

FARKLI BALLARIN HPLC YÖNTEMİ İLE BELİRLENEN ŞEKER İÇERİKLERİ KULLANILARAK TANIMLANMASI

IDENTIFICATION OF DIFFERENT HONEYS USING SUGAR COMPOSITION DETERMINED BY HPLC

Mustafa KARKACIER¹, Fehmi GÜREL², Feramuz ÖZDEMİR¹

¹Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ANTALYA

²Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, ANTALYA

ÖZET: Araştırmada saf olarak üretilen şeker balı ile yaygın olarak üretilen salgı ve çiçek ballarını ayırt etmek amacıyla HPLC metodu kullanılarak şeker içerikleri belirlenmiştir. Bal örneklerinin tamamında en yüksek düzeyde belirlenen şeker fruktoz olup (%39.42-42.20), buna glukoz (%29.61-33.48) takip etmiştir. Ayrıca tüm bal örneklerinde sakkaroz, maltoz, galaktoz, riboz ve ksiloz da saptanmıştır. Bal örneklerinde toplam şeker ise %75.67-78.40 arasında değişim göstermiştir. Bal örneklerinin şeker içeriklerinden bazıları diğerlerinden istatistik olarak önemli düzeyde farklılık göstermiştir. Şeker balı yüksek glukoz oranı ile dikkat çekmiştir. Ancak şeker içeriklerinden faydalanılarak balların ayırımı mümkün olmamıştır.

ABSTRACT: In this study, sugar contents of sugar honey, honeydew honey and multifloral honey were determined by HPLC method in order to identify the honeys from each other. Fructose is the highest sugar in all samples (39.42-42.20%) followed by glucose (29.61-33.48%). Additionally sucrose, maltose, galactose, ribose and xylose were determined in all samples as well. Total sugar content ranged between 75.67-78.40% in honey samples. Some sugar contents of honey samples showed significant ($p < 0.05$) differences than the others. Sugar honey with high glucose content was unique. However, by using sugar content the identification of the origin of honey was impossible.

GİRİŞ

Dünyada çok yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan bal arıları (*A. mellifera*) buldukları bölgenin florasına bağlı olarak fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirinden farklı ballar üretmektedir. Ayrıca hasat dönemi, hasat sırasında uygulanan işlemler, ısıtma ve depolama koşulları gibi pek çok faktör de balın kalite özelliklerini etkilemektedir.

Bal; besin değeri, lezzeti ve kendine özgü aromasından dolayı tarih boyunca önemli bir gıda maddesi olarak kabul edilmiştir. Fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak bal ulusal ve uluslararası standartlarca değişik şekillerde sınıflandırılmıştır (ANONYMOUS, 1969; ANONYMOUS, 1990). Standartların bu sınıfları dışında özellikle ülkemizde bazı dar bölge balları tüketici tarafından tercih edilmekte ve bu balların bazıları normal bal fiyatının 50 katına ulaşacak fiyatlarla alıcı bulabilmektedir.

Türkiye yaklaşık 3.9 milyon koloni varlığı, 68.500 ton bal üretimi (FIRATLI, 1997), farklı ekolojik bölgeleri ve zengin florası ile önemli bir arıcılık ülkesidir. Ülkemizde pazara arz edilen ballar genellikle salgı balı (çam balı), yayla balı (çiçek balı), ve pamuk, ayçiçeği vb. balı olarak sınıflandırılmaktadır. Salgı balı genellikle Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki kızıl çam ormanlarının hakim olduğu yörelerde elde edilmektedir (CRANE ve WALKER, 1985). Bu bölgede koloni varlığı 500.000 civarında olup yıllık bal üretiminin 1/7 sini (7.000-11.000 ton) oluşturmaktadır (KARABIYIK ve TUTKUN, 1996). Çiçek balı Doğu Anadolu Bölgesi yaylaları başta olmak üzere ülkemizin hemen her yöresinde üretilmektedir. Diğer ballar ise sözü edilen bitkilerin yoğun olarak yetiştiği bölgelerde üretilmektedir.

