

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

FARKLI ÇİÇEK BALLARININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Determination of Antimicrobial Activities of Different Flower Honeys

Aycan CINAR

Bursa Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, TÜRKİYE, E-mail: Aycan.cinar@btu.edu.tr, ORCID NO: <https://orcid.org/0000-0003-2038-725X>

Geliş Tarihi / Received: 01.02.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 15.03.2020

DOI: 10.31467/uluaricilik.687207

ÖZ

Bal, besleyici özelliği yüksek, biyoaktif bileşence zengin fonksiyonel bir gıdadır. Balın biyolojik aktivitesinin botanik orijin, coğrafya ve iklim özelliklerine göre farklılık göstermesi, ülkemizde üretilen monofloral ve multifloral balların kapsamlı olarak ele alınmasını gerekli kılmaktadır. Doğal koruyucuların sentetik ürünlerle yer değiştirme anlayışının benimsenmesi, balın alternatif kullanım olanaklarının araştırılmasını sağlamaktadır. Bu amaçla, çalışmamızda lavanta, limon çiçeği, kekik ve multifloral balların antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiş ve antimikrobiyal etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, genel olarak multifloral balın monofloral ballardan daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, monofloral ballardan limon çiçeği balının test edilen mikroorganizmalara karşı güçlü inhibisyon gösterdiği, kekik balının ise en zayıf antibakteriyel etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Tüm bal çeşitlerinde antimikrobiyal aktivitenin (*Bacillus cereus* DSM 4312 hariç) sırasıyla bakteri > maya > küf olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, istatistiksel olarak en dirençli bakterinin *B. cereus* DSM 4312, en duyarlı bakterilerin ise *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032 olduğunu söylemek mümkündür.

Anahtar kelimeler: Bal, Antibakteriyel Aktivite, Antifungal Aktivite, Monofloral, Multifloral

ABSTRACT

Honey is highly nutritious, and a functional food rich in bioactive components. The biological activity of honey differs according to its botanical origin, geographic properties, and climate characteristics. Therefore, it is necessary to handle the monofloral and multifloral honey produced in our country in a comprehensive manner. Adopting the understanding of displacement of natural preservatives with synthetic ones enables the exploration of alternative uses of honey. For this purpose, in our study, the antimicrobial activity of lavender, lemon, thyme and multifloral honey were determined and compared with each other. According to the results obtained, it was found that multifloral honey has higher antimicrobial activity than monofloral honey, but lemon honey which is one of the monofloral honey types, shows strong inhibition against microorganisms tested, and thyme honey had the weakest antibacterial effect. Antimicrobial activity (except for *Bacillus cereus* DSM 4312) was found to be strongest against bacterial then yeast and then mold in all honey varieties. In addition, we found that that the most resistant bacteria statistically was *B. cereus* DSM 4312, while the most sensitive bacteria was *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032.

Keywords: Honey, Antibacterial Activity, Antifungal Activity, Monofloral, Multifloral

EXTENDED ABSTRACT

Purpose: Our country is one of the leading countries in the production of monofloral honey due to its rich plant diversity. In recent years, monofloral honey production has gained importance for reasons such as the change in nutritional awareness of consumers, interest in natural products, and the increasing popularity of alternative medicine in addition to modern medicine. Particularly, in the struggle against antibiotic resistant microorganisms, the search for natural products as an alternative to synthetic drugs is more likely to be adopted. The fact that honey is the most used natural product in traditional medicine, since ancient times, has led to the scientific examination of the biological activities of different types of honey. In this study, it was aimed to investigate the antibacterial and antifungal effects of lavender, lemon, thyme and multifloral flower honey, which are widely produced in our country.

Material and Method: The Agar Well Diffusion Method and Liquid Microdilution Method were used to determine antimicrobial activity. In the study, three Gram negative (*Acinetobacter baumannii* AYE, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032) and three Gram positive (*Bacillus cereus* DSM 4312, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) bacteria were used. To study the antifungal effects, *Candida albicans* ATCC 10351 and *Schizosaccharomyces pombe* were used as a test for yeast, while *Alternaria alternata* and *Penicillium italicum* were included as a test for molds.

Results: In the study, it was determined that multifloral flower honey generally showed the highest antimicrobial activity on the test microorganisms (except *A.baumannii* AYE, *B.cereus* DSM 4312, and *K. pneumoniae* ATCC 700603). Lemon honey has statistically the highest antimicrobial effect against nine of the ten test microorganisms (except *A. baumannii* AYE) compared to the other monofloral honeys which are lavender and thyme honey ($P < 0.05$). On the other hand, when the antibacterial effect was evaluated, thyme honey showed the weakest effect compared to the other honey types ($P < 0.05$). The current study reveals that the antibacterial activity does not depend on the gram properties of bacteria. We found that 10 - 60% (v / v) concentrations of honey solutions are sufficient to inhibit all bacteria, while this same effect is only achieved at higher

concentrations [20 - 90% (v/v)] for yeasts and molds. In addition, the inhibition zone diameters and Minimum Inhibition Concentration (MIC), Minimum Bacteriasidal / Fungisidal Concentration (MBC/MFKC) values are consistent with each other.

Conclusion: Honey is an important beehive product due to its biological properties with many functions. In this study, the antimicrobial activity of monofloral honey with different botanic origin (lavender, lemon flower, thyme) and multifloral honey were evaluated. The present work displayed the potent efficacy of different honey types against different target microorganisms. Considering the impressive results we obtained, the antimicrobial activity of honey produced in Turkey may prove to be an attractive attribute that will gain commercial prestige on a global trade level.

GİRİŞ

Bal; arılar tarafından polen ve bitki salgıları kullanılarak üretilen, besleyici özelliği yüksek bir gıdadır. Elde edilen bitkilerin çeşitliğine bağlı olarak değişmekle birlikte, balda 200'ün üzerinde bileşiğin yer aldığı bilinmektedir. Temel bileşen olarak kurumaddenin 95'ini şekerler oluştururken, geri kalan kısmını proteinler, serbest amino asitler, fenolik bileşikler, vitaminler, mineraller ve organik asitler oluşturmaktadır. Minör bileşenlerin miktar ve çeşitliliğinin aynı zamanda arı türüne, mevsimsel ve çevresel faktörlere göre de değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir (Bogdanov v.d. 2004, Mahmoodi-Khaledi v.d. 2017, Samarghandian v.d. 2017, Leyva-Jimenez v.d. 2018, Ramsay v.d. 2019). Bal, sahip olduğu besleyici değerinin yanısıra antik çağlardan bu yana birçok kültürde tedavi amaçlı kullanılmıştır. Özellikle son yıllarda sentetik ilaçların yan etkilerinin getirdiği olumsuzluklar nedeniyle, doğal ürünlere olan yöneliş artış göstermiştir. Halk arasında öksürük, soğuk algınlığı, bronşit, yanıklarda ve yaraların tedavisinde balın yaygın olarak kullanıldığı ve alternatif tıpta da bu amaçla yararlandığı bilinmektedir. Bu yönüyle, kullanımı nesilden nesile aktarılan en önemli doğal ürünlerden biridir (Subrahmanyam 1998, Molan ve Betts 2004, Young 2005, Cohen v.d. 2012, Eteraf-Oskouei ve Najafi 2013, Onbaşı v.d. 2019).

