

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAFKAS ARI IRKI'NA AİT ARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE DİĞER IRKLARLA
KARŞILAŞTIRILMASI**

MEHMET KILIÇARSLAN

TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. BARBAROS DİNÇER
TEZ JÜRİLERİ
PROF. DR. SEVGİ KOLAYLI
YRD. DOÇ. DR. ÖZLEM SARAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

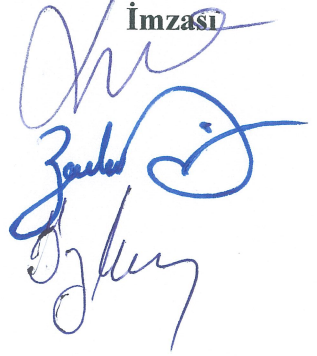
RİZE-2017

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAFKAS ARI IRKI' NA AİT ARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE DİĞER IRKLARLA
KARŞILAŞTIRILMASI**

Yrd. Doç. Dr. Barbaros DİNÇER danışmanlığında, Mehmet KILIÇARSLAN tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 24/11/2017 tarihinde Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Barbaros DİNÇER	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Özlem SARAL	


Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

“Kafkas Arı Irkı’na Ait Ürünlerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi ve Diğer Irklarla Karşılaştırılması” adlı bu tez çalışması, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Araştırma Laboratuvarı’nda gerçekleştirildi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlandı.

Çalışmamda bilgisi, deneyimi ve sabrı ile öğretici, kişiliği ve güler yüzü ile örnek olan danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Barbaros DİNÇER’e ve üzerimde çok emeği olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem SARAL’a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca tecrübelerinden yararlandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem FAİZ, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nimet BALTAŞ ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Kimya Bölümü hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca Çalışmamızda arı ürünlerinin temininde yardımcı olan Artvin Valiliği İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü’ne ve Volkan İSKENDER’e teşekkür ederim.

Hazırlanan bu Yüksek lisans tezi TÜBİTAK tarafından 214Z211 nolu proje ile desteklenmiştir.

Mehmet KILIÇARSLAN

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan Hazırlanan “Kafkas Arı Irkı’na Ait Ürünlerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi ve Diğer Irklarla Karşılaştırılması” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.
24 / 11 /2017



Mehmet KILIÇARSLAN

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

KAFKAS ARI IRKI'NA AİT ARI ÜRÜNLERİNİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE DİĞER IRKLARLA KARŞILAŞTIRILMASI

Mehmet KILIÇARSLAN

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Barbaros DİNÇER

Bal, polen ve propolis insan yaşamı ve sağlığı açısından önemi büyük olan doğal ürünlerdir. Geçmişten günümüze kadar yapılan bilimsel çalışmalar bu ürünlerin etki derecesini daha çok ön plana çıkarmıştır. Yapılan çalışmalar daha çok ürünlerin birbirleriyle kıyası çerçevesinde şekillenmiştir. Bu çalışmada ise arı ürünlerinde (bal, polen ve propolis) Kafkas arı ırkının farkı irdelendi. Bu bağlamda, *Apis mellifera anatoliaca*, *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera carnica* ve *Apis mellifera syriaca* olmak üzere dört arı ırkından alınan bal, polen ve propolis örnekleri kullanıldı. Numunelerde, başlıca fenolik ajanların sorumlu olduğu toplam polifenol ve toplam flavonoid testleriyle genel değerlendirmeler yapıldı. Bunun yanı sıra, CUPRAC ve FRAP gibi yöntemlerle spesifik elektron transferine dayanan antioksidan aktivite tayinleri yapıldı. Ayrıca radikalik etkinin ortamdaki uzaklaştırılmasına dayanan spektrofotometrik yöntemlerden biri olan DPPH radikal temizleme aktivitesi de numune ekstraktlarında uygulandı. Çeşitli metotlar kullanılarak elde edilen sonuçlara göre, Kafkas arı ırkının diğer arı ırkı ürünlerine göre göreceli ve istatistiksel bir farklılığının mevcut olmadığı görüldü. Sonuç olarak, ürünlerdeki biyoaktivite farklılığının en önemli nedeninin arının fiziksel özelliğinden kaynaklanmadığı, aksine floral çeşitlik ve zenginliğin bu ürünlere yüksek biyoaktivite değeri kazandırdığı kanaatine varıldı.

2017, 43 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Apis mellifera caucasica*, Bal, Propolis, Arı Irkı, Antioksidan.

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF BEE PRODUCTS OF CAUCASIAN BEE RACE AND COMPARISON WITH THE OTHER RACES

Mehmet KILIÇARSLAN

Recep Tayyip Erdoğan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Master Thesis
Supervisor: Asst. Prof. Dr. Barbaros DİNÇER

Honey, pollen and propolis are natural products that have great importance for human life and health. Scientific studies from past to present had highlighted the degree of effects of these products. The studies have been mostly focused on comparison of the products with one another. In this study, the difference of Caucasian race was investigated in bee products (honey, pollen and propolis). In this context, honey, pollen and propolis samples from four bee races of *Apis mellifera anatoliaca*, *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera carnica* and *Apis mellifera syriaca*, were used. General assessments on the samples were conducted with total polyphenol and flavonoid testing which phenolic agents were responsible for. Additionally, antioxidant activity was determined with CUPRAC and FRAP, methods based on the specific electron transfer. Also, DPPH radical scavenging activity, one of the spectrophotometric methods based on the removal of radicalic effect from medium, was performed in sample extracts. According to the results obtained from different methods, it was seen that Caucasian race of bees had no relative and statistical superiority compared to other races of bee products. It was concluded that the reason of the difference in bioactivity of the products is due to floral diversity and richness rather than physical property of the bees.

2017, 43 pages

Key words: *Apis mellifera caucasica*, Honey, Propolis, Bee Race, Antioxidant.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	2
1.2.1. Polifenoller.....	6
1.3. Arı Ürünleri.....	13
1.4. Kafkas Arı Irkı ve Özellikleri	14
1.5. Literatür Özeti.....	15
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	18
2.1. Materyal	18
2.2. Yöntem.....	21
2.2.1. Arı Ürünlerinin Temini	21
2.2.2. Numune Kodlama Prosedürü.....	21
2.2.3. Ekstraksiyon Aşaması.....	22
2.2.4. Toplam Fenolik Madde Tayini	22
2.2.5. Toplam Flavanoid Tayini.....	23
2.2.6. Antioksidan Kapasite Tayini	23
2.2.6.1. CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini	23
2.2.6.2. FRAP (Fe(III) İndirgeme Antioksidan Kapasite Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini.....	24
2.2.6.3. DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) Serbest Radikali Temizleme Yöntemi	25
2.3. İstatistiksel Analizler	25
3. BULGULAR.....	26
3.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları	26

3.2	Toplam Flavanoid Madde Miktarı Sonuçları.....	27
3.3.	CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları.....	29
3.4.	FRAP (Fe(III) İndirgeme Antioksidan Kapasite Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları	30
3.5	DPPH Serbest Radikali Temizleme Yöntemi Sonuçları.....	32
4.	SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	35
5.	ÖNERİLER.....	38
	KAYNAKLAR	39
	ÖZGEÇMİŞ	43



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Antioksidan-serbest radikal ilişkisi	4
Şekil 2. Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı	7
Şekil 3. Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı	8
Şekil 4. Rutin, apigenin, krisin ve luteolin'in kimyasal yapısı	9
Şekil 5. Kuersetin ve Kaempfenol yapısı	9
Şekil 6. Naringenin, naringin, hesperetin ve hesperidin kimyasal yapıları	10
Şekil 7. Kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşingallat, epigallo kateşin galatının kimyasal yapıları.....	11
Şekil 8. Fenolik polimerlerin yapısı	12
Şekil 9. Siyanidin kimyasal yapısı	13
Şekil 10. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği	26
Şekil 11. Analiz edilen Bal, Polen ve Propolis numunelerinin toplam polifenol sonuçlarının grafiksel gösterimi	27
Şekil 12. Toplam flavonoid madde kalibrasyon grafiği.....	28
Şekil 13. Analiz edilen Bal, Polen ve Propolis numunelerinin toplam flavonoid sonuçlarının grafiksel gösterimi	28
Şekil 14. FRAP kalibrasyon grafiği	29
Şekil 15. Analiz edilen Bal, Polen ve Propolis numunelerinin FRAP sonuçlarının grafiksel gösterimi	30
Şekil 16. CUPRAC kalibrasyon grafiği	31
Şekil 17. Analiz edilen Bal, Polen ve Propolis numunelerinin CUPRAC sonuçlarının grafiksel gösterimi	31
Şekil 18. DPPH kalibrasyon grafiği	32
Şekil 19. Analiz edilen Bal, Polen ve Propolis numunelerinin DPPH-SC ₅₀ sonuçlarının grafiksel gösterimi	39

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri.....	3
Tablo 2. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması.....	5
Tablo 3. Polifenollerin sınıflandırılması.....	6
Tablo 4. Antoksaninler ve Antosiyaninler.....	7
Tablo 5. Kullanılan cihaz ve gereçler, marka/modelleri.....	18
Tablo 6. Kullanılan kimyasallar ve satın alındığı firma.....	18
Tablo 7. Kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları.....	19
Tablo 8. Çalışılan numunelerin kodlama prosedürü.....	21
Tablo 9. Toplam polifenol tayininde yapılan pipetleme işlemi.....	22
Tablo 10. Toplam flavonoid tayininde yapılan pipetleme işlemi	23
Tablo 11. CUPRAC tayininde yapılan pipetleme işlemi	24
Tablo 12. FRAP tayininde yapılan pipetleme işlemi	24
Tablo 13. DPPH• yöntemi için yapılan pipetlemeler.....	25
Tablo 14. Arı ürünlerinin analiz sonucu	34

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABS	Absorbans Değeri
CUPRAC	Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity
DPPH	2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
SC ₅₀	Radikal Konsantrasyonunu Yarıya Düşüren Özüt Konsantrasyonu



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünya coğrafyasındaki konumunun sonucu olarak dünyada mevcut ballı bitki türlerinin $\frac{3}{4}$ 'üne sahip olması Türkiye'nin arıcılıktaki şansını artırmaktadır (Fıratlı vd., 2000). Günümüzde kırsal nüfusa istihdam, gelir ve sağlıklı beslenme aracı olan arıcılık, bir iş dalı olma özelliğinin yanı sıra önemli bir bitkisel üretim girdisidir.

