

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

**APİTERAPİK DEĞERİ YÜKSEK BAZI ARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN VE
ANTIİNFLAMATUAR ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Kübra ŞAHİN

ŞUBAT 2017

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /

Tezin Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

Trabzon

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Kimya Anabilim Dalında
Kübra ŞAHİN Tarafından Hazırlanan**

**APİTERAPİK DEĞERİ YÜKSEK BAZI ARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN VE
ANTIİNFLAMATUAR ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 24 / 01 / 2017 gün ve 1686 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI

Üye : Doç. Dr. Oktay YILDIZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Barbaros DİNÇER



Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezim 114Z370 kod ve "Apiterapik Amaçlı Arı Ürünlerinin İncelenmesi ve Tüketilebilir Yeni Karışımlarının Hazırlanması" adlı TÜBİTAK 1001 projesi olarak yürütüldü ve yapılan çalışmaların bir kısmı yüksek lisans tezi olarak bu çalışmada kullanıldı. Ayrıca yüksek lisans eğitimin boyunca bursiyer olarak da desteğini aldığım Tübitak' a teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisansım boyunca maddi manevi yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarım boyunca beni sürekli teşvik eden, yüzündeki tebessümüyle her daim yanımda hissettiren çok kıymetli hocam Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI'ya, üzerimde hakkı çok fazla bulunan Yrd. Doç. Dr. Zehra CAN'a, başımız sıkıştığında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ŞAHİN'e, her daim tecrübelerini paylaşan Doç. Dr. Oktay YILDIZ'a, her nazımı çekip bana birçok şey öğreten sevgili laboratuvar arkadaşım Hilal Ebru ÇAKIR'a, maddi manevi yardımcı olan biricik aileme, güler yüzlü hocalarıma, laboratuvar arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

Kübra ŞAHİN

Trabzon, 2017

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Apiterapik Değeri Yüksek Bazı Arı Ürünlerinin Antioksidan ve Antiinflamatuvar Özelliklerinin Araştırılması" başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI'ın sorumluluğunda tamamladığımı, deneyleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 09/02/2017

Kübra ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar (ÇİZELGELER) DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Arı Ürünleri.....	2
1.2.1. Balın Genel Özellikleri ve Kimyasal Bileşimi.....	2
1.2.2. Balın Sınıflandırılması.....	3
1.2.3. Polenin Yapısı ve Özellikleri.....	5
1.2.4. Propolisin Yapısı ve Özellikleri.....	6
1.2.5. Arı Sütü ve Özellikleri.....	7
1.2.6. Arı Zehri ve Özellikleri.....	7
1.3. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Polifenoller.....	8
1.4. Enzimler.....	11
1.4.1. Enzim İnhibisyonu ve IC ₅₀	12
1.4.2. Hyaluronidaz Enzimi ve Hyaluronik Asit.....	13
1.5. Literatür Özeti.....	15
1.5.1. Bal.....	15
1.5.2. Polen.....	17
1.5.3. Propolis.....	17
1.5.4. Arı Sütü.....	18
1.5.5. Arı Zehri.....	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	19
2.1. Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Gereçler.....	19

2.2.	Kimyasal Madde ve Malzemeler.....	19
2.3.	Çözeltiler.....	20
2.4.	Numunelerin Temini ve Saklama Koşulları.....	23
2.5.	Antioksidan Analizler.....	24
2.5.1.	Toplam Fenolik Madde Tayini.....	24
2.5.2.	Toplam Flavonoid Madde Tayini.....	25
2.5.3.	Demir (III) İndirgeme Antioksidan Güç (FRAP) Tayini.....	25
2.5.4.	DPPH Radikalini Temizleme Aktivitesi Tayini.....	26
2.5.5.	ABTS• Radikalini Temizleme Aktivitesi Tayini.....	27
2.5.6.	SC ₅₀ Değerlerinin Bulunması.....	27
2.7.	Enzim İnhibisyonu.....	28
2.7.1.	Hyaluronidaz İnhibisyonu.....	28
2.8.	IC ₅₀ Değerlerinin Bulunması.....	29
2.9.	İstatistik Çalışmaları.....	29
3.	BULGULAR.....	30
3.1.	Antioksidan Test Sonuçları.....	30
3.1.1.	Toplam Polifenol Miktarı Tayini.....	30
3.1.2.	Toplam Flavonoid Miktarı Tayini.....	31
3.1.3.	FRAP Tayini (Demir III İndirgeme Potansiyeli).....	32
3.1.4.	DPPH• Temizleme Aktivitesi.....	33
3.1.5.	ABTS• Temizleme Aktivitesi.....	33
3.2.	İnhibisyon Sonucu.....	35
3.2.1.	Hyaluronidaz İnhibisyon Sonucu.....	35
4.	TARTIŞMA.....	37
5.	ÖNERİLER VE SONUÇLAR.....	44
6.	KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans Tezi
ÖZET

APİTERAPİK DEĞERİ YÜKSEK BAZI ARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN VE
ANTIİNFLAMATUAR ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kübra ŞAHİN

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI
2017, 61 Sayfa

Türkiye bulunduğu coğrafik yapısı itibariyle çok değişik tür ve çeşitte arı ürünlerine ev sahipliği yapmaktadır. Tamamlanan tezde Türkiye florasına ait bazı arı ürünlerinin apiterapötik fonksiyonları aydınlatıldı. Bu amaçla 5 farklı monofloral bal (kestane, püren, çam, meşe, karabuğday) ile üç farklı propolis (Trabzon, Kars ve Balıkesir), üç farklı polen (Balıkesir, Anzer, Erzurum) ile arı sütü ve arı zehri örneklerinin biyolojik aktif potansiyelleri antioksidan, ve antiinflamatuvar aktiviteleri yönünden *in vitro* olarak belirlendi. Bu çalışmada arı ürünlerinin antioksidan aktiviteleri açısından propolis>polen>bal>arı sütü>arı zehri şeklinde bir sıralama gösterdikleri tespit edildi. Tezde kullanılan balların biyolojik aktivitelerinin kestane>meşe>püren>çam=karabuğday sıralamasında olduğu deneylerle bulunurken balın rengi ile toplam fenolik madde miktarları arasında yüksek bir korelasyon olduğu gözlemlendi. Bal, polen, propolis ve arı sütünün antiinflamatuvar ajan olarak insan testis hyaluronidaz enzimine karşı değişen IC₅₀ değerlerinde inhibisyon gösterdikleri tespit edildi. Özet olarak, arı ürünlerinin insan sağlığını koruma ve tedavi etmede oldukça yüksek potansiyele sahip olduğu, bu doğal ürünlerin daha etkili bir şekilde kullanılması için daha ileri *in vivo* çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apiterapi, antioksidan, antiinflamatuvar, arı ürünleri

Master Thesis
SUMMARY

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIINFLAMMATORY PROPERTIES
OF BEE PRODUCTS WITH HIGH APITHERAPICAL VALUE

Kübra ŞAHİN

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI
2017, 61 Pages,

Because of its geographical location, Turkey houses a large variety of bee products. In the completed thesis, the apitherapeutic functions of some bee product from the Turkey flora have been investigated. In this regard, five monofloral honey samples (chestnut, heather, pine, oak, and buckwheat), three different propolis samples (Balıkesir, Kars, and Trabzon), three different pollens (Anzer, Balıkesir, and Erzurum) along with samples of royal jellies and bee venom were tested *in vitro* for their bioactive potentials including antioxidant and anti-inflammatory. In this thesis, the bee products are arranged for their potentials as follows: propolis > pollen > honey > royal jelly > bee venom. The bioactive potentials of honey samples were determined to be chestnut > oak > heather > pine > buckwheat. Darker color honey samples had more bioactive potential, which was also positively correlated with the total phenolic contents. Honey, pollen, propolis and royal jelly demonstrated varying anti-inflammatory activities (IC₅₀) as measured by their anti-human testicular hyaluronidase effects. In conclusion, this *in vitro* study demonstrated that bee products have significant therapeutic and prophylactic potentials for some conditions in humans, which require further *in vivo* confirmation.

Keywords: Apitherapy, antioxidant, anti-inflammatory, bee products

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	Hyaluronidaz Enziminin 3 Boyutlu Yapısı.....	13
Şekil 2.	Hyaluronik Asidin Formülü.....	14
Şekil 3.	Toplam Fenolik Madde Miktarı İçin Kalibrasyon Grafiği.....	30
Şekil 4.	Toplam Flavonoid Miktarı İçin Kalibrasyon Grafiği.....	31
Şekil 5.	FRAP Tayini İçin Kalibrasyon Grafiği.....	32



TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.	Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması.....	9
Tablo 2.	Polifenollerin Sınıflandırılması.....	10
Tablo 3.	Flavonoidlerin Genel Karbon İskeletleri ve Taşıdıkları Substutüentleri.	11
Tablo 4.	Kullanılan Cihaz ve Gereçler, Marka/Modelleri.....	19
Tablo 5.	Kullanılan Kimyasallar ve Kimyasalların Satın Alındığı Firma.....	20
Tablo 6.	Kullanılan Çözeltiler ve Çözeltilerin Hazırlanışları.....	21
Tablo 7.	Toplam Polifenol Tayininde Yapılan Pipetleme İşlemi.....	24
Tablo 8.	Toplam Flavonoid Tayininde Yapılan Pipetleme İşlemi.....	25
Tablo 9.	FRAP Tayininde Yapılan Pipetleme İşlemi.....	26
Tablo 10.	DPPH Yöntemi İçin Yapılan Pipetlemeler.....	26
Tablo 11.	ABTS Yöntemi İçin Yapılan Pipetlemeler.....	27
Tablo 12.	Hyaluronidaz İnhibisyonunda Yapılan Pipetleme İşlemi.....	28
Tablo 13.	Balların Antioksidan Sonuçları.....	34
Tablo 14.	Polenlerin Antioksidan Sonuçları.....	34
Tablo 15.	Propolis Numunelerinin Antioksidan Sonuçları.....	34
Tablo 16.	Arı Sütü Numunelerinin Antioksidan Sonuçları.....	35
Tablo 17.	Anti-hyaluronidaz Aktivite Sonuçları.....	36

SEMBOLLER DİZİNİ

ABTS	2,2'-azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
BSA	Bovin Serum Albümin
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	Demir (III) İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GSH	Redükte Glutasyon
IC ₅₀	% 50 İnhibisyon Konsantrasyonu
Km	En Yüksek Reaksiyon Hızının Yarısının Elde Edildiği Substrat Konsantrasyonu
µmol	Mikromol
nm	Nanometre
OH	Hidroksil Grubu
pH	Hidrojenin İyonu Aktivitesi
RNA	Ribonükleik Asit
SC ₅₀	Radikalin %50'sini süpüren konsantrasyon
TEAC	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
TF	Toplam Flavonoid Madde
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TFM	Toplam Fenolik Madde
TPTZ	Tripridiltriazin
Troloks [®]	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
QE	Quercetin Eşdeğeri
Kuersetin	3,3',4',5,7-Pentahidroksi Flavon Hidrat
U	Ünite
UV-VIS	Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi
α	Alfa
β	Beta
%	Yüzde
•	Radikal

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Son yıllarda dünyada 'apiterapi' adı verilen arı ürünleri ile tedavi yöntemleri hızlı bir gelişme göstermeye başlamıştır. Arı ürünleri ile yapılan her türlü koruyucu, tedavi edici alternatif tıp uygulamalarına apiterapi adı verilmektedir. Bal, polen, propolis, arı sütü ve arı zehri birer arı ürünleri olup insanoğlu tarafından asırlarca apiterapik amaçlar için kullanılmıştır.

Kimyasal ve biyolojik açıdan herhangi bir zararlı reaksiyon ya da organizma üzerinde kontrol edici etki gösteren, onu zararsızlaştıran veya yok eden etkilerin hepsine biyolojik etkinlik, biyolojik açıdan etkin maddelere de biyolojik aktif maddeler veya biyoaktif maddeler denir. Arı ürünlerinin tamamı oldukça yüksek biyoaktif özellik gösteren bileşikler bünyesinde bulundurmaktadır (Küçük vd., 2007; Eraslan vd., 2008; Sarıkaya vd., 2009). Bal, polen, propolis, arı sütü, balmumu ve arı zehri temel arı ürünlerinden olup her birinin ayrı ayrı biyolojik önemi bulunmaktadır. Bu sebeple bal, polen ve propolisin biyolojik değeri başta antioksidan aktivite olmak üzere, antibakteriyel, anti-inflamatuvar, antikanserojen, antimikrobiyal, antiviral etkilerinin aydınlatılması açısından çok değerlidir. Apiterapik ürünlerin biyolojik potansiyelleri toplandıkları bölgenin coğrafik ve floral özelliklerine bağlı olarak değişim gösterir (Kaskoniene, 2010). Türkiye bulunduğu coğrafik konumdan dolayı dünyanın önde gelen coğrafik bölgelerinden biri olup, ülkemiz arıcılık potansiyeli ve bal üretimi bakımından dünyada ön sıralardadır. Ancak gerek apiterapik yönden ve gerekse ürünlerin tanıtımı bakımından ön planda değil ve dünyadaki tanınırlığı bakımından hak ettiği yeri almamıştır.

Çalışmamızın amacı, ülkemiz florasına ait ve biyolojik aktif potansiyeli yüksek olduğu düşünülen arı ürünlerinin apiterapik etkinliklerini araştırmak, ortaya çıkarmak, birbirleri ile karşılaştırmak ve apiterapik potansiyeli yüksek ürünleri belirlemektir. Bu amaçla biyolojik aktif potansiyeli yüksek ballar (kestane, püren, meşe, çam ve karabuğday) ile polen, propolis, arı sütü ve arı zehrinin hyaluronidaz enzim üzerine etkileri ve antioksidan özellikleri çalışılmıştır. Sonuç olarak bu ürünlerin antiinflamatuvar özellik gösterebileceği düşünülmüştür.

1.2. Arı Ürünleri

1.2.1. Balın Genel Özellikleri ve Kimyasal Bileşimi

Türk Gıda Kodeksi'nin (TGK) 2012/58 sayılı Bal Tebliği'ne göre bal: Bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirilerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal ürünü ifade eder. Balın bileşimine bakıldığında, yaklaşık olarak % 70- 80 oranında karbohidrat olup ve bu karbohidratların büyük çoğunluğu fruktoz ve glukoz olduğu az miktarda mono-, di- ve oligo- sakkaritler içermekte olup, % 18- 20 oranında su ve % 1- 2 oranında ise proteinler, organik asitler, fenolik bileşikler ve mineral maddelerden oluştuğu görülür (Saxena vd., 2010). Çiçek balları ve salgı ballarında kuru maddenin çoğunluğunu fruktoz ve glukoz monosakkaritleri oluşturmaktadır. Yapılan çeşitli bal çalışmalarında miktar açısından fruktozun glukozla göre daha çok olduğu pek az balda (*Brassica napus*) balı gibi glukoz miktarı daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Cavia vd., 2002). Balın şeker içeriği balın çeşidine göre ve florasına göre değişim göstermektedir. Sorkun ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada çiçek ballarında şeker bileşimi % 34,29 fruktoz ve % 27,04 glukoz, salgı ballarında ise, % 37,49 fruktoz ve % 31,55 glukoz içeriği belirlenmiştir (Sorkun vd.,2002).

Balın zayıf asidik özellik göstermesinde yapısında bulunan organik asitler ve asidik tuzlar rol oynamaktadır. Balın pH'sı 3,5- 5,5 arasında değişim göstermekte olup balda bulunan asit bileşeni, glukoz oksidaz enzim faaliyeti sonucu meydana gelen glukonik asitdir. Diğer asitler ise formik asit, bütirik asit, sitrik asit, laktik asit ve tartarik asit olduğu çeşitli araştırmalar sonucu ortaya konmuştur. Balda bulunan asitler balın lezzetine etki etmekte, olgunlaşmasına katkı sağlamakta ve aynı zamanda balı mikroorganizmalara karşı dayanıklı hale getirmektedir (Bogdanov vd., 2004; Ulusoy, 2010). Bal, enzimler bakımından oldukça zengin olup başlıca bilinen enzimleri diastaz (amilaz), invertaz (sakkaraz), katalaz, fosfataz ve ayrıca glukoz oksidaz ve fosfatazların bir kısmı, nektardan ve yaprak bitkilerinin yaprak üstüne salgıdan, büyük bir kısmı ise arıların tükrük bezi salgılarından meydana gelmektedir. İvertaz (sakkaraz) enzimi, nektarın bala dönüşmesindeki kimyasal değişimlerin çoğundan sorumludur. Bu enzim nektardaki sakkarozun, fruktoza ve glukozla dönüşümünü sağlamaktadır. Önemli olan diğer bir enzim olan glukoz oksidaz enzimi glukozu okside

ederek hidrojen peroksit ve glukonolakton oluşmaktadır. Oluşan hidrojen peroksit bala antibakteriyal aktivite kazandırmaktadır (Molan, 1992; Roderick, 1999).

Balın rengi balda bulunan polifenoller ve minarelerden kaynaklanmaktadır. Bal, genellikle saydam renkten başlayıp, koyu kırmızıya kadar kahverengi hatta siyaha kadar uzanan farklı renklere sahiptir (Bogdanov vd., 2004). Balın rengi dünya piyasasında bal fiyatlarını tayin eden faktörlerden biri olup balın tüketici tarafından kabul edilmesi ile ilişkilidir (Gonzales vd., 1999). Salgı balları ve koyu renkli ballar da mineral içeriği açık renkli ballara göre daha zengindir (Kolaylı vd., 2008). Balın mineral bileşimi % 0,02- 1 arasında değişim göstermekte ve başlıca K, Ca, P, Mg, olmak üzere iz miktarda Fe, Cu, Zn, Se, F ve Cl bulunmaktadır (Rashed ve Soltan, 2004; Yao vd., 2004; Chudzinska ve Baralkiewicz, 2010).

Bal, yapısında bol miktarda aminoasit içermektedir. Çiçekli ballarda aminoasit içeriği % 0,3 iken salgı ballarında % 1 civarında olduğu rapor edilmektedir. Balda yaklaşık olarak 17 tane aminoasit tespit edilmiş olmakla birlikte bunların başında prolin gelmektedir. Diğer aminoasitler de lisin, histidin, arginin, aspartik asit, treonin, glutamik asit, glisin, alanin, sistein, valin, metionin, izolösin, lösin, tirozin, fenilalanin, triptofan şeklinde balın içerisinde yerini almaktadır. Balda miktarı en yüksek olan prolin, kollagen ve elastinin yapısında bulunan hidroksprolinin ön maddesidir (Kalaycıoğlu vd., 2006). Prolin bitkilerde çeşitli miktarlarda bulunmasından dolayı şeker grubu ile beslenen arılardan elde edilen bal ile, nektardan elde edilen balın ayrılmasında kriter olarak kullanılmaktadır (Guler vd., 2007).

Balın su içeriği, balın olgunluğunu ve raf ömrünün değerlendirilmesinde çok önemli yer tutar. Baldaki su oranının yüksek olması balın daha kolay bozulmasına sebep olmaktadır. TGK Bal Tebliğine göre, baldaki su oranı % 20'den az olmalıdır (Bal Tebliği, 2005).

1.2.2. Balın Sınıflandırılması

Ballar kaynağına göre bitki nektarlarından elde edilen “çiçek balları” (Yonca balı, narenciye balı, kestane balı, kekik balı, kiraz balı) ve bitkiler üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin (Hemiptera) salgılarından elde edilen “salgı balları” (çam balı, meşe balı) olmak üzere gruba ayrılırken, üretilip pazara sunulmuş şekillerine göre petekli, süzme, petekli süzme, sızma, pres ve filtre edilmiş bal olarak adlandırılırlar. Bu kaba gruplandırmaya ilaveten balların orijinlerine göre sınıflandırılması da büyük önem arz eder (Türk Gıda Kodeksi, 2012).

Türkiye dünyada en fazla çam balı (*Pinus L.*) üreten ülke olup Ege, Batı Marmara ve Akdeniz Bölgesi'nde üretim yapılmaktadır. Avrupa Birliği, en önemli çam balı ithal eden ülkelerden biridir. Türkiye'de çam balı üretiminin en yüksek olduğu yerler böceğin en yaygın ve yoğun olarak bulunduğu Muğla ve çevresindeki illerdir (Tanakani vd., 2007; Tornuk vd., 2013).

Meşe balı (*Quercus spp. L.*) meşe ağacının yapraklarından stres şartlarına bağlı olarak çıkan çeşitli maddelerden oluşan bir salgı balıdır. Koyu renkli, kolay kristalize olmayan bir bal olup kendine has aroması, bulunur. Ülkemizin Batı Trakya Bölgesinde ve özellikle Kırklareli çevresinde yoğun olarak üretilen bir orman balıdır. Literatürde yapılan çalışmalarda Bulgaristan ve Balkanlarda yoğun şekilde üretildiği bir salgı balı olduğu ve yüksek fenolik madde miktarına ve ona bağlı antioksidan kapasiteye sahip bal olduğu rapor edilmektedir (Simova vd., 2012; Tuberoso vd., 2013). Meşe balı oldukça koyu renkli bir baldır ve polifenolik bileşenleri açısından oldukça zengindir.

