye florasından elde edilen Pamuk, Çam, Keven-Kekik, Mezda-Pamuk, Portakal, Çiçek ve Mezda ballarından üretilen bal şaraplarının temel kimyasal kalite kriterleri ve fenolik içerikleri karşılaştırılmıştır.

Bal örneklerinde HMF, invert şeker, toplam şeker, serbest asitlik, nem ve diastaz aktivitesi analizleri altı tekrar üzerinden yapılmıştır. Tespit edilen kimyasal analiz değerlerinin, Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde belirtilen sınırlara uygun olduğu bulunmuştur.

Fermantasyonunu tamamlayan bal şaraplarında toplam asitlik, uçucu asitlik, toplam alkol (% v/v), yoğunluk ve pH analizleri iki tekrar üzerinden yapılmıştır.

Şaraplarda fermantasyon gidişi yoğunluk ölçümü ile izlenerek fermantasyon gelişim kurveleri çizilmiştir. Çam balının ve Pamuk Mezda karışım balının her iki mayayla, Çiçek balı[1] ve Çiçek balı[2']nın *S.cerevisiae* mayası ile fermantasyonu sonucunda bal şarabı oluşumu gerçekleşmiştir. *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası ile üretilen Çiçek balı[2] ile *S.cerevisiae* mayası kullanılarak üretilen Mezda balı şaraplarından tatlı bal şarabı üretilmiştir. Diğer yandan Pamuk balı, Keven-Kekik balı ve Portakal balının her iki mayayla, Çiçek balı[1] ve Mezda balının *S.cerevisiae*-Narince 3 mayası ile fermantasyonları ilerlememiştir.

Bal şarabı üretimi gerçekleşen altı örnek, fenolik içeriklerini belirlemek amacıyla analiz edilmişlerdir. Şaraplarda beşi fenolik asit, ikisi flavonoid olmak üzere toplam yedi fenolik madde saptanmıştır. Tespit edilen fenolik bileşikler, gallik asit, protokateşuik asit, kateşin, syrinjik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve kuersetindir. Şarap örneklerinde en fazla bulunan fenolikler, fenolik asitlerden protokateşuik asit, flavonoidlerden de kateşin olmuştur. % 95 güvenilirlikle yapılan istatistiki testler sonucunda da, protokateşuik asitin bal özütleri üzerinde en fazla etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Syrinjik asit ise sadece bir örnekte tespit edilmiştir. Sonuç olarak, fenolik maddelerin tip

ve konsantrasyonlarının farklı çeşitlerden elde edilen şaraplara göre değiştiği belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan bal şaraplarında, toplam fenol Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam antioksidan aktivitesi ise TEAC yöntemiyle incelenmiştir. Şarapların antioksidan özellikleri değerlendirildiğinde; çiçek ballarının antioksidan aktivite bakımından diğer bal örneklerine göre belirgin bir üstünlüğü olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde; bal şarabı üretiminde farklı bal çeşitlerinin kullanılabileceği ve her bir çeşitten farklı duyusal kalitede şaraplar üretilebileceği sonucuna varılabilir. Bununla birlikte, duyusal açıdan çiçek balı[2] ve pamuk-mezda karışım örneklerinin araştırmaya konu olan diğer örneklere göre belirgin bir üstünlüğü saptanmıştır. Aynı zamanda, duyusal analiz sonuçlarında, balların fermantasyonu tamamlayıp tamamlayamadıklarının da etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Kuşkusuz, daha kesin hükümlere ulaşabilmek için farklı tip şaraplar üretilerek, bal şaraplarının aromatik profillerinin belirlenmesi gerekir.

KAYNAKLAR

Abu-Tarboush, H.M., Al-Kahtani, H.A. and El-Sarrage, M.S. 1993. Floral-types identification and quality evaluation of some honey types. Food Chemistry, 46, 13-17.

Aljadi, A.M. and Kamaruddin, M.Y. 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. Food Chemistry, 85, 513-518.

Amerine, M.A. and Cruess, W.B. 1960. The technology of wine making. The Avi Publishing Co.Inc. Westport. Connecticut, 483-484.

Andrae, P., Ferreres, F., Gil, M.I. and Thomas-Barberan, F.A. 1997. Determination of phenolic compounds in honeys with different floral origin by Capillary Zone Electrophoresis. Food Chemistry, Vol.60, No.1, pp. 79-84.

Anlı, R.E., Denli, Y., Fidan, I. ve Bayram, G. 1997. Bal şarabı üretimi üzerine bir araştırma. Gıda, 22(4), 257-261.