Bal arıları çiçeklerin nektar ve polenlerini toplayarak çeşitli arı ürünleri (bal, polen, propolis, arı sütü) yaparlar. Bal, bal arıları *Apis mellifera* tarafından çiçek nektarlarından toplanan doğal tatlı bir üründür. Bal, vitaminler, mineraller, şeker (yaklaşık %76), su (%18) ve yaklaşık %6 diğer maddelerden (protein, polifenol) oluşmaktadır. Çok değişik biyoaktif antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antifungal gibi özelliklere sahiptir. Arı poleni arılar tarafından kovan için besin ürünü olarak toplanır. Polen, zengin bir protein kaynağı olmasının yanı sıra karbohidrat, lipid, mineral ve vitamin içermektedir. Polende bal gibi antibakteriyel, antifungal ve antioksidan özelliklere sahiptir. Propolis, bal arılarının bitki ve ağaçların tomurcuk ve filizlerinden topladığı doğal bir reçinedir. Propolis genel olarak % 50 reçine, % 30 bal mumu, % 10 uçucu yağ, % 5 polen ve % 5 diğer organik bileşiklerden oluşmaktadır. Propolis antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antitümöral aktivite gibi biyolojik aktivitelere sahiptir (Gómez-Caravaca vd., 2006).

Dünyada morfolojik, fizyolojik ve davranış karakterleri açısından sınıflandırması yapılmış 24 arı ırkı belirlenmiştir. Türkiye'de çok sayıda arı ırkı bulunmaktadır. Ancak yaygın olarak *Apis mellifera anatoliaca*, *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera carnica* ve *Apis mellifera syriaca* olmak üzere 4 arı ırkı bulunmaktadır. *Apis mellifera caucasica* diğer arı ırklarından daha uzun bir dile sahiptir ve uzun dilleri sayesinde derin tüplü çiçeklerin nektarlarından da faydalanmaktadırlar. Kafkas arısının önemli bir özelliği diğer arılara göre daha fazla propolis üretmesidir (Sheppard vd., 1997; Sheppard ve Meixner 2003).

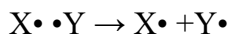
Bu çalışmada, Kafkas arı ırkı dahil 4 arı ırkından elde edilen arı ürünlerinin (bal, polen ve propolis) antioksidan özellikleri belirlenerek, Kafkas arı ırkının ürün özellikleri

karşılaştırıldı. Elde veriler istatistiksel olarak değerlendirilerek kendi aralarında anlamlı bir farklılığın olup olmadığı belirlendi. Yapılan bu çalışma ile literatürlere aktarılacak veriler ülke arıcılığının zenginliği ortaya çıkarmaya ve geliştirmeye katkı sağlayacaktır.

1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

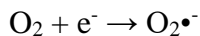
Serbest radikaller dış orbitallerinde ortaklaşmamış elektron bulunduran, kısa ömürlü, reaktif moleküllerdir. Serbest radikallerin en önemlileri reaktif oksijen türleri (ROT) dir. Oksidasyon, bir atom ya da molekülün bir alıcıya elektron vermesi ile meydana gelen yükseltgenme basamağıdır. Yükseltgenme 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).

1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile;



2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile: Askorbik asit ve tokoferol gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

3. Normal bir moleküle tek bir elektron transferi ile:



En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

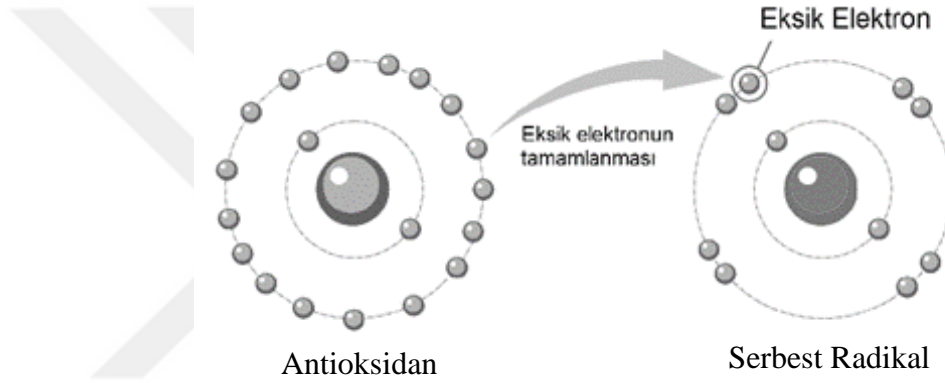
Tablo 1. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri

Serbest Radikalin ve Radikal Üreten Türün		
Adı	Simgesi	Kimliği
Hidrojen radikali	H [•]	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali	O ₂ ^{•-}	Oksijen metabolizmasının ilk ana ürünü
Hidroksil radikali	OH [•]	En toksik oksijen metaboliti radikali
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O ₂	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Perhidroksi radikali	HO ₂ [•]	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikali	RCOO ^{•-}	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Triklorometil radikali	CCl ₃ [•]	CCl ₄ metabolizması ürünü, karaciğerde üretilir
Tiyil radikali	RS [•]	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerdir
Alkoksil radikali	RO [•]	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrik oksit	NO [•]	L-argininden <i>in vivo</i> üretilir
Peroksinitrit	NO ₂ [•]	NO'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok hasara yol açmaktadır. Bu hasarlar şöyle sıralanabilir (Kehre and Smith, 1994; Halliwell and Gutteridge, 1999). Oksidatif stresin, ROT' ların neden olduğu hücre hasarları sonucu birçok hastalığa neden olduğu bulunduğu düşünülmektedir. 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, radikallerin etkisiyle meydana gelen oksidasyonu yavaşlatan veya durduran ya da oluşmasını engelleyen her türlü moleküle denilmektedir (Young ve Woodside, 2001). Vücudumuzda kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerden bazıları kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize ederken bu sırada serbest radikal haline gelmemektedirler (Şekil 1) (Prior ve Cao, 2000). Antimutajenik, antikarsinojenik, antiaging gibi birçok biyolojik fonksiyonun bu antioksidanlardan kaynaklandığı bilinmektedir (Cook ve Samman 1996).



Şekil 1. Antioksidan-serbest radikal ilişkisi.

1. Singlet oksijeni sönmeye uğratarak oksijen derişimini düşürebilirler.
2. Hidroksil radikallerini tutarak zincir reaksiyonlarının başlamasını önlerler.
3. Metal iyon katalizörlerini bağlarlar (Shahidi, 1996).

Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Genel olarak bir antioksidanın aktivitesi şu faktörler ile belirlenir:

1. Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterebildiği reaktivite (Genelde indirgeme potansiyeline bağlıdır). İndirgenme potansiyeli düşük olan molekül yükseltgenir.

2. Antioksidandan türeyen radikalın akıbeti.
3. Diğer antioksidanlarla etkileşim yeteneği.
4. Geçiş metali şelatlama potansiyeli (Rice-Evans vd., 1997).

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere iki gruba ayrılır. Aslında çok geniş bir aile olan doğal antioksidanlar genel olarak bakıldığında endojen ve eksojen antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar. Endojen (organizma tarafından sentezlenen) antioksidanlar kendi aralarında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar (Thomas, 1995; Blomhoff, 2005; Jerry vd., 2000). Enzimatik olan antioksidanların en bilinenleri süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve hidroperoksidaz olup enzimatik olmayan antioksidanlar ise indirgenmiş glutatyon (GSH), bilirubin, ferritin, albumin, seruloplazmin, melatonin, sistein, metiyonin, laktoferrin, transferrin, haptoglobülin ve ürik asit ile en bilinenleridir. 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; Şahin, 2014). Doğal antioksidanlar Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması.

