

## KARAÇALI (*Paliurus spina-christi* Mill.) BALININ KARAKTERİSTİK ÖZELLİKLERİ

Characteristic Properties of Jerusalem Thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) Honey

Meltem MALKOÇ<sup>1\*</sup>, Yakup, KARA<sup>2</sup>, Aslı ÖZKÖK,<sup>3</sup> Ömer ERTÜRK,<sup>4</sup> Sevgi KOLAYLI<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Trabzon, TÜRKİYE, YazışmaYazarı / Corresponding Author: meltemmalkoc69@gmail.com. ORCID No: 0000-0002-8652-941X

<sup>2</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon, TÜRKİYE, yakupkara@ktu.edu.tr, ORCID: 0000-0003-3121-5023; skolayli61@yahoo.com, ORCID No: 0000-0003-0437-6139

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi, Arı ve Arı Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara, TÜRKİYE, asozkok@gmail.com, ORCID No: 0000-0002-7336-2892

<sup>4</sup>Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ordu, TÜRKİYE, oseerturk@hotmail.com, ORCID No: 0000-0001-5837-6893

Geliş tarihi / Received: 05.03.2019 Kabul Tarihi / Accepted: 17.04.2019 DOI: <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.535658>

### ÖZ

Yapılan bu çalışma ile Türkiye'nin Marmara bölgesinin farklı lokasyonlarında üretilen karaçalı (*Paliurus spina-christi* Miller) ballarının karakteristik özellikleri ile biyolojik aktif değerleri aydınlatılmıştır. 2018 yılında bal hasat sezonunda toplanan 18 adet karaçalı balları, Bursa, Edirne ve Kırklareli'nin tecrübeli arıcılardan ve çevresindeki üreticilerden temin edilmiştir. Balların melissopalinojik analizleri, fizikokimyasal parametre olarak, pH, nem, renk, iletkenlik ve optik rotasyon değerleri, kimyasal parametre olarak, prolin, şeker bileşenleri, toplam fenolik, flavonoid, tanen miktarları ve fenolik profil analizleri yapılmıştır. Biyolojik aktif özellik olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışılmıştır. Çalışmanın palinolojik analiz sonuçlarına göre balların %69.5 ile %96 arasında monofloral özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. Karaçalı ballarının çalışılan 10 farklı patojenik mikroorganizmaya karşı Manuka balları ve standart antibiyotiklere göre oldukça yüksek antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak, monofloral özellikteki Karaçalı ballarının yüksek biyolojik aktivite değerlerine sahip olduğu ve apiterapi uygulamaları için iyi bir ajan olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Karaçalı balı, *Paliurus spina-christi* Miller, Antioksidan, Polifenol

### ABSTRACT

In this study characteristic properties of Jerusalem thorn, Christ's thorn or Garland thorn honey (*Paliurus spina-christi* Mill.) were investigated that obtained from different locations of Marmara and Trakya regions of Turkey. Eighteen honey samples were collected from Bursa, Edirne and Kırklareli regions by experienced beekeepers in 2018. Melissopalynological analysis, physicochemical parameters, pH, moisture, color, conductivity and optical rotation values, chemical parameters, proline, sugar components, total phenolic, flavonoid, tannin amounts and phenolic profile analyzes were analyzed of the honey samples. Antioxidant and antimicrobial activities were tested as biological activities. According to the results of the study, it was found that the honey has a highly monofloral properties ranged from 69.5% and 96%. Antimicrobial activity values of the honey were compared with standard antibiotics and two different Manuka honeys. It was found that the honeys were showed higher antimicrobial and antifungal activities against 10 different pathogenic than Manuka honeys. As a result, it is thought that Jerusalem thorn honey have high biological active potential as monofloral honey for apitherapy applications.

**Key words:** Jerusalem thorn, *Paliurus spina-christi* Miller, Antioxidant, Polyphenol

## EXTENDED ABSTRACT

**Goal:** Honey is very a valuable natural product, is used for many purposes. Turkey is a bridge between Asia and European and has the richest floral sources. There are many kind of honey species, both of honeydew and blossom honeys. Recently, the importance of monofloral honeys has increased considerably in the world. Jerusalem thorn, Christ's thorn or Garland thorn is also known as *Paliurus spina-christi* Mill. It is a member of Rhamnaceae family plant, has a good nectar sources for honey production. The Jerusalem thorn honey mostly is produced in Marmara and Trakya region of Turkey.

**Materials and methods:** In this study, we have studied the characteristic properties and biological active features of Jerusalem thorn honey samples. Eighteen honey samples were obtained from Bursa, Edirne and Kırklareli regions from the experienced beekeepers in July and August 2018. Melissopalynological analysis, pH, moisture, color, conductivity and optical rotation values, proline, sugar components, total phenolic, flavonoid, tannin amounts and phenolic profile analyzes were performed. Antioxidant activity and antimicrobial activity capacity were investigated.

**Result:** According to the results of the study, it was found that the honey has high monofloral properties ranged from 69.5% to 96%. In this study, it was studied some physicochemical and antioxidant and antimicrobial properties of the samples. Antimicrobial features were also compared Manuka honeys, which is known have high antimicrobial potentials in the world. Prolin contents of the honey were ranged from 300 mg/kg to 995 mg/kg, ratio of Fructose/Glucose were changed from 1.18 to 1.46. Total phenolic contents of the samples were ranged from 33 mgGAE/100 g to 85 mgGAE/100 g, and total flavonoid amount were 0.50 mgQE/100 g to 2.40 mgQE/100 g and condensed tannin were not detected in the honeys. Total antioxidant capacities of the honey were measured by ferric reducing antioxidant power test (FRAP) and the values were found between 560 and 1841  $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100 \text{ g}$  and free radical scavenging capacity of the samples were measured by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method, and the result were ranged from 13.49 to 18.86 mg/mL. All honey samples showed a good antioxidant potential. Pinocembrin, caffeic acid, caffeic acid phenyl ester (CAPE), chrysin, and protocatechuic acid are the main phenolic component of the honeys. The flavonoids were very valuable secondary metabolites in apitherapeutic applications. When compared the antimicrobial activities with Manuka honeys (UMF10+ and UMF 20+), jerusalem thorn honeys were showed higher antimicrobial activities than the Manuka honeys.

**Conclusion:** jerusalem thorn honeys have high nutraceutical potential, and could be used for apitherapeutic applications.

## GİRİŞ

Bal, bal arılarının çiçek nektarları ve bitkilerin salgılarından topladıkları ve kendi salgıları ile karıştırarak değişime uğrattıkları, bal peteklerinde depoladıkları tatlı viskoz doğal bir karışımdır (Anonim, 2012). Balların bileşimi ve insan sağlığı için yararlı özellikleri arının nektar topladığı bitkilerin türüne, çevresel koşullara ve üretim şekline göre değişim göstermektedir (Anklam, 1998). Ballar içerdikleri floral kaynaklara göre monofloral ballar ve polifloral ballar olarak sınıflandırılırlar. Türkiye bulunduğu coğrafik iklim kuşağından dolayı Dünya'da bal çeşidi bakımından en zengin ülkelerden biridir (Can vd., 2015; Kenjerić vd., 2008).

Karaçalı olarak adlandırılan *Paliurus spina-christi* Miller Rhamnaceae familyasına ait bir çalı bitkisidir. Bitki kurak topraklarda iyi gelişim gösterdiğinden dolayı erozyonla mücadelede oldukça etkilidir.