Sanayileşme, tarımda pestisitlerin yaygın kullanımı, meraların tahrip edilmesi ve iklim değişiklikleri, doğal florada önemli zararlara yol açmaktadır. Bu nedenlerle üreticiler özellikle ana nektar akımı dönemlerinde (Mayıs-Eylül) doğal floradan yeteri kadar bal alamadıkları hallerde arılara şeker şurubu vererek bal üretmektedirler. Tüketiciler, satın aldıkları balın doğrudan doğadan mı geldiğini, yoksa şeker şurubundan mı üretildiğini bilmek istemektedirler. Ancak bunu bilmek oldukça güçtür. Çünkü arılar şeker şurubu ile beslenirken bir yandan da doğadan nektar almaktadır. Dolayısıyla koloniye bağlı olarak üretilen balda şeker şurubu ve nektar farklı oranlarda bulunabilmektedir. Bu bakımdan balları birbirinden ayırmak daha da güçleşmektedir.

Balların orijinin belirlenmesi amacıyla tüm dünyada pek çok çalışma yapılmıştır (IVANOV, 1989; FELLER, DEMALSY, 1990; SANCHO ve ark., 1991; SANZ ve ark., 1995; SALINAS ve ark., 1996; GÜREL ve ark., 1998). Bu çalışmada sadece şeker şurubundan üretilen şeker balı ile Türkiye'de yaygın olarak üretilen salgi ve çiçek ballarının şeker içeriklerinin HPLC metodu ile analizi ve şeker içeriklerine dayanarak balların orijinlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesinin arıcılık ünitesindeki 16 koloni kullanılmıştır. Koloniler her biri 4 koloniden oluşan 4 gruba ayrılmış ve her grup aşağıdaki belirtilen bölgelere yerleştirilmiştir.

1. Grup: Antalya şehir merkezinin doğu bölgesi Aksu'ya yerleştirilmiştir. Bölgede hakim flora narenciye ve okalıptustur.
2. Grup: Antalya şehir merkezinden 80 km uzaklıkta, Korkuteli bölgesinde 1300 m. ortalama rakımlı bir yaylaya yerleştirilmiştir. Bölgenin hakim florasını değişik türde çiçekler oluşturmaktadır.
3. Grup: Aydın ilinin Davutlar bölgesine yerleştirilmiştir. Bu bölge ülkemizin salgi balı (çam balı) üretilen önemli bölgelerinden biri olup çam ağaçları ile kaplıdır.
4. Grup: Bu grup koloniler Antalya şehir merkezindeki Akdeniz Üniversitesi kampüs alanına bırakılmış ve şeker şurubu (1:1) ile beslenmiştir.

İlk üç grup, bölgede ana nektar akımı öncesi yöreye götürülmüş ve her kovana işaretlenmiş boş çerçeveler konulmuştur. Nektar akımı sonuna kadar yerlerinde tutulan kovanların işaretlenmiş çerçevelerinden hasat edilen ballar analizlerde kullanılmıştır. Dördüncü grup koloniler şehir merkezindeki üniversite kampüsünde tutulmuş ve bölgede doğadan nektar temininin hemen hemen mümkün olmadığı Eylül-Ekim aylarında iki ay süre ile şeker şurubu (1:1) ile beslenmiştir. Hasat edilen ballar analiz edilinceye kadar cam kavanozlar içinde, oda koşullarında, karanlıkta muhafaza edilmiştir.

Metot

Bu örneklerinde şeker analizleri CAMARA ve ark. (1996)'na göre aşağıdaki gibi yapılmıştır.

Örnek hazırlama: 5 g bal örneği üzerine 40 ml metil alkol ilave edilerek manyetik karıştırıcı üzerinde 20 dakika süre ile ısıtılıp, oda sıcaklığında santrifüj (30 dakika 3000 devir/dakika) edilmiştir. Berrak kısım metil alkol ile 50 ml ye tamamlanıp rotary evaporatörde metil alkol uçurulmuştur. Kalan kısım çift destile su ile 50 ml ye tamamlanmıştır. Sep-Pack C18 kartuştan geçirilen karışıma asetonitrii eklenecek membran filtreden (0.45 µm) süzölmüştür. Enjeksiyon bu filtrattan 20 µL miktarında yapılmıştır.

Ekipman: HPLC analizlerinde; Varian 9010 Pompa Sistemi, Marathon Otomatik Enjeksiyon Sistemi, ve Star 9010 Refraktif Index Dedektör kullanılmıştır. Analitik kolon Alltech 300x4.1 mm ID karbonhidrat kolonu olup hareketli faz olarak asetonitri: su (75:25) kullanılmıştır. Analizler 1.4 ml/dakika akış hızında ve oda sıcaklığında yapılmıştır.

Çözünür kuru madde Abbe refraktometresi ile CEMEROĞLU (1992)'na göre yapılmıştır.