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

1.2.1. Polifenoller

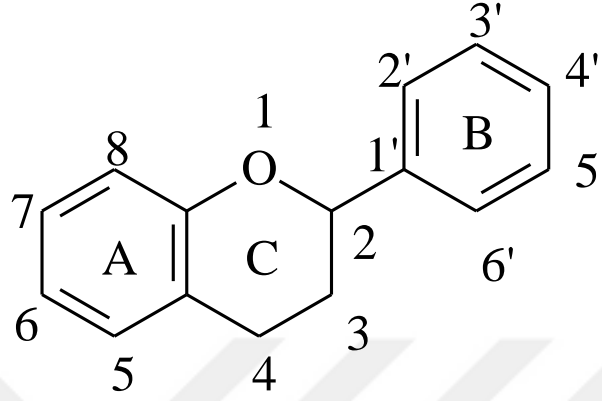
Birden fazla hidroksil kökü içeren fenolik maddelere ise polifenoller denir. Polifenoller Tablo 3’de özetlenmiştir. Özetle bilinen tüm fenolik bileşikler, basit fenollerdeki benzen halkasına farklı radikal grupların bağlanması ile oluşmuşlardır (Hallaç, 2009 ; Karaçalı, İ., 2002). Polifenoller; bitki dünyasının büyük bir kısmında mevcut olan, fitokimyasalların en geniş kategorilerinden birini oluşturan ve insan yaşamında gerekli olan bileşiklerdir. 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, vd, 1996). Besin fenolikleri; flavonoidleri, fenolik asitleri ve fenolik polimerleri içerir. Fenolik asit grubunun üye başlıkları, hidroksisünamik asit türevleri (C₆-C₃), hidroksibenzoik asit türevleri (C₆-C₁)’dir. Fenolik asitlerin çoğunu hidroksi sünamik asitler oluşturur (Cadenas, E. and Packer, L., 2002).

Tablo 3. Polifenollerin sınıflandırılması

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

Antioksidan ve şelatlama özelliğine sahip flavonoidler, düşük molekül ağırlıklı en geniş bitki fenolikleri sınıfıdır. 6 karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılık gösterirler. Aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C olarak ifade edilir (Şekil 2). Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000’den fazla flavonoid çeşidi bulunmaktadır. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grupları içerirler. Metal şelatlama,

lipid peroksidasyonu engelleme, reaktif oksijen türlerini içeren diğer prosesleri azaltma özellikleri vardır. Bu bileşikler yapılarına bağlanan grupların çeşidi, pozisyonu ve sayısına göre farklı radikal yutma ve şelatlama aktivitesine sahiptirler (Özenç, B., 2011).



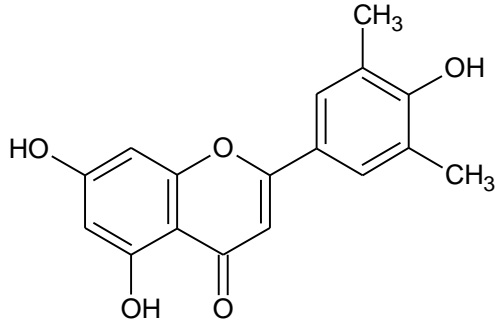
Şekil 2. Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı

Flavonoidler, fenolik ve furan halkalarından oluşan benzo-furan türevleridir. Bu bileşikler; A, B ve C halkalarından oluşan halka yapısında çeşitli hidroksil, metoksi ve glikozid yan grupları içerirler. Halkalar arasındaki yapısal değişiklikler flavonoidleri çeşitli sınıflara ayırmaktadır.

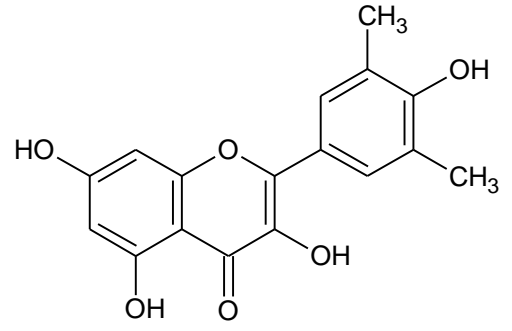
Flavonoid çeşitleri öncelikle, antoksaninler ve antosiyaninler olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Antoksaninler ise kendi arasında beş farklı sınıfa ayrılmaktadır:

Tablo 4. Antoksaninler ve Antosiyaninler

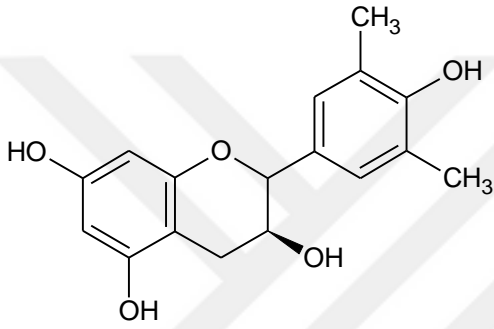
Antoksaninler	Antosiyanin ve antosiyanidinler
Flavonoller	
Flavonlar	
İzoflavonlar	
Flavanonlar	
Flavanoller	



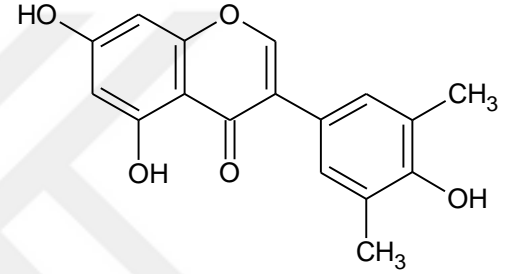
Flavon



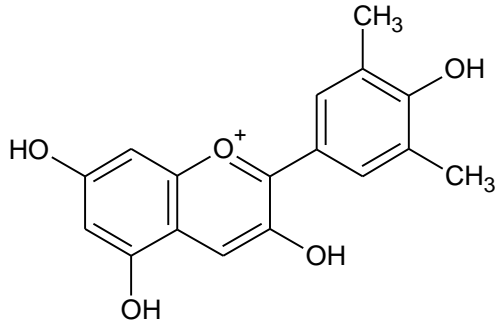
Flavonol



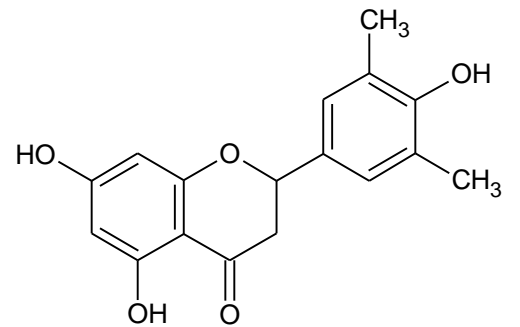
Flavanol



Izoflavon



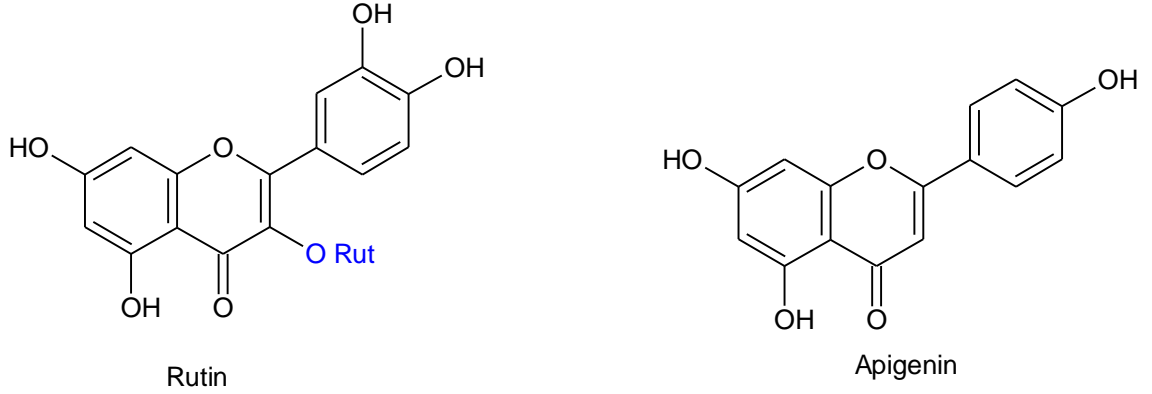
Antosiyanidin



Flavanon

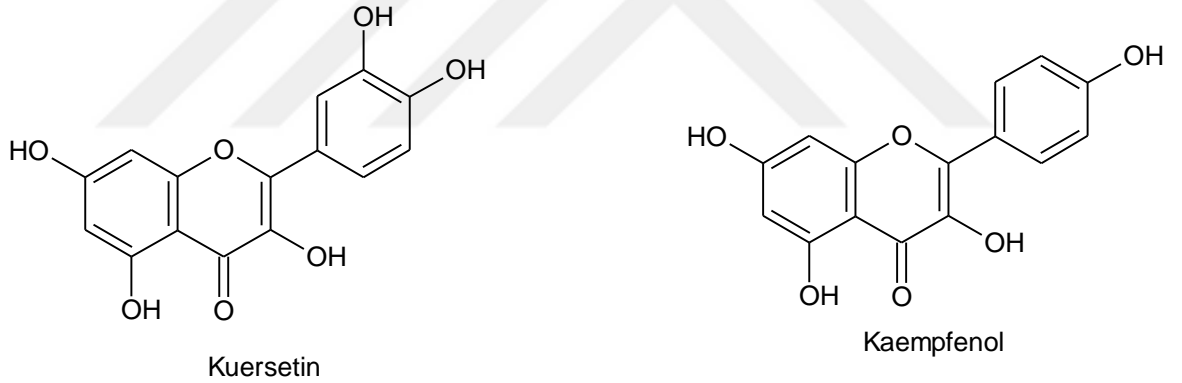
Şekil 3. Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı

Flavonoidler sınıfının temel maddesi *2-fenil kromonolan flavon*'dur. En önemli flavonlar; rutin, apigenin, krisin ve luteolin'dir. Rutin kuersetinin glikozidi olup kırmızı sarap ve domatestede mevcuttur. Apigenin; maydonoz ve kereviz sapında, krisin; meyve kabuğunda, luteolin ise acı biberde bulunmaktadır.



