T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

ARI ÜRÜNLERİ KARIŞIMINDA YÜZEY YANIT YÖNTEMİ İLE BİLEŞEN OPTİMİZASYONU: FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE RAF ÖMRÜ NİTELİKLERİNİN BELİRLENMESİ

MELİKE AĞIRSAYGIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOÇ. DR. MÜGE HENDEK ERTOP

TEMMUZ - 2023
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Melike AĞIRSAYGIN tarafından hazırlanan "**ARI ÜRÜNLERİ KARIŞIMINDA YÜZEY YANIT YÖNTEMİ İLE BİLEŞEN OPTİMİZASYONU: FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE RAF ÖMRÜ NİTELİKLERİNİN BELİRLENMESİ**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **13.07.2023** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Ana Bilim DalıYüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Emre HASTAOĞLU Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Nesrin İÇLİ Kastamonu Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü V. Doç. Dr. Osman ÇİÇEK .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıcatez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Melike AĞIRSAYGIN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARI ÜRÜNLERİ KARIŞIMINDA YÜZEY YANIT YÖNTEMİ İLE BİLEŞEN OPTİMİZASYONU: FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE RAF ÖMRÜ NİTELİKLERİNİN BELİRLENMESİ

MELİKE AĞIRSAYGIN

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN: DOÇ. DR. MÜGE HENDEK ERTOP

Bal dışı arı ürünlerinin bilinirliği ve tüketimi, fonksiyonel nitelikleri ve besinsel içerikleri itibariyle son yıllarda artmıştır. Bal dışı arı ürünleri polen, propolis, arı sütü, arı ekmeği, arı zehri, apilarnil, balmumu olarak sıralanabilir. Bal, birçok açıdan insan beslenmesinde önemli yeri olan hayvansal kökenli doğal bir üründür. Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera*) bitkinin yapraklar, çiçek tomurcukları ve ağaç kabukları gibi bitkinin çeşitli yerlerinden topladıkları özsu, reçine ve müsilajlardan ürettikleri, daha sonra karıştırdıkları, arı tutkalı olarak da bilinen doğal ve yapışkan bir malzemedir. Karbonhidrat içeriği nedeniyle, yüksek emilim oranına sahip önemli enerji kaynağıdır. Balın botanik orijini ve toplandığı coğrafi bölge, balın kimyasal bileşimi üzerinde önemli rol oynar. Polen, arılar tarafından toplanan, bitkilerin erkek üreme hücresi olan çiçek tozlarıdır. Arıların temel gıda kaynağı olan polenler, yavru beslenmesinde kullanılmak üzere koloninin arı sütü üretiminde ve protein ihtiyaçlarını karşılamak maksadıyla işçi arılar tarafından toplanır.

Bu tez çalışmasında, kestane ve çiçek olmak üzere iki farklı bal kullanılarak hazırlanan arı ürünleri karışımında polen ve propolis miktarları, Yüzey Yanıt Yöntemi, Merkezi Deneme Deseni kullanılarak optimize edilmiştir. Optimizasyonda antioksidan aktivite, toplam fenolik madde miktarı, toplam mineral madde ve duyusal değerlendirme skorları yanıt (response) olarak, polen ve propolis miktarları ise bağımsız değişkenler olarak alınmıştır. Optimizasyonda, bağımsız değişkenlerin optimizasyonu ve yanıtların ise maximizasyonu istenmiştir. Optimizasyon sonucu kestane ballı ve çiçek ballı karışım için beklenen sonuçların validasyonu ile doğrulamaları yapılarak sonuçlar istatistiksel olarak yorumlanmıştır. Formül optimizasyonu sonucu üretilen kestane ve çiçek ballı karışımları, tezin ikinci aşamasında besinsel, fizikokimyasal ve bazı depolama parametreleri açısından karşılaştırılmıştır. Optimizasyon sonucu kestane ballı karışım için optimize polen miktarı 10,24 g ve propolis miktarı 4,07 g olması durumunda antioksidan aktivite miktarı %86,30; toplam fenolik madde miktarı 1215,33µg/g; toplam mineral madde miktarı %0,870 ve duyusal değerlendirme skoru 3,62 olarak belirlenmişir. Çiçek ballı karışım için optimize polen miktarı 10,24 g ve propolis miktarı 1,73 olması durumunda antioksidan aktivite miktarı %66,34; toplam fenolik madde miktarı 780,33µg/g; toplam mineral madde miktarı %0,443 ve duyusal değerlendirme skoru ise 3,84 olarak belirlenmişir. Optimum sonuçlara göre hazırlanan çiçek ve kestane ballı karışımlar karşılaştırıldığında, kestane ballı karışımın antioksidan aktivite miktarı, toplam fenolik madde ve toplam mineral madde içeriğinin daha yüksek olduğu ancak duyusal skorun çiçek balına göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Her iki karışım için de elde edilen

ürünlerde fenolik madde içeriği, madde kompozisyonu, aminoasit kompozisyonu açısından karakterizasyonu yapılarak yapı aydınlatma çalışması gerçekleştirilmiştir. Kestane ballı karışımın fenolik madde içeriği değerlendirildiğinde Trans ferulik asit, çiçek ballı karışım da en yüksek kafeik asit tespit edilmiştir. Fenolik madde kompozisyonunu polen ve propolis önemli derecede etkilemiştir. Kullanılan hammaddeler ve elde edilen karışımların mineral madde içerikleri bir arada değerlendirildiğinde, polenin önemli bir mineral madde kaynağı olduğu ve karışımın son mineral madde kompozisyonunu önemli düzeyde etkilediği tespit edilmiştir. Kestane ve çiçek ballı karışımda en yüksek K elementi olduğu belirlenirken, bunu Ca, Na ve P elementleri takip etmiştir. Kestane ballı karışımın Na, Mn, Fe, K ve Ca elementlerinin çiçek ballı karışımdan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hammadde olarak kullanılan polenin incelenen 17 aminoasitin tamamını içerdiği, ayrıca çiçek balının kestane balından daha yüksek düzeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak çiçek ballı karışımının aminoasit düzeyleri de daha yüksek bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Bal, Polen, Propolis, Arı Ürünleri Karışımı. Yüzey Yanıt Yöntemi

Temmuz 2023, 69 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

COMPONENT OPTIMIZATION BY RESPONSE SURFACE METHODOLOGY IN MIXTURE OF BEE PRODUCTS: DETERMINATION OF FUNCTIONAL PROPERTIES AND SHELF-LIFE QUALITIES

MELİKE AĞIRSAYGIN

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MÜGE HENDEK ERTOP

The awareness and consumption of non-honey bee products have increased in recent years due to their functional qualities and nutritional content. Non-honey bee products can be listed as pollen, propolis, royal jelly, bee bread, bee venom, apilarnil, beeswax. Honey is a natural product of animal origin which has an important place in human nutrition in many aspects. Propolis is a natural and sticky material, also known as bee glue, produced by honey bees (Apis mellifera) from sap, resin and mucilage collected from various parts of the plant such as leaves, flower buds and tree barks, and then mixed. Due to its carbohydrate content, it is an important energy source with a high absorption rate. The botanical origin of honey and the geographical region where it is collected play an important role in the chemical composition of honey. Pollen is the flower dust collected by bees, which is the male reproductive cell of plants. Pollen, which is the main food source of bees, is collected by worker bees to be used in the production of royal jelly and to meet the protein needs of the colony to be used in brood feeding.

In this thesis, the amounts of pollen and propolis in the mixture of bee products prepared using two different honeys, chestnut and flower, were optimised using the Surface Response Method, Central Trial Design. In the optimisation, antioxidant activity, total phenolic content, total mineral content and sensory evaluation scores were taken as response variables and pollen and propolis amounts were taken as independent variables. In the optimisation, it was desired to optimise the independent variables and maximise the responses. As a result of the optimisation, the expected results for the mixture with chestnut honey and flower honey were validated and the results were statistically interpreted. In the second stage of the thesis, the optimized chestnut and flower honey mixtures were compared in terms of nutritional, physicochemical and some storage parameters. As a result of the optimisation, for the chestnut honey blend, when the optimised pollen amount was 10,24 g and propolis amount was 4,07 g, the antioxidant activity was 86,30%, total phenolic matter was 1215,33 µg/g, total mineral matter was 0,870% and the sensory evaluation score was 3,62. Optimised pollen amount of 10,24 g and propolis amount of 1.73 for the flower honey mixture was determined as 66,34% antioxidant activity, 780,33µg/g total phenolic content, 0.443% total mineral content and 3,84 sensory evaluation score. When the flower and chestnut honey mixtures prepared according to the optimum results were compared, it was determined that the amount of antioxidant activity, total phenolic matter and total mineral matter content of the chestnut honey mixture was higher, but the sensory score was lower than the flower honey. The products obtained for

both blends were characterised in terms of phenolic substance content, substance composition, amino acid composition and structure elucidation study was carried out. When the phenolic substance content of the mixture with chestnut honey was evaluated, trans ferulic acid was detected and the highest caffeic acid was detected in the mixture with flower honey. Pollen and propolis significantly affected the phenolic substance composition. When the raw materials used and the mineral matter contents of the mixtures obtained were evaluated together, it was determined that pollen was an important source of mineral matter and significantly affected the final mineral matter composition of the mixture. The highest K element was determined in the mixture with chestnut and flower honey, followed by Ca, Na and P elements. It was determined that Na, Mn, Fe, K and Ca elements of chestnut honey mixture were higher than flower honey mixture. It was determined that the pollen used as raw material contained all 17 amino acids analysed and flower honey had higher levels than chestnut honey. Accordingly, the amino acid levels of the mixture with flower honey were also found to be higher.

KEYWORDS: Honey, Pollen, Propolis, Bee Product Mix, Response Surface Methodology

July 2023,69 Page

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım boyunca aktardığı bilgi ve mesleki deneyiminin yanı sıra bilimselliği, disiplini ile örnek olan ahlaki ve vicdani birçok konuda çok şey öğrendiğim, bu aşamaya gelmemde sonsuz emeği olan, her zaman yol gösteren, yanında çalışmaktan onur duyduğum danışman hocam Sayın Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP'a,

Birlikte çalışma imkanı bulduğum, deneysel çalışmalarıma desteklerini esirgemeyen Gıda Yüksek Mühendisi Uğur ERTOP'a (Kastamonu İl Tarım ve Orman Müdürlüğü), Kastamonu Üniversitesi MERLAB'a, destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Merve ÇELİK, Başaran ULUS ve Onur ULUS'a teşekkür ederim.

Beni bugüne kadar büyük bir özveri ile yetiştirip, hayatım boyunca maddi manevi desteklerini ve güvenlerini sonsuz hissettiğim, verdiğim bütün kararlarda arkamda duran, bana en çok inanan, annem Nurhan AĞIRSAYGIN; babam Murat AĞIRSAYGIN ve kardeşlerim Münevver – Berat AĞIRSAYGIN'a saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

MELİKE AĞIRSAYGIN

Kastamonu, 2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ... **ii**
TAAHHÜTNAME ... **iii**
ABSTRACT ... **vi**
TEŞEKKÜR ... **viii**
İÇİNDEKİLER ... **ix**
ŞEKİLLER DİZİNİ ... **xi**
TABLOLAR DİZİNİ ... **xii**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ... **xiv**
1. GİRİŞ ... **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ ... **3**
2.1 Arı Ürünleri ... 3
2.1.1 Bal ... 3
2.1.2 Propolis ... 6
2.1.3 Polen ... 7
2.1.4 Arı Sütü ... 8
2.1.5 Arı Ekmeği (Perga) ... 8
2.1.6 Arı Zehri ... 9
2.1.7 Apilarnil ... 9
2.1.8 Balmumu ... 9
2.2 Ulusal ve Uluslararası Pazarda Arı Ürünleri ... 9
2.3 Apiterapi ... 12
2.4 Arı Ürünleri Karışımları ... 13
2.4.1 Ulusal ve Uluslararası Pazarda Arı Ürünleri Karışımları ... 13
2.5 Fonksiyonel Gıda Olarak Arı Ürünleri Karışımları ... 14
2.6 Yüzey Yanıt Metodu ... 15
3. MATERYAL VE METOT ... **17**
3.1 Materyal ... 17
3.2 Metot ... 18
3.2.1 Yüzey Yanıt Metodu ile Formül Optimizasyonu ... 19
3.2.1.1 Deneysel dizayn ... 19
3.2.2 Arı Ürünleri Karışımlarının Hazırlanması ... 20
3.2.3 Briks ve Kuru Madde ... 21
3.2.4 Protein Tayini ... 21
3.2.5 Kül Miktarı ... 22
3.2.6 Yağ Tayini ... 22
3.2.7 pH Analizi ... 22
3.2.8 Asitlik Tayini ... 23
3.2.9 Renk Analizi ... 23
3.2.10 Viskozite Analizi ... 23
3.2.11 Toplam Fenolik Madde Miktarı ... 24
3.2.12 Antioksidan Aktivite Tayini ... 25
3.2.13 Amino Asit Kompozisyonu ... 25
3.2.14 Mineral Madde Kompozisyonu ... 26
3.2.15 Fenolik Madde Kompozisyonu ... 26

3.2.16 Duyusal Analiz 28
3.2.17 İstatistiksel Analizler 28
3.2.18 Raf Ömrü Çalışması 28
4. BULGULAR 30
4.1 Hammaddelerin Fizikokimyasal Kalite Nitelikleri 30
4.2 Yüzey Yanıt Metodu ile Formül Optimizasyonu 32
4.2.1 Çiçek Ballı Arı Ürününe Ait Optimizasyon Sonuçları 32
4.2.2 Çiçek Ballı Arı Ürünleri Karışımı İçin Optimizasyon Sonuçlarının Deneysel Doğrulaması 38
4.2.3 Kestane Ballı Arı Ürününe Ait Optimizasyon Sonuçları 39
4.2.4 Kestane Ballı Arı Ürünleri Karışımı İçin Optimizasyon Sonuçlarının Deneysel Doğrulaması 46
4.3 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Kalite Nitelikleri 47
4.4 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Mineral Madde Kompozisyonları 48
4.5 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Fenolik Madde İçerikleri 50
4.6 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Aminoasit Kompozisyonları 51
4.7 Bal Karışımlarının Raf Ömrü Süresince Kalite Değişimleri 53
4.8 Arı Ürünleri Karışımının Depolama Sürecinde Akış Davranış Özellikleri 58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 60
KAYNAKLAR 63
ÖZGEÇMİŞ 69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1 Tez planı ve akım şeması 18
Şekil 3.2 Arı ürünleri karışımlarının hazırlanması 21
Şekil 3.3 Gallik asit kalibasyon grafiği 24
Şekil 3.4 Arı ürünleri karışımlarının (a: Kestane ballı karışım, b: Çiçek ballı karışım) depolama süreci için hazırlık 29
Şekil 4.1 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Antioksidan aktivite'ye etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 36
Şekil 4.2 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Toplam fenolik madde miktarına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 36
Şekil 4.3 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 37
Şekil 4.4 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 37
Şekil 4.5 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Antioksidan aktivite'ye etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 43
Şekil 4.6 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Toplam fenolik madde miktarına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 44
Şekil 4.7 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 44
Şekil 4.8 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği 45
Şekil 4.9 Raf ömrü süresince renk değişimleri 54
Şekil 4.10 Raf ömrü süresince briks değişimleri 55
Şekil 4.11 Raf ömrü süresince antioksidan aktivite değişimleri 55
Şekil 4.12 Raf ömrü süresince toplam fenolik madde değişimleri 56
Şekil 4.13 Raf ömrü süresince pH değişimleri 57
Şekil 4.14 Raf ömrü süresince titrasyon asitliği değişimleri 57
Şekil 4.15 Arı ürünleri karışımlarının (a: Çiçek ballı karışım, b: Kestane ballı karışım) depolama sürecinde viskozite değerleri 58

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Dünya arı kovanı varlığı (bin adet) ... 10
Tablo 2.2 Dünya bal üretimi (ton) ... 11
Tablo 2.3 Türkiye'de arıcılık verileri ... 12
Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar ... 17
Tablo 3.2 YYM'a göre kullanılan bağımsız değişkenler ve seviyeleri ... 19
Tablo 3.3 Desing Expert yazılımı tarafından önerilen bal karışımlarında kullanılan deneme deseni ... 20
Tablo 3.4 Aminoasit kompozisyonu için LC-MS/MS çalışma koşulları ... 25
Tablo 3.5 Aminoasit kompozisyonu için kullanılan gradient programı ... 26
Tablo 3.6 Fenolik madde kompozisyonu için LC-MS/MS çalışma koşulları ... 27
Tablo 3.7 Fenolik madde kompozisyonu için gradient programı ... 27
Tablo 3.8 LC-MS/MS'te kullanılan ana ve yavru iyonlar ... 27
Tablo 3.9 Duyusal analiz puanlama skalası ... 28
Tablo 4.1 Hammaddelerin bazı fizikokimyasal nitelikleri ... 30
Tablo 4.2 Desing Expert yazılımı tarafından önerilen çiçek ballı arı ürünleri karışımı için deneme deseni ve yanıtlar ... 32
Tablo 4.3 Çiçek ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri**;** Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; model ve bağımsız değişken faktörler için belirlenen p değerleri ... 33
Tablo 4.4 Çiçek ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri**;** Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; Lineer fonksiyon için varyans analiz sonuçları ... 33
Tablo 4.5 Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları ... 38
Tablo 4.6 Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması ... 39
Tablo 4.7 Desing Expert yazılımı tarafından önerilen kestane ballı arı ürünleri karışımı için deneme deseni ve yanıtlar ... 39
Tablo 4.7 devamı ... 40
Tablo 4.8 Kestane ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri; Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; model ve bağımsız değişken faktörler için belirlenen p değerleri ... 40
Tablo 4.9 Kestane ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri; Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; Seçilen fonksiyonlar için varyans analiz sonuçları ... 41
Tablo 4.10 Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları ... 46
Tablo 4.11 Modelden tahminlenen değerler ile optimum noktada ortalama deneysel değerlerin karşılaştırılması ... 46
Tablo 4.12 Optimize arı ürünleri karışımlarının bazı kalite nitelikleri ... 47
Tablo 4.13 Hammadde ve optimize ballı karışımların mineral madde kompozisyonları ... 48

Tablo 4.14 Hammadde ve optimize ballı karışımlarının fenolik madde kompozisyonları 50
Tablo 4.15 Hammadde ve balkarışımlarının aminoasit kompozisyonları 52
Tablo 4.16 Optimize bal karışımlarının raf ömrü süresince değişimleri 53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	**:** Yüzde
°C	**:** Sıcaklık (Santigrad)
<	**:** Küçüktür
>	: Büyüktür
L*	**:** Renk skalasında parlaklık
a *	**:** Renk skalasında kırmızılık
b*	**:** Renk skalasında sarılık

Kısaltmalar

g	**:** Gram
pH	**:** Power of Hydrogen
vd.	**:** ve diğerleri
s	**:** Saniye
dk	: Dakika
V	: Hacim
N	: Normalite
m	**:** Metre
mL	**:** Mililitre
mm	**:** Milimetre
nm	: Nanometre
Meq	: Miliekivalent
Kg	: Kilogram
ppm	: Milyonda bir birim
DDPH	**:** 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ANOVA	**:** Analyses Of Varyans (Varyans Analizi)
YYM	**:** Yüzey Yanıt Metodu
MAO	**:** Monoamin Oksidaz
FOSHU	**:** Foods for Specific Health Use (Spesifik Sağlık Kullanımına Yönelik Gıdalar)
SPSS	**:** İstatistik paket programı
TGK	**:** Türk Gıda Kodeksi
HPLC	**:** High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
CAPE	**:** Kafeik Asit Fenil Ester
Leu	**:** Lösin
Ala	**:** Alanin
Arg	**:** Arjinin
Asp	**:** Aspartat
Cys	**:** Sistein
Gln	**:** Glutamin

Glu : Glutamat
His : Histidin
İle : İzolösin
Lys : Lizin
Met : Metiyonin
Phe : Fenilalanin
Pro : Prolin
Ser : Serin
Thr : Treonin
Tyr : Tirozin
Val : Valin
Na : Sodyum
Mg : Magnezyum
Mn : Mangan
Fe : Demir
Zn : Çinko
P : Fosfor
K : Potasyum
Ca : Kalsiyum
Si : Silisyum

1. GİRİŞ

Ülkemizde arıcılık tüm dünyada olduğu gibi oldukça yaygın, tarihi çok eskiye dayanan ve sürekli gelişmekte olan bir sektördür. Bal dünyada en çok üretilen arı ürünüdür. Arı ekmeği, polen, propolis, arı zehri gibi kovan ürünleri arıcılık faaliyetleri neticesinde ortaya çıkmakta ve pazarda yerini almaktadır (Mărgăoan vd., 2021). Arı ürünlerinin faydalarını keşfetmeye olan ilgi son yıllarda artmıştır. Bal, arılar (*Apis mellifera*) tarafından yapılan doğal, tatlı ve viskoz bir üründür. Bal bileşenleri arasında farklı şekerler (glikoz, fruktoz, maltoz ve sükroz), mineraller, enzimler, çeşitli fitokimyasallar ve su bulunur. Botanik orijini ve toplandığı coğrafi bölge balın kimyasal bileşiminde önemli rol oynar.

Propolis, bal mumu ve bitki özleri kullanılarak üretilen reçineli doğal bir üründür. Propolisin kimyasal bileşimi oldukça karmaşıktır ve bölgeye ve mevsime göre değişir (Doğan ve Hayaoğlu, 2012). Bal arıları kovandaki açıklıkları ve çatlakları kapatmak, dışarıdan gelebilecek tehlikelerin girişini önlemek ve kovan içinde aseptik koşulları sağlamak için bir inşaat malzemesi gibi propolis üretir ve kullanırlar (Kasote vd., 2022).

Polen, işçi arılar tarafından toplanan, nektar ve/veya bal ve bez salgılarıyla bir arada tutulan ve kovan girişinde toplanan polen taneciklerinin aglütinasyonunun nihai sonucudur (El Ghouizi vd., 2023). Arı poleni, son derece geniş besin bileşenleri ve mikro elementler yelpazesi nedeniyle büyülü süper besinlerden biridir. Bununla birlikte, bu bileşim botanik köken, hasat mevsimi ve depolama yöntemlerinden etkilenebilir (Asmae vd., 2021). Polen, bal arısı ve insan beslenmesinde ihtiyaç duyulan tüm temel amino asitlerin büyük bir kaynağı olduğu için genellikle "en doğal mükemmel besin" olarak kabul edilir (Pizzorno ve Murray, 2020).