Sonuçlara varyans analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır (DÜZGÜNEŞ ve ark., 1987).

SONUÇ ve TARTIŞMA

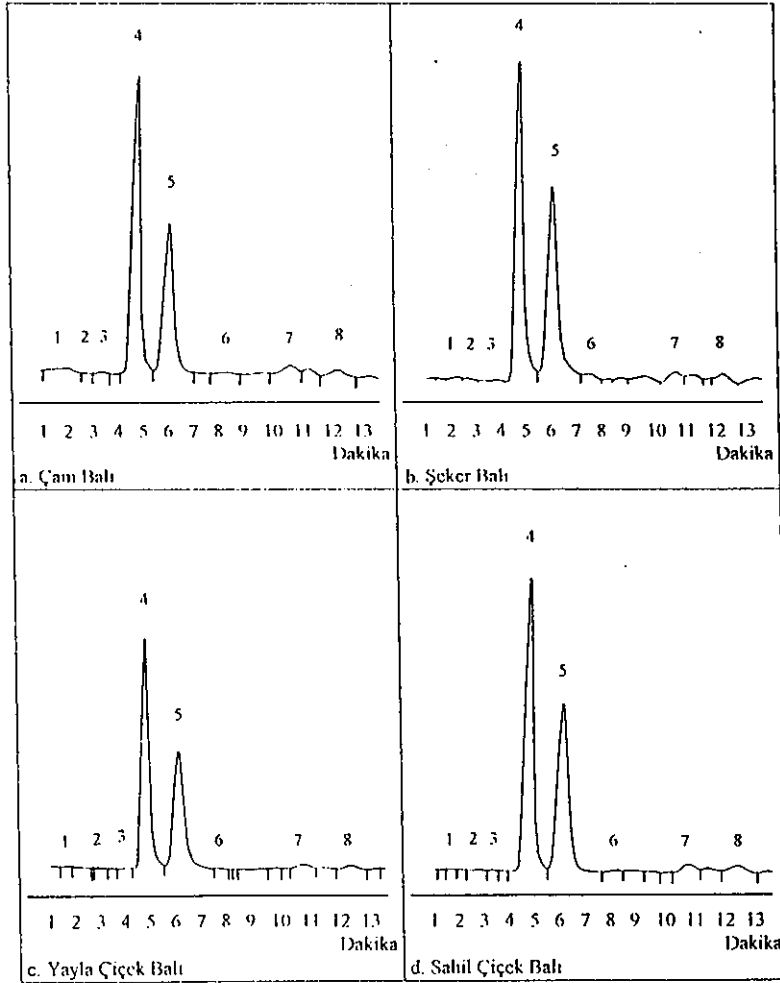
Salgi, şeker ve çiçek ballarında incelenen özelliklere ilişkin tanımlayıcı değerler ve bu değerlere ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Her gruba örnek olarak birer adet kromatogram da Şekil 1'de gösterilmiştir.

Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için yapılan varyans analizinde incelenen özelliklerden fruktoz, glukoz, riboz, toplam şeker, fruktoz/glukoz, glukoz/su ve çözünür kuru madde değerlerinde farklılık önemli ($p < 0.01$) bulunmuştur.

Çizelge 1. Bal Örneklerinin Tanımlayıcı Değerleri ve Duncan Testi Sonuçları

	Sahil Çiçek Balı (Grup 1)	Yayla Çiçek Balı (Grup 2)	Salgı Balı (Grup 3)	Şeker Balı (Grup 4)
Özellik	X±Sx	X±Sx	X±Sx	X±Sx
Fruktoz (%)	39.42±0.345 b	42.20±0.629 a	42.02±0.165 a	39.45±0.715 b
Glukoz (%)	31.19±0.379 b	31.40±0.610 b	29.61±0.55 b	33.48±0.836 a
Sakkaroz (%)	3.04±0.393 a	2.32±0.127 a	3.25±0.434 a	2.25±0.136 a
Maltoz (%)	2.16±0.280 a	2.30±0.180 a	2.58±0.619 a	1.26±0.456 a
Galaktoz (%)	0.16±0.153 a	0.11±0.064 a	0.14±0.11 a	0.33±0.167 a
Riboz (%)	0.07±0.007 b	0.07±0.025 b	0.29±0.053 a	0.25±0.03 a
Ksiloz (%)	0.10±0.057 a	0.02±0.011 a	0.11±0.04 a	0.09±0.04 a
Toplam Şeker (%)	75.67±0.747 b	78.40±0.210 a	78.00±0.423 a	77.60±0.153 a
Fruktoz/Glukoz	1.25±0.01 bc	1.35±0.04 ab	1.42±0.027 a	1.16±0.04 c
Glukoz/Su	1.48±0.003 c	1.72±0.04 a	1.60±0.032 b	1.69±0.036 ab
Çözünür K.M (%)	79.00±0.14 c	81.75±0.14 a	81.44±0.06 a	79.87±0.12 b