Püren veya halk arasında süpürge çalısı olarak da bilinen (*Calluna vulgaris*) ülkemizde Batı Ege, Çanakkale, Akdeniz bölgesinin bitki türüdür ve yoğun olarak sonbahar aylarında bal üretimi yapılmaktadır. Literatürde püren balına ait çalışmalar mevcut olup balın yanık şeker kokusu ve tadın da olduğu ve Balkanlar'dan İtalya, Portekiz ve İspanya'ya kadar yayılım göstermektedir. Yapılan çalışmalarda püren balının yüksek fenolik madde içerdiği ve antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu bildirilmektedir (Castro-Vázquez vd., 2009; Alves vd., 2013; Jasicka-Misiak vd., 2012). Püren balı koyu renkli bir bal olup balın renginin yapısında bulunan çeşitli polifenolik ajanlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ülkemiz florasına ait püren balları üzerine detaylı çalışma bulunmazken literatürde daha çok Balkanlar, İtalya, İspanya, Portekiz, Slovenya gibi ülkelerde püren ballarının yüksek polifenolik madde miktarı ve ona bağlı yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu bildirilmektedir (Jasicka-Misiak vd., 2012; Alves vd., 2013).

Kestane balı (*Castanea sativa mill.*) Karadeniz, Marmara ve Trakya bölgelerini içine alan geniş bir bölgede üretilen bir baldır. Mayıs, haziran aylarında açan çiçekleri arılar için çok iyi nektar ve polen kaynağı olup koyu renkli bir baldır. Kolay kristalize olmayan kestane balını ülkemizde insanlar ilaç niyetine tüketmektedir. Türkiye florasına özgü ballardan en fazla üzerinden araştırma yapılan ballardan bir olan kestane (Küçük vd., 2007; Tezcan vd., 2011; Sarıkaya vd., 2009) balının tıbbi ve biyolojik aktif değerinin dünyada öne çıkan ballardan daha yüksek olduğuna inanılmaktadır, ancak bir karşılaştırma çalışması mevcut değildir (Kropf vd., 2010; Andrade vd., 1997; D'Arcy, 2005).

Karabuğday balı değerli bir bal olup ülkemizde tanınırlığı ve üretimi çok sınırlıdır. Oysa Avrupa ülkelerinde karabuğday ekimi ile birlikte balı da üretilmekte ve balın yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Isidorov vd. 2015).

1.2.3. Polenin Yapısı ve Özellikleri

Polenler çiçekli bitkilerin erkek organlarında meydana gelen üreme üniteleri olup bitkinin erkek gametini (bu nedenle erkek DNA) dışı gamete taşıyan bir yapıdır ve mükemmel bir gıda olarak da kabul edilmektedir (Krell, 1996). Polenler bu taşınma sırasında erkek gametini çok iyi korumuş, sıkıştırılmış binlerce mikroskobik polen taneleri (genellikle 15-100 mikron) içermektedir. Bal arılarının larva sonrası yavru yetiştirmesinde ve gençlik dönemlerinde dokularının, kaslarının, salgı bezlerinin ve diğer organlarının yeterince gelişmesi için gerekli olan protein, lipit, sterol, vitamin ve mineralleri sağlayan en önemli besin maddesidir (Konar, 2010; Erdoğan ve Dodologlu, 2005; Schimidt,1997; Pernal ve Currie,2001; Calderone ve Johnson, 2002; Dobson ve Peng,1997). Polenler arılar tarafından bitkilerden toplandığı zaman genellikle bir miktar nektar ile veya kusarak çıkardıkları bal ile karıştırılarak yapışkanlık kazandırılır ve pellet (topak) halini alması sağlanır. Polenlerin kısmen tatlı olmasının da bu sebepten kaynaklandığı bilinir. Bazı polen tipleri yapılarında nektar ve bal bulunmaksızın zengin yağ içeriğine de sahiptir.

Yiyecek toplayan bir bal arısı nadiren birden fazla çiçekten polen ve nektar toplar. Bu nedenle arıların arka bacaklarındaki bir polen pelleti yalnızca bir veya bir kaç polen çeşidi içerir. Bunun bir sonucu olarak polen pelletleri tipik bir renge sahiptir. En yaygın rastlanılan polen renkleri sarı, kırmızı, mor, yeşil, portakal rengi ve diğer çeşitli renklerdir (Yıldız, 2011).

Polenin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin toplandığı bitkiye, bölgenin coğrafik konumuna, iklim özelliklerine, toplanma şekline ve ambalaj şekline bağlı olarak değişim gösterdiği bildirilmektedir (Karataş vd., 2000). Bal arıları poleni farklı bitkilerden topladığı için polenin kimyasal kompozisyonu da oldukça farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle polenin standart bir bileşiminin ortaya çıkartılması oldukça zordur. Genel olarak polen; %7,50-40,0 protein, %15,0-50,0 şeker içermekte olup, %15,0 ile %50,0 arasında değişen ve oldukça yüksek miktarda nişasta ihtiva etmektedir (Krell, 1996). Proteinler, aminoasitler, yağlar ve şekerler polenin ana bileşenlerini oluşturur ve polen yapısında çok

fazla sayıda iz miktarda bulunan elementler ise bal arılarının da ihtiyaç duymuş olduğu Na, K, Ca, Mg, Cl, P, Fe' dir.

Gıda olarak kullanılan polenler arıcılar tarafından kovanlara ilave edilen polen tuzakları ile toplanmaktadır. Bu polenler arıcılar tarafından kurutulularak veya dondurularak muhafaza edilir, yerine göre satılarak, yerine göre de mevsim dışında arıların beslenmesinde ve kek üretiminde kullanılmaktadır.

1.2.4. Propolisin Yapısı ve Özellikleri

Propolis, arıların kovanın savunmasında, dezenfeksiyonunda ve yalıtımında kullandıkları ve bitkilerden topladıkları reçinemi bir madde olup % 50 reçine ve zamksı maddeler, % 30 bitkisel mumlar, % 10 esansiyel yağ asitleri, % 5 polen, % 5 organik bileşiklerden oluşan arı ürünüdür (Gomez-Caravaca vd., 2006; Burdock, 1998). Başka bir şekilde tanımlayacak olursak propolis, bal arılarının bitki tomurcuk ve filizlerinden topladığı reçineleri bal mumu ve tükürük salgıları ile karıştırarak elde ettikleri bir üründür (Bankova vd., 2002; Hegazi, 1998).

Propolisin çok eski yıllardan beri geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı ve antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu birçok bilimsel çalışma ile gösterilmiştir (Albayrak ve Albayrak, 2008). Genel olarak propolis koyu sarı, yeşil ve koyu kahverengiye doğru değişen renklerde bulunabilir ve yaşı arttıkça rengi koyulaşmaktadır (Saraç, 2013). Yaklaşık olarak 60–70°C arasında erime noktasına sahip olan propolis düşük sıcaklıklarda sert veya donmuş olarak bulunabilir ayrıca 0°C'de kırılgan özelliğe sahiptir (Woo ve Park, 1997; Burdock, 1998; Banskota vd., 2002; Ghisalberti, 1979).

Propolisin çözünürlüğü su ve organik çözücülerde düşük, alkollerde ise yüksek orandadır (Campos vd., 1997). Son yıllarda biyoaktif özelliklerinden daha iyi yararlanabilmek için kritik ekstraksiyon yöntemleri denenerek sulu çözeltileri elde edilebilmektedir (Nagai vd., 2003).

Propolisin kalitesi toplanma şekline göre farklılık göstermektedir. Mesela propolis tuzakları ile toplanan propolislerin çerçevelerden kazınarak alınan propolislerden daha kaliteli olduğu, büyük çatlaklardan toplanan propolislerin nispeten mum içeriğinin fazla olması nedeniyle daha az kalitesi olduğu bildirilmektedir (Kutluca vd., 2008).

Zaman ilerledikçe propolisin günlük hayatta kullanımının arttığı görülmektedir. Diş macunlarında, kremlerde, öksürük şuruplarında ve bazı gıdalarda katkı maddesi olarak propolis yer almaktadır.

1.2.5. Arı Sütü ve Özellikleri

Arı sütü jel kıvamında olup homojen bir maddedir. Sarı, beyaz ve bej renklerde, fenolik bir kokuya ve ekşi bir tada sahiptir (Lercker vd., 1992). Temel anlamda arı sütü, 5 ila 15 günlük işçi bal arıları tarafından ana arıyı yani kraliçe arıyı beslemek amacı ile yutak altı adlı bezeleri içerisinden salgıladıkları bir bal arısı ürünüdür. Arı sütü yaklaşık olarak %12-15 protein, %10-16 karbohidrat, %3-6 lipit ve geri kalan %60-70 oranda vitamin, tuz, serbest amino asitler ve nem gibi pek çok madde içermektedir (Tamura vd., 2009; Nagai ve Inoue, 2004).

1.2.6. Arı Zehri ve Özellikleri

Arı zehri, işçi arıların zehir bezlerinde ürettikleri ve zehir torbasında depoladıkları 50'nin üzerinde bileşene sahip kompleks yapıda bir karışımdır. Bu bileşenlerin büyük bir kısmını peptitler oluşturmaktadır ve mellitin, apamin, adolapin, mast-cell degranulating (MCD) peptitler, enzimler (fosfolipaz A2), biyolojik aktif aminler (histamin, epinefrin) ve nonpeptit komponentler, ona çeşitli farmakolojik özellikler kazandırmaktadır (Kwon vd., 2001; Son vd., 2007). Arı zehri uzun yüzyıllar Uzak Doğu'da (oriental medisin), tendonit (tendon iltihabı), bursitis (eklem kesesi iltihabı), romatoid artrit gibi çeşitli inflamasyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Billingham vd., 1973). Bileşenlerden en fazla oranda bulunan (%50) mellitin ve fosfolipaz (%10) lokal inflamasyondan sorumlu ajanlar olarak tanımlanmaktadır (Rached, vd.,2010; Nisbet vd., 2012). Biyokimyasal analizler bal arısı zehrinde en az 50 bileşenin bulunduğunu ve bunların büyük çoğunluğunun hidrolitik enzim aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Hyaluronidaz, fosfolipaz, asit fosfataz, esteraz, histamin, dopamin, noradrenalin bu içeriklerden bazılarıdır (de Abreu vd., 2010).

1.3. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Polifenoller

Son yörüngelerinde ortaklaşmamış elektron barındıran kısa ömürlü reaktif moleküller serbest radikal adını almaktadır. Bir atom ya da molekül bir alıcıya elektron verirse yükseltgenme meydana gelir. Yükseltgenme potansiyeli yüksek olan madde yükseltgenirken diğer madde indirgenir. İnsan vücudunda ve besinlerde bulunan lipidler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler de oksidasyona uğrayabilmekte ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşabilmektedir (Papaz, 1996). Bu durum oksidatif stres olarak ifade edilir. Reaktif türlerin zararlı etkilerinin temel sebebi radikal olmaları, radikal oluşumuna sebep olabilmeleri veya yükseltgenme potansiyellerinin daha yüksek olmalarından kaynaklanmaktadır. Serbest radikaller üç temel yolla oluşur (Akkuş, 1995; Onat vd., 2002): Bu oluşumlar kovalent bağların homolitik kırılması, bir molekülün elektron kaybetmesi ve bir moleküle tek bir elektron transferi ile gerçekleşmektedir.

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok hasara yol açmaktadır. Bu hasarlar şöyle sıralanabilir (Kehre ve Smith, 1994; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Yapılan pek çok çalışmada; ülseratif kolit (Dağlı vd., 1997), iskemi/reperfüzyon hasarı (Cruthirds vd., 2003; Taşçı vd., 1995), ateroskleroz (Halliwell ve Gutteridge, 1990), yaşlanma (Hipkiss, 2007), diabetes mellitus (Akkuş, 1995), Alzheimer hastalığı; Parkinson hastalığı (Dauer ve Przedborski, 2003; Mosley vd., 2006), sigara kullanımı (Zalata vd., 2007; Kösecik vd., 2005) ve hava kirliliğinin (Tao vd., 2003) neden olduğu rahatsızlıklar ve KOAH (Bowler vd., 2004) gibi akciğer hastalıkları, çeşitli kanser türleri, felç, hipertansiyon, romatoid artrit ve multiple sklerosis gibi otoimmün hastalıklar, alerji, astım, septik şok, inflamasyon, akut pankreatit, yaşlanmaya bağlı maküler hastalıklar ve katarakt (Anderson 2007; Halliwell, 1994; Halliwell ve Gutteridge, 1990) gibi klinik durumlara serbest oksijen radikallerinin katıldığı belirtilmiştir.

Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek oksidatif stresi yavaşlatan ya da durduran bileşenlerdir. Radikallerin zararlı etkisinden korunabilmek için canlıların sahip oldukları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar bulunmaktadır (Thomas, 1995; Blomhoff, 2005). Endojen (organizma tarafından sentezlenen) antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılır (Jerry vd., 2000). Enzimatik olanlar, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve hidroperoksidaz olup, enzimatik olmayan antioksidanlar ise, redükte glutatyon (GSH), bilirubin, ferritin, albumin, seruloplazmin, melatonin, sistein, metiyonin, laktoferrin, transferrin, haptoglobülin ve ürik

asit verilebilir. Eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) antioksidan ise daha çok bitkiler tarafından sentezlenen çeşitli vitamin (α -tokoferol, β -karoten, askorbik asit, folik asit) ve fenolik maddeler olup dışarıdan organizmaya alınıp etkinlik göstermektedirler (Saral, 2013; Kolaylı ve Keha 1999; Şahin, 2014). Bazı doğal antioksidanlar tablo 1'deki gibidir.

Tablo 1. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması.

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
	Endojen Antioksidanlar	Eksojen Antioksidanlar
Katalaz	Glutasyon (GSH)	Askorbik Asit (C Vitamini)
Glutasyon Peroksidaz	Ürik Asit	Tokoferoller
Glutasyon Redüktaz	α -Lipoik Asit	Karotenoidler
Glutasyon-S-Transferazlar	Laktoferrin, Ferritin	Polifenoller
Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz	Bilirubin	
	Melatonin	

Sekonder metabolitler olarak da ifade edilen fenolik bileşikler, bitkiler aleminde oldukça önem arz eden temel bileşenlerdir (Burns vd., 2001). Bitkiler metabolizma sırasına ve herhangi bir stres örneğinin yaralanma, zedelenme durumlarında fenolik bileşik üretirler. Tıbbi bitkilerde temel olarak bulunan fenolik asitler, flavonoidler, taninler, kumarinler, ligninler, kinonlar, stilbenler ve kurkuminoidler onların medikal özelliklerinden sorumlu ajanlardır. Aromatik yapıya sahip bu fenolik bileşikler basit fenoller, fenolik asitler (benzoik asit, sinamik asit türevleri), kumarinler, flavonoidler, stilbenler, hidrolizlenebilen kondanse taninler ve ligninler üretilir (Yıldız, 2011). Besinsel ve organoleptik açıdan önemli olan bu bileşikler, altı üyeli aromatik halkaya (benzen) direkt bağlı bir hidroksil grubu (-OH) içeren aromatik bileşenlerdir (Fang vd., 2007). Genel olarak basit fenoller ve polifenoller olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır. En basit fenolik bileşik bir tane hidroksil grubu içeren benzendir ve fenol olarak adlandırılmaktadır. Birden fazla hidroksil kökü içeren fenolik maddelere ise polifenoller denir. Özetle bilinen tüm fenolik bileşikler, basit fenollerdeki benzen halkasına farklı radikal grupların bağlanması ile oluşmuşlardır (Hallaç Türk, 2009; Karaçalı, 2002). Başlık bazında fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere 2 grup altında toplanmaktadır (Khoddami vd., 2013).

Benzen halkası içeren organik maddeler genel olarak fenolik bileşik olarak adlandırılmakta olup, bitkiler aleminde bulunan ikincil metabolitlerdir (Akalin, 2011).

Polifenoller; bitki dünyasının büyük bir kısmında mevcut olan, fitokimyasalların en geniş kategorilerinden birini oluşturan ve insan yaşamında gerekli olan bileşiklerdir. Besin fenolikleri; flavonoidleri, fenolik asitleri ve fenolik polimerleri içerir. Bitki polifenollerini multifonksiyonel bileşikler olup indirgeme aracı, hidrojen atom-donör antioksidanlar ve singlet oksijen söndürücü olarak, bazıları metal iyonu şelatlama sahip antioksidanlar olarak davranırlar (Rice-Evans, 1996). Fenolik asitler, hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asit şeklindedirler. Özellikle kaffeik asit ile onun esteri olan klorojenik ve ferulik asit gibi sinnamik asit türevleri çok yaygındır (Can, 2014). Polifenoller tablo 2’de sınıflandırılmıştır.

Tablo 2. Polifenollerin Sınıflandırılması

Polifenoller		
Flavonoid olmayan	Flavonoidler	Fenolik Asitler
Hidrolizlenebilir Tanenler	Flavonoller	Hidroksisinnamik asit türevleri
Kondanse Tanenler	Flavonlar	Hidroksibenzoik asit türevleri
	İzoflavonlar	
	Flavononlar	
	Antosiyaninler	
	Flavanoller	

Flavonoidler, bitkilerin ikincil metabolitlerindendir ve bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler renk, tat ve koku gibi organoleptik özelliklerden sorumlu oldukları için, analizleri önemli derecede ilginç yapan bu tür ürünlerin kalitesiyle yakından ilgilidirler (Fabre vd., 2001; Borbálan vd., 2003; Ulusoy, 2010). Bu bileşikler bitkinin büyüme ve gelişmesini etkiledikleri gibi, hastalık etmenlerine karşı savunma sisteminin de bir parçasını oluştururlar ve bitki pigmentleri olarak bilinirler. Flavonoidlerin farmakolojik, antimikrobiyal, antioksidan, antifungal, anti-inflamatuar, antialerjik, antikanserojen özelliklerinin olduğu da bilinmektedir (Hallaç Türk, 2009; Havsteen, 2002). Bazı flavonoidlerin genel yapısı ve taşıdıkları substituentleri tablo 3’te gösterilmiştir.

Flavonoid olmayan metabolitlerden biri de tanenlerdir ve tanenler bitki aleminde yaygın olarak bulunan ikincil metabolitlerdendir. Kolayca suda çözünebilir bir yapıya sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde ekstraksiyon ile elde edilebilirler.

Tablo 3. Flavonoidlerin genel karbon iskeletleri ve taşıdıkları substitüentleri

Flavonoid	R1	R2	R3	R4
Luteonil	H	H	OH	OH
Luteonil-7-O-glukozit	H	glc	OH	OH
Kamferol-3-O-soforozit	O-soph	H	H	H
Kuersetin-3-O-galokozit	O-gal	H	OH	OH
Galaegin	OH	H	H	H
Kuersetin-4'-O-glukozit	OH	H	OH	O-glc
Kuersetin	OH	H	OH	OH
Kamferol	OH	H	H	OH

1.4. Enzimler

Enzimler, canlılarda devam etmekte olan binlerce reaksiyonu hızlandıran ve reaksiyonu %100 ürün verimi ile sonuçlandıran biyolojik katalizörlerin genel adıdır. Enzimler reaksiyon sırasında fiziksel değişiklikler geçirseler de reaksiyon tamamlandığında, tekrar kendi orijinal hallerine dönerler (Murray, 1993). Enzimlerin etkiledikleri moleküllere substrat adı verilmektedir ve enzimler adlandırılırken substrat adının sonuna –az getirilir: esteraz, lipaz, hyaluronidaz, polifenoloksidaz... Enzimler etki ettikleri maddeler olan substratlar için oldukça spesifiktirler. Bazı enzimler benzer yapıda bir grup substrata etki ederken bazıları da tek bir molekül türü üzerine etki eder. Birçok enzim stereospesifite gösterir (Kalaycıoğlu, 2006). Enzimler canlı hücreler tarafından biyolojik koşullarda sentez edilirler fakat aktivite göstermeleri için canlı organizmaya ihtiyaç duymazlar.

Bazı enzimler katalitik aktivite göstermek için amino asit kalıntıları dışında kimyasal bir gruba ihtiyaç duymazken (apoenzim) bazıları da (holoenzim) kofaktör olarak adlandırılan Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} gibi bir veya daha fazla inorganik iyon ya da koenzim olarak adlandırılan kompleks organik veya metalorganik moleküllere ihtiyaç duyar. Bazı enzimler ise aktivite gösterebilmek için hem koenzime hem de bir veya daha fazla metal iyonuna ihtiyaç duyar. Protein yapısına kovalent olarak bağlanan bir koenzim veya metal iyonu prostetik grup olarak adlandırılır. Koenzimler çoğunlukla diyet ile düşük miktarlarda alınan organik besinler olan vitaminlerden temin edilirler (Nelson ve Cox, 2005).