Yapılan bilimsel çalışmalar, insan sağlığı açısından önemi olan antioksidan, antidiyabetik, antimikrobiyal, antienflamatuar, antiproliferatif, antikanser ve antimetastatik etkilerin balın sahip

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

olduğu çok sayıda biyoaktif bileşenler sayesinde gösterdiğini bildirmiştir (Gheldof v.d. 2003, Pérez v.d. 2007, Jaganathan ve Mandal 2009, Fauzi v.d. 2011, Pimentel v.d. 2013, Borsato v.d. 2014, Erejuwa v.d. 2014, Kustiawan v.d. 2014, Rao v.d. 2016, Aziz v.d. 2017, Saranraj ve Sivasakthi 2018, Ávila v.d. 2019, Nolan v.d. 2019). Belirtilen biyolojik özelliklerinden antimikrobiyal aktivitesinin, hidrojen peroksit, ozmolarite, asitlik, aromatik asitler ve fenolik bileşiklerden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Molan 1992, Anand v.d. 2019).

Antibakteriyel etkinin incelendiği çalışmalarda balın, aerobik/anerobik özellik gösteren, Gram negatif ve Gram pozitif yaklaşık 60 bakteri türü üzerinde engelleyici etki gösterdiği bildirilmiştir (Asadi-Pooya v.d. 2003, Bansal v.d. 2005). Bildirilen bakteri türleri arasında antibiyotiğe dirençli suşlar üzerinde geniş spektrumlu aktivite gösterdiği, özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) üzerinde balın bakterisidal etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca biyofilm oluşturan *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın klinik suşları üzerinde de etkili olduğu bildirilmiştir (Alandejani v.d. 2009, Wang v.d. 2012). Bununla birlikte birçok *Candida* spp., *Trichosporon* spp. ve küf türüne (*Fusarium oxysporum*, *Cladosporium herbarum*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus flavus*) karşı antifungal aktiviteye de sahip olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Koç v.d. 2009, El-Gendy 2010, Feás ve Estevinho 2011, Candiracci v.d. 2012, Zafar ve İsraili 2014).

Ballar, elde edildikleri bitki kaynağı ve bunun çeşitliliğine, buldukları coğrafya ve üretim şekillerine göre isimlendirilmektedir. Genel olarak nektarın elde edilmiş şekline göre çiçek ve salgı balı olmak üzere ikiye ayrılmakta, çiçek balları ise içerdikleri floral kaynaklara göre monofloral ve multifloral olarak adlandırılmaktadır. Monofloral ballar; farklı tatlara sahip olmaları, sağladıkları biyolojik yararlar sebebiyle günümüz tüketicileri tarafından tercih edilmektedir. Antimikrobiyal aktivite ve diğer biyolojik yararların atfedildiği aromatik ve fenolik bileşikler gibi minör bileşenlerin floral kaynağa göre değişiklik göstermesi nedeniyle çeşitli kullanım amaçları için farklı monofloral ballar bulunmaktadır (Alvarez-Suarez v.d. 2010).

Ülkemiz, sahip olduğu uygun ekoloji, zengin bitki örtüsü ve faunistik çeşitliliği sebebiyle farklı çeşit monofloral balların üretimi için son derece elverişlidir. Bunlar arasından kekik, lavanta ve narenciye cinsi ballar, geçmişten günümüze kadar

üretimi giderek yaygınlaşan ballar arasındadır. Akdeniz ülkelerinde 70 farklı kekik türünün bulunduğu ve bu türlerin 38'inin Türkiye'de yetiştiği ifade edilmiştir (Seçmen v.d. 2000). Kekik bileşiminde yer alan polifenoller ve uçucu bileşikler (timol, karvakrol, borneol, simol, pinen, tanen ve flavonlar) sebebiyle güçlü antioksidan ve antimikrobiyal özellik gösterdiği belirtilmiştir (Özkök v.d. 2016).

Kekik ve lavanta aynı botanik aileden gelen, benzer karakteristiklere sahip, akdeniz bitki örtüsünde yaygın olarak görülen bitki türleridir. Bu bitkilerden elde edilen monofloral ballar üzerinde yapılan çalışmalarda, her iki balın da antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Anthemidou v.d. 2013, Estevinho v.d. 2011, Kacaniova v.d. 2010, Wilkinson ve Cavanagh 2005). Limon çiçeği balı, narenciye ballarına genel anlamda benzemekle birlikte, uçucu bileşenleri ve fizyokimyasal özellikleri ile bu ballardan ayrılmaktadır. Diğer narenciye ballarında olduğu gibi antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Kadar v.d. 2011).

Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde, multifloral ve monofloral balların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde genellikle inhibisyon zonu ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) belirleme üzerine durulmuştur. Bu çalışma ile, Türkiye'de yaygın olarak üretildiği bilinen lavanta, limon çiçeği, kekik gibi monofloral ballar ile multifloral balın antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde inhibisyon zonu ve MİK değerinin yanı sıra, balların mikroorganizmaları öldürücü etki gösterdiği Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyonları (MBK/ MFK) da belirlenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bal Örneklerinin Temini ve Denemeye Hazırlanması

Bu çalışmada, dört farklı çiçek balı (lavanta, limon çiçeği, kekik ve multifloral) kullanılmıştır. Lavanta balı Isparta, limon çiçeği balı Mersin, kekik balı Muğla ve multifloral çiçek balı Bursa'nın deneyimli arıcılarından temin edilmiştir. Bal örnekleri analiz başlangıcına kadar karanlıkta ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Test Mikroorganizmaları ve İnokulumların Hazırlanması

Balların antimikrobiyal özellikleri Tablo 1’de verilen bakteri, maya ve küfler üzerinde test edilmiştir. Bakteriler (Mueller Hinton Broth) ve mayalar (Sabouraud Dekstroz Broth) sırasıyla 37°C ve 25°C’de 24 saatlik inkübasyon sonrasında, uygun besiyeri ile 0.5 McFarland bulanıklığına

ayarlanmıştır (CLSI M07-A10 2015, NCCLS M27-A2 2002).

