

Aminoasit Profili ile Balda Orijin Tespiti

Aslı Elif Sunay^{1*}, Dilek Boyacıoğlu²

¹Altıparmak Paz. Koll. Şti (Balparmak), Çekmeköy, İstanbul

²İstanbul Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Maslak, İstanbul

*asli@balparmak.com.tr

Özet

Ülkemizde poliflora ballarının sınıflandırılması coğrafi orijine göre yapılmaktadır. Özellikle belli bölgelerde üretilen ballar daha yüksek fiyatlardan alıcı bulmaktadır. Bu nedenle balda coğrafi orijin tespiti bal ticareti açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı balın aminoasit profilini inceleyerek, bu bilgiyi coğrafi orijin tahmininde kullanabilmektir. 2005 yılında Türkiye'nin yedi farklı bölgesinde üretilen poliflora (Şemdinli, Yüksekova, Bingöl, Muş, Kayseri) ve monoflora (Pamuk Urfa ve Pamuk Ege) ballardan toplanan 63 adet numunenin aminoasit profilleri analiz edilmiştir. Ballarda, katı faz ekstraksiyonunu takiben yapılan türevlendirme işlemi sonrası toplam 32 adet aminoasit Gaz Kromatografi ve Fotometrik Alev Detektörü ile araştırılmıştır. Sonuçta her bölgeden toplanan balların amino asitleri arasında yörelere göre farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,05). Bu çalışmanın sonuçlarına göre balda amino asit profile analizinin coğrafi ve bitkisel orijin tespitinde kullanılabilir bir araç olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Aminoasit analizi, balda orijin tespiti, coğrafi orijin tespiti

Giriş

Balın menşei hem dünyada hem de ülkemizde balın fiyatını belirlemede önemli bir etkidir. Uluslararası ve yerel bal standartları bitki ve coğrafi orijinine göre balların etiketlenmesine müsaade etmektedirler. Ancak bu standartların hiçbiri bal çeşitlerinin özelliklerini belirtmemekte ve dolayısıyla da etkin bir kontrol garanti edememektedir (1). Aynı zamanda, kalite ve/veya kalıntı problemleri yaşanan balların da, hangi yöreye ait olduğunun tespit edilebilmesi, o yöre ile ilgili arıcılık uygulamalarında önlemler alınabilmesi anlamında önemlidir.

Piyasada tek bir çeşit çiçekten veya karışık çiçeklerden elde edilmiş pek çok farklı türde bal bulunmaktadır. Genelde, baldaki tek bir bitkiye ait polen düzeyi %45'in üzerindeyse bu ballar mono-flora olarak tanımlanmaktadır. Ancak poli-flora ballarda tek bir dominant polen tayin edilemediğinden, bu yöntem tek başına yeterli değildir. Dolayısıyla, poli-flora ballar genellikle elde edildikleri coğrafi yöreye göre isimlendirilmekte ve bu şekilde satışa sunulmaktadır. Bu çalışmanın amacı özellikle yöreye göre isimlendirilen ve İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde üretilen karışık çiçek ballarının, coğrafi orijinlerinin aminoasit

içeriklerindeki farklılıkların tespiti ile belirlenmesidir. Bu çalışmada, Türkiye'nin orta ve doğu Anadolu bölgelerinde üretilmiş ve yöreye göre sınıflandırılarak satılan karışık çiçek ballarından alınan numunelerde, aminoasit içerikleri belirlenerek, bu balları birbirinden ayırt etmede kullanılabilecek bir yöntem oluşturulmaya çalışılmıştır.

Balda botanik ve coğrafi orijin tespitinde amino asit profillerinin analizi, protein bileşenlerine göre da uygun bir yöntem olarak görünmektedir. Iglesias vd.(2) tarafından yapılan bir çalışmada da farklı botanik orijinlerden gelen 46 bal numunesinin (çiçek ve salgı balları) tamamı glutamik asit ve triptofan içeriklerine göre doğru olarak sınıflanmıştır. Bir diğer çalışmada, İspanyanın 6 farklı bölgesinden elde edilen 10 farklı botanik orijine ait 48 bal numunesinin serbest amino asit içeriği belirlenmiş ve lavanta balları tüm diğer ballardan belirgin şekilde yüksek tirozin içeriği ile ayrılmıştır (3). Arjantin'in 3 farklı bölgesinden toplanan 56 bal numunesinin amino asit içerikleri, botanik ve coğrafi orijin tespiti amacıyla analiz edilmiş ve sonuçta numunelerin coğrafi bölgelere göre gruplandırılabilirliği ifade edilmiştir (4).