Bu tez çalışmasında kestane ve çiçek balında farklı miktarlarda polen ile propolis kullanımının formül optimizasyonu planlanmıştır. Bu kapsamda öncelikle design expert programı tarafından deneme deseni oluşturulmuş, toplam mineral madde, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve duyusal değerlendirme yanıtlarına cevap veren bir optimizasyon hedeflenmiştir.

Optimizasyonu yapılan, arılardan gelen bu üç mucizevi ürünü bir arada kullanarak, besinsel içeriği ve duyusal beğenisi yüksek fonksiyonel bir ürün ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Günümüzde bağışıklık sistemini destekleyen, zinde tutan, enerji veren ürünlere ilgi oldukça yüksektir. Bununla ilgili piyasada çeşitli ürünler mevcuttur. Ancak bilinçsiz tüketim de bunun beraberinde gelmektedir. Çünkü literatürde bu alanda yapılmış çalışmalar çok kısıtlıdır. Literatüre katkıda bulunmak ve tabii ki piyasaya alternatif bir ürün çeşidi sunulmak istenmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Eski çağlardan beri arı sütü, arı zehri, bal, balmumu, polen, propolis, gibi arıcılık faaliyetleri sonucu ortaya çıkan ürünleri, güçlü iyileştirici özellikleri ve yüksek biyoaktif bileşen içerikleri nedeniyle halk tıbbında en sık kullanılan doğal ürünler arasında yer almıştır. Günümüzde sağlıklı beslenme ve dengeli yaşam tarzının hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli bir rol oynadığı genel olarak kabul edilmektedir (Koçot vd., 2018). Yaşam kalitelerini iyileştirmek için tüketiciler, kısmen sentetik ilaçlara kıyasla doğal kökenli biyoaktif maddeler içeren doğal fonksiyonel gıdaları giderek daha fazla aramakta ve kullanmaktadır. Bilimsel çalışmalar, arı ürünlerine antioksidan, antibakteriyel, antienflamatuar, antitümör, antiviral özellikler ve diğerleri dâhil olmak üzere çok çeşitli yararlı sağlık etkileri atfeder. En önemli özelliklerinden biri belirli hastalıkların önlenmesine katkıda bulunan, hücreleri serbest radikaller gibi oksidatif ajanların neden olduğu hasara karşı koruyan antioksidan kapasiteleridir.

Bal arıları için, koloni popülasyonlarının sağlığının sürdürülmesi ve hayatta kalması için gerekli besinler, nektar/bal özü ve çiçek poleni olmak üzere iki ana kaynaktan gelir. Nektar ve bal özü karbonhidrat sağlar ve polen, lipitler, proteinler, vitaminler ve mineraller gibi bileşenler diğer diyet ihtiyaçlarını sağlar. Ancak arılar doğrudan nektar/bal özü veya polen tüketmezler; her iki durumda da nektar/bal özü bala ve polen arı ekmeğine dönüşecek şekilde biyokimyasal değişikliklere neden olurlar.

2.1 Arı Ürünleri

2.1.1 Bal

Türk Gıda Kodeksi 2020/7 sayılı Bal Tebliğine göre bal “bitki nektarlarının, bitki salgılarının ve bitkilerin canlı bölümleri üzerinde yaşayan böceklerin salgılarının, bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine ait maddelerle bir araya getirerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petek içinde depolayarak olgunlaştırdığı doğal olarak kristallenebilen doğal ürün” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2020).

Bal, birçok açıdan insan beslenmesinde önemli yeri olan hayvansal kökenli doğal bir üründür. Karbonhidrat içeriği nedeniyle, yüksek emilim oranına sahip önemli enerji kaynağıdır. Besin içeriğinin yanı sıra, farmasötik değeri ile yara tedavisinde tıbbın başlangıcından beri tanınmaya başlamıştır (Simon vd., 2008). Yapılan çalışmalar antimikrobiyal ve antibakteriyel rolünü (Varga, 2006; Gomes vd., 2010), kanser tedavisindeki potansiyel rolünü ortaya çıkarmıştır (Tsiapara vd., 2009). Flavonoidler, fenolik asitler gibi polifenol bileşenleri, insan beslenmesinde doğal antioksidan işlevi görebilmektedir (Meda vd., 2005). Aynı zamanda eski zamanlardan beri geleneksel bir ilaç olarak bal, soğuk algınlığı, öksürük ve çeşitli bulaşıcı hastalıkların tedavisinde de kullanılmıştır (Almasaudi, 2021).

Bal, coğrafi ve botanik orijinden dolayı son derece değişken bir bileşime sahiptir. Bal yaklaşık %80 şeker (fruktoz, glikoz, maltoz, sukroz, izomaltoz, melezitoz, rafinoz, erloz, turanoz, trehaloz) (Cimpoiu vd.,2013; Jung ve Stephanopoulos, 2004) içerir ve diğer %20 su, organik asitler (laktik, malik, glukonik, sitrik, piroglutamik, asetik, formik, süksinik ve bir çok aromatik asit) (Tornuk vd., 2013) amino asitler (prolin, asparagin asit ve asparagin, kalsiyum aljinat, serin, metiyonin, tirozin, lösin, lizin, arginin, histidin, ornitin, izolösin, valin), mineraller (potasyum, magnezyum, kalsiyum, selenyum, demir, çinko vb.), B grubu vitaminler (folik asit, piridoksin niasin, niasin, pantotenik asit ve C vitamini) ve enzimler (diastaz, invertaz, glikoz oksidaz, katalaz) (Manyi-Loh vd., 2011). Nektarın kaynakları, kendiliğinden oluşan flora, kültür ve yaprak bitlerinin tatlı dışkıları veya ağaçların yaprak ve gövdelerinden belirli dönemlerde salgılanan tatlı ve viskoz maddelerdir. Buna bağlı olarak, kimyasal bileşimlere, mikrobiyolojik özelliklere ve duyusal niteliklere sahip çok çeşitli bal türleri ile sonuçlanır (Scripcă vd., 2019).

Bal çeşitleri

Bal orijinine göre; bitkinin çiçeklerindeki nektarlardan ürettikleri bal çiçek balı (akasya, kestane, ıhlamur, kekik, turunçgil, pamuk, üçgül balı gibi); bitkilerin canlı kısımlarından veya bitki üzerinde yaşayan canlıların salgılarından ürettikleri bal ise salgı balı (çam balı, meşe balı, köknar balı, yaprak balı gibi) olarak adlandırılır (Kayral, 1984).

Çiçek Balı

Balın besin değerini içeriğindeki bileşenler belirler. Balın bileşimi coğrafik ve botanik orijine, arıların beslendiği materyale, iklim koşullarına, nektar yoğunluğuna, arıcılık şartlarına göre değişmektedir (Altun ve Aydemir, 2021). Çiçek balı, arının farklı çiçeklerden topladığı nektarlardan ürettiği ballara verilen genel isimdir. Dünya üzerinde en çok tüketilen bal çeşidi olmakla birlikte en çok üretimi yapılan baldır. Fiziksel olarak rengi açık kehribar, tadı ise tatlı keskin olarak tanımlanmaktadır. Bir insanın ihtiyaç duyduğu günlük enerji miktarının büyük kısmını karşılayabilmektedir (Mijanur Rahman vd., 2014).

Çam Balı

Türkiye'nin Akdeniz ve Ege kısımlarında oldukça yaygın bulunan çam balı, dünya genelinde üretilen toplam çam balının yaklaşık %92'sini oluşturmaktadır. Çam ağacında bulunan canlılar, ağaç özütünden bir salgı oluşturur ve bu salgı yaz aylarının sonunda bal arıları tarafından bal haline getirilmek üzere alınır. Çiçek ballarına oranla glikoz ve fruktoz içeriğine sahip olan çam balı, koyu renk ve acı aromaya sahiptir (Tsiapara vd., 2009).

Kestane Balı

Kestane balı, Türkiye'nin kuzeyinde, özellikle Karadeniz ve Marmara kıyılarında yaygın olarak üretilmektedir (Sarıkaya vd., 2009). Çiçeklenme mevsimi boyunca kestane çiçekleri (*Castanea sativa* Mill.) bal arıları için ana polen ve nektar kaynaklarından biridir (Kolaylı vd.,2016). Fiziksel olarak kestane balının rengi koyu kahve, tadı kestaneye özgü acı ve keskin, kokusu ise aromatiktir. Arı, hem kestane poleni hem de kestane salgılarını toplayarak balı üretir. Apiterapik bir bal olan kestane balı B ve C vitaminlerince zengindir. Bağışıklık sistemi, kan dolaşımı, mide ve karaciğer yorgunluklarının tedavisinde destek olur (Park vd.,2017). Kestane ballarının antifungal, antiinflamatuar, sitotoksik, yara iyileştirici, üreaz inhibitörü, tirozinaz inhibitörü, ksantin oksidaz inhibitörü ve monoamin oksidaz inhibitörü, antioksidan ve antibakteriyel potansiyellerinin yanı sıra fenolik-flavonoid bileşimi daha önce bildirilmiştir (Cianciosi vd., 2021, Stavropoulou vd., 2022).

2020 yılında T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından düzenlenen Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (No: 2020/7)'ne göre polen oranı yoğun olan unifloral türlerden olan kestane (Castanea sativa) balları ismiyle anıldığı bitkinin polenini %70 oranında içermelidir. Türkiye'de *Castenea sativa* bitkisinin polen verimi fazladır (Özkırım 2018) ve tıbbi özellikleri yüksektir (Güneş vd. 2017).

2.1.2 Propolis

Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera*) bitkinin yapraklar, çiçek tomurcukları ve ağaç kabukları gibi bitkinin çeşitli yerlerinden topladıkları özsu, reçine ve müsilajlardan ürettikleri, daha sonra karıştırdıkları, arı tutkalı olarak da bilinen doğal, yapışkan ve aromatik kokulu bir malzemedir (Forma ve Bryś, 2021). Bal arıları (*Apis mellifera*) propolisi farklı amaçlar için toplamaktadır. Kovanlarını dışarıdan gelebilecek fiziksel ve kimyasal her türlü tehlikeye karşı koruma, kovanda meydana gelebilecek çatlakları ve yarıkları önleme, kovana girişi daraltıp yabani arıların girişini engelleme ve kovanın iç sıcaklığını 35-36°C civarında stabil tutma gibi amaçlarla propolisi toplamaktadırlar (El-Sohaimy vd., 2014). Balmumu, bitki reçineleri, polen, uçucu yağlar, proteinler ve diğer organik maddeler gibi ana bileşenleri nedeniyle yapışkan özelliği vardır (Nisa vd., 2022).

Kovandan farklı yöntemlerle elde edilen ham propolis ekstraksiyon işlemi sonrasında, krem, ağız spreyi, tableti, jel, diş macunu vb. çeşitli formlarda kullanılabilmektedir (Kumova, 2002).

Propolis çok eski çağlardan beri alternatif tıpta çok çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Mısırlılar kadavraları mumyalamak ve çürümeyi önlemek için; Yunanlılar ve Romalılar propolisi antiseptik, iyileştirici özellikleri nedeniyle ağız dezenfektanı ve yaraları tedavi etmek amacıyla; İnkalar, ateş düşürücü olarak; Persler egzama, miyalji ve romatizma tedavisinde; ikinci dünya savaşı sırasında ise propolis tüberkülozu tedavi etmek ve yaraları iyileştirmek için kullanılmıştır (Silva-Carvalho vd., 2015; Weis vd., 2022).

Arı ürünleri ile ilgili en fazla bilimsel çalışma propolis üzerinedir. Aslında, propolisin zaman içinde modası hiç geçmemiştir ve şu anda kozmetikte, sağlıklı yiyecek ve içeceklerde, özlerde, kapsüllerde ve gargaralarda kullanılmaktadır (Weis vd., 2022).

2.1.3 Polen

Polen, arılar tarafından toplanan, bitkilerin erkek üreme hücresi olan çiçek tozlarıdır. Arıların temel gıda kaynağı olan polenler, yavru beslenmesinde kullanılmak üzere koloninin arı sütü üretiminde ve protein ihtiyaçlarını karşılamak maksadıyla işçi arılar tarafından toplanır (Sanford, 1995), arıların tükürük bezlerinden nektar ve enzimlerle karıştırılarak elde edilir. Arı poleni, kovan girişinin önüne konulan polen tuzakları kullanılarak toplanabilmektedir ve besin değeri nedeniyle tüketimi artmıştır. Polenin bileşimi, şekli, rengi bitkiye göre değişiklik gösterebilir (Weis vd., 2022).

Arıların ziyaret ettiği coğrafik köken ve botanik kaynakların değişkenliği nedeniyle arı polenindeki kimyasal bileşiklerin minimum ve maksimum değerleri arasında geniş bir aralık olmasına rağmen (Campos vd., 2010), başlıca bileşenleri proteinler, esansiyel amino asitler, karbonhidratlar, lipitler, fenolik bileşikler, vitaminler (B kompleksi, C ve E), potasyum, magnezyum, kalsiyum, manganez, fosfor, sodyum, demir, çinko, selenyumdur. (Xi vd., 2018). Polen antosiyaninler, karotenoidler ve flavonoidler gibi bileşiklerin ve vitamin ile mikro besinlerin iyi bir kaynağıdır, diyet dengelemek için sporcular tarafından sık kullanılır. Bu özellikler poleni fonksiyonel gıda kategorisinin iyi bir üyesi yapar (Kieliszek vd., 2018). Polen, sahip olduğu besin ögeleri açısından toplandığı lokasyona göre farklılık göstermektedir. Bu nedenle besinsel içeriğinin kesin bir standardı olmasa da polen, yaklaşık olarak %4-15 nem, %15-82 şeker, %7,5-40 protein, lipid, %1-3,5 %1,3-7 vitamin ve mineral içerdiği bilinmektedir (Bakkaloğlu, 2021).

Besleyici özelliklerine ek olarak, arı poleni antioksidan, kalp koruyucu, hepatoprotektif, antienflamatuar, antibakteriyel, antikanser, immüno-uyarıcı ve antianemik aktivite sergiler (Rzepecka-Stojko vd., 2015).

2.1.4 Arı Sütü

Ana maddesi polen ve nektar olan arı sütü, yavru larvaları beslemek amacıyla arının vücudundan salgıladığı, baldan daha besleyici olduğu bilinen bir üründür. Kraliçe arı ömrü boyunca sadece arı sütü ile beslenir; işçi arıların ömrü 1-4 ay iken arı sütü ile beslenen kraliçe arının ömrü 5-7 yıldır (Bogdanov, 2011). Beyaz krem rengine ve karakteristik kokuya sahiptir. %10-16'sı karbonhidrat, %12-15'i protein, %3-6'lık kısmını lipit oluşturup, kalan kısımları serbest aminoasitler, vitamin gibi maddelerden oluşur (Tamura vd., 2009). Yalnızca arı sütüne özgü olan ve biyolojik niteliği kazandıran madde 10-hidroksi dekanoik asittir (Bogdanov, 2011).

2.1.5 Arı Ekmeği (Perga)

Perga; kovanın keşfedilmemiş en önemli ürünlerinden biridir. Hasat esnasında kovanın zarar görmesi sebebiyle arıcılar tarafından fark edilememiştir. Arı ekmeği, arı sütü üreten larva ve genç arıların tükettiği besindir (Urcan vd., 2017). Arı ekmeği üretim süreci, çiçeklerden polen toplanmasıyla başlar ve daha sonra arılar tarafından nektar veya bal ve sindirim enzimleri içeren tükürük ile karıştırılır. Bu aşamada çiçeklerden gelen polenler arı polenine dönüşür, arının arka ayaklarındaki polen sepetinde depolanır ve kovana taşınır. Daha sonra karışımı oksijenden korumak için ince bir tabaka mum eklenir. Anaerobik bir laktik fermantasyon işlemi gerçekleşir ve arı ekmeği üretilir. Bu tür laktik fermantasyon, arı ekmeğini daha sindirilebilir ve yeni besinlerle zenginleştirilmiş hale getirir. Perganın kimyasal bileşimi üzerine yapılan araştırmalar, genel olarak su, protein, serbest amino asitler, karbonhidratlar, yağ asitleri ve biyoaktif moleküllerden oluştuğunu göstermiştir. Yaklaşık olarak; arı ekmeğinde %20-25protein, %35 şeker, %3,5 laktik asit, %24-35 karbonhidrat, %2,40 mineral madde, %1,5 lipid ve %1,5 yağ bulunmaktadır (Bıldır vd., 2022). Bu bileşim, arıların bal üretiminde gittiği bitkilerinin iklim koşullarına ve mevsimsel değişimlerine bağlı olarak bölgeden bölgeye değişir. Tüm bu koşullar, arı ekmeğini farklı biyoaktif moleküllere sahip potansiyel bir fonksiyonel gıda haline getirir (Bakour vd.,2022).

2.1.6 Arı Zehri

Kimyasal yapısı oldukça karışık olan arı zehri, işçi arıların zehir bezlerinde üretip zehir torbasında depo ettiği, farmakolojik açıdan önemli aktif bileşikler içeren bir maddedir (Bogdanov, 2011). 12 günlük, petek gözünden yeni çıkmış arılarda zehir üretme potansiyeli en yüksek iken 20 güne ulaştıklarında zehir üretme yeteneklerini kaybederler (Bogdanov, 2011; Son vd., 2007).

2.1.7 Apilarnil

Apilarnil biyolojik olarak aktif bir arı ürünüdür. Larva döneminin 7.gününde toplanan erkek arı larvalarının, hücreler kapatılmadan önce toz haline getirilmesi ve süzülmesiyle elde edilir. Apilarnil, ilk kez tıbbi ilaçların yapımında kullanılmıştır. Sarı-gri renkli, tadı ekşi, homojen ve sütlü bir maddedir. Fiziksel ve kimyasal bileşimi arı sütüne benzer, ancak yine de farklıdır. (Bărnuţiu vd., 2013; Sabatini vd., 2009). Apilarnil erkek hormonları açısından zengindir ve kas vücut ağırlığını arttırdığı için doğal bir anabolizma uyarıcısı olduğu öne sürülmüştür. Amino asitler, larvaların ana bileşenleri olarak bilinmektedir. Arı larvaları, insan veya hayvan organizmaları tarafından sentezlenemedikleri için tek kaynağı gıda ürünleri olan tüm temel aminoasitleri içerir (Bărnuţiu vd., 2013).

2.1.8 Balmumu

Bal mumu arıların petek örmek amacıyla, 2-4 haftalık işçi arılar tarafından son 4 çift karın halkaları arasındaki salgı bezlerinde salgıladığı maddedir. Arılar bal mumu sentezlemeden önce, 1 kg mum için yaklaşık 6-10 kg bal tüketirler (Hepburn vd., 2016; Sorucu, 2019). Kullanım alanlarında; kozmetik sektörü, diş hekimiği, meyve parlatılması gibi pek çok alan bulunmaktadır.

2.2 Ulusal ve Uluslararası Pazarda Arı Ürünleri

Bal ile arı ürünleri karışımlarının tüketilmesi arzu edilir; ancak bileşimleri ve biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişki hakkında bilgi eksikliği vardır. Arı tarafından toplanan

polen, daha iyi bir depolama için bal ile birlikte muhafaza edilir (Sagona vd., 2017; Čeksterytė vd., 2020).

Yıldız vd. (2014) yaptıkları bir çalışmada, kestane balı, polen ve propolis gibi apiterapötik ürünlerin monoamin oksidaz (MAO) enzimini inhibe etme etme özelliklerini araştırmışlardır. Araştırma için kullanılacak kestane balı, propolis ve polen, Karadeniz bölgesinde bulunan arıcılardan temin edilmiştir. Depresif bozukluklar, parkinson ve alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılan MAO inhibitörünün, kestane propolisinde en yüksek seviyede inhibisyon sergilediği sonucuna varılmıştır (Yıldız vd., 2014).

Ceksteryte vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, bal ve bitkisel yağlarla karıştırılmış arı ekmeği ve arı tarafından toplanan polenin invervaz, glikoz oksidaz aktivitesi ve serbest asitliği üzerine depolama koşullarının etkisini araştırmışlardır. Saklama koşullarının ve süresinin etkisi, test edilen katkı maddeleri ile takviye edilen bilinen botanik orijinli arı ürünlerinde invertaz ve serbest asitlik arasındaki korelasyon değerlendirilerek belirlenmiştir. Katkı maddelerinin biyoaktif özellikler üzerindeki etkisi, 14 karışım kombinasyonunda ve saf arı ekmeği ve polende test edilmiştir. Serbest asitlik ile invertaz aktivitesi arasındaki en yüksek ilişki (r= 0,619) oda koşullarında saklanan katkılı arı ekmeği örneklerinde saptanmıştır. Serbest asitlik ve invertaz aktivitesi arasındaki eşleştirilmiş regresyon verilerine göre, +4–5 C° de saklanan saf arı ekmeği için korelasyon katsayısı (r= 0,747) ve oda koşullarında saklanan ekmek için (r= 0,972) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 2.1 Dünya arı kovanı varlığı (bin adet) (TÜİK, 2022; TEPGE, 2023)

Ülkeler	2016	2017	2018	2019	2020
Hindistan	12055	12,337	10,107	12,166	12,203
Çin	9048	9,144	9,140	9,179	9,216
Türkiye	7900	7,991	8,108	8,128	8,179
İran	7,011	7,134	7,180	7,108	7,141
Etiyopya	6,189	6,524	7,075	6,958	6,986
Rusya Federasyonu	2,952	2,991	2,999	3,020	3,003
Arjantin	2,937	2,983	2,974	2,979	2,983

Tablo 2.1'in devamı

Ülkeler	2016	2017	2018	2019	2020
Tanzanya	3,425	3,317	3,182	3,094	2,982
ABD	2,775	2,684	2,828	2,812	2,706
Meksika	2,155	2,261	2,139	2,145	2,162
Diğer	33,206	34,061	34,787	32,649	32,883
Dünya	90,183	91,828	91,677	93,495	94,000

Arıcılık, günümüzün yaygın şekilde yürütüldüğü tarımsal bir faaliyettir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için oldukça önem arz etmektedir. Tablo 2.1'de verilen dünyadaki kovan sayısı, 2020 yılında 2019 yılına oranla %0,5 artış göstermiştir. Toplam kovan sayısına bakıldığında zirve de bulunan Hindistan %13, ikinci sırada bulunan Çin %9,8 ve üçüncü sırada bulunan ülkemiz %8,7'lik paya sahiptir.