Enzim aktivite birimi (ünite) genel olarak standart şartlarda 1 dakikada bir μ mol substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım Uluslararası

Biyokimya Birliği tarafından 1965 yılında kabul edilmiştir. Enzim aktivitesini etkileyen faktörleri pH, sıcaklık, substrat konsantrasyonu, aktivatör ya da inhibitör varlığı olarak sıralayabiliriz.

1.4.1. Enzim İnhibisyonu ve IC₅₀

Enzim aktivitelerinin azaltılması ya da tamamen durdurulması olayına inhibisyon, bu olaya neden olan iyon ya da bileşiklere inhibitör adı verilir. İnhibitörler, genellikle küçük moleköl ağırlıklı organik veya inorganik moleköl veya iyonlardır. Enzimatik aktivitenin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde başlı başına bir kontrol mekanizması oluşturur. Bu yüzden enzim inhibisyonu büyük bir önem arz etmektedir (Kuzucu, 2011). Bazı enzimlerin inhibisyonu anti-inflamatuvar, antitümöral, antikarsinojenik, antialerjik, anti-aging, anti-romatoid, anti-toksin, antimikrobiyal özellik sergiler (Hotaman, 2015). Enzimlerin inhibisyonu başlıca iki gruba ayrılır. Enzim inhibisyonları dönüşümlü ve dönüşümsüz inhibisyon olmak üzere iki kısımda incelenmektedir.

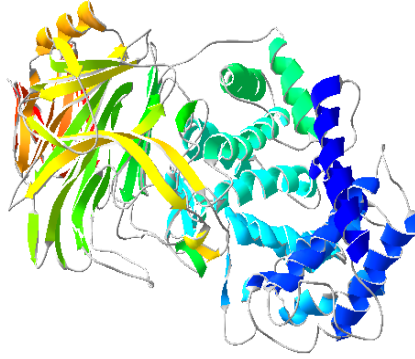
Dönüşümsüz inhibisyonda enzimin bir veya daha fazla fonksiyonel grubu etkilenir. İnhibitör, enzime kovalent olarak bağlanır veya kompleks oluşturur. V_{max} (enzimatik reaksiyonda ulaşılacak maksimum hız) azalır, K_m (enzimin substrata ilgisini gösteren sabit) değişmeden kalır (Güller, 2011).

Dönüşümlü inhibisyonda inhibitör madde ortamdan uzaklaştırıldığında enzim tekrar eski haline döner. Bu inhibisyon çeşidi yarışmalı (kompetitif), yarışmasız (nonkompetitif) ve yarı yarışmalı (unkompetitif) olmak üzere 3 çeşittir.

Enzim aktivitesini yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu IC₅₀ olarak tanımlanır. Bu çalışmada değişik konsantrasyonlarda inhibitör çözeltileri hazırlandı ve konsantrasyonlar dik koordinat sisteminde x eksenine yazıldı. Buna karşılık gelen % inhibisyon değerleri y ekseninde logaritmik olarak belirlendi. Düşük IC₅₀ değeri güçlü inhibisyon etkisini göstermektedir.

1.4.2. Hyaluronidaz Enzimi ve Hyaluronik Asit

Hyaluronidaz, yumuşak dokuların ekstrasellüler matriks yapısında görev alan ve tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşan hyaluronik asidi (hyaluronan) yıkan bir enzimdir. Hyaluronik asid (HA) embriyonel gelişimde, ekstrasellüler matriks homeostazında, yara iyileşmesinde, doku yenilenmesinde ve arteryel sertlikte de görülebilen arteryel düz kas hücre proliferasyonunda ve migrasyonunda önemli rol oynamaktadır (Abdesslam, 2000). Dokularda hyaluronidaz enzim aktivitesi artışının da dokulardaki yenilenme ve onarım işlemlerinde, vaskülarizasyon artışında ve tümör hücrelerinin kontrolsüz artışında rol aldığı düşünülmektedir (Franklin SS, 2001., Abdesslam, 2000). Ayrıca plazma hyaluronidaz ölçümü hyaluronik asidin metabolizma ve aktivitesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Kucur, 2009). Hyaluronidaz pek çok patolojik hastalıkla ilişkilidir ve onun inhibitörleri, anti-inflamatuar, anti-alerjik, anti-tümöral, anti-aging, anti-romatoid, anti-toksin, antimikrobiyal etki göstermektedir (Stern, 2008; Sunitha vd., 2013; Selenge vd., 2014). Toplamda beş hyaluronidaz enzimi (HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 ve hPH-20) mevcuttur (Stern, 2008). Hyaluronidaz ayrıca bakterilerde, bazı hayvan zehirlerinde ve spermelerde bulunmaktadır. Hyaluronidaz enziminin tersiyer yapısı Şekil 1'deki gibidir.

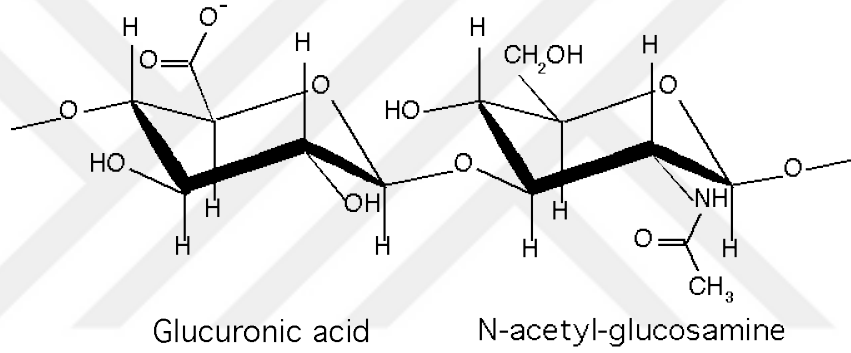


Şekil 1. Hyaluronidaz enziminin 3 boyutlu yapısı

Hyaluronidaz enzimi ile ilgili dünyada ve ülkemizde çeşitli çalışmalar (Bozkurt vd, 2003; Frost vd, 1997; Sawyer, 1986; Tanyıldızı ve Türk, 2003; Wilkinson vd, 1995) yürütülmüş olmasına rağmen ülkemizde arı ürünlerinin hyaluronidaz enziminin belirlenmesi üzerine yapılmış çalışmayalar nadirdir. Biz bu çalışmamızda arı ürünlerinin hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyonunu deneysel olarak tespit ettik. Wilkinson vd (1995) farklı yaş gruplarına ait insan plesantasındaki hyaluronidaz aktivitesinde farklılıklar olduğunu

açıklamışlardır. Toida vd (1999) florimetrik yöntemle sulfonat glikosaminoglikanların hyaluronidaz aktivitesi üzerine olan etkisini çalışmışlardır.

Hyaluronik asit bir ekstrasellüler matriks bileşenidir ve tekrarlayan glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin disakkarit ünitelerinin değişken olarak $\beta(1\rightarrow4)$ ve $\beta(1\rightarrow3)$ glikozidik bağlarla bağlandığı zincirlerden oluşan, yüksek ve düşük molekül ağırlıklı formları olan bir glikozaminoglikandır (Jennie ve Christine, 2004). Hyaluronik asit oldukça hidrofilik bir polimerdir ve su varlığında hacmi 1000 katına kadar çıkabilmektedir. Bu özelliği sayesinde de boşluk doldurucu, kaygan ve osmotik tamponlayıcı görevi görür. Poliyonik yapısı sayesinde de serbest radikalleri temizler ve antioksidan etki gösterir (Jennie ve Christine, 2004).



Şekil 2. Hyaluronik Asidin Formülü

Hyaluronik asit klinikte ve tedavi sürecinde önemli rol oynamaktadır. HA'nın artmış serum konsantrasyonları romatoid artrit gibi bazı hastalıkların ilerlemesi ile ilişkilidir. HA böbrek ve karaciğer transplantasyonlarının başarısını değerlendirmede de kullanılmıştır. HA'nın yüksek konsantrasyonlarının tümör gelişimi ve metastaz oluşumu ile ilişkili olduğu saptanmıştır ve kanserli hastaların prognozunu belirlemede negatif öngörücü olarak kullanılabilir. HA'nın pek çok hastalıkta ve cerrahi uygulamada tedavi seçeneklerinden biri olarak klinik kullanımı da mevcuttur. Ayrıca HA'nın özelliklerinde değişiklikler olmasının ateroskleroz ve restenoz gibi vasküler hastalıklar ile ilişkili olduğu da bilinmektedir (Jennie ve Christine, 2004).

Serumdaki hyaluronik asit seviyesinin enfeksiyonlar sırasında yükseldiği ve bu yükselişin klinik olarak ateşli aktivitede yararlı olacağı rapor edilmiştir. Hyaluronidaz, hyaluronik asidin dengelenmesinde önemli bir görev üstlenmektedir (Şahin, 2006). Hyaluronik asidin bir diğer etkisi de ekstrasellüler matriks içerisinde kollagen metabolizmasını etkileyerek vasküler sertliğe yol açmasıdır. Aşırı HA üretiminin olduğu

transjenik sıçanlarda yapılan çalışmalarda HA'nın aort tunica media tabakasında birikiminin aort gerilimini ve mekanik sertliği arttırdığı saptanmıştır (Chai vd., 2005). Sonuç olarak, normal koşullar altında HA yapım ve yıkımı bir denge halinde kontrol edilmektedir ve bu denge bozulduğunda vasküler bozuklukların oluşabileceği düşünülmektedir (Tammi vd., 2002).

Çeşitli flavonoidlerin potansiyel hyaluronidaz inhibitörü oldukları gösterilmiştir (Kuppusamy vd., 1990; Kuppusamy ve Das, 1991). Havyan deneylerinde flavonoidlerin anti-inflamatuar, anti-alerjik aktivite, lipid peroksidasyonunu, RNA, DNA protein sentezlerini, antiviral aktivite, kılcal kırılabilirliği, tümör inhibisyonu ve patolojik süreçlerde çeşitli enzimler üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir (Harbone, 1986; Ferrel vd., 1979; Vanden Berghe vd., 1993; Parellada ve Guinea, 1995).

Hyaluronidazın inhibitörünün metal tuzları (Meyer ve Rapport, 1951), benzimidazol ve indoller (Rigden vd., 2006), sığır serum albümin (BSA) (Maingonnat vd., 1999), triterpenler ve flavonoidler (Kuppusamy vd., 1990; Hertel vd., 2006), 6-*o*-açıl vitamin C türevleri (Botzki vd., 2004; Spickenreither vd., 2006) gibi farklı bileşiklerin olduğu belirlenmiştir.

1.5. Literatür Özeti

1.5.1. Bal

Bilinen en saf, en tatlı, en şifalı, en dayanıklı ve en lezzetli ürünlerden biri bal olup insanlar tarafından besin ve şifa kaynağı olarak kullanımına dair 4000 yıllık geçmişe sahiptir. Sümerli hekimlerin tabletlerinde, Eski Mısır tıbbi metinlerinde, büyük hekim İbn-i Sina'nın kitabında (El-Kanun Fit-Tıb), Çin, Hint, Yunan ve Roman medeniyetlerinde binlerce reçetenin içeriğinde olduğu bilinen bir arı ürünüdür (White vd., 1975).

Literatürde balın biyolojik aktif değeri ile ilgili binlerce araştırma bulunmaktadır ve bu araştırmalarda öne çıkan bazı bal türlerinin antioksidan kapasiteleri, antimikrobiyal aktivitelerinin diğer ballardan çok daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Yeni Zelanda'nın Manuka balı (Aljadi ve Kamaruddin 2004; Akhmazillah vd., 2013), Malezya'nın Gelam balı (Aljadi ve Kamaruddin, 2004).

Balın yaklaşık olarak %1 oranda içerdiği çeşitli sekonder metabolit ajanların büyük çoğunluğunu polifenol ailesi oluşturmaktadır. Fenolik asitler, flavonoidler, prosyaninler,

antosyaninler, tanenler gibi doğadan doğrudan bala nüfuz ederek balın antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal gibi biyoaktif kapasitesini belirleyen yegane faktörlerdir (Gregoris ve Stevanato 2010; Pascoal vd., 2014). Bunların çeşidi ve miktarı tamamen balın toplandığı flora ya bağlı değişmektedir ve koyu renkli balların (kestane, püren gibi) yüksek fenolik kompozisyona sahip olduğu rapor edilmektedir (Alqarni vd., 2016; Can vd., 2015; Kaygusuz vd., 2016).

Balın çok iyi antimikrobiyal ajan olup bu konuda bilimsel olarak yayımlanan ilk makale Van Ketel vd., (1892) tarafından yapılmıştır. Daha sonra dilue edilmiş balın 1. Dünya savaşında Rus askerlerinin tedavisinde kullanıldığı Sackett (1919) tarafından kaleme alınmıştır. Daha sonra deneysel hayvan çalışmasında ısı işlem görmemiş balın yara tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Bergman, 1983). Daha sonraki çalışmalar ile balın antimikrobiyal aktivitesinin inhibisyon mekanizması aydınlatılmış (White vd., 1962; White vd., 1963; Russel, 1983). Balın antimikrobiyal aktivitesinde etkileyen temel dört faktör bulunur ve bunlar balın pH'ı osmolaritesi, glukoz oksidaz kaynaklı hidrojen peroksit içeriği ve bileşiminden bulunan çeşitli sekonder metaboliteridir. Bu metabolitlerin büyük çoğunluğunu fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavanoidler, pro ve antosyaninler, tanenler) ve organik asitler, amino asitler, vitaminler vb ajanlar oluşturmaktadır (Al-Mamary ve Al-Meeri Al-Habori, 2002). Bal ayrıca enfeksiyonların çabuk temizlenmesi, yaralardan ölü dokuların ve yabancı maddelerin çabuk uzaklaştırılması, inflamasyonun hızlı baskılanması yara ve yara izinin hızlı azalması, yeni damar oluşumu, doku granülasyonu ve epitelyum gelişmesinin uyarılmasını sağlamaktadır (Al-Mamary ve Al-Meeri Al-Habori, 2002; Abdelatif vd., 2008). Yapılan bir çalışma Manuka balının kronik yaraların üzerinde yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi olduğunu göstermiştir (Bakhotmah ve Alzahrani, 2010., Packer vd., 2012). Günümüze kadar yapılan yüzlerce araştırmada balın anti-mikrobiyal etkinliğe sahip bir karışım olduğu ve pek çok patojenik bakterilere karşı etkinliği olduğunu bildirilmiştir (Allen vd., 1991; Cooper vd., 2002; Estevinho vd., 2008; Namias, 2003; Keenan vd., 2012). Balın enfeksiyöz gram negatif pek çok türden bakteriye karşı güçlü bir antibiyotik etki gösterdiği ve özellikle mide enfeksiyonlarına karşı *Helico bacter pylori* ye karşı etkin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Namias 2003; Keenan vd., 2012).

Enfeksiyon ve doku hasarlarına vücudun tepkisi enflamasyon olarak bilinir ve oluşan hasarın ya da yaranın tedavisinde kullanılan ilaçlara anti-inflamatuvarlar adı verilmektedir (Molan, 2012). Farmasötik anti-inflamatuvar ilaçların kullanımı oldukça yaygındır fakat yan etkileri nedeniyle çok fazla tercih edilmemektedirler. Balın monositik hücrelerden

sitokinlerin stimulasyonunu artırarak anti-inflamatuar etki nedeniyle yaraların iyileşmesinde etkili rol oynadığı bildirilmiştir (Tonks vd., 2003; Nasuti vd., 2006). Bal güçlü anti-inflamatuar etkili bir ajan olup yara iyileşmesinde rolü, antioksidan etkisi, bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkisi, immun sistemi güçlendiren etkisi gibi pek çok bilinmeyen etkileriyle birlikte iyi bir antiinflamatuar ajan olarak kabul edilmektedir (Molan, 2012; Motallebnejad vd., 2008).

1.5.2. Polen

Bitkilerin polenlerinin histolojik yapıları farklı olup bu palinolojik araştırmalar ve özellikle balın otantik yapısının belirlenmesinde kullanılan bir indikatördür (Louveaux vd.,1978; Wroblewska ve Erneststawiartz, 2004).

Bir gıda maddesi olması yanında polen içeriğinde bulunan çeşitli flavanoidler ve fenolik asitlerden den dolayı antioksidan, anti-inflamatuar, antitumoral olarak önemli etkiye sahip doğal karışım olarak özellikle bal ile birlikte tüketilmesinin immün sistemi güçlendireceği bildirilmektedir (Aliyazıcıoğlu vd., 2005; Yıldız vd., 2013 A; Yıldız vd., 2013 B). Arı polenin ekstraktlarının göğüs kanserine karşı etkili olduğu (Omar vd., 2016), antiinflamatuar, antitumörjenik, antimikrobiyal etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (Pascoal vd., 2014).

1.5.3. Propolis

Propolisin çok iyi bir farmosötik ajan olduğu ve yüksek antioksidan, antimikrobiyal, anti-tümoral ve anti-inflamatuar gibi multifonksiyonel etkinliği ile gelecekte sentetik ilaçlarının yerini alacağı bildirilmektedir (Ahn vd., 2007; Alencar vd., 2007; Gregoris vd., 2010; Campos vd., 2014).

Türk propolisi ile yapılan bir çalışmada propolis'in deney hayvanlarında endotel hücrelerini koruduğu bildirilmiştir (Darendelioglu vd., 2016), göğüs kanser hücresine karşın koruduğu (Aliyazıcıoğlu vd., 2005) belirtilmiştir. Gittikçe artan popülaritesi ile propolis, çeşitli propolis ekstraktları, hapları ve spreyleri ile piyasada yer edinmektedir.

1.5.4. Arı Sütü

Arı sütü pek çok bilim insanının dikkatini çekmiş önemli bir arı ürünüdür (Morita vd., 2012). Bilim adamlarının insanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada her gün 3,0 g arı sütünü altı ay boyunca sağlıklı gönüllülere vermişler ve arı sütü verilen bireylerde alyuvar yapımında, glukoz tolerans testinde ve sinir sisteminde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-S)'nin testosteron (T) 'ye dönüşümünde hızlanma olduğunu yani arı sütünün fertilizasyonda etkili olabileceği bildirmişler.

Apimisin ve Royalisin olarak adlandırılan iki biyoaktif bileşen olan temel proteinlerin arı immunoregulator rolleri olduğu bildirilmektedir (Liu vd., 2008). Arı sütüne spesifik önemli bir yağ asidi olan trans-10-hidroksi-2-dekanoik asit (10-HDA' nın arı sütünün biyolojik aktif değerinden sorumlu önemli bir bileşen olduğu ve anti-tümör, antibakteriyal ve immuno sistemi düzenleyici rolü olduğu bildirilmektedir (Liu vd., 2008; Ramadan ve Al-Ghamdib., 2012). Arı sütünün antioksidan, sinir sistemini düzenleyici, kanda şeker ve kolesterolü düşürücü, karaciğeri koruyucu, tansiyonu düşürücü ve kan basıncını düzenleyici, anti-tumör, antibiyotik, anti-inflamatuar, bağışıklık sistemini düzenleyici, anti alerjik, genel tonik ve anti-aging gibi farmakolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Pavel vd., 2011).

1.5.5. Arı Zehri

Arının temel olarak fiziksel savunma mekanizmasını oluşturmakla birlikte içerdiği çok sayıda bileşiği ile biyolojik aktivitesinin oldukça yüksek olduğu bildirilmektedir (Sobral vd., 2016). Arı zehri uzun yüzyıllar Uzak Doğu'da (oriental medisin), tendonit, bursitis, romatoid artrit gibi çeşitli inflamasyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Billingham vd., 1973). Apiterapik olarak arı zehrinin en yaygın kullanıldığı alanlar romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılması (eklem ağrıları, sırt ağrıları ve arteritler) ve akupunktur ajanı olarak sinir sistemini harekete geçiren bir uyarıcı olması dikkat çekmektedir (Sobral vd., 2016).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Gereçler

Yapılan analizlerde kullanılan cihazların marka/modelleri tablo 4' te gösterildiği gibidir.

Tablo 4. Kullanılan Cihaz ve Gereçler, Marka/Modelleri

Cihaz Adı	Marka/Model
UV-VIS Spektrofotometre	Thermo Scientific Evolution™ 201, UV-VIS Spectrophotometer, USA
pH metre	Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland
Hassas Terazı	Presica LX 320 A, Dietikon, Switzerland
Saf Su Cihazı	Human, Zeneer Navi UP, Song Pa-Ku, Seoul, Korea
Vorteks Karıştırıcı	Labnet VX100, MO BIO Laboratories, Inc., NJ, USA.
Etüv	Nüve, EN 400, Ankara, Türkiye.
Magnetik Karıştırıcı	Heidolph MR HEI-Standard, Schwabach, Germany.
Karıştırıcı Su Banyosu	Nüve, ST 402, Ankara, Türkiye.
Yarı Otomatik Pipetler	Eppendorf Research® Plus Hamburg, Germany
Çalkalayıcı	Heidolph Promax 2020, Schwabach, Germany
Filtre	Whatman spartan 13/ 0,45 RC, Dassel, Germany

2.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler

Yapılan analizlerde kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların satın alındığı firma tablo 5'te gösterildiği gibidir.

