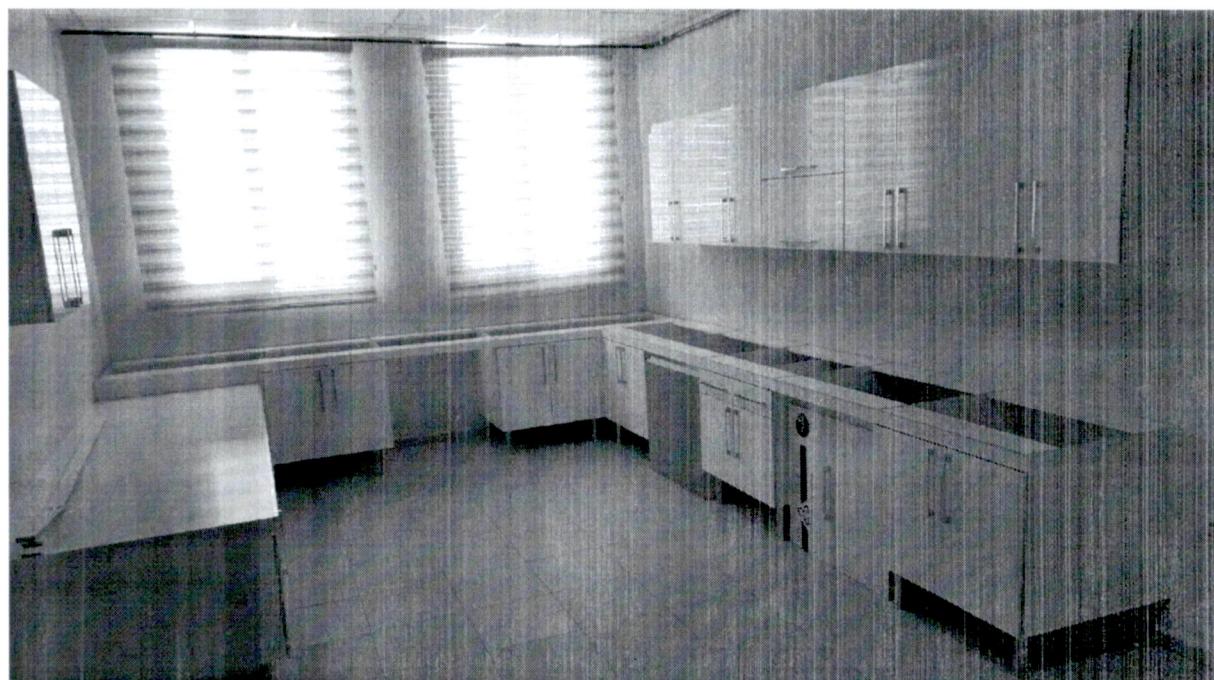


Faaliyet - 1

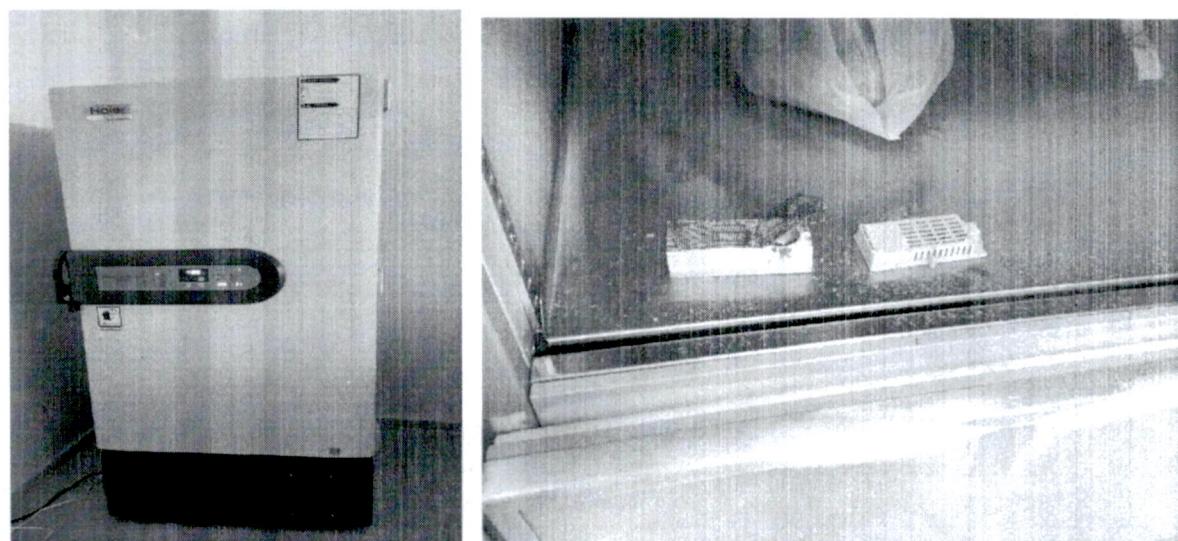
Mevcut Laboratuvar alt yapısı geliştirilerek Bal Analiz Laboratuvarının kurulması

1. Deneylerin sağlıklı bir ortamda yapılması ve alınacak cihazların konumlandırılması için gerekli tezgâhların temini ve kurulumu yapılmıştır (Şekil 1).



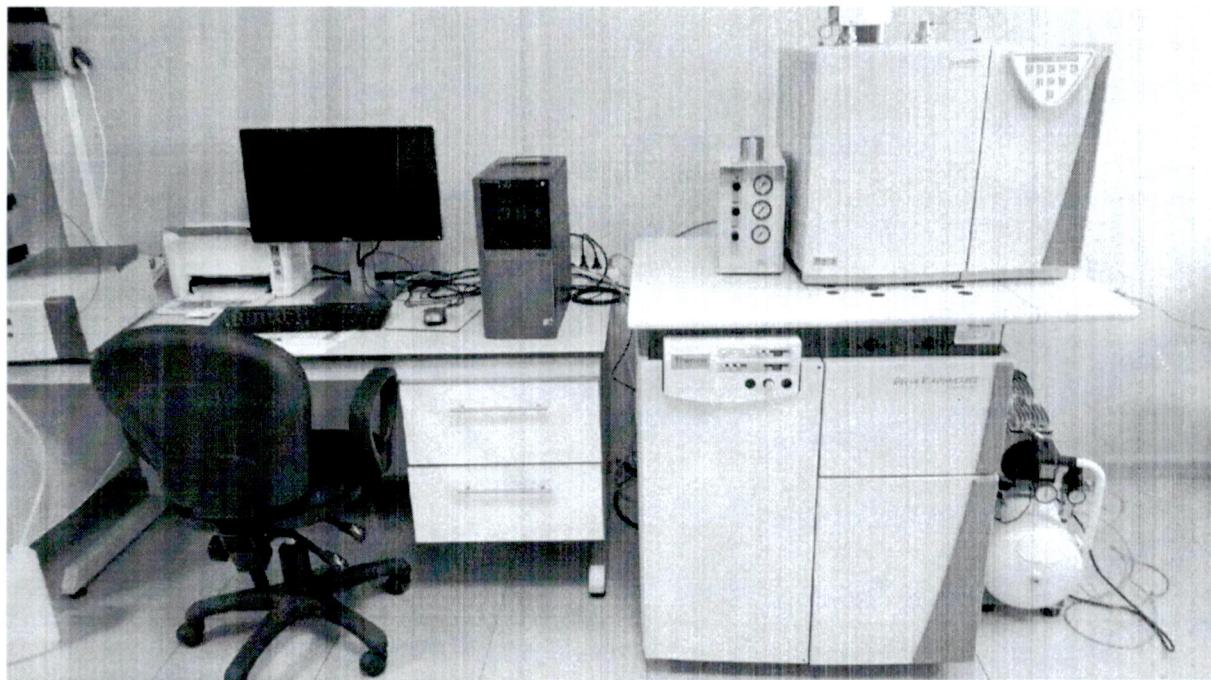
Şekil 1. İstenen ölçülerde laboratuvar tezgahları temin edilmiş ve gerekli görülen kısımlara yerleştirilmiştir

2. Moleküler analizler için toplanan hastalıklı arı numunelerinin bozulmadan uzun süre saklanması için -80°C derin dondurucu alınmıştır (Şekil 2).



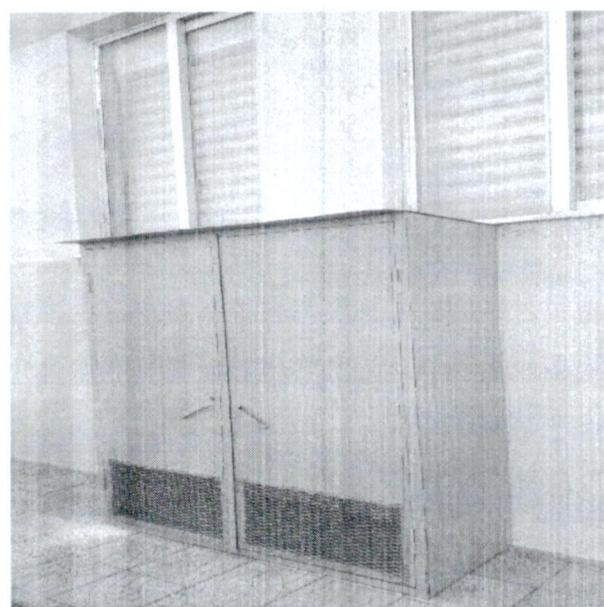
Şekil 2. DİKA desteği ile alınan -80°C derin dondurucu buz dolabı

3. C4/C3 karbon analizi ile balın doğallığının yüzdesini veren IR-MS cihazının bal analiz laboratuvarına demontajı ve montajı yapıldı (Şekil 3).



Şekil 3. IRMS cihazı uygun elektriksel bağlantıları yapılarak bal analiz laboratuvarına taşınmıştır

4. IR-MS cihazının gaz bağlantılarını hızlı ve güvenilir bir şekilde kontrol edilmesi için gaz dedektörü alınma süreci gerçekleştirildi. Cihazın gaz tüpleri güvenlik gereği laboratuvar dışında bir dolap yaptırılarak merkez dışına çıkarıldı (Şekil 4). Gazların güvenlik kontrolü alınan dedektör sayesinde yapıldı (Şekil 5).