Aynı satırda benzer harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemsizdir (p<0.05)



Şekil 1. Bal örneklerine ait şeker kromatogramları (1.Riboz, 2. Ksiloz, 3. Arabinoz, 4. Fruktoz, 5. Glukoz, 6. Galaktoz, 7. Sakkaroz, 8. Maltoz)

Fruktoz içeriği salgı balı ve yayla çiçek balında sırası ile %42.02 ve %42.20 oranında tespit edilmiş ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonucuna göre önemli ($p<0.05$) bir fark göstermemiştir. Şeker balı ile sahil çiçek balının fruktoz içerikleri arasında da istatistiki düzeyde önemli bir farklılık ($p<0.05$) belirlenmemiştir. Ancak salgı balı ve yayla çiçek ballarının fruktoz içerikleri, şeker ve sahil çiçek balının fruktoz içeriğinden önemli ($p<0.057$) düzeyde farklılık göstermiştir.

Şeker balı %33.48 glukoz oranı ile diğer bal gruplarından önemli ($p<0.05$) düzeyde yüksek oranda glukoz içermektedir. Bu sonuçla şeker balını diğer ballardan ayıran tek şeker glukoz olmuştur. Salgı balı %29.61 oranı ile en düşük düzeyde glukoz içeren bal olmakla beraber Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonucuna göre çiçek ballarının glukoz içerikleri ile arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olmadığı belirlenmiştir. Bal örneklerinde sakkaroz (%2.25-3.25), maltoz (%1.26-2.58), galaktoz (%0.11-0.337, riboz (%0.07-0.29) ve ksiloz (%0.02-0.11) gibi şekerler belirlenmiş olmasına rağmen duncan testi sonuçlarına göre bal gruplarının riboz dışında diğer şekerler arasında önemli ($p<0.05$) farklılık belirlenmemiştir. Riboz içeriği açısından ise salgı ve şeker balı sırası ile %29 ve %0.25 değerleri ile birbirinden farklılık göstermemiştir. Çiçek balları ise daha düşük riboz içerikleri ile dikkat çekmektedir. Şeker ve salgı balının riboz içeriği çiçek ballarının riboz içeriğinden önemli düzeyde ($p<0.05$) yüksek bulunmuştur.

IVANOV (1989) şeker balını tanımlamak amacıyla yaptığı bir çalışmada şeker balının gerçek baldan yüksek sakkaroz oranı, düşük indirgen şeker, prolin, diastaz ve invertaz aktivitesi ile ayrılabilirliğini bildirmektedir. Ancak depolama süre ve koşullarına bağlı olarak sakkaroz miktarının azaldığını, indirgen şeker miktarının arttığını belirtmektedir. Diğer bir çalışmada şeker şurubu karışmış balların yüksek oranda sakkaroz ve düşük pH değerine sahip oldukları bildirilmektedir (ABU-TARBOUSH ve ark. 1993). Ancak çalışmamızda şeker balının diğer ballara oranla daha düşük sakkaroz içerdiği belirlenmiştir. Depolama süresinin uzaması sakkaroz miktarını azaltmaktadır. Adı geçen çalışmada sakkarozun yüksekliği arıların doğadan nektar almış olabileceğini düşündürmektedir. SANCHO ve ark. (1991) toplam asitlik, formol sayısı, sakkaroz oranı, fruktoz/glukoz ve glukoz-su/fruktoz değerleri kullanılarak balları tanımlayabildiklerini bildirmektedirler. GÜREL ve ark (1998) ise yaptıkları benzer bir çalışmada şeker balının diğer ballara göre önemli ölçüde düşük mineral madde (özellikle K, Fe, Mn, Mg), pH değeri ve asitlik düzeyine sahip olduğunu belirtmektedirler.

Bal örneklerinin toplam şeker içerikleri incelendiğinde (Çizelge 1) %75.67 değeri ile sahil çiçek balı (Grup 1) en düşük şeker içeriği ile diğer gruplardan istatistiksel olarak farklılık ($p<0.05$) gösterirken diğer gruplar arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir.