Materyal ve Yöntem

Materyal: 2005 yılı mahsulüne ait her biri farklı arıcıdan alınan 9'ar adet, Urfa pamuk, Şemdinli, Muş, Pamuk Ege, Kayseri, Bingöl ve Yüksekova süzme balları iki tekrarlı olarak çalışılmıştır.

Yöntem: Analizler, EZ:faast kiti (Phenomenex) kullanılarak Shimadzu GC-17A model gaz kromatografi cihazı ve fotometrik alev dedektörü (FID) ile gerçekleştirilmiştir. EZ:faast kiti, GC-FID veya GC-NPD ile kompleks matrislerde, fizyolojik serbest amino asitlerin analizi için Phenomenex U.S.A. Corporate Headquarters tarafından geliştirilmiştir. EZ:faast prosedürü solid faz ekstraksiyonunu (SPE) takiben yapılan türevlendirme ve sıvı sıvı ekstraksiyonunu içermektedir. Kit toplam 32 adet alifatik ve aromatik amino asitin kantitatif analizine olanak tanımaktadır.

Ön numune hazırlama prosedüründe bal su ile 1:1 oranında seyreltilerek üzerine iç standart ilave edilmiştir. Katı faz ekstraksiyonu ile amino asitler ve iç standart kolonda tutulurken, diğer maddeler kolondan uzaklaştırılmış, amino asitler kolondan tekrar numune şişesine alınmıştır. Şişede türevlendirilen amino asitler, son aşamada sıvı sıvı ekstraksiyonu ile üst fazda toplanarak 2,5 µl'si GC'ye enjekte edilmiştir.

Gaz Kromatografi kolonu (Phenomenex ZB-AAA 10mx0.25mm) kitle birlikte temin edilmiştir. Gaz akış hızı 1,5 ml/dk Helyum, dedektör sıcaklığı 320°C ve enjeksiyon bloğu sıcaklığı 250°C olarak ayarlanmıştır. Kolon analiz süresince 110°C'den 320°C'ye dakikada 30°C hızla ısıtılmıştır. Kitle birlikte temin edilen standartlara göre kalibrasyon yapılmış ve iç standarda göre geri kazanım

hesaplanarak pik alanlarından miktar tayini yapılmıştır. Metodun geri kazanımı tüm numuneler için %85'in üzerinde gerçekleşmiştir.

İstatistik Analiz: Numunelerin amino asit bileşimleri arasındaki farklılıklar, her özelliğin değişken kabul edildiği tesadüf parselleri deneme deseni ile tek yöllü varyans analizi yapılarak incelenmiş ve işlem ortalamaları Duncan'ın çoklu aralık testi ile (%95 önem düzeyi) karşılaştırılmıştır. İstatistik analizler SPSS (versiyon 14) kullanılarak uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Her bölgeden toplanan balların amino asitleri arasında yörelere göre farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$) (Tablo B.9). Örneğin aspartik asit içeriği Pamuk Ege ballarında diğer tüm yörelere göre belirgin şekilde yüksektir (152 mg/kg). Bu aminoasitin miktarı Pamuk Ege ballarında, Pamuk Urfa ve Kayseri ballarına göre yaklaşık 3 kat, Bingöl ballarına göre 8 kat, Muş ballarına göre 13 kat, Şemdinli ve Yüksekova ballarına göre 15 kat fazladır. Dolayısıyla aspartik asit Pamuk Ege balları için tanımlayıcı olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca Urfa ve Ege yörelerine ait pamuk ballarını da ayırt edici özelliği vardır. Benzer şekilde glutamik asit, fenilalanin ve glutaminin de miktarları Pamuk Ege ballarında diğer ballara göre yüksektir. Bu amino asitler Pamuk Ege ve Pamuk Urfa ballarını birbirinden net bir şekilde ayırmaktadır. Çünkü bu amino asitlerin Pamuk Urfa ballarındaki miktarları da diğerlerine göre minimum seviyededir. Alanin, glisin, valin, izolösin, prolin, asparajin, lizin ve tirozin de Pamuk Urfa ballarında tüm diğer ballara göre minimum seviyedir.