Bilinen beş türü olup, Türkiye florasında, bu beş türden sadece *Paliurus spina-christi* Mill bulunmaktadır (Güner, 2005). *Paliurus spina-christi* Mill. bitkisi, Türkiye, Güney Avrupa, Balkanlar ve Kafkaslarda yayılış gösteren bir bitkidir (Deligöz vd., 2007). Türkiye'de karacalı balı olarak daha çok Marmara ve Trakya bölgelerinde üretimi yapılmaktadır. Karaçalı bitkisinin çiçekleri Mayıs-Temmuz ayları arasında hava şartlarına bağlı olarak gelişmekte olup, sarı renkli, orta tatlılıkta ve hafif acılığa sahip olan ve çok hızlı kristalleşen ballar vermektedir. Karaçalı halk arasında mesih diken, draga diken, öküz gözü, ilme, çaltı diken, sarı çalı, sarı diken, gibi yerel isimlerle de adlandırılmakta olup, idrar söktürücü, antiromatizmal, hipokolesterolemik, tonik ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Zor vd., 2017; Şen., 2018). Karaçalı meyve özütlerinin antidiyabetik etkisi

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

olduğu da belirtilmektedir (Takim,2018). Karaçalı ekstraktları fitokimyasal yönden incelendiğinde bitkinin bütün kısımlarında flavonoidlerin ve tanenlerin, kabuklarda amino asitler, alkaloitler ve meyvelerde ise sterollerin bulunduğu belirlenmiştir (Brantner ve Males.,1999). Karaçalı meyveleri ayrıca alkaloitler, steroller, tanenler, rutin ve isoquercetin, quercetin-3- rutosid-7-rhamnosid, kaempferol-3-glikozit epigloalkatekol, galloalkatekol, katekol gibi flavonoidleri de içermektedir. Karaçalı bitkisinin sulu ekstraktlarındaki bu bileşenler antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal, hipolipidemik ve antioksidan özellik gösterir. Özellikle flavonoidlerinin antidiüretik aktiviteden, fenollerinin ise antibakteriyel aktiviteden sorumlu olduğu bildirilmektedir (Zor vd., 2017). Balın gerçek kalitesi onun biyolojik aktif değeri ile ölçülür. Yeni Zelanda'nın Manuka balı antimikrobiyal aktivitesi yüksek değerli ballardan biridir. Bu balın antimikrobiyal aktivitesinin bir sekonder metabolit olan ve hemen her balda düşük miktarda bulunan metilglioksilat (MGO) bileşiminden ileri geldiği bildirilmektedir. İçerdiği MGO miktarına bağlı olarak bal kategorize edilmektedir. UMF10+, en düşük ve UMF20+ en yüksek antimikrobiyal değere sahip ballar olarak tüketime sunulmaktadır (Carter vd., 2016).

Bu çalışma ile Türkiye'de yöresel ve sınırlı olarak üretimi yapılan karaçalı balının botanik, fizikokimyasal, fenolik kompozisyonu ile biyolojik aktif değerini içine alan bir karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Ayrıca karaçalı ballarının antimikrobiyal aktivitesi manuka balları ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları karaçalı ballarına ait kodeks verilerinin oluşmasına katkı sağlayarak, karaçalı balı üretiminin artırılması konusunda farkındalık oluşturacaktır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

#### Örneklerin Temini ve Ekstraksiyon

Bu çalışmada kullanılan 18 adet bal örneği, Bursa, Edirne ve Kırklareli'nin tecrübeli arıcılarından, 2018 yılında bal hasat sezonunda temin edilmiştir. Taze balların fiziksel parametreleri çalışıldıktan sonra diğer analizler için +4°C de bekletilmiştir. Çalışmada antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırma maksadıyla iki farklı dereceye sahip manuka balı (UMF+10) ve (UMF+20) kullanılmıştır. Sertifikalı ballar, İngiltere'deki The Real Honey Company'den temin edilmiştir.

#### Balların Palinolojik Testi

Balların botanik orijin özelliklerini belirlemek amacıyla melissopalinojik analizler yapılmıştır (Wodehouse., 1935; Louveaux vd., 1978). Bunun için 10 gram bal örneği üzerine 20 mL distile su ilave edilerek tamamen homojen hale getirilmiş ve 3000-4000 rpm'de 30- 40 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı dipteki pelet kısmından ayrılmıştır. Bir diseksiyon iğnesi ile gliserin jelâtinden bir parça alınarak tüpün dibine çöken kısma değdirilip, çökelti ile bulaşık gliserin jelâtin lam üzerine konularak üzerine lamel kapatılmış ve mikroskop (Olympus CX21) altında sayım yapılmıştır. Polen teşhisinde çeşitli literatür kaynaklardan ve Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü referans polen preparatları koleksiyonundan yararlanılmıştır. Sayım sonuçlarına göre polenlerin oranları saptanmış ve oranlar dominant polen (%45 ve daha fazlası), sekonder polen (%16-44), minör polen (%3-15 ), eser polen (%3 ve daha az), olarak sınıflandırılmıştır. Manuka balı ticari ve sertifikalı bir ürün olduğu için palinolojik analizleri yapılmamıştır.

#### Fiziko-Kimyasal Özellikleri

Balların rengi Hunter (L, a, b) renk ölçüm sistemine göre (CR-400, Minolta, Osaka, Japan) tayin edilmiştir. Hunter L a,b yöntemine göre ölçülen renk değerlerinden L değeri balın koyuluk ve açıklığını (0'a yakın koyu ballar yani siyah; 100'e yakın açık renk yani beyaz) gösterirken, a değeri sifıra yakın değerler yeşillik ve 100'e yakın değerler kırmızılığı, ve b ise mavilikten sarılığa doğru gıda renklerini ifade etmektedir (Can vd., 2015). Nem refraktometrik olarak (Atago, Tokyo, Japan) kırılma indisinden tespit edilmiştir. İletkenlik kondüktivimetre ile (Hanna Instrument, HI 2030-02, Romania), balların optik rotasyon değerleri polarimetre ile ölçülmüştür (Beta PPP7, England). Prolin içeriği ninhidrin reaksiyonuna göre spektrofotometrik olarak (Ough, 1960) (Thermo Scientific EvolutionTM 201, UV-VIS Spectrophotometer, USA) belirlenmiştir. Numunelerin şeker analizi, HPLC (Elite LaChrom, Hitachi, Japonya) ve bir ters faz-amid kolonu (200 / 4.6 Nucleosil 100-5 NH2) içeren bir kırılma detektörü (RID) kullanılarak yapılmıştır.

#### Toplam Fenolik İçerik Tayini

Falkon tüpe (50 mL) yaklaşık 10 g tartılan bal örneği analize hazırlanmak üzere 24 saat süreyle oda sıcaklığında %99'luk metanol ilave edilerek (30mL) çalkalanmış (Heidolph Promax 2020, Schwabach, Germany), adi süzgeç kağıdından, süzülüş ve

+4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Ekstrakt iki kısma ayrılmıştır. 10 mL'lik ilk kısmı antioksidan analizler için ayrılmıştır. İkinci kısım ise HPLC'de fenolik bileşen analizi için sıvı-sıvı ekstraksiyon prosedürüne göre hazırlanmıştır (Can vd., 2015). Toplam fenolik madde miktarı Folin yöntemine göre tayin edilmiştir (Singleton ve Rossi., 1965; Singleton vd., 1999). Yöntem çözeltide bulunan tüm fenolik yapıları içine alan fenolik asitleri, flavonoidleri ve antosiyaninler, tanenler vs. toplam miktarını göstermektedir. Reaksiyon sonucu oluşan mavi rengin şiddetinden yararlanılarak 760 nm'de okuma yapılmış ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri cinsinden mg GAE/100g olarak ifade edilmiştir.