Tablo 5. Kullanılan Kimyasallar ve Kimyasalların Satın Alındığı Firma

Kullanılan Kimyasal	Satın Alındığı Firma
Gallik Asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Folin-Ciocalteu's phenol reaktifi	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Na ₂ CO ₃	Merck, Darmstadt, Germany
NH ₄ CH ₃ COO	Merck, Darmstadt, Germany
Al(NO ₃) ₃	Merck, Darmstadt, Germany
Kuersetin	Lancaster, Morecambe, England
HCl	Merck, Darmstadt, Germany
TPTZ	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
FeCl ₃	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
NaCH ₃ COO.3H ₂ O	Merck, Darmstadt, Germany
DPPH Reaktifi	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Troloks [®]	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Hyaluronidaz (400-1000 U/mg)	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Hyaluronik Asit Sodyum Tuzu	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Streptococcusequi	
NaH ₂ PO ₄	Merck, Darmstadt, Germany
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	Merck, Darmstadt, Germany
Bovine Serum Albumin	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Na ₃ PO ₄	Merck, Darmstadt, Germany
NaCl	Merck, Darmstadt, Germany
Asetik Asit	Merck, Darmstadt, Germany
ABTS	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
K ₂ S ₂ O ₈	Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA
Metanol-LC Saflıkta	Merck, Darmstadt, Germany

2.3. Çözeltiler

Çalışmada kullanılan çözeltiler ve bu çözeltilerin hazırlanışları tablo 6' da gösterilmiştir.

Tablo 6. Kullanılan Çözeltiler ve Çözeltilerin Hazırlanışları

Toplam Fenolik Madde Tayini İçin	
0,5 N Folin Ciocalteu	2 N Folin reaktifinden 1:4 oranında saf suyla seyreltildi ve kullanıldı.
%10'luk Na ₂ CO ₃	10 g Na ₂ CO ₃ 90 mL suda çözüldü balon jojede saf suyla 100 mL' ye tamamlandı.
GallikAsit (1 mg/mL)	Metanolle hazırlanan stok çözeltiden, 1-0,5-0,25-0,125-0,0625- mg/mL olacak şekilde metanolle seyreltilerek hazırlandı.
Toplam Flavonoid Madde Tayini İçin	
1 M NH ₄ CH ₃ COO	7,7 g NH ₄ CH ₃ COO 100 mL saf suda çözüldü.
%10 Al(NO ₃) ₃	10 g Al(NO ₃) ₃ 100 mL saf suda çözüldü.
Kuersetin (1 mg/mL)	Metanolle hazırlanan stok çözeltiden, 0,5- 0,25- 0,125 -0,0625-0,03125 mg/mL olacak şekilde metanolle seyreltilerek hazırlandı.
Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç -FRAP İçin	
HCl (40 mM)	Yaklaşık 20 mL saf suyun üzerine % 37'lik HCl'den 340 µL ilave edildi ve saf suyla 100 mL'ye tamamlandı.
TPTZ (10 mM)	234,249 mg TPTZ stok maddeden tartıldı, 75 mL 40 mM'lık HCl içinde çözüldü.
FeCl ₃ (20 mM)	324,4 mg FeCl ₃ destile suda çözülüp son hacim 100 mL'ye tamamlandı.
Asetat Tamponu (300 mM, pH 3,6)	2,325 g NaCH ₃ COO.3H ₂ O üzerine 12 mL glasiyel asetik asit ilave edildi. 750 mL'ye saf suyla tamamlandı.
FRAP Reaktifi	300 mM pH 3,6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl ₃ (10:1:1) oranında karıştırılarak taze hazırlandı.
Troloks [®] (1000µM)	25,31 mg troloks metanolle 100 mL' ye tamamlandı. Metanolle 500, 250, 125, 62,5 µM' a seyreltildi.

Tablo 6' nın devamı

DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi İçin

DPPH Reaktifi (0,1 mM)	100 mL'si için; 3,94 mg DPPH tartıldı, 90 mL metanolde çözüldü ve metanolla 100 mL'ye tamamlandı.
Troloks [®] (0,02 mg/mL)	10 mg troloks 10 mL metanolde çözülerek stok çözeltisi hazırlandı. 0,02 mg/mL'lik ara stok çözelti metanolla seyreltilerek kullanıldı.

ABTS Radikal Temizleme Aktivitesi İçin

ABTS Reaktifi (7 mM)	10 mL çözelti için; 38,41 mg ABTS tartılır, 10 mL saf suda çözülür.
K ₂ S ₂ O ₈ (2,45 mM)	10 mL çözelti için; 6,62 mg potasyum persülfat tartılır, 10 mL saf suda çözülür.
Fosfat Tamponu (5 mM, pH 7,4)	500 mL çözelti için; 0,215 g Na ₂ HPO ₄ ve 0,152 g NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O tartılarak aynı reaktif kabında yaklaşık 400 mL saf suda çözülür. Seyreltik kuvvetli asit ya da baz (seyreltik HCl ya da NaOH) ile pH 7,4'e ayarlandıktan sonra yine saf suyla hacmi 500 mL'ye tamamlanır.

Hyaluronidaz İnhibisyonu İçin

Hyaluronidaz (1,67 U)	Enzim su ile çözülerek 1,67 U olacak şekilde 50 mL hazırlandı.
Hyaluronik asit Fosfat tamponu (pH 7, 20 mM)	20 mM pH 7 olan fosfat tamponuna %0,01 BSA içerecek şekilde BSA eklendi, son hacim 100 mL hazırlandı. 0,3 M, pH 5,35 olan Na ₃ PO ₄ içerisine %0,01 olacak şekilde hyaluronik asit sodyum tuzu eklendi, son hacim 100 mL' ye tamamlandı.
Asetat Tamponu (pH 3,75)	24 mM NaCH ₃ COO + 79 mM CH ₃ COOH pH 3,75'e ayarlandı, üzerine % 0,1 g BSA eklenerek 1000 mL'ye tamamlandı.

2.4. Numunelerin Temini ve Saklama Koşulları

Her bir bal örneğinden 3'er adet olmak üzere kestane balı Karadeniz Bölgesi'nden, püren balı ve çam balı Muğla ve Çanakkale illerinden, meşe balı Kırklareli ilinden, karabuğday balı ise Konya ilinden temin edildi.

Polen örnekleri ise tam monofloral özellikte olmayıp, ağırlıklı olarak bölgeyi temsil etmesi bakımından Anzer yöresi poleni, Balıkesir poleni ve karışık yayla çiçek poleni (Erzurum yöresi) olarak çalışıldı.

Propolis örnekleri ise üç farklı bölgeden (Trabzon, Kars ve Balıkesir) temin edildi.

Arı sütü numuneleri Zonguldak Arı Yetiştiricileri Birliği (ZAYBİR) tarafınca temin edildi. 2014 yılı Nisan-Mayıs ayında üretilecek arı sütü çalışmada kullanıldı.

Arı zehri örneği sadece Zonguldak Birlik Başkanlığı tarafından araştırma amaçlı temin edilmiştir.

Toplanan bal ve propolis örnekleri kuru ve serin bir yerde saklanırken, polenler +4 °C'de muhafaza edildi. Arı zehri aligotlar (kısmılar) halinde derin dondurucuda saklandı.

Bal örnekleri antioksidan analizler için metanolik ekstraktlar halinde hazırlanırken polen örnekleri sulu çözelti halinde hazırlandı ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında magnetik karıştırıcı kullanarak çalkalandı. Bu süre sonunda numuneyi mevcut olası katı partiküllerden, safsızlıklardan kurtarmak için ekstrakt, önce adi süzgeç kâğıdından, sonra mavi banttı süzüldü. Ekstraktlar, son hacmine tamamlanarak buzdolabında muhafaza edildi.

Dondurulmuş ve öğütülmüş propolis örneklerinin etanol ile 24 saat süre ile magnetik karıştırıcıda ekstraktları hazırlandı, mavi bantlı süzgeç kağıdı ile süzüldü ve süzüntü evaporatörde uçurulduktan sonra ekstrakt kontrollü olarak etanolde çözüldü ve analiz için hazır hale getirildi.

Ham arı zehri liyofilize edildikten sonra tuzlu su (% 0.9) NaCl de çözüldü ve belirli bir konsantrasyonda hazırlandı. Hyaluronidaz enzim inhibisyonu için ise numuneler sulu ekstrakt halinde hazırlanmıştır.

2.5. Antioksidan Analizler

2.5.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayininde Slinkard ve Singleton., (1977) metodu kullanıldı. Tayinin esası, fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Folin-Ciocalteu ayracı burada oksitleyici bileşik olarak rol alır. Reaksiyon sonucunda oluşan kompleksin renk şiddeti fenolik maddelerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olup, 760 nm'de absorbans verir. Böylece analizi yapılan örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarlarının hesaplanması mümkün olmaktadır.

Standart grafiğin hazırlanmasında, fenolik bir bileşik olan gallik asit standardı kullanıldı (Singleton ve Rossi, 1965). Gallik asidin metanolla farklı konsantrasyonları (1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125 mg/mL) hazırlanıp, absorbansları okundu. Konsantrasyona karşı absorbans değerleri ile grafik çizildi. Çizilen grafiğe göre ekstraktların toplam fenolik madde miktarı bulundu. Numunenin 100 gramı başına, mg gallik asit eşdeğeri (GAE) [mg GAE / 100 g numune] fenolik madde miktarı olarak bulundu. Yapılan çalışmadaki pipetleme işlemi tablo 7' deki gibidir.

Tablo 7. Toplam Polifenol Tayininde Yapılan Pipetleme İşlemi

	Kör	Standart	Numune
Distile su	700 µL	680 µL	680µL
Standart (Değişik konsantrasyonlarda)	-	20 µL	-
Numune	-	-	20 µL
0,5 N Folin Reaktifi	400 µL	400 µL	400 µL
Tüpler vorteks ile karıştırılır ve 3 dakika sonra			
%10 Na ₂ CO ₃	400 µL	400 µL	400µL
2 saat inkübasyondan sonra 760 nm'de köre karşı absorbans okunur.			

2.5.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini

Fenolik bileşiklerin bir alt sınıfı olan flavonoidlerin toplam olarak tayini için önceden hazırlanmış olan ekstraktlar kullanıldı. Standart olarak kuersetinin farklı konsantrasyonları (0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125; 0,015625 mg/mL) hazırlanıp absorbans değerleri okundu. Konsantrasyona karşı absorbans değerleri ile grafik çizildi. Çizilen grafiğe göre ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı belirlendi, seyreltme faktörleri de dikkate alınarak asıl numunenin mg QAE (Kuersetin eşdeğeri)/ 100 g numune olarak flavonoid madde miktarı bulundu. Yapılan çalışmada pipetleme işlemi tablo 8' deki gibidir.

Tablo 8. Toplam Flavonoid Tayininde Yapılan Pipetleme İşlemi

	Kör	Renk Körü	Standart	Numune
Numune Değişen konsantrasyonlarda	-	0,5 mL	-	0,5 mL
Standart Değişen Konsantrasyonlarda (0,5-0,25-0,125-0,0625-0,03125-0,015625 mg/mL)	-	-	0,5 mL	-
Mutlak Metanol	4,8 mL	4,5	4,3	4,3
%10 Al(NO ₃) ₃	0,1 mL	-	0,1	0,1
1 M NH ₄ CH ₃ COO	0,1 mL	-	0,1	0,1

40 dk boyunca oda sıcaklığında inkübe edilir ve 415 nm'de absorbans okunur.

2.5.3. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

Yöntem, Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tris (2-piridil)-S-triazin) kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşturması ve bu kompleksin 593 nm'de maksimum absorbans vermesi esasına dayanmaktadır (Benzie ve Strain, 1999). FRAP yöntemi nispeten basit bir yöntem olup, kolaylıkla standardize edilebilmektedir.

Çalışma eğrisi için FeSO₄.7H₂O çözeltisinin değişen konsantrasyonları (31,25-62,5-125-250-500-1000 µM) kullanılarak çalışma eğrisi hazırlandı. 100 µL numune üzerine 3 mL FRAP reaktifi [300 mM pH 3,6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl₃ (10: 1: 1)]

eklendi. 4 dakika sonra 593 nm’de absorpsanlar okundu. Sonuçlar aynı Şartlarda test edilmiş standart FeSO₄.7H₂O ile karŐılaŐtırılmalı olarak bulundu ve μM FeSO₄.7H₂O eŐdeŐeri antioksidan güç olarak ifade edildi. Pipetleme işlemi tablo 9’ daki gibidir.

Tablo 9. FRAP Tayininde Yapılan Pipetleme İŞlemi

	Kör_{MeOH}	Test (Numune)	Renk Körü_(MeOH)	FeSO₄.7H₂O
FRAP Reaktifi	3 mL	3 mL	-	3 mL
Numune	-	100 μL	100 μL	-
FeSO ₄ .7H ₂ O çözeltilisi	-	-	-	100 μL
Saf Su	-	-	-	-
Metanol	100 μL	-	3 mL	-
4. dakikada 593 nm’de absorpsan okunur.				
Renk Körü _{test(met)}	: Metanolde çözünen numune için renk körü			

2.5.4.DPPH• Radikalini Temizleme Aktivitesi Tayini

DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup analizlerde satın alınan bu radikalın 100 μM’lık metanolik çözeltilisi kullanıldı. Metanolik ekstraktlar, kendi çözücölari ile seyreltilerek farklı ve uygun konsantrasyonlarda hazırlandı.

Tablo 10. DPPH Yöntemi İçin Yapılan Pipetlemeler

	Numune Tüpü	Reaktif Tüpü	Numune Tüpü
Numune (DeŐiŐik konsantrasyon)	750 μL	-	750 μL
Metanol	750 μL	750 μL	-
DPPH• (100 μM)	-	750 μL	750 μL
50 dk. süre sonunda 517 nm’de absorpsan okunur.			

EŐit hacimde (750 μL) DPPH• radikal çözeltilisi ve numune çözeltileri karŐtırılıp oda sıcaklığında 50 dakika inkübe edildi. Bu süre sonunda DPPH• radikalinin mor menekŐe rengi açıldı ve DPPH• radikalinin maksimum absorpsan verdiği 517 nm’de absorpsanlar okundu.

Tanık olarak DPPH• radikal çözeltisi ve metanol kullanıldı. Bulunan absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek SC_{50} değerleri hesaplandı. Pipetleme işlemi tablo 10'da gösterilmiştir.

2.5.5. ABTS• Radikalini Temizleme Aktivitesi Tayini

ABTS• radikali (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)), ticari olarak satın alınabilen bir kimyasaldır. Bu reaktifin 7 mM konsantrasyonu 2,45 mM potasyum persülfat çözeltisi içerisinde (2:1) oranında çözüldü ve deney öncesi 12-16 saat karanlıkta, oda sıcaklığında tutuldu. Hazırlanan bu reaktifin optik yoğunluğu 734 nm'de 0,7 absorban olacak şekilde 5 mM pH 7,4 fosfat tamponu ile seyreltildi. Seyreltilen reaktifin 2 mL'si ile 20 µL numune ekstratı karıştırıldı, 5 dk sonrasında 734 nm'de saf suya karşı okundu. Çalışma pipetleme prosedürü tablo 11'deki gibidir.

Tablo 11. ABTS Yöntemi İçin Yapılan Pipetlemeler

	Numune Tüpü	Reaktif Tüpü	Numune Tüpü
Numune (Değişik konsantrasyon)	20 µL	-	20 µL
Metanol	2 mL	20 µL	-
ABTS•	-	2mL	2 mL

5 dk süre sonunda 474 nm'de absorban okunur.

2.5.6. SC_{50} Değerlerinin Bulunması

SC_{50} (Scavenger Concentration) değeri, radikal miktarının yarısını temizleyen numune konsantrasyonuna verilen isimdir. SC_{50} değerinin bulunması için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gerekir. Bu nedenle çalışmalarda altı farklı konsantrasyonda (her numune için değişir) ölçüm yapıldı. Analizde standart olarak Troloks® kullanıldı. Elde edilen absorbanlar konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Maksimum absorbanın yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı ile SC_{50} değeri elde edildi ve sonuçlar mg/mL ya da g/mL cinsinden hesaplandı.

2.7. Enzim İnhibisyonu

2.7.1. Hyaluronidaz İnhibisyonu

Metot, hyaluronidaz enziminin hyaluronik asidi parçalaması sonucu oluşan bulanıklık ölçümüne dayanmaktadır. Bu çalışmada spektrofotometre yöntemi kullanıldı. Her numunenin inhibitör aktivitesi Sigma protokolünde küçük bir değişiklik yapılarak ve başka bir referans yöntemle birleştirilerek belirlendi (Yahaya and Don, 2012). Numuneler, sulu ekstrakt olarak hazırlandı. Yeterli miktarlarda tartılan numunelerin üzerine belirli miktarlarda destile su ilave edilerek numune ekstraktları 24 saat süreyle oda sıcaklığında çalkalandı. Süre sonunda sulu ekstraktlar, süzgeç kağıdından geçirilerek berrak hale getirildi, son hacmine tamamlandı ve analizde kullanılmak üzere buzdolabında saklandı.

Tablo 12. Hyaluronidaz İnhibisyonunda Yapılan Pipetleme İşlemi

	Kör	Test (numune)	Standart
Enzim	100 µL	100 µL	100 µL
Fosfat tamponu pH 7	100 µL	100 µL	100 µL
Numune ekstraktı (veya standart) (Değişik konsantrasyon)	-	25 µL	25 µL
Numune veya standart çözücüsü	25 µL	-	-
Karıştırıcı Su Banyosunda 10 dk 37 °C İnkübasyon			
Substrat pH:5,35	100 µL	100 µL	100 µL
Karıştırıcı Su Banyosunda 40 dk 37 °C İnkübasyon			
Asetat Tamponu (pH:3,75)	1 mL	1 mL	1 mL
10 dk Oda Sıcaklığında İnkübasyon 1 dk 100 °C' de Reaksiyonu Durdurma 2 dk Soğutma			
600 nm' de saf suya karşı okunur.			

Hyaluronidaz enzimi ve substratı olan hyaluronik asit, ticari olarak satın alındı. Çalışma sırasında 1,67 U' lik hazırlanan enzim çözeltisinden 100 µL, üzerine pH 7 olan fosfat tamponundan 100 µL koyuldu. Üzerine 25 µL numune eklendikten sonra 37 °C'de 10 dk inkübasyona bırakıldı. Ardından %0,01 Hyaluronik asit sodyum tuzu içeren pH 5,35 teki

Na₃PO₄ çözeltisi eklendi ve 37 °C'de 40 dk inkübasyon sonunda son pipetlemeler yapıldı. Reaksiyonu durdurmak numuneler için kaynar su banyosunda 1 dk bekletildi. 600 nm' de absorbanlar saf suya karşı okundu. Hyaluronidaz enziminin anti-aktivitesi % İnhibisyona karşı konsantrasyon grafiğinin logaritmik olarak çizilmesiyle hesaplandı. Yapılan pipetleme işlemi tablo 12' de gösterildiği gibidir.

2.8. IC₅₀ Değerlerinin Bulunması

IC₅₀ değeri, enzim konsantrasyonunun yarısını inhibe eden numune konsantrasyonudur. Bu değer bulunması için farklı konsantrasyonlarda (her numune için değişiklik gösteren altı farklı konsantrasyonda) ölçüm yapıldı. Numunelerin uygun ve farklı konsantrasyonları hazırlanıp absorban ölçümleri yapıldı ve absorbanlar konsantrasyona karşı logaritmik olarak grafiğe geçirildi. Maksimum inhibisyonun yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı ile IC₅₀ değeri belirlendi ve sonuçlar mg/mL ya da g/mL cinsinden hesaplandı.