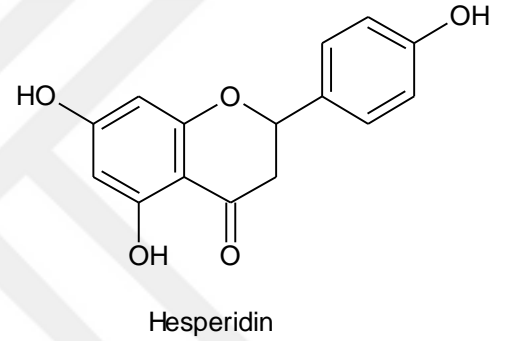
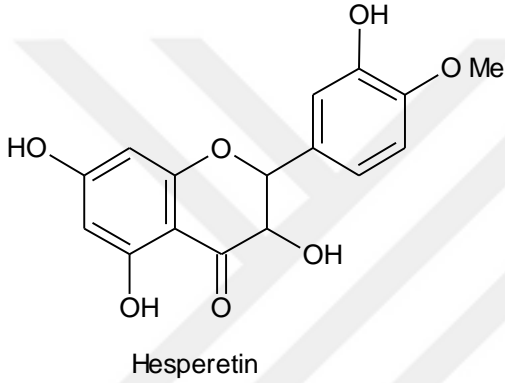
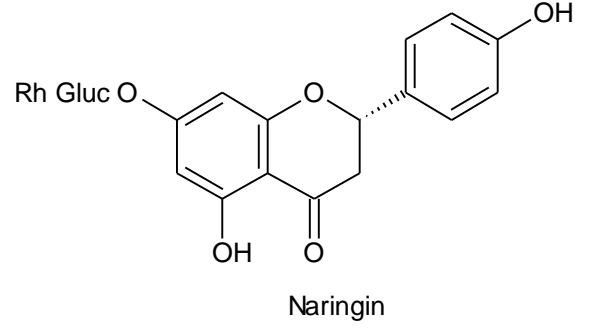
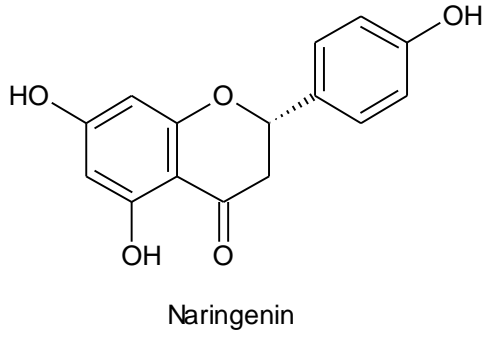
Şekil 4. Rutin, apigenin, krisin ve luteolin'in kimyasal yapısı

Flavonoller (3-hidroksiflavon), flavonun 3. karbon atomuna bağlı bir hidroksil grubu taşırlar. Flavonoidlerin bitkilerde en yaygın olarak bulunan sınıfıdır. En önemli flavonollerkuersetin, mirisetin, fisetin ve kaempferol'dur. Kuersetin flavonoidlerin en önemli bileşigi ve bitkilerin temel fenolik bileşenidir. Soğanda, elmada ve lahanada bol miktarda bulunur.



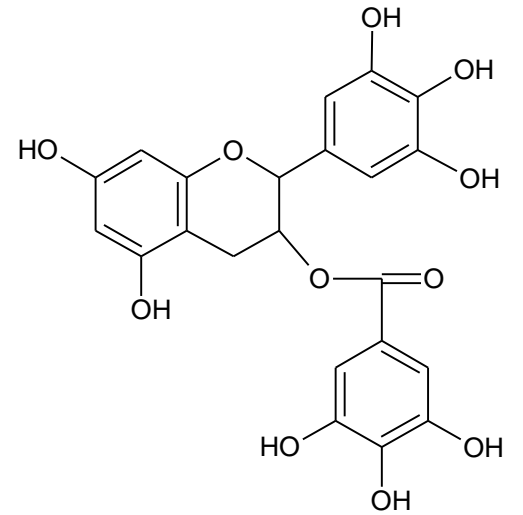
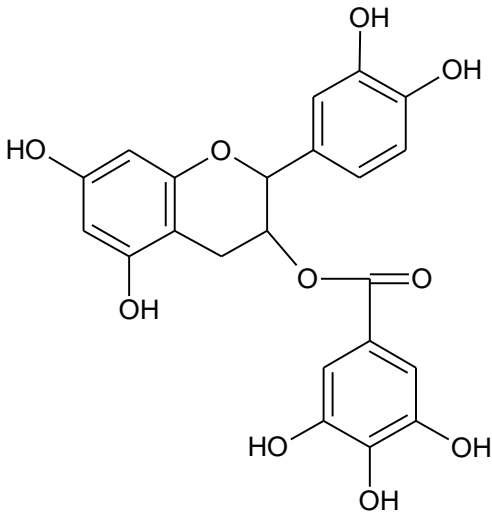
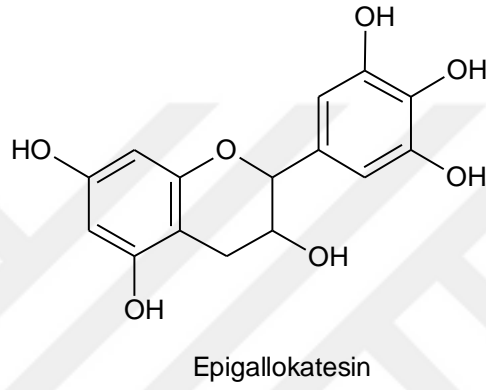
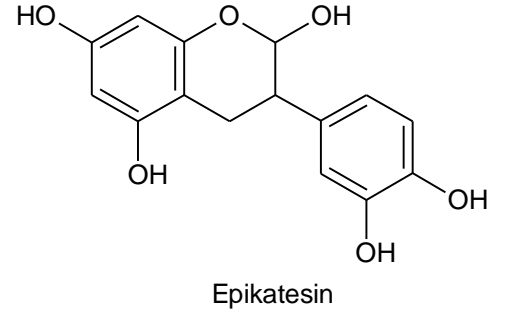
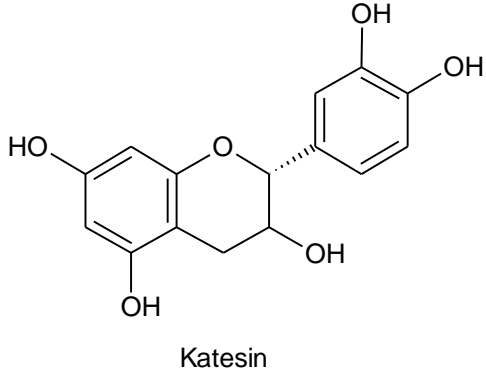
Şekil 5. Kuersetin ve Kaempferol yapısı

Flavonun dihidroksi türevi *flavanon*'dur. En önemlileri naringenin, naringin, hesperidin ve hesperetin'dir. Naringenin 3-hidroksi flavanon'dur. Greyfurtun karakteristik acılığını veren bileşik naringenin glikozidi olan naringin'dir. Turunçgillerden eksi portakalda bulunur ve son derece acıdır. Naringinina glikonu olan naringenin ise acı değildir. Hesperidin ve hesperetin limon ve portakalda bolca bulunur. Hesperidin, hesperetin glikozididir.



Şekil 6. Naringenin, naringin, hesperetin ve hesperidin kimyasal yapıları

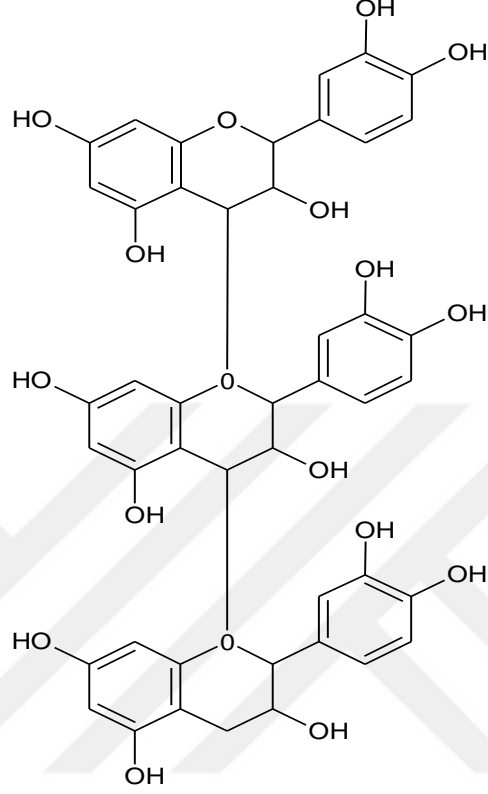
Flavonların izomeri olan *izoflavonlar* ise aromatik B halkasının, C halkasının 3. Karbon atomuna bağlanmasıyla oluşur. Genistein, daidzein ve bunların glikozidleri olan genistin ve daidzin başlıca izoflavonlar olup soya fasulyesi ve soya fıstığında mevcuttur. Flavonollerin C halkasında bulunan çifte bağlı oksijen atomunun yerine -CH₂ grubu geldiğinde *flavanol* oluşur. Flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikatesin' dir. Katesin ve epikatesinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikatesin gallatlar meydana gelir. Bu bileşikler çoğunlukla yeşil ve siyah çayda, kırmızı ve beyaz şarapta, şeftalide ve elmada bol miktarda bulunurlar.