Toplam amino asit oranları açısından ise Pamuk Urfa ballarının minimum, Pamuk Ege ballarının maksimum seviyede amino asit içermektedir. Doğu balları (Muş, Bingöl, Şemdinli ve Yüksekova) birlikte değerlendirildiğinde Bingöl ve Yüksekova ballarının hemen hemen aynı miktarlarda toplam amino asit içermektedir. Ancak Bingöl balları alanin, glisin, valin, izolösin, asparajin ve histidin amino asitlerini maksimum miktarda içerirken, Yüksekova balları prolin, lizin ve tirozin amino asitlerini maksimum seviyede içermektedir. Dolayısıyla her iki balda dominant olan amino asitler farklıdır ve bu ballar bu özellikleri ile diğer tüm ballardan ayrılmaktadır. Asparajin amino asiti ise Muş, Bingöl ve Şemdinli ile Yüksekova ballarında önemli farklılıklar göstermektedir. Coğrafi olarak birbirine çok yakın Şemdinli ve Yüksekova bölgelerine ait balların amino asitleri karşılaştırıldığında da çeşitli farklılıklar mevcuttur. Lösin, lizin ve tirozin bu iki yöreye ait ballarda istatistiki olarak net farklılıklar göstermektedir. Yüksekova ballarındaki lösin aminoasitinin miktarı %62, lizin aminoasitinin miktarı %22 ve tirozin aminoasitinin miktarı %31 oranında Şemdinli ballarına göre fazladır. Ayrıca Yüksekova ballarının toplam aminoasitleri de Şemdinli ballarının toplam aminoasitlerinden %13,5 oranında fazladır. Amino asitlerin her yöreye göre örümcek ağı grafiği oluşturulduğunda, her yöreye özgü bir amino asit kompozisyon

Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

olduğu görülmektedir. Birbirine en yakın sonuçlar, yöre olarak da birbirine çok yakın olan Şemdinli ve Yüksekova bölgelerinde elde edilmiştir. Ancak bu yörelerde de Yüksekova ballarındaki bazı amino asitlerin miktarları Şemdinli ballarına göre yüksektir.

Cometto vd.(4), tarafından Arjantin'in 3 farklı bölgesinden alınmış farklı botanik orijinlere ait 56 bal numunesi ile yapılmış çalışmada da, numunelerde, aspartik asit, serin, glisin, arjinin, treonin/alanin, prolin, tirozin, valin, metionin, izolösin, lösin, fenilalanin, tiriptofan/ornitirin ve lizin olmak üzere toplam 14 farklı aminoasit tayin edilmiştir. Bu çalışmada treonin ve alanin ile tiriptofan ve ornitirin aminoasitleri aynı tutulma zamanında sinyal vermiş ve birbirlerinden tam olarak ayrılamamıştır. Arjantin ballarında, Türk ballarından farklı olarak metionin aminoasiti bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar aminoasit miktar ve çeşidinin, balda botanik ve bölgesel orijine göre değiştiğini göstermektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, amino asitler yörelere özgü bir kompozisyona sahiptir ve bu durum gerek yöresel, gerekse botanik orijin tespitinde kullanılabilir. Ancak deneyin daha fazla sayıda bitki ve yöreye ait numune ile tekrarlanması önerilmektedir.

Kaynaklar

1. Oddo LP, Piro R. 2003. Unifloral Honeys: Quality Standards, XXXVIII. Congress of Apimondia on Beekeeping, August 24-29, Ljubljana, Slovenia.
2. Iglesias MT, Lorenzo C, Polo MC, Martin-Alvarez PJ, Pueyo E, 2004. Usefulness of aminoacid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area, Journal of Agricultural Food Chemistry, 52: 84-89.
3. Hermosin I, Chicon RM, Cabezudo MD, 2003. Free amino acid composition and botanical origin of honey, Food Chemistry, 83 (2) 263-268.
4. Cometto PM, Faye PF, Paola-Naranjo RD, Rubio MA, Aldao MAJ, 2003. Comparison of free amino acids profile in honey from three Argentinian regions, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (17) 5079-5087.

Teşekkür

Bu çalışmaya numune ve finansman sağlayarak sponsor olan **Balparmak** Firmasına teşekkür ederiz.