2.9. İstatistik Çalışmaları

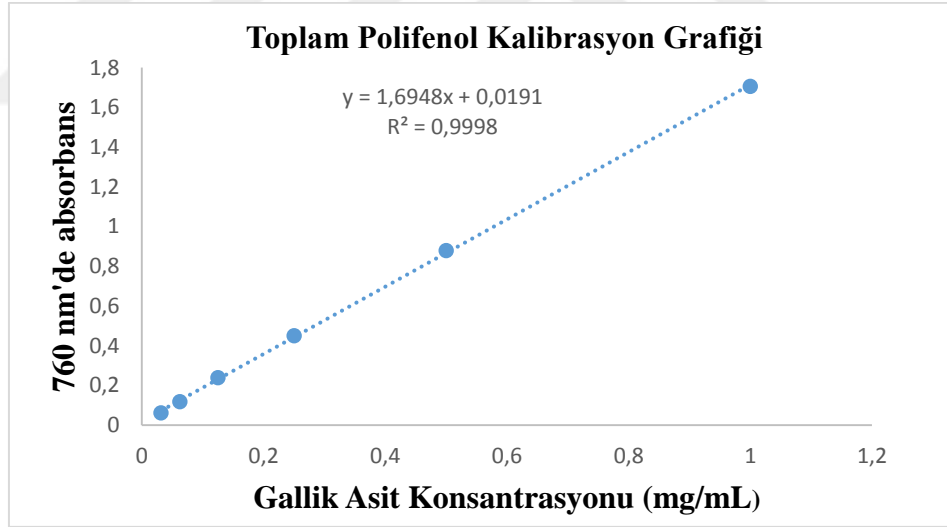
Her bir örnek için en az 3 ayrı testin uygulandığı çalışmada değerler aritmetik ortalama ve standart sapma olarak hesaplandı. Biyolojik aktivite yönünden ballar arasında ve diğer arı ürünleri arasında anlamlık farklılıklar olup olmadığı Non-Parametrik Test Kruskal Wallis Testine göre ve Pearson Korelasyon Testleri ile SPSS-istatistik program kullanılarak (p<0,05) düzeyinde belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. Antioksidan Test Sonuçları

3.1.1. Toplam Polifenol Miktarı Tayini

Test için numune ekstraktları hazırlanıp gerekli seyreltmeler yapıldı. Toplam fenolik madde tespiti için gallik asit (GA) standardı kullanıldı ve kalibrasyon grafiği için değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler için gerekli pipetlemeler yapıldı. Dik koordinat sisteminde x eksenine konsantrasyon değerleri ve y eksenine 760 nm'de okunan absorbanslar yazılarak kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Çalışma grafiğinde konsantrasyon ve absorbans değerleri doğru orantılı olduğu için doğrusal grafikte $y=1,6948x+0,0191$ denklemi elde edildi (Şekil 3). Bu denklem kullanılarak 100 g numunenin içerdiği fenolik madde miktarı tespit edildi.



Şekil 3. Toplam Fenolik Madde Miktarı İçin Kalibrasyon Grafiği

Balların toplam polifenol miktarları 40 ile 95 mg GAE/100 g numune arasında değiştiği ve kestane ve püren ballarının en yüksek değere sahip olduğu belirlendi. Balların toplam fenolik madde miktarları kestane>püren>meşe>karabuğday>çam olarak sıralandı.

Çalışmada üç farklı bölgeden (Balıkesir, Rize, Erzurum) toplanan polen örneklerinin sulu ekstraktları hazırlandı. Yapılan test sonucunda en yüksek fenolik içeriğin Rize Anzer polenine ait olduğu ve en düşük içeriğin ise Balıkesir yöresine ait olduğu belirlendi.

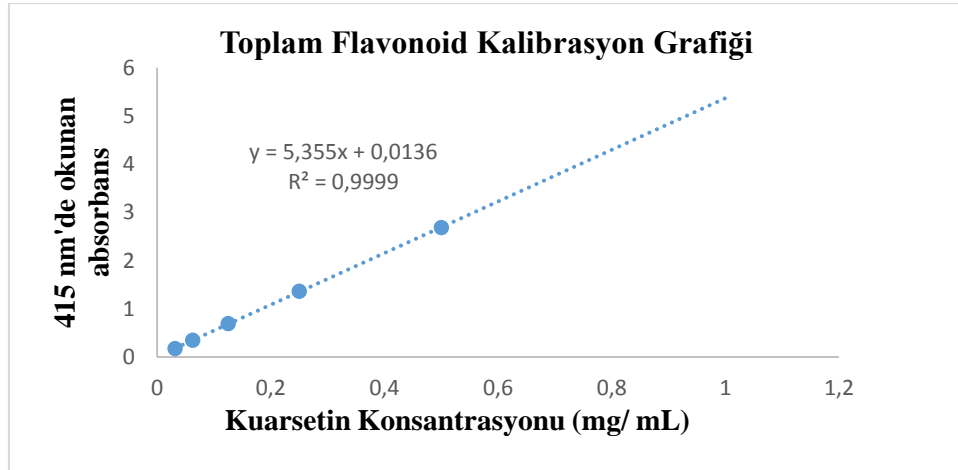
Propolis örneklerimiz için Kars, Trabzon, Balıkesir yörelerinden toplanan numunelerin etanolik ekstraktları hazırlandı ve toplam fenolik miktarı tayin edildi. En yüksek fenolik içeriğin Balıkesir propolisine ait olduğu belirlenirken en düşük içerik Trabzon numunelerinde tespit edildi.

Zonguldak yöresine ait üç farklı türde arı sütü örneği çalışıldı. Arı sütlerinin toplam fenolik madde miktarlarının bal, polen, propolis'e göre çok düşük ve birbirlerine çok yakın değerlerde (13 ile 15 mg gallik asit /100 g) olduğu belirlendi.

Arı zehri miktarımız çok az miktarda olduğu için fenolik miktarı tespit edilemedi.

3.1.2. Toplam Flavonoid Miktarı Tayini

Gerekli seyreltmeleri yapılmış ekstraktlarımızın toplam flavonoid miktarını tespit etmek için kuarsetin standardı kullanıldı ve kalibrasyon grafiği için metotta belirlenen pipetlemeler yapıldı. Dik koordinat sisteminde x eksenine konsantrasyon değerleri ve y eksenine 415 nm'de okunan absorbanslar yazılarak kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Çalışma grafiğinde konsantrasyon ve absorbans değerleri doğru orantılı olduğu için doğrusal grafikte $y=5,355x+0,0136$ denklemi elde edildi (Şekil 4). Bu denklem kullanılarak 100 g numunenin içerdiği flavonoid madde miktarı tespit edildi. Çalışılan numunelerin flavonoid test sonuçları tablolarda gösterilmiştir.



Şekil 4. Toplam Flavonoid Miktarı İçin Kalibrasyon Grafiği

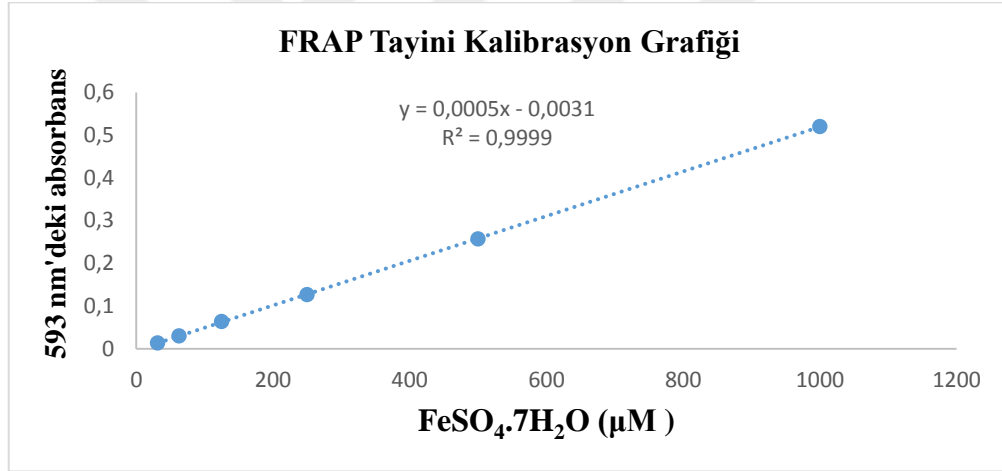
Balların flavanoid miktarları karşılaştırıldığında. 1.20 mg ile 10.14 mg Kuarsetin/100 g numune arasında değişen miktarlarda olduğu tespit edildi. Meşe ve kestane ballarının

yüksek flavanoid madde miktarına sahip ballar olduğu belirlendi. Polen numunelerinde en yüksek içerik Anzer poleninde ve propolis numunelerinde en yüksek flavonoid içeriğinin Balıkesir propolisinde olduğu belirlendi.

Arı sütü ve arı zehirinde değerler ölçüm aralığının dışında olduğu için flavonoid miktarı tespit edilemedi.

3.1.3. FRAP Tayini (Demir III İndirgeme Potansiyeli)

Tayinde Fe (III) iyonlarının antioksidan varlığında Fe (II) iyonlarına indirgenmesi metodu kullanıldı. Metanolik ekstraktları hazırlanmış numunelerin kalibrasyon grafiğindeki aralığa girebilmesi için ön denemeler ve gerekli seyreltmeler yapıldı.



Şekil 5. FRAP tayini için kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon grafiği için FeSO₄.7H₂O çözeltisi standart olarak kullanıldı ve çalışma grafiğinde $y=0,0005x-0,0031$ denklemi oluşturuldu (Şekil 5). Çalışılan örneklerin FRAP değerleri tablolardaki gibidir.

FRAP testi sonucunda bal, polen ve propolis numunelerinin en yüksek ve en düşük değerlerinin fenolik ve flavonoid miktarı ile ilişkili olduğu belirlendi. Arı sütlerinin fenolik içeriklerinin çok düşük olmasına karşılık demir (III) indirgeme potansiyelleri yüksek bulundu (44,21-55,05 aralığı). Bunun anlamı arı sütünün antioksidan kapasitesinin sadece polifenollerden değil, yapısında bulunan protein, kısa peptitler ve kısa zincirli hidroksi yağ asitlerinden kaynaklanmasıdır. Arı zehri için herhangi bir sonuç elde edilemedi.

3.1.4. DPPH• Temizleme Aktivitesi

Ticari olarak satın alınan DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) doğal ürünlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde oldukça yaygın kullanılmaktadır. Gerekli pipetlemelerin ardından 517 nm'de okunan absorbans değerleri artan konsantrasyona karşılık y eksenine geçirilerek bir grafik oluşturuldu. Bu grafikten yararlanılarak maksimum absorbans yarıya düşüren numune konsantrasyonu SC₅₀ olarak adlandırıldı. Yüksek SC₅₀ değeri düşük antioksidan kapasiteyi belirtir. Aşağıdaki tablolarda (tablo 13 ve tablo 14) da görüldüğü gibi diğer antioksidan test sonuçları ile radikal temizleme sonuçları paralellik göstermektedir. Buna göre ballarda en düşük değerin meşe balında olduğu görülürken en yüksek antioksidan kapasiteyi meşe balının gösterdiği söylenebilir.

Polen örneklerinde en düşük değerin Anzer balında olduğu görülmektedir ve sonuç olarak polen numunelerinde en yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir sonucuna varılabilir. Propolis numuneleri bal ve polenle kıyaslandığında çok daha yüksek antioksidan kapasitelerinin olduğu görülebilir. Yapılan çalışmalara göre arı sütü için SC₅₀ değerlerinin 78-90 mg/mL arasında olduğu belirtildi. Diğer testlerde olduğu gibi bu testi de arı zehrinde deneyemedik.

3.1.5. ABTS• Temizleme Aktivitesi

DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali gibi ABTS• ((2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikali de ticari olarak satın alınarak kullanıldı. Yöntem,2,2' -azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonikasit)) (ABTS)'in persülfatla oksidasyonu ABTS^{•+} radikali oluşturmaya dayanır. Oluşan radikal antioksidan varlığında indirgenir ve absorbans okunur.

Daha önceden belirtilen pipetlemelerden sonra 734 nm'de okunan absorbans değerleri ve artan numune konsantrasyonları ile (DPPH• testinde olduğu gibi) grafik oluşturuldu ve numunelerin SC₅₀ değerleri hesaplandı. Sıralamada küçük farklar olsa sonuçların genelinde DPPH• testi ile paralellik tespit edildi.

Tablo 13. Balların Antioksidan Sonuçları

Bal Numuneleri	TFM (mgGAE/100 g numune)	TF (mg QE/100g numune)	FRAP ($\mu\text{molFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100\text{g}/\text{numune}$)	DPPH SC_{50} (mg/mL)	ABTS SC_{50} (mg/mL)
Kestane balı	84,91±11,44 ^a	5,53±1,20 ^a	440±22,00 ^a	28,20±1,04 ^a	22,50±2,20 ^a
Püren balı	82,45±5,80 ^a	2,40±0,85 ^b	370±14,50 ^b	32,10±4,50 ^b	35,50±3,44 ^b
Meşe balı	68,23±12,76 ^b	10,14±4,77 ^c	670±42,30 ^c	14,10±5,40 ^c	18,58±3,88 ^c
Çam balı	50,00±4,30 ^c	1,20±0,32 ^d	340±32,10 ^b	62,05±8,10 ^d	42,12±6,10 ^d
Karabuğday balı	58,32±2,50 ^b	1,35±0,030 ^d	360±10,41 ^b	41,20±1,40 ^e	48,07±1,33 ^d

a,b,c,d,e değerleri anlamlı olarak farklıdır.

Tablo 14. Polenlerin Antioksidan Sonuçları

Polen Numuneleri	TFM (mgGAE/g)	TF (mgQE/g)	FRAP ($\mu\text{M FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100\text{g}$)	DPPH SC_{50} (mg/mL)	ABTS SC_{50} (mg/mL)
Balıkesir P.	23,20±1,20 ^a	4,80±1,50 ^a	4180±40 ^a	1,40±0,50 ^a	2,58±0,50 ^a
Anzer P.	46,40±1,05 ^b	8,14±1,22 ^b	4720±50 ^b	1,20±0,30 ^a	2,11±0,30 ^a
Erzurum P.	18,20±2,40 ^c	6,64±1,43 ^c	3400±24 ^c	1,80±0,50 ^b	3,30±0,30 ^b

a,b,c,d,e değerler anlamlı olarak farklıdır.

Tablo 15. Propolis Numunelerinin Antioksidan Sonuçları

Propolis Numuneleri	TFM (mgGAE/g)	TF (mgQE/100g)	FRAP ($\mu\text{MFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{g}$)	DPPH ($\text{SC}_{50}\text{mg/mL}$)	ABTS SC_{50} mg/mL
Kars	167±0,37 ^a	8,10±0,04 ^a	1780±56,10 ^a	0,06±0,01 ^a	0,02±0,00
Balıkesir	223,09±0,51 ^b	11,90±0,03 ^b	1850±34,20 ^a	0,01±0,00 ^b	0,02±0,00
Trabzon	118,10±0,99 ^c	7,91±0,01 ^c	1450±21,22 ^b	0,03±0,00 ^b	0,03±0,01

a,b,c,d,e değerler anlamlı olarak farklıdır.

Tablo 16. Arı Sütü Numunelerinin Antioksidan Sonuçları

Arı Sütü Numuneleri	TFM (mgGAE/Kg)	TF (mgQE/Kg)	FRAP ($\mu\text{MFeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /Kg)	DPPH SC_{50} (mg/mL)
Arı sütü 1	132,50 \pm 10,30 ^a	12,20 \pm 1,10 ^a	442,10 \pm 20,45 ^a	78 \pm 4,30 ^a
Arı sütü 2	141,00 \pm 11,04 ^a	10,50 \pm 0,98 ^a	550,50 \pm 18,56 ^a	82 \pm 2,43 ^b
Arı sütü 3	104,00 \pm 14,00 ^a	14,05 \pm 0,55 ^a	423,70 \pm 21,06 ^b	90 \pm 1,56 ^c

^{a,b,c,d,e} değerler anlamlı olarak farklıdır.

DPPH ve ABTS Radikal temizleme aktiviteleri Troloks standartına göre yapılmıştır. Standartın temizleme aktivitesi 0,004 mg/mL bulunmuştur.

3.2.İnhibisyon Sonucu

3.2.1.Hyaluronidaz İnhibisyon Sonucu

Hyaluronidaz inhibisyonu için çalışılan tüm arı ürünlerinde daha önce anlatılmış olan metot kullanıldı. Değerce düşük olan inhibisyon sonucu, numunenin yüksek miktarda inhibe ettiğini göstermektedir. Sonuçlar tablo 17’de gösterilmektedir.

Antioksidan çalışmaların tümünde anti-hyaluronidaz aktivitesi tespit edilirken arı zehrinde aktivite bulunamadı. Bunun nedeni arı zehrinin kendisinin hyaluronidaz aktivitesine sahip olmasıdır (Moreno, M. ve Giralt, E., 2015).

Tablo 17. Anti-hyaluronidaz Aktivite Sonuçları

Anti-hyaluronidaz Aktivite IC₅₀(mg/mL)		
Bal Örnekleri	Kestane Balı	0,11±0,02 ^{a,b,c}
	Püren Balı	0,19± 0,02 ^{a,b}
	Meşe Balı	0,01±0,00 ^{c,a,b}
	Çam Balı	0,27±0,01 ^{d,a,b,c}
	Karabuğday Balı	0,12±0,00 ^b
Anti-hyaluronidaz Aktivite IC₅₀(mg/mL)		
Polen Örnekleri	Balıkesir Poleni	0,024±0,01 ^a
	Anzer Poleni	0,016±0,02 ^a
	Erzurum Poleni	0,045±0,03 ^b
Anti-hyaluronidaz Aktivite IC₅₀(µg/mL)		
Propolis Örnekleri	Kars Propolisi	8,67±0,72 ^a
	Trabzon Propolisi	57,20±14,02 ^b
	Balıkesir Propolisi	299,54±47,33 ^c
Anti-hyaluronidaz Aktivite IC₅₀(mg/mL)		
Arı Sütü Örnekleri	Arı Sütü 1	37,34±5,82 ^a
	Arı Sütü 2	46,20±2,45 ^b
	Arı Sütü 3	38,45±3,20 ^a

^{a,b,c,d,e} değerler anlamlı olarak farklıdır.

4. TARTIŞMA

Geleneksel ve tamamlayıcı tıpta arı ürünlerinin kullanıldığı tedavi yöntemlerine apiterapi adı verilmektedir. Geleneksel tıbbın temeli doğal halk ilaçlarından meydana gelmektedir. Günümüzde de arı ürünleri birer doğal ilaç olduğu için bunların klinik tedavilerde kullanılması büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle son 10 yıldan beri arı ürünlerinin özellikleri ve onların insan sağlığı ile ilişkili biyolojik aktif özelliklerini ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmış olup araştırmalar devam etmektedir.

İnsan sağlığını koruma ve tedavi amaçlı arı ürünleri daha çok gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır. Çünkü bir molekülün veya karışımın ilaç olabilmesi için belli standartları taşıması gerekmektedir. İlk önce prelinik araştırmalardan geçtikten sonra klinik araştırmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca apiterapik amaçlı kullanılacak olan ürünün bileşiminin ve etkin dozunun da iyi bilinmesi gerekmektedir. Bu nedenle planlanan bu çalışma başlangıç aşaması çalışmalarından biri olup, daha çok arı ürünlerinin vitro olarak biyolojik aktif özelliklerinin aydınlatılması ve bundan sonraki prelinik çalışmalara ışık tutmasının sağlanmasıdır.

Bal, polen, propolis, arı sütü, arı zehri birer doğal arı ürünleri olup bunların bileşimleri ve etkinlikleri toplandığı bölgenin florasından ve coğrafik özelliklerinden çok etkilenmektedir. Bu nedenle planlanan bu çalışmada Türkiye florasına ait bazı arı ürünlerinin antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antitumoral aktiviteler ölçüldü ve karşılaştırmalar yapıldı. Ancak tüm verileri yüksek lisans tezine koymak mümkün olmadığı için, burada sadece antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler araştırılıp karşılaştırıldı.

Balın bileşimi toplandığı bölge florasına ve toplama biçimine göre değişim göstermekle birlikte yaklaşık olarak %15-20 oranda su, % 65-76 oranında karbohidrat karışımı, geri kalan kısım çeşitli peptitler, proteinleri enzimler, polifenoller, organik asitler, vitaminler ve minerallerden oluşmaktadır (Kolaylı vd., 2015., Anklam, 1998; Bogdanov vd., 2004). Literatürde balın biyolojik aktif değeri ile ilgili binlerce araştırma bulunmaktadır ve bu araştırmalarda öne çıkan bazı bal türlerinin antioksidan kapasiteleri, antimikrobiyal aktivitelerinin diğer ballardan çok daha yüksek olduğu bildirilmektedir.

Bu çalışmada 5 farklı floraya ait bal örneklerinin antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldı. Balın antioksidan özelliği daha çok yapısında bulunan ve tamamen doğadan gelen pek çok sayı ve çeşitte polifenollerden ileri gelmektedir. Bu polifenollerin ayrı ayrı

tespit edilmesi mümkün olmadığı için toplam polifenol madde miktarının (TFM) tayin edilmesi en pratik yol olup araştırmacılara yaklaşık % 80 oranda bilgi vermektedir. Çalışmada toplam polifenol madde miktarının ölçülmesinde tek kullanılan Folin-Ciocalteu metodu ve standart çözelti olarak da gallik asit kullanıldı ve değerler mg GAE / 100g numune şeklinde belirtildi. Balların TFM miktarlarının 50 ile 82 mg GAE/100 g arasında değişim gösterdiğini ve sıralamanın kestane, meşe ve püren balları şeklinde olduğu tespit edildi. Literatürde kestane balı ile ilgili çok sayıda araştırma bulunup çiçek balları arasında fenolik madde miktarı bakımından en zengin ballarından biri olduğu bildirilmektedir (Can vd., 2015; Alqarni vd., 2016; Tezcan vd., 2011). Yapılan çok sayıda araştırmada ballarda bulunan polifenolik madde miktarının 20 mg GAE ile 120 mg GAE/100 g arasında oldukça geniş bir aralıkta değişim gösterdiğini ve koyu renkli ballarda TFM miktarının yüksek açık renkli ballarda ise düşük olduğu rapor edilmektedir (Alqarni vd., 2016; Can vd., 2015; Gonzalez vd., 2007). Bulgularımızın literatürdeki çalışmalara uygun biçimde fenolik madde miktarının balın florasına göre değiştiğini göstermektedir. Kestane balının yüksek fenolik madde miktarının literatürdeki çalışmalara benzer biçimde Türkiye, Güney Kafkasya ve Güney Avrupa bölgelerinde üretilen kestane ballarıyla benzer olduğu tespit edildi (Perna vd., 2013; Kaygusuz vd., 2016; Küçük vd., 2007). Toplam fenolik madde miktarınının yüksek olduğu bildirilen balların tıbbi değerlerinin de yüksek olduğu ve bu ballarının çok yüksek ücretlere alıcı bulduğu bildirilmektedir. Nitekim, Yeni Zelanda'nın Manuka balı (Aljadi ve Kamaruddin 2004; Akhmazillah vd., 2013). Malezya' nın Gelam balı (Aljadi ve Kamaruddin, 2004) bu kotu renkli ve yüksek fenolik içerikli ballardan oluşu rapor edilmektedir.