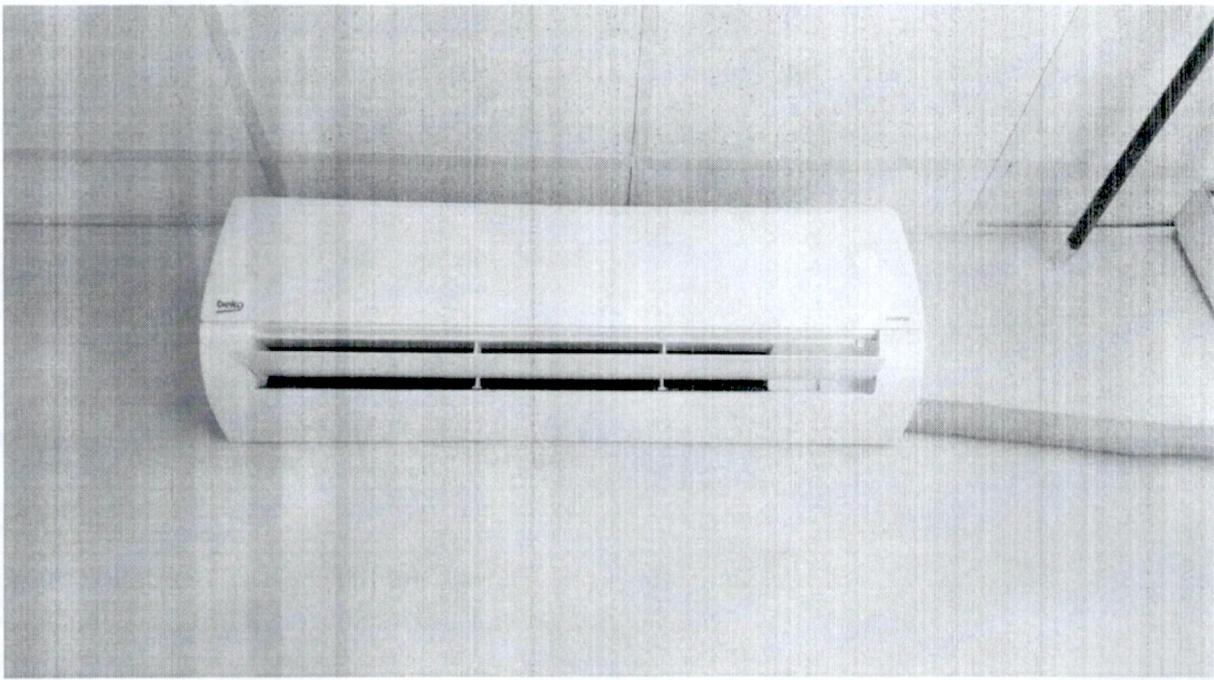


Şekil 4. IR-MS Cihazının gazlarının akreditasyon çalışmaları kapsamında dolap yapılarak dışarıya taşınması sağlanmıştır.



Şekil 5. DİKA desteği ile araştırma merkezine alınan gaz dedektörü

5. Ortam sıcaklık koşularının istenen düzeyde tutulması IR-MS cihazının dengesinin sağlanması ve -80°C buz dolabının sağlıklı çalışması için klima alınmıştır.



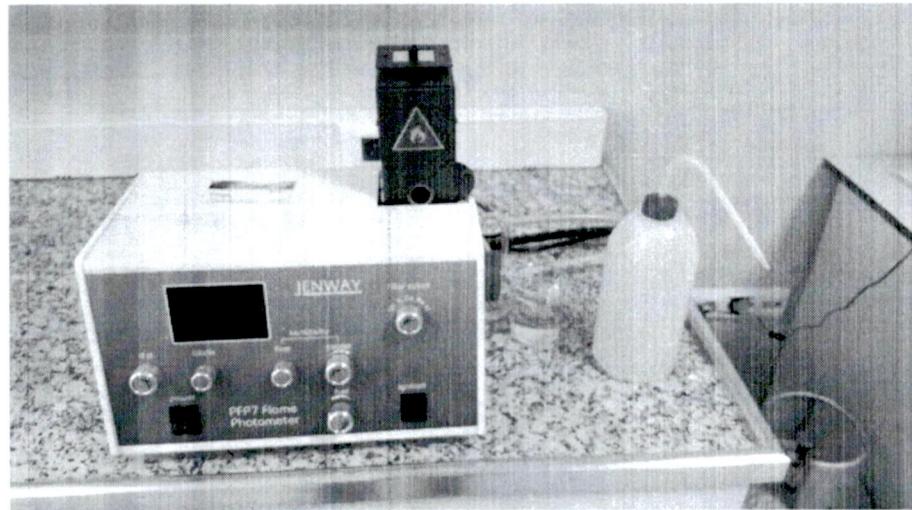
Şekil 6. IR-MS Cihazının sabit bir sıcaklıkta çalışmasının sağlanması için klima alınmıştır.

6. Baldaki pH ve elektriksel iletkenlik analizlerinin aynı anda tespit edilebilmesi için pH ve iletkenlik cihazı alınmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. DİKA desteği ile alınan pH ve iletkenlik cihazı

7. Balda Na, K, Li, Ca, Ba gibi makro elementlerin analizini daha ucuz ve hızlı bir şekilde yapılabilmesi için Alev (Flame) Fotometresi alınmıştır (Şekil 8).



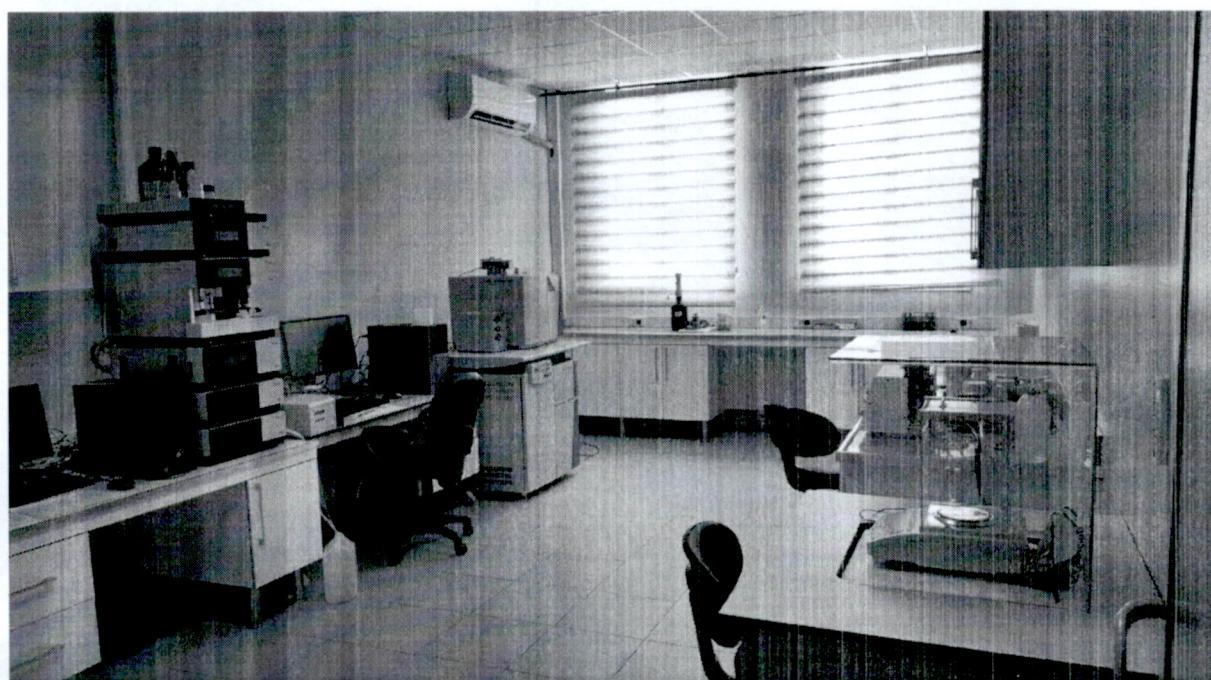
Şekil 8. DİKA desteği ile alınan Alev (Flame) Fotometresi cihazı

8. Bal analiz laboratuvarında gerçekleştirilecek olan Bal da kalite analizlerinin ön hazırlık çalışmalarında hassas tartım işlemleri yapılabilmesi için hassas terazi alınmıştır.



Şekil 9. DİKA desteği ile alınan hassas terazi

Sonuç olarak faaliyet bir kapsamında taahhüt edilen herşey gerçekleştirılmıştır (Şekil 10).



Şekil 10. DİKA desteği ile alt yapısı güçlendirilerek oluşturulan BAL analiz laboratuvarı

GA

Faaliyet-2

Siirt ve Şırnak bölgelerinden temin edilen Ballarda Kalite parametrelerinin tespiti

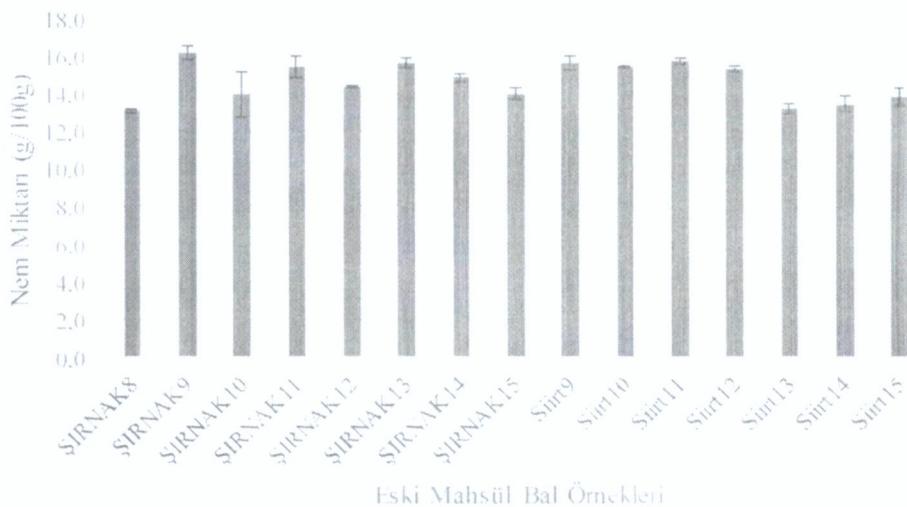
1. Siirt ve Şırnak ballarında Nem, Rutubet Muhtevası Tayini:

Petekteki balda oluşan nem ise nektar olgunlaşma sürecinden sonra meydana geldiği için direk olarak oluşum sırasındaki hava şartları, saklama koşulları, depolama yeri, saklama kapları, nektarin bazı özellikleri (nem miktarı, salgılanma hızı, koloni büyülüğu ki bunlar olgunlaşma süreci ile paralellik göstermektedir) vb. nem miktarını etkilemektedir. Balın fermantasyon süreci içerisindeki nem ile doğru orantılı olarak artış göstermektedir. Dolayısıyla fazla nem ile birlikte balın mikrobiyal bozulması, tat ve aromasının değişmesi söz konusudur. Ayrıca balda nem oranının artışıyla birlikte kristalizasyon görülmektedir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda nem içeriği TS 13365'e göre yapıldı (Şekil 1 ve Şekil 2). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre çiçek ballarının en fazla %20 düzeyinde nem içerebileceği belirtilmiştir. Bu bağlamda her iki bölgede çalışılan eski ve yeni balların tebliğe uygun düzeyde nem içeriği tespit edilmiştir. Ancak ballar kendi içinde kıyaslandığında yeni mahsül ballardan Siirt 6 balının ve eski mahsül ballardan Şırnak 9'un diğer ballara göre nem içeriğinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca eski mahsül balların genel olarak yeni mahsül ballardan daha fazla nem içeriği tespit edilmiştir. Bu problemin depolama koşulları ve süresi ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 1. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde nem tayin sonuçları