Anonim 1999. Web sitesi. http://www.balparmak.com.tr Erişim Tarihi: 05.07.2007.

Anonim 2002. TS 3036, Bal. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonim 2004. Web sitesi. http://kariyerim.milliyet.com.tr/detay.asp?id=34 Erişim Tarihi: 07.12.2009.

Anonim 2005. Türk Gıda Kodeksi bal tebliği, Web sitesi.http://www.kkgm. gov.tr/TGK/Teblig/2005-49.html Erişim Tarihi: 12.02.2009.

Anonim 2009. Web sitesi. http://en.wikipedia.org/wiki/mead Erişim Tarihi: 03.12.2009.

Anonymous 1989. Recueil des methodes internationales d'analyse des vins. Office Internationale de la Vigne et du Vin, 121. Rue Roquepine, Paris.

Arráez-Román D., Gómez-Caravaca, A.M., Gómez-Romero, M., Carretero, A.S. and Fernandez-Gutierrez, A. 2006. Identification of phenolic compounds in rosemary honey using solid-phase extraction by capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 1648-1656.

Artık, N. 2004. Bitkilerin bal potansiyeli ve balın bileşimi. Teknik Arıcılık, Sayı:86; 24.

Bahiru, B., Mehari, T. and Ashenafi, M. 2006. Yeast and lactic acid flora of tej, an indigenous Ethiopian honey wine:Variations within and between production units. Food Microbiology 23, 277-282.

Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M. and Golob, T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. Food Chemistry, 105, 822-828.

Crane, E. 1976. Honey. Morrison and Gibb Ltd.London an Edinburg, 392-407.

Doğaroğlu, M. 1999. Modern arıcılık teknikleri. Anadolu Matbaa&Ambalaj San.Tic.Ltd., 241-271, Tekirdağ.

Ferreira, I.C.F.R., Aires E., Barreira, J.C.M. and Estevinho, L.M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. Food Chemistry, 114, 1438-1443.

Fidan, I. 1975. Şarap analiz yöntemleri. Tekel Enstitüleri Yayını, Seri A, No:18/1, 176, İstanbul.

Fidan, I. ve Anlı, R.E. 2000. Özel şaraplar. Kavaklıdere Eğitim Yayınları:3, 101-104 s., Ankara.

Gençosman, A. 2006. Bal şarabı üretimi için maya seçimi ve fermantasyon koşullarının optimizasyonu. Yüksek lisans tezi (basılmamış). Hacettepe Üniversitesi, 1 s., Ankara.

Gogol, D. and Tuszynski, T. 1996. Miody pitne-tradycje, surowcei technologie. Przemysl Fermentacyjny i Owocowo Warzywny, 8, 25-27.

Kahoun, D., Rezkova, S., Veskrnova, K., Kralovsky, J. and Holcapek, M. 2008. Journal Of Chromatography A, 1202, 19-33.

Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C. ve Candan, F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry 100, 526-534.

Liang, Y., Cao, W., Chen, W., Xiao, X. and Zheng, J. 2009. Simultaneous determination of four phenolic components in citrus honey by high performance liquid chromatography using electrochemical detection. Food Chemistry, 114, 1537-1541.

[NHB] Natl. Honey Board. 1999. Chart of U.S. Honey production and distribution. Foreign Agricultural Service, USDA. Web sitesi. http://www.fas.usda.gov/htp2/ sugar/1999/november/honey.html Erişim Tarihi:07.12.2009

Özdamar, K. 1997. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi. 637, Eskişehir.

Özgen, M. ve Schreens, J.C. 2006. Bazı kırmızı ve siyah ahududu çeşitlerinin antioksidant kapasitelerinin modifiye edilmiş TEAC metodu ile tespiti ve antikanser özellikleri. 14-16 Eylül II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, 322-327.

Pursley, S.D. 1999. The making of mead. U.S.A., 28-39.

Spurrier, S and Dovaz, M. 1986. La Degustation. Academie du Vin. Bordas, Paris, 222.

Sroka, P. and Tuzsynski, T. 2007. Changes in organic acid contents during mead wort fermentation. Food Chemistry, Vol.104, 1250-1257.

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

Tutkun, E. 2000. Teknik arıcılık el kitabı. Türkiye Kalkınma Vakfı Yayın No:6, 1-3;167-171, Ankara.

Wintersteen, C.L, Andrae, L.M. and Engeseth, N.J. 2005. Effect of heat treatment on antioxidant capacity and flavor volatiles of mead. Food Chemistry and Toxicology, vol 70, no 2, C119-C126.