Polifenoller bitkiler tarafından üretilen en az bir fenol halkası içeren bir bileşik sınıftır. Fenolik asitler, flavanoidler, pro ve antosyaninler, tanenler gibi polifenoller arı ürünlerine bitkisel kaynaklardan geçen ve bal, polen, propolise antioksidan, anti-inflamatuar, antimikrobiyal gibi biyoaktif özellikler kazandıran fitokimyasallardır (Alqarni vd., 2016; Pascoal vd., 2014; Quideau vd., 2011).

Balların toplam polifenollerinden başka toplam flavonoid miktarları da ölçüldü ve birbirleriyle karşılaştırıldığında 1,20 - 10,14 mg Kuersetin/100 g arasında değişen miktarlarda oldukları tespit edildi. Meşe ve kestane ballarının en yüksek flavonoid madde miktarına sahip ballar olduğu belirlendi. Çoğu bitki pigmentlerin oluşan flavonoidler 15 C iskeletinden oluşan iki fenil (A ve B) ve bir heterosiklik halka (C) içeren antioksaninler,

antosyaninler, flavanonlar, flavononlar, flavanlar gibi çeşitli alt sınıflara ayrılabilen oldukça geniş bir doğal bileşikler sınıfıdır (Ververidis vd., 2007; Masek vd., 2017).

Balın apiterapik değerinin önemli bir ölçüsü de antioksidan kapasitesinden ileri gelmektedir. Bu çalışmada balların antioksidan kapasiteleri üç farklı yöntem olan FRAP, DPPH ve ABTS yöntemleri ile test edildi. Demir (III)-TPTZ kompleksinin indirgenmesine dayanan FRAP yöntemi oldukça güvenilir ve en sık kullanılan bir metottur. Balların FRAP değerleri $\mu\text{gFeSO}_4/100$ g bal cinsinden hesaplandı. Meşe ile kestane ballarının en yüksek FRAP değerine sahip oldukları tespit edildi. Değişik Türk balları ile yapılan çalışmada bulgularımıza benzer şekilde balların FRAP değerleri 67 ile 450 $\mu\text{mol FeSO}_4/100$ g olduğu bildirilmektedir (Can vd., 2015).

DPPH ve ABTS birer ticari radikal olup canlı sistemlerde oluşabilecek doğal radikalik reaksiyonlara model teşkil etmektedirler. Bu ticari radikallerin indirgenmesi, süpürülmeleri veya nötralize edilmeleri spektrometrik olarak izlenerek bal ve diğer doğal ürünlerin antioksidan aktiviteleri tayin edildi. Serbest radikallerin oluşumunun engellenmesi veya mevcut radikallerin ortamdan temizlenmesi için kullanılan pek çok tayin yöntemi bulunmaktadır. Burada her iki radikal görünür bölgede absorbans oluşturduğu için için en az 5 farklı konsantrasyonda numune ile radikalın temizlenmesi ile azalan absorbans değerleri grafik edildi ve IC_{50} değerleri cinsinde hesaplanan scavenging aktivitelerde mg/mL cinsinden hesaplandı. Düşük IC_{50} değeri yüksek radikal temizleme yeteneğini ifade ederken, kestane ve meşe ballarının en yüksek radikal temizleme kapasitesine sahip olduğu tespit edildi. Bulunan değerler balların toplam polifenol, toplam flavonoid ve FRAP değerleri ile birebir ilişkili olduğunu ve balın artan fenolik madde miktarına bağlı olarak antioksidan kapasitesinin arttığını göstermektedir.

Polenler çiçekli bitkilerin erkek üreme üniteleri olup protein, şeker, lipit, vitamin ve mineralce dengelenmiş bir gıda olarak da kabul edilmektedir (Krell, 1996). Polen, bal arılarının larva sonrası yavru yetiştirmesinde ve gençlik dönemlerinde dokularının kaslarının, salgı bezlerinin ve diğer organlarının yeterince gelişmesi için gerekli besin maddesidir (Konar, 2010). Bal arıları bitkilerden topladığı poleni bir miktar nektar ile karıştırarak ona yapışkanlık kazandırır ve polenin pellet (topak) halini alması sağlanır. Polenlerin kısmen tatlı olması da bu sebepten kaynaklanır. Bazı polen tipleri yapılarında nektar ve bal bulunmaksızın zengin yağ içeriğine de sahiptir. Bir polen paletinde genellikle aynı polen türü bulunur. Yiyecek toplayan bir bal arısı nadiren birden fazla çiçekten nektar toplar. Bu nedenle arıların arka bacaklarındaki bir polen paleti yalnızca bir veya birkaç polen

çeşidi içerir. Bunun bir sonucu olarak polen paletleri tipik bir renge sahiptir. En yaygın rastlanılan polen renkleri sarı, kırmızı, mor, yeşil, portakal rengi ve diğer çeşitli renklerdir (Yıldız vd., 2011). Literatür araştırması sonucu pek çok çalışmada polenin antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu görülmüştür. Bu nedenle tezde üç farklı yöreden (Balıkesir, Rize, Erzurum) toplanan polen örnekleri çalışılmıştır.

Çalışmada üç farklı polen kullanıldı ve toplam fenolik madde miktarları 18- 46 mg GAE/g veya 1800- 4600 mg GAE/100 g olarak tespit edildi. Anzer poleninin toplam polifenol miktarı diğer iki polende anlamlı olarak yüksek bulundu. Polenlerin TFM miktarının baldan yaklaşık 100 kat daha yüksek olduğu görülmektedir. TFM miktarlarına benzer şekilde Anzer bölgesi polen en yüksek flavonoid miktarına sahip olduğu görülmektedir. Polen örneklerinin toplam antioksidan ve radikal temizleme aktivite değerlerinin de polenlerin toplam polifenol madde miktarlarına bağlı olarak değişim gösterdiği tespit edilirken, en yüksek antioksidan kapasiteye sahip polenin Anzer bölgesine ait örneğin olduğu bulundu.

Farklı polen türlerine göre yapılan çalışmalarda toplam polifenol ve toplam flavanoid miktarlarının çalışma bulgularımıza benzer olarak değişim gösterdiği rapor edilmektedir. Nitekim Kuzeydoğu Brezilya polenlerin de TFM miktarının 6,9-13,78 mg GAE/g arasında değişim gösterdiği (Neves vd., 2009). Bir başka Brezilya poleninde yapılan çalışmada ise TFM miktarının 19,69 mg GAE/g olduğunu ve toplam flavonoid madde miktarının ise 6,81 mg QE olduğunu rapor edilmektedir (Almeida vd., 2016). İspanya’da yapılan değişik polen türlerinde TFM miktarının 18 ile 32 mg GAE/g numune arasında değişim gösterdiği rapor edildi (Pascoal vd., 2014). Anzer polenleri ile yapılan bir başka çalışmada ise TFM miktarının 44-124 mg GAE/g arasında değişim gösterdiği bildirilmektedir (Ulusoy ve Kolaylı, 2013). Literatürdeki verilere göre Türk polenlerinin daha yüksek TFM miktarına ve ona bağlı antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir.

Propolis, bal arılarının kovanlarını her çeşit tehlikeye karşı korumak amacıyla doğadan topladığı reçine ve diğer doğal ürünlerin vücudunda değişime uğratılarak oluşan doğal karışımdır. Çok iyi bir farmosötik ajan olup yüksek antioksidan, antimikrobiyal, anti-tümoral ve anti-inflamatuar gibi multifonksiyonel etkinliği ile biyolojik değeri en çok yüksek doğal ürünlerden biri olduğu bildirilmektedir (Ahn vd., 2007; Alencar vd., 2007; Gregoris vd., 2010; Campos vd., 2014). Propolislerin toplam fenolik madde ve ona bağlı olarak toplam flavanoidlerinin bölgelere göre değişim gösterdiğini ve ham propolis başına bulunan değerlerin 118 ile 223 mg GAE/g arasında değişim gösterdiği bulundu. Balıkesir bölgesine

ait propolis örneklerinin daha yüksek fenolik içeriğine sahip olduğu tespit edildi. Literatürde çok sayıda propolis çalışması mevcut olup ekstraksiyonda kullanılan çözücü ve sonuçların ham propolis cinsinden, katı ekstrak cinsinden veya sulu ekstrak cinsinde veriliyor olması çalışma sonuçlarının yorumlanmasında zorlukları doğurmaktadır. En doğru yol ekstrak başına düşen aktiviteler olarak görülmektedir. Literatürdeki karışıklıktan dolayı piyasada bulunan ekstraktların çeşitliliği de propolisde bir standardizasyon eksikliğini doğurmaktadır. Nitekim literatürde de kestane propolisinin fenolik kompozisyonu bakımından kestane balı gibi zengin bir ürün olduğu belirtilmektedir (Sarıkaya vd., 2009; Aliyazıcioglu vd., 2013). Türk propolislerinin fenolik madde miktarlarını başka propolislerle karşılaştırıldığında daha yüksek ve daha düşük değerlere rastlamanın mümkün olduğunu görmekteyiz. Brezilya'nın kırmızı propolisi ile yapılan bir çalışmada katı ekstrak başına 151 mg GAE/g olduğu (da Silva Frozza vd. 2013) ve başka bir çalışmada ise 237 mg GAE/g (Alencar vd., 2007), Çin propolislerinde 43- 302 mg GAE/100g olarak değişim gösterdiği (Ahn vd., 2007) bildirilmektedir. Propolisde bulunan fenolik bileşenlerin çeşidi ve miktarı yine propolisin toplandığı kaynaktan etkilenmektedir fakat propolisin biyolojik aktivitesinin daha çok flavanoidlerden ve kaffeik asit fenil ester (CAPE) den ileri geldiği bildirilmektedir (Markiewicz-Żukowska vd., 2012; Cottica vd., 2015; da Silva Frozza vd., 2013). Çalışılan propolis örneklerindeki toplam fenolik madde miktarının 8-12 mg QE/ g arasında değişim gösterdiği ve bulunan değerlerin de yine toplam fenolik madde miktarı ile doğru orantılı olduğu görülmektedir. Propolis bulgularımıza benzer olarak Kanada propolisinde yapılan bir çalışmada TFM miktarının 131 GAE/g ve TF'nin ise 7,12 mg QE/g olduğu rapor edilmiştir (Cottica vd., 2015).

Türkçe adı arı sütü adlandırılan ancak gerçek adı Royal Jelly olan arı salgısı, işçi arıların hipofarengal (boğaz) ve mandibular glandlarından (alt çene) salgılanan ve kraliçe arının beslenmesinde ve gelişmesinde önemli rol oynayan proteince zengin bir karışımdır (Tamura vd., 2009). Arı sütleriyle yapılan çalışmada TFM içeriklerinin birbirine yakın değerlerde (133 ile 141 mg GAE/kg) olduğu ve toplam flavonoid miktarının 10,50 ile 14 mg QE/kg arasında değiştiği tespit edildi. Arı sütlerinin toplam fenolik madde miktarlarının bal, polen ve propolise göre çok düşük değerde olduğu görülürken antioksidan kapasitesini ifade eden FRAP değerleri anlamlı derecede yüksek bulundu. Bunun anlamı arı sütünün antioksidan kapasitesinin sadece polifenollerden oluşması değil yapısında bulunan protein, kısa peptitler ve kısa zincirli hidroksi yağ asitlerinden de kaynaklanmasıdır. Yapılan bir çalışmada arı sütünün bazı karakteristik bileşeni olan 10-hidroksidekanoik asit (10-HDA)

değerleri HPLC ile tayin edildi ve 1,58 ile 2,10 arasında değişim gösterdiği tespit edildi (Kim ve Lee., 2010). Bulgular Türk arı sütü ile yapılan bir çalışma ile benzerlikler arz etmektedir (Kolayli vd., 2015).

Arı zehri bal arısının karın boşluğunda bulunan bezlerden salgılanır. Arının temel olarak fiziksel savunma mekanizmasını oluşturmakla birlikte içerdiği çok sayıda bileşiği biyolojik aktivitesinin oldukça yüksek olduğu bildirilmektedir (Sobral vd., 2016). İnflamatuar hastalıklardan yanında arı zehrinin anti-tumoral aktivitesi de vardır. Biyokimyasal analizler bal arısı zehrinin de en az 50 bileşenin bulunduğunu ve bunların büyük çoğunluğunun hidrolitik enzim aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Hyaluronidaz, fosfolipaz, asit fosfataz, esteraz, histami, dopamin, noradrenalin içeriklerden bazılarıdır (de Abreu vd., 2010).

Çalışılan arı ürünlerinin antiinflamatuvar özelliklerini incelemek için anti-hyaluronidaz aktiviteleri incelendi. Kullanılan örneklerin TFM miktarları yüksek bulunan örneklerin anti-hyaluronidaz aktivitesi ye yüksek olduğu tespit edildi, ancak arı zehrini tespit edilmedi. Bunun nedeni arı zehrinin kendisinin hyaluronidaz aktivitesine sahip olmasıdır (Moreno, M ve Giralt, E., 2015). Propolis örneklerinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. İnflamasyon beyaz kan hücrelerinin vücudu bazı antijenik maddelere (kimyasal, bakteri, virus gibi) karşı koruyan bir mekanizma olup çeşitli prostaglandinler, lipooksigenaz enzimleri, siklooksigenazlar, fosfolipaz A2 ve hyaluronidaz enzimleri inflamasyonda rol alırlar (Libby vd., 2002). Hyaluronik asit eklem, bağ ve kıkırdak dokunun önemli bir bileşeni olup, dokuların yenilenmesinde ve tamirinde rol alır. Hyaluronidaz tarafından enzimatik olarak parçalanır ve kemik ve bağ dokusu kaybına yol açar ve ağrı oluşturur. Enzimin inhibisyonu anti-inflamatuar bir aktivite olup, anti-inflamatuar ajanlar romatizmal ilaçlarının tedavisinde önemli yer tutarlar (Silva vd., 2012; Huang vd., 2016). Literatürde arı ürünlerinin antiinflamatuvar özelliklerinin tespit edilmesinde anti-hyaluronidaz aktivitesi ile ilgili az sayıda çalışma mevcut olup Portekiz propolisi ile yapılan bir çalışma bulgularımızla benzer sonuçlar göstermektedir (Silva vd., 2012).

Bulgularımızda anti-hyaluronidaz aktivitelerine bakıldığında bal numunelerinde toplam fenolik içerikle paralel olarak en yüksek aktiviteyi kestane ve meşe ballarında gözlerken (0,11-0,01 mg/mL) en düşük aktivite ise çam balında (0,27 mg/mL) görülmektedir. Sonuçlarda büyük değer düşük aktiviteyi ifade eder. Polen örnekleri için yine fenolik bileşenlerle korelasyon gözlemlendi ve en yüksek aktivite Anzer poleninde, en düşük aktivite de Erzurum poleninde tespit edildi (0,016-0,045 mg/ mL). Propolis numunelerine

baktığımızı büyük farkla Kars propolisinin aktivitesinin öne çıktığı görülür (8,67 µg/ mL) ve en düşük aktivite Trabzon propolisinde gözlenmiştir. Yapılan çalışmada arı sütlerinin anti-hyaluronidaz aktiviteleri birbirine yakın çıkmıştır (37-46 mg/mL). Çalışmalar arı zehrinde de aynen uygulanmasına rağmen aktivite gözlenemedi. Bunun nedeni arı zehrinin kendisinin hyaluronidaz aktivitesine sahip olmasıdır (Moreno, M ve Giralt, E., 2015).

Literatürde arı ürünlerinin antiinflamatuvar özelliklerinin tespit edilmesinde anti-hyaluronidaz aktivitesi ile ilgili az sayıda çalışma mevcut olup. Portekiz propolisi ile yapılan bir çalışma bulgularımızla benzer sonuçlar göstermektedir (Silva vd., 2012).

Sonuç olarak arı ürünleri insan sağlığı için faydalı birer doğal ürün olup düzenli olarak tüketilmeleri halinde bağışıklık sisteminin güçlenmesini sağlayacak ve çeşitli hastalıkların oluşmasına engel olacaktır.

5. ÖNERİLER VE SONUÇLAR

Tübitak projesinin bir parçası olan ve yüksek lisans tezi olarak yapılan bu çalışmada ülkemizden çeşitli yörelerinden toplanan ve apiterapik değeri yüksek olduğu ileri sürülen bazı arı ürünlerinin (bal, polen, propolis, arı sütü, arı zehri) oksidasyonu azaltan veya durduran aktivite olarak bilinen antioksidan testleri ve doku harabiyetinin azaltılmasında etkili olan anti-hyaluronidaz aktiviteleri incelendi. Antioksidan testlerinden toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP), DPPH• ve ABTS• radikal temizleme aktivitelerine bakıldı. Elde edilen sonuçlarda:

- Çalışılan 5 değişik floraya sahip bal örneklerinin en yüksek antioksidan bileşene sahip ve antioksidan aktivitesi yüksek olan balın kestane ve meşe olduğu,
- Balların toplam flavonoid madde içeriklerinin toplama fenolik madde miktarlarıyla birlikte değişim gösterdiği ve meşe balı ile kestane ballarında en yüksek miktarda tespit edildiği,
- Çalışılan arı ürünü örneklerinden en yüksek antioksidan kapasiteye ait örneğin propolis olduğu,
- Propolis örnekleri içinde Balıkesir Bölgesi propolisinin en yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu, ballardan 200 kat daha yüksek olduğu,
- Polenlerin toplam fenolik madde miktarları ile ve antioksidan değerlerin ballardan yaklaşık 100 kat yüksek ancak propolislerin yaklaşık yarısı kadar olduğu,
- Fenolik içerik olarak incelendiğinde ise propolis>polen> bal>arı sütü şeklinde bir sıralamanın olduğu,
- Arı sütlerinin çalışılan antioksidan yöntemlerce nispeten fakir olduğu ancak, immun sistem üzerindeki etkilerinin bu çalışma ile değerlendirilemeyeceği, ancak daha ileri hayvan çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu,
- Arı sütü ve arı zehri hariç tüm arı ürünlerinin bir antiinflamatuvar enzim olan ve bağ dokusunun major polimeri olan hyaluronik asidin parçalanmasına neden olan ve bu etkinin özellikle eklem hastalıkları ve yaşlanmaya sebebiyet verdiği bilinen hyaluronidaz enzimin inhibisyonuna neden olduğu,

- Hyaluronidaz inhibisyonunun en yüksek propolis tarafından sağlandığı, onu polen ve balın izlediği tespit edildi.

114Z370 nolu Tubitak projesinde yapılan çalışmaların bir kısmı bu tezde verildiği için ilgili arı ürünlerinin antimikrobiyal ve antitumoral aktiviteleri ile farklı antiinflamatuvar enzim aktivite sonuçları bu teze konmadı. Birlikte değerlendirmelerin yapılması arı ürünlerinin apiterapik değerlerinin ortaya çıkarılması bakımından daha faydalı olurdu. Ayrıca *in vitro* alışmalardan başka gerçek aktiviteyi ortaya çıkarması bakımından *in vivo* alışmalarla projenin desteklenmesi güzel bir yaklaşım olurdu.