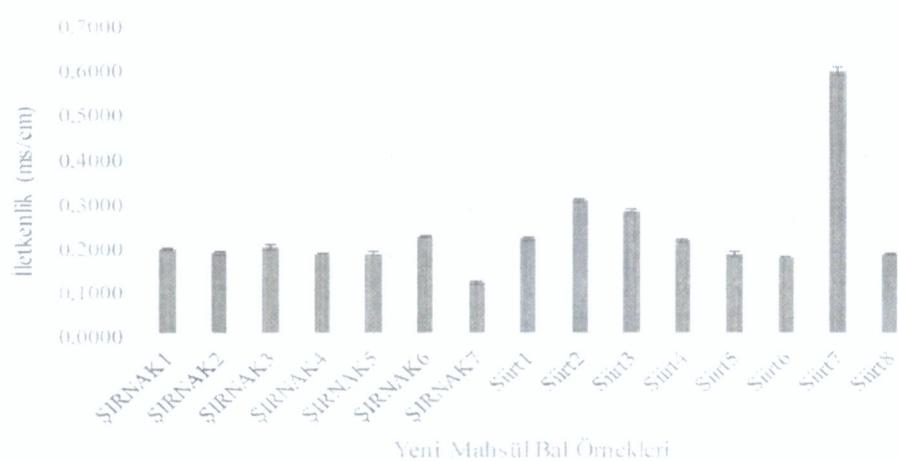
GA



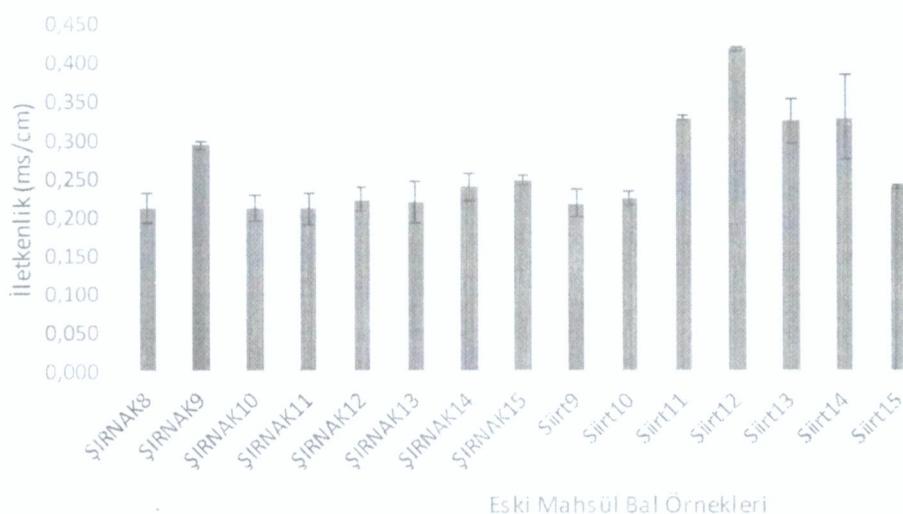
Şekil 2. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde nem tayin sonuçları

2. Siirt ve Şırnak Ballarında Elektriksel İletkenlik Tayini:

Baldaki elektriksel iletkenlik içерdiği organik asit, protein, şeker, ve minerallere bağlıdır. Salgı ve çiçek ballarının elektriksel iletkenliği birbirinden farklı olduğu için elektriksel iletkenlik balın botanik orjininin belirlenmesi sırasında bizlere yardımcı olur. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda elektriksel iletkenlik tayini TS 13366'ya göre yapıldı (Şekil 3 ve Şekil 4). Türk Gıda Kodeksi'ne göre çiçek balları için elektriksel iletkenliğin en fazla 0.8 mS/cm olması gerektiği belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm balların teblige uygun olarak elektriksel iletkenliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak yeni mahsül ballardan Siirt 7 balının elektriksel iletkenliği diğerlerine göre daha yüksek çıkmıştır. Organik asit, protein ve minarel içeriğinin daha yüksek olduğunu söyleyebiliriz.



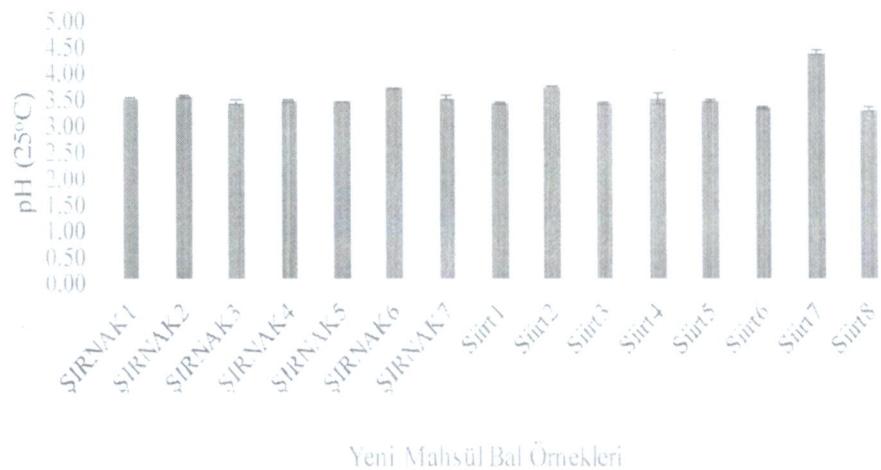
Şekil 3. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde elektriksel iletkenlik sonuçları



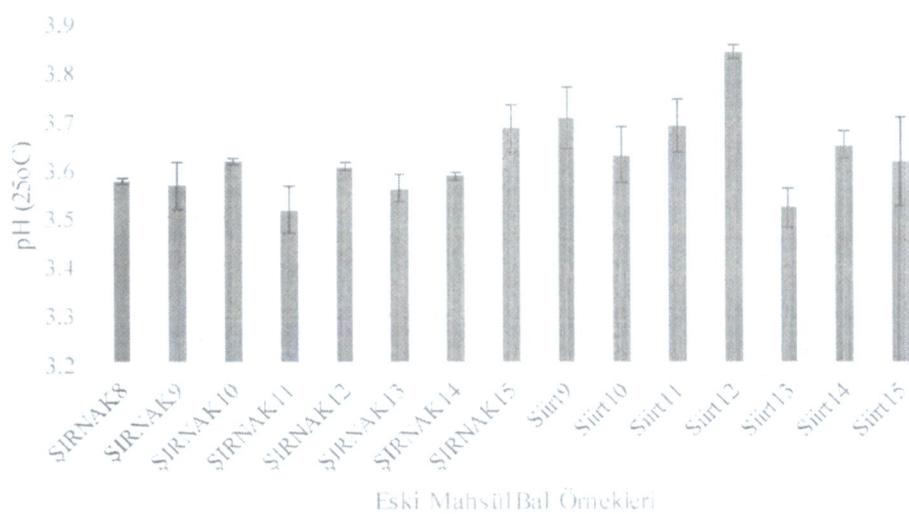
Şekil 4. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde elektriksel iletkenlik sonuçları

3. Siirt ve Şırnak Ballarında pH Tayini:

Balların pH değeri içeriğindeki organik asitlerin varlığına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Türk Gıda Kodeksi'ne göre çiçek balları için pH'ın 3,4-6,1 arasında değişmesi gerektiği belirtilmiştir. Asitlik balda antimikrobiyal ve antioksidan özellikleride içine alan çeşitli kimyasal reaksiyonların oluşmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla balın tadında ve mikroorganizmala karşı stablitesinde asitlik oldukça önemlidir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda pH tayini AOAC Official Method 962.19. göre yapıldı (Şekil 5 ve Şekil 6). Tampon çözeltiler (pH 3.0 pH 5.0 pH 7.0 ve pH 10) ile kalibrasyon yapıldıktan sonra 10 g bal örneği tartılıp 75 mL damıtık su ile çözüldü ve manyetik karıştırıcı altında pH değeri okundu. Çalışmada kullanılan tüm balların pH'ı tebliğde uygun bulunmuştur. Ancak yeni mahsül ballardan Siirt 7 balının pH'nın diğer ballara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Eski ve yeni mahsül ballar kendi aralarında kıyaslandığında eski balların pH'nın yeni ballara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun yine depolama süresi ile doğrudan ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 5. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde pH tayin sonuçları

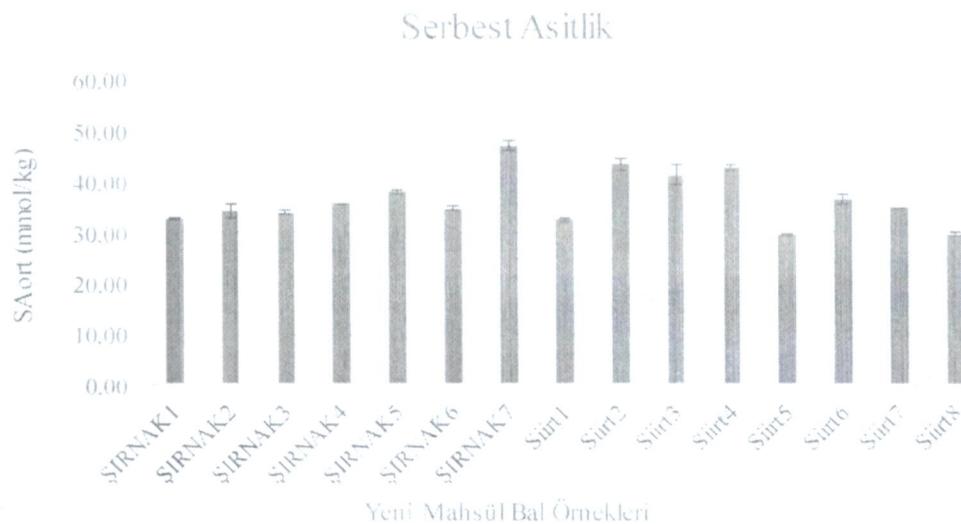


Şekil 6. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde pH tayin sonuçları

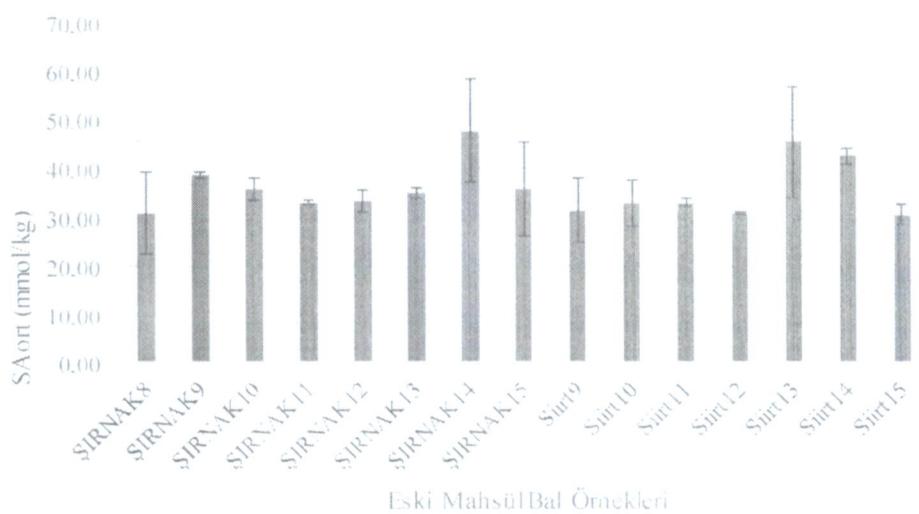
4. Siirt ve Şırnak Ballarında Serbest Asitlik Tayini:

Balın önemli kalite kriterlerinden biriside asitlidir. Balın asitliğini içeriğindeki farklı oranlardaki oglidonik, formik, asetik, bütirik, laktik, oksalik, sitrik, süksinik, tartarik maleik, malik, piroglutamik, pürvik, α -ketoglumik, glikolik, α veya β gliserofosfat, glikoz 6 fosfat gibi organik asitler ve mineral maddeler, proteinler (enzim, amino asit ve peptid) ve karbonhidratlar değiştirmektedir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda serbest asitlik tayini TS13360'a

göre yapıldı (Şekil 7 ve Şekil 8). TS3036'ya göre balların serbest asitliğinin en çok 50 meg/Kg olması gereği belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm ballar tebliğde uygun bulunmuştur.