Küfler, Sabouraud Dekstroz Agarda (SDA) 25°C’de 3-5 gün süre ile inkübe edilmiştir. Oluşan küf sporlarının yüzeyden toplanması amacıyla; steril %0,1’lik Tween 80 çözeltisi kullanılmıştır. Petri yüzeyi yıkanarak sporlar steril tüpe aktarılmış ve spor süspansiyonu 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanmıştır (EUCAST 2015).

Tablo 1. Antimikrobiyal aktivite belirlemede kullanılan test mikroorganizmaları.

Table 1. Test microorganisms used for antimicrobial activity.

Bakteri	Maya	Küf
<i>Acinetobacter baumannii</i> AYE	<i>Candida albicans</i> ATCC 10351	<i>Alternaria alternata</i> *
<i>Bacillus cereus</i> DSM 4312	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> *	<i>Penicillium italicum</i> *
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603		
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35032		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		

* Gıda orjinli

Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi

Ayarlanan 100 µL inokulum; bakteriler için Mueller Hinton Agara (MHA), mayalar ve küfler için SDA besiyeri yüzeyine aktarılmış ve drigalski spatülü ile yayılmıştır. Çapı 5 mm olan bir uç ile steril olarak açılan kuyucuklara, %70’lik (v/v) bal örneğinden 50 µL ilave edilmiştir (Magaldi v.d. 2004, Valgas v.d. 2007). Bakteriler 37°C’de 24 saat, mayalar 25°C’de 48 saat ve küfler 25°C’de 3 ila 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Oluşan inhibisyon zon çapları (mm) ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak steril su kullanılmıştır.

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Her bir bal örneği steril su ile %10-90 (v/v) aralığında dokuz farklı doza ayarlanmış ve 180 µL örnek mikro plakaya aktarılmıştır. 0,5 McFarland bulanıklık standardında hazırlanan inokulumlar 1:20 oranında seyreltilerek, 20 µL inokulum mikro plakaya eklenmiştir (Balouri v.d. 2016, Wiegand v.d. 2008). Bakteriler 37°C’de 18-24 saat, maya ve küfler 46-72 saat inkübasyona bırakılmış, mikro plak okuyucu ile 600 nm de mikroorganizma yoğunluğu ölçülmüştür (BioTek Instruments, Inc. EPOCH SN 15062915).

İstatistiksel Analizler

Zon çapları ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Elde edilen zon çapları istatistiksel olarak IBM SPSS versiyon 22.0 istatistik programı ile

kıyaslanmıştır. Öncelikle verilerin normal dağılıma uyup uymadığı test edilmiş (Shapiro-Wilk Testi), ardından normal dağılıma uyan verilerde istatistiksel farklılık parametrik bir test olan Tek Yönlü – ANOVA analizi ile Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak belirlenmiştir. Normal dağılıma uymayan verilerde Kruskal Wallis H testi ve gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Bal örneklerinin bakteri, maya ve küfler üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları Tablo 2’de verilmiştir. Buna göre, seçilen mikroorganizmalar üzerinde tüm bal örneklerinin antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilediği ve kullanılan her iki yöntemle ait sonuçların birbiriyle tutarlı olduğu görülmüştür. Bal çeşitlerinin farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir (P <0,05).

Çalışmada yer alan çiçek ballarından multifloral bal örneğinin, *P. aeruginosa* ATCC 35032, *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *S. aureus* ATCC 25923 suşları üzerine en yüksek zon çapı göstermesi ile en etkili bal olduğu, benzer şekilde küf ve mayalar üzerinde de antifungal etkinin istatistiksel olarak en yüksek olduğu belirlenmiştir (P <0,05).

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Bunu takiben, diğer monofloral ballardan limon çiçeği balının *A. baumannii* AYE haricindeki diğer tüm test mikroorganizmalarında en yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (P <0,05). Multifloral bal örneği *P. aeruginosa* ATCC 35032 üzerinde en yüksek inhibisyon zonunu oluştururken, monofloral ballardan kekik balı *A. baumannii* AYE, limon çiçeği balı *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve lavanta balı ise *B. cereus* DSM 4312 üzerinde en yüksek inhibisyon zonunu oluşturmuştur (Tablo 2).

Kekik balı *K. pneumoniae* ATCC 700603, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *P. aeruginosa* ATCC 35032, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 10351, *S. pombe* mikroorganizmaları için diğer ballara kıyasla en düşük antimikrobiyal etkiye sahiptir. Benzer şekilde, lavanta balının *A. baumannii* AYE üzerindeki antibakteriyel etkisi en

düşüktür. Antifungal etkinliği en düşük balın mayalar için kekik, küfler için ise lavanta balı olduğu tespit edilmiştir (P <0,05).

Ballar arasındaki antibakteriyel özelliğin bakterilerin gram özellikleri arasında belirgin bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir (P <0,05). Gram pozitif bakteriler arasında *S. aureus* ATCC 25923 ve *L. monocytogenes* ATCC7644 üzerinde multifloral bal en iyi antibakteriyel etkiyi gösterirken, bir diğer gram pozitif bakteri olan *B. cereus* DSM 4312 üzerine multifloral bal en az etkiyi göstermiştir. Buna paralel olarak, çalışmada yer alan gram negatif bakteriler üzerinde de kekik balı *A. baumannii* AYE üzerinde güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahipken, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *P. aeruginosa* ATCC 35032 üzerinde en küçük inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Tablo 2. Balların test mikroorganizmaları üzerindeki inhibisyon zon çapı (mm).

Table 2. Inhibition zone diameter of honey samples on test microorganisms (mm)

	Mikroorganizmalar	Lavanta	Limon Çiçeği	Kekik	Multifloral
Bakteri	<i>A. baumannii</i> AYE*	12,0±0,28 ^{dEF}	12,8±0,55 ^{cE}	19,9±0,74 ^{aA}	18,5±0,32 ^{bD}
	<i>B. cereus</i> DSM 4312	12,03±0,50 ^{aE}	10,9±0,57 ^{bcF}	11,6±0,45 ^{abD}	10,4±0,65 ^{cG}
	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	18,4±0,36 ^{cC}	25,0±0,43 ^{aA}	13,5±0,33 ^{dC}	20,4±0,57 ^{bC}
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC7644*	15,6±0,73 ^{bD}	16,7±0,39 ^{abD}	12,2±0,33 ^{cD}	17,3±0,40 ^{aE}
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 35032*	21,7±0,61 ^{cA}	24,1±0,27 ^{bB}	13,0±0,60 ^{dC}	25,6±0,42 ^{aA}
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	19,5±0,21 ^{cB}	20,6±0,17 ^{bC}	18,5±0,42 ^{dB}	21,5±0,29 ^{aB}
Maya	<i>C. albicans</i> ATCC 10351	7,9±0,16 ^{cG}	8,4±0,36 ^{bG}	7,3±0,22 ^{dF}	9,7±0,34 ^{aH}
	<i>S. pombe</i> *	11,7±0,29 ^{abF}	11,3±0,48 ^{bF}	9,2±0,39 ^{cE}	12,5±0,53 ^{aF}
Küf	<i>A. alternata</i> *	6,0±0,12 ^{cl}	6,3±0,18 ^{bl}	6,2±0,22 ^{bcH}	8,3±0,29 ^{al}
	<i>P. italicum</i> *	6,6±0,34 ^{ch}	6,9±0,47 ^{bH}	6,7±0,18 ^{bcG}	9,9±0,24 ^{aGH}

Satırlardaki farklı harfler (abc) bal çeşitleri arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları temsil etmektedir (P <0,05).