Tablo 2.2 Dünya bal üretimi (ton) (TÜİK, 2022; TEPGE, 2023)

Ülkeler	2016	2017	2018	2019	2020
Çin	555000	542544	446,879	444054	458100
Türkiye	105727	114471	107920	109330	104077
İran	67783	67302	77388	77973	79955
Arjantin	68123	76379	79468	78844	74403
Ukrayna	59294	66231	71279	69937	68028
ABD	73429	67,596	69857	71179	66948
Rusya Federasyonu	69764	65167	65006	63526	66368
Hindistan	61853	62138	62197	62063	62132
Meksika	55358	51066	64253	61986	54165
Brezilya	39677	41696	42268	45801	5,508
Diğer	715390	727889	764777	681727	684435
Dünya	1871398	1882479	1851292	1766420	1770119

Yaklaşık olarak dünyada 1,8 milyon ton/yıl civarında seyreden bal üretimi gerçekleşmektedir. 2020 yılında üretilen bal miktarı 2019 yılında üretilen bal oransal olarak %0,2 oransal olarak daha fazladır. Kovan sayısında lider konumda olan Hindistan 62,132 tonluk bal/yıl üretimi ile listenin sekizinci sırasında yer almıştır. Bu durum kovan başına bal veriminin düşük olması ile açıklanabilmektedir. Bal üretiminde birinci sırada %25,9'luk pay ile Çin bulunmaktadır, Türkiye ise %5,9'luk

pay ile ikinci sırada, %4,5 ile İran üçüncü sırada seyretmektedir. 2019 yılına göre üretim Çin ve Hindistan da artarken Türkiye'de oransal olarak azalma görülmektedir.

Tablo 2.3 Türkiye'de arıcılık verileri (TÜİK, 2022)

Yıllar	Arıcılık yapan işletme	Yeni kovan (Adet)	Eski Kovan (Adet)	Bal (Ton)/Yıl
2016	84047	7679482	220882	105727
2017	83210	7796666	194406	114471
2018	81830	7904502	203922	107920
2019	80675	7929368	198992	109330
2020	82862	7956933	222152	104077
2021	89361	8456305	277089	96344
2022	95386	8734938	249738	118297

Türkiye jeopolitik konumu gereği oldukça geniş bir floraya sahiptir. Hemen her mevsim çiçeklenme vardır, deniz seviyesinin üstünde bulunan yaylalarda hemen her bölgede yapılabilen bir uğraştır arıcılık.

2.3 Apiterapi

Bal arıları, bal ve diğer hayati arı ürünlerini üreten "Altın böceklerdir" (Faqehy ve Taha, 2022). Arılar, yüzyıllardır farklı medeniyetler tarafından çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılan polen, arı sütü, bal, propolis, balmumu ve arı zehri gibi biyoaktif bileşenler içeren çok sayıda ürün üretirler (Al Naggar vd., 2021). Dünyada en yaygın kullanılan kovan ürünlerinden biri olan balın antiseptik ve yara iyileştirici özellikleri gibi tıbbi kullanımları vardır, propolis ise diyabet hastalarını tedavi etmek için kullanılır. Ek olarak, polenin antioksidan özelliği vardır ve arı zehirinin antikoagülan ve anti-inflamatuar özellikleri, artrit (eklem hastalığı) ve diğer inflamatuar durumların tedavisine hizmet eder.

Çeşitli hastalıkları önlemek veya tedavi etmek için doğal ürünlerin araştırılması son zamanlarda önem kazanmıştır. Arı ürünlerine ve apiterapiye olan ilgi de artmıştır (Bognadov, 2020; Doko vd., 2020; Fratellone, 2015; JD Lee vd., 2005). Apiterapi, hastalıkları önlemek veya ilerlemelerini kontrol etmek için terapötik/profilaktik

ajanlar olarak arılar veya ürünleri ile yapılan tedavidir. Günümüzde apiterapi birçok ülkede tamamlayıcı ve bütünleştirici tıbbın bir parçasıdır. Ayrıca içerdiği besin maddeleri nedeniyle arı ürünlerinin nutrasötik ve diyet takviyesi olarak tüketimi artmıştır (Al Naggar vd., 2021; Pasupuleti vd., 2017).

2.4 Arı Ürünleri Karışımları

Arı ürünleri karışımı, bal dışı kovan ürünlerinin bitkiler, ginseng, meyve püreleri, mürver, keçiboynuzu vs. farklı vitamin ve mineral preparatları gibi ürünler ile farklı oranlarda bir araya getirilmesiyle elde edilen ürünler olarak tanımlanmaktadır. Koruyucu bir tedavi olarak özellikle kış aylarında tercih edilen ürünlerin, antimikrobiyal, antikarsinojen, antiseptik vb. bağışıklık sistemini güçlendiren niteliklerinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca yoğun hayat temposuna karşı enerji vermesi, zinde tutması da tercih sebepleri arasında yerini almaktadır.

2.4.1 Ulusal ve Uluslararası Pazarda Arı Ürünleri Karışımları

Ülkemizde arı ürünleri ile ilgili çalışmalar gelişme aşamasında olan bir çalışma alanıdır. Gün geçtikçe arı ürünlerine olan ilgi ve buna bağlı olarak bu ürünlerin kullanımı da artmaktadır. Piyasada bulunan ürünler çocuklara yönelik ve yetişkinler için farklı formlarda olabilmektedir. Arı kovanı ürünleri dışında kakao, fındık, keçiboynuzu, kara mürver, aroma verici maddeler vb. maddelerden de destek alınarak üretilen arı ürünleri karışımları bulunmaktadır.

Yapılan piyasa araştırmasında ürün içeriklerinin farklı oranlarda olduğu görülmüştür. Ulusal pazarda karışımlarda kullanılan ürün miktarları polen de %4-12; propolis de %0,5-10; arı sütünde %0,7-10; perganın ise yaklaşık %3 oranında kullanıldığı tespit edilmiştir. Pazara sunulurken bu karışımlar farklı miktarlarda cam kavanozlarda sunulmuştur. 40 g, 190 g, 200 g, 225 g, 240 g, 450 g gibi ölçüler kullanılmış, aynı zamanda shot serileri de 7 g içeriğiyle raflarda yerini almış tüketiciye sunulmuş ürünlerdendir.

Uluslararası pazarda içeriklerin daha farklı olduğu görülmektedir. İçeriklere açerola, siyah sarımsak, propolis tozu gibi ürünler dahil olmuş, bunların yanı sıra ise ballarda

daha spesifik türler, örneğin biberiye balı, dağ balı vb. tercih edilmiştir. Yurtdışında bu tür fonksiyonel ürünlere ilgi ve talep ülkemize göre daha fazladır.

2.5 Fonksiyonel Gıda Olarak Arı Ürünleri Karışımları

Temel tanımıyla fonksiyonel gıdalar, günlük diyetin yanı sıra sağlık üzerine potansiyel olarak olumlu etkiye sahip, optimal sağlık koşullarının geliştirilmesine yardımcı olan ve bulaşıcı olmayan hastalık riskini azaltan gıdalardır (Dayısoylu ve Sakallı, 2020; Granato vd., 2017). İlk olarak FOSHU (Foods for Specific Health Use - Spesifik Sağlık Kullanımına Yönelik Gıdalar) terimi ile Japonya'da, ardından 1990'ların başında Amerika'da tartışılmıştır (Özdemir vd.,2009).

Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsüne göre fonksiyonel gıdalar, sağlığı iyileştirmek veya hastalık riskini önlemek için çeşitli bileşenleri içermelidir. Aynı zamanda bu besinler temel beslenmenin ötesinde faydalar sağlamalıdır. Gıdaların fonksiyonel olarak sınıflandırılabilmesi için sağlık özelliklerinin bilimsel kanıtlarla desteklenmesi gerekmektedir. Yapılan araştırmalar fonksiyonel gıdanın besin değerlerinin bilinmesinin yanında vücutta ekstra fizyolojik etkileri olduğunu göstermiştir. Bu etkiler yapılarındaki maddelerden dolayı, günümüzün ciddi kardiyovasküler hastalıkları, diyabet, kanser ve diğer birçok kronik hastalığın önlenmesinde ve geciktirilmesinde rol oynayabilmektedir (Alaşalvar ve Pelvan, 2009; Dayısoylu ve Sakallı, 2020). Fonksiyonel gıdalara olan talebin dünya ülkelerinin genelinde tam buğday ve yüksek lifli ürünler olduğu belirtilmiştir. Süt ürünleri ise fonksiyonel gıda pazarında en çok tercih edilen ürünlerinin başında gelmektedir (Giray ve Şahin, 2012).

Fonsiyonel gıda çeşitlerinden balın çok çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği kabul edilmiştir ve bazı araştırmalar balın fenolik bileşiklerinin insan sağlığı üzerindeki yararlı etkilerinden çoğunlukla sorumlu olduğunu göstermiştir (Afrin vd., 2019). Doğal bal 200'e kadar fenolik bileşikler, mineralle, proteinler, serbest amino asitler ve başta früktoz ve glikoz olmak üzere küçük bileşenleri içerir. Balın doğal antioksidan olarak kullanılma potansiyeli de yüksektir. Flavonoidler, fenolik asitler ve bazı enzimler (katalaz, glikoz oksidaz), Maillard reaksiyonu sonucu oluşan ürünler,

askorbik asit, amino asitler ve proteinler bu aktiviteye katkıda bulunur (Leyva-Daniel vd., 2017). Farklı bitki türlerinden elde edilen çiçek polenlerinden oluşan arı poleni, tedavi edici ve önleyici işlevleri, besleyici ve fizyolojik özellikleri nedeniyle geleneksel tıpta ve insan beslenmesinde binlerce yıldır kullanılmaktadır. Bileşimi nedeniyle doğanın en besleyici besinlerinden biri olarak kabul edilir (Conte vd., 2018). Yaygın olarak kullanılan bir diğer fonksiyonel arıcılık ürünü de propolistir. Çeşitli hastalıkları önlemek ve tedavi etmede de kullanılan propolis, ticari olarak kozmetik, sağlıklı yiyecek ve içecek, kapsüller, boğaz pastilleri, gargaralar vb. türevlerde satılmaktadır (Dayısoylu ve Sakallı, 2020; Mak vd., 2018).

Fonksiyonel gıda kavramının ortaya çıkmasının nedeni dünyanın artan nüfusu, küresel ısınma, iklim değişiklikleri gibi kronik çevre sorunları ile mücadele etmenin yanı sıra sağlıklı ve sürdürülebilir beslenme politikası geliştirmeye odaklanması olarak gösterilebilir. Bu derece önemli olduğu bilinen fonksiyonel gıda ve bileşenlerinin çalışmalara konu olması, insanların sağlıklı beslenme doğrultusunda bilinçlenmesi için gerekli bir husustur.

2.6 Yüzey Yanıt Metodu

Yüzey yanıt metodu, "Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması" mantığıyla1951 yılında geliştirilmiş ve tanımlanmıştır. İlk uygulama alanı kimya endüstrisidir. Matematiksel modellemenin çalışma alanı olanı yüzey yanıt metodunun amacı deneysel tasarım ile bağımsız değişkenin etkilediği cevabın optimize edilmesidir. Yüzey yanıt metodu, deneysel stratejileri, sistemin cevabı ve sisteme etki eden girdilerin arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılan optimizasyon tekniklerini içerir (Koç ve Ertekin, 2008). Gıda endüstrisinde fazla zaman harcama ve yüksek maliyet problemlerini ortadan kaldırmak için bu yöntem oldukça sık tercih edilmektedir.

Yüzey yanıt metodu, yanıtları etkileyen birkaç bireysel faktörün etkileri arasındaki mevcut ilişkiyi, bu faktörleri aynı anda değiştirerek aynı anda incelemek için yararlı bir modeldir. Faktörkombinasyonlarının sayısını en aza indirir ve logaritması sayesinde yanıtları, regresyon modelini tahminler. Genellikle süreç optimizasyonu için iyi çalışır. Tahminlenen regresyon modeli denklemin ilişkiyi ne derece açıkladığı ve

ne derece hassas olacağının araştırılması gerekmektedir. Seçilen en uygun modelin matematiksel ifadesinin uygunluğu test edilmelidir (Koç ve Ertekin, 2010). Bu amaç doğrultusunda varyans analizi (ANOVA) gerçekleştirilir ve model uygunluk testi yapılır. Uygun bir deneme dizaynıçıkarıldıktan sonra modelin optimum noktasının araştırılmasında kullanılır.

Yanıt yüzey metodunun en avantajlı özelliği deneysel çalışma sayısını azaltarak enerji, zaman ve hammadde tasarrufu sağlamasının yanı sıra çeşitli faktörlerin etkileşimini de dikkate almasıdır (Ünal, 2016).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

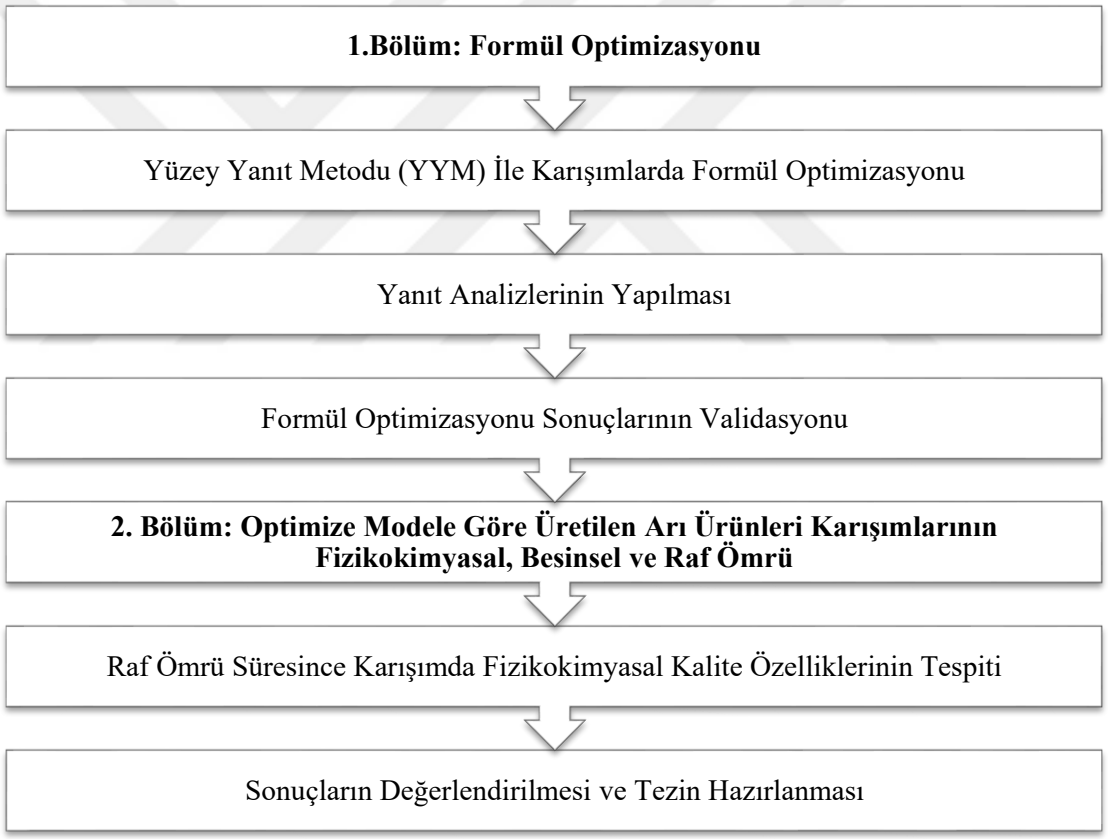
Çalışmada hammadde olarak kullanılan kestane balı, polen ve propolis, Kastamonu'da arıcılık faaliyetlerinin yoğun olarak yapıldığı Doğanyurt ilçesinden (Beeonfood Ltd.Şti), çiçek balı Bitlis yöresinden (Tulliana Arıcılık) temin edilmiştir. Temin edilen propolis ve polen soğuk koşullarda laboratuvara getirilerek buzdolabında +4 °C'de, bal ise ağzı kapalı olarak ve direkt güneş ışığına maruz kalmayacak şekilde muhafaza edilmiştir.

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz	Marka	Model	Ülke
Kolorimetre	3nh	NR145	Çin
Çalkalamalı inkübatör	Heidolph	Unimax 1010	Almanya
Etüv	Mikrotest	MST55	Türkiye
Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometri Sistemi (LC-MS/MS),	Shimadzu	LCMS-8030 Plus	Japonya
Manyetik karıştıcı	MTOPS	MS300HS	Kore
Vorteks	Heidolph	Reak Top	Almanya
Spektrofotometre	Schimadzu	UV-1800	Japonya
Hassas Terazi	OHAUS	Pioneer	ABD
Terazi	TEM	NS	Türkiye
Viskozimetre	FungiLab		Almanya
pH metre	OHAUS	ST 3000	ABD
Protein tayin cihazı	Buchi	K-355	İsviçre
Kül fırını	JSR	JSMF-45T	Kore
Mikrodalga yakma sistemi	Milestone	EthosOne	İtalya
Yüksek performanslı sıvı kromotografisi (HPLC)	Shimadzu	LC20-A Prominence	Japonya

3.2 Metot

Tez çalışması iş planı aşamaları akım şeması halinde Şekil 3.1'de verilmiştir. Tez çalışmasında 2 ana bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde Yüzey Yanıt Metodu kullanılarak arı ürünleri karışımının 3 temel bileşeni olarak belirlenen propolis, bal (çiçek ve kestane balları) ve polen formül değişkenleri için formül optimizasyonu yapılmış ve elde edilen modeller valide edilmiştir. İkinci bölümde, ilk bölümde elde edilen optimize formüle göre üretilen çiçek ve kestane ballı arı ürünleri karışımlarının temel bileşen içerikleri, fizikokimyasal nitelikleri ile ve depolama sürecinde bazı kalite niteliklerindeki değişimler incelenmiştir.



Şekil 3.1 Tez planı ve akım şeması

3.2.1 Yüzey Yanıt Metodu ile Formül Optimizasyonu

3.2.1.1 Deneysel dizayn

Karışımlarda kullanılacak bal, polen ve propolis oranları arı ürünleri karışımı üretiminde etkili değişken faktörler olarak belirlenmiştir. Bu faktörlerin antioksidan aktivite, toplam fenolik madde içeriği, toplam mineral madde ve duyusal beğeni skoru üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla Yüzey Yanıt Metoduna (YYM) bağlı olarak Merkezi Bileşen Deneme Desenine göre hazırlanan deneme deseni (Tablo 3.2) kullanılmıştır. Deneme deseni Design Expert 7.0.1 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur.

"Polen miktarı, propolis miktarı ve bal miktarı" olmak üzere 3 bağımsız değişken (faktör)'nin kullanımı ile oluşturulan merkezi bilesen deneme deseninde 5 merkez nokta belirlenmiştir. Yapılan ön çalışmalar ve ulusal arı ürünleri pazarındaki örneklerin incelenmesi ile faktör seviyeleri oluşturulmuştur.

Programın önerdiği 13 deneme hem çiçek balı hem de kestane balı kullanılarak ayrı ayrı üretilmiş, optimizasyon çalışması her iki üründe de uygulanmıştır.

Deneme desenine göre üretilen karışımlarda yanıt olarak "antioksidan aktivite, toplam fenolik madde içeriği, toplam mineral madde ve duyusal beğeni skoru" açısından elde dilen sonuçlar Merkezi Bileşen Deneme Deseni "Overall Desirability" fonksiyonu kullanılmış ve her iki bal çeşidi için de optimize modeller elde edilmiştir.

Tablo 3.2 YYM'a göre kullanılan bağımsız değişkenler ve seviyeleri

Seviye no	Polen miktarı (g)	Propolis miktarı (g)	Bal miktarı (g)
-1,68	0	0	85,49
-1	1,76	0,73	89,03
0	6,00	2,50	91,50
1	10,24	4,27	93,97
1,68	12,00	5,00	97,51

Bağımsız faktör olarak alınan Propolis, polen ve bal kullanım oranlarının 5 farklı kullanım seviyesine göre Design Expert yazılımı tarafından önerilen 13 denemelik deneme dizaynı Tablo 3.3 de verilmiştir.

Tablo 3.3 Desing Expert yazılımı tarafından önerilen bal karışımlarında kullanılan deneme deseni

Deneme	Propolis (g)	Polen (g)	Bal (g)
1	2,50	6,00	91,50
2	4,27	1,76	93,97
3	2,50	12,00	85,50
4	2,50	6,00	91,50
5	2,50	6,00	91,50
6	5,00	6,00	89,00
7	2,50	0,00	97,50
8	0,00	6,00	94,00
9	4,27	10,24	85,49
10	2,50	6,00	91,50
11	2,50	6,00	91,50
12	0,73	1,76	97,51
13	0,73	10,24	89,03

3.2.2 Arı Ürünleri Karışımlarının Hazırlanması

Bal, polen ve propolis kullanılarak dizaynda önerilen 13 çiçek ballı, 13 kestane ballı karışım elde edilmiştir. Bileşenler belirtilen miktarlarda hassasiyetle tartılmış ve homojen görünüm sağlanıncaya kadar metal materyal kullanılmadan karıştırılmıştır.




Şekil 3.2 Arı ürünleri karışımlarının hazırlanması

3.2.3 Briks ve Kuru Madde

Bal karışımı örneklerinin suda çözünür kuru madde miktarı analizleri için Abbe refraktometresi kullanılmıştır. Tüm ölçümlerden önce cihaz saf su ile kalibre edilmiş ve ölçümler 20°C ortam sıcaklığında yapılmıştır. (Cemeroğlu, 1992). Ürünlerin kuru madde miktarları için darası alınmış sabit tartım ağırlığına getirilmiş tartım kaplarına ortalama 5 g numune tartılarak sabit tartım ağırlığına gelinceye kadar 105 °C'de etüvde tutulmuş ve numune miktarı üzerinden kaybedilen rutubet % olarak hesaplanmıştır.