### Toplam Flavanoid Tayini

Toplam flavonoid madde miktarı tayini Fukumoto ve Mazza (2000)'ya göre yapılmıştır. Standart olarak farklı konsantrasyonlarda kuersetin (KE) standardı kullanılmış ve toplam flavonoid miktarı kuersetin eşdeğeri cinsinden mg KE/g bal olarak ifade edilmiştir.

### Kondanse Tanen Miktarını Belirleme

Kondanse tanen miktarı tayini Julkunen-Tiitto (1985)'nin belirttiği metoda göre yapılmıştır. Standart olarak kateşinin (0.05-1 mg/mL) kullanılmıştır. 25 µL bal ekstresi, 750 µL metanol içerisinde hazırlanmış % 4 vanilin ve 375 µL konsantre HCl ile karıştırılmıştır. Çözelti, karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika süreyle inkübe edilmiş ve 500 nm'de Spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar, 100 gram numune için mg Kateşin Eşdeğeri (CE) olarak ifade edilmiştir.

### Demir (III) İndirgeme Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

Bu yöntem (Fe(III)-TPTZ-2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazin) kompleksinde yer alan Fe(III) iyonunun antioksidan bir madde varlığında indirgenmesi esasına dayanmaktadır (Benzie ve Strain, 1996). Standart olarak FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O'nun değişen

konsantrasyonları (31.25 ile 1000 µM arasında) kullanılmıştır. 593 nm'de okuma yapılarak mavi rengin şiddeti ölçülmüştür. Sonuçlar µM FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O eşdeğeri antioksidan güç olarak ifade edilmiştir.

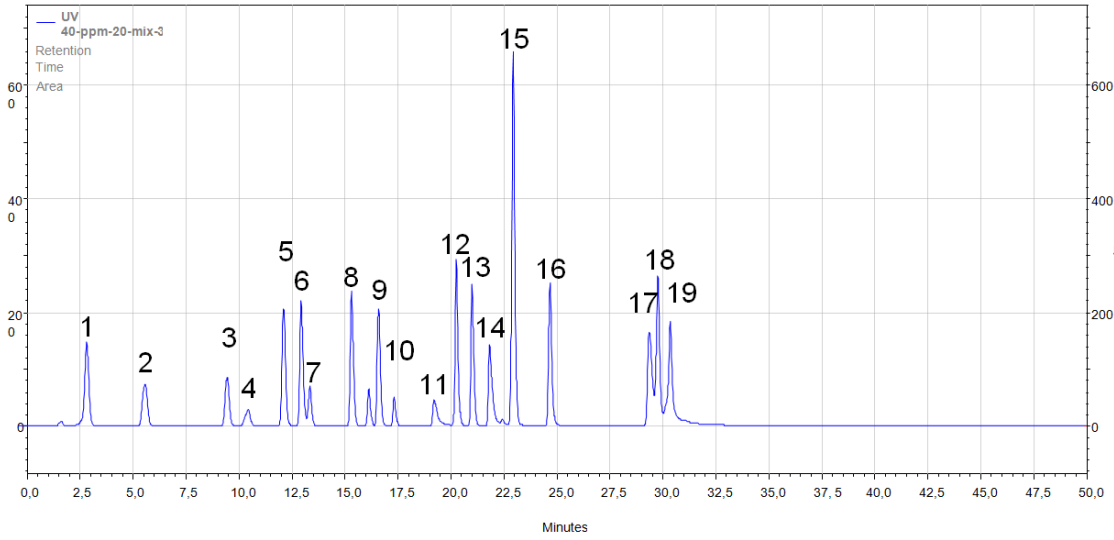
### DPPH Radikalini Temizleme Aktivitesi Tayini

Yöntemin esası DPPH içeren çözelti ile hidrojen atomu verme eğilimi olan bir molekülün (antioksidan) çözeltisinin karıştırılması sonucu DPPH radikalının indirgenmesine ve çözeltinin başlangıçta mor olan renginin kaybolmasına dayanır. Mor renkli çözeltinin 517 nm civarındaki absorbanasının azalması ölçülerek reaksiyon takip edilir. Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin %50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC<sub>50</sub> (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir (Brand-Williams vd., 1995).

### RP-HPLC-UV ile Fenolik Bileşenlerin Analizi

Karaçalı ballarının fenolik kompozisyonları 19 adet standarta göre yapılmıştır. Standartlara ait kromatogram Şekli 1'de verilmiştir. On dokuz fenolik standardın (Kateşin, Epikateşin, Rutin, Daidzein, Mirisetin, Luteolin, Hesperetin, Krisin, Pinosembriin, Protokatekuik asit, Şiringik asit, Gallik asit, p-OH Benzoik asit, Kafeik asit, Ferulik asit, p-Kumarik asit, t-Sinnamik asit, Kafeik asit fenetilester, Resveratrol) kullanıldığı bu çalışmada analizler HPLC (Elite LaChrom Hitachi, Japan)'de UV dedektör ile yapılmıştır. Analizler ters faz C18 kolonu (150 mm x 4.6 mm, 5 µm; Fortis) kullanılarak ve asetonitril, su ve asetik asitle gradient program uygulanarak gerçekleştirilmiştir (De Villers vd., 2004). A rezervuarında %2 asetik asit (saf suda) ve B rezervuarında %70-30 asetonitril-saf su bulunan gradient program uygulanmıştır. Ayrıca numune ve standartların enjeksiyon hacmi 25 µL'ye, mobil faz akış hızı 0,75 mL.dk<sup>-1</sup>'ya ve kolon sıcaklığı kolon fırınında 30°C'ye ayarlanarak çalışma optimizasyonu sağlanmıştır (Can vd., 2015). Tüm fenolik bileşenler için kalibrasyon değerleri 0.998 ile 0.999 arasındadır.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE



**Şekil 1.** Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) balının fenolik bileşen kromatogramları

**Figure 1.** Phenolic component chromatograms of Jerusalem thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) honey

1. Gallik asit, 2. Protokatekik asit 3. p-OH Benzoik asit, 4. Kateşin, 5. Kafeik asit, 6. Şiringik asit, 7. Epikateşin, 8. p-Kumarik asit, 9. Ferulik asit, 10. Rutin, 11. Mirisetin, 12. Resveratrol, 13. Daidzein, 14. Luteolin, 15. t-Sinnamik asit, 16. Hesperetin, 17. Krisin, 18. Pinosembrin, 19. CAPE.

### Antimikrobiyal Analiz

#### Besi yerleri

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kullanılacak olan disk difüzyon ve ağar dilüsyon yönteminde; bakteriler için Muller Hinton Agar, funguslar (mantarlar) için Sabouraud Dextrose Agar besiyerleri mikroorganizmaların üremesini sağlamak için Muller Hinton Broth ve Sabouraud Dextrose Broth besiyerleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmada polifenol değeri en yüksek ve en düşük karaçalı balının ve orta değere sahip 3 adet balın antimikrobiyal etkisi 10 adet mikroorganizmaya karşı incelenmiştir

#### Mikroorganizmalar

Antibakteriyel etki belirlemede kullanılan mikroorganizmalar; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Gram (-), *Proteus vulgaris* ATCC 7829 Gram(-), *Escherichia coli* ATCC 25922 Gram(-), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 Gram(-), *Listeria monocytogenes* ATCC 7677 Gram(+), *Clostridium perfringens* ATCC 313124 Gram (-), *Salmonella enteric* ATCC 14028, Gram (-), *Bacillus subtilis* B209, Gram (+), *Streptococcus mutans* RSHE 676, Gram(+), *Micrococcus luteus* B1018, Gram(+), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Gram (+), *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 Gram(-),

*Bacillus cereus* ATCC 10876 Gram (+), *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 9642.