Sütünlardaki farklı harfler (ABC) mikroorganizmalar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları temsil etmektedir (P <0,05).

* Parametrik olmayan istatistiksel analizler uygulanmıştır.

Farklı 4 çeşit balın en yüksek inhibisyon zon çapı oluşturduğu mikroorganizmalar, istatistiksel olarak birbirleri içinde kıyaslandığında (Lavanta – *P. aeruginosa* ATCC 35032, Limon – *K. pneumoniae* ATCC 700603, Kekik- *A. baumannii* AYE, Multifloral- *P. aeruginosa* ATCC 35032); *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *P. aeruginosa* ATCC 35032'nin en duyarlı mikroorganizmalar olduğu tespit edilmiştir. En

dirençli bakteri suşunun ise *B. cereus* DSM 4312 olduğu görülmüştür (P <0,05).

Bu çalışmada kullanılan ballardan multifloral bal haricinde, antimikrobiyal etkinin sırasıyla bakteri> maya>küf olduğu tespit edilmiştir (P <0,05). Bu yönüyle monofloral balların antibakteriyel aktivitesinin, antifungal özelliğine göre daha yüksek olduğu söylenebilir. Limon çiçeği balının, bakteriler arasından *K. pneumoniae* ATCC 700603 (25,0±0,43

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

mm), mayalardan *S. pombe* (11,3±0.48 mm) ve test küfleri arasından *P. italicum* (6,9±0.47 mm) üzerinde en iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bal örneklerinin *S. pombe* üzerindeki antifungal

aktivitesi *C.albicans*'a kıyasla fazla olduğu, küfler üzerinde de *P. italicum*'un diğer küf suşuna göre daha duyarlı olduğu söylenebilir (P <0,05).

Tablo 3. Balların MİK ve MBK/MFK değerleri (% v/v).

Table 3. MIC, MBC and MFC of honey samples (% v/v).

	Mikroorganizmalar	MİK				MBK /MFK			
		La	Li	Ke	Mf	La	Li	Ke	Mf
Bakteri	<i>A. baumannii</i> AYE	30	30	10	20	40	30	10	20
	<i>B.cereus</i> DSM 4312	40	50	40	60	40	60	50	60
	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603	20	10	30	10	30	10	40	20
	<i>L.monocytogenes</i> ATCC7644	30	20	40	20	30	30	50	20
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 35032	20	10	30	10	20	20	40	10
	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	20	10	30	10	20	20	40	10
Maya	<i>C.albicans</i> ATCC 10351	50	40	60	40	50	50	60	40
	<i>S.pombe</i>	30	40	40	20	40	40	50	30
Küf	<i>A.alternata</i>	90	80	90	80	90	90	90	80
	<i>P italicum</i>	80	70	80	70	80	80	90	70

La: Lavanta, Li: Limon çiçeği, Ke: Kekik, Mf: Multifloral

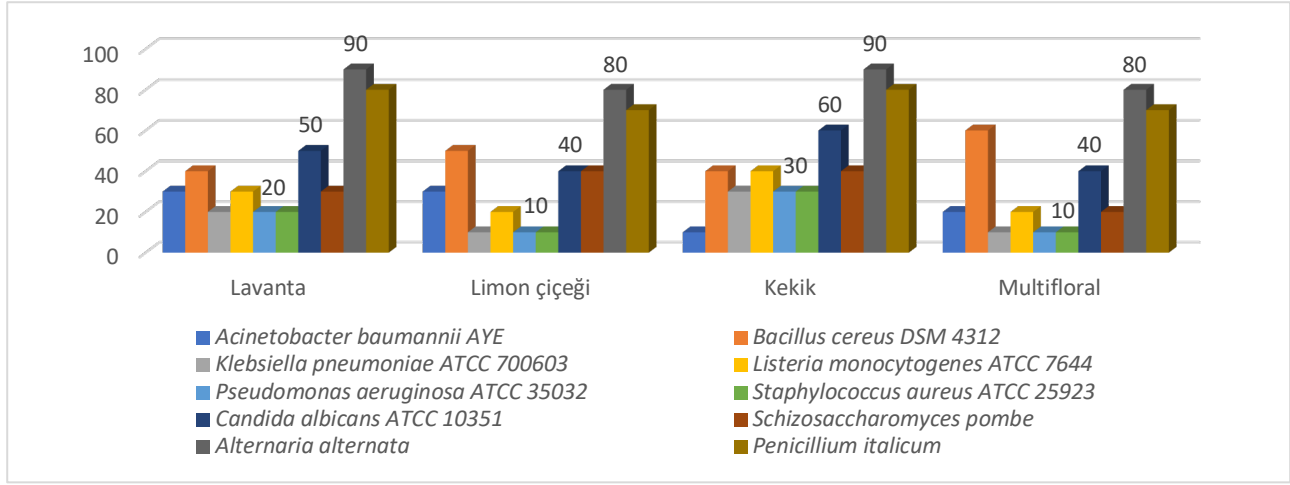
Ballara ait MİK, MBK ve MFK değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Bal örneklerinin %10-60 (v/v) konsantrasyonlarının tüm bakterileri inhibe etmede yeterli olduğu görülmüştür. Maya ve küfler üzerinde, bu etkinin daha yüksek olan %20-90 (v/v) bal konsantrasyonlarında sağlanabildiği tespit edilmiştir (Şekil 1).