Şekil 7. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde serbest asitlik tayin sonuçları



Şekil 8. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde Serbest Asitlik tayin sonuçları

5. Siirt ve Şırnak Ballarında Sakkaroz ve Şeker Bileşenleri Tayini:

Yaklaşık %80'ni şeker olan balın içeriğinde sakkaroz, maltoz, izomaltoz, turanoz, erloz, kojibioz, melezitoz ve kestoz vb tespit edilmiştir. Söz konusu şekerlerin miktarı ve içeriği bal tipine göre değişmektedir. Diğer şekerlerden farklı olarak sindireme gerek duymadan direk kana geçen bal oldukça önemli bir şeker kaynağıdır. Çalışma kapsamında araştırılan şeker miktarları önemli karakterizasyon parametreleri olarak görülmektedir. Bununla beraber ballardaki fruktoz/glukoz oranı balın orjini ve kristalleşme meyili hakkında bilgi vermektedir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre çiçek balında sakkaroz oranı %5, Fruktoz+glukoz oranı en az %60, fruktoz/glukoz oranı 0,9-1,4 arasında olması gerekiği belirtilmiştir. Eğer fruktoz/glukoz oranı 0,9 altında bir değer çıkarsa bal çabuk kristalleşirken fark büyürse geç kristalleşmektedir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda sakkaroz ve şeker tayini TS13359'a göre yapıldı (Tablo 1 ve Tablo 2). Genel olarak yapmış olduğumuz cazışmada sakkaroz tespit edilmemişken, Siirt 7 ve Siirt 11 balının tebliğde belirtilen fruktoz/glukoz oranına sahip olmadığı Şırnak 11 balının ise tam sınırlarda olduğu tespit edilmiştir. Belirtilen bu üç balın kristalleşme eğiliminin diğer ballara göre az olduğunu söyleyebiliriz.

Tablo 1. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde Şeker Bileşenleri tayin sonuçları

| Numune Adı | Şeker bileşimi (100 g balda, g) | | | |
|------------|---------------------------------|------------|-----------------|------------|
| | Fruktoz (%) | Glukoz (%) | Sakkaroz (%) | Maltoz (%) |
| ŞIRNAK1 | 36,86±0,46 | 30,82±0,26 | Tespit Edilmedi | 0,24±0,21 |
| ŞIRNAK2 | 37,55±0,26 | 28,78±0,23 | Tespit Edilmedi | 0,63±0,03 |
| ŞIRNAK3 | 37,10±0,11 | 31,10±0,17 | Tespit Edilmedi | 0,36±0,05 |
| ŞIRNAK4 | 36,36±0,15 | 29,39±0,10 | Tespit Edilmedi | 0,50±0,01 |
| ŞIRNAK5 | 36,24±0,29 | 29,25±0,23 | Tespit Edilmedi | 1,39±0,79 |
| ŞIRNAK6 | 36,34±0,11 | 28,16±0,26 | Tespit Edilmedi | 1,95±0,02 |
| ŞIRNAK7 | 36,68±0,08 | 29,72±0,11 | Tespit Edilmedi | 0,56±0,03 |
| Siirt1 | 33,64±0,92 | 26,98±0,68 | Tespit Edilmedi | 0,45±0,10 |
| Siirt2 | 36,57±0,10 | 27,61±0,11 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt3 | 36,15±0,28 | 29,50±0,25 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |

| | | | | |
|--------|------------|------------|-----------------|-----------|
| Siirt4 | 36,85±0,27 | 28,84±0,23 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt5 | 35,97±0,20 | 29,05±0,23 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt6 | 36,28±0,19 | 28,54±0,09 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt7 | 34,84±0,29 | 23,97±0,06 | Tespit Edilmedi | 3,33±0,08 |
| Siirt8 | 32,06±1,38 | 25,89±1,29 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |

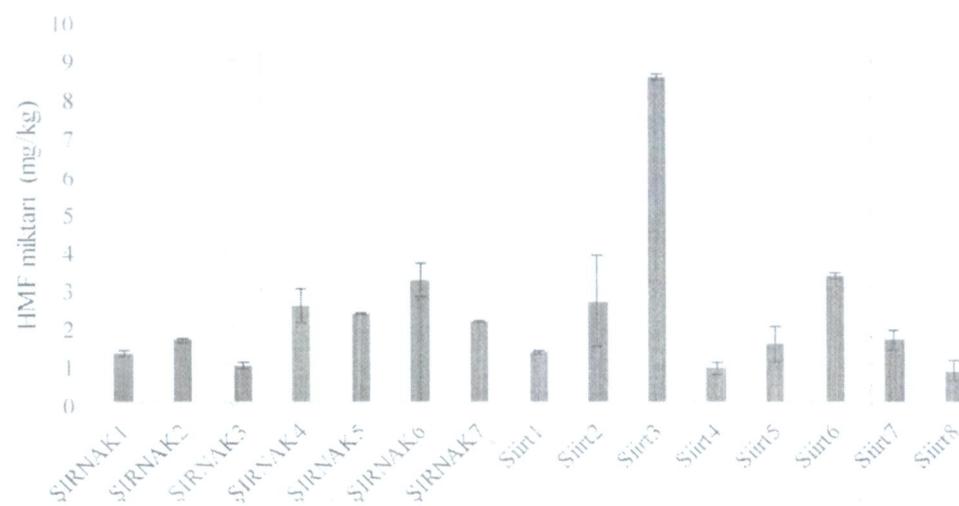
Tablo 2. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde Şeker Bileşenleri tayin sonuçları

| Numune Adı | Şeker bileşimi (100 g balda, g) | | | |
|------------|---------------------------------|------------|-----------------|------------|
| | Fruktoz (%) | Glikoz (%) | Sakkaroz (%) | Maltoz (%) |
| ŞIRNAK8 | 35,79±0,35 | 29,54±0,53 | Tespit Edilmedi | 2,31±0,04 |
| ŞIRNAK9 | 36,84±0,06 | 29,63±0,19 | Tespit Edilmedi | 1,95±0,09 |
| ŞIRNAK10 | 36,77±0,05 | 28,46±0,14 | Tespit Edilmedi | 2,24±0,02 |
| ŞIRNAK11 | 37,89±0,10 | 26,88±0,03 | Tespit Edilmedi | 2,25±0,01 |
| ŞIRNAK12 | 35,66±0,00 | 27,36±0,01 | Tespit Edilmedi | 2,44±0,01 |
| ŞIRNAK13 | 35,79±0,59 | 28,94±0,16 | Tespit Edilmedi | 1,97±0,06 |
| ŞIRNAK14 | 34,18±0,01 | 25,72±0,04 | Tespit Edilmedi | 2,91±0,07 |
| ŞIRNAK15 | 34,95±0,24 | 28,04±0,00 | Tespit Edilmedi | 1,99±0,05 |
| Siirt9 | 36,44±0,29 | 29,61±0,17 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt10 | 35,43±0,05 | 29,96±0,01 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt11 | 38,49±0,37 | 24,76±0,22 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt12 | 33,53±0,22 | 28,78±0,20 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt13 | 37,17±0,04 | 30,11±0,22 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt14 | 39,29±0,56 | 30,24±0,10 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |
| Siirt15 | 34,72±0,06 | 27,66±0,02 | Tespit Edilmedi | 0,00±0,00 |

6. Siirt ve Şırnak Ballarında HMF Tayini:

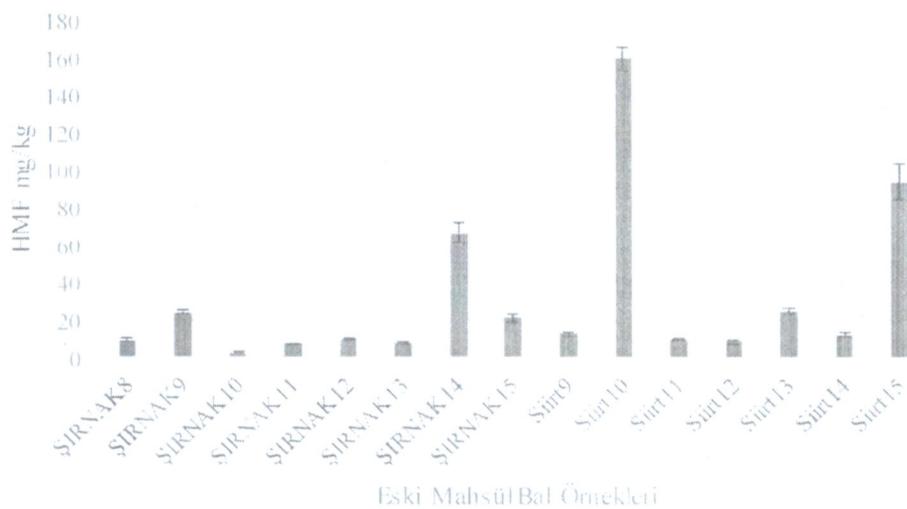
Monosakkaritler derişik asit çözeltisinde ısıtıldığında dehidrasyona uğramakta ve furan türevlerine dönüşmektedirler. Aldopentozlar furfurala dönüşürken, aldoheksozlardan 5-hidroksimetilfurfural oluşmaktadır.