3.2.4 Protein Tayini

Kjeldahl protein tayin metodu kullanılmıştır. Homojenize edilmiş 1 g numuneye H_2SO_4 ile yaş yakma, ardından destilasyon (damıtma) işlemi (%40'lık NaOH çözeltisi ve %2'lik H_3BO_4 çözeltisi ile) ve 0,1 N HCl ile titrasyon işlemleri yapılmıştır (TS 1620).

$$\%\ \text{Azot} = \frac{(V1-V0)\times N\times 0.014}{m} \times 100 \qquad (3.1)$$

$$\%\text{Protein} = \%\text{Azot} \times F$$

V1= Titrasyon için harcanan HCl miktarı (ml)
V0= Kör deneme titrasyonunda harcanan HCl miktarı (ml)
N= Titrasyonda kullanılan HCl çözeltisinin normalitesi (0,1 N)

0,014= Azotun miliekivalen ağırlığı

m= Alınan gıda örneği miktarı (g)

F= Protein çarpma faktörü 6,25

3.2.5 Kül Miktarı

Sabit tartıma getirilmiş porselen krozelere 1 g (0,0001 g hassasiyetinde) numune tartılıp, önce 600 °C daha sonra 900 °C'de 5 saat yakılması ve beyaz kül oluşumu ile desikatöre alınan krozelerin oda sıcaklığına geldikten sonra tartılması sonucuda kül miktarı hesaplanmıştır.

$$\%\ \text{Kül Miktarı} = \frac{(\text{Son tartım} - \text{Dara})}{(\text{İlk tartım} - \text{Dara})} \times 100 \qquad (3.2)$$

3.2.6 Yağ Tayini

Polen de yağ tayini Soxhelet yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (AACC, 2000). Analiz için 5 g numune kartuş içerisine tartılmış ve soxhlet cihazının ekstraksiyon tüpüne yerleştirilmiştir. Ön hazırlık olarak ekstraksiyon balonları sabit tartıma getirilmiş ve tüpün altına yerleştirilmiştir. Üründeki yağ, n-hekzan kullanılarak ekstrakte edilmiştir. İşlem sonucunda balonda yağdan hariç kalan fazla çözücü uzaklaştırılmış ve balon desikatöre alınmış oda sıcaklığına geldiğinde tartımı alınıp %yağ miktarı hesaplanmıştır.

$$\%\ \text{Yağ} = \frac{\text{Son tartım} - \text{Dara}}{\text{Örnek miktarı}} \times 100 \qquad (3.3)$$

3.2.7 pH Analizi

10 g numune uygun behere tartılmıştırüzerine 75 mL saf su ilave edilip homojen forma getirilinceye kadar çözündürülmüş ve kalibre edilmiş pH metre cihazının elektrodunun homojen hale getirilmiş numuneye daldırılması ile ölçüm yapılmıştır. Okuma 20±2°C de yapılmıştır (TS 1728 ISO 1842).

3.2.8 Asitlik Tayini

Yaklaşık 10 g bal numunesi 250 mL hacminde temiz bir erlene tartılarak üzerine 75 mL su eklenip erlenin ağzı kapalı olarak karıştırılmış ve balın çözünmesi sağlanmıştır. Çözeltiye fenolftalein çözeltisi damlatılarak, 0,1 N NaOH çözeltisi ile kırmızı rengin en az 15 s kaybolmadan kaldığı eşdeğerlik noktasına kadar titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan NaOH çözeltisi hacmi (Vt) kaydedilmiştir.

İkinci bir erlende bir şahit titrasyon denemesi yapılmış, titrasyonda kullanılan indikatör ve suyun harcayabileceği NaOH çözeltisi hacmi (Vo) belirlenmiş, numunenin asitliği (A), meq/kg olarak, aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$A = \frac{M*V*1000}{m} \quad (3.4)$$

Bu eşitlikte;
M; Standard sodyum hidroksit çözeltisinin molaritesi, (mmol/mL),
V; V_1-V_0, (mL),
m; Deneyde kullanılan bal numunesinin kütlesi (g)'dir.

3.2.9 Renk Analizi

Örneklerin renk yoğunluğu kolorimetrik yöntemle belirlenmiştir. Kolorimetrik yöntem üç boyutlu renk ölçümünü esas almakta olup, X eksenindeki *a**; yeşil (-a), kırmızı (+a), Y eksenindeki *L** (lightness); 0=siyahtan, 100=beyaza kadar olan örneğin açıklık-koyuluk (parlaklık), Z eksenindeki *b**; sarı (+b), mavi (-b) renk boyutunu göstermektedir. Ölçümler 5 paralel olarak yapılmış ve değerlerin ortalaması alınarak ve renk parametreleri belirlenmiştir (Hendek Ertop, 2014).

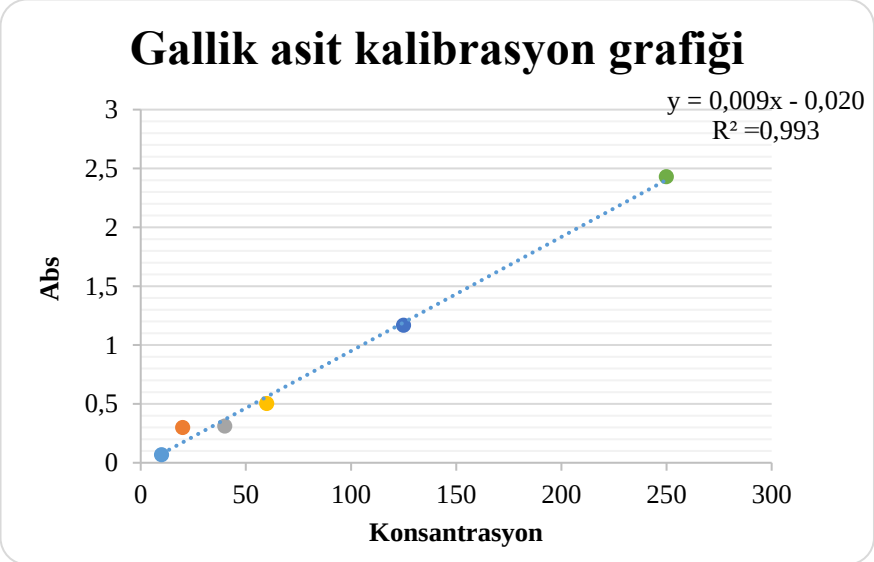
3.2.10 Viskozite Analizi

Örneklerin viskozite değerleri, rotasyonel viskozimetre (spindel no: R7) kullanılarak 5; 10; 15; 30; 60 rpm'de sabit sonuç elde edilinceye kadar ölçülmüş ve ortalamaları alınmıştır. Sonuçlar kesme hızına karşı viskozite değeri olarak verilmiştir (Hayta, 2002).

3.2.11 Toplam Fenolik Madde Miktarı

Fenolik madde miktarı tespitinde, Folin Ciocalteu reaktifi ile renkli kompleks oluşturma temeline dayanan folin metodu kullanmıştır (Singleton ve Rossi, 1965; Singleton vd., 1999). Fenolik maddelerin folin reaktifi ile oluşturduğu mor menekşe rengi olarak tabir edilen kompleks 760 nm'de maksimum absorbansa sahip olduğundan bu rengin spektrofotometrik ölçümü ile toplam fenolik madde miktarı tespit edilmiştir.

2 g karışım örneği 20 ml'ye etanol (%80) içinde ekstrakte edilen 1:10 oranında etanol (%80) ile seyreltme işlemi uygulandıktan sonra, 0,15 mL örnek alınarak üzerine 0,15mL 0,2 N Folin-Ciocalteu's fenol çözeltisi, 0,12 mL %7,5'lik Na_2CO_3 ve 1,2 mL saf su eklenmiştir. Karıştırma işleminin ardından örnekler karanlıkta oda sıcaklığında 1 saat bekletilmişler ve süre sonunda 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Aynı işlemler farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 40, 60, 125, 250, 500 mg/L) hazırlanan gallik asit standart çözeltileri ile de gerçekleştirilmiş ve örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı gallik asit standart eğrisi yardımıyla hesaplanmış ve sonuçlar 100 g örnekte µg/g gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir.



Şekil 3.3 Gallik asit kalibasyon grafiği

3.2.12 Antioksidan Aktivite Tayini

Karışımların antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) serbest radikal süpürme yöntemi kullanılmıştır. 2 g örnek üzerine %80'lik etanol çözeltisi ilave edilmiş, 3 saat 37°C de karıştırıcıda karıştırılmış ve 15 dk ultrasonik banyoda tutulmuştur. 24 saat +4°C karanlık ortamda bekletilmiş ve süzülmüştür. Analiz için 0,3 mL örnek, 4,9 mL DPPH (0,025 g/L etanol), 1mL etanol vortekslenmiş 25°C de 30 dk karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak örnek yerine çözücü (etanol %80) kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda örneklerin, absorbansı 517 nm'de UV- spektrofotometrede okutulmuş, sonuçlar inhibisyon (%) cinsinden belirlenmiştir. Antioksidan aktivite tayini, Atasoy ve Hendek Ertop (2021)'e göre modifiye edilmiştir.

$$\text{İnhibisyon değeri \%} = \left[1 - \left(\frac{AS}{AO}\right)\right] * 100 \qquad (3.5)$$

AS: Örnek ekstraktına ait absorbans değeri
A0: Şahit DPPH çözeltisinin absorbans değeri

3.2.13 Amino Asit Kompozisyonu

0,5 g numune tartılarak 20 ml HCl ile 110°C'de 18-24 saat yakılmıştır. Üzerine 20 ml saf su ilave edilerek 70°C'de evaporatörde kurutulmuştur. Saf su ile balon jojede 25 ml'ye tamamlanmıştır.

Tablo 3.4 Aminoasit kompozisyonu için LC-MS/MS çalışma koşulları

Enjeksiyon hacmi	0,2 µL
Kolon	Zorbax Eclipse AAA 4,6 X 150 mm; 3,5 µm
Akış	1 mL/dk
Kolon sıcaklığı	40 °C
Mobil faz A	‰ 1 Formik asit içeren su
Mobil faz B	‰ 1 Formik asit içeren metanol

Analizi yapılan numunelerde çeşitli bileşenler olduğunda izokritik bir yöntemle ayırmak sonuçların daha iyi verilmesini sağlamaktadır. Gradient ayrım ile mobil faz

kuvvetin zamanın bir fonksiyonu olarak arttırmak esasına dayanır. Böylece sonuçlar daha hızlı ve daha iyi pik şekli ile sonuçlanmaktadır. Analiz için belirlenen gradient programı Tablo 3.5'de verilmiştir.

Tablo 3.5 Aminoasit kompozisyonu için kullanılan gradient programı

Süre (dk)	A	B
2,50	85	15
4,60	70	30
7,50	60	40
9,70	30	70
10,50	0	100
13,50	0	100
14,00	85	15

3.2.14 Mineral Madde Kompozisyonu

Çalışma materyalleri ilk aşamada mikrodalga da yakma işlemi (Millestone MLS 1200, İtalya) kullanılarak yakılmıştır. Ardından indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ile tayin edilmiştir. (Hayta ve Hendek Ertop, 2019). Mikrodalga Yakma Sistemi (CEM MARS6) kullanılarak yakılan örnekler cihazın aplikasyon bilgilerine göre örnek numune için 0,25 g tartılıp üzerine 10 ml HNO_3 (%65 v/v) ilave edilmiştir. Teflon mikrodalga kaplarının ağızları oldukça sıkı kapatılıp uygun sıcaklık programında yakma işlemine geçilmiştir. Örnek için belirlenen program prosedürüne göre 45 bar basınçta ilk 15 dk 210°C'ye kadar çıkmış ardından 15 dk da 200°C sıcaklıkta sabit döndürülmüştür. Ardından çözelti haline gelen numunelerin oda sıcaklığına düşmesi beklenmiştir ve üzerleri ultra saf su ile 25 ml'lik balon jojede tamamlanmıştır. Seyreltme faktörü ölçüm sonunda hesaba katılmıştır (Seyreltme Faktörü: 100).

3.2.15 Fenolik Madde Kompozisyonu

Hammadde ve karışımekstrelerinde biyoaktif bileşen analizi, LC-MS/MS ile analizi yapılmıştır. 17 fenolik madde standardı kullanılarak yapılan analizler; Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. LC-MS/MS ile fenolik

bileşiklerin analizi, ikili MS cihazı bağlanmış bir LCMS-8030 Plus modeli Shimadzu LC kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 3.6 Fenolik madde kompozisyonu için LC-MS/MS çalışma koşulları

Enjeksiyon hacmi	10 µL
Kolon	Inertsil ODS4 3 µM, 2,1 x 50 mm
Akış	0,4 mL/dk
Kolon sıcaklığı	40 °C
Mobil faz A	‰ 1 Formik asit içeren su
Mobil faz B	‰ 1 Formik asit içeren metanol

Analiz için belirlenen gradient programı Tablo 3.7'de verilmiştir.

Tablo 3.7 Fenolik madde kompozisyonu için gradient programı

Süre (dk)	**A**	**B**
4,00	5	95
7,00	5	95
7,01	95	5
12,00		

Tablo 3.8 LC-MS/MS'te kullanılan ana ve yavru iyonlar

	m/z
Kateşin	291,1> 138,90- 122,90 (pozitif iyonlaşma)
Sinnamik asit	149,10> 130,90- 103,20 (pozitif iyonlaşma)
Galik asit	168,80> 124,90- 78,90- 81,00 (negatif iyonlaşma)
2-5 Dihiroksi benzoik asit	153,10> 107,90 – 109,00 (negatif iyonlaşma)
Tannik asit	182,90> 123,60 – 78,20 (negatif iyonlaşma)
Kafeik asit	178,90> 135- 134- 89 (negatif iyonlaşma)
Trans ferulik asit	192,80> 132,90- 178,00 (negatif iyonlaşma)
Rutin trihidrat	609> 300 - 271- 301 (negatif iyonlaşma)
Mirisetin	316,80> 178,90- 151- 137 (negatif iyonlaşma)
Naringenin	270,80> 150,90- 118,90- 92,90(negatif iyonlaşma)
Ellajik asit	300,80> 229,10- 257,10(negatif iyonlaşma)
Kuersetin	300,80> 150,80- 121,10- 106,90 (negatif iyonlaşma)
Luteolin	284,80> 217- 198,80- 174,90 (negatif iyonlaşma)
Krisin	252,80> 142,90- 119- 209,10- 106,9(negatif iyonlaşma)
Triasetin	240,70>181,00- 159,00 (pozitif iyonlaşma)
Apigenin	269,20>117- 107- 150,90 (negatif iyonlaşma)
CAPE	282,90>135- 179- 161

3.2.16 Duyusal Analiz

Arı ürünlerinden, deneme dizaynına göre hazırlanan örnekler duyusal analize tabii tutulmuştur. Arı ürünleri tüketen ve sigara kullanmayan kişilerden seçilen panel grubuna sunulan örnekleri, görünüm/renk, kıvam, koku/aroma, lezzet, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik kriterleri açısından 0-5 puan aralığında hedonik skala ile değerlendirmeleri istenmiştir.

Tablo 3.9 Duyusal analiz puanlama skalası

Kabul edilebilirlik düzeyi	
5puan	Çok beğendim
4puan	Beğendim
3puan	Orta derecede beğendim
2puan	Az beğendim
1puan	Hiç beğenmedim

3.2.17 İstatistiksel Analizler

Yapılan tüm çalışma sonuçların istatistiksel değerlendirmesi SPSS 17.0.1 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçların değerlendirmesinde veriler çoklu varyans analiz (ANOVA) ile örneklerin sonuç ortalamaları arasındaki fark $p<0,05$ anlamlılık düzeyine istinaden Tukey çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

İkili veri karşılaştırmalarında bağımsız değişkenler t-testi ($p<0,05$ anlamlılık düzeyinde) kullanılmıştır.

3.2.18 Raf Ömrü Çalışması

Karışımların raf ömrü süresince değişimlerini gözlemlemek üzere optimize çiçek ballı ve kestane ballı karışımlar için beşer kavanoz (40 cc) seçilmiş, karanlık ortamda ve hava almayacak şekilde oda koşullarında muhafaza edilmiştir. Analizler 10 günde bir olacak şekilde 5 kez yapılmış, son analiz 40. günde yapılmıştır.



(a)



(b)

Şekil 3.4 Arı ürünleri karışımlarının (a: Kestane ballı karışım, b: Çiçek ballı karışım) depolama süreci için hazırlık

4. BULGULAR

4.1 Hammaddelerin Fizikokimyasal Kalite Nitelikleri

Çalışmada kullanılan hammaddelere ait kalite özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 Hammaddelerin bazı fizikokimyasal nitelikleri

	Nem (%)	pH	Renk		
			L	*a*	*b*
Kestane balı	17,8±0,01	5,6±0,01	15,84±7,49	2,14±1,89	3,30±1,58
Çiçek balı	16,5±0,01	4,1±0,02	31,66±4,98	1,47±1,20	4,14±1,83
Propolis	-	7,4±0,01	0,29±0,10	7,77±1,69	3,45±0,61
Polen	12,98±1,02	4,8±0,02	63,58±0,74	16,22±0,09	67,69±0,75

(a)

	Toplam mineral madde (% m/m)	Protein (% m/m)	Yağ (% m/m)	Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)
Kestane balı	0,44±0,11	0,29±0,003	-	26,25±2,05	187,22±8,64
Çiçek balı	0,13±0,13	0,18±0,005	-	19,24±3,17	106,67±1,57
Propolis	0,43±0,17	-	-	49,38±1,05	7511,11±133,33
Polen	1,60±0,01	16,17±0,02	4,13±0,09	88,70±4,56	3023,89±168,92

(b)

Hammaddelerde yapılan nem (%), toplam mineral madde (%), protein (%), pH, renk (*L*, a*, b**), yağ (%), antioksidan aktivite (%inhibisyon) ve toplam fenolik madde (µg/g) değerleri tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.1'de verilmiştir.

Çiçek balı ve kestane balının fizikokimyasal özeliklerinin incelenmesi, bal kalite standartlarına dayanmaktadır. Kestane ve çiçek ballarının nem içeriği en fazla %20 olmalıdır (TGK, Arı ürünleri taslak tebliğ, 2020). Kestane ve çiçek ballarının nemsonuçları (%17,8 - %16,5) kodekse uygun bulunmuştur. Çiçek balı için elde edilen

pH değeri ortalama 4,1; kestane balı için 5,6 olarak bulunmuştur. Balda bulunan organik asitlere bağlı olarak, pH 3,5 ile 5,5 arasında değişir. 7'den yüksek bir değer mikroorganizmaların gelişmesini teşvik edebilir (Sánchez-Martín 2022). Çiçek ve kestane balı kalite standartlarının kabul ettiği pH değerlerine sahiptir.

Hammaddelerde yapılan toplam mineral madde içeriğine bakıldığında, kestane balı (%0,44) ve propolisin (%43) yaklaşık olarak aynı düzeyde kül miktarına sahip olduğu görülmektedir. Çiçek balı düşük miktarda (%0,13) bulunduğu, hammaddeler arasında en az kül miktarına sahip olduğu görülmektedir. Polen, kestane balı ve propolisten yaklaşık dört kat daha fazla kül miktarına sahip olduğu yapılan analiz sonucunda görülmektedir. Bal, insan vücudunun ihtiyaç duyduğu demir, fosfor, magnezyum, mangan, sodyum, iyot gibi minerallerce zengindir (Mutlu vd., 2017) ve mineral içeriği bitkilerin nektar verimine ve polen kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Mikro elementler, birçok antioksidan ve antioksidan olmayan enzimin kofaktörleri olarak işlev görür. Bu nedenle, metabolizmanın ve insan vücut bütünlüğünün etkili bileşenleridir (Bakour vd., 2022).

Renk standartlarda yer almayan bir parametredir. Bununla birlikte, analizi botanik orijinine ilişkin yararlı bilgiler sağlar. Çiçek balı için genellikle arının nektar aldığı çiçeğin cinsine göre değişir. Açık sarı renkten başlayıp, koyu kırmızıya kadar; sarı, kehribar, kahverengi ve kırmızımsı renklerden oluşur. Kestane balı monofloral bir bal olduğu için koyu kahverengimsi bir renktedir. Hammaddelerde yapılan renk tayini sonucunda çiçek balı, kestane balına göre daha parlak ve daha sarı çıkmıştır. Kestane balının ise rengi daha koyu ve kırmızılık değeri yüksek çıkmıştır. Propolisin parlaklık değeri oldukça düşük, kırmızılık değeri ise diğer hammaddelere göre daha yüksek bulunmuştur. Polenin parlaklık değeri çiçek balından iki kat daha parlak, kırmızılık değeri kestane balının yaklaşık sekiz katı ve sarılık değeri ise en yüksek değere sahip olarak tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksine göre arı poleninde bulunması gereken toplam yağ miktarı minimum %1,5 olup (TGK, Arı ürünleri taslak tebliğ, 2020) çalışmamızda kullanılan polenin yağ miktarının %4,13 olduğu tespit edilmiştir. Nem miktarı %12,98 olarak tespit edilmiş ve sonuç kodekse (<22) göre uygun bulunmuştur.

4.2 Yüzey Yanıt Metodu ile Formül Optimizasyonu

4.2.1 Çiçek Ballı Arı Ürününe Ait Optimizasyon Sonuçları

Karışımda kullanılacak polen, propolis kullanım oranları YYM için değişken etkenler olarak belirlenmiştir. Bu etkenlerin antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, toplam mineral madde ve duyusal değerlendirme üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla Yüzey Yanıt Metoduna (YYM) bağlı merkezi bileşen deneme desenine göre hazırlanmış Tablo 3.3'de gösterilen deneme desenleri kullanılmıştır. Deneysel dizayna göre karışımlar hazırlanmış ve yanıt olarak seçilen analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, toplam mineral madde ve duyusal değerlendirme sonuçları Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.2 Desing Expert yazılımı tarafından önerilen çiçek ballı arı ürünleri karışımı için deneme deseni ve yanıtlar

Deneme	Propolis (gr)	Polen (gr)	Bal (gr)	Antioksidan aktivite (% inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal değerlendirme puanı	Toplam mineral madde (%)
1	2,50	6,00	91,50	40,95	689	3,75	0,265
2	4,27	1,76	93,97	38,02	564	3,80	0,220
3	2,50	12,00	85,50	76,14	819	3,56	0,390
4	2,50	6,00	91,50	49,76	635	3,92	0,290
5	2,50	6,00	91,50	48,75	687	4,13	0,275
6	5,00	6,00	89,00	63,72	842	3,63	0,380
7	2,50	0,00	97,50	21,93	495	4,65	0,150
8	0,00	6,00	94,00	26,2	461	3,98	0,225
9	4,27	10,24	85,49	74,83	940	3,82	0,380
10	2,50	6,00	91,50	40,84	623	3,96	0,275
11	2,50	6,00	91,50	41,98	557	4,00	0,225
12	0,73	1,76	97,51	21,36	462	4,67	0,180
13	0,73	10,24	89,03	64,67	782	4,19	0,425

Tablo 4.2'deki veriler Design expert yazılımı tarafından analiz edilerek önerilen uygun fonksiyon belirlenmiştir. Bu belirleme yapılırken; Antioksidan aktivite, Toplam fenolik madde, Toplam mineral madde ve Duyusal değerlendirme verileri için Model Uyumsuzluğu" ve "Ardışık Model Kareler Toplamı (Tip I)" testleri yapılmış ve her

bir fonksiyon için düzeltilmiş R^2, standart sapma, öngörülen R^2 ve R^2 değerleri göz önünde bulundurulmuştur. Bu değerler program tarafından karşılaştırılarak önerilen fonksiyon belirlenmiş, her bir fonksiyon için istatiksel parametreler hesaplatılmıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Çiçek ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri**;** Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; model ve bağımsız değişken faktörler için belirlenen p değerleri

		p değerleri*			
		Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal puan	Toplam mineral madde (%)
Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi	Quadratic	0,3483	0,7023	0,3630	0,3459
	Lineer	**<0,0001**	**<0,0001**	**0,0072**	**0,0001**
	Cubic	0,1901	0,1387	0,0900	0,0484
	Model uyumsuzluğu	**0,3602**	**0,4179**	**0,1015**	**0,1262**
Model ve bağımsız değişken faktörler	Model	<0,0001	<0,0001	0,0072	0,0001
	A-Propolis	**0,0002**	**0,0007**	**0,0227**	0,0771
	B-Polen	**<0,0001**	**<0,0001**	**0,0114**	**< 0,0001**

* $p<0,05$ istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir

Tablo 4.4 Çiçek ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri**;** Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; Lineer fonksiyon için varyans analiz sonuçları

Yanıt	Antioksidan aktivite (% inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal değerlendirme puanı	Toplam mineral madde (%)
R^2	0,938	0,876	0,627	0,835
Düzeltilmiş R^2	0,926	0,852	0,553	0,802
Öngörülen R^2	0,891	0,778	0,243	0,681
V.K. %	10,77	8,96	5,68	13,59
Intercept	+5,021	+312,405	+4,661	+0,114
A-Propolis, %	+6,649	+56,485	-0,122	+0,015
B-Polen, %	+4,619	+34,006	-0,059	+0,022

Bir sonraki aşamada, önerilen fonksiyonların hangisinin en iyi modelleme yaptığını belirlemek için ANOVA tabloları ayrı ayrı oluşturulup karşılaştırılmıştır. En iyi modellemeyi yapan fonksiyon seçilirken istatistiksel parametrelerde;

- Model; Önemli,
- Model uyumsuzluğu (lack of fit); Önemsiz "P>0,05",
- Bütün model terimleri için; "(Prob>F) değerleri <0,05",
- R^2; ~1,
- Düzeltilmiş R^2; ~1,
- Öngörülen R^2; ~1,
- Düzeltilmiş R^2 ~ Öngörülen R^2,
- Varyasyon Katsayısı (% V.K.); minimum olması öngörülmüştür (Hendek Ertop, 2014).