Bakterilerden *A. baumannii* AYE ve *B. cereus* DSM 4312, mayalardan ise *S. pombe* haricindeki diğer test mikroorganizmalarında limon çiçeği ve multifloral balları eşit ve en düşük MİK değerlerine sahiptir. İnhibisyon zon çapı en yüksek olan *A. baumannii* AYE en düşük MİK değeri ile (%10 v/v) kekik balına en duyarlı bakteri olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile benzerlik gösterdiğini vurgulamaktadır. Buna ilaveten, kekik balının genel olarak yüksek MİK değeri göstererek düşük antimikrobiyal aktiviteye

sahip olduğu söylenebilir. Yapılan sıvı mikrodilüsyon analiz sonuçlarına göre MİK değerleri küf > maya > bakteri olarak sıralanmış olup, küflerin en dirençli mikroorganizma grubu olduğu görülmektedir. Bu sonuç, agar kuyucuk difüzyon yöntemini destekler niteliktedir.

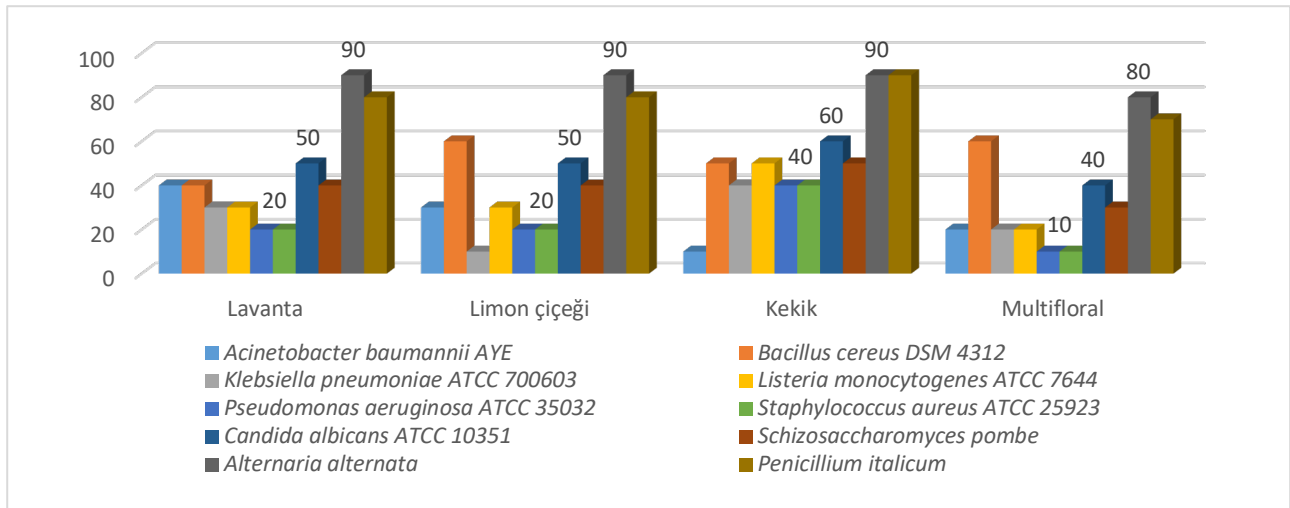
Multifloral balın, çalışmada yer alan *A. baumannii* AYE, *B.cereus* DSM 4312 ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 hariç diğer tüm mikroorganizmaları en düşük MBK/MFK değeri ile tamamen öldürdüğü belirlenmiştir. Bu durumda, monofloral ballarla kıyaslandığında test mikroorganizmalarına (10 mikroorganizmanın 7'sinde) bakterisidal/fungisidal etkide en başarılı balın multifloral bal olduğu söylenebilir. Kekik balının *A. baumannii* AYE hariç en yüksek MBK/MFK değerine sahip olduğu, çalışmada yürütülen diğer antimikrobiyal aktivite sonuçları ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE



Şekil 1. Bal örneklerinin minimum inhibisyon konsantrasyonları (% v/v).

Figure 1. Minimum inhibition concentration of honey samples (% v/v).



Şekil 2. Bal örneklerinin minimum bakterisidal / fungisidal konsantrasyonları (MBK / MFK) (% v/v).

Figure 2. Minimum bactericidal / fungicidal concentration of honey samples (MBC / MFC)(% v/v).

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Lavanta balının, test bakterileri arasında en dirençli suş olan *B. cereus* DSM 4312'yi %40 (v/v) gibi düşük bir konsantrasyonda bakterisidal etki göstermesi dikkat çekicidir. Bunun yanı sıra hastane enfeksiyonlarında son derece önemli bir yere sahip *K. pneumoniae* ATCC 700603'ün canlılığının yitirilmesinde en etkili balın %10 (v/v) konsantrasyon ile limon çiçeği balı olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada, balların bakterisidal etki oluşturmada bakterilerin Gram özelliğinin belirleyici olmadığı tespit edilmiştir. Şekil 2'de görüldüğü gibi, Gram pozitif özellikte olan *L. monocytogenes* ATCC7644 ve *S. aureus* ATCC 25923 üzerine en güçlü bakterisidal etkinin multifloral bal ile elde edilmesine rağmen, diğer bir Gram pozitif bakteri olan *B. cereus* DSM 4312'de ise en düşük etkinin görülmesi Gram özelliğinin bu konuda etken olmadığını ortaya koymaktadır. Gram negatif bakterilerde de aynı durum kekik balında gözlenmiştir [MBK; *A. baumannii* AYE %10 (v/v), *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *P. aeruginosa* ATCC 35032 %40 (v/v)].

TARTIŞMA

Balın, bakteriler ve birçok maya/küf türüne karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Ertürk v.d. 2014, Irish v.d. 2006, Mandal ve Mandal 2011, Taormina v.d. 2001). Multifloral ve monofloral balların antimikrobiyal aktivitesinin ve etki mekanizmasının incelendiği bir çalışmada, bal örneklerinin tamamında *P. aeruginosa* ATCC 27853 dışındaki tüm bakteriler üzerinde farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel etki görülmüştür. Bununla birlikte *L. monocytogenes* ATCC 15313, *B. cereus* ATCC 9634 ve *Streptococcus mutans* ATCC 25175 gibi bakteriler üzerinde bazı multifloral ballar ile monofloral balların %100 (v/v)'lük konsantrasyonlarının inhibisyon sağladığı belirlenmiştir (Gallardo-Chacón v.d. 2008). Balın yapısında bulunan hidrojen peroksitin ve yüksek şeker konsantrasyonunun antimikrobiyal aktivitenin sağlanmasında temel unsurlar olduğu, fenolik bileşikler ve diğer bileşen çeşitliliğinin ise balın geniş bir spekturumda etkinlik göstermesine sebep olduğu düşünülmektedir (Allen v.d. 1991, Bogdanov 1997, White v.d. 1963).