Baların pH'ının genellikle 3,4-6,1 olması gereki̇gi̇ dikkate alındığında nispeten asidik pH sahip olduklarını söyleyebiliriz. Asidik bir yapıya sahip olan ballar kristallenme eğilimini engellemek ya da kristal görünümünü ortadan kaldırmak amacıyla ı̇şıl işleme maruz bırakılmaktadır. Ancak uygulanan ı̇şıl işlem oldukça önemlidir. Bu ı̇şıl işlemin ne kadar sürede ve hangi sıcaklıkta uygulandığı oldukça önemlidir. Belirtilen kriterlere bağlı olarak olarak ı̇şıl işlem uygulanması, vitaminlerin, besin öğelerinin ve diastaz aktivitesinin azalmasına, HMF miktarının ise artmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle enzim aktivitesi ile HMF içeriği doğal balın olgunlaşması ve uygulanan ı̇şıl işlemin derecesi hakkında bilgi vermektedir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda HMF tayini TS13356'a göre yapıldı (Şekil 9 ve Şekil 10). TS3036'ya göre balların HMF miktarının en çok 40 mg/kg olaması gereki̇gi̇ belirtilmiştir. Bu kapsamda çalışmada kullanılan tüm yeni ballardaki HMF oranı oldukça düşüktür. Ancak Yeni mahsül ballar kendi aralarında kıyaslandığında Siirt 3 nispeten daha yüksek olduğu görülmektedir. Eski mahsül ballarda ise HMF oranı Şırnak 14, Siirt 10 ve Siirt 15 ballarında tebliğ de belirtilen değerin üzerinde bulunmuştur. Sonuçlar incelendi̇ğinde söz konusu üç balın ı̇şıl işleme maruz kaldığı görülmektedir. Ayrıca eski ballardaki HMF oranının yeni ballara göre yüksek bulunmasının nedeni depolama süresi ve sıcaklığı ile alakalı olabileceği gibi zaman zaman uygulanan ı̇şıl işlem ile de alakalı olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 9. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde HMF tayin sonuçları

SA

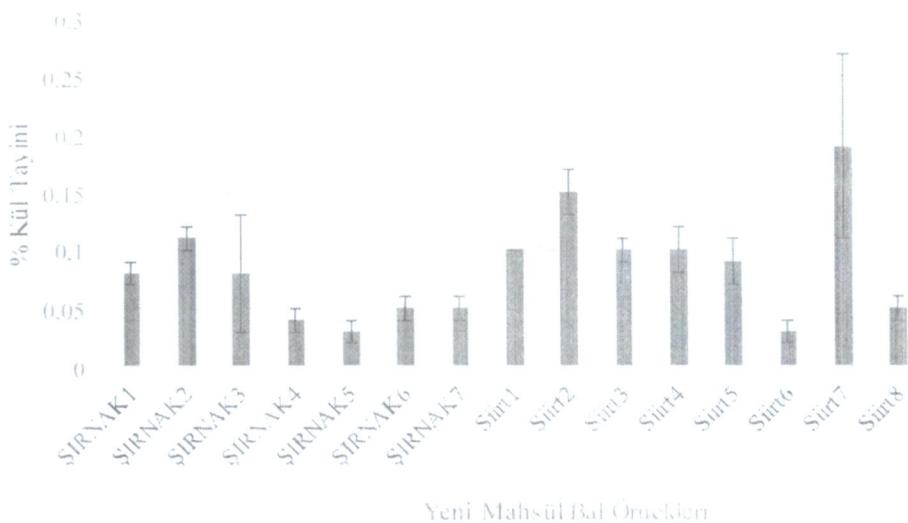


Şekil 10. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde HMF tayin sonuçları

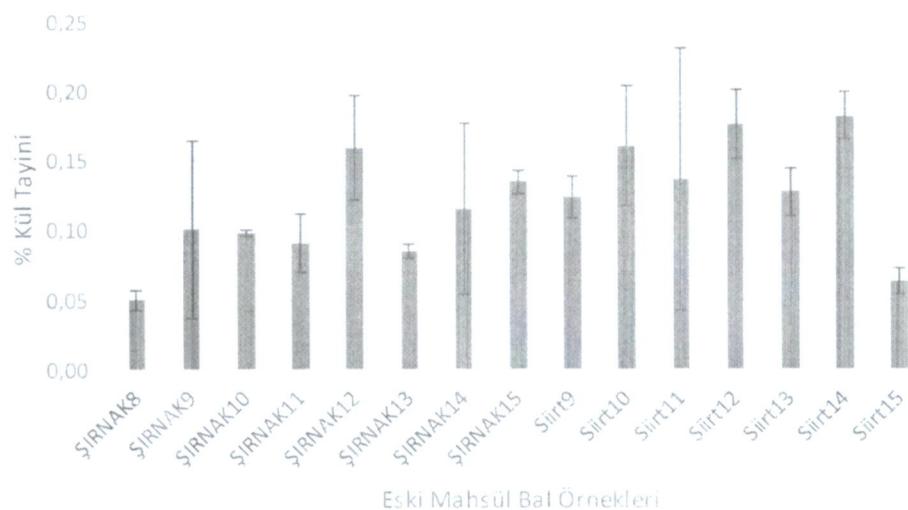
7. Siirt ve Şırnak Ballarında Kül Analizi:

Balın elektriksel iletkenliği ve rengi ile içерdiği kül miktarı arasında lineer bir ilişki mevcuttur. Dolayısıyla koyu renkli ballarda kül oranı daha fazla olmaktadır. Arıların yararlandığı floranın çeşitliliğine bağlı olarak balın içeriği organik asit, protein, şeker ve minerallere değişmektedir. Dolayısıyla kül miktarında değişmektedir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda Kül tayini TS3036'a göre yapıldı (Şekil 11 ve Şekil 12). TS3036'ya göre çiçek ballarının % kül miktarının en çok %0,6 olması gerektiği belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm ballar tebliğeye uygun bulunmuştur. Ayrıca elektriksel iletkenliği yüksek çıkan Siirt 7 balının %kül miktarında yüksek çıkmıştır. Sonuçlar kendi içinde paralellik göstermektedir.

GA



Şekil 11. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde % kül tayini sonuçları

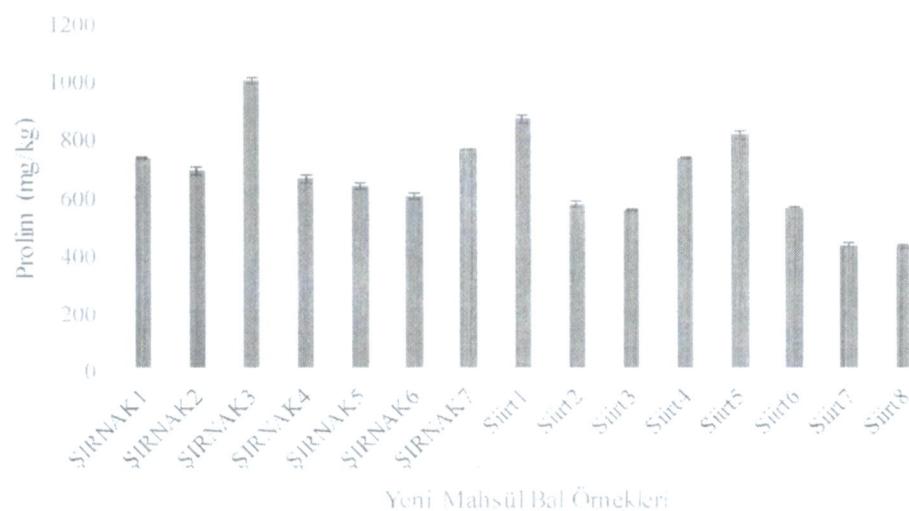


Şekil 12. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde % kül tayini sonuçları

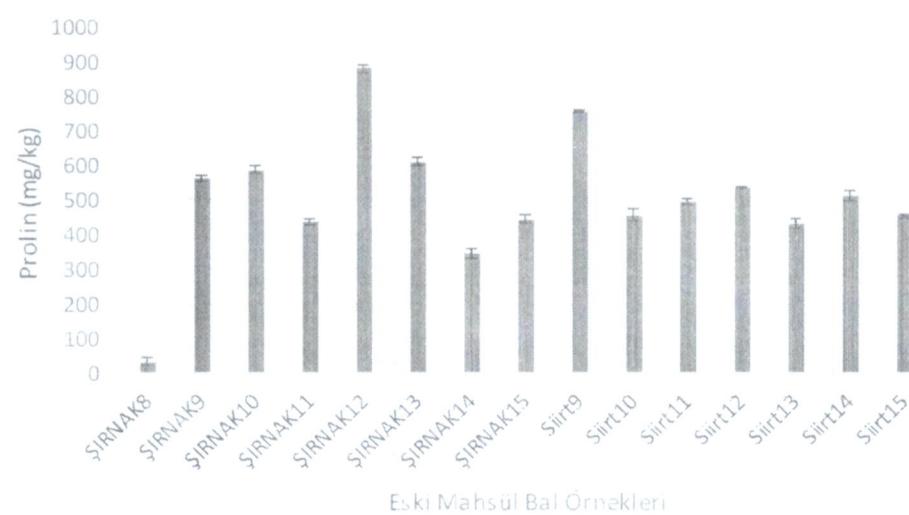
8. Siirt ve Şırnak Ballarında Prolin Analizi:

Balın doğallığının yanı sıra besin değeri hakkında da bilgi veren protein içeriği genellikle % 0,5'ten düşüktür. Başlıca kaynağı polen olan proteinin, miktarında balın cinsine göre değişmektedir. Baldaki protein miktarı genellikle aminoasitlerin % 50-85'ini oluşturan ve arı tarafından bala aktarılan tek amino asit olan prolin ile belirlenmektedir. Ayrıca prolin miktarı balın olgunluğu hakkında da bilgi vermektedir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda Prolin tayini TS13357'e göre yapıldı (Şekil 13 ve Şekil 14). TS3036'ya göre çiçek ballarının prolin miktarının en az 180 mg/kg olması gereği belirtilmiştir. Şırnak 8 balının dışındaki tüm ballar

belirtilen değerin üzerindedir. Söz konusu balın olgunlaşmaya erişmeden erken mahsül edildiğini veya depolama koşullarına bağlı olarak içерdiği proteinin denatüre olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 13. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde Prolin tayini sonuçları



Şekil 14. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde Prolin tayini sonuçları

9. Siirt ve Şırnak Ballarında C3/C4 Analizi:

Baldaki kamış şekeri veya mısır bazlı şeker katkısının kanıtlanması için kullanılan en yaygın ve en güvenilir yöntem $\Delta^{13}\text{C}$ analizidir. Bu amaçla baldaki ve balın protein fraksiyonu arasındaki karbon izotop farkı ($\%^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) balın saflığının kalitatif ve kantitatif bir göstergesidir. Çalışmalarımız kapsamında tüm ballarda C4 (%) analizi TS13262-AOAC982.12'e göre yapıldı (Tablo 3 ve Tablo 4). TS3036'ya göre çiçek ballarının bitki şekerleri (C4) oranı en çok %7 olması gerektiği belirtilmiştir. Bu kapsamda yeni mahsül balların tamamı tebliğeye uygun olarak belirlenirken eski mahsül ballardan Şırnak 15 ve Siirt 15 ballarının tebliğeye uygun olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 3. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan yeni mahsül bal örneklerinde C4 (%) tayini sonuçları

| Örnek Adları | C4 (%) | | | |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|---|--------|
| | Protein $\Delta^{13}\text{C}$ | Ham Bal $\Delta^{13}\text{C}$ | $(\Delta^{13}\text{C Protein} - \Delta^{13}\text{C Bal})$ | C4 (%) |
| ŞIRNAK1 | -25,606± 0,001 | -25,498± 0,001 | -0,108 | 0,679 |
| ŞIRNAK2 | -25,614± 0,001 | -26,075± 0,001 | 0,461 | 0,000 |
| ŞIRNAK3 | -25,532± 0,001 | -25,827± 0,001 | 0,295 | 0,000 |
| ŞIRNAK4 | -25,474± 0,001 | -25,823± 0,001 | 0,348 | 0,000 |
| ŞIRNAK5 | -25,683± 0,002 | -25,742± 0,001 | 0,059 | 0,000 |
| ŞIRNAK6 | -25,647± 0,002 | -25,932± 0,001 | 0,285 | 0,000 |
| ŞIRNAK7 | -25,881± 0,002 | -26,031± 0,002 | 0,150 | 0,000 |
| Siirt1 | -25,644± 0,001 | -25,706± 0,001 | 0,062 | 0,000 |
| Siirt2 | -26,442± 0,002 | -26,22± 0,002 | -0,222 | 1,328 |
| Siirt3 | -25,814± 0,003 | -26,212± 0,002 | 0,399 | 0,000 |
| Siirt4 | -27,031± 0,001 | -27,064± 0,002 | 0,033 | 0,000 |
| Siirt5 | -27,083± 0,001 | -26,560± 0,001 | -0,523 | 3,007 |
| Siirt6 | -27,048± 0,001 | -27,000± 0,001 | -0,048 | 0,277 |
| Siirt7 | -26,003± 0,002 | -26,205± 0,002 | 0,202 | 0,000 |
| Siirt8 | -25,803± 0,002 | -26,141± 0,002 | 0,338 | 0,000 |