#### Disk difüzyon deneyi

Antimikrobiyal aktivite yöntemi Ronald'a göre yapılmıştır (Ronald, 1990). Her bir petri kabına bakteriler için Mueller Hinton Agar (MHA) ortamı (Merck, 40 mL) ve mantarlar ile mayalar için Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ortamı (Oxoid, 40 mL) dökülmüştür. Tüm bakteri suşları MHB'de 24 saat 37° C'de ve maya ile mantar suşları Sabouraud Dextrose Broth (SDB)'de (Difco) 27°C'de 48 saat boyunca büyütülmüştür. Gece kültürleri, sıvı besiyeri ile seyreltilmiş ve son bakteri ile maya/mantar hücre konsantrasyonları, sırasıyla 600 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek  $1 \times 10^8$  ve  $1 \times 10^7$  hücrelere/mL'ye ayarlanmıştır. Her seyreltilmiş nümunedan (1:3) bal/alkol 25 µL, petri kaplarına agar üzerine aktarılmış ve yayılmıştır. Mantarlar ile mayalar için Nystatin ve bakteriler için Ampicillin ile Cephazolin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak alkol ve hegzan kullanılmıştır. Antibakteriyel ve antifungal aktiviteler için, 37°C'de ve 28°C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra ortamda oluşan inhibisyon zonları, sırasıyla milimetre (mm) olarak

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

ölçülmüştür. Tüm testler üç kopya halinde yapılmıştır.

### BULGULAR

#### Palinolojik bulgular

Çalışmada kullanılan 18 adet bal örneğine ait palinolojik değerlendirmeler sonucunda balların %69.5 ile %96 arasında monofloral özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. Kestane, ökaliptus, ıhlamur, kekik, lavanta gibi ballar hariç diğer çiçek ballarında bir balın monofloral niteliğe sahip olması için minimum %45 ve üzerinde major polen içermesi gerekmektedir (Sorkun, 2008). Çalışmada kullanılan ballara ait bitkilerin sekonder polenleri Rosaceae (%7.48), Asteraceae (%6.9) ve *Salix* spp. (%6.4) olarak belirlenmiştir. Minor polenlerinin familyalar ise şöyle sıralanmaktadır; *Trifolium* spp., Apiaceae, Poaceae, *Echium* spp., Rosaceae, *Sanguisorba* spp., Asteraceae, Cistaceae, Brassicaceae, *Salix* spp., Fabaceae ve Chenopodiaceae.

#### Fizikokimyasal bulgular

Karaçalı bal örneklerinin fiziko-kimyasal özellikleri olarak ölçülen nem, pH, iletkenlik, renk, optik rotasyon, şeker oranları, prolin analizleri sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir. Balların nem değerleri %12 ile %16 arasında bulunurken, optik rotasyon değerleri negatif bulunmuştur. Bir bal örneği hariç diğer tüm balların Hunter renk parametresinin açıklık koyuluk değerini gösteren L değerleri oldukça düşük 35.45 olarak bulunmuştur. Bu değer karaçalı ballarının açık renkli çiçek balları niteliğinde olduğunu göstermektedir. Balların prolin değerleri bir bal örneğinde 310 mg/kg bulunurken, diğer tüm ballarda 600 mg/kg 'ın üzerinde bulunmuş ve ortalama değer 720 mg/kg olarak bulunurken standart sapma çok yüksek bulunmuştur Ortalamayı sapan değer çıkarıldığında ise ortalama değer 807,57±213,50 mg/kg olarak prolin değeri bulunmuştur Balların şeker profili olarak sadece 3 şeker türü HPLC-RID ile tespit edilmiştir. Fruktoz değeri min %30 ve max %38 bulunurken, glukoz değeri, %23 ile %30 arasında bulunmuştur. Sukroz yani çay şekeri ise bazı ballarda tayin değerlerinin altında çıkarken bazı ballarda ise % 1'in altında tespit edilmiştir. F/G oranları ise 1.18 ile 1.46 arasında tespit edilmiştir.

**Tablo 1.** Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill) balının fizikokimyasal özellikleri

**Table1.** Physicochemical properties of Jerusalem thorn (*Paliurus spina-christi* Mill) honey

|                                    | Minumum | Maksimum | Ortalama      |
|------------------------------------|---------|----------|---------------|
| %Nem                               | 12.00   | 16.00    | 14.75±1.89    |
| pH                                 | 4.21    | 6.27     | 5.11±0.75     |
| İletkenlik (mS/cm)                 | 0.26    | 1.25     | 0.53±0.27     |
| Renk (L,ab)*                       |         |          |               |
| L                                  | 17.91   | 62.38    | 35.45±11.58   |
| a                                  | 14.93   | 39.20    | 27.63±8.80    |
| b                                  | 24.07   | 92.02    | 58.19±16.54   |
| Optik Rotasyon[α] <sub>20 °C</sub> | -1.50   | -3.45    | -2.24         |
| Prolin (mg/kg)                     | 310.50  | 995.24   | 720.15±240.60 |
| Şeker profili                      |         |          |               |
| %Fruktoz                           | 30.32   | 38.70    | 34.69±2.60    |
| %Glukoz                            | 23.17   | 30.50    | 26.68±2.29    |
| %Sukroz                            | 0.00    | 1.05     | 0.14±0.30     |
| F/G                                | 1.18    | 1.46     | 1.30±0.08     |

#### Toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite

Balların toplam fenolik madde miktarları gallik asit cinsinden spektrofotometrik olarak hesaplanmış ve minimum 32 mg gallik asit/100 g ile maksimum 85.35 mg gallik/100 g arasında bulunmuştur. Toplam

flavonoid madde miktarları ise 0.50 ile 2.24 mg KE /100 g arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Kondanse tanen madde miktarının ise tayin sınırlarının altında olduğu ve tespit edilemediği Tablo 2 de bildirilmektedir. Balların toplam antioksidan kapasiteleri ise demir (III) indirgeme

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

kapasitesi testi ile tayin edilmiştir Elde edilen veriler Tablo 2'de özetlenmiş ve 560 ile 1800  $\mu\text{molFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$  arasında değişen antioksidan kapasiteye sahip oldukları görülmektedir. Balların antioksidan değerleri serbest radikal temizleme

kapasitesi testine göre DPPH ile ölçülmüş ve radikalın %50'sini temizleyen bal miktarlarının 13.49 mg/mL ile 18 mg/mL arasında değiştiği bulunmuştur. Burada düşük  $\text{SC}_{50}$  değeri yüksek radikal temizleme yeteneğini yansıtmaktadır.