Türk Standartları bal standardına göre (TS 3036) invert şekerin çiçek ballarında en az %65, salgı ballarında %60 olması gerekmektedir (ANONYMOUS, 1990). Araştırmada kullanılan salgı ve çiçek balları standartlara uygun bulunurken, şeker balı da her iki grup için verilen limite uymaktadır.

Glukoz/su oranı 1.70 ve daha düşük ballarda kristalleşme gecikmekte ya da görülmemektedir (CRANE ve WALKER, 1984). Örneklerde sadece yayla çiçek balı bu değer üzerinde bulunmuştur. Ancak glukoz/su oranı da şeker balını diğer ballardan ayıran bir özellik olarak ortaya çıkmamıştır.

Bal örneklerinde fruktoz/glukoz oranları 1.16-1.42 arasında değişmiş ve yine şeker balı bu değer açısından da sahil çiçek balı dışında diğer ballardan istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) derecede farklılık göstermiştir. Glukoz/Su oranı da şeker balını diğer ballardan belirgin şekilde ayırıcı bir değer olarak görülmemektedir.

Sonuç olarak araştırmada kullanılan şeker balı saf şeker balı olmasına rağmen şeker içeriklerine dayanarak balları birbirinden kesin olarak ayırmak mümkün olamamıştır. Bu sonuç göz önüne alındığında arıların şeker şurubu ile beslenmesi sırasında doğadan nektar sağlaması da söz konusu olduğunda elde edilecek ara karakterdeki balları tanımlamak daha da güç olmaktadır.

KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 1969. Codex Alimentarius Commission. Recommended European Regional Standard For Honey (Rome; Joint FAO/WHO. Food Standards Programme) CAC/RS-12.
- ANONYMOUS, 1990. Bal. TS 3036. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- ABU-TARBOUSH, AL-KAHTANI, H.A., EL-SARAGE, M.S. 1993. Floral-Type Identification and Quality Evaluation of Soma Honey Types. Food Chemistry. 46(1):13-17.
- CAMARA, M.M., DIEZ, C., TORIJI, M.E., 1996. Free Sugar Determination by HPLC in Pineapple Products. Z Lebensm. Unter Forsch. 202:233-327.
- CEMEROĞLU, B. 1992. Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metodları. Biltav Yayınları, Ankara.
- CRANE, E., WALKER, P., 1984. Composition of Honey From Some Important Honey Sources. Bee World. 65(4):167-174.
- CRANE, E., WALKER, P., 1985. Important Honeydew Sources and Their Honeys. Bee World. 66(3): 105-112.
- DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAVUNCU, O., GÜRBÜZ, F., 1987. Araştırma Deneme Metodları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 1021, Ders Kitabı: 295, Ankara.
- FELLER, DEMALSY, M.J., 1990. A Method For Determining the Geographic Origin of Honeys: Mineral Content. Abeille, 11 (2), 11-15.
- FIRATLI, Ç., 1997. Hayvan Yetiştirme. Arı Yetiştirme. Boran Ofset. 263-295.
- GÜREL, F., KARKACIER, M., ÖZDEMİR, F., 1998. Identification of Sugar Honey, Multifloral Honey and Honeydew Honey based on Mineral Content, Total Ash, pH Value and Acidity. Apiacta (Basımda).
- IVANOV, T.S., 1989. A Study of Methods For the Identification of Sugar Honey. Zhivotnovutni Nauki. 26(5), 96-103.
- KARABIYIK, E., TUTKUN, E., 1996. Marmaris Yangınında Binlerce Hektar Orman Alanı Kül Oldu. THV: Teknik Arıcılık. 54.
- SALINAS., F., MONTERO DE ESPINOSA, V., OSORIO, E., LOZANO, M., 1996. Determination of Mineral Elements in Honey From Different Floral Origins by Flow Injection Analysis Coupled to Atomic Spectroscopy, Apicultural Abstracts 47(4), 389.
- SANCHO, M.T., MUNIATEGUI, S., HUIDOBRO, J.F., SIMAL-LOZANO, J., 1991. Provincial Classification of Basque Country Honeys by Their Chemical Composition. Journal of Apicultural Research. 30(3/4) 168-172.
- SANZ, S., PEREZ, C., HERRERA, A., SANZİ M., JUAN, T., 1995. Application of a Statistical Approach to the Classification of Honey by Geographic Origin. Journal of the Science of Food Agriculture. 69(2), 135-140.