Tablo 4. Siirt ve Şırnak illerinden toplanan eski mahsül bal örneklerinde C4 (%) tayini sonuçları

| Örnek Adları | Protein Δ C13 | Ham Bal Δ C13 | $(\Delta$ C13 Protein- Δ C13 Bal) | C4 (%) |
|--------------|-----------------------|-----------------------|---|--------|
| ŞIRNAK8 | -25,245± 0,001 | -25,004± 0,001 | -0,241 | 1,550 |
| ŞIRNAK9 | -26,1627± 0,002517 | -25,665± 0,002 | -0,4977 | 3,023 |
| ŞIRNAK10 | -25,525± 0,002 | -25,634± 0,001 | 0,109 | 0,000 |
| ŞIRNAK11 | -25,245± 0,001 | -25,004± 0,001 | 0,241 | 0,000 |
| ŞIRNAK12 | -25,736± 0,0 | -26,055± 0,001 | 0,319 | 0,000 |
| ŞIRNAK13 | -25,75467± 0,00153 | -25,732± 0,002 | -0,0227 | 0,141 |
| ŞIRNAK14 | -25,6737± 0,001155 | -25,86± 0,002 | 0,186333333 | 0,000 |
| ŞIRNAK15 | -24,735± 0,002 | -22,4453± 0,003055 | -2,28967 | 15,229 |
| Siirt9 | -25,80266667± 0,00153 | -25,43033333± 0,0015 | -0,372333 | 2,312 |
| Siirt10 | -26,27233± 0,00252 | -25,412± 0,001 | -0,8603333 | 5,191 |
| Siirt11 | -25,72267± 0,001155 | -25,671333± 0,00153 | -0,0513333 | 0,320 |
| Siirt12 | -25,70833± 0,002082 | -25,62367± 0,00153 | -0,08467 | 0,529 |
| Siirt13 | -26,5167± 0,00153 | -26,884333± 0,0040415 | 0,36767 | 0,000 |
| Siirt14 | -26,33267± 0,002517 | -26,316± 0,001 | -0,01667 | 0,100 |
| Siirt15 | -25,983± 0,00265 | -24,412± 0,002 | -1,571 | 9,648 |

KAYNAKLAR:

1. Perez, A.C., Conchello, P., Arino, A., Juan, T. And Herrera, A. 1994. Quality Evaluation of Spanish Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*) Honey. Food Chemistry, 51, 207-210.
2. Ötleş, S. 1995. Bal Ve Bal Teknolojisi (Kimiş Ve Analizleri) Alaşehir Meslek Yüksekokulu Yayınları, Yayın No:2.
3. Tolon, B. 1999. Muğla Ve Yöresi Çam Ballarının Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 117s.
4. Isengard, H.D. And Schulthei, D. 2003. Water Determination İn Honey-Karl Fischer Titration, An Alternative To Refractive Index Measurements. Food Chemistry, 82, 151-154.
5. Şahinler, N., Şahinler, S. Ve Gül, A. 2001. Hatay Yöresi Ballarının Bileşimi ve Biyokimyasal Analizi. M Kü Ziraat Fakültesi Dergisi, 6(1-2), 93-108.
6. Singh, N. And Bath, P. K. 1997. Quality Evaluation Of Different Types Of Indian Honey. Food Chemistry, 58, No. 1-2, 129-133.
7. Costa, I., Albuquerque, M. Trugo, I., Quinteiro, I., Barth, O., Ribeiro, M. And Demaria, C. 1999. Determination Of Non-Volatile Compounds Of Different Botanical Origin Brazilian Honeys. Food Chemistry, 65, 347-352.
8. Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., Bacandritros, N. And Sabatini, A.G. 2004. Composition Thermal And Rheological Behavior Of Selected Greek Honeys. Journal Of Food Engineering, 64, 9-21.
9. Marghitaş, L.A., Dezmirean, D., Popescu, O., Maghear, O., Moise, A. And Bobiş, O. 2008. Correlation Between Ash Content And Electrical Conductivity İn Honeydew Honey From Romania. 1st World Honeydew Honey Symposium, P.30, Tzarevo, Bulgaria.
10. Crane, E. 1975. Honey: A Comprehensive Survey, Marrson And Gibb Ltd. London 608p.
11. Singh, N. And Bath, P. K. 1997. Quality Evaluation Of Different Types Of Indian Honey. Food Chemistry, 58, No. 1-2, 129-133.
12. Terrab, A., Diez, M. And Heredia, F.J. 2002. Characterization Of Moraccon Unifloral Honeys By Their Physicochemical Characteristics. Food Chemistry, 79, 373-379.
13. Piazza, M.G., Accorti, M. And Persano Oddo, L. 1991. Electrical Conductivity, Ash, Colour And Specific Rotatory Power İn Italian Unifloral Honeys. Apicoltura, 7, 51-63.
14. Marghitaş, L.A., Dezmirean, D., Popescu, O., Maghear, O., Moise, A. And Bobiş, O. 2008. Correlation Between Ash Content And Electrical Conductivity İn Honeydew Honey From Romania. 1st World Honeydew Honey Symposium, P.30, Tzarevo, Bulgaria.
15. Anonim. 2005. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Bal Tebliği. Tebliğ No:2005/49. Resmi Gazete 17.12.2005/26026
16. TSE 3036. Bal Standardı Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
17. Krell, R. (1996). Value-Added Products From Beekeeping, Fao Agricultural Services Bulletin, Chapter 2, Pp.: 5-6.
18. D'arcy, B., (2007). High-Power Ultrasound To Control Of Honey Crystallisation. Rural Industries Research And Development Corporation, Australian Goverment. Erişim Adresi: [Https://Rirdc.infoservices.Com.Au/Downloads/Sr144](https://Rirdc.infoservices.Com.Au/Downloads/Sr144).
19. Nanda, V., Sarkar, B., Sharma, H.K., Bawa, A. (2003). Physico-Chemical Properties And Estimation Of Mineral Content İn Honey Produced From Different Plants İn Northern India. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 16: 613-614.

20. Şahinler, N., Şahinler, S. Ve Gül, A. 2001. Hatay Yöreni Ballarının Bileşimi Ve Biyokimyasal Analizi. M Kü Ziraat Fakültesi Dergisi, 6(1-2), 93-108.
21. Tosi, E., Ciappini, M., Re, E. And Lucero, H. 2002. Honey Thermal Treatment Effects On Hydroxymethylfurfural Content. Food Chemistry, (77), 71-74.
22. Serrano, S., Espejo, R., Villarjo, M. And Jodral, M.L. 2006. Diastase And Invertase Activities In Andalusian Honeys. International Journal Of Food Science And Technology, 42, 76-79.
23. Weston, R.J., Brocklebank, L.K. And Lu, Y. 2000. Identification And Quantitative Levels Of Antibacterial Components Of Some New Zealand Honeys. Food Chemistry, 70, 427 -435.
24. Saldamlı, İ. 1998. Gıda Kimyası Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
25. Mateo, R. And Bosch-Reig, F. 1997. Sugar Profiles Of Spanish Unifloral Honeys. 60(1), 33 -41.
26. Abu-Tarboush, H., Al-Kahtani, H. And El-Sarrage, M. 1993. Floral Type Identification And Quality Evaluation Of Some Honey Types. Food Chemistry, 46, 13-17.
27. Rodriguez, G.O., Sulbaran, B., Ferrer, A. And Rodriguez, B. 2004. Characterization Of Honey Produced In Venezuela. Food Chemistry, 84, 499-502.
28. Akçadağ, F, 2012 Balda HMF(Hidroksimetil Furfural), Glikoz, Fruktoz ve Sakkaroz Tayini Yeterlilik Testi Raporu, Tübitak Ulusal Metroloji Enstitüsü Referans Malzemeler Laboratuvarı, Rapor No: Kar-G3rm-160.2013.02 2014 Gebze/Kocaeli
29. Bogdanov, S. 2002. Harmonized Methods Of The International Honey Commission. Swiss Bee Research Center, Fam, Liebefeld, Ch-3003 Beren, Switzerland.
30. Hermosin, I., Chicon, R.M. And Cabezudo, M.D. 2003. Free Amino Acid Composition And Botonical Origin Of Honey. Food Chemistry, 83, 263-268.
31. White, J. W., Meloy, R., Probst, J. And Huser, W. 1986. Detection Of Beet Sugar Adulteration Of Honey. I. Assac. Off. Anal. Chem., 69, 652 -654.
32. White, J.W. And Winters, K. 1989. Honey Protein As Internal Standard For Stable Carbon Isotope Ratio Detection Of Adulteration Honey. Journal Of The Association Of Official Analytical Chemists, 72, 907-911.
33. Gonzales, A.P., Burin, L., And Buera, M.P. 1999. Color Changes During Storage Of Honeys In Relation To Their Compos,T,On And Initial Color. Food Research International, 32, 185-191.
34. Merin, U., Bernstein, S. And Rosenthal, I. 1998. A Parameter For Quality Of Honey. Food Chemistry, 63(2), 241-242.
35. Padovan, G.J., Rodrigues, L.P., Leme, I.A., Jong, D.D. And Marchini, J.S. 2007. Presence Of C4 Sugars In Honey Samples Detected By The Carbon Isotope Ratio Measured By Irms. Eurasian Journal Of Analytical Chemistry, 2(3), 134-141.
36. Çınar, S.B., 2010, Türk Çam Balının Analitik Özellikleri, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi Ankara 81s
37. Kahraman, S.D., 2012, Sızme Ballarda Depolama Sıcaklığının HMF Değeri Ve Diastaz Aktivitesi Üzerine Etkisi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyenisi Ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara 90 s

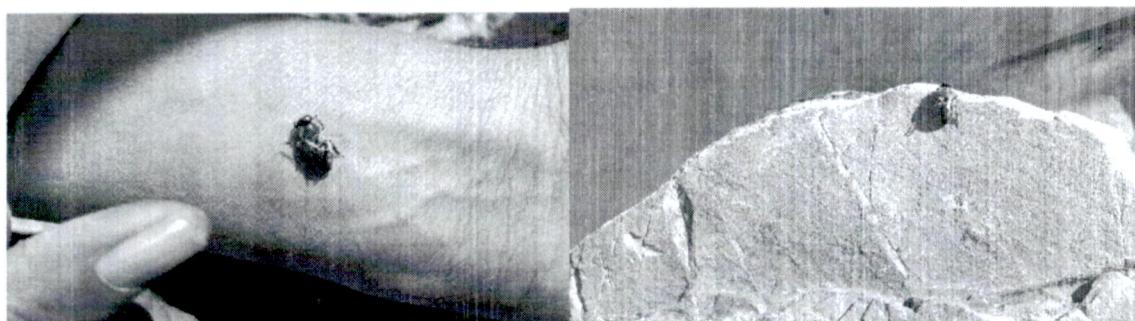
Gf

DİKA BAL ARISI VİRÜSLERİ İLE İLGİLİ SONUÇ RAPORU

Materyal ve Metot

1. Arıların Tespiti ve Toplanması

Deneyde kullanılan arılar, Şırnak Beyüşşebap ilçesinden ve Siirtte bulunan balcılardan temin edildi. Kovan içinde ve kovan çevresinde hastalık belirtileri bulunan arılar soğuk zincir şartlarına uygun olarak poşetlenerek buz dolu kutulara alındı. Daha sonra -80 °C buz dolabına alındı.