**Tablo 2.** Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) balının fenolik içerik ve antioksidan kapasitesi

**Table 2.** Phenolic content and antioxidant capacity of the Jerusalem thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) honey

|                      | Minumum  | Maksimum | Ortalama |                |
|----------------------|--|----------|----------|----------------|
| Polifenolik içerik   | Toplam Polifenol (mg GAE/100 g)                            | 32.53    | 85.34    | 53.12±19.52    |
|                      | Toplam Flavanoid (mgKE/100g sample)                        | 0.50     | 2.40     | 1.20±0.86      |
|                      | KondanseTanen (mg tannik asid/100 g)                       | TE       | TE       | TE             |
| Antioksidan kapasite | FRAP ( $\mu\text{molFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ ) | 560.00   | 1841.00  | 1014.91±470.99 |
|                      | DPPH $\text{SC}_{50}$ (mg/mL)                              | 13.49    | 18.86    | 16.06±2.60     |

**Tablo 3.** Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) ballarının fenolik profili

**Table 3.** Phenolic compounds of Jerusalem thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) honey

| Standartlar                     | Minimum değer ( $\mu\text{g fenolik/100g}$ ) | Maksimum değer ( $\mu\text{g fenolik/100g}$ ) | Ortalama      |
|---------------------------------|--|---|---------------|
| <b>Kateşinler</b>               |  |   |               |
| (+)-Kateşin                     | TE   | TE  | TE            |
| (-)-Epikateşin                  | TE   | TE  | TE            |
| <b>Flavonoller</b>              |  |   |               |
| Rutin                           | TE   | 2.98  | 1.61±1.45     |
| Mirisetin                       | TE   | TE  | TE            |
| <b>İzoflavonlar</b>             |  |   |               |
| Daidzein                        | TE   | TE  | TE            |
| <b>Flavonlar</b>                |  |   |               |
| Luteolin                        | TE   | 2.98  | 1.61±1.45     |
| <b>Flavanonlar</b>              |  |   |               |
| Hesperetin                      | TE   | TE  | TE            |
| Krisin                          | 2.40   | 209.60  | 111.23±113.86 |
| Pinosembrin                     | 5.50   | 630.80  | 249.15±307.36 |
| <b>Hidroksi benzoik asitler</b> |  |   |               |
| Protokatekuik asit              | 16.30  | 213.00  | 74.34±89.72   |
| Şiringik asit                   | TE   | TE  | TE            |
| Gallik asit                     | TE   | TE  | TE            |
| p-OH Benzoik asit               | 0.00   | 177.80  | 97.64±80.84   |
| <b>Hidroksi sinamik asitler</b> |  |   |               |
| Kaffeik asit                    | 22.10  | 305.60  | 170.84±107.25 |
| Ferulik asit                    | 0.00   | 89.00   | 49.02±41.66   |
| p-Kumarik asit                  | 8.70   | 79.00   | 55.22±27.88   |
| t-Sinamik asit                  | TE   | TE  | TE            |
| CAPE                            | 3.88   | 108.20  | 48.68±56.90   |
| Resveratrol                     | TE   | TE  | TE            |

TE: Tespit edilemedi.

### Fenolik Kompozisyon

Fenolik bileşikler yapılarına göre alt sınıflara ayrılmış ve ölçülen kalitatif ve kantitatif değerler minimum, maksimum ve ortalama olarak verilmiştir (Tablo 3) Buna göre ballarda kateşin sınıfına ait fenolik bileşikler, mrisetin, daidzein, hesperetin şiringik asit, gallik asit t-sinamik asit ve resveratrol tespit edilememiştir. Flavanollerden ise en fazla rutin ve luteolin 2,98 µg/100g, bulunurken, krisin 209,60µg/100g olarak bulunmuştur Pinosembriin tüm fenolikler içinde en fazla bulunan flavanon bileşik olarak 630.80 µg/100g tespit edilmiştir Hidroksi benzoik asitlerden en fazla protokatekuik asit 213,00 µg/100g, p-OH benzoik asit 177,80 µg/100g olarak bulunmuştur. Hidroksi sinamik

asitlerden en fazla oranda kafeik asit, ferulik asit, ve p-kumarik asit sırasıyla (305 µg/100g, 89.00ve 79.00 µg/100g) bulunurken CAPE ise 108.20 µg/100g olarak tespit edilmiştir.

### Antimikrobiyal aktivite

Çalışmada 10 farklı ve patojenik mikroorganizma kullanılarak yapılan disk difüzyon metoduna göre antimikrobiyal aktivite değerleri Tablo 4 de özetlenmiştir. Farklı polifenolik madde miktarları seçilen 3 adet karaçalı ve iki adet manuka balının yapılan 3 paralel test ile bulunan zon büyüklükleri hemen hemen yakın oldukları tespit edilmiştir.

**Tablo 4.** Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) ballarının antimikrobiyal aktiviteler (mm çap büyüklükleri)

**Table 4.** Antimicrobial activities of Jerusalem thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) honey (mm diameter sizes)

| Örnek          | Kç.Bal 1   | Kç.Bal 2   | Kç.Bal 3   | Manuka (UMF10+) | Manuka (UMF20+) | Ampicillin | Cephazolin | Nystatin   |
|----------------|------------|------------|------------|-----------------|-----------------|------------|------------|------------|
| <b>S. a.</b>   | 17.10±0.96 | 14.80±0.67 | 15.80±0.32 | 18.8±0.37       | 19.0±0.46       | 10.00±0.33 | 7.00±0.45  | -          |
| <b>B. c.</b>   | 20.00±0.66 | 19.10±1,00 | 18.30±0.61 | 19.8±0.62       | 10.3±0.16       | 26.50±0.35 | 27.90±0.67 | -          |
| <b>K.p.</b>    | 16.50±0.35 | 17.60±0.26 | 15.80±0.22 | 15.6±0.23       | 19.8±0.54       | 15.30±0.23 | 16.20±0.76 | -          |
| <b>E.coli</b>  | 15.10±0.55 | 16.30±0.51 | 14.50±0.05 | 16.9±0.08       | 14.5±0.44       | 19.80±0.23 | 18.80±0.56 | -          |
| <b>C.fre.</b>  | 17.80±1.33 | 15.60±1.06 | 14.70±0.46 | 14.7±0.48       | 15.5±0.06       | 16.30±0.43 | 16.20±0.46 | -          |
| <b>B.sub.</b>  | 16.50±1.37 | 17.60±0.34 | 17.60±0.16 | 16.6±0.14       | 15.4±0.75       | 30.5±0.45  | 33.6±0.67  | -          |
| <b>E. fea.</b> | 18.10±0.83 | 17.50±0.33 | 17.50±0.65 | 18.5±0.65       | 18.3±0.55       | 34.00±0.58 | 28.20±0.44 | -          |
| <b>C. alb.</b> | 21.10±0.32 | 19.20±0.36 | 19.30±0.37 | 18.2±0.35       | 18.4±0.28       | -          | -          | 17.30±0.32 |
| <b>A.niger</b> | 19.50±0.71 | 18.50±0.74 | 19.60±0.68 | 19.6±0.60       | 18.5±0.84       | -          | -          | 17.70±0.55 |
| <b>P.a.</b>    | 17.80±0.29 | 15.70±0.35 | 16.70±0.95 | 17.7±0.94       | 14.4±0.55       | 28.60±0.23 | 27.90±0.57 | -          |

Kç.Bal1 (Karaçalı balı 1); Kç Bal 2 (Karaçalı balı 2); Kç.Bal3 (Karaçalı bal3); Manuka balı (UMF10+, UMF20+); Ampicillin, Cephazolin ve Nystatin (25µl/20mg/mL); (S.a.):*Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); (B.c.): *Bacillus cereus* (ATCC 11778) (K.p.): *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), (*E.coli*): *Escherichia coli* (ATCC 25922); (C.fre.): *Citrobacter freundii* (ATCC 43864); (B.sub.): *Bacillus subtilis* (B209); (E.fea.): *Enterococcus faecalis* (ATCC 29121); (C.alb.): *Candida albicans* (ATCC 10231); (A.nig.): *Aspergillus niger* (ATCC 9642); (P.a.): *Pseudomonas aeruginosa* (NRRL B-2679). (-): Test edilmedi.

### TARTIŞMA

Balların polen analizi bala kaynak olan nektarlı bitkilerin kökeni, coğrafik orijini ve balın kalitesi hakkında bilgi verir. Yaptığımız çalışmada ilk olarak güvenilir üreticilerden temin edilen ve karaçalı balı olarak üretilen çiçek ballarının polen analizi yapılmıştır. Çalışılan tüm ballarda dominant polenin oranı en düşük %69.5, en yüksek %96 olarak *Paliurus spina-christi* Mill. polenine ait olduğu tespit edilmiştir. Ballarda bulunun ortak sekonder polenler ise bölge florasına uyumlu olarak Rosaceae (%7.48), Asteraceae (%6.9) ve *Salix* spp. (%6.4) olarak belirlenmiştir.