Çalışmamızda multifloral balın, diğer bal örneklerine kıyasla antibakteriyel ve antifungal aktivitesi yüksek bulunmuştur. Multifloral çiçek balında bulunan bileşen çeşitliliğinin, antimikrobiyal aktiviteye katkı sağladığı ve böylece daha fazla sayıda

mikroorganizma üzerinde inhibisyon etkisi bulunduğu öngörülmektedir. *C. albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* ve *Trichosporon* cinsini içeren kırk farklı maya suşu üzerinde farklı floral kaynaklara (multifloral, okaliptüs, portakal ve orman gülü) sahip balların antifungal aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmada, multifloral çiçek balı *C. albicans* üzerindeki MİK değeri %35,56 (v/v) iken, orman gülü, portakal ve okaliptüs ballarında sırasıyla MİK değerleri %40,00, %62,22, %44,44 olarak bildirilmiştir (Koc v.d. 2009). Bu bulgular, çalışmamızdaki multifloral çiçek balının diğer ballara kıyasla yüksek antifungal aktivite göstermesini desteklemektedir.

Literatürde lavanta ve kekik balının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde; lavanta balının *S. aureus* ATCC 43300-25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* üzerindeki MİK değerlerinin sırasıyla %25, %21 ve %40 olduğu bildirilmiştir (Alzahrani v.d. 2012). Elde edilen sonuçlar çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Kekik balının, metisiline dirençli *S. aureus* MRSA ATCC 33591, vankomisine dirençli *Enterococcus faecalis* VRE ATCC 51575, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *A. baumannii* ATCC 17978 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde; %6,3-12,5 (v/v) arasındaki konsantrasyonların izolatların tamamında gelişmeyi inhibe ettiği ifade edilmiştir (Özkök v.d. 2016). Bu çalışmada %10 (v/v) konsantrasyonda kullanılan kekik balının *A. baumannii* AYE üzerinde inhibisyon sağladığı, diğer bakterilerde ise benzer etkinin %30 ve %40 (v/v) konsantrasyonlarda sağlandığı belirlenmiştir.

Benlyas v.d (2016) agar difüzyon yöntemi kullanarak, kekik ve lavanta ballarının bakteri (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella abony*) ve mayalar (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida neoformans*, *C. albicans*) üzerinde oluşturduğu antimikrobiyal aktiviteyi inceledikleri çalışmada, kekik balının lavanta balından daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Kekik balı tüm mayalar üzerinde inhibisyon zonu oluşturmasına karşın, lavanta balının sadece *C. neoformans* üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Her iki bal örneğine ait MİK değerlerinin 5,5-12,5 mg/mL arasında değişmekte olduğu, beklendiği gibi kekik balının test mikroorganizmaları üzerindeki MİK değerlerinin lavanta balından daha düşük olduğu görülmüştür. Buna karşın, yapılan başka bir çalışmada kekik balının %75 (v/v) değerindeki konsantrasyonunun *C. albicans* ATCC 1223 ve

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Saccharomyces cerevisiae BC 5461 üzerinde inhibisyon etkisi oluşturmadığı belirtilmiştir (Sagdic v.d. 2013). Çalışmamızda, kekik balının kullanılan *Candida* suşu üzerinde inhibisyon etki göstermesi kekik balının farklı bölgeden temin edilmiş olması, farklı suş kullanımı ve balın sahip olduğu biyolojik özelliklerin farklılığı ile açıklanabilir.

Çalışmamızda yer alan mayalar ve küfler üzerinde lavanta ve kekik balının antifungal aktivitesinde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 2) ($P < 0,05$). Kekik ve lavanta ballarının %70 (v/v) konsantrasyonlarının *P. italicum* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları sırasıyla $6,7 \pm 0,18$ ve $6,6 \pm 0,34$ mm olarak ölçülmesine karşılık, *Penicillium* cinsi küfler üzerinde %50 (v/v)'lik kekik balının denendiği bir diğer çalışmada, daha yüksek inhibisyon zonları (*P. expansum*; 21,91 mm, *Penicillium raistrickii*; 32,55 mm) gözlenmiştir (Kacaniova v.d. 2010).

Kekik ve narenciye balının yer aldığı bir başka çalışmada, klinik ve referans bakteri suşları üzerinde kekik balının oluşturduğu inhibisyon zonları 1,85-12,98 mm, narenciye balının ise 1,83-11,73 mm arasında değişen zon çapları oluşturduğu bildirilmiştir. Her iki balın antibakteriyel aktivitelerinin birbirine yakın olduğu, bununla birlikte tüm mikroorganizmalar değerlendirildiğinde kekik balının daha yüksek zon çapına sahip olduğu görülmüştür (Voidarou v.d. 2011). Yaptığımız çalışmada ise genel olarak kekik balının diğer bal çeşitlerine kıyasla en düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür ($P < 0,05$).

Limon çiçeği balı, narenciye ballarına genel anlamda benzemekle birlikte, uçucu bileşenleri ve fizikokimyasal özellikleri ile bu ballardan ayrılmaktadır (Kadar v.d. 2011). Diğer narenciye ballarında olduğu gibi antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiş, *K. pneumoniae* üzerinde denendiğinde inhibisyon zon çapı 23 mm olarak ölçüldüğü ifade edilmiştir (Ali v.d. 2018). Benzer şekilde, çalışmamızda yer alan limon çiçeği balının *K. pneumoniae* ATCC 700603 üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu $25,0 \pm 0,43$ mm olarak ölçülmüştür.

SONUÇ

Mevcut çalışmada elde edilen veriler; monofloral ve multifloral balların kıyaslanmasının yanı sıra, monofloral balların spesifik mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesine

katkı sağlamıştır. Birçok çalışmada olduğu gibi, bu çalışmada da multifloral balın test edilen diğer bal çeşitlerinden daha yüksek antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olması dikkat çekicidir. Çalışılan ballara karşı en dirençli ve sporlu bir bakteri olan *Bacillus cereus* DSM 4312'ye karşı, lavanta ve kekik balının bakterisidal etki göstermesi çalışmanın önemini ortaya koymaktadır. Bunun yanı sıra, monofloral ballar içerisinde limon çiçeği balının genel olarak çalışmada yer alan mikroorganizmalar üzerinde güçlü inhibisyon etki göstermesi sebebiyle, patojen ve gıdalarda arzu edilmeyen mikroorganizmalarla mücadelede önerilebilir. Ülkemizde farklı botanik orjinli monofloral ve multifloral balların biyolojik özelliklerini inceleyen çalışmalara yer verilmesi, ülkemiz ballarının uluslararası platformda ticari değer kazanmasına öncülük edecektir.