Şekil 7. Katesin, epikatesin, epigallokatesin, epikateşingallat, epigallokatesin galatının kimyasal yapıları

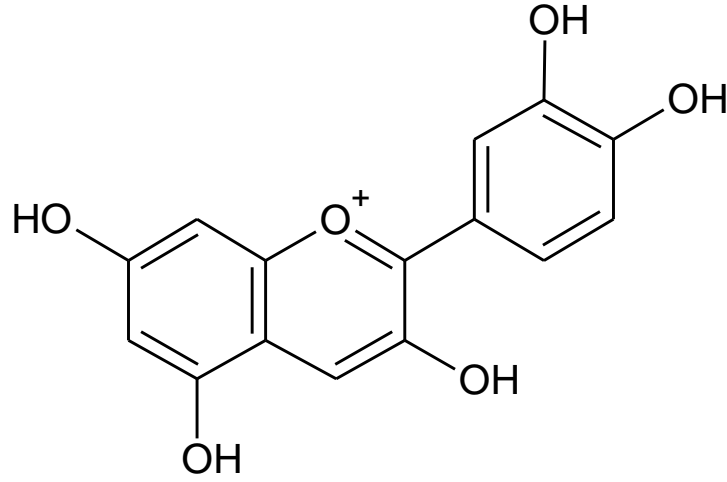
Fenolik polimerler, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Yoğunlaşmış tanenler bu gruba girerler. Bugün besin tanenleri denilince genellikle katesin ve epikatesinin

polimerleri anlaşılmaktadır. Koyu renkli ve tadı buruk bileşiklerdir. Kırmızı ve beyaz şarapta, elma ve nar suyunda mevcuttur.



Şekil 8. Fenolik polimerlerin yapısı

Flavanollerin B aromatik halkasına bir hidroksil grubunun bağlanmasıyla meydana gelir. Aglikonları *antosiyandinler*'dir. En önemlileri; apigenidin, siyanidin, malvidin ve delfinidin'dir. Renkli meyvelerde özellikle kırmızı ve mor renkli meyvelerde bol miktarda bulunur.



Şekil 9. Siyanidin kimyasal yapısı

Antosiyaninler birçok meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı, viyole, mavi ve mor tonlarındaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki doğal renk maddeleridir. Antosiyaninler ortam pH'sına bağlı olarak adeta bir indikatör gibi renk değiştirmektedirler. Örneğin antosiyaninler pH 1,0'de renkli oksonium formuna, pH 4,5'te ise renksiz karbinol psödobaz formuna (hemiketal form), pH 5,0 üzerinde ise mavi renkli kuinidal anhidrobaz formuna dönüşmektedirler (Guitsi, M.M., and Wrolsta, R.E. 2001 ; Cemeroglu B., vd., 2004).

Antosiyanin içeren meyve ve sebzelerin rengi önemli bir kalite kriteri olması nedeniyle bu tip ürünlerin işlenmesinde ve işlenmiş ürünlerin depolanmasında, antosiyanin miktarının ve parçalanma ölçütlerinin duyarlı bir şekilde belirlenmesi gerekebilmektedir. Ayrıca son yıllarda, antosiyaninlerin, koronal kalp hastalıklarına karşı yararlı olduğu, anti-kanser aktiviteye sahip olduğu ve antioksidan aktivite gösterdiği yönündeki bulgular antosiyaninlere gittikçe artan bir ilgi doğmasına neden olmuştur (Cemeroglu B., 2007).

1.3. Arı Ürünleri

Bal, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından üretilen doğal bir ürün olup, insanlar tarafından tatlandırıcı ve besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Balın bileşimi arının nektar topladığı bitkilerin türüne, çevresel koşullarına ve üretim şekillerine göre değişim göstermektedir (Anklam, 1998). Balın bileşimi çeşitlilik göstermekle birlikte tipik bir bal yaklaşık % 15-20 nem, % 70-76 şeker, % 0,1-0,2 kül, % 1 polifenol, protein gibi

bileşenlerin yanı sıra koruyucu olarak vitaminler içermektedir. Bu parametreler balın nektar kaynağına göre az miktarda değişim gösterirler. Balın biyolojik aktif değerinden en fazla sorumlu bileşenler vitaminler ile polifenolik ajanlardır.

Sekonder metabolitler olarak da adlandırılan bu bileşenler içinde uçucu yağlar vitaminler ve aromatik bileşenler balın duyuşsal özelliklerini ve biyolojik değerini oluşturur (Can vd., 2015).

Propolis, arıların bitkilerden topladığı reçinemsı madde olup kovanın savunmasında, dezenfeksiyonunda ve yalıtımında önemli rol almaktadır. Antioksidan, antibakteriyal, antiviral ve antitümoral aktiviteye sahip olup özellikle dış ve ağız sağlığı başta olmak üzere, çeşitli enfeksiyöz hastalıklarda ve soğuk algınlıklarında propolis pastilleri şeklinde eczanelerde özütleri satılmaktadır (Pietta, 2000; Gómez-Caravaca vd., 2006; Ahn vd., 2007).

Polen, çiçekli bitkilerde çiçeklerin erkek üreme organları olup bitkilerin döllenmesini sağlayan, üreme hücreleridir (Doğaroğlu, 2008). Polen'in bileşimi amino asit, 10 farklı mineral madde, B grubu vitaminleri, C, D, E vitaminleri, doğal hormon, enzim, koenzim, pigment, karbonhidrat ve fermentler oluşturur. Polen yapısında bulunan fenolik asitler ve flavonoidler, potansiyel antioksidanlar olup, süperoksit anyonları ve lipid peroksid radikallerini temizledikleri ve serbest radikaller ile ilişkili olaylarda hidrojenasyon veya kompleks yapılar oluşturarak okside edici ajanları stabilize edebildikleri gösterilmiştir (Almaraz-Abarca vd., 2007; Silva vd., 2006).

Bal, propolis ve polen gibi arı ürünleri yüksek antioksidan kapasiteler son 15 yılda fark edilmiş olup ve bu konuda çok sayıda bilimsel çalışma yapılmaktadır. Bu doğal ürünlerin biyolojik etkinliklerinden sorumlu biyomoleküller (fenolik asitler, organik asitler) polifenoller'in çeşidi ve miktarı türünün toplandıkları bölgeye, zamana ve bitkisel çeşitliliğe ve vejetasyona bağlı olarak değişim gösterdikleri pek çok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Joshi vd., 2000).

1.4. Kafkas Arı Irkı ve Özellikleri

Dünyada morfolojik, fizyolojik ve davranış karakterleri açısından sınıflandırması yapılmış 24 arı ırkı belirlenmiştir. Türkiye'de yaygın olarak *Apis mellifera anatoliaca*,

Apis mellifera caucasica, *Apis mellifera carnica* ve *Apis mellifera syriaca* olmak üzere 4 arı ırkı bulunmaktadır (Ruttner, 1988). Arıların nektar toplama organı olan dil, dünya üzerindeki tüm arı ırkları arasında *Apis mellifera caucasica*'da en uzundur. Bu temel fiziksel farklılık sayesinde Kafkas arısı derin tüplü çiçeklerin nektarlarını da toplayabilmektedir. Bu arı ırkının bir diğer özelliği ise diğer arılara göre daha fazla propolis kullanması ve toplamasıdır. (Koç ve Karacaoğlu, 2011). Silici ve Kutluca, (2005) yaptıkları çalışmada *Apis mellifera anatolica*, *Apis mellifera carnica* ve *Apis mellifera caucasica* ırklarına ait propolis örneklerinin antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Kafkas arı ırkına ait propolisin diğer propolis örneklerinden daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yine bu üç arı ırkına ait propolis örnekleriyle yapılan farklı bir çalışmada Kafkas arısının propolislerinin yüksek antifungal etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Silici vd, 2005). Literatür destekli bu sonuçlar tezin öncülü olmuş ve Kafkas arısının ürettiği balın, polenin ve propolisin de antioksidan aktivitesinin yüksek olabileceği hipotez olarak kurulmuştur.

1.5. Literatür Özeti

Bal, aromatik ve viskoz bir madde olup insan tüketimi için oldukça önemli bir besin maddesidir. Enerji değeri bakımından oldukça yüksek bir besin değerine sahip olan bal, insanların beslenmesinde kullanılmaktadır. Balın insan sağlığını korumadaki rolü onun saflığı ve bileşimi ile yakından ilişkili olup üretildiği bölgenin coğrafik özellikleri, bitki florası, hasat zamanı ve üretim şekli gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir (Özbalcı, 2013). alın bu kompleks yapısına bakıldığında ana bileşen olarak karbohidrat ve suyun yanında organik asitler, aminoasitler, proteinler, uçucu bileşenler, enzimler ve fenolik bileşenler de içermektedir.