Karaçalı ballarının fizikokimyasal özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Ortalama nem miktarı, %14.75, pH 5.11 ve iletkenlik değeri 0.53 mS/cm olarak bulunmuştur. Ballarda nem değerinin düşük olması balın fermentasyon ihtimalini azaltmakta ve raf ömrünün uygun olduğunu göstermektedir. Nem değeri düşük olması balların asit özelliği ile ilişkilendirilmektedir. Elektriksel iletkenlik, çiçek balı ile salgı balı arasındaki farklılığı belirlemede kullanılan parametreler arasındadır. Elektriksel iletkenlik balın organik asitler, proteinler, şekerler, ve mineral içeriğine bağlıdır (Machado De-Melo vd.,2018). Daniela vd., (2008) karaçalı balında



## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

yaptıkları araştırmada nem miktarını %16.6, pH'sını 4.80, iletkenlik değerini 0,68 olarak tespit etmişlerdir. Akdeniz vd., (2013) Edirne iline ait karaçalı bal analizinde nem miktarı %16.26, pH 5.88, iletkenlik 0.78 olarak belirtmişlerdir.

Balların en önemli fiziksel karakteristiklerinden biri renkleridir. Balın rengi nektar kaynağı ve polen içeriği ile bunlardan kaynaklanan çeşitli renk pigmentleri (antosiyantinler, fenolik asitler, proantosiyanidinler ve flavonoidler) ve minerallerden ileri gelir (Gonzales vd., 1999). Karaçalı balının L değeri  $35.45 \pm 11.58$  olarak a değeri  $27.63 \pm 8.80$ , b değeri ise  $58.19 \pm 16.54$  bulunmuştur. Bu değerler açık renkli ballar sınıfında yer alan akasya, orman gülü, lavanta ballarının değerleri ile uyumludur (Can vd. 2015).

Bir balın çiçek veya salgı balı olup olmadığını en iyi gösteren parametrelerden bir optik rotasyon değeridir. Pozitif optik rotasyon değeri salgı ballarını, negatif optik rotasyon değeri ise çiçek ballarını göstermektedir (Çakır vd.,2017). Karaçalı balının optik çevirme açısı  $-2.24$  olarak tespit edilirken balın çiçek balı yani nektar balı olduğunu ispatlamaktadır.

Bal bileşimi itibarıyla iyi bir karbonhidrat kaynağıdır. Ancak balda çok düşük miktarda %1 'in altında amino asitler, kısa peptitler ve enzimler yer almaktadır. Ballarda maksimum oranda bulunan aminoasit ise prolidir. Prolin ise proteini oluşturan 20 aminoasitten balın saflık derecesini, kalitesini gösteren en önemli aminoasittir. Baldaki prolin seviyesi bal taşıdığı için önemli bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Türk Gıda Kodeksi'nde daha önce alt sınırı 180 mg olan prolin değeri, 2012 yılında 300 mg'a çıkarılmıştır (Alimentarius, 2001). Bizim çalışmamızda Karaçalı balında ise prolin değeri minimum 310.50mg/kg maksimum 995.24mg/kg arasında bulunmuştur.

Bal kuru ağırlığının yaklaşık %95 oranında karbonhidrat içerir. Bala tadını veren en bol bulunan şekerler fruktoz olup, fruktoz ve glukoz major monosakkaritleridir. Balda bu iki monosakkarit dışında en az 20-25 adet mono-, di-, tri-, oligo ve polisakkaritler olarak tespit edilen şekerler mevcuttur. Ancak bu şekerlerin hem tespit edilmesi zordur ve hem de kodekste yeri şimdilik mevcut değildir (Kolaylı vd., 2012). Bütün bal çeşitlerinde fruktoz miktarı glukozla oranla daha fazladır. Sakkaroz (sukroz) şekeri çiçek nektarlarında fazla miktarda bulunmayan bir şeker olup, balda bulunan invertaz enzimi etkisi ile fruktoz ve glikoza dönüşmektedir. Bala dışarıdan çok büyük çay şekeri

taşıdığı olursa sukroz miktarı artar. Kodekste kabul edilen değer %5'in altında olup, bu çalışmada tüm ballarda %1'in altında tespit edilmiştir Balda F/G oranı 1'e yaklaştıkça balın kristalizasyonu artar, uzaklaştıkça ise azalır. Örneğin kestane ballarına bu oran daima 1.5'dan büyüktür ve kestane balı kolay kristalize olmaz (Yıldız vd.,2016). Yapılan bir çalışmada karaçalı balında glukoz değerleri %33.8 ve fruktoz değeri %38.1 ve sukroz ise %2.2, F/G oranı 1.5 olarak tespit edilmiştir (Daniela vd., 2008). Yapılan bu çalışmada ise ortalama glikoz değerleri  $34.69 \pm 2.60$  g/100 g, fruktoz  $26.68 \pm 2.29$  g/100 g ve sukroz ise  $0.14 \pm 0.30$  g/100 g olarak tespit edilmiştir. F/G oranı ise %1.30'dur. Bu oran Türk Gıda Kodeksi'nde çiçek balları için önerilen %0,9-1.4 standartlarının içindedir (Akdeniz vd., 2013). Monofloral bir bal olan karahindiba balında yapılan bir çalışmada benzer olarak glikoz %35.21, Fruktoz % 46.02 ve F/G oranı 1.3 olarak tespit edilmiştir (Özenirler vd., 2018).

Balın gerçek kalitesi ve elbette biyolojik aktif değeri, onun içerdiği şekerlerden ziyade yapısında bulunan ve çeşitli sekonder metabolitlerden ileri gelmektedir. Balda sekonder metabolit olarak en fazla buluna biyoaktif bileşenlerin başında polifenoller gelmektedir. Balda buluna polifenollerin miktarı ile balın rengi arasında ve antioksidan kapasitesi arasında sıkı bir ilişki vardır (Al-Mamary vd.,2002). Toplam polifenolik (TP) madde miktarı ile toplam flavonoid madde miktarları balın antioksidan kapasitesi için bir indikatördür (Kolaylı vd., 2016; Saral vd., 2016). Tablo 2'de çalışılan karaçalı ballarına ait toplam polifenol madde miktarları ve antioksidan kapasiteleri gösterilmiştir. Fenolik maddelerin konsantrasyonu ve türü, balın çiçek kökenine bağlıdır ve temel olarak biyolojik aktivitelerinden sorumludur (Moniruzzaman vd., 2014). Karaçalı balında TP miktarı en düşük 32.53 mg GAE/100 g en yüksek 85.34 mg GAE/100 g arasında tespit edilmiştir. Türkiye ballarına ait yapılan bir çalışmada ise bazı monofloral balların toplam polifenol miktarını, kestane (52.4–105.0 mg GAE/100 g), çam (58.6–74.6 mg GAE/100 g), geven (42.0–75.1 mgGAE/100g), ve akasya (9.80–12.20mg GAE/100 g) olduğu belirtilmiş (Kaygusuz vd. 2016). Karaçalı ballarının akasya ve geven ballarından daha yüksek polifenol içerdiği görülmektedir.