Program tarafından model önerilirken en düşük p değerine sahip olması ve önem düzeyi p<0,05 öngörülmüş, "model uyumsuzluğu" değerlerinin ise önemsiz yani p>0,05 olması öngörülmüştür. Tablo 4.3'de görüldüğü gibi bu çalışma için tabloda verilen modeller geçerli, "model uyumsuzluğu" değerleri uygun ve "Prob>F>0,050" değerine sahip parametreler önemsizdir.

"Antioksidan aktivite (%inhibisyon)" için belirlenen veriler program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon (Quadratic, lineer ve Cubic) için istatistiksel parametreler hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar "model uyumsuzluğu", "Düzeltilmiş R^2", "Öngörülen R^2" gibi değerleri açısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.3.'de görüldüğü gibi antioksidan aktivite için Lineer (1.dereceden) fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir (p<0,05). Bu nedenle çalışmamızda Antioksidan aktivite için Lineer fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri (p<0,05) değerlendirildiğinde, polen ve propolis kullanım miktarlarının, arı ürünleri bal karışımının antioksidan aktivitesi üzerindeki etkisi ise her iki bağımsız değişken açısından da önemli bulunmuştur (p<0,05).

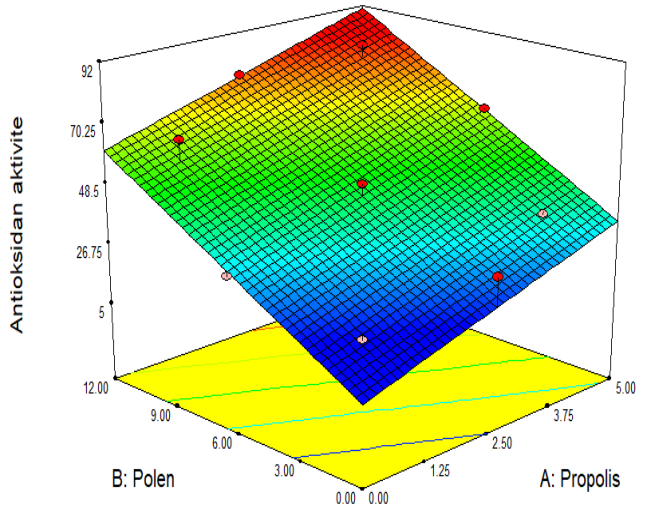
"Toplam fenolik madde (µg/g)" için belirlenen veriler program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon (Quadratic, lineer ve Cubic) için istatiksel parametreler

hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar; "model uyumsuzluğu", "Düzeltilmiş R^2", "Öngörülen R^2" gibi değerler açısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.3'de görüldüğü gibi Toplam fenolik madde için Lineer (doğrusal) fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle çalışmamızda Toplam fenolik madde için Lineer fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri ($p<0,05$) değerlendirildiğinde, polen ve propolis kullanımmiktarlarının, arı ürünleri bal karışımının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi ise her iki bağımsız değişken açısından da önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

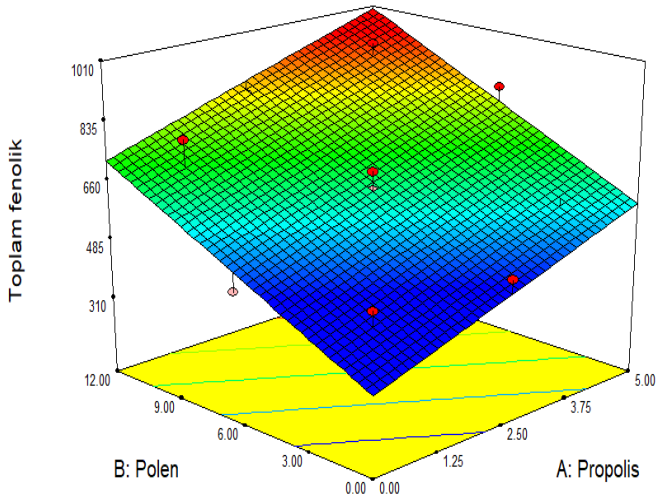
"Duyusal değerlendirme puanı" için belirlenen veriler program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon (Quadratic, Lineer ve Cubic) için istatiksel parametreler hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar model uyumsuzluğu", "Düzeltilmiş R^2", "Öngörülen R^2" gibi değerleri açısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.3'de görüldüğü gibi Duyusal değerlendirme için Lineer fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle çalışmamızda duyusal değerlendirme puanı için Lineer fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri ($p<0,05$) değerlendirildiğinde, polen ve propolis kullanım miktarlarının, arı ürünleri bal karışımının duyusal değerlendirme puanı üzerindeki etkisi ise her iki bağımsız değişken açısından da önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

"Toplam mineral madde (%)" için belirlenen veriler program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon (Quadratic, Lineer ve Cubic) için istatiksel parametreler hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar; model uyumsuzluğu", "Düzeltilmiş R^2", "Öngörülen R^2" gibi gibi değerleri açısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.3'de görüldüğü gibi Duyusal değerlendirme için Lineer fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle çalışmamızda duyusal değerlendirme puanı için Lineer fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri ($p<0,05$) değerlendirildiğinde, polen kullanım miktarının, arı ürünleri bal karışımının toplam mineral madde miktarı üzerindeki etkisi önemli bulunurken ($p<0,05$), propolis kullanım miktarının etkisi önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

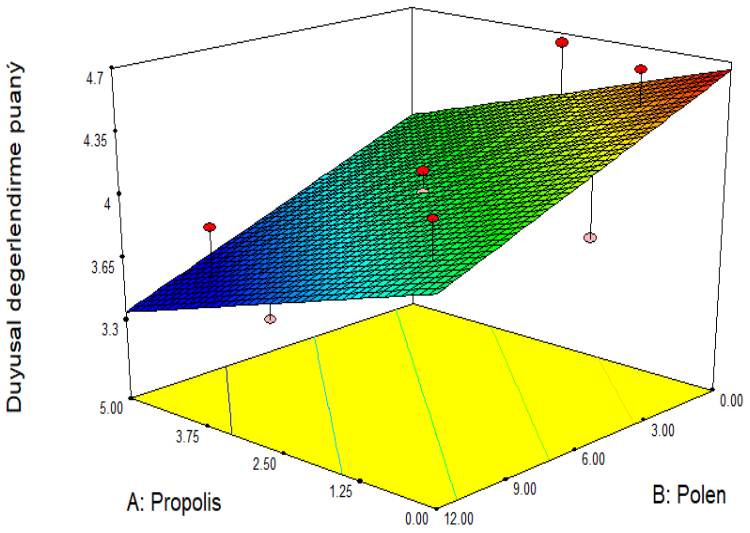
Sistemi modelleyen en iyi fonksiyonlar belirlendikten sonra üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri, yazılım programı aracılığıyla elde edilmiştir (Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.)



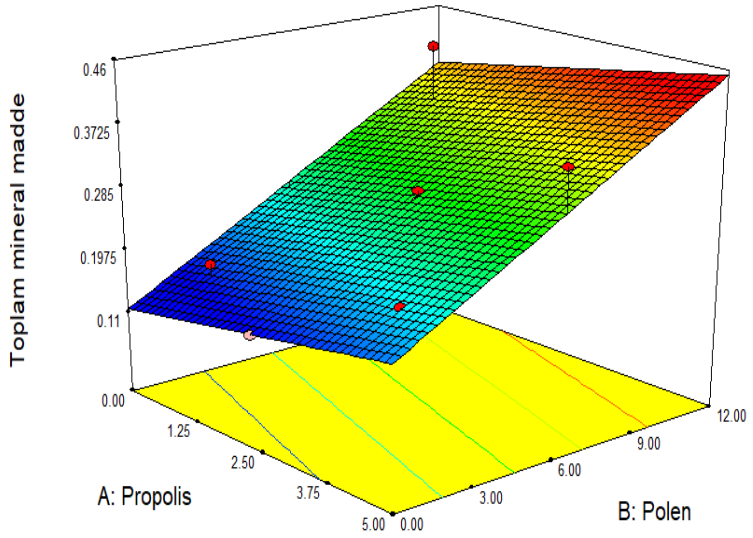
Şekil 4.1 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Antioksidan aktivite'ye etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği



Şekil 4.2 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Toplam fenolik madde miktarına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği



Şekil 4.3 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği



Şekil 4.4 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği

Desing Expert programı ile sayısal, grafik optimizasyonu ve nokta tahmini olmak üzere üç farklı optimizasyon gerçekleştirebilmektedir. Optimizasyon ile istenilen cevabın elde edilmesini sağlayacak parametrelerin kesin değerlerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Çalışmanın bu aşamasında sayısal optimizasyon kullanılmış ve optimizasyon kriterleri olarak;

Polen kullanım oranı; kullanılan aralıkta (in range)

Propolis kullanım oranı; kullanılan aralıkta (in range)

Antioksidan aktivite; en yüksek (max)
Toplam fenolik madde miktarı; en yüksek (max)
Toplam mineral madde miktarı; en yüksek (max);

olarak seçilmiş ve çözümler istenmiştir. Program tarafından tüm yanıt değerleri bir arada değerlendirilmiş, "İstenirliği" (Desirability) en yüksek olan 6 çözümden yanıt maksimizasyonunu en yüksek düzeyde sağlayacağı önerilen çözüm; propolis kullanım oranı 1,73 gr ve polen kullanım oranı da 10,24 gr olarak belirlenmiştir. Bağımsız faktörlerin bu düzeyde kullanılması durumunda ortaya çıkacak çiçek balı karışımının yanıtlarının; Antioksidan aktivitesi %62,11; fenolik madde içeriğinin 758,98 µg/g GAE, duyusal beğeni skorunun 3,85; toplam mineral madde miktarının %0,364 olacağı program tarafından tahminlenmiştir. Toplam kütle 100 gr olarak alındığından geri kalan 88,03 g çiçek balı olarak kullanılarak optimize karışım hazırlanmış ve deneysel doğrulama aşamasına geçilmiştir.

4.2.2 Çiçek Ballı Arı Ürünleri Karışımı İçin Optimizasyon Sonuçlarının Deneysel Doğrulaması

Optimizasyon sonucu önerilen 1,73 g propolis, 10,24 g polen ve 88,03 g çiçek balı kullanım değerleri ile arı ürünleri karışımı gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait antioksidan aktivite, toplam fenolik madde miktarı, duyusal değerlendirme ve toplam mineral madde miktarı analizleri gerçekleştirilmiştir. Tespit edilen sonuçlar Tablo 4.5'de verilmiştir.

Tablo 4.5 Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları

Deneme No	Polen (g)	Propolis (g)	Çiçek balı (g)	Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal değerlendirme puanı	Toplam mineral madde (%)
1	10,24	1,73	88,03	69,84	846	3,90	0,450
2	10,24	1,73	88,03	64,62	675	3,82	0,390
3	10,24	1,73	88,03	64,57	820	3,80	0,490
Ortalama				66,34	780,33	3,84	0,443
Modelden Tahminlenen				62,11	758,98	3,85	0,364

Her bir yanıt için, modelden tahminlenen değerler ile optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örneklem *T* –testi (SPSS 17.0.1) uygulanarak belirlenmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıt	Tahminlenen Değer	Ortalama Deneysel Sonuç (±SS)	Fark	*p*-değeri
Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	62,11	66,34±3,03	+ 4,23	0,132
Toplam fenolik madde (µg/g)	758,98	780,33±10,28	+ 21,35	0,727
Duyusal değerlendirme puanı	3,85	3,84±0,05	-0,01	0,053
Toplam mineral madde (%)	0,364	0,443±0,05	+0,079	0,112

* $p<0,05$ istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir

Modelden tahminlenen değerler ile Antioksidan aktivite (%inhibisyon), Toplam fenolik madde miktarı (µg/g gallik asit), Duyusal değerlendirme puanı ve Toplam mineral madde (%) değerleri için doğrulama denemelerinden elde edilen sonuçlar arasında, istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

4.2.3 Kestane Ballı Arı Ürününe Ait Optimizasyon Sonuçları

Tablo 4.7 Desing Expert yazılımı tarafından önerilen kestane ballı arı ürünleri karışımı için deneme deseni ve yanıtlar

Deneme	Propolis (gr)	Polen (gr)	Bal (gr)	Antioksidan aktivite (% inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal değerlendirme puanı	Toplam mineral madde (%)
1	2,50	0,00	97,5	34,62	637	3,97	0,410
2	2,50	6,00	91,5	65,33	938	3,66	0,744
3	4,27	1,76	93,97	54,29	876	3,85	0,640
4	2,50	6,00	91,5	70,99	950	3,76	0,690
5	2,50	6,00	91,5	68,89	803	3,82	0,679
6	5,00	6,00	89,00	76,11	1095	3,59	0,725

Tablo 4.8 devamı

Deneme	Propolis (gr)	Polen (gr)	Bal (gr)	Antioksidan aktivite (% inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal değerlendirme puanı	Toplam mineral madde (%)
7	0,73	1,76	97,51	31,66	537	3,96	0,545
8	0,00	6,00	94,00	33,26	540	3,50	0,705
9	2,50	6,00	91,50	59,67	914	3,70	0,714
10	4,27	10,24	85,49	82,84	1139	3,73	0,821
11	2,50	6,00	91,50	57,25	790	3,75	0,710
12	0,73	10,24	89,03	74,10	894	3,41	0,854
13	2,50	12,00	85,50	70,34	966	3,71	0,968

Tablo 4.7'deki veriler Design expert yazılımı tarafından analiz edilerek önerilen uygun fonksiyon belirlenmiştir. Bu belirleme yapılırken; Antioksidan aktivite, Toplam fenolik madde, Toplam mineral madde ve Duyusal değerlendirme verileri için "Ardışık Model Kareler Toplamı (Tip I)" ve "Model Uyumsuzluğu" testleri yapılmış ve her bir fonksiyon için R^2, öngörülen R^2, düzeltilmiş R^2 ve standart sapma değerleri göz önünde bulundurulmuştur. Bu değerler program tarafından karşılaştırılarak önerilen fonksiyon belirlenmiş ve her bir fonksiyon için istatistiksel parametreler hesaplatılmıştır (Tablo 4.8).

Tablo 4.9 Kestane ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri; Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; model ve bağımsız değişken faktörler için belirlenen p değerleri

		p değerleri*			
		Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal puan	Toplam mineral madde (%)
Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi	Quadratic	0,2932	0,5863	**0,0111**	0,8519
	Lineer	**0,0002**	**<0,0001**	0,0385	**<0,0001**
	Cubic	0,2802	0,5410	0,2913	0,0192
	Model uyumsuzluğu	**0,2193**	**0,7154**	**0,3609**	**0,0912**
Model ve bağımsız değişken faktörler	Model	0,0002	<0,0001	0,0026	<0,0001
	A-Propolis	**0,0020**	**<0,0001**	**0,1289**	0,4835
	B-Polen	**0,0003**	**0,0002**	**0,0010**	**< 0,0001**
	AB	-	-	**0,0182**	-
	A^2	-	-	**0,0145**	-
	B^2	-	-	**0,0497**	-

Tablo 4.10 Kestane ballı arı ürünleri karışımı optimizasyonun istatistiksel parametreleri; Model seçimi ve model uyumsuzluğu testi için belirlenen p değerleri; Seçilen fonksiyonlar için varyans analiz sonuçları

Yanıt	Antioksidan aktivite (% inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal değerlendirme puanı	Toplam mineral madde (%)
R^2	0,825	0,894	0,895	0,916
Düzeltilmiş R^2	0,790	0,873	0,820	0,899
Öngörülen R^2	0,684	0,832	0,535	0,826
V.K. %	13,08	7,89	1,85	6,15
Intercept	+22,212	+418,392	+4,030	+0,466
A-Propolis, %	+6,504	+96,795	-0,108	+0,006
B-Polen, %	+3,580	+31,975	-0,0586	+0,038
A*B	-	-	+0,014	-
A^2	-	-	-0,027	-
B^2	-	-	+0,003	-

* p<0,05 istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir.
V.K. %: % Varyasyon katsayısı

Bir sonraki aşamada, önerilen fonksiyonların hangisinin en iyi modelleme yaptığınıbelirlemek için ANOVA tabloları ayrı ayrı oluşturulup karşılaştırılmıştır. En iyi modellemeyi yapan fonksiyon seçilirken istatistiksel parametrelerde;

- Model; Önemli,
- Model uyumsuzluğu (lack of fit); Önemsiz "P>0,05",
- Bütün model terimleri için; "(Prob>F) değerleri <0,05",
- R^2; ~1,
- Düzeltilmiş R^2; ~1,
- Öngörülen R^2; ~1,
- Düzeltilmiş R^2 ~ Öngörülen R^2,
- Varyasyon Katsayısı (% V.K.); minumum olması öngörülmüştür (Hendek Ertop, 2014).

Program tarafından model önerilirken önem düzeyi p<0,05 ve en düşük p değerine sahip olması, "model uyumsuzluğu" değerlerinin ise önemsiz yani p>0,05 olması öngörülmüştür. Tablo 4.8'de görüleceği üzere bu çalışma için tabloda verilen modeller

geçerlidir. Ayrıca “model uyumsuzluğu” değerleri uygunve “Prob>F>0,050” değerine sahip parametreler önemsizdir.

“Antioksidan aktivite (%inhibisyon)” için belirlenen datalar program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon (Quadratic, lineer ve Cubic) için istatistiksel parametreler hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar “model uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R^2”, “Öngörülen R^2” gibi değerleriaçısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.8’de görüldüğü gibi antioksidan aktivite için Lineer (1.dereceden) fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir (p<0,05). Bu nedenle çalışmamızda antioksidan aktivite için Lineer fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri (p<0,05) değerlendirildiğinde, polen ve propolis kullanım miktarlarının, arı ürünleri bal karışımının antioksidan aktivitesi üzerindeki etkisi ise her iki bağımsız değişken açısından da önemli bulunmuştur (p<0,05).

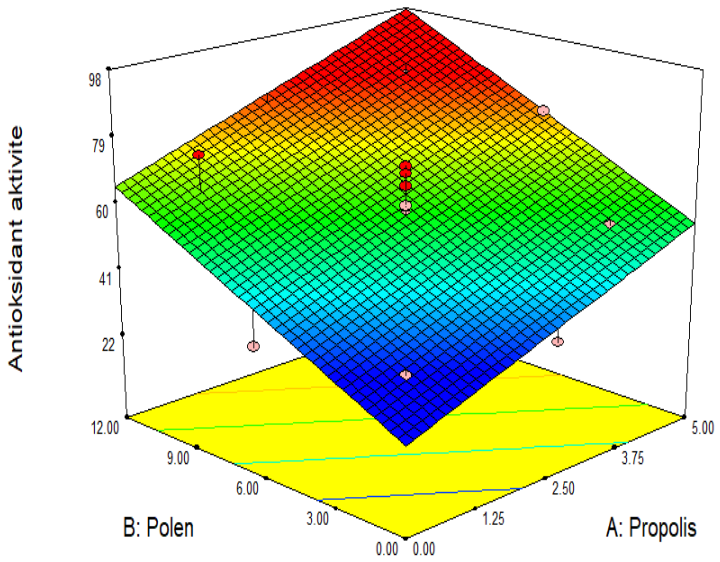
“Toplam fenolik madde (µg/g GAE)” içinbelirlenen datalar program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon (lineer, cubic, quadratic) için istatiksel parametreler hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar; “model uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R^2”, “Öngörülen R^2” gibi değerler açısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.8’de görüldüğü gibi Toplam fenolik madde için Lineer (doğrusal) fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir (p<0,05). Bu nedenle çalışmamızdaToplam fenolik madde için Lineer fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri (p<0,05) değerlendirildiğinde, polen ve propolis kullanım miktarlarının, arı ürünleri bal karışımının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi ise her iki bağımsız değişken açısından da önemli bulunmuştur (p<0,05).