Türkiye bulunduğu coğrafik konum ve iklim şartlarından dolayı çok çeşitli ve zengin ballı bitkilere sahiptir. Türkiye, Çin ve Arjantin'den sonra bal üretiminde üçüncü sırada yer almaktadır. Ayrıca yılın en az 6 ayı bal üretimi gerçekleştirilen Türkiye ve bal çeşitliliği yönünden dünyanın önde gelen ülkelerinden biridir. Çoğunlukça tek tip floradan beslenen arılardan elde edilen ballar monofloral ballar ve çeşitliliği fazla olan çiçeklerden üretilen ballara ise heterofloral ballar denilmektedir. Türkiye'de her iki bal türüne yönelik üretimler yapılmaktadır, ancak son yıllarda gıda güvenliği bakımından

kovandan sofraya izlenebilirlik bakımından monofloral ballar ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada da monofloral ballar üzerinde çalışıldı.

Propolis, bal arılarının bitki ve ağaçların tomurcuk ve filizlerinden topladığı doğal bir reçinedir. Propolis genel olarak % 50 reçine, % 30 bal mumu, % 10 uçucu yağ, % 5 polen ve % 5 diğer organik bileşiklerden oluşmaktadır. Antioksidan, antiviral ve antibakteriyeldir. Diş sağlığı, deri hastalıkları, sindirim sistemi sorunlarının çözülmesine katkıları vardır. Pek çok zararlı bakteri ve mantar çeşidini engelleyici özelliğindedir.

Polen; çiçekli bitkilerde çiçeklerin erkek organlarıncı üretilip dişi organın döllenmesini sağlayan basitçe çiçek tozu olarak da adlandırılan bitkilerin erkek cinsiyet hücreleridir (Doğaroğlu, 2008). Arı poleni ise bu çiçek tozlarının arının nektar toplama sırasında vücut kıllarına yapışıp, çeşitli vücut salgıları ve enzimler ile bir araya getirilerek koloninin protein ihtiyacını karşılama amaçlı topladıkları bir besindir. Arı poleni; vitamin, mineral, protein, aminoasit gibi yaşam için gerekli pek çok unsuru en yüksek oran ve kalitede içerir. Kaynağına göre değişiklik göstermekle beraber genel ortalama olarak %35 karbonhidrat, %20 protein, %20 su, %5 lipid ve %20 dolayında da diğer maddeleri içerir.

Türkiye arı ürünlerinde olduğu gibi çok zengin arı ırklarına da sahiptir. Son yıllardaki melezleme çalışmaları ile arı ırkları bozulmaktadır. Arı ırkının bozulması arı ürünlerini de olumsuz yönde etkileyecektir. Irkların korunması biyolojik çeşitliliğin bozulmadan en önemli sorunlardan biridir.

Arı ırklarının özellikle de Kafkas arısının korunduğu önemli gen kaynaklarından biri de Artvin bölgesidir. Artvin ilinin Borçka ilçesi Camili Havzası'ndaki tüm kolonilerin saf Kafkas olarak kalabildiği, 1999 ve daha sonraki yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarla belirlenmiştir (Güler vd., 1999; Güler, 2001; Kekeçođlu, 2010). Yörede gezgin arıcılığa izin verilmemesi, yöreye giriş ve çıkışların askeri izne tabi olması, arı cinsinin saflılığının korunmasında katkı sağlamıştır. Ayrıca Artvin Valiliği'nin 14.06.1999 tarihli genelgesi ile arı girişi açısından havza korunmaya alınmıştır. Kafkas arısı diğer cins arılardan hem morfolojik hem de bal üretim kapasitesi olarak farklı değere sahiptir. Diğer arı cinslerine göre daha iri olup ve dil uzunlukları ile bölge florasına daha uyumludur (Koç ve Karacaoğlu, 2011).

Kafkas arı ırkına ait ürünlerin korunması ve kalitelerinin araştırılması bu çalışmanın planlanmasındaki asıl amaçlardır. Kafkas arılarının ürettiği propolisin diğer arı ırklarının ürettiği propolisten çok az daha yüksek antimikrobiyal ve antifungal aktiviteye sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcut (Silici ve Kutluca, 2005; Silici vd., 2005). Ancak yapılan sonuç taramasıyla Kafkas arı ırkına ait arı ürünlerinin antioksidan özelliklerini belirten bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca Kafkas arısının diğer arı ürünleri (bal, polen) ile yapılan bir çalışma ve farklı ırklara ait arı ürünleri ile karşılaştırmanın yapıldığı bir çalışmanın varlığı da görülememiştir. Bu nedenle yapacağımız çalışma literatürdeki bu boşluğu dolduracaktır.

Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*) Anadolu bal arısı ırklarından biridir (Pollman, 1889). Bu ırkın uzun bir dile sahip olduğu, fazla propolis ve bal üretimi yaptığı bilinmektedir (Koç ve Karacaoğlu, 2011). Silici ve Kutluca, (2005) yaptıkları çalışmada *Apis mellifera anatolica*, *Apis mellifera carnica* ve *Apis mellifera caucasica* ırklarına ait propolis örneklerinin antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Kafkas arı ırkına ait propolisin diğer propolis örneklerinden daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yine bu üç arı ırkına ait propolis örnekleriyle yapılan farklı bir çalışmada Kafkas arısının propolislerinin yüksek antifungal etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Silici vd., 2005). Buradan yola çıkarak Kafkas arısının balının, polenin ve propolisinin antioksidan aktivitesinin de yüksek olabileceğini düşünülerek bu çalışma planlanmıştır.

Çalışma başlangıcında korunma altına alınan Kafkas ırkının ürettiği doğal ürünlerin biyolojik zenginliğini antioksidan cinsi üzerinden sonuçlandırılması hedeflenmiştir. Bu bağlamda literatürde çalışılan antimikrobiyal ve antifungal gibi biyolojik özellikler referans alınmıştır. İrkin morfolojik farklılığı ürettiği veya oluşumuna sebep olduğu ürünlerde de üstünlük gösterip göstermeyeceği edinilecek laboratuvar sonuçlarıyla bilim dünyasına kazandırılmak istenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

Yapılan analizlerde kullanılan cihazlar marka/model olarak Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 5. Kullanılan cihaz ve gereçler, marka/modelleri.

Cihaz Adı	Marka/Model
UV-VIS Spektrofotometre	Thermo Scientific Evolution™ 201, UV-VIS,USA
pH metre	Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland
Hassas Terazi	Presica LX 320 A, Dietikon, Switzerland
Rotary Evaporatör	IKA®-Werke, RV 05 Basic, Staufen, Germany
Vorteks Karıştırıcı	Labnet VX100, MO BIO Laboratories, Inc.,USA
Magnetik Karıştırıcı	Heidolph MR HEI-Standard, Schwabach, Germany
Etüv	Nüve, EN 400, Ankara, Türkiye
Yarı Otomatik Pipetler	Eppendorf Research® Plus Hamburg, Germany
Çalkalayıcı	Heidolph Promax 2020, Schwabach, Germany

Kullanılan kimyasallar ve satın alındığı firma Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Kullanılan kimyasallar ve satın alındığı firma.

Kullanılan Kimyasal	Satın Alındığı Firma
Gallik Asit	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
FeSO ₄ .7H ₂ O	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine)	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
CH ₃ COOH	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Troloks®	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
FeCl ₃	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Folin-Ciocalteu’s Phenol Reaktifi	Sigma-Aldrich Chemie, Munich, Germany
Metanol-LC Saflıkta	Merck, Darmstadt, Germany
NH ₄ CH ₃ COO	Merck, Darmstadt, Germany

Tablo 6 (devam). Kullanılan kimyasallar ve satın alındığı firma.

Kullanılan Kimyasal	Satın Alındığı Firma
Al(NO ₃) ₃	Merck, Darmstadt, Germany
Na ₂ CO ₃	Merck, Darmstadt, Germany
NaCH ₃ COO.3H ₂ O	Merck, Darmstadt, Germany
Quercetin	Lancaster, Morecambe, England

Çalışmada kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları.

Demir (III) İndirgeme/ Antioksidan Güç -FRAP İçin	
40 mM HCl	Yaklaşık 20 mL saf suyun üzerine % 37’lik HCl’den 340 µL ilave edildi ve saf suyla 100 mL’ye tamamlandı.
10 mM TPTZ	234,3 mg TPTZ stok maddeden tartıldı, 75 mL 40 mM’lık HCl içinde çözüldü.
20 mM FeCl ₃	324,4 mg FeCl ₃ destile suyla 100 mL’ye tamamlandı.
300 mM Asetat Tamponu, (pH 3,6)	2,3250 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.
1000 µM Troloks [®]	25,3 mg troloks metanolle 100 mL’ye tamamlandı. Metanolle 500, 250, 125, 62,5 µM’a seyreltildi.
DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi İçin	
0,1 mM DPPH Reaktifi	100 mL’si için; 3,9 mg DPPH, 90 mL metanolle çözüldü ve 100 mL’ye tamamlandı.
0,02 mg/mL Troloks [®]	10,0 mg troloks 10 mL metanolde çözümlenerek stok çözeltisi hazırlandı. 0,02 mg/mL’lik ara stok çözelti metanolle seyreltilerek kullanıldı.

Tablo 7 (devam). Kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları.