Flavonoidler ise polifenollerin bir alt sınıfını oluşturan oldukça geniş bir polifenol sınıfı olup renk ve aroma ile antioksidan, antiinflamatuvar potansiyelinden sorumlu bileşiklerdir. Çalışmamızda karaçalı

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

ballarının toplam flavonoid miktarlarının 0.50-2.40 mgKE/g arasında değiştiğini tespit ettik. Monofloral özellikte 10 adet İran balında yapılan bir araştırmada toplam flavonoid miktarlarını 1.7 ile 4.5 mgKE/100 g olarak belirlemişlerdir. Bu bileşiklerin konsantrasyonu, balın çiçek orijinine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Khalafi vd.,2016). Kestane ve meşe ballarında bu değer daha yüksek olduğu belirtilmiştir (SaraI vd., 2016).

Kondanse tanenler proantosiyandinler olarakta isimlendirilir. Kondanse tanenlerin ana bileşenleri kateşinler (flavan-3-oller) ve lökoantosiyandinler (flavan-3,4-dioller)'dir. Flavonoid grubuna dahil olan bu bileşikler bitkilerde, özellikle ağaç kabuklarında oldukça geniş yayılış göstermektedir (Mayworm vd., 2014). Besin tanenleri genellikle kateşin ve epikateşinin polimerleridir (Çakır vd., 2017). Yapılan bu çalışmada karaçalı balında kondanse tanen miktarı tespit edilememiştir. Tanenler daha çok ağaçlarda bulunun polifenollerinin polimerleri olup, orman ballarında yüksek bulunur (Kolayli vd., 2016). Bunun nedeni tanenlerin ağaçların kabuklarından bala nüfuz etmesi ve çiçek ballarından daha çok orman ballarında tespit edilmesidir.

Canlı organizmalarda oksidasyonu önleyen ya da oluşmuş oksidasyonu azaltan veya tamamen yok eden moleküller antioksidanlar olarak bilinir. İçerdiği sekonder metabolitler nedeniyle, bal iyi bir antioksidan kaynağıdır. Balın antioksidan kapasitesi ise bitki türlerine bağlı olarak değişir (Can vd., 2015). Bu çalışmada balların antioksidan kapasiteleri FRAP ve DPPH radikal temizleyici aktivite testleri yapılarak belirlenmiştir. Karaçalı ballarında ortalama FRAP değeri  $1014.91 \pm 470.99 \mu\text{molFeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O/g}$ , DPPH radikalini temizleme aktivitesi  $16.06 \pm 2.60 \text{ mg/mL}$  olarak belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada 10 çeşit monofloral balda antioksidan kapasiteyi ortalama  $27.30 \pm 231.87 \mu\text{M Fe(II)/100g}$  ve DPPH ise  $36.95 \pm 20.53$  bulmuştur (Moniruzzaman vd., 2014). Bu sonuçlara göre karaçalı balı diğer monofloral ballara göre çok daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir.

Karaçalı balının fenolik profili on dokuz adet fenolik standart, kullanılarak RP-HPLC-UV ile analiz edilmiştir (Tablo 3). Bu sonuçlara göre karaçalı balında kateşin, epikateşin, mirisetin, daidzein, hesperetin, şiringik asit, gallik asit t-sinnamik asit ve resveratrol tespit edilememiştir. Major seviyede pinosembrin ( $249.15 \pm 307.36 \mu\text{g/100g}$ ), kafeik asit ( $170.84 \pm 107.25 \mu\text{g/100g}$ ) ve krisin ( $111.23 \pm 113.86 \mu\text{g/100g}$ ) olduğu tespit edilirken, p-OH benzoik asit

( $97.64 \pm 80.84 \mu\text{g/100g}$ ), p-kumarik asit ( $55.22 \pm 27.88 \mu\text{g/100g}$ ), ferulik asit ( $49.02 \pm 41.66 \mu\text{g/100g}$ ), CAPE ( $48.68 \pm 56.90 \mu\text{g/100g}$ ) ve rutin ile lutein ( $1.61 \pm 1.45 \mu\text{g/100g}$ ) fenolikleri tespit edilmiştir. Pinosembrin karaçalı balının marker bileşeni olabilir ve bu antimikrobiyal, antienflamatuar, antioksidan, antifungal ve antikanser aktiviteleri de dahil olmak üzere farmakolojik aktiviteleri araştırılmış önemli bir flavonoid molekülüdür. Serebral iskemi, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve aterosklerozun yanı sıra diğer klinik durumların tedavisi için bir ilaç potansiyeline sahiptir. Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde ve iyileştirilmesinde önemli bir rol oynar (Nyokat vd., 2017). Kafeik asit, hidrokisamik bir asit türevi polifenoldür. Serbest radikallerin neden olduğu DNA hasarını önleyerek antioksidan, antienflamatuar ve antineoplastik aktiviteler sergilerler. Son araştırmalara göre, kafeik asit, LDL oksidasyonunu inhibe edilmesinde p-kumarik ve ferulik asitlerle karşılaştırıldığında üstün bir antioksidan özellik göstermektedir (Gülçin, 2006). Balların önemli bir bileşiği olan krisinin ise kanser hücrelerinde poliferasyonu azalttığı apoptozu indükleyerek antitümör ve antioksidan etki gösterdiği belirtilmektedir (Samarghandian vd.,2011).

Çalışmada kullanılan 18 adet karaçalı balından 3 adet bal örneği seçilerek antimikrobiyal aktiviteleri çalışılmıştır. Bu üç örnek toplam polifenolik madde en yüksek olan baldan (Kç-Bal 1,2 ve 3) etanol ile 1/3 seyreltilerek antimikrobiyal aktiviteler 48 saat inkübasyondan sonra ölçülmüştür. Tablo 4 de özetlenen zon çaplarına göre her üç balın çalışılan mikroorganizmalara karşı oldukça yüksek aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Balların antimikrobiyal aktivitelerinin Manuka (UMF10+) ve Manuka (UMF20+)’a eşit veya daha yüksek aktiviteye sahip oldukları görülmektedir. Ancak polifenol içeriği yüksek olan balların bazı mikroorganizmalara karşı daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Örneğin, *Bacillus cereus* ve *Citrobacter freundii* bakterilerinde balların fenolik madde miktarları ile antibakteriyel aktiviteler arasında doğru orantı olduğu görülmüştür. Bal iyi bir antimikrobiyal ajan olup özellikle yaraların tedavisinde kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir (Matejczyk vd., 2018). Balın antimikrobiyal aktivitesi onun viskozitesinden, pH'sından ve içerdiği glukoz oksidaz kaynaklı hidrojen peroksitten ve içerdiği bir takım sekonder metabolik ajanlardan ileri gelmektedir (Molan, 1997). Bu çalışmada balın antimikrobiyal aktivitesinin daha

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

çok sekonder metabolik ajanlardan ileri geldiğini söylemek mümkündür. Çünkü bal 1/3 oranda alkol ile dilue edilerek kullanıldığı için içindeki bazı enzimler ve dolayısıyla hidrojen peroksit kaybolmuş olabilir. Sonuç olarak tüm karaçalı ballarında bulunan krisin, kafeik asit, pinosembrin ve CAPE gibi polifenolik moleküllerin antimikrobiyal olarak patojenik mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe etmiş olabilir (Matejczyk vd., 2018).

### SONUÇ

Bu çalışma ile Türkiye'nin Marmara bölgesinde sınırlı olarak üretimi yapılan karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) balının ilk kez kimyasal karakterizasyonu, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir. Karaçalı balının yüksek antioksidan ve antimikrobiyal değere sahip monofloral bir çiçek balı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmadaki veriler dikkate alındığında ise bu balda parmak izi niteliğinde bulunan fenolik bileşenler; kafeik asit, protokateşik asit, krisin, pinosembrin ve CAPE'in major seviyede tüm ballarda tespit edilmiştir. Elde edilen bilgiler balın coğrafik işaretlenmesinde ve bal kodeksinde önemli bilgiler sağlayacaktır.