Şekil 1. Hastalık şüphesi bulunan balarının tespit edilmesi ve toplanması

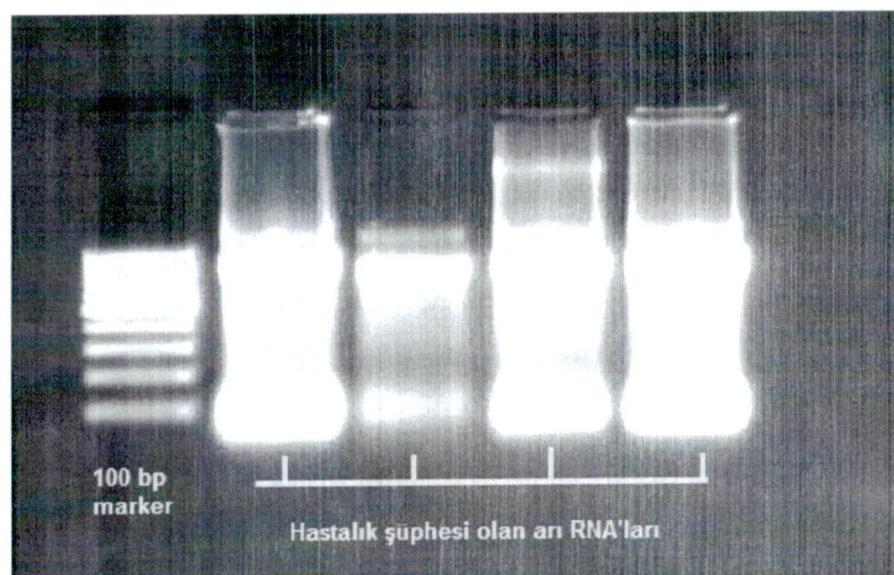
2. RNA Izolasyonu

- Ortam ve koşullar steril hale getirildi(Bench streç film ile kaplandı %70 etil alkol ile yıkandı).
- Etil alkol (%75'lik) ve izopropil alkol buza gömüldü.
- Soğuk zincir kurallarına uyarak arılar sıvı azot ile havanda toz haline getirildi.
- Eppendorf tüpe 1 ml Trizol reaktifi eklendi. Toz numuneler bu tüplere hızlıca boşaltıldı. İyice aşağı yukarı çevirilerek tüpler karıştırıldı.
- Tüpler oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.
- 1 ml trizol için 0,2 ml (200 µl) kloroform tüplere ilave edildi. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılıp, 15 saniye boyunca kuvvetli bir şekilde çalkalanıp karıştırıldı (bu aşamada turuncu-kahverengi bir renk oluşumu beklenmektedir).
- 2-3 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 17 dakika soğutmalı santrifüjde +4°C'de 15000 rpm'de santrifüj yapıldı.
- Üstteki sıvı faz yeni tüplere aktarıldı. Buzda bekleyen izopropil alkol (trizol reaktifinin yarısı kadar) 500 µl eklenip karıştırıldı.10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 10 dakika +4 °C'de 15000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.
- Çöken RNA %75'lik etanol ile 1 kez yıkandı. Kullanılan trizol kadar (1 ml) eklendi. (isteğe göre bu aşamada -80 °C'ye kaldırılabilir).

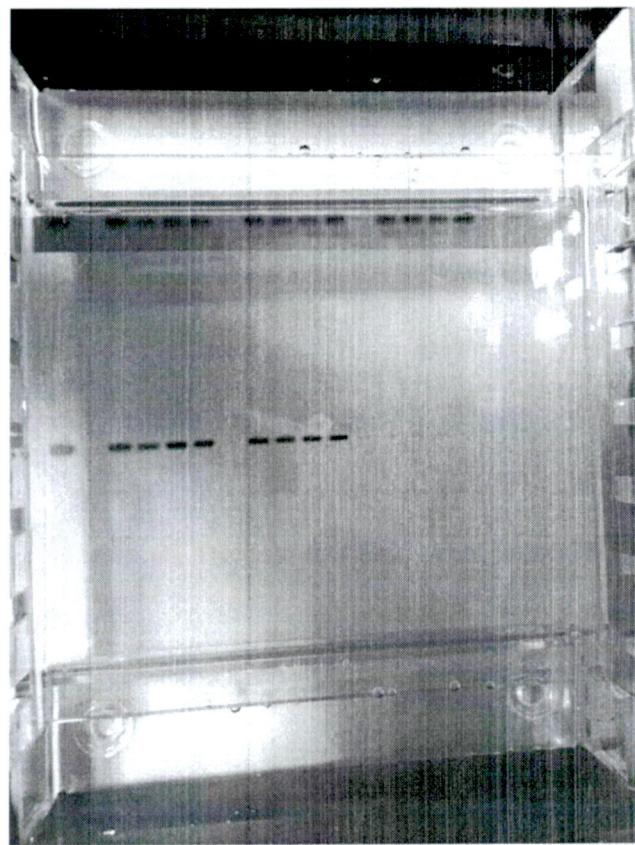
- Örnekler 5 dakika +4 °C'de 15000 rpm'de santrifüj yapıldı.
- RNA çökeltisi dipte pellet şeklinde kaldı. Süpernatant atıldı. Pelet kurumaya bırakıldı. Etanol uçması için boş olarak 5 dakika 10000 rpm'de santrifüjlendi.
- Son olarak 30 µl nuclease free water ile çözüldü.

3. Agaroz Jel Elektroforezi

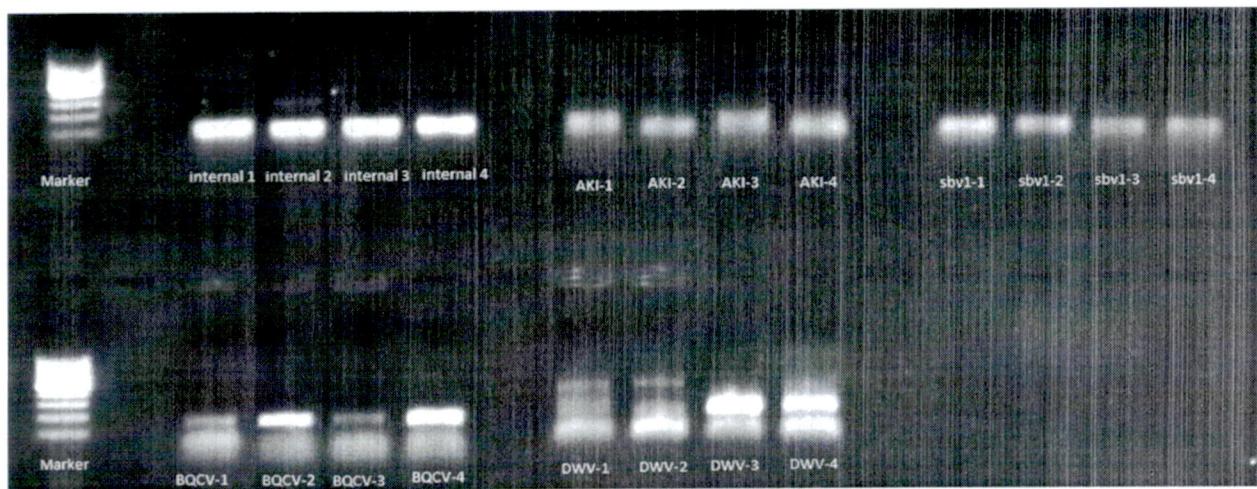
50 ml TBE Buffer (Tris-EDTA-Borik asit) ile 0,75 gr Agaroz jel mikrodalga fırında kaynatıldı. 15 dakika sonra erlen içinde soğuyan %1,5 agaroz jel içine 2 µl Etidium Bromür ilave edilip iyice karıştırıldı. Daha sonra jel kaset sistemi içine dökülkerek taraklar yerleştirildi. 20 dakika sonra jel iyice polimerleştiğinden emin olundu. 1.kuyuya 100 bp DNA marker yüklandı (7 µl nukleaz free su + 3 µl 6x loading dye + 1 µl marker); 2, 3, 4 ve 5. kuyulara hastalık şüphesi taşıyan arıların RNA'ları yüklandı (5 µl RNA + 3 µl loading dye 6x). Saflaştırılan RNA örnekleri %1,5'lik Agaroz çözeltisinde 80 V ile 30 dakika elektriksel alanda koşturularak Agaroz jel elektroforezi yapıldı. Sonuçlar Major science Imaging system cihazı ile UV ışığı altında görüntülendi (Şekil 2).



Şekil-2. RNA ekstraksiyonu yapılan arıların agaroz jel elektroforezi 18s ve 28s'lik bantlar



Şekil 3. Agaroz jel elektroforezi ile PCR ürünlerinin jelde yürütülmesi



Şekil 4. cDNA örneklerine uygun metot ve primerler kullanılarak yapılan Thermal cycle ile ilgili gen bölgeleri çoğaltıldı. Elektroforez ile kontrolü yapıldı.

SA

4.cDNA Sentezi

Ari RNA örneklerinden cDNA sentezi "First Strand cDNA Synthesis" kiti ve protokolü ile yapıldı. Kyratec Thermal cycle cihazı ile cDNA sentezi gerçekleştirildi.

1. reaktifler sırayla bir buz üstüne dizildi.

1x

5 μ g total RNA

1 μ l oligo (dT) primer

Nuclease free water ile 11 μ l'ye tamamlandı.

2. RNA şablonu Guanin-Sitozin bakımından zengin veya sekonder yapılar içerdiginden, hafifçe karıştırıp, kısa bir süre santrifüjlendi ve 5 dakika boyunca 65 ° C'de inkübe edildi. Buz üzerinde soğutuldu. Daha sonra aşağıdaki maddeler belirtilen miktarlarda sırayla eklendi.