Toplam Fenolik Madde Miktarı İçin	
0,5 N Folin Ciocalteu	2 N Folinden 1:4 oranında saf suyla seyreltilerek kullanıldı.
%10'luk Na ₂ CO ₃	10,0 g Na ₂ CO ₃ 90 mL suda çözülür, 100 mL'ye tamamlandı.
1 mg/mL GallikAsit	10mg Gallik Asit 10mL suda çözüldü. Metanolle hazırlanan stok çözeltiden, 1-0,5-0,25- 0,125-0,0625 mg/mL olacak şekilde metanolle seyreltilerek hazırlandı.
Toplam Flavonoid Madde Miktarı 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	1,0 g Al(NO ₃) ₃ 10 mL saf suda çözüldü.
1 mg/mL Kuersetin	10mg Kuersetin 10mL suda çözüldü. Hazırlanan stok çözeltiden, 0,5-0,25-0,125-0,0625-0,03125 mg/mL olacak şekilde metanolle seyreltilerek hazırlandı.
Bakır (II) İndirgeme/ Antioksidan Güç -CUPRAC İçin	
10 mM CuCl ₂ .2H ₂ O	426,3 mg CuCl ₂ .2H ₂ O 250 mL suda çözüldü.
7,5 mM Neocuproine	390,5 mg Neocuproine 250 mL etanolde çözüldü.
1M NH ₄ CHCOO tamponu	19,27 g CH ₃ COONH ₄ 150 mL suda çözüldü, pH 7'ye ayarlandı. 250 mL'ye su ile tamamlandı.
Troloks [®]	10,0 mg troloks 10 mL metanolde çözülerek stok çözeltisi hazırlandı. Polen ve propolis numuneleri için 0,2 mM'den , bal numuneleri için 0,5 mM'den geriye seyreltildi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Arı Ürünlerinin Temini

Tezde kullanılan arı ırklarına ait arı ürünlerinin örnekleri Artvin Valiliği İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü'nce temin edilmiştir. Örnekler her bir ırkın kendi yetiştirme bölgesinden temin edildi. Her bir arı ırkına ait farklı kovanlardan bal, polen ve propolis numuneri alındı. Numuneler analiz öncesinde, sırasında ve sonrasında serin, karanlık ve ağzı kapaklı cam kaplarda muhafaza edilerek saklandı.

2.2.2. Numune Kodlama Prosedürü

Temin edilen yirmişer sayıda bal, polen ve propolis anlamlı kodlama yöntemiyle kodlandırılarak tasnif edildi. Kodlama işleminde ırkın alt türlerinin baş harfi birinci (alt tür aynı harf ile başlıyorsa alt türün ikinci ve/veya üçüncü harfi kullanılarak), ürettiği ürün ikinci (ürün aynı harf ile başlıyorsa ürünün ikinci ve/veya üçüncü harfi kullanılarak) kodlama işlemi gerçekleştirildi (Tablo 8).

Tablo 8. Çalışılan numunelerin kodlama prosedürü.

Arı Irkı Adı	İrk Kodu	Ürün	Nihai Kodlama
<i>Apis mellifera syriaca</i>	S	Bal	SB
		Polen	SPo
		Propolis	SPr
<i>Apis mellifera anatoliaca</i>	A	Bal	AB
		Polen	APo
		Propolis	APr
<i>Apis mellifera caucasica</i>	Cau	Bal	CauB
		Polen	CauPo
		Propolis	CauPr
<i>Apis mellifera carnica</i>	Car	Bal	CarB
		Polen	CarPo
		Propolis	CarPr

2.2.3. Ekstraksiyon Aşaması

Bal numunelerinden yaklaşık 10'ar g, polen ve propolisten ise yaklaşık 5'er g alınarak 30 mL metanolla muamele edildi. 50-60°C'de geri soğutucu altında, magnetik karıştırıcılı düzenekte 24 saat ekstrakte edildi (Kolaylı vd., 2013; Akyuz vd., 2014). Elde edilen çözelti mavi bant süzgeç kağıdıyla süzüldü. Süzme işlemi akabinde nihai hacimleri 50 mL'ye metanol ile tamamlandı. Hazırlanan bu stok ekstraksiyon ürünleri analiz işlemine değin buzdolabında muhafaza edildi ve gerekli seyreltmelerle yapılması tasarlanan analiz işlemlerine geçildi.

2.2.4. Toplam Fenolik Madde Tayini

Slinkard ve Singleton (1977) tarafından ileri sürülen metoda göre numunedeki toplam çözülebilir fenolik madde Folin-Ciocalteu reaktifi ile 760 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturur. Gallik asit standartının farklı konsantrasyonları (0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) ile hazırlanan standart çözeltileri 3 dak inkübasyon sonunda 760 nm'de absorbansları okundu (Tablo 9). Konsantrasyona karşılık bulunan absorbans değerleri ile standart çalışma grafiği çizildi. Çizilen grafiğe göre bal, polen ve propolis numunelerinin toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri cinsinden gram numune başına bulundu (mg GAE/g numune).

Tablo 9. Toplam fenolik madde tayininde yapılan pipetleme işlemi.

	Kör	Standart	Numune
Distile su	700 µL	680 µL	680µL
Standart	-	20 µL	-
Bal numunesi	-	-	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	400 µL
760 nm'de köre karşı absorbans okunur.			

2.2.5. Toplam Flavanoid Tayini

Toplam flavonoid tayini alüminyum klorür kolorimetrik yöntemine göre tayin edildi (Chang vd., 2002). Standart olarak kuersetin kullanıldı (1-0,03125 mg/mL) (Tablo 10). Konsantrasyona karşılık bulunan absorbans değerleri ile standart grafiği çizildi. Çizilen grafiğe göre bal, polen ve propolis numunelerinin toplam flavonoid miktarı bulundu (mg Kuersetin/g numune).

Tablo 10. Toplam flavonoid tayininde yapılan pipetleme işlemi.

	Kör	Renk	Standart	Numune
Numune Değişen konsantrasyonlarda	-	0,5 mL	-	0,5 mL
Standart Değişen Konsantrasyonlarda	-	-	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. oda sıcaklığında inkübe edilir ve 415 nm’de absorbans okunur.

2.2.6. Antioksidan Kapasite Tayini

2.2.6.1. CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

Bu metotta bakır (II)-neokuprain kromofor oksidan olarak kullanılır ve 450 nm’de absorbans verir (Apak vd., 2004). Bakır (II) kompleksinin indirgemesi esasına dayanan metod ile toplam antioksidan kapasite test edildi (Tablo 11). Analizde standart olarak Troloks® (1-0,03125 mM) kullanıldı. Konsantrasyona karşılık bulunan absorbans değerleri ile standart grafiği çizildi. Elde edilen test sonuçları Troloks® eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAK) cinsinden verildi.

Tablo 11. CUPRAC tayininde yapılan pipetleme işlemi.

	Kör	Renk körü	Standart	Numune
10 mM CuCl ₂ .2H ₂ O	1mL	-	1mL	1mL
7,5 mM Neocuproine	1mL	-	1mL	1mL
1M Asetat tamponu	1mL	-	1mL	1mL
Numune (değişen kons.)	-	200 µL	-	200 µL
Su	1,1mL	3,9 mL	900 µL	900 µL
Standart (değişen kons.)	-	-	200 µL	-

2.2.6.2. FRAP (Fe(III) İndirgeme Antioksidan Kapasite Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

FRAP metodu (Fe(III)-TPTZ-(2,4,6-tris(2-pyridily)-S-triazin)) kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşması ve bu kompleksin 593 nm’de maksimum absorbanı vermesi esasına dayanır (Benzie ve Strain, 1999). Kalibrasyon için FeSO₄.7H₂O’nun değişen konsantrasyonları (100–1000 µM) kullanıldı (Tablo 12). Çalışmada kullanılan FRAP reaktifi taze hazırlandı. Konsantrasyona karşılık bulunan absorbanı değerleri ile standart grafiği çizildi. Sonuçlar aynı şartlarda test edilmiş standart FeSO₄ eşdeğeri antioksidan güç olarak ifade edildi.

Tablo 12. FRAP tayininde yapılan pipetleme işlemi.

	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	-	-	-	100 µL
Saf Su	-	-	-	-
Metanol	100 µL	-	3 mL	-

4. dakikada 593 nm’de absorbanı okunur.

Renk Körü_{test(met)}: Metanolde çözünen numune için renk körü

2.2.6.3. DPPH Serbest Radikali Temizleme Yöntemi

DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali temizleme yönteminde, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH kullanılmaktadır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite tanımlanmaktadır. Çalışmada Yu vd., (2002) metodu modifiye edilerek kullanıldı. Numuneler ve standart (Troloks®) değişik konsantrasyonlarda hazırlandı (Tablo 13). 517 nm’de ölçülen absorbanslar konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek ve %50 DPPH miktarını scavenge (temizleyen) eden madde miktarı mg/mL olarak (SC₅₀) belirlendi.

Tablo 13. DPPH• yöntemi için yapılan pipetlemeler.

	Numune Tanık	Reaktif Tanık	Numune
	Tüpü	Tüpü	Tüpü
Numune (Değişen konsantrasyon)	750 µL	-	750 µL
Metanol	750 µL	750 µL	-
DPPH• (100 µM)	-	750 µL	750 µL

50 dk. süre sonunda 517 nm’de absorbans okunur.