### KAYNAKLAR

- Akdeniz, G., Şahin, S., Yılmaz, Ö., Karataş, Ü., Karmaz, E., Kabakçı, D., & Yaşar, N. (2013). Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Miller) ve Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Ballarının Mikroskopik Yapısı ve Biyokimyasal Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Aricılık Araştırma Dergisi*, 5(9), 22-25.
- Alimentarius C. Revised codex standard for honey. Codex Stan. 2001,12:1982.
- Al-Mamary, M., Al-Meer, A., & Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition research*, 22(9), 1041-1047.
- Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem*, 63, 549-562.
- Anonim. (2012). Türk Gıda Kodeksi, Bal Tebliği (2012/58). Bakanlık Basımevi, Ankara.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1). 70-76.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brantner, A.H., and Males, Z. (1999). Quality assessment of *Paliurus spina-christi* extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 66(2), 175-179.
- Can, Z., Yıldız, O., Şahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., & Kolaylı, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133-141.
- Carter, D. A., Blair, S. E., Cokcetin, N. N., Bouzo, D., Brooks, P., Schothauer, R., & Harry, E. J. (2016). Therapeutic manuka honey: no longer so alternative. *Frontiers in microbiology*, 7, 569.
- Çakır, H., Şirin, Y., Zehra, C. A. N., & Kolaylı, S. (2017) Doğu Karadeniz Bölgesi Salgi Balinin Karakteristik Özellikleri. *Aricılık Araştırma Dergisi*, 9(1), 24-31.
- Daniela, K., Ljiljana, P., Dragan, B., Frane, Č., and Ivan, C. (2008). Palynological And Physicochemical Characterisation Of Croatian Honeys-Christ's Thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) Honey Palinološka I Fizikalno-Kemijska Karakterizacija Hrvatskog Meda-Dračin (*Paliurus Spina Christi* Mill.) Med. *Journal Of Central European Agriculture*, 9(4), 689-696.
- De Villiers, A., Lynen, F., Crouch, A., Sandra, P. (2004). Development of a solid-phase extraction procedure for the simultaneous determination of polyphenols, organic acids and sugars in wine. *Chromatographia*, 59(7-8),403-409.
- Deligöz, A., Gültekin, H., Yıldız, D., Gültekin, Ü., Genç M. (2007). Karaçalı (*Paliurus Spina-Christi* Mill.) ve Hünnap (*ZizyphusJujuba* Mill.) Tohumlarının Çimlendirilmesi Üzerine Ga<sub>3</sub> Çitlatma ve Ekim Zamanının Etkileri. *Turkish Journal Of Forestry*, 2,51-60.
- Fukumoto, L.R., Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48, 3597-3604.
- Gonzales., A.P., Burin L., Buera, M.P. (1999). Color changes during storage of honeys in relation

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- to their composition and initial color, *Food Research International*, 32, 185-191.
- Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213-220.
- Güner, N.D. (2005). *Paliurus spina-christi* Mill. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, MSc, *Hacettepe University Institute of Medical Sciences*, Ankara.
- Julkunen-Tiitto R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J Agr Food Chem*, 33, 213-217.
- Kaygusuz, H., Tezcan, F., Erim, F. B., Yildiz, O., Sahin, H., Can, Z., & Kolaylı, S. (2016). Characterization of Anatolian honeys based on minerals, bioactive components and principal component analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 273-279.
- Kenjerić, D., Primorac, L. J., Bubalo, D., Čačić, F., Corn, I. (2008): Palynological and physicochemical characterisation of Croatian honeys-Christ's thorn (*Paliurus spina Christi* Mill.) honey. *J. Cent. Eur. Agric*, 9(4): 689-696.
- Khalafi, R., Goli, S.A.H., & Behjatian, M. (2016). Characterization and classification of several monofloral Iranian honeys based on physicochemical properties and antioxidant activity. *International journal of food properties*, 19(5), 1065-1079.
- Kolaylı, S., Boukraâ, L., Şahin, H., & Abdellah, F. (2012). Sugars in honey. *Dietary sugars: Chemistry, analysis, function and effects*, 3-15.
- Kolaylı, S., Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Alpay Karaoglu, S. (2016). A comparative study of the antihyaluronidase, antiurease, antioxidant, antimicrobial and physicochemical properties of different unifloral degrees of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honeys. *Journal of Enzyme Inhibition Medicinal Chemistry*. 31, 3, 96-104.
- Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59(4), 139-157.
- Machado De-Melo, A.A., Almeida-Muradian, L.B.D., Sancho, M.T., & Pascual-Maté, A. (2018). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5-37.
- Matejczyk, M., Świsłocka, R., Golonko, A., Lewandowski, W., & Hawrylik, E. (2018). Cytotoxic, genotoxic and antimicrobial activity of caffeic and rosmarinic acids and their lithium, sodium and potassium salts as potential anticancer compounds. *Advances in medical sciences*, 63(1), 14-21.
- Mayworm, M. A., Lima, C. A., Tomba, A. C., Fernandes-Silva, C. C., Salatino, M. L., & Salatino, A. (2014). Does propolis contain tannins? *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
- Molan, P.C. (1997). Honey as an antimicrobial agent. In *Bee Products* (pp. 27-37). Springer, Boston, MA.
- Moniruzzaman, M., Yung An, C., Rao, P. V., Hawlader, M. N. I., Azlan, S. A. B. M., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2014). Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: determination of antioxidant capacity. *BioMed research international*, 2014.
- Nyokat, N., Yen, K. H., Hamzah, A. S., Lim, I. F., & Saaidin, A. S. (2017). Isolation and synthesis of pinocembrin and pinostrobin from *Artocarpus odoratissimus*. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 21(5), 1156-1161.
- Ough C. (1960). Rapid determination of proline in grapes and wines, *Journal Food Science*, 34, 228-230.
- Özenirler, Ç. (2018). Karahindiba Balı: Türkiye Monofloral Balları İçin Yeni Bir Kayıt. *U. Arı D. / U. Bee J.*, 18(2), 87-93.
- Ronald, MA. (1990). *Microbiologia*, Companhia Editorial Continental S.A. de C.V., Mexico, D. F. p.505.
- Samarghandian, S., Afshari, J.T., Davoodi, S. (2011). Chrysin reduces proliferation and induces apoptosis in the human prostate cancer cell line pc-3. *Clinics(Sao Paulo)*. 66(6):1073-9.
- Saral Ö., Yildiz O., Aliyazicioğlu R., Yuluğ E., Canpolat S., Öztürk F., Kolaylı, S. (2016). Apitherapy Products Enhances The Recovery of CCl4-Induced Hepatic Damages In Rats, *Turkish J. Med. Sci*, 194-202.

## ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- Singleton V.L., Orthofer R. ve Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sorkun, K. (2008) Türkiye'nin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları, Palme Yayıncılık, 341.
- Şen, A. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activity of fruit, leaf and branch extracts of *Paliurus spina-christi* P. Mill. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 22(2).
- Takım, K. (2018). Effect Of Karacali Fruit Extracts On Some Blood Parameters In Diabetic Rats Induced By Streptozotocin. *Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal Of Natural Sciences*, 21(2), 148-156.
- Wodehouse, R.P. (1935). "Pollen Grains", Mc Graw, Hill N. Y., 106-109 pp.
- Yıldız, İ. (2016). Çam, Pamuk, Yayla Ve Ayçiçeği Ballarının Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 16(1), 12-19.
- Zor, M., Aydın, S., Güner, N. D., Başaran, N., & Başaran, A. A. (2017). Antigenotoxic properties of *Paliurus spina-christi* Mill fruits and their active compounds. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 229.