“Duyusal değerlendirme puanı” içinbelirlenen datalar program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon (Quadratic, lineer ve Cubic) için istatiksel parametreler hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar; “model uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R^2”, “Öngörülen R^2” gibi değerleriaçısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.8’de görüldüğü gibi Duyusal değerlendirme için Quadratic fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir (p<0,05). Bu nedenle çalışmamızdaduyusal değerlendirme puanı için Quadratic fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri (p<0,05) değerlendirildiğinde, polen kullanım miktarının,

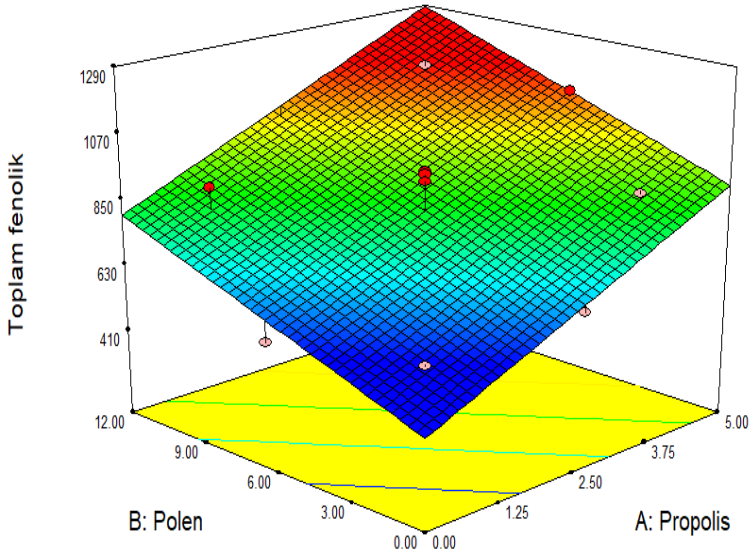
arı ürünleri bal karışımının duyusal değerlendirme puanı üzerindeki etkisi önemli bulunurken (p<0,05), propolis kullanım miktarının etkisi önemsiz bulunmuştur (p>0,05).

“Toplam mineral madde (%)” için belirlenen datalar program tarafından analizleri gerçekleştirilerek her bir fonksiyon (lineer, cubic ve quadratic) için istatiksel parametreler hesaplatılmıştır. Fonksiyonlar; “model uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R^2”, “Öngörülen R^2” gibi değerleriaçısından karşılaştırıldığında; Tablo 4.8’de görüldüğü gibi Duyusal değerlendirme için Lineer fonksiyon yazılım tarafından önerilmiştir (p<0,05). Bu nedenle çalışmamızdaduyusal değerlendirme puanı için Lineer fonksiyon kullanılmıştır. Önerilen fonksiyona göre her bir yanıt için model ve bağımsız faktörlerin önem düzeyleri (p<0,05) değerlendirildiğinde, polen kullanım miktarının, arı ürünleri bal karışımının toplam mineral madde miktarı üzerindeki etkisi önemli bulunurken (p<0,05), propolis kullanım miktarının etkisi önemsiz bulunmuştur (p>0,05).

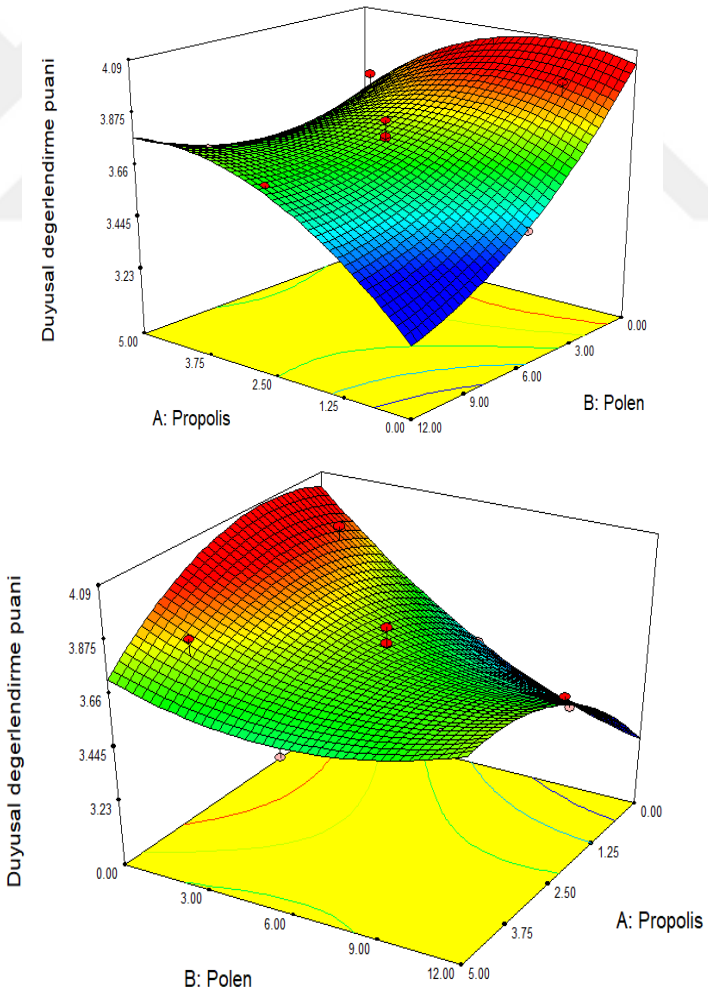
Sistemi modelleyen en iyi fonksiyonlar belirlendikten sonra üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri, yazılım programı aracılığıyla elde edilmiştir (Şekil 4.5., Şekil 4.6., Şekil 4.7., Şekil 4.8).



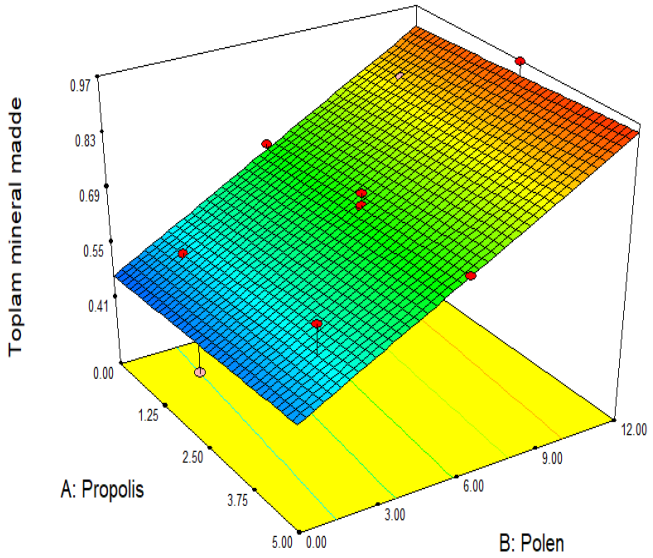
Şekil 4.5 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Antioksidan aktivite’ye etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği



Şekil 4.6 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Toplam fenolik madde miktarına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği



Şekil 4.7 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği



Şekil 4.8 Bağımsız değişkenlerin (polen ve propolis) kullanım miktarı parametrelerinin Duyusal değerlendirme puanına etkisini gösteren yüzey yanıt grafiği

Çalışma bu aşamasında sayısal optimizasyon kullanılmış ve optimizasyon kriterleri olarak;

Polen kullanım miktarı; kullanılan aralıkta (in range)
Propolis kullanım miktarı; kullanılan aralıkta (in range)
Antioksidan aktivite; en yüksek (Max)
Toplam fenolik madde miktarı; en yüksek (Max)
Duyusal değerlendirme puanı; en yüksek (Max)
Toplam mineral madde miktarı; en yüksek (Max),

olarak seçilerek çözümler istenmiştir. Program tarafından tüm yanıtlar birlikte değerlendirilmiş, "İstenirliği" (Desirability) en yüksek olan 6 çözümden program tarafından önerilen aşağıdaki çözüm kullanılmıştır.

Optimizasyon sonucu propolis kullanım oranı 4,07 g ve polen kullanım oranı da 10,24 g olarak belirlenmiştir. Toplam kütle 100 gr olarak alındığından geri kalan 85,69 g kestane balı olarak kullanılarak optimize karışım hazırlanmış ve deneysel doğrulama aşamasına geçilmiştir.

4.2.4 Kestane Ballı Arı Ürünleri Karışımı İçin Optimizasyon Sonuçlarının Deneysel Doğrulaması

Optimizasyon sonucunda önerilen 4,07 g propolis, 10,24 g polen ve 85,69 g kestane balı kullanım değerleri ile arı ürünleri karışımı gerçekleştirilmiştir. Ürüne ait antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, duyusal değerlendirme ve toplam mineral madde miktarı analizleri yapılmıştır. Tespit edilen sonuçlar Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.11 Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları

Deneme No	Polen (g)	Propolis (g)	Kestane balı (g)	Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	Toplam fenolik madde (µg/g)	Duyusal değerlendirme puanı	Toplam mineral madde (%)
1	10,24	4,07	85,69	85,92	1220	3,55	0,850
2	10,24	4,07	85,69	86,71	1312	3,80	0,889
3	10,24	4,07	85,69	86,28	1114	3,50	0,870
Ortalama				86,30	1215,33	3,62	0,870
Modelden Tahminlenen				85,35	1139,84	3,73	0,878

Yanıtlar için, modelden tahminlenen değerler ilevalidasyon için yapılan denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örneklem *T* –testi (SPSS 17.0.1) uygulanarak belirlenmiş, sonuçlar Tablo 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.12 Modelden tahminlenen değerler ile optimum noktada ortalama deneysel değerlerin karşılaştırılması

Yanıt	Tahminlenen Değer	Ortalama Deneysel Sonuç (±SS)	Fark	*p*-değeri
Antioksidan aktivite (%inhibisyon)	85,35	86,30±0,40	+0,95	0,053
Toplam fenolik madde (µg/g)	1139,84	1215,33 ±99,08	+75,49	0,318
Duyusal değerlendirme puanı	3,73	3,62±0,16	-0,11	0,346
Toplam mineral madde (%)	0,878	0,870±0,02	-0,008	0,536

Modelden tahminlenen değerler ile Antioksidan aktivite (%inhibisyon), Toplam fenolik madde miktarı (µg/g gallik asit), Duyusal değerlendirme puanı ve Toplam mineral madde (%) değerleri için doğrulama denemelerinden elde edilen sonuçlar arasında, istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

4.3 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Kalite Nitelikleri

Formül optimizasyonu sonucunda elde edilen optimize arı ürünleri karışımları örneklerine ait, karşılaştırılmak üzere kalite özellikleri belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.13 Optimize arı ürünleri karışımlarının bazı kalite nitelikleri

		Kestane ballı	Çiçek ballı	*p* değeri
Antioksidan aktivite (% inhibisyon)		86,30±0,40	66,34±3,03	0,013
Toplam fenolik madde (µg/g)		1215,33 ±99,08	780,33±10,28	0,143
pH		5,20±0,02	4,48±0,01	0,530
Toplam titrasyon asitliği (meq/kg)		58,73±2,49	60,99±2,83	0,531
Nem (%)		17,8±0,01	15,8±0,05	0,067
Yağ (%)		0,19±0,03	0,29±0,04	0,186
Protein (%)		1,98±0,03	1,77±0,02	0,374
Kül (%)		0,870±0,02	0,443±0,05	0,030
Renk	*L**	49,61±3,57	46,48±1,96	0,542
	*a**	12,91±0,58	11,33±1,67	0,224
	*b**	41,69±3,18	33,24±3,07	0,229

Polen ve propolis ile karıştırılmış ballarda antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde miktarları Tablo 4.12'de verilmiştir. Kestane ballı karışım çiçek ballı karşıma göre toplam fenolik madde içeriği açısından daha yüksek bulunmasına karşın, aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Benzer olarak nem, toplam titrasyon asitliği, pH, yağ protein ve renk nitelikleri arasındaki farklılıklar da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Kestane ballı karışımın antioksidan aktivite ve kül içerikleri ise önemli düzeyde ($p<0,05$) yüksek bulunmuştur.

Habykka vd. (2020)'de yapmış olduğu çalışmada propolis ile zenginleştirmiş balda antioksidan aktivite ve kalite parametreleri açısından etkilerini incelemiştir. Elde edilen sonuçlara göre, bala katılan propolisin balda krisin, pinosembrin, p-kumarik asit ve ferulik asit bulunan flavonoidler ve fenolik asitler de dahil olmak üzere polifenolik bileşiklerin antioksidan ve fenolik madde miktarlarını artırdığı tespit edilmiştir (Habykka vd., 2020).

4.4 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Mineral Madde Kompozisyonları

Balın mineral madde içeriği, bitkilerden gelen nektar ve polen bileşimine göre değişiklik gösterir. Balda ana mineral potasyum (K) olup, ardından kalsiyum (Ca) ve sodyum (Na) takip eder, başlıca eser elementler ise (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn) ve manganez (Mn)'dir (Kolayli vd., 2008). Yapılan bazı araştırmalar, bal rengi ile mineral madde içeriği arasında bir korelasyon olduğunu, renk koyulaştıkça mineral miktarının arttığını bildirmiştir (González-Miret vd., 2005).

Tablo 4.14 Hammadde ve optimize ballı karışımların mineral madde kompozisyonları

Mineral madde (ppm)	Propolis	Polen	Kestane balı	Çiçek balı	Kestane ballı karışım	Çiçek ballı karışım
Na	2338,33±2,04^{a}	23,60±0,31^{d}	16,02±0,11^{e}	11,21±0,22^{e}	102,52±1,16^{b}	54,49±0,51^{c}
Mg	2,77±0,07^{c}	59,13±2,10^{a}	5,24±0,01^{c}	2,62±0,01^{c}	12,61±0,06^{b}	11,14±0,04^{b}
Mn	0,01±0,00^{d}	1,42±0,07^{a}	0,92±0,01^{b}	-	1,36±0,01^{a}	0,21±0,00^{c}
Fe	-	4,06±0,21^{a}	-	-	0,14±0,01^{b}	-
Zn	-	0,45±0,04^{a}	-	-	0,12±0,01^{b}	0,13±0,01^{b}
P	-	116,09±6,07^{a}	5,65±0,24^{c}	5,13±0,07^{c}	21,28±0,17^{b}	18,61±0,26^{b}
K	55,9±5,00^{f}	3172,7±32,4^{b}	2166,20±7,70^{c}	398±2,8^{e}	3594,4±0,03^{a}	983,00±6,1^{d}
Ca	55,1±0,50^{f}	1182,3±1,9^{a}	198,10±0,70^{d}	103±0,7^{e}	314,7±0,00^{b}	229±0,7^{c}

**Aynı satırdaki harflerdeki (a-f) farklılık örnekler arasındaki farkın istatiksel olarak ($p<0,05$) önemli olduğunu göstermektedir.*

Çalışmamızda kullanılan kestane balı, çiçek balı, polen ve propolis örnekleri ile nihai ürünler olan Kestane ballı karışım ve Çiçek ballı karışım numunelerinde 8 tane elementin (Na, Mg, Mn, Fe, Zn, P, K, Ca) düzeyleri Tablo 4.13'de verilmiştir. Tüm elementleri içeren hammadde polen olarak belirlenirken, özellikle Ca, K, P, Mn ve Mg elementleri açısından en yüksek içeriğe sahip tek hammadde olduğu belirlenmiştir.

Kullanılan arı ürünleri içerisinde Fe ve Zn elementleri tek içeren hammaddenin de polen olduğu belirlenmiştir. Na elementinin ise en yüksek propoliste (2338,33 ppm) olduğu tespit edilmiştir. İncelenen tüm elementler açısından kestane balının çiçek balına göre daha yüksek içeriğe sahip olduğu bulunmuş ancak istatistiksel olarak yalnızca Mn, K ve Ca elementleri arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kestane balında, çiçek balından farklı olarak Mn elementine rastlanılmıştır. Bu farklılığın bal karışımlarına da etki ettiği Tablo 4.13 de görülmektedir. Kestane ballı karışımda Mn tespit edilirken, çiçek ballı karışımda bulunamamış, ayrıca kestane ballı karışımın K düzeyi (3594,4 ppm) çiçek ballı karışımın düzeyinden (983,00 ppm) yüksek bulunmuş olup aradaki farkın istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur. Kestane balının mineral madde kompozisyonundaki yüksek düzeyler karışıma da etki ettiği görülmektedir. Bu durum, bal karışımlarında hammadde olarak kullanılan balın mineral madde kompozisyonunun nihai üründe de etkili olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan ballar ile bu ballardan üretilen karışımların mineral madde kompozisyonları karşılaştırıldığında ise önemli düzeyde zenginleşme sağlandığı tespit edilmiştir. İki karışım karşılaştırıldığında kestane ballı karışımın çiçek ballı karışımdan daha zengin içeriğe sahip olduğu görülmektedir. Na, Mn, K ve Ca elementleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli iken, Mg, Fe, Zn ve P önemsiz bulunmuştur. Özellikle propolisten gelen Na ve polenden gelen diğer elementler sayesinde bal karışımlarının mineral madde içeriklerinin besinsel açıdan önemli düzeyde yükseldiği belirlenmiştir.

Kolayli vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışma da farklı çiçek ballarının mineral madde içerikleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda Kestane ballarında K elementinin diğer ballara göre yaklaşık beş kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Kestane balında mineral madde konsantrasyonları diğer çiçek ballarından daha yüksek konsantrasyondadır (Kolaylı vd., 2008).

Küçük vd. 2007 yılında yapmış olduğu bir çalışma da kestane, ormangülü ve heterofloral çiçek ballarında mineral madde içeriklerini kıyaslamıştır. Çalışma sonucunda kestane balında Mn, Ca ve K elementlerinin en yüksek konsantrasyonlarda olduğu görülmüştür (Küçük., 2007).

Bayram (2020)'de yürütmüş olduğu çalışma da menşei Türkiye, Çin, Brezilya ve Etiyopya olan propolislerin kalite değerlendirmelerini yapmıştır. Mineral madde içeriğinde propolis örneklerindeki ana elementleri kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K) demir (Fe), ve sodyum (Na) olarak bulmuştur. Türkiyeden elde edilen propolis örneğinde ise en yüksek Na (191,15 mg/kg), Zn (74,95 mg/kg) ve Fe (1425,82 mg/kg) olarak bulunmuştur (Bayram, 2020).

4.5 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Fenolik Madde İçerikleri

Propolis ve polen arı ürünleri içerisinde polifenol içeriği açısından çok önemli bir yere sahiptir. Fenolik bileşiler antioksidatif etkileri sayesinde kanser gibi hastalıkların tedavisinde veoluşmasını önlemekte rol almaktadır. Antioksidan maddeler insan vücudunun metabolik faaliyetler sonucu oluşturduğu oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterirler.

Hammadde ve karışımların LC-MS/MS'de yapılan fenolik madde kompozisyonu sonuçları Tablo 4.14'te verilmiştir.

Tablo 4.15 Hammadde ve optimize ballı karışımlarının fenolik madde kompozisyonları

Fenolik madde (ppb)	Polen	Propolis	Çiçek balı	Çiçek ballı karışım	Kestane balı	Kestane ballı karışım
Kateşin	7659,68	1257,17	1076,87	235,13	7880,12	5222,93
Sinamik asit	-----	70190,13	13368,07	10425,23	3348,82	16501,68
Galik asit	9527,88	1340,41	8557,37	8510,16	13512,54	9011,07
Tannik asit	69852,34	-----	-----	9806,35	9955,50	51282,53
Kafeik asit	24673,51	217751,56	25049,80	29615,15	23491,83	44121,57
2-5 dihidroksi benzoik asit	-----	149,48	-----	-----	-----	-----
Trans ferulik asit	34439,37	709577,30	-----	34402,08	31986,27	64134,30
Rutin trihidrat	173437,42	2271,69	-----	19755,32	-----	35624,47
Mirisetin	17802,47	1121,19	-----	10662,78	10663,50	11649,41
Naringenin	773710,71	32771,08	-----	79192,56	-----	122574,59
Ellajik asit	208137,20	3415,42	-----	-----	-----	22795,68
Kuersetin	81591,86	1275,73	5815,16	11829,37	6336,82	18131,56
Luteolin	1905,29	-----	-----	-----	-----	-----

Tablo 4.14'ün devamı

Fenolik madde (ppb)	Polen	Propolis	Çiçek balı	Çiçek ballı karışım	Kestane balı	Kestane ballı karışım
Krisin	30093,16	98431,84	3760,51	15816,40	4713,67	50719,15
Apijenin	254,16	52285,92	-----	-----	-----	-----
CAPE	2046,74	369020,35	-----	237,38	-----	9278,81
Triasetin	-----	718,96	-----	-----	-----	-----

Polen fenolik içeriği oldukça zengin bir üründür. Polende en yüksek naringenin, en düşük apijenin fenolikleri bulunmuş sinamik, 2-5 dihidroksi benzoik asit ve triasetin tespit edilememiştir.

Propolis de ise Trans ferulik asit en yüksek bulunurken diğer ürünlerde tespit edilemeyen 2-5 dihidroksi benzoik asit propolis de düşük miktarda bulunmuştur. Tanik asit ve luteolin tespit edilememiştir. Propolis fenolik çeşitliliğinin yanı sıra miktarca da zengin içeriğe sahip olduğu Tablo 4.14'te görülmektedir. Aliyazıcıoğlu vd., 2013 yılında propolisin fenolik içeriğini belirlemek üzere yapmış oldukları çalışmada propolis örneklerinde kafeik asit, ferulik asit, luteoin, p-kumarik asit ve t-sinamik asit tespit edilmiştir (Aliyazıcıoğlu vd., 2013).

Kestane balının çiçek balına göre fenolik içeriği bakımında daha zengin olduğu elde edilen sonuçlarda da görülmüştür. Çiçek balında en yüksek miktarda kafeik asit, kestane balında ise Trans ferulik asit belirlenmiştir.

Fenolik madde içeriği zengin gıdaların tüketilmesi, insan sağlığında meydana gelebilecek rahatsızlıkların oluşmasına engel olabilecek potansiyele sahiptir. Çalışmamızda optimizasyonu yapılan karışımların fenolik içeriği kullanılan çiçek balı ve kestane balı hammaddelerinden daha zengin olduğu görülmektedir. Fenolik içeriğin belirlenmesinde polen ve propolisin etkisinin çok büyük olduğu analiz sonucunda ortaya çıkmıştır.

4.6 Optimize Arı Ürünleri Karışımlarının Aminoasit Kompozisyonları

Hammadde ve karışımların LC-MS/MS'de yapılan aminoasit kompozisyonu verileri Tablo 4.15'te verilmiştir.