6. KAYNAKLAR

- Abdelatif, M., Yakoot, M. ve Etmaan, M., 2008. Safety and Efficacy of A New Honey Ointment On Diabetic Foot Ulcers: A Prospective Pilot Study, Journal of Wound Care, 17,3,108-10.
- Abdesslam, C., Maha, R., Bertrand, D. ve Marcelle, L., 2000. Increased Hyaluronan and Hyaluronidase Production and Hyaluronan Degradation in İnjured Aorta of İnsulin Resistant Rats, Arterioscler Thrombocyte Vascular Biology, 20, 1480-1487.
- Ahn, M. R., Kumazawa, S. ve Usui, Y., 2007. Antioxidant Activity Andconstituents of Propolis Collected İn Various Areas of China, Food Chemistry, 101, 1383–92.
- Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka M., Zhu, F. ve Nakayama, T., 2007. Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collectedin Various Areas of China, Food Chemistry, 101, 1383-1392.
- Akalın, A.C., 2011. Nar Şaraplarında Antioksidan Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akhmazillah, M. F. N., Farid, M. M., Silva, F. V. M., 2013. High Pressure Processing (HPP) of Honey For The İmprovement of Nutritional Value, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 20, 59–63.
- Akkuş İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Albayrak, S. ve Albayrak, S., 2008. Propolis: Doğal Antimikrobiyal Madde. Ankara Ecz. Fak. Derg., 37,3,201 – 215.
- Alencar, S. M., Oldoni, T. L. C., Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A., Rosalen, P. L., Ikegaki, M., 2007. Chemical Composition and Biological Activity of A New Type of Brazilian Propolis: Red Propolis, Journal of Ethnopharmacolgy, 113, 278–283.
- Aliyazıcıoglu, Y., Deger, O., Oval, E., Barlak, Y., Hosver, I., Tekelioglu, Y., 2005. Effect of Turkish Pollen and Propolis Extracts On Respiratory Burst For K-562 Cell Lines, International Immunopharmacology, 5, 1652-1657.
- Aliyazıcıoglu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E., Kolayli, S., 2013. Properties of Phenolic Composition and Biological Activity of Propolis From Turkey, International Journal of Food Properties, 16, 277-287.
- Aljadi, A. M., Kamaruddin, M. V., 2004. Evaluation of The Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Two Malaysian Floral Honeys, Food Chemistry, 85, 513-518.

- Allen, K. L., Molan, P. C., Reid, G. M., A. 1991. Survey of The Antibacterial Activity of Some New Zealand Honeys, Journal of Pharmacy And Pharmacology, 43, 12, 817-822.
- Al-Mamary, M.A., Al-Meer, Al-Habori, M., 2002. Antioxidant Activities And Total Phenolics of Different Types of Honey, Nutrition Research, 22, 1041–1047.
- Almeida, J., De F., Dos Reis, A.S., Heldt, L.F.S., Pereira, D., Bianchin, M., De Moura, C., Plata-Oviedo, M.V., Haminiuk, C.W.I, Ribeiro, I.S., Da Luz, C.F.P., Carpes, S.T. 2016. Lyophilized Bee Pollen Extract: A Natural Antioxidant Source To Prevent Lipid Oxidation In Refrigerated Sausages. LWT - Food Science and Technology, 1-7.
- Alqarni, A. D., Owayss, A. A. ve Mahmoud, A. A 2016. Physicochemical Characteristics, Total Phenols And Pigments of National and International Honeys In Saudi Arabia, Arabian Journal of Chemistry, 9, 114–120.
- Alves, A., Ramos, A., Margarida, M., Alves, G., Bernardo, M., Mendes, B., 2013. Antioxidant Activity, Quality Parameters and Mineral Content of Portuguese Monofloral Honeys. Journal of Food Composition and Analysis, 30, 130-138.
- Anderson, R.A., 2007. Prescribing Antioxidants. In Rakel: Integrative Medicine, 2nd ed., Saunders. Chapter, 103, 1083-1094.
- Andrade, P., Federico Ferreres, F., Gilb, M.I. ve Tomas Barberán, F.A., 1997. Determination of Phenolic Compounds in Honeys with Different Floral Origin by Capillary Zone Electrophoresis, Food Chemistry, 1, 79-81.
- Anklam, E., 1998. A Review of The Analytical Methods To Determine The Geographical and Botanical Origin of Honey, Food Chemistry, 63, 549-562.
- Bakhotmah, B. A., Alzahrani H. A., 2010. Self-Reported Use of Complementary And Alternative Medicine (CAM) Products In Topical Treatment of Diabetic Foot Disorders By Diabetic Patients In Jeddah, Western Saudi Arabia, BMC Research Notes, 6, 3, 254. Doi: 10.1186/1756-0500-3-254.
- Bankova, V., Popova, M., Bodganov, S. ve Sabatini, A.G., 2002. Chemical Composition of European Propolis: Expected and Unexpected Results, Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung, 57, 530–533.
- Banskota, A.H., Nagaoka, T., Sumioka, L.Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K., Matsushige, K. ve Kadota, S. 2002. Antiproliferative Activity of the Netherlands Propolis and Its Active Principles in Cancer Cell Lines, Journal of Ethnopharmacology, 80, 67-73.
- Benzie, J., F., F. ve Strain, J. J., 1999. Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version For Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, Meth, Enzymology, 299, 15-27.

- Bergman, A., Yanai, J., Weiss, J., Bell, D., David, M.P. 1983. Acceleration of Wound Healing By Topical Application of Honey, An Animal Model, *The American Journal of Surgery*, 145, 3, 374-376.
- Billingham, M. E., Morley, J., Hanson, J. M., 1973. Letter: An Anti-Inflammatory Peptide From Bee Venom, *Nature*, 245, 163-164.
- Bisswanger, H., 2003. *Enzyme Kinetics, Biochemistry*, Willey, 8,1,11-14.
- Blomhoff, R., 2005. Dietary Antioxidants and Cardiovascular Disease, *Current Opinion In Lipidology*, 16,47-54.
- Bogdanov, S., Ruoff, K. Oddo, L. P., 2004. Physico-Chemical Methods For The Characterisation of Unifloral Honeys: A Review, *Apidologie*, 35, 1, 4-17.
- Borbalán, Á.M.A., Zorro, L., Guillén, D.A. ve Barroso, C.G., 2003. Study of Polyphenol Content of Red and White Grape Varieties by Liquid Chromatography- Mass Spectrometry and Its Relationship to Antioxidant Power, *Journal of Chromatography A*, 1012, 31-38.
- Botzki, A., Salmen, S., Bernhardt, G., Buschauer, A. and Dove, S., 2005. Structure-Based Design of Bacterial Hyaluronan Lyase Inhibitors. *QSAR Comb. Sci.* 24, 458-469.
- Bozkurt, T., Tanyıldızı, S. and Türk, G., 2003. Effect of Levamisole On Hyaluronidase and Sperm Characteristics In Rams, *Theriogenology*, 62, 323-329.
- Burdock, G. A., 1998. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis), *Food Chemistry and Toxicology*, 36 , 347-363.
- Burns, J., Gardner, P.T., Matthews, D., Duthie, G.G., Lean, M.E.J. ve Crozier, A., 2001. Extraction of Phenolics and Changes in Antioxidant Activity of Red Wines During Vinification, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 5797-5808.
- Calderone, N. W. ve Johnson, B.R., 2002. The Withinnest Behaviour of Honeybee Pollen Foragers in Colonies With A High or Low Need For Polen, *Anim Behav*, 63, 749-758.
- Campos, J. F., Dos Santos, U. P., Macorini, L. F. B., De Melo, A. M. M. F. Balestieri, J. B. P. B., Paredes-Gamero, E. J., Cardoso, C. A. L., Souza, K. P. ve Santos, E. L., 2014. Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Propolis From *Melipona Orbigny* (Hymenoptera, Apidae), *Food and Chemical Toxicology*, 65, 374-380.
- Campos, M.G., Cunha, A., ve Markham, K.R., 1997. Bee-Products Properties, Applications and Apitherapy. In *Bee-Pollen Composition, Properties and Applications*, Ed. Mizrahi, A. ve Lensky, Y., London, UK, Plenum Publishers, 93-100.
- Can, Z., 2014. Biyoaktiviteleri Yönünden Türkiye Florasına Ait Baskın Ballar ile Manuka Ballarının Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S. and Kolayli, S., 2015. An Investigation of Turkish Honeys: Their Physico-Chemical Properties, Antioxidant Capacities and Phenolic Profiles, *Food Chemistry*, 180, 133-141.
- Castro- Vázquez, L.M.C., González-Viñas, M.A. ve Pérez-Coello, M.S., 2009. Differentiation of Monofloral Citrus, Rosemary, Eucalyptus, Lavender, Thyme and Heather Honeys Based on Volatile Composition and Sensory Descriptive Analysis, *Food Chemistry*, 112, 1022–1030.
- Cavia, M.M., Fernandez-Muino M.A., Gomez-Alonso E., Montes-Perez M.J., Huidobro, J.F. and Sancho, M.T., 2002. Evolution of Fructose and Glucose in Honey Over One Year: Influence of Induced Granulation, *Food Chem*, 78, 157–161.
- Chai, S., Chai, Q., Danielsen, CC. ve Hjorth P., 2005. Overexpression of Hyaluronan In The Tunica Media Promotes The Development of Atherosclerosis, 96, 583-591.
- Chudzinska, M. ve Baralkiewicz, D., 2010. Estimation of Honey Authenticity by Multielements Characteristics Using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP- MS) Combined with Chemometrics, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 284-290.
- Cooper, R. A., Molan, P. C. ve Harding, K. G., 2002. The Sensitivity To Honey of Gram-Positive Cocci of Clinical Significance Isolated From Wounds, *Journal of Applied Microbiology*, 93, 857-63.
- Cottica, S. M., Sabik, H., Antoine, C., Fortin, J., Graveline, N., Visentainer, J. V. ve Britten, M., 2015. Characterization of Canadian Propolis Fractions Obtained From Two-Step Sequential Extraction, *LWT, Food Science and Technology*, 60, 609-614.
- Cruthirds, D.L., Novak, L., Akhi, K.M., Sanders, P.W. ve Thompson, J.A., 2003. Mitochondrial Targets of Oxidative Stress During Renal Ischemia/Reperfusion. *Archives Biochemistry and Biophysics*, 412, 27-33.
- D’Arcy, B.R., 2005. Antioxidants in Australian Flotal Honeys-Identification of Healthenhancing Nutrient Component. Australian Government, Rural Industrie Research and Development Corporation (RIRDC), RIRDC Publication No. 05 /040, RIRDC Project No. UQ-102A, *Australia*, 94.
- Da Silva Frozza, C. O., Garcia, C. S.,C., Gabriela Gambato De Souza, M. D. O., Salvador, M., Moura, S., Padilha, F. F., Seixas, F. K., Collares, T., Borsuk, S., Dellagostin, O. A., Henriques, J. A. P. ve Roesch-Ely, M., 2007. Chemical Characterization, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Brazilian Red Propolis, *Food and Chemical Toxicology*, 52, 137–142.
- Dağlı, Ü., Balk, M., Yücel, D., Ülker, A. ve Över, H., 1997. The Role of Reactive Oxygen Metabolites In Ülcerative Colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 3,4,260-264.

- Darendelioglu, E., Aykutoglu, G., Tarti, M. ve Baydas, G., 2016. Turkish Propolis Protects Human Endothelial Cells In Vitro From Homocysteine-Induced Apoptosis, *Acta Histochemica*, Doi: 10.1016/J.Acthis.2016.03.007.
- De Abreu, R. M. M., Moraes, R. L. M. S. ve Camargo-Mathias, M. I., 2010. Biochemical and Cytochemical Studies of The Enzymatic Activity of The Venom Glands of Workers of Honey Bee *Apis Mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae), *Micron* 4, 172–175.
- Dobson, H. E. M. ve Peng, Y. S., 1997. Digestion of Pollen Components by Larvae of The Flower-Specialist Bee *Helostoma Florisomne* (Hymenoptera: Megachilidae), *J. Insect*
- Eraslan, G., Kanbur, M. ve Silici, S., 2008. Effect of Carbaryl on Some Biochemical Changes in Rats: The Ameliorative Effect of Bee, Polen, *Food Chem Toxicol.*, 47, 86-91.
- Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S. ve Karabacak, M., 2010. Beneficial Effect of in Honey On Trichlorfon Induced Some Biochemical Alterations İnmice, *Ecotoxicolo Environ Safety*, 73, 1084–1091.
- Erdogan, Y. ve Dodologlu, A., 2005. Bal Arısı (*Apis Mellifera* L.) Kolonilerinin Yaşamında Polenin Önemi, *Uludag Bee Journal*, May, 5.2.
- Esteviho, L., Pereira, A., Moreira, L., Dias, L. G. ve Pereira, E., 2008. Antioxidant and Antimicrobial Effect of Phenolic Compounds Extracts of Northeast Portugal Honey, *Food And Chemical Toxicology*, 46, 3774-3779.
- Fabre, N., Rustan, I., Hoffmann, D.E. ve Quetin-Leclercq, J., 2001. Determination of Flavone, Flavonol and Flavanone Aglycones by Negative Ion Liquid Chromatography Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 12,707-715.
- Fang, Z., Zhan, M. ve Wang, L., 2007. HPLC-DAD-ESI-MS Analysis of Phenolic Compounds in Bayberries (*Myrica rubra* Sieb. Et Zucc.), *Food Chemistry*, 100, 845-852.
- Ferrel, J.E., Chang Sing, P.D.G., Leow, G., King, R., Mansour, J.M. and Mansour, T.E., 1979. Structure/Activity Studies of Avonoids as İnhibitors of cAMP PDE and Relationship
- Franklin, SS., Larson, MG., Khan, SA., Wong, ND., Leip, FP., Kannel, WB. and Levy, D.,2001. Does The Relation of Blood Pressure To Coronary Heart Disease Risk Change With Aging? The Framingham Heart Study, 103, 1245–1249.
- Frost, G., Csoka, T., Wrong, T. and Stern, R., 1997. Purification, Cloning, and Expression of Human Plasma Hyaluronidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 236: 10-15.
- Ghisalberti, E. L., 1979. Propolis: A Review, *Bee World*, 60, 59 – 84.

- Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A. ve Fernandez-Gutierrez, A., 2006. Advances in the Analysis of Phenolic Compounds in Products Derived From Bees, *J Pharm Bio Anal.*, 41, 1220–34.
- Gonzales, A.P., Burin, L. ve Buera, M.P., 1999. Color Changes During Storage of Honeys in Relation to Their Composition and Initial Color, *Food Research International*, 32, 185- 191.
- Gonzalez-Paramas, A. M., Garcia-Villanova, R. J., Gomez Barez, J. A., Sanchez Sanchez, J., Ardanuy Albajar, R. 2007. Botanical Origin of Monovarietal Dark Honeys (From Heather, Holm Oak, Pyrenean Oak and Sweet Chestnut) Based on Their Chromatic Characters and Amino Acid Profiles, *European Food Research and Technology*, 226, 87–92.
- Gregoris, E., Stevanato, R., 2010. Correlations Between Polyphenolic Composition and Antioxidant Activity of Venetian Propolis, *Food And Chemical Toxicology*, 48, 76-82.
- Gregoris, E., Stevanato, R., 2010. Correlations Between Polyphenolic Composition and Antioxidant Activity of Venetian Propolis, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 76-82.
- Guler, A., Bakan, A., Nisbet, C. ve Yavuz, O., 2007. Determination of Important Biochemical Properties of Honey to Discriminate Pure and Adulterated Honey with Sucrose (*Saccharum Officinarum L.*) Syrup, *Food Chemistry*, 105, 1119- 1125.
- Güller, U., 2011. İnsan Eritrositlerinden Saflaştırılan Karbonik Anhidraz I ve II İzoenzimlerinin Aktiviteleri Üzerine Bazı Antiülser, Glukokortikoid ve Ürolojik İlaçların Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi., Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 99,6.
- Hallaç Türk, F., 2009. Bazı Sofralık Üzüm Çeşitlerinde Farklı Dönemlerde Alınan Yapraklardaki Fenolik ve Mineral Madde Değişimlerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999. *Free Radicals In Biology and Medicine*. 3rd Ed., Clarendon Press Oxford, P.530-533. Use of Nitrite and Ascorbate On Lipid Oxidation In Cooked Japanese Sardine (*Sardinops Melanostictus*) During Refrigerated Storage, *Food Chemistry*, 99, 70-82.
- Harbone, J.B., 1986. Nature, Distribution And Function of Plant Avonoids. In: Cody, V., Middleton, E., Harbone, J. (Eds.). *Plant Flavonoids In Biology And Medicine: Biochemical, Pharmacological And Structure-Activity Relationships*. Alan R. Liss, New York, 15-24.
- Havsteen, B.T., 2002. The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids, *Pharmacology and Therapeutics*, 96, 67–202.
- Hegazi, A.G., 1998. Propolis An Overview, *J. Bee In-formed*, 5, 22-23 ve 6, 23-28.

- Hipkiss, A.R., 2007. Biological Aspects of Ageing. *Psychiatry*, 6,12,476-479.
- Hotaman, H., 2015. Anzer Balı ve Poleni ile Hyaluronidaz ve Üreaz Enzimlerinin İnhibisyonu, Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Rize,77
- Huang, J., Wang, Y., Li, C., Wang, X. ve He, X., 2016. Triterpenes Isolated From Acorns of *Quercus Serrata* Var, *Brevipetiolata* exert Anti-Inflammatory Activity, *Industrial Crops and Products*, 91, 302–309.
- Isidorov, V. A., Bagan, R., Bakier, S., Swiecick, I., 2015. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Polish Herbhoneys, *Food Chemistry*, 171, 84–88.
- Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Malgorzata Dereń, M. ve Kafarski, P., 2012. Phenolic Compounds and Abscisic Acid As Potential Markers For The Floral Origin of Two Polish Unifloral Honeys, *Food Chemistry*, 131, 1149-156.
- Jennie, B.L. and Christine E., 2004. Schmidt. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*, 779-789.
- Jerry, P., Liu, L., Zeng, M., ve Stamler, J.S., 2000. An Apoptotic Model for Nitrosative Stress, *Biochemistry*, 39, 1040-1047.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A.M., 2006. *Biyokimya*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 975-591-131-6.
- Karaçalı, İ., 2002. Bahçe Ürünlerinin Muhafazası ve Pazarlanması, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, 494.
- Karataş, F. ve Şerbetçi, Z., 2008. Arı Polenlerindeki Adrenalin ve Noradrenalin Miktarlarının HPLC İle Belirlenmesi, Fırat Üniversitesi, *Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 3, 419-422.
- Karataş, F., Munzuroğlu, Ö. ve Gür, N., 2000. Arı Polenlerindeki A, E ve C Vitaminleri ile Selenyum Düzeylerinin Araştırılması, *F.Ü. Fen ve Müh. Bilimleri Dergisi*, 12, 219-224.
- Kaskoniene, V., 2010. Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographic Origins: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 620- 634.
- Kaygusuz, H., Tezcan, F., Erim, F.B., Yildiz, O., Sahin, H., Can, Z. ve Kolayli, S., 2016. Characterization of Anatolian Honeys Based On Minerals, Bioactive Components And Principal Component Analysis. *LWT -Food Science And Technology*, 68,273-279.
- Keenan, J. I., Salm, N., Wallace, A. J. ve Hampton, M. B., 2012. Using Food To Reduce H. Pylori-Associated Inflammation, *Phytother Res* 26, 11, 1620-5.

- Kehre, J.P. ve Smith, J.V., 1994. Free Radicals In Biology: Sources, Reactivites and Roles In Etiology of Human Diseases; In Frei B(Ed): Natural Antioxidants In Human Health and Disease, San Diego, Academic Press, 25-62.
- Khoddami, A., Wilkes, M.A. ve Roberts, T.H., 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds, *Molecules*, 18, 2328-2375
- Kim, J. ve Lee, J., 2010. Quantitative Analysis of Trans-10-Hydroxy-2-Decenoic Acid In Rojal Jelly Products Purshased In USA Byhigh Performance Liqued Chromatography, *J Apic Sci*, 54, 77-85.
- Kolaylı S. ve Keha E., 1999. A Comparative Study of Antioxidant Enzyme Activities in Freshwater and Seawater Adapted Rainbow Trout, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 13, 6, 334-337.
- Kolaylı, S., 2015. Bal ve Deli Bal, Ed. A.K. Gündüz, Balın Biyokimyasal Yapısı, Mart, 2015, İstanbul-Pp. ISBN: 978-605-335-118-4,9-21.
- Kolaylı, S., Aliyazıcıoğlu, R., Ulusoy, E. ve Karaoğlu, Ş., 2008. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Selected Turkish Honeys, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 36,163-172.
- Konar, V., Özdemir, F.A., Karataş, F., 2010. Ticari Arı Polenlerinde B Vitamini Miktarlarının Araştırılması, Fırat Üniversitesi, *Journal of Science*, 22, 61-64.
- Krell, R., 1996. Value-Added Products From Beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, No. 124.
- Kropf, U., Korosec, M., Bertonselj, J., Ogrinc, N., Necemer, M., Kump, P. ve Golob, T., 2010. Determination of the Geographical Origin of Slovenian Black Locust, Lime, and Chestnut Honey, *Food Chemistry*, 121, 839- 846.
- Kucur, M., Karadag, B., Isman, FK., Ataev, Y., Duman, D., Karadag, N., Ongen, Z. ve Vural, VA., 2009. Plasma Hyaluronidase Activity As An İndicator of Atherosclerosis İn Patients With Coronary Artery Disease, 110, 21-6.
- Kuppusamy, U.R. And Das, N.P., 1991. Inhibitory Effects of Flavonoids On Several Venom Hyaluronidases. *Experientia*, 47, 1196-1200
- Kuppusamy, U.R., Khoo, H.E. and Das, N.P., 1990. Structure–Activity Studies of Flavonoids As İnhibitors of Hyaluronidase, *Biochemistry, Pharmacol*, 40, 397–401.
- Kutluca, S., Genç, F. ve Korkmaz, A., 2008. Propolis, Samsun İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayını, Samsun, 52
- Kuzucu, M., 2011. Karbonik Anhidraz I ve II İzoenzimleri Üzerine Bazı İlaçların in vitro Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan, Türkiye, 93.

- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoglu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C. ve Candan, F., 2007. Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types From Anatolia, *Food Chem.*, 100, 526-534.
- Kwon, Y. B., Lee J, D. ve Lee H, J., 2001. Bee Venom Injection Into An Acupuncture Point Reduces Arthritis Associated Edema and Nociceptive Responses, *Pain* 90, 3, 271–280.
- Lercker, G., Caboni, M.F., Vecchi, M.A., Sabatini, A.G. ve Nanetti, A., 1992. Caratterizzazione dei Principali Costituenti Della Gelatina Reale, *Apicoltura*, 8, 11-21.
- Libby, P., Ridker, P.M. ve Maseri, A., 2002. Inflammation and Atherosclerosis, *Circulation*, 105, 1135–1143.
- Liu, J. R., Yang, Y. C., Shi, L. S. ve Peng, C. C., 2008. Antioxidant Properties of Royal Jelly Associated With Larval Age and Time of Harvest, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 10, 56, 23, 11447–5.
- Louveaux, J., Maurizio, A. ve Vorwohl, G., 1978. Methods of Melissopalynology, *Bee World*, 59, 4, 139-157.
- Maingonnat, C., Victor, R., Bertrand, P., Courel, M.N., Maunoury, R. and Delpech, B., 1999. Activation And İnhibition of Human Cancer Cell Hyaluronidase By Proteins. *Anal. Biochemistry*, 268, 30–34.
- Markiewicz-Żukowska, R., Car, H., Naliwajko, S.K., Sawicka, D., Szynaka, B., Chyczewski, L., Isidorov, V. ve Borawska, M.H., 2012. Ethanolic Extract of Propolis, Chrysin, CAPE İnhibit Human Astroglia Cells, *Advances İn Medicinal Sciences*, 57, 2, 208-216.
- Masek, A., Chrzescijanska, E., Latos, M. ve Zaborski, M., 2017. Influence of Hydroxyl Substitution On Flavanone Antioxidants Properties, *Food Chemistry* 215, 501–507.
- Meyer, K. and Rapport, M.M., 1951. The İnhibition of Testicular Hyaluronidase By Heavy Metals, *Journal of Biology Chemistry*, 188, 485–490.
- Molan, P., 2012. The Anti-İnflammatory Activity of Honey, <http://watsonandson.co.nz/files/ANTIINFLAMMATORY%20ACTIVITY%20OF%20HONEY.pdf>
- Molan, P.C., 1992. The Antibacterial Activity of Honey. 1: The Nature Of Antibacterial Activity. *Bee World*, 73, 5–28.
- Moreno, M., ve Giralt, E., 2015. Three Valuable Peptides From Bee and Wasp Venoms For Therapeutic and Biotechnological Use: Melittin, Apamin and Mastoparan Toxins 7, 1126-1150.

- Morita, H., Ikeda, T., Kajita, K., Fujioka, K., Mori I., Okada, H., Uno, Y. ve Ishizuka, T., 2012. Effect of Royal Jelly İngestion For Six Months On Healthy Volunteers, Nutrition Journal, 11, 1, 1.
- Mosley, R.L., Benner, E.J., Kadiu, I., Thomas, M. ve Boska, M.D., 2006. Neuroinflammation, Oxidative Stres, and The Pathogenesis of Parkinson's Disease. Clinical Neuroscience Research, 6,5, 261-281.
- Motallebnejad, M., Akram, S., Moghadamnia, A. ve Moulana, Z., 2008. The Effect of Topical Application of Pure Honey On Radiation-İnduced Mucositis: A Randomized Clinical Trial, The Journal of Contemporary Dental Practice, 9, 3, 040-7.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Ersoz, B., Dikmen, N., Menten, G. ve Özgünen, T., 1993. Harper'ın Biokimyası, Barış Kitapevi, 978-975-953-311-3.
- Nagai, T. ve Inoue, R., 2004. Preparation and Functional Properties of Water Extract and Alkaline Extract of Royal Jelly, Food Chem., 84, 181–186.
- Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H. ve Suzuki, N., 2003. Preparation and Antioxidant Properties of Water Extract of Propolis, Food Chemistry, 80, 29-33.
- Namias, N., 2003. Honey İn The Management of Infections, Surgical İnfections, 4,2, 219-226.
- Nasuti, C., Gabbianelli, R., Falcioni, G. ve Cantalamessa, F., 2006. Antioxidative And Gastroprotective Activities of Anti-İnflammatory Formulations Derived From Chestnut Honey İn Rats, Nutrition Research, 26, 130-137.
- Nelson, D.L. ve Cox, M.M., 2005. Lehninger, Biyokimyanın İlkeleri, Palme Yayıncılık, Ankara, 243-293.
- Neves, L. C., Alencar De, S. M. ve Carpes, S. T. 2009. Determination of Antioxidant Activity, Total Phenolic Compounds and Total Flavonoids of Samples of Apicultural Pollen From Apis Mellifera, Brazilian Journal of Food Technology, 15, 107-110.
- Nisbet, H.O., Ozak , A., Yardimci,C., Nisbet, C., Yarim, M., Bayrak, K. ve Sirin, Y.S., 2012. Evaluation of Bee Venom and Hyaluronic Acid İn The İntra-Articular Treatment of Osteoarthritis İn An Experimental Rabbit Model, Research İn Veterinary Science 93, 488–493.
- Omar, W. A. W., Azhar, A. A., Fadzilah, N. F. ve Kamal, N. N. S. N. M., 2016. Bee Pollen Extract of Malaysian Stingless Bee Enhances The Effect of Cisplatin On Breast Cancer Cell Lines, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6, 3, 265–269.
- Onat, T., Emerk, K. ve Sözman, E.Y., 2002. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara. Konya.

- Packer, J. M., Irish, J., Herbert, B. R., Hill, C., Padula, M., Blair, S. E., Carter, D. A. ve Harry, E.J., 2012. Specific Non-Peroxide Antibacterial Effect of Manuka Honey On The Staphylococcus Aureus Proteome, International Journal of Antimicrobial Agents, 40, 1, 43-50.
- Papas, A.M., 1996. Determinants of Antioxidant Status in Humans Lipits, 31, 77-82.
- Parellada, J. and Guinea, M., 1995. Flavonoid İnhibitors and Leucine Aminopeptidase: A Proposed Mathematical Model For IC₅₀
- Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X. ve Estevinho, L. M. 2014. Biological Activities of Commercial Bee Pollens: Antimicrobial, Antimutagenic, Antioxidant And Anti-İnflammatory, Food And Chemical Toxicology 63, 233–239.
- Pavel, C., Mărghitaş, L., Bobiş, O., Dezmirean, D. S., Şapcaliu, A., Radoi, I. ve Mădaş, M. N., 2011. Biological Activities of Royal Jelly – Review, Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 44, 2.
- Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A. ve Gambacorta, E. A., 2013. Comparative Study On Phenolic Profile, Vitamin C Content and Antioxidant Activity of Italian Honeys of Different Botanical Origin, International Journal of Food Science & Technology, 48, 1899–908.
- Pernal, S. F. ve Currie, R. W., 2001. The İnfluence of Pollen Quaaality on Foraging Behavior in Honeybees (*Apis Mellifera L.*), Behavioral Ecology and Sociobiology, 51, 53-68. Physio, 43, 89-100.
- Quideau, S. P., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. L. ve Pouységu, L., 2011. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities and Synthesis, Angewandte Chemie International Edition, 50, 3, 586–621.
- Rached, I. C. F. S., Castroa, F. M., Guzzo, M. L., de Mellob, S. B. V., 2010. Anti-İnflammatory Effect of Bee Venom On Antigen-İnduced Arthritis İn Rabbits: Influence of Endogenous Glucocorticoids, Journal of Ethnopharmacology, 130, 175–178.
- Ramadan, M. F. ve Al-Ghamdib, A., 2012. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Royal Jelly: A Review, Journal of Functional Foods, 4, 39–52.
- Rashed, M.N. ve Soltan, M.E., 2004. Major and Trace Elements in Different Types of Egyption Mono-Floral and Non-Floral Bee Honeys, Journal of Food Composition and Analysis, 17, 725- 735.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. ve Paganga, G., 1996. Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids, Free Radical Biology and Medicine, 20, 933-956.

- Rigden, D.J., Botzki, A., Nukui, M., Mewbourne, R.B., Lamani, E., Braun, S., Angerer, E., Bernhardt, G., Dove, S., Buschauer, A. and Jedrzejak, M.J., 2006. Design of New Benzoxazole-2-Thione-Derived Inhibitors of Streptococcus Pneumoniae Hyaluronan Lyase, Structure of A Complex With A 2-Phenylindole, *Glycobiology*, 16, 757–765. DOI:10.1093/Glyc
- Roderick J. W., Kevin R. M. ve Kerry L. A., 1999. Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey, *Food Chemistry*, 64, 295-301.
- Russel, K.M., 1983. The Antibacterial Properties of Honey, M.Sc. Thesis, University of Waikato, New Zealand.
- Saral, Ö., 2013. Apiterapik Arı Ürünlerinin (bal, polen, propolis ve arı sütü) Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rollerini, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 106
- Sarıkya, A., Ulusoy, E., Tunçel, M., Öztürk, N. ve Kolaylı, S., 2009. Antioxidant Activity and Phenolic Acid Constituents of Chestnut (*Castania sativa* Mill.) Honey and Propolis, *Journal of Food Biochemistry*, 33, 4, 470-481.
- Sawyer, R.T., 1986. Leech Biology And Behaviour, Oxford Science Publications, 1065 P.
- Saxena, S., Gautam, S. ve Sharma, A., 2010. Physical, Biochemical and Antioxidant Properties of Some Indian Honeys, *Food Chem*, 118, 391-397.
- Schmidt, J. O., 1997. Bee product: Chemical Composition and Application. International Conference On Bee Product Properties, Applications and Apitherapy. 15-26. Israel.
- Selenge, E., Murata, T., Tanaka, S., Sasaki, K., Batkhuu, J. and Yoshizak, F., 2014. Monoterpene Glycosides, Phenylpropanoids, and Acacetin Glycosides From *Dracocephalum foetidum*, *Phytochemistry*
- Silva, J. C., Rodrigues, S., Feás, X. ve Estevinho, L. M., 2012. Antimicrobial Activity, Phenolic Profile and Role In The Inflammation of Propolis, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1790–1795.
- Simova, S., Atanassov, A., Shishiniova, M. ve Bankova, V., 2012. A Rapid Differentiation Between Oak Honeydew Honey and Nectar and Other Honeydew Honeys By NMR Spectroscopy, *Food Chemistry*, 134, 1706-1710.
- Singleton, V.L. ve Rossi, J.A., 1965. Colorimetry Of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *Amer J Enol Viticult.*, 16, 144-158.
- Slinkard, K. and Singleton, V.L., 1977. Total Phenol Analyses: Automation and Comparison With Manual Methods. *Am. J. Enol. Vitic*, 28, 49-55.

- Sobral, F., Sampaio, A., Falcão, S., Queiroz, M. J. R. P., Calhelha, R. C., Vilas-Boas, M. ve Ferreira, I. C. F. R., 2016. Chemical Characterization, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Cytotoxic Properties of Bee Venom Collected In Northeast Portugal, *Food and Chemical Toxicology*, 94, 172-177.
- Son, D.J., Lee, J.W., Lee, Y.H., Song, H.S., Lee, C.K. ve Hong, J.T. 2007. Therapeutic Application of Anti-Arthritis, Pain-Releasing, and Anti-Cancer Effects of Bee Venom and Its Constituent Compounds, *Pharmacology Andtherapeutics*, 115, 246–270.
- Sorkun, K., Doğan, N., Gümüş, Y., Ergün, K., Bulakeri, N. ve Işık, N., 2002. Türkiye’de Üretilen Doğal ve Yapay Balların Ayırt Edilmesinde Fiziksel, Kimyasal ve Mikroskopik Analizleri, *Mellifera*, 2-4, 13-21.
- Spickenreither, M., Braun, S., Bernhardt, G., Dove, S. and Buschauer, A., 2006. Novel 6-Oacylated Vitamin C Derivatives As Hyaluronidase İnhibitors With Selectivity For Bacterial Lyases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16, 5313–5316.
- Stern R., 2008. Hyaluronidases İn Cancer Biology, *Seminars İn Cancer Biology*, 18, 275–280. DOI:10.1016/J.Semcancer.2008.03.017.
- Sunitha, K., Suresh, P., Santhosh, M.S., Hemshekhar, M., Thushara, R.M., Marathe, G.K., Thirunavukkarasu, C., Kemparaju, K., Kumarb, M.S. and Girish, K.S., 2013. İnhibition of Hyaluronidase By N-Acetyl Cysteine and Glutathione: Role of Thiol Group İn Hyaluronan Protection. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 55, 39– 46.
- Şahin, A., 2006. *Hirudo medicinalis* (Tıbbi Sülük)’ in Kas Dokusunda Hyaluronidaz Aktivitesinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Şahin, H., 2014. Ormangülü Balı ve Bitkisindeki GTX-III İzoformunun LC- MS/MS ile Aydınlatılması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Tammi, M.I., Day, A.J. ve Turley, E.A., 2002. Hyaluronan and Homesotasis: A balancing act. *J Biol Chemistry*, Feb 15, 277, 7, 4581-4.
- Tamura, S., Kono, T., Harada, C., Yamaguchi, K. ve Moriyama, T., 2009. Estimation and Characterisation of Major Royal Jelly Proteins Obtained From The Honeybee *Apis merifera*, *Food Chem.*, 114, 1491–1497.
- Tananaki, C., Thrasyvoulou, A., Giraudel, J.L. ve Montury, M., 2007. Determination of Volatile Characteristics of Greek and Turkish Pine Honey Samples and Their Classification by Using Kohonen Self Organising Maps, *Food Chemistry*, 10, 1687-1693.
- Tanyıldızı, S., ve Türk, G., 2003. The Effect of Diminazene Aceturate and Ceftriaxone On Ram Sperm, *Turk J Vet Anim Sci*, 61, 529 – 535.

- Tao, F., Gonzales-Flecha, B. ve Kobzik, L., 2003. Reactive Oxygen Species In Pulmonary Inflammation By Ambient Particulates. *Free Radical Biology and Medicine*, 35,4, 327-340.
- Tezcan, F., Kolaylı, S., Şahin, H., Ulusoy, E. ve Erim, F.B., 2011. Evaluation of Organic Acid, Saccharide Composition and Antioxidant Properties of Some Authentic Turkish Honeys, *Journal of Food and Nutrition Research*, 50, 33-40
- Thomas, M.J., 1995. The Role of Free Radicals and Antioxidants: How Do We Know That They Are Working?, *Critical Reviews In Food Science*, 35, 21-39.
- Toida, T., Ogita, Y., Suzuki, A., Toyoda, H. ve Imanari, T., 1999. Inhibition of Hyaluronidase By Fully O-Sulfonated Glycosaminoglycans, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 370, 176-182.
- Tonks, A. J., Cooper, R. A., Jones, K. P., Blair, S., Patron, J. ve Tonks, A., 2003. Honey Stimulates Inflammatory Cytokine Production From Monocytes, *Cytokine*, 21, 242-247.
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Tokera, O.S., Tastemur, B., Sagdica, O., Dogan, M. ve Kayacier, A., 2013. Quality Characterization of Artisanal and Retail Turkish Blossom Honeys: Determination of Physicochemical, Microbiological, Bioactive Properties and Aroma Profile, *Industrial Crops and Products*, 46, 124-131.
- Tuberoso, C.I.G., Boban, M., Bifulco, E., Danijela Budimir, D. ve Pirisi, F.M., 2013. Antioxidant Capacity and Vasodilatory Properties of Mediterranean Food: The Case of Cannonau Wine, Myrtle Berries Liqueur and Strawberry-Tree Honey, *Food Chemistry*, 140, 686-691.
- TGK., 2005. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği, Tebliğ No: 2005/49, Ankara.
- TGK., 2012. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği, Tebliğ No: 2012/58, Ankara.
- Ulusoy, E., 2010. Anzer Balı ve Poleninin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan Özellikleri, Doktora Tezi, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Ulusoy, E. ve Kolayli, S., 2013. Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Anzer Bee Pollen, *Journal of Food*, 1745-4514. DOI:10.1111/Jfbc.12027.
- Van Ketel, B. A., 1892. "Festnummer der Berichten van den Nederlandsche Maatschappij", *Bevordering der Pharmacie*, 67, 96.
- Vanden Berghe, D.A.R., Haemers, A. and Vlietinck, A.J., 1993. In: Colegate, S.M., Molyneux, R.J. (Eds.). *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and Structural Determination*. CRC Press, London, 405-440.

- Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., Kretzschmar, G. ve Panopoulos, N., 2007. Biotechnology of Flavonoids and Other Phenylpropanoid-Derived Natural Products. Part I: Chemical Diversity, Impacts On Plant Biology and Human Health, Biotechnology Journal, 2, 10, 1214-34.
- White, J. W., Subers, M. H., Schepartz, A. 1962. The Identification of Inhibine, American Bee Journal, 102, 11, 430-431.
- White, J. W., Subers, M. H. ve Schepartz, A. 1963. The Identification of Inhibine, The Anti Bacteri Al Factor In Honey, A S Hydrogen Peroxide and Its Origin In A Honey Glucose-Oxidase System, Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Specialized Section On Enzymological Subjects, 73, 57-70.
- White, J., 1975. Composition of Honey. In Crane, E (Ed) Honey: A Comprehensive Survey Heinemann, London, UK, 157-206.
- Wilkinson, C., Bower, L. and Warren, C., 1995. Measurement of Hyaluronidase Activity In Woo, K.S. ve Park, J.S., 1997. Eucalyptus Propolis Beverages with Their Composition and Effects. In Bee Products Properties, Applications and Apitherapy. Ed. Mizrahi, A. ve Lensky, Y., New York Plenum Pres, 125-128.
- Woo, K.S. ve Park, J.S., 1997., Eucalyptus Propolis Beverages with Their Composition and Effects. In Bee Products Properties, Applications and Apitherapy. Ed. Mizrahi, A. ve Lensky, Y. New York Plenum Pres, 125-128.
- Wroblewska, A. ve Erneststawiarcz, E., 2004. Pollen Spectrum of Some Honeys From Opatów Vicinity, Journal of Apicultural Science, 48, 2.
- Yahaya, Y.A. And Don, M.M., 2012. Evaluation of Trametes Lactinea Extracts On The Inhibition of Hyaluronidase, Lipoxxygenase and Xanthine Oxidase Activities In Vitro, Journal of Physical Science, 23,2, 1-15.
- Yao L., Jiang, Y., Singanusong, R., Datta, N. ve Raymont, K., 2004. Phenolic Acids and Abscisic Acid in Australian Eucalyptus Honey and Their Potential For Floral Authentication, Food Chemistry, 86, 169-177.
- Yıldız, O., 2011. Bir Gıda Maddesi Olarak Kestane Poleninin Kimyasal Bileşimi, Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rolü, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Yıldız, O. ve Alpaslan, M., 2011. Properties of Rose Hip Marmalades (Jams), Food Technology and Biotechnology, Accepted Paper.
- Yıldız, O., Can, Z., Saral, Ö., Yuluğ, E., Öztürk, F., Aliyazıcıoğlu, R. ve Kolaylı, S., 2013. Hepatoprotective Potential of Chestnut Bee Pollen On Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Damages In Rats, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. (A)

Yıldız, O., Karahalil, F., Can, Z., Sahin, H. ve Kolayli, S., 2013. Total Monoamine Oxidase (MAO) İnhibition By Chestnut Honey, Pollen and Propolis, Journal of Enzyme İnhibition and Medicinal Chemistry, 1-5. DOI: 10.3109/14756366.2013.843171. (B)

Zalata, A., Yahia, S., El-Bakary, A. ve Elsheikha, H.M., 2007. Increased DNA Damage İn Children Caused By Passive Smoking As Assessed By Comet Assay and Oxidative Stress. Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 629,2,140-147.



ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Trabzon ilinde doğdu. Liseyi Ö. Fatma BaŐ Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2008 yılında KTÜ Kimya Bölümü'nü kazandı. 2013'te Kimya Bölümünden ikincilikle mezun oldu ve bir sene aradan sonra aynı bölümde yüksek lisans eğitime başladı. Yüksek lisans eğitimi boyunca TÜBİTAK projesinde bursiyer olarak görev aldı. Anadolu Üniversitesinde ikinci üniversite okumakta ve KTÜ Fatih Eğitim Fakültesi'nde pedagojik formasyon eğitime devam etmektedir.