KAYNAKLAR

- Alandejani, T., Marsan, J., Ferris, W., Slinger, R., Chan, F. 2009. Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 141(1): 114–118, doi.org/10.1016/j.otohns.2009.01.005
- Ali, SAM., Mahdi, WM., Altai, SH. 2018. Antibacterial Activities of Natural Iraqi and Commercial Honey Against *Klebsiella pneumoniae* *Journal of Tikrit University For Agriculture Sciences.* 18(4): 164-169.
- Allen, KL., Molan, PC., Reid, GM. 1991. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 43(12): 817-822., doi.org/10.1111/j.2042-7158.1991.tb03186.x
- Alvarez-Suarez, JM., Tulipani, S., Diaz, S., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, P., Astolfi, S., Bompadre, S., Battino, M. 2010. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with colour, polyphenol content and others chemical compounds *Food and Chemical Toxicol.* 48: 2490- 2499., doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.021
- Alzahrani, HA., Alsabehi, R., Boukraâ, L., Abdellah, F., Bellik, Y., Bakhotmah, BA. 2012. Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins *Molecules.* 17(9): 10540-

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- 10549.,
doi.org/10.3390/molecules170910540
- Anand, S., Deighton, M., Livanos, G., Morrison, PD., Pang, ECK., Mantri, N. 2019. Antimicrobial activity of Agastache Honey and characterization of its bioactive compounds in comparison with important commercial honeys *Frontiers in Microbiology*. 10: 269-285., doi.org/10.3389/fmicb.2019.00263
- Anthimidou, E., Mossialos, D. 2013. Antibacterial activity of Greek and Cypriot honeys against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in comparison to manuka honey *Journal of medicinal food*. 16(1): 42-47., doi.org/10.1089/jmf.2012.0042
- Asadi-Pooya, AA., Pnjehshahin, MR., Beheshti, S. 2003. The antimycobacterial effect of honey: an in vitro study *Riv. Biol.* 96(3), 491-495.
- Ávila, S., Hornung, PS., Teixeira, GL., Malunga, LN., Apea-Bah, FB., Beux, MR., Beta, T., Ribani, RH. 2019. Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin *Food Research International* 123: 1-10., doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.068
- Aziz, MSA., Giribabu, N., Rao, PV., Salleh, N. 2017. Pancreatoprotective effects of Geniotrigona thoracica stingless bee honey in streptozotocin-nicotinamide-induced male diabetic rats *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 89: 135-145., doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.026
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibensouda, SK. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review *Journal of pharmaceutical analysis*. 6(2): 71-79., doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005
- Bansal, V., Medhi, B., Pandhi, P. 2005. Honey—a remedy rediscovered and its therapeutic utility *Kathmandu Univ. Med. J.* 3(3): 305-309.
- Benlyas, M., Alem, C., Filali-Zegzouti, Y. 2016. Evaluation of antioxidant, antibacterial and antifungal activities of eleven monofloral honey samples collected from Morocco *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 8(3): 299-306.
- Bogdanov, S. 1997. Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *LWT-Food Science and Technology*. 30(7): 748-753., doi.org/10.1006/fstl.1997.0259
- Bogdanov, S., Ruoff, K., Persano, Oddo L. 2004. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: A review *Apidologie*, 35(1): 4-17., doi.org/10.1051/apido:2004047
- Borsato, DM., Prudente, AS., Döll-Boscardin, PM., Borsato, AV., Luz, CFP., Maia, BHLNS., Miguel, OG. 2014. Topical anti-inflammatory activity of a monofloral honey of *Mimosa scabrella* provided by *Melipona marginata* during winter in Southern Brazil *Journal of Medicinal Food*. 17(7): 817-825., doi.org/10.1089/jmf.2013.0024
- Candiracci, M., Citterio, B., Piatti E. 2012. Antifungal activity of the honey flavonoid extract against *Candida albicans* *Food Chem.* 131(2): 493 - 499., doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.012
- CLSI. 2015. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA.
- Cohen, HA., Rozen, J., Kristal, H., Laks, Y., Berkovitch, M., Uziel, Y., Kozler, E., Pomeranz A., Efrat H. 2012. Effect of Honey on Nocturnal Cough and Sleep Quality: A Double-blind, Randomized, Placebo-Controlled Study *Pediatrics*. 130(3): 465-471. doi.org/10.1542/peds.2011-3075
- El-Gendy, MMA. 2010. In vitro evaluation of medicinal activity of Egyptian honey from different floral sources as anticancer and antimycotic infective agents *J. Microbiol. Biochem. Technol.* 2, 118-123., doi.org/10.4172/1948-5948.1000035
- Erejuwa, OO., Sulaiman, SA., Wahab, MS. 2014. Effects of honey and its mechanisms of action on the development and progression of cancer *Molecules*. 19(2):2497-522., doi.org/10.3390/molecules19022497
- Ertürk, Ö., Şahin, H., Kolaylı, S., Ayvaz, M. Ç. 2014. Antioxidant and antimicrobial activity of East Black Sea Region honeys *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*. 39(1): 99-106.
- Estevinho, ML., Afonso, SE., Feás, X. 2011. Antifungal effect of lavender honey against *Candida albicans*, *Candida krusei* and