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.

Yao, L., Datta, N., Thomas-Barberan, F.A., Ferreres, F., Martos, I. and Singanusong, R. 2003. Flavonoids, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand honeys. Food Chemistry, 81, 159-168.

Yao, L., Jiang, Y., Singanusong, R., Datta, N. and Raymont, K. 2004. Phenolic acids and abscisic acid in Australian Eucalyptus honeys and their potential for floral authentication. Food Chemistry, 86, 169-177.

Yılmaz, B.ve İnci A. 2002. Doğanın harika besini bal. Teknik Arıcılık, Sayı:78; 3.

Zander, E. 1975. Der Honig. Herkunft, gewinnung, eigenshaften und untersuchung des Honigs. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.

EKLER

EK 1 Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae* örneğine (1 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı

EK 2 Çiçek balı[1], *S.cerevisiae* örneğine (2 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC Kromatogramı

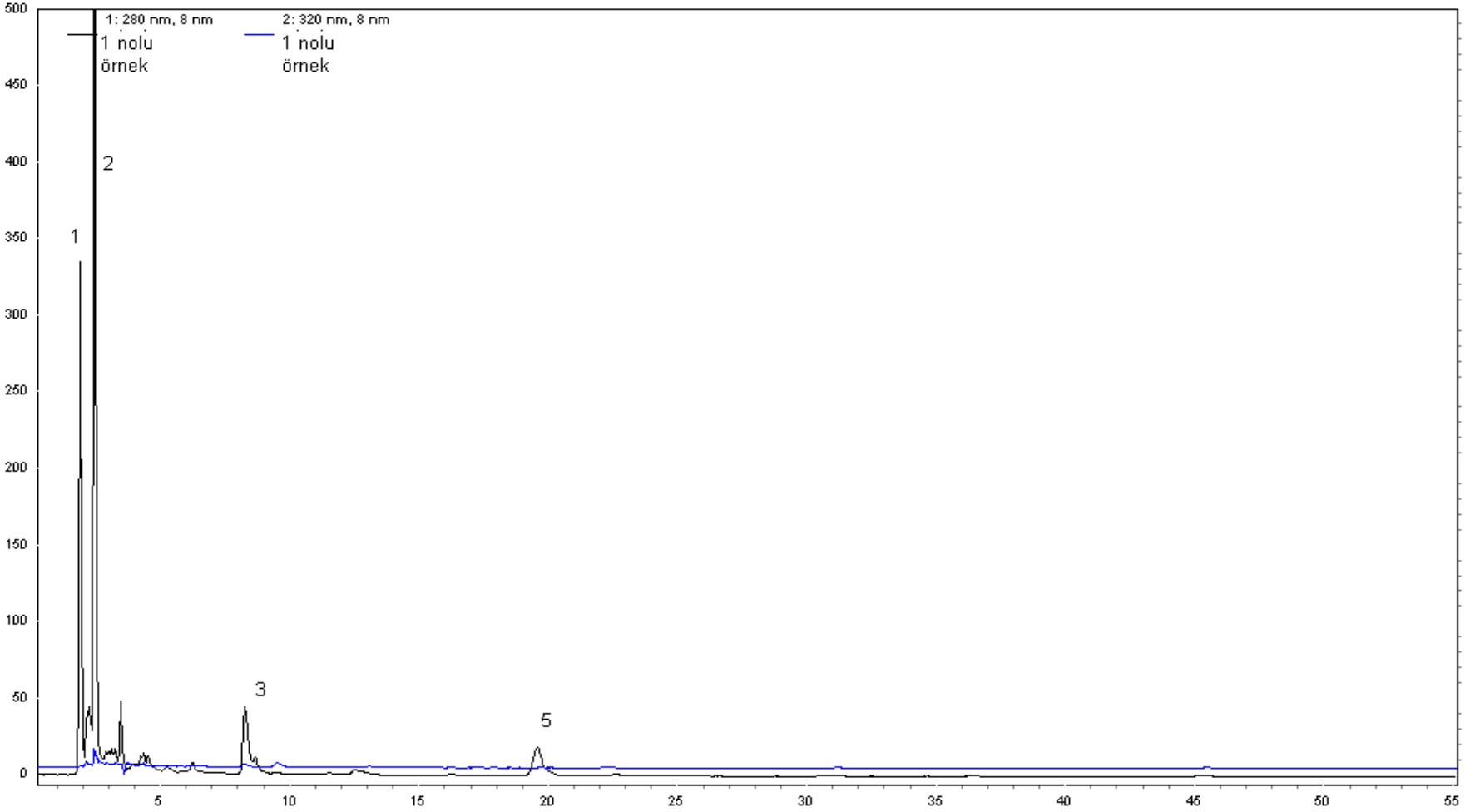
EK 3 Çam balı, *S.cerevisiae* örneğine (3 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC Kromatogramı