Tablo 4.16 Hammadde ve balkarışımlarının aminoasit kompozisyonları

Amino asit (mikromolar)	Polen	Propolis	Çiçek balı	Çiçek ballı karışım	Kestane balı	Kestane ballı karışım
Leu*	131.440,58	-----	-----	-----	-----	-----
Ala	466.595,81	608,56	3.004,05	5.878,58	2.019,48	5.270,09
Arg**	49.374,15	1.298,84	2.611,54	2.695,63	2.610,75	2.724,48
Asp	787.878,66	-----	881,84	4.177,74	105,52	2.739,39
Cys**	12.253,94	-----	-----	-----	-----	-----
Gln	64.224,23	-----	-----	-----	-----	-----
Glu	742.248,11	573,39	6.793,76	15.705,63	6.480,02	10.212,75
His*	51.980,97	-----	1.308,04	1.768,20	1.298,77	1.669,55
İle*	105.574,36	-----	-----	-----	-----	-----
Lys*	42.289,07	-----	-----	-----	-----	-----
Met*	21.825,73	-----	-----	-----	-----	-----
Phe*	42.569,20	-----	599,39	633,57	-----	-----
Pro**	510.355,92	354,93	30.757,59	80.140,47	22.685,86	75.104,56
Ser	325.148,59	1.614,83	4.101,42	5.395,55	3.489,94	4.686,53
Thr*	271.763,83	258,10	1.604,43	2.686,21	1.155,24	1.493,69
Tyr**	27.356,95	-----	1.900,30	1.906,35	1.836,08	1.847,56
Val*	85.833,26	-----	-----	-----	-----	-----

*: Esansiyel aminoasitler, **:Yarı esansiyel

Çalışmada incelenen 17 aminoasidin tamamının polende bulunduğu tespit edilmiştir. Vücudun sentezleyemediği ve dışarıdan alınması zorunlu olan elzem amino asitlerin tamamını da içermesi polenin insan sağlığı için önemini gözler önüne sermektedir. Özellikle diğer arı ürünlerinde bulunmayan leu, cys, gln, ile, lys, met ve val amino asitleri yalnızca polende yer almaktadır. Arı ürünleri içerisinde en az sayıda (ala, arg, glu, pro, ser, thr) aminoaside sahip ürün ise propolis olarak belirlenmiştir ki düzeyleri de diğer ürünlerdekinden daha düşük olarak bulunmuştur. Çiçek balı ve kestane balı amino asit kompozisyonları benzer olmakla birlikte, genel olarak çiçek balındaki düzeyleri daha yüksek olup, çiçek balında harici olarak phe amino asidi tespit edilmiştir. Hammadde olarak kullanılan çiçek ve kestane ballarındaki amino asit profilleri karışım örneklerinde de benzer nitelikte bulunmuştur. Phe amino asidi çiçek balı karışımında da bulunurken, çiçek ballı karışımındaki amino asitlerin düzeyleri kestane balındakilerden daha yüksek bulunmuştur. Karışımların amino asit profilleri

üzerinde propolisin genel olarak çok etkili olmadığı, temel belirleyicinin hammadde olarak kullanılan bal çeşidi olduğu söylenebilir.

4.7 Bal Karışımlarının Raf Ömrü Süresince Kalite Değişimleri

Elde edilen optimize bal karışımlarının 40 gün boyunca 10 gün ara ile yapılan raf ömrü analiz sonuçları Tablo 4.16'da verilmiştir. Raf ömrü süresince ürünler karanlık ortamda ve hava almayacak şekilde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Yapılacak analizler için her 10 günde bir kavonoz açılmış ve analizler o ürün de yapılmıştır.

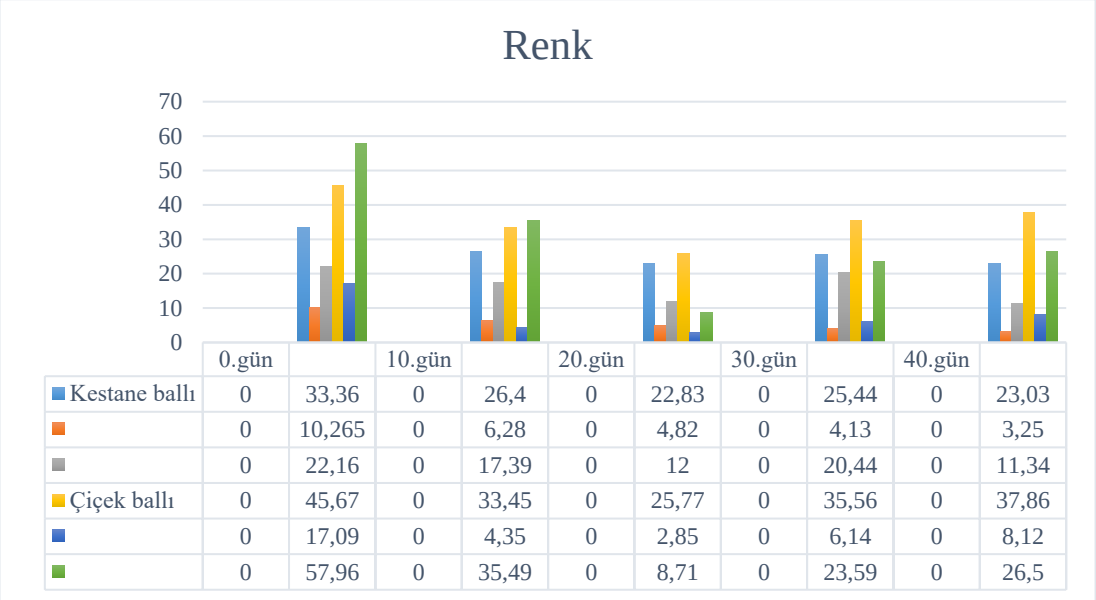
Tablo 4.17 Optimize bal karışımlarının raf ömrü süresince değişimleri

Kalite niteliği	**Arı ürünleri karışımı**	**0.gün**	**10.gün**	**20.gün**	**30.gün**	**40.gün**
Renk	Kestane ballı	L 33,36±0,46^{a}	L 26,4±0,50^{ab}	L 22,83±1,88^{b}	L 25,44±2,94^{ab}	L 23,03±1,83^{b}
		a 10,26±0,07^{a}	a 6,28±0,88^{ab}	a 4,82±0,79^{ab}	a 4,13±1,11^{b}	a 3,25±1,49^{b}
		b 22,16±0,57^{a}	b 17,39±1,09^{a}	b 12±2,66^{a}	b 20,44±3,27^{a}	b 11,34±1,64^{a}
	Çiçek ballı	L 45,67±1,14^{a}	L 33,45±0,10^{ab}	L 25,77±2,60^{b}	L 35,56±4,36^{ab}	L 37,86±3,01^{ab}
		a 17,09±3,45^{a}	a 4,35±0,14^{b}	a 2,85±0,91^{b}	a 6,14±0,87^{b}	a 8,12±1,08^{ab}
		b 57,96±4,47^{a}	b 35,49±0,04^{b}	b 8,71±4,97^{c}	b 23,59±3,56^{bc}	b 26,50±4,06^{bc}
Briks °	Kestane ballı	80,5±0,01^{a}	81±0,01^{b}	82±0,01^{c}	80±0,01^{e}	80,3±0,01^{d}
	Çiçek ballı	82,5±0,01^{a}	82,5±0,01^{b}	82±0,01^{c}	81,2±0,01^{d}	82±0,01^{e}
Viskozite (15 rpm'de)	Kestane ballı	6323,11±27,34^{b}	5453,14±12,67^{cd}	8222,712±98,68^{a}	5023,54±205,54^{d}	6036,6±55,24^{bc}
	Çiçek ballı	13884,85±9,49^{d}	14540,36±60,96^{c}	21479,75±133,21^{a}	15208,40±157,78^{b}	14174,57±114,98^{cd}
Antioksidan aktivite	Kestane ballı	86,30±0,38^{b}	89,48±0,18^{a}	89,07±0,19^{a}	88,72±0,26^{a}	88,22±0,11^{a}
	Çiçek ballı	66,34±1,47^{b}	89,84±0,26^{a}	89,36±0,08^{a}	89,76±0,11^{a}	88,62±0,19^{a}
Toplam fenolik madde (µg/g)	Kestane ballı	1215,33±29,07^{a}	1188,33±41,64^{a}	1010,56±10,21^{a}	951,67±21,21^{a}	1210,56±10,21^{a}
	Çiçek ballı	780,33±40,86^{a}	800,00±25,14^{a}	780,56±0,79^{a}	746,11±77,78^{a}	838,33±10,92^{a}

Tablo 4.16'ın devamı

Kalite niteliği	Arı ürünleri karışımı	0.gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün
pH	Kestane ballı	5,2±0,01^{a}	4,91±0,01^{b}	4,77±0,02^{c}	4,66±0,02^{d}	4,61±0,02^{d}
	Çiçek ballı	4,48±0,01^{ab}	4,62±0,01^{a}	4,48±0,03^{ab}	4,35±0,08^{b}	4,35±0,01^{b}
Toplam asitlik (meq/kg)	Kestane ballı	58,73±1,22^{ab}	54,83±2,46^{b}	56,99±2,83^{ab}	62,98±0,02^{ab}	65,94±0,56^{a}
	Çiçek ballı	60,99±2,01^{b}	61,54±1,24^{b}	71,99±2,83^{a}	73,88±0,78^{a}	77,72±0,16^{a}

**Aynı satırdaki harflerdeki (a-e) farklılık örnekler arasındaki farkın istatiksel olarak (p<0,05) önemli olduğunu göstermektedir.*

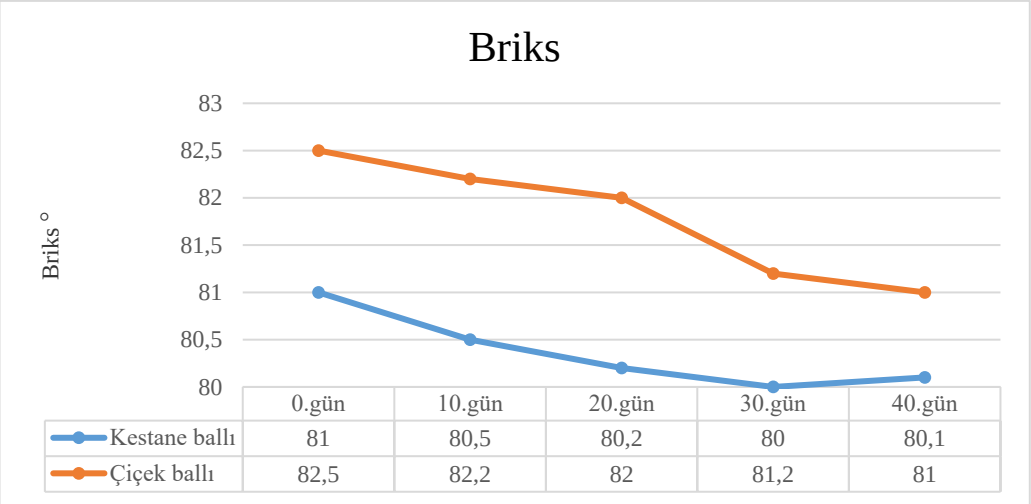


	0.gün		10.gün		20.gün		30.gün		40.gün	
Kestane ballı	0	33,36	0	26,4	0	22,83	0	25,44	0	23,03
	0	10,265	0	6,28	0	4,82	0	4,13	0	3,25
	0	22,16	0	17,39	0	12	0	20,44	0	11,34
Çiçek ballı	0	45,67	0	33,45	0	25,77	0	35,56	0	37,86
	0	17,09	0	4,35	0	2,85	0	6,14	0	8,12
	0	57,96	0	35,49	0	8,71	0	23,59	0	26,5

Şekil 4.9 Raf ömrü süresince renk değişimleri

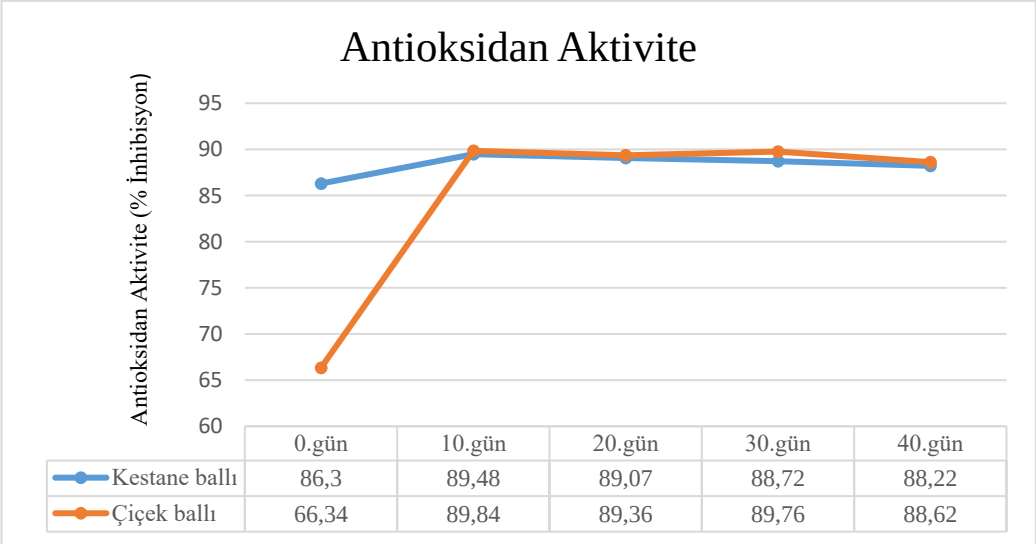
Optimize bal karışımlarının zamana bağlı renk değişimleri Şekil 4.9'da verilmiştir. Renk analizi üç boyutlu renk ölçümünü esas alan kolorimetre yöntemi ile ölçülmüştür. Örnekler standart biçimde, beyaz plaka üzerinde direkt ürün ile temas edecek şekilde analiz edilmiştir. Analiz sonuçları sırasıyla L, a, b şeklinde verilmiştir.

Kestane ballı karışımda L ve a değerlerinde ki farklar istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunurken, b değerlerindeki fark önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Çiçek ballı karışım da ise fark önemli ($p<0,05$) bulunmuştur (Tablo 4.16).



Şekil 4.10 Raf ömrü süresince briks değişimleri

Kestane ballı ve çiçek ballı karışımların 0. günden 40. güne ait analiz verileri incelendiğinde suda çözünen kuru madde miktarının zamana bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Bu azalma istatistiksel olarak her iki karışımda da ayrı ayrı önemli ($p<0,05$) olduğu bulunmuştur (Tablo 4.16).

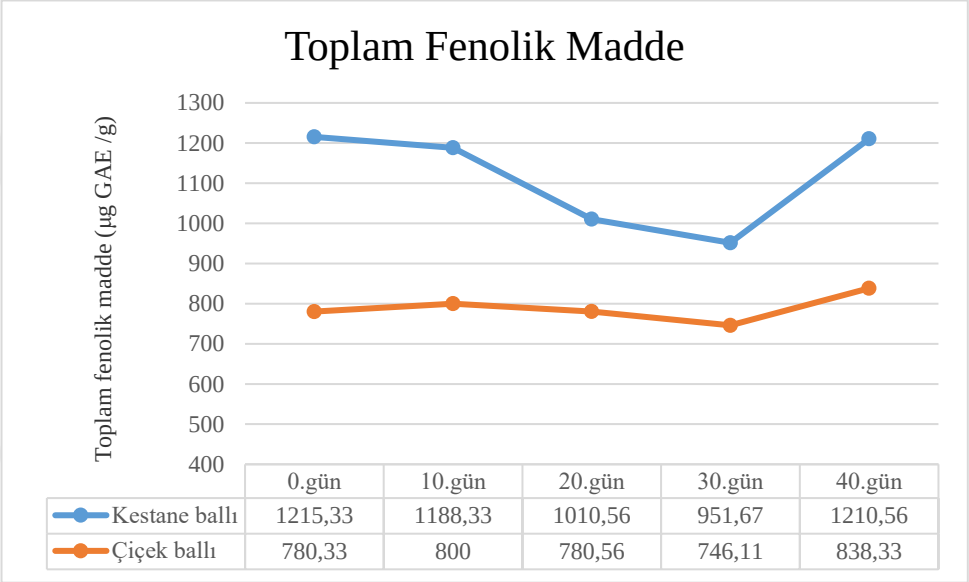


Şekil 4.11 Raf ömrü süresince antioksidan aktivite değişimleri

Antioksidan aktivite de kestane ballı karışım yüksek değerde başlamış ancak çiçek ballı karışımda 10.gün itibariyle aradaki fark azalmış, antioksidan aktivitesi artmıştır. Kestane balı zaten akışkan bir yapıya sahip olduğundan toz yapıdaki polen ve sıvı propolisle daha iyi karışım oluşturmaktadır. Dolayısıyla antioksidan aktivitesi yüksek hammaddeler ile daha homojen bir yapı oluşturabilmektedir. Çiçek balının daha

kıvamlı yapısı polen ile daha zor karışmasına neden olmakta, ancak zamanla polen taneleri yumuşayarak karışım içerisinde çözünmektedir. Çiçek ballı karışımın antioksidan aktivitesindeki değişim nedeninin bu durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuçlar istatistiksel olarak yorumlandığında, her iki karışımda 0 ile 10; 20; 30 ve 40. gün analizleri arasında ki farkın önemli ($p<0,05$) olduğu sonraki 4 analizde önemsiz ($p>0,05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.16).

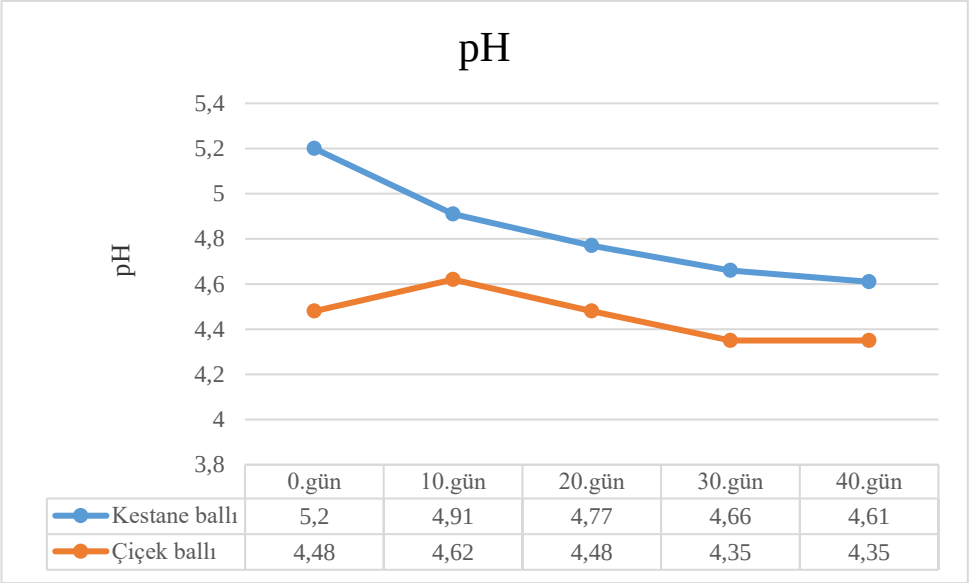


	0.gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün
Kestane ballı	1215,33	1188,33	1010,56	951,67	1210,56
Çiçek ballı	780,33	800	780,56	746,11	838,33

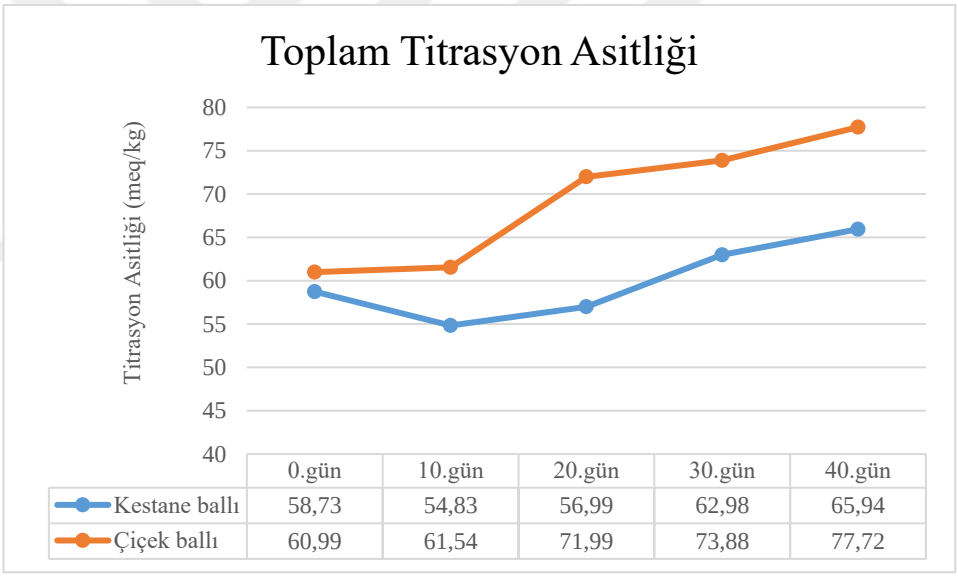
Şekil 4.12 Raf ömrü süresince toplam fenolik madde değişimleri

Fenolik bileşikler antioksidan kapasiteleri sayesinde oksidatif strese karşı koruyucu etki göstermekte veya oksidatif hasarın neden olduğu kanser, bağışıklık sistemi hastalıkları, kardiyovasküler rahatsızlık gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır (Baltas vd., 2016). Biyoaktif özellikleri yüksek ürünler olmaları insan sağlığı açısından önemini vurgulamaktadır.

Fenolik madde içeriği raf ömrü süresinde kestane ballı karışım çiçek ballı karışıma göre daha yüksek düzeyde seyretmiştir. Günlere göre istatistik sonuçlarında farkların önemsiz ($p>0,05$) olduğu görülmektedir (Tablo 4.16).