5x Reaksiyon Buffer 4 μ l

RiboLock RNase Inhibitor (20 U/ μ l) 1 μ l

10 mM dNTP Mix 2 μ l

M-MuLV Reverse Transcriptase (20 U/ μ l) 2 μ l

Final Volume: 20 μ l

3. Karıştırılıp az bir süre santrifüj edildi. Sentez için, 25 ° C'de 5 dakika inkübe edilip, ardından 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi

4. Reaksiyonu 70 ° C'de 5 dakika ısıtarak sonuçlandırıldı. Real Time PCR uygulamasına geçildi. (Revers transkripsiyon reaksiyonu ürünü, PCR uygulamalarında doğrudan kullanılabilir veya bir haftadan az süreyle -20 ° C'de saklanabilir) Daha uzun süre saklamak için -70 ° C 'ye bırakılmalıdır).

5. Real-Time PCR

Her bir primer için aşağıdaki protokol ayrı ayrı hazırlandı (Tablo-1). Toplam 5 primer protokolü oluşturuldu.

| Malzemeler | 1x | 5x |
|---------------------------------|-------------|-------------|
| Sybeer Green (MasterMix) | 5 μ l | 25 μ l |
| Forward Primer | 0,1 μ l | 0,5 μ l |
| Reverse Primer | 0,1 μ l | 0,5 μ l |
| Water(Nuclease Free) | 4,8 μ l | 24 μ l |
| Total volume | 10 μ l | 50 μ l |

Not:Hazırlanan 1x için her bir örneğe ayrıca 2 μ l cDNA örneği eklenir.

Tablo1. Real Time PCR Temple Protokolü

Hazırlanan örnekler Tablo 2'de görüldüğü gibi mikroplate içine yüklandı. Real Time Thermo Pikoreal 96 PCR marka cihaz ile Relative quantification işlemi gerçekleştirildi.

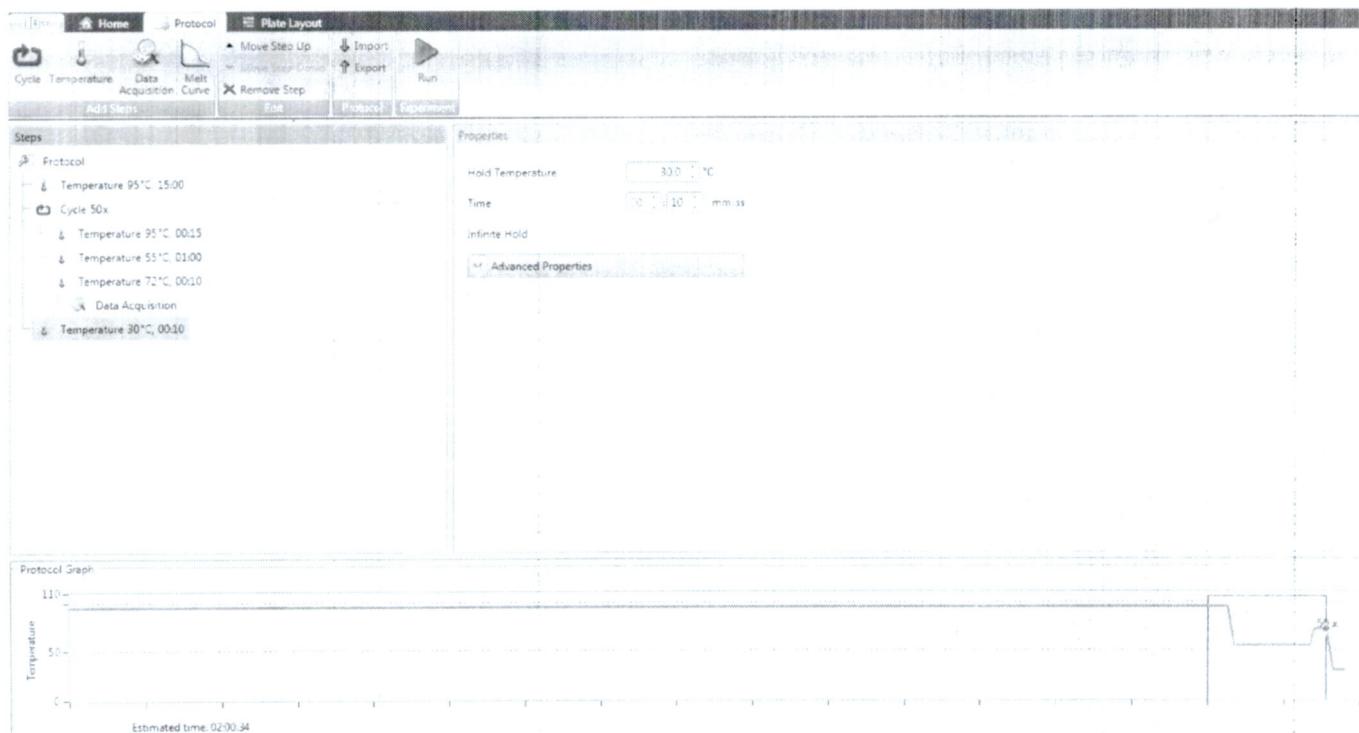
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|
| A | Int-1 | Int-2 | Int-3 | Int-4 | Int-kontrol |
| B | AKI-1 | AKI-2 | AKI-3 | AKI-4 | AKI-kontrol |
| C | SBV-1 | SBV-2 | SBV-3 | SBV-4 | SBV-kontrol |
| D | BQCV-1 | BQCV-2 | BQCV-3 | BQCV-4 | BQCV-kontrol |
| E | DWV-1 | DWV-2 | DWV-3 | DWV-4 | DWV-kontrol |

Tablo 2.PCR Plate Template Planı

Plana göre hazırlanan plate foiling sail ile kaplanıp PCR ünitesine yerleştirildi. Real Time PCR protokolü uygulandı (Tablo3.).

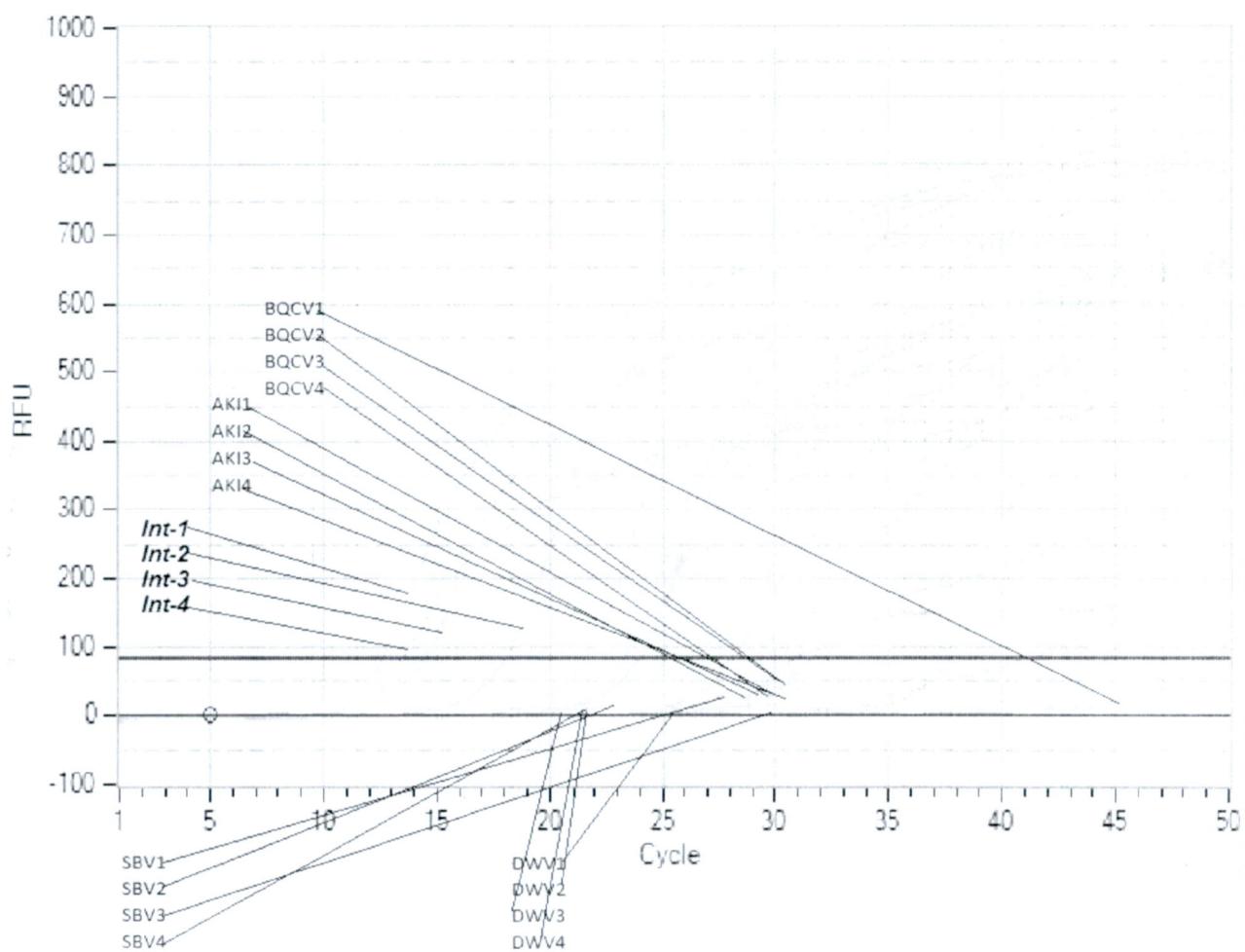
| | Temperature | Time |
|--------------------|--------------------|-------------|
| Starting | 95 °C | 15:00 |
| | 95 °C | 00:15 |
| 50x (cycle) | 55 °C | 01:00 |
| | 72 °C | 00:10 |
| Final | 30 °C | 00:10 |

Tablo3. Real Time PCR protokolü



Sonuç Değerlendirmesi

Siirt ve Şırnak ili bal arılarındaki Deforme kanat virusu (*Deformed wing virus; DWV*), Siyah kraliçe hücre virusu (*Black queen cell virus; BQCV*), Torba yavru çürüklüğü virusu (*Sacbrood virus; SBV*) ve üç felç virusunu içeren AKI: Akut arı felç virusu (*Acute bee paralysis virus; ABPV*), İsrail akut felç virusu (*Israeli acute paralysis virus; IAPV*), Kaşmir arı virusu (*Kashmir bee virus; KBV*) tespit etmek amacıyla 2017 Temmuz ve Ağustos aylarında survey çalışması yürütülmüştür. Survey çalışmaları sonucu toplanan arı numunelerinde Real Time RT-PCR ile bu viruslerin varlığı araştırıldı. (Şekil 5). Yürüttülen test çalışmalarında BQCV, DWV, SBV ve AKI virusları tespit edilmesinin yanı sıra testlenen arı numunelerinde araştırılan virusların tekil, ikili ve üçlü infeksiyonlara maruz kaldıkları tespit edilmiştir.



Şekil 5. Real Time PCR sonucu tespit edilen BQCV, AKI, SBV, DWV ve Internal kontrol sonuçları

CP