EK 4 Çiçek balı[2], *S.cerevisiae* örneğine (4 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC Kromatogramı

EK 5 Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 örneğine (5 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı

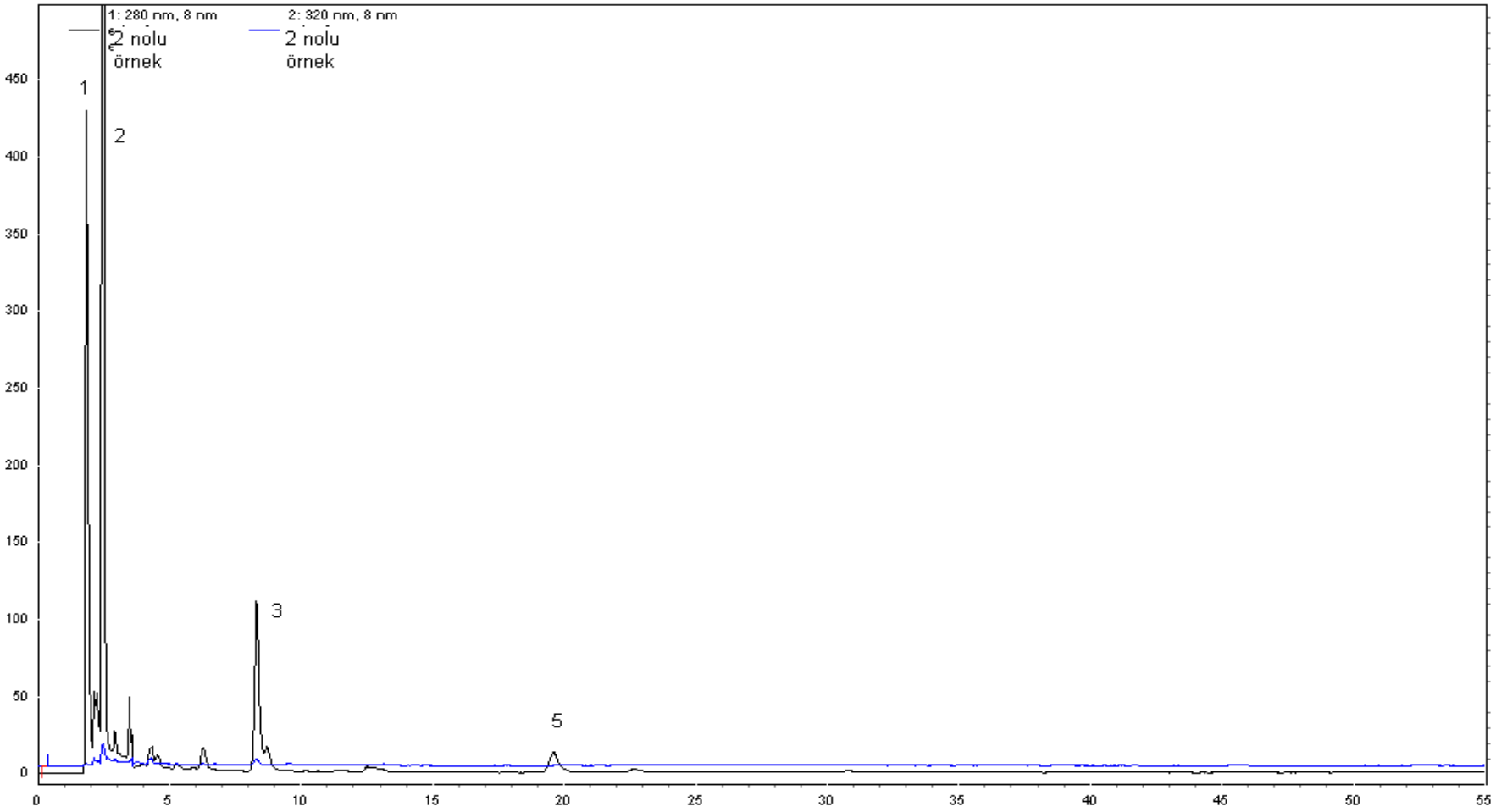
EK 6 Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 örneğine (6 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı

EK 1 Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae* örneğine (1 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı



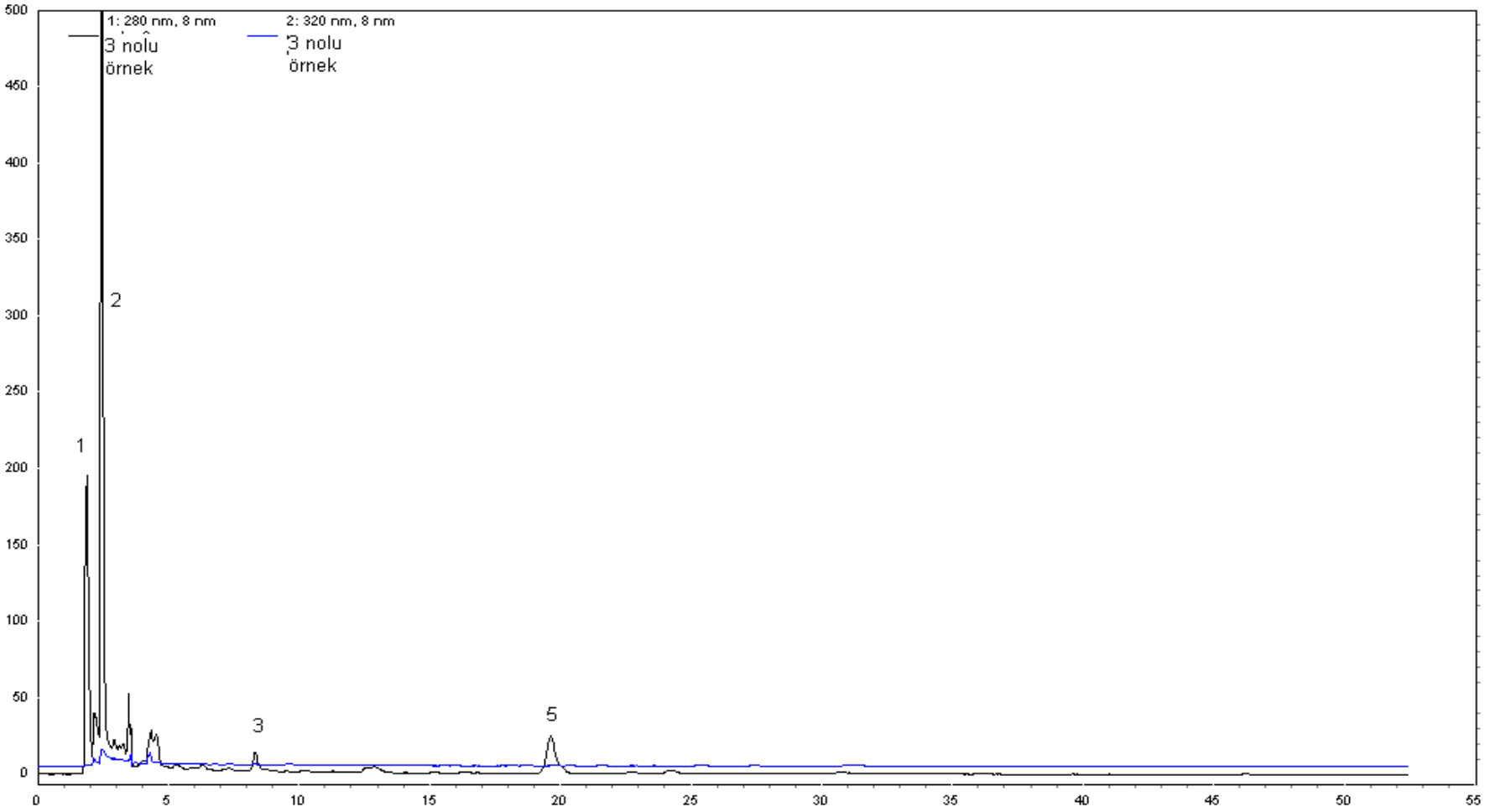
Fenolik bileşenler: (1) gallik asit, (2) protokateşuik asit, (3) kateşin, , (5) *p*-kumarik asit

EK 2 Çiçek balı[1], *S.cerevisiae* örneğine (2 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı



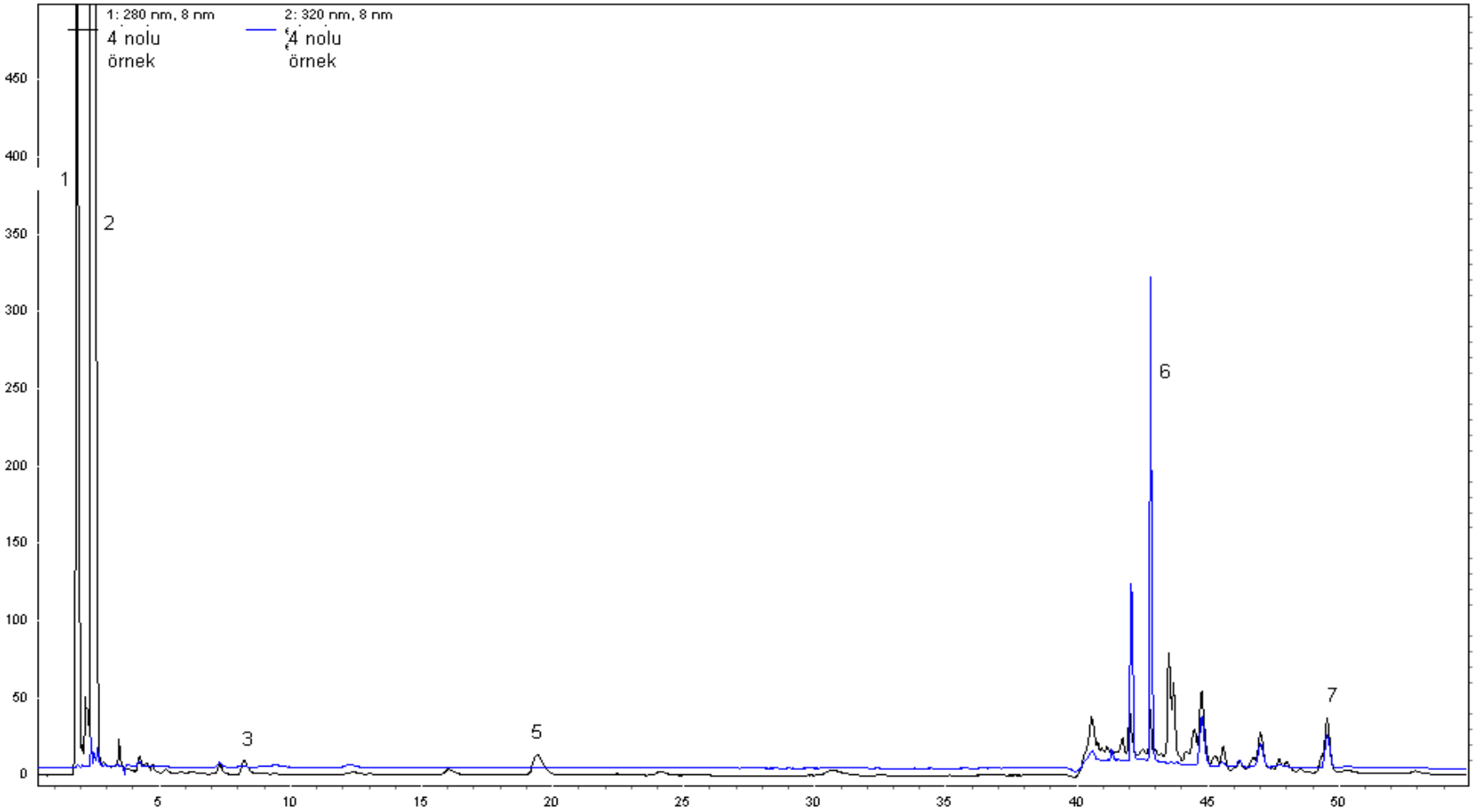
([1]): Adana bölgesi; Fenolik bileşenler: (1) gallik asit, (2) protokateşuik asit, (3) kateşin, (5) *p*-kumarik asit

EK 3 Çam balı, *S.cerevisiae* örneğine (3 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı



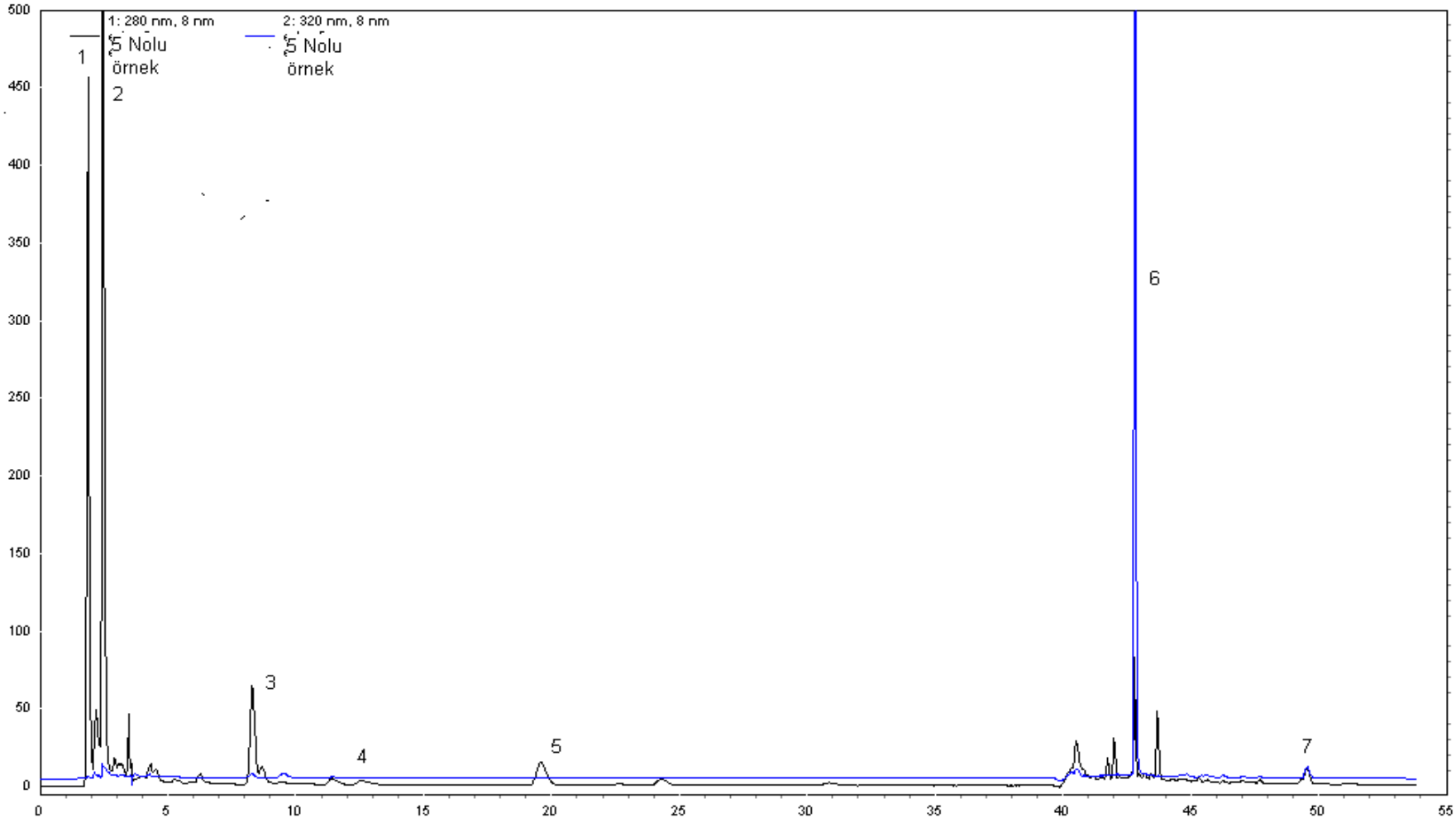
Fenolik bileşenler: (1) gallik asit, (2) protokateşuik asit, (3) kateşin, (5) *p*-kumarik asit

EK 4 Çiçek balı[2], *S.cerevisiae* örneğine (4 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı



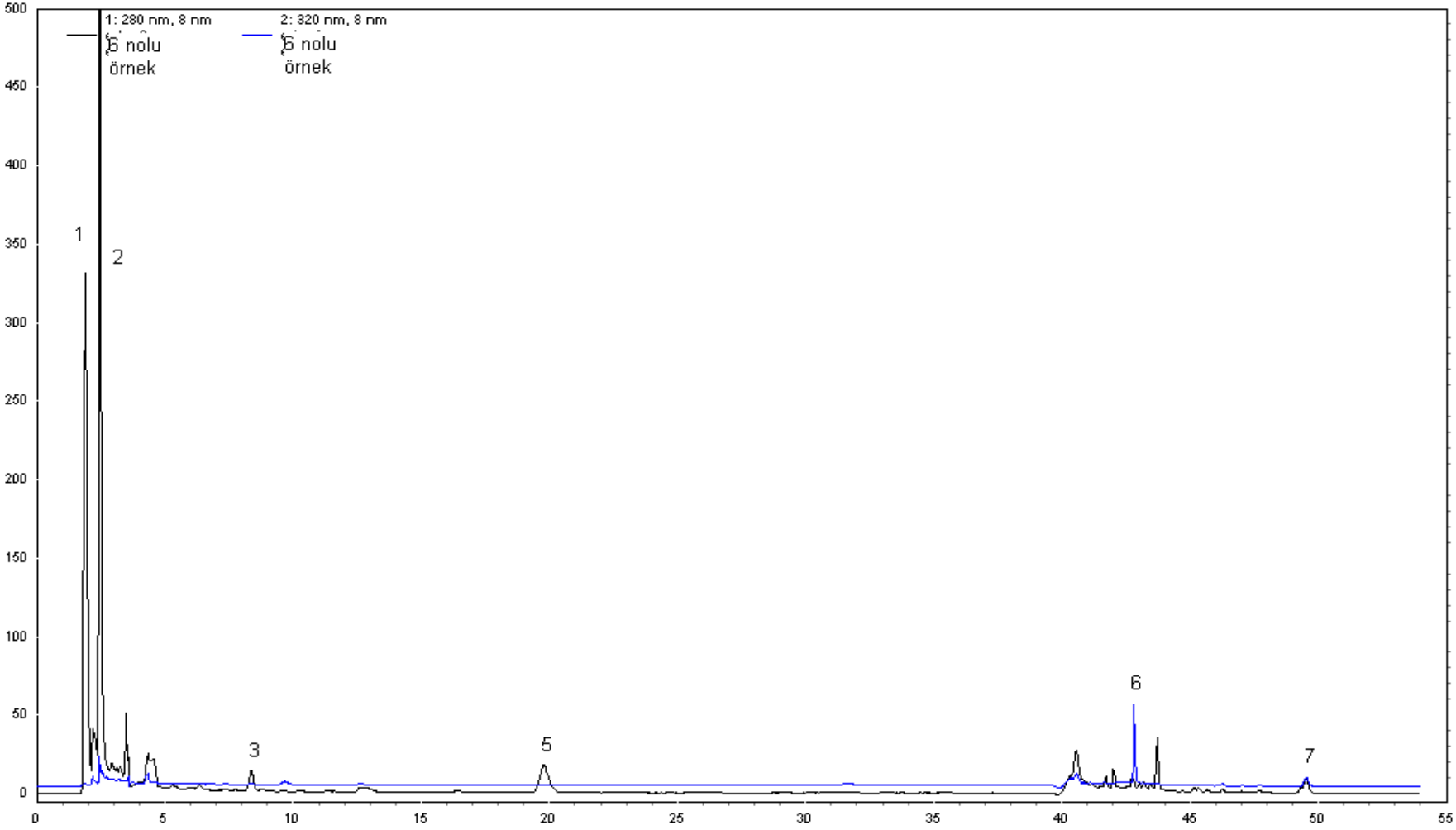
([2]):Sivas bölgesi; Fenolik bileşenler: (1) gallik asit, (2) protokateşuik asit, (3) kateşin, (5) *p*-kumarik asit, (6) ferulik asit, (7) kuersetin

EK 5 Pamuk-Mezda balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 örneğine (5 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı



Fenolik bileşenler: (1) gallik asit, (2) protokateşuik asit, (3) kateşin, (4) syrinjik asit, (5) *p*-kumarik asit, (6) ferulik asit, (7) kuersetin

EK 6 Çam balı, *S.cerevisiae*-Narince 3 örneğine (6 nolu örnek) ait fenolik bileşenlerin HPLC kromatogramı



Fenolik bileşenler: (1) gallik asit, (2) protokateşuik asit, (3) kateşin, (5) *p*-kumarik asit, (6) ferulik asit, (7) kuersetin

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	**:**	Hüsne AKALIN
Doğum Yeri	**:**	Keskin
Doğum Tarihi	**:**	25.12.1981
Medeni Hali	**:**	Bekar
Yabancı Dili	**:**	İngilizce
Eğitim Durumu		
Lise	**:**	Özel Evrensel Fen Lisesi, (1996-1999)
Lisans	**:**	Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, (1999-2004)
Yüksek Lisans	**:**	Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, (2006-2010)
	:	MSB.lığı Tedarik Bölge Başkanlığı (Ankara), (2005-2009)
Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl		Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu Samsun İl Koordinatörlüğü, (2009-)