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Cryptococcus neoformans* *Journal of food science and technology*. 48(5): 640-643.
- Eteraf-Oskouei, T., Najafi, M. 2013. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A review *Iran. J. Basic Med. Sci.* 16, 731–742.
- EUCAST. 2015. Method for susceptibility testing of moulds; For the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds. Copenhagen, Denmark
- Fauzi, AN., Norazmi, MN., Yaacob, NS. 2011. Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines *Food. Chem. Toxicol.* 49(4):871-878., doi.org/10.1016/j.fct.2010.12.010
- Feás, X., Estevinho, LM. 2011. A survey of the in vitro antifungal activity of heather (*Erica* sp.) organic honey *J Med Food*.14(10), 1284–1288., doi.org/10.1089/jmf.2010.0211
- Gallardo-Chacón, JJ., Caselles, M., Izquierdo-Pulido, M., Rius, N. 2008. Inhibitory activity of monofloral and multifloral honeys against bacterial pathogens *Journal of apicultural research*. 47(2): 131-136., doi.org/10.1080/00218839.2008.11101439
- Gheldof, N., Wang, XH., Engeseth, NJ. 2003. Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans *J. Agric. Food Chem.* 51(5):1500-1505., doi.org/10.1021/jf025897t
- Irish, J., Carter, D. A., Shokohi, T., Blair, SE. 2006. Honey has an antifungal effect against *Candida* species. *Medical Mycology*. 44(3): 289-291., doi.org/10.1080/13693780500417037
- Jaganathan, SK., Mandal, M. 2009. Honey constituents and their apoptotic effect in colon cancer cells *J. ApiProduct ApiMedical Sci.* 1(2): 29–36.
- Kacaniova, M., Fatrcova-Sramkova, K., Nozkova, J., Melich, M., Kadasi-Horakova, M., Knazovicka, V., Mariassyova, M. 2010. Antiradical activity of natural honeys and antifungal effect against *Penicillium* genera *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 46(1): 92-96., doi.org/10.1080/03601234.2011.534416
- Kadar, M., Juan-Borrás, M., Carot, J. M., Domenech, E., Escriche, I. 2011. Volatile fraction composition and physicochemical parameters as tools for the differentiation of lemon blossom honey and orange blossom honey *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91(15): 2768-2776., doi.org/10.1002/jsfa.4520
- Koc, AN., Silici, S., Ercal, BD., Kasap, F., Hörmet-Öz, HT., Mavus-Buldu, H. 2009. Antifungal activity of Turkish honey against *Candida* spp. and *Trichosporon* spp: an in vitro evaluation *Sabouraudia*, 47(7): 707-712., doi.org/10.3109/13693780802572554
- Kustiawan, PM., Puthong, S., Arung, ET., Chanchao, C. 2014. In vitro cytotoxicity of Indonesian stingless bee products against human cancer cell lines *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4(7): 549–556., doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2013-0039
- Leyva-Jimenez, FJ., Lozano-Sanchez, J., Borrás-Linares, I., Cadiz-Gurrea, ML., Mahmoodi-Khaledi, E. 2018. Potential antimicrobial activity of honey phenolic compounds against Gram positive and Gram negative bacteria *LWT- Food Science and Technology*, 101: 236-245., doi:10.1016/j.lwt.2018.11.015.
- Magaldi, S., Mata-Essayag, S., De Capriles, CH., Perez, C., Colella, MT., Olaizola, C., Ontiveros, Y. 2004. Well diffusion for antifungal susceptibility testing *International Journal of Infectious Diseases*. 8(1): 39-45., doi.org/10.1016/j.ijid.2003.03.002
- Mahmoodi-Khaledi, E., Lozano-Sánchez, J., Bakhouché, A., Habibi-Rezaei, M., Sadeghian, I., Segura-Carretero, A. 2017. Physicochemical properties and biological activities of honeys from different geographical and botanical origins in Iran *European Food Research and Technology*, 243(6): 1019-1030., doi.org/10.1007/s00217-016-2811-0
- Mandal, MD., Mandal, S. 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. 1(2): 154-160., doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60016-6
- Molan, PC. 1992. The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity *Bee World*. 73(1): 5-28., doi.org/10.1080/0005772X.1992.11099109

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Molan, PC., Betts, JA. 2004. Clinical usage of honey as a wound dressing: an update *J Wound Care*. 13(9): 353–6., doi.org/10.12968/jowc.2004.13.9.26708
- NCCLS. 2002. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Second Edition. NCCLS document M27-A2 (ISBN 1-56238-469-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
- Nolan, VC., Harrison, J., Cox, JAG. 2019. Dissecting the Antimicrobial Composition of Honey *Antibiotics*. 8(4): 251., doi.org/10.3390/antibiotics8040251
- Onbaşlı, D., Çelik GV., Kahraman, S., Kanbur, M. 2019. Apiterapi ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri *Erciyes Üniv. Vet Fak. Derg.* 16(1): 49-56., doi.org/10.32707/ercivet.538001
- Özkök, A., Koru, Ö., Sorkun, K. 2016. Microbiological analysis and antibacterial effects of Turkish thyme honey *Bee World*. 93(4): 98-101., doi.org/10.1080/0005772X.2016.1275489
- Pérez, RA., Iglesias, MT., Pueyo, E., Gonzalez, M., de Lorenzo, C. 2007. Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys *J. Agric. Food Chem.* 55(2):360-365., doi.org/10.1021/jf062055b
- Pimentel, RB. de Q., da Costa, CA., Albuquerque, PM., Junior, SD. 2013. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manausensis* and commercial honey *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1): 151., doi.org/10.1186/1472-6882-13-151.
- Ramsay, El., Rao, S., Madathil, L., Hegde, SK., Baliga-Rao, MP., George, T., Baliga MS. 2019. Honey in oral health and care: A mini review *Journal of Oral Biosciences*. 61: 32-36., doi.org/10.1016/j.job.2018.12.003
- Rao, PV., Krishnan, KT., Salleh, N., Gan, SH. 2016. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: A comparative review *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 26(5): 657–664., doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.012
- Sagdic, O., Silici, S., Ekici, L. 2013. Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey *International Journal of Food Properties*. 16(3): 658-666., doi.org/10.1080/10942912.2011.561463
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., Samini, F. 2017. Honey and Health: A Review of Recent Clinical Research *Pharmacognosy Research*. 9(2): 121-127., doi.org/10.4103/0974-8490.204647
- Saranraj, P., Sivasakthi, S. 2018. Comprehensive Review on Honey: Biochemical and Medicinal Properties *J. Acad.Ind. Res*, 6, 165–181.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. 2000. Systematic of seeded plants. Bornova, İzmir: Ege Üniversitesi, Faculty of Science.
- Subrahmanyam, M. 1998. A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine *Burns*. 24(2): 157–61., doi.org/10.1016/S0305-4179(97)00113-7
- Taormina, PJ., Niemira, BA., Beuchat, LR. 2001. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power *International journal of food microbiology*. 69(3): 217-225., doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00505-0
- Valgas, C., Souza, SMD., Smânia, EF., Smânia JrA. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products *Brazilian Journal of Microbiology*. 38(2): 369-380., doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034
- Voidarou, C., Alexopoulos, A., Plessas, S., Karapanou, A., Mantzourani, I., Stavropoulou, E., Bezirtzoglou, E. 2011. Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria *Anaerobe*. 17(6): 375-379., doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.012
- Wang, R., Starkey, M., Hazan, R., Rahme, LG. 2012. Honey's ability to counter bacterial infections arises from both bactericidal compounds and QS inhibition *Front. Microbiol.* 3: 144-150., doi.org/10.3389/fmicb.2012.00144
- White Jr, JW., Subers, MH., Schepartz, AI. 1963. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Specialized Section on Enzymological Subjects*. 73(1): 57-70.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Wiegand, I., Hilpert, K., Hancock, RE. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances *Nature protocols*. 3(2): 163-175.

Wilkinson, JM., Cavanagh, HM. 2005. Antibacterial activity of 13 honeys against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* *Journal of*

medicinal food. 8(1): 100-103.,
doi.org/10.1089/jmf.2005.8.100

Young, T. 2005. Honey: rediscovering an ancient healer *Practice Nursing*.16(11): 542-547.,
doi.org/10.12968/pnur.2005.16.11.19972

Zafar, H., Israili, MS. 2014. Antimicrobial Properties of Honey *American Journal of Therapeutics*. 21(4): 304-323.,
doi.org/10.1097/MJT.0b013e318293b09b