Şekil 4.13 Raf ömrü süresince pH değişimleri

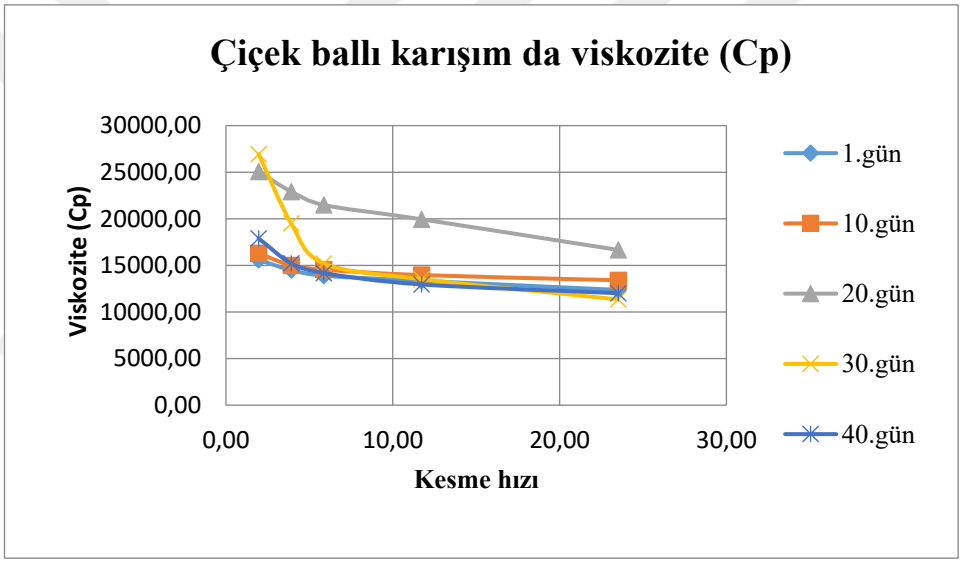


Şekil 4.14 Raf ömrü süresince titrasyon asitliği değişimleri

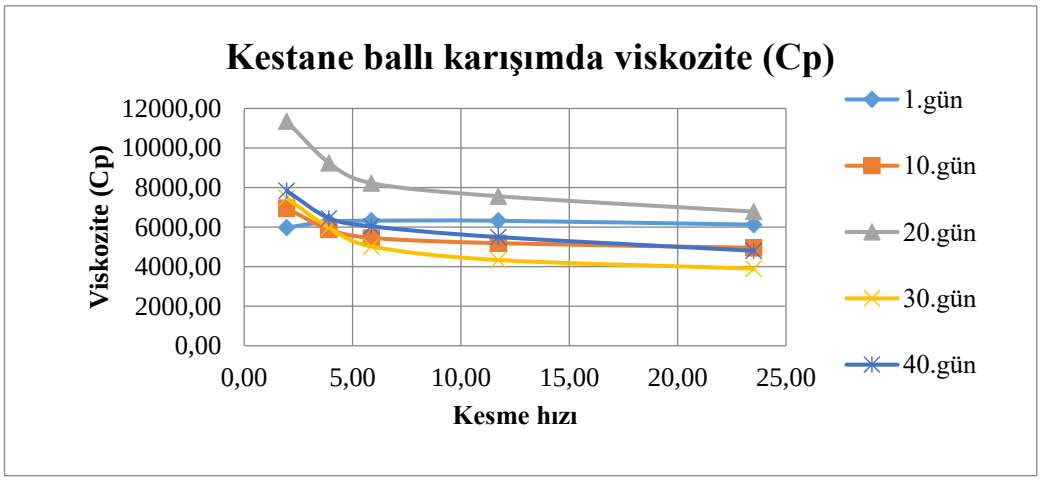
Optimize bal karışımlarının zamana bağlı pH değişimleri Şekil 4.13'de, Toplam asitlik değerleri Şekil 4.14'de verilmiştir. pH her iki karışımda da azalma göstermiştir. İstatistiksel olarak da farklar her birinde önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. pH maddenin asitlik derecesini yani asitliğin gücünü gösteren bir ifadedir. Bir maddenin pH değeri, hidrojen iyonu [H^+] konsantrasyonu ile hidroksil [H-] iyonu konsantrasyonu oranının göstergesidir. Toplam asitlik ise toplam asit miktarıyla ilişkilidir. Özetle asitliğin artması, asidin kuvvetlenmesi yani pH değerinin düşmesine buna bağlı olarak da toplam asitlik değerinin artmasına neden olur.

4.8 Arı Ürünleri Karışımının Depolama Sürecinde Akış Davranış Özellikleri

Reolojik bir özellik olan viskozite bal, pekmez, ketçap gibi akışkan gıdaların önemli ayırt edici özelliklerindendir. Viskozite ile maddenin akmaya karşı gösterdiği direnç doğru orantılı; akışkanlık performansi ise ters orantılıdır (Nurullayev vd., 2022). Akış davranışları sıvı gıdaların içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Çalışmamızda kestane ballı ve çiçek ballı karışımların viskoziteleri depolama süresince incelenmiş ve kesme hızına karşı viskozite değerleri Şekil 4.15'de verilmiştir. Oluşan reogram Pseudoplastik Akış modeline uymakta olduğu görülmektedir. Başlangıçta zor olan akış, etkileyen kuvvetin artması ile ideal akış özelliğine gelmektedir.



(a)



(b)

Şekil 4.15 Arı ürünleri karışımlarının (a: Çiçek ballı karışım, b: Kestane ballı karışım) depolama sürecinde viskozite değerleri

Karışımlarda kullanılan polen (%10,24) viskozite değerini önemli ölçüde etkilemektedir. En yüksek viskozite değerinin her iki karışımda da 20. gün ölçümlerinde olduğu görülmüştür. Sebebinin bu süre zarfında polen tanelerinin balın nemini çekmesi ve daha homojen şekilde bala karışması olduğu düşünülmektedir. Çiçek ballı karışımda 1. gün ve 10. günde yapılan ölçümler stabil, 30. gün ölçümlerde daha farklı bir yol izlemiştir. Kestane ballı karışımda da 1. gün ve 10. gün ölçümleri stabil devam edip, 30. gün analizlerinde düştüğü görülmüştür (Şekil 4.15).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yüzey yanıt metoduna bağlı olarak Merkezi Bileşen Deneme Desenine göre hazırlanan tabloda belirlenen formüllere uygun şekilde üretilen 13 çiçek ballı ve 13 kestane ballı arı ürünleri karışım örnekleri toplam mineral madde, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve duyusal değerlendirmeleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Design expert programı tarafından analizlenerek uygun fonksiyon belirlenmiştir. Bu belirleme yapılırken; toplam mineral madde, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve duyusal değerlendirme sonuçları için "Sequential Model Sum of Squares (Ardışık Model Kareler Toplamı)" ve "Lack of fit (Model uyumsuzluğu)" testleri yapılmıştır. Ayrıca standart sapma, R^2, düzeltilmiş R^2 ve öngörülen R^2 değerleride dikkate alınmıştır. Tüm bu sonuçlar karşılaştırıldığında ise yazılım programı tarafından en uygun olan oranlar belirlenmiştir. Optimizasyon sonucu çiçek ballı karışım için; 88,03 g çiçek balı, 10,24 g polen, 1,73 g propolis belirlenmiş, kestane ballı karışım için; 85,69 g kestane balı, 10,24 g polen, 4,07 g propolis kullanım oranı belirlenmiştir.

Optimize edilmiş formüller neticesinde üretilen ballı karışım numuneleri için yapılan toplam mineral madde, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve duyusal değerlendirme sonuçları neticesinde, optimum nokta doğrulama denemelerinde elde edilen sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olup olmadığını tek örnek T-testi ile belirlenmiştir. Optimize edilmiş ballı karışımlarda yapılan analizlerin yanıtları ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, genellikle apiterapik amaçla kullanılan aynı zamanda da ticari olarak da önem taşıyan kestane balını ve sofralarda sıkça gördüğümüz çiçek balını içerik ve besinsel olarak zenginleştirmek, neticesinde fonksiyonel bir ürün çıkarmak amaçlanmıştır. Elde edilen ürün geleneksel ve alternatif tıp uygulamalarında terapötik etkileri ile kullanılan fonksiyonel bir ürün olarak kabul edilebilir. Bal, propolis ve polenin yanı sıra arı sütü, arı ekmeği, arı zehri, arı larvası, balmumu gibi diğer arı ürünleri de apiterapik yönleri açısından oldukça önemli bir yere sahiptirler. Ancak bu ürünleri kullanımı ve üretimi ile ilgili çok daha fazla araştırma ve çalışma yapılması

gerekmektedir. Bu tez çalışmasının bir amacı da bu akademik boşluğa katkıda bulunabilmek ve çalışmalara yol açabilmektir.

Çalışmamız polen ve propolis ilavesinin çiçek ve kestane balının özellikle toplam fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesi üzerindeki etkisini analiz etmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda iki farklı bal kullanılarak yapılan ürünler karşılaştırıldığında biyoaktif içerikleri oldukça yüksek, besleyici ürünler oldukları açıkça görülmüştür.

Hammaddeler de yapılan analizler sonucunda polenin zengin içeriği kanıtlanmıştır. İncenen tüm elementleri içeren, Fe ve Zn mineral maddeleri yalnızca polende bulunmasına karşın nihai ürünlerde de rastlanılması; fenolik madde içeriğinin zenginliği ve yine incelenen 17 amino asitinde tamamının polende tespit edilmesi polenin ürünlere en etkili hammadde olduğu sonucuna varılmıştır.

Optimize edilmiş ürünler ile hammadde ürünleri kıyaslandığında, karışım örneklerinin hammadde ürünlerine göre daha zengin olduğu belirlenmiştir. Özellikle kestane balına göre içerik bakımından daha yetersiz olan çiçek balının polen ve propolis etkisiyle apiterapik ürün niteliğine ulaştığı söylenebilmektedir.

Bal, protein kaynağı olabilecek besinlerden değildir. Ancak karışımlarda kullanılan polen amino asit içeriği çok zengin bir gıdadır. İnsan vücudunun sentezleyemediği ve dışarıdan besin vasıtasıyla alınan elzem amino asitlerin tamamını polen barındırmaktadır. Bu şekilde bal, eksik olduğu amino asit içeriğini polen ile tamamlayabilecektir.

İnsanlarda günlük hayat kaygısı, çalışma ve sosyal hayat yorgunluğu günümüz problemlerinin başında gelmektedir. Analizleri yapılan bal-polen-propolis karışımları zengin biyoaktif içerikleri sayesinde vücudun zinde kalmasını sağlayarak, bedenin ve zihnin yorgunluğunu alır. Vücudun metabolik faaliyetlerini iyileştirerek hücre yenilenmesine etki gösterecektir.

Ekonomik açıdan kestane balının maliyeti çiçek balına göre daha yüksek olmasına karşı çiçek balının kullanıldığı karışımların sonuçları göstermektedir ki ilave edilen

polen ve propolis ile çiçek ballı karışım kesinlikle kestane ballı karışıma alternatif bir ürün olabilecek niteliktedir.

KAYNAKLAR

Afrin, S., Giampieri, F., Cianciosi, D., Pistollato, F., Ansary, J., Pacetti, M., ... & Battino, M. (2019). Strawberry tree honey as a new potential functional food. Part 1: Strawberry tree honey reduces colon cancer cell proliferation and colony formation ability, inhibits cell cycle and promotes apoptosis by regulating EGFR and MAPKs signaling pathways. *Journal of Functional foods*, *57*, 439-452.

Almasaudi, S. (2021). The antibacterial activities of honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*(4), 2188-2196.

Altun, S. K. & Aydemir, M. E. Some Physical and chemical properties of raw flower-honey from Erzurum highland. *Bee Studies*, *13*(2), 57-61.

Artık, N. & Konar, N., (2018). Arı Ürünleri ve Apiterapi-1: Arı Ürünlerinden Bal, Arı Sütü ve Perga Bileşimi. *Turkiye Klinikleri Animal Nutrition and Nutritional Diseases, vol.4, no.3, 11-19.*

Asmae, E. G., Nawal, E. M., Bakour, M. & Lyoussi, B. (2021). Moroccan monofloral bee pollen: botanical origin, physicochemical characterization, and antioxidant activities. *Journal of Food Quality*, *2021*, 1-10.

Atasoy, R. & Hendek Ertop, M. (2021). Assessment of Nutritional and Bioactive Propertiesfor Gluten-Free Tarhana Containing Various Legumes and Cereals. *Journal of Food Processing and Preservation, 45* (7), e15606.

Bakkaloğlu, Z. (2021). Arı Poleni Proteinleri ve Fonksiyonel Özellikleri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, *21*(2), 247-256.

Baltas N., Alpay Karaoglu S., Tarakcı C., Kolayli S. 2016b. "Effect of propolis in gastric disorders: inhibition studies on the growth of Helicobacter pylori and production of its urease, *Journal Of Enzyme Inhıbıtıon And Medıcınal Chemıstry, 1, 1-5*.

Bărnuţiu, L. I., Mărghitaş, L. A., Dezmirean, D., Bobiş, O., Mihai, C., & Pavel, C. (2013). Physicochemical composition of Apilarnil (bee drone larvae). *Lucrări Ştiinţifice-Seria Zootehnie*, *59*, 199-202.

Bayram, N. E. (2020). A Study on Free-Radical Scavenging Activity, İndividual Phenolic Compounds and Element Concentration of Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, *20*(2), 145-156.

Bıldır, B., Demirkan, Z., & Bülent, Kaya. (2022). Biosynthesis, Characterization and Determination of Sun Protection Factor (SPF) of Iron Nanoparticles With Bee Bread. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, *11*(3), 110-117.

Bogdanov, S. (2011). Bee Venom: Composition, health. Medicine. A review. Bee Prod Sci, 1- 20.

Bogdanov, S. (2020). Antiviral properties of the bee products: a review. *Bee products against viruses and for covid-19 prevention (review)*.

Campos, M. G. R., Frigerio, C., Lopes, J., & Bogdanov, S. (2010). What is the future of Bee-Pollen. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, *2*(4), 131-144.

Čeksterytė, V., Kurtinaitienė, B., Jaškūnė, K., & Kretavičius, J. (2020). The influence of storage conditions on invertase, glucose oxidase activity and free acidity of bee bread and bee-collected pollen mixed with honey and vegetable oils. *Journal of Apicultural Research*, *59*(5), 862-875.

Connor, L.J., Muir, R.G. (2013). Pollen and Bee Bread. Am Bee J,153:727-729

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

Czipa N, Phillips CJ, Kovács B. Composition of acacia honeys following processing, storage and adulteration. *Journal of food science and technology*. 2019 Mar 4;56(3):1245-55.

Dayısoylu, K. S. & Sakallı, F. B. T. (2020). Commonly Consumed Functional Foods and Food Ingredients. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, *4*(2), 155-160.

Doğan N., Hayoğlu İ. (2012). Propolis ve Kullanım Alanları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi 16*(3): 39–48.

Doko, T., Salarić, I., & Bаždarić, K. (2020). Complementary and Alternative Medicine Use Among Croatian Health Studies Students–A Single Center Cross-Sectional Study. *Acta Medica Academica*, *49*(3), 240-248.

El Ghouizi, A., Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaaid, D., El Menyiy, N., Hano, C., & Lyoussi, B. (2023). Bee Pollen as Functional Food: Insights into Its Composition and Therapeutic Properties. *Antioxidants*, *12*(3), 557.

Faqihi, R. A. & Taha, E. A. H. (2022). Apitherapy as an Alternative medicine: Article review. *African Journal of Biological Sciences*, *18*(2), 43-57.

Forma, E. & Bryś, M. (2021). Anticancer activity of propolis and its compounds. *Nutrients*, *13*(8), 2594.

Fratellone, P. M., Tsimis, F., & Fratellone, G. (2016). Apitherapy products for medicinal use. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, *22*(12), 1020-1022.

Giray, F. H. & Şahin, A. (2012). Raflardaki yeni ürün fonksiyonel gıdalar ve getirdikleri. 10. *Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, Konya*.

Granato, D., Nunes, D.S., Barba, F.J. (2017). An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development

of functional foods: a proposal. *Trends In Food Science & Technology,* 62, 13-22. http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.010

Hayta, M., Alpaslan, M. & Baysar, A. (2002). Effect of drying methods on functional properties of tarhana. *A Wheat Flour-Yoghurt Mixture: Journal of Food Science*, *67*(2):740-744.

Hendek Ertop, M. (2014). Ekşi hamur formül optimizasyonunun ekmeğin aromatikprofili, biyoaktif nitelikleri ve raf ömrü üzerindeki etkileri. Doktora Tezi.

Hepburn, H.R., Pirk, C.W.W., Duangphakdee, O. (2016). Honeybee nests. Springer-Verlag Berlin An.

Kasote, D., Bankova, V., & Viljoen, A. M. (2022). Propolis: Chemical diversity and challenges in quality control. Phytochemistry Reviews, 21(6), 1887-1911.

Kayral, N., Kayral, G. 1984. *Yeni Teknik Arıcılık, s425*

Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błażejak, S., Chlebowska-Śmigiel, A., Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new healthoriented products: a review. Trends in Food Science Technology, 71: 170-180. https://doi.org/ 10.1016/j.tifs.2017.10.021

Koç, B. ve Ertekin, F. (2008). Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları. *Gıda*, 35, 63-70.

Kumova, U. (2002). Önemli bir arı ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, *2*(2), 10-24.

Lee, J. D., Park, H. J., Chae, Y., & Lim, S. (2005). An overview of bee venom acupuncture in the treatment of arthritis. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, *2*, 79-84.

Leyva-Daniel, D. E., Escobedo-Avellaneda, Z., Villalobos-Castillejos, F., Alamilla-Beltrán, L., & Welti-Chanes, J. (2017). Effect of high hydrostatic pressure applied to a Mexican honey to increase its microbiological and functional quality. *Food and Bioproducts Processing*, *102*, 299-306.

Mak, K. K., Tan, J. J., Marappan, P., Balijepalli, M. K., Choudhury, H., Ramamurthy, S., & Pichika, M. R. (2018). Galangin's potential as a functional food ingredient. *Journal of Functional Foods*, *46*, 490-503.

Manyi-Loh, CE, Clarke, AM ve Ndip, RN (2011). Balın genel görünümü: Terapötik özellikleri ve beslenme ve insan sağlığına katkısı. *Afrika Mikrobiyoloji Araştırma Dergisi*, 5 (8), 844-852.

Mărgăoan, R., Topal, E., Balkanska, R., Yücel, B., Oravecz, T., Cornea-Cipcigan, M., & Vodnar, D. C. (2021). Monofloral honeys as a potential source of natural antioxidants, minerals and medicine. *Antioxidants*, *10*(7), 1023.

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O.G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity, Food Chemistry, Volume 91, Issue 3, July 2005, pp 571-577

Mijanur Rahman, M., Gan, S. H., & Khalil, M. (2014). Neurological effects of honey: current and future prospects. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, *2014*.

Mutlu, C., Erbaş, M., & Tontul, S. A. (2017). Bal ve diğer arı ürünlerinin bazı özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, *15*(1), 75-83.

Nisa, K., Damayanti, E., & Byasih, N. (2022). In vitro1RW1S34RfeSDcfkexd09rT2 antioxidant and antibacterial evaluations of propolis from south kalimantan, indonesia. *IOP Conference Series.Earth and Environmental Science*, *977*(1), 012088. doi: https://doi.org/10.1088/1755-1315/977/1/012088

Nurullayev, V. X., Qurbanov, H. R., Abdullayeva, Z. A., Nurullayev, V. H., & Gurbanov, H. R. (2022). Analysis of the Effect of High Molecule Components on the Realogy of Oil Disperser Systems. *Azərbaycan Mühəndislik Akademiyasının*, *8*, 75.

Özdemir, P.Ö., Fettahlıoğlu, S., Topoyan, M. (2009). Fonksiyonel gıda ürünlerine yönelik tüketici tutumlarını belirleme üzerine bir araştırma. *Ege Academic Review*, 9 (4), 1079-1099.

Park, J. S., An, S. J., Jeong, S. I., Gwon, H. J., Lim, Y. M., & Nho, Y. C. (2017). Chestnut honey impregnated carboxymethyl cellulose hydrogel for diabetic ulcer healing. *Polymers*, *9*(7), 248.

Pizzorno, J. E. & Murray, M. T. (2020). *Textbook of Natural Medicine-E-Book: Textbook of Natural Medicine-E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabała-Dzik, A., Kubina, R., ... & Buszman, E. (2015). Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules*, *20*(12), 21732-21749.

Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., Bogdanov, S., & Almeida-Muradian, L. B. D. (2009). Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, *1*(1), 1-6.

Sagona, S., Bozzicolonna, R., Nuvoloni, R., Cilia, G., Torracca, B., & Felicioli, A. (2017). Water activity of fresh bee pollen and mixtures of bee pollen-honey of different botanical origin. *Lwt*, *84*, 595-600.

Sánchez-Martín, V., Morales, P., González-Porto, A. V., Iriondo-DeHond, A., López-Parra, M. B., Del Castillo, M. D., ... &Haza, A. I. (2022). Enhancement of the Antioxidant Capacity of Thyme and Chestnut Honey by Addition of Bee Products. *Foods*, *11*(19), 3118.

Sanford, MP. (1995). Pollen marketing. Fact sheet ENY-118. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

Scripcă, L. A., Norocel, L., & Amariei, S. (2019). Comparison of physicochemical, microbiological properties and bioactive compounds content of grassland honey and other floral origin honeys. *Molecules*, *24*(16), 2932.

Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: a complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, *2015*.

Son, D. J., Lee, J. W., Lee, Y. H., Song, H. S., Lee, C. K., & Hong, J. T. (2007). Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. Pharmacology & therapeutics, 115(2), 246-270.

Sorucu, A. (2019). Arı Ürünleri ve Apiterapi. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 10 (1), 1-15. Retrieved from https://dergipark.org.tr/en/pub/vetfarmatoksbulten/issue/46276/581453

TEPGE, 2020. Arıcılık Tarım Ürünleri Piyasaları Raporu 2020-2. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü, TEPGE https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/ Erişim tarihi: 10.03.2023

Tsiapara, A. V., Jaakkola, M., Chinou, I., Graikou, K., Tolonen, T., Virtanen, V., & Moutsatsou, P. (2009). Bioactivity of Greek honey extracts on breast cancer (MCF-7), prostate cancer (PC-3) and endometrial cancer (Ishikawa) cells: Profile analysis of extracts. *Food Chemistry*, *116*(3), 702-708.

Tsiapara, A. V., Jaakkola, M., Chinou, I., Graikou, K., Tolonen, T., Virtanen, V., Moutsatsou, P. (2009). Bioactivity of Greek honey extracts on breast cancer (MCF-7), prostate cancer (PC-3) and endometrial cancer (Ishikawa) cells: Profile analysis of extracts, Food Chemistry, 116, pp 702-708.

TÜİK, 202. Türkiye İstatistik Kurumu, TÜİK http://www.tuik.gov.tr, Erişim: 10.03.202

Urcan, A. C., Criste, A. D., Dezmirean, D. S., Bobiș, O., Bonta, V., Dulf, F. V., ... & Campos, M. G. (2021). Botanical origin approach for a better understanding of chemical and nutritional composition of beebread as an important value-added food supplement. *LWT*, *142*, 111068.

Ünal, O. (2016). Optimization of shot peening parameters by response surface methodology. *Surface and Coatings Technology*, Volume 305, 15 November 2016, Pages 99-109.

Varga, L. (2006). Effect of acacia (Robinia pseudo-acacia L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage, International Journal of Food Microbiology, 108, Issue 2, pp 272-275.

Weis, W. A., Ripari, N., Conte, F. L., da Silva Honorio, M., Sartori, A. A., Matucci, R. H., & Sforcin, J. M. (2022). An overview about apitherapy and its clinical applications. *Phytomedicine Plus*, 100239.

Xi, X., Li, J., Guo, S., Li, Y., Xu, F., Zheng, M., ... & Han, C. (2018). The potential of using bee pollen in cosmetics: a review. *Journal of Oleo Science*, *67*(9), 1071-1082.

Yıldız, O., Karahalil, F., Can, Z., Sahin, H. & Kolayli, S. (2014). Total monoamine Oxidase (MAO) İnhibition by Chestnut Honey, Pollen and Propolis. *Journal of enzymeinhibition and medicinal chemistry*, *29*(5),690–694.