2.3. İstatistiksel Analizler

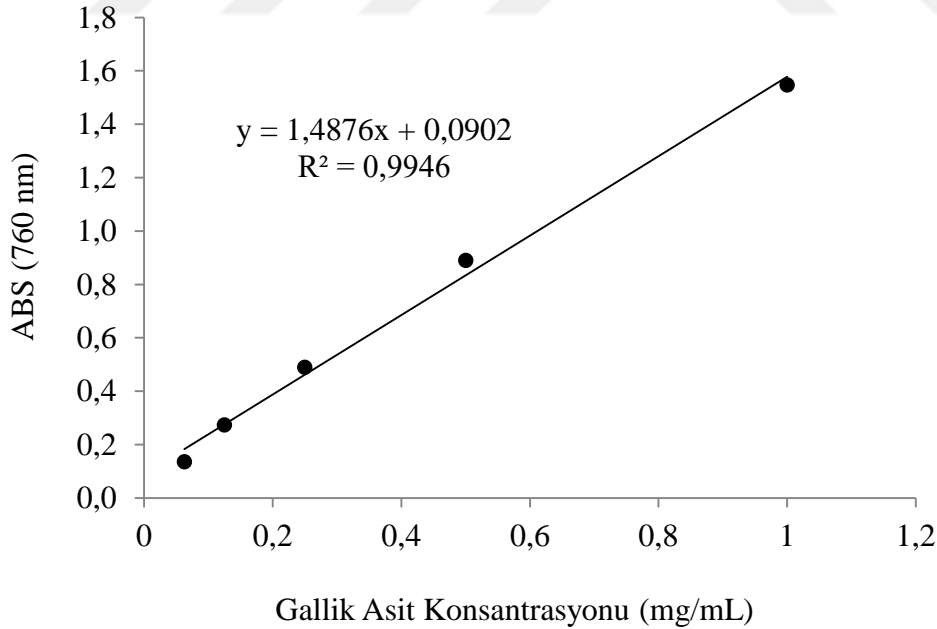
Elde edilen veriler arasında anlamlı farklılık olup olmadığını belirlemek için istatistiksel programlar kullanıldı. Yapılan istatistiksel analizler, numunelerin dağılımına uygunluk gösterecek şekilde bilimsel yöntemlerle seçildi. Buna göre, analiz sonuçlarında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 for Windows® istatistik paket programı ve Microsoft® Excel (for windows XP) kullanıldı. Veriler tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile test edildi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edildi ve p<0.05 olasılık değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında Duncan testi kullanıldı.

3. BULGULAR

Tez kapsamında 20 bal, 20 polen ve 20 propolis (toplam 60) numuneye 5 farklı spektrofotometrik analiz uygulandı. Her bir analiz kendi içerisinde üç tekrarlı gerçekleştirilerek standart sapma cinsi üzerinden hesaplamalar yapıldı. Edinilen sonuçlar ortalama ve standart sapma üzerinden sunuldu. Bu sonuçlar Tablo 14'te "Arı ürünlerinin analiz sonucu" başlığı altında verilmiştir. Yine ortalama cinsi üzerinden öncelikle her bir ırkın ürettiği ürünlerin toplam polifenol (TP) (Şekil 11), toplam flavonoid (TF) (Şekil 13), FRAP (Şekil 15), CUPRAC (Şekil 17) ve DPPH (Şekil 19) analiz sonuçları grafiksel olarak sunulmuştur.

3.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

Numunelerde bulunan toplam fenolik madde tayininde standart olarak kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisi için bu maddenin beş farklı konsantrasyonu hazırlandı.



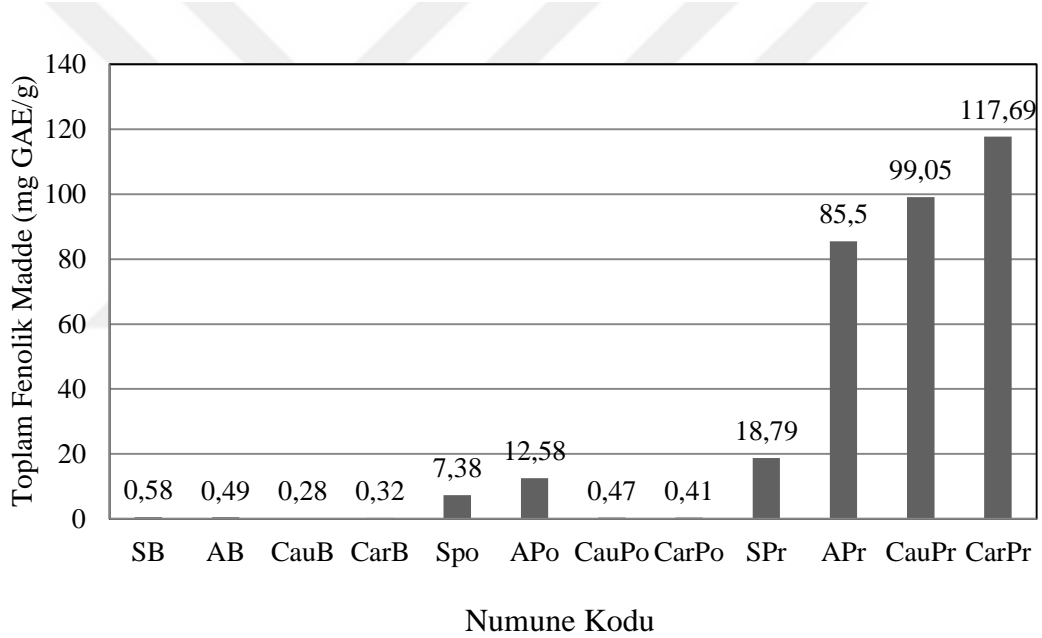
Şekil 10. Toplam fenolik madde standart çalışma grafiği.

Toplam fenolik madde miktarı Şekil 10'da verilen kalibrasyon grafik eğim denkleminde gallik aside eşdeğer olarak hesaplandı. Elde edilen grafik denklemini

$y=1,4876x + 0,0902$ ve R^2 değeri 0,9946 olarak bulundu. Bunun sonucunda, bal numunelerinde en yüksek toplam fenolik madde miktarı *Apis mellifera syriaca* için $0,58\pm0,27$ mg GAE/g olarak, en düşük miktar *Apis mellifera caucasica* için $0,28\pm0,05$ mg GAE/g olarak belirlendi (Şekil 11).

Polen numuneleri için ise en yüksek toplam fenolik madde miktarı *Apis mellifera anatoliaca*'da $12,58\pm5,05$ mg GAE/g olurken, en düşük değer *Apis mellifera carnica*'da $0,41\pm0,14$ mg GAE/g oldu (Şekil 11).

Propolis numunelerinde ise en yüksek toplam fenolik madde miktarı *Apis mellifera carnica* için $117,69\pm12,48$ mg GAE/g olarak belirlenirken, en düşük değer *Apis mellifera syriaca* için $18,79\pm2,28$ mg GAE/g olarak belirlendi (Şekil 11).

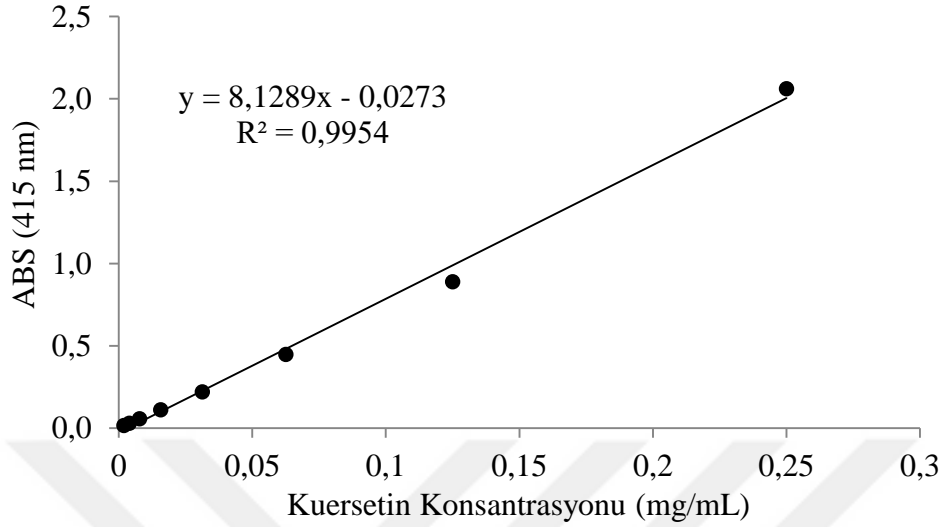


Şekil 11. Analiz edilen bal, polen ve propolis numunelerine ait toplam fenolik madde miktarı sonuçlarının grafiksel gösterimi.

3.2 Toplam Flavanoid Madde Miktarı Sonuçları

Toplam flavanoid madde miktarı Şekil 12'de verilen kalibrasyon grafik eğim denkleminde kuersetine eşdeğer olarak hesaplandı. Elde edilen grafik denklemi $y=8,1289x - 0,0273$ olarak bulundu. Bunun sonucunda bal numuneleri için en yüksek flavanoid madde miktarı *Apis mellifera syriaca*'da $0,05\pm0,02$ mg Kuersetin/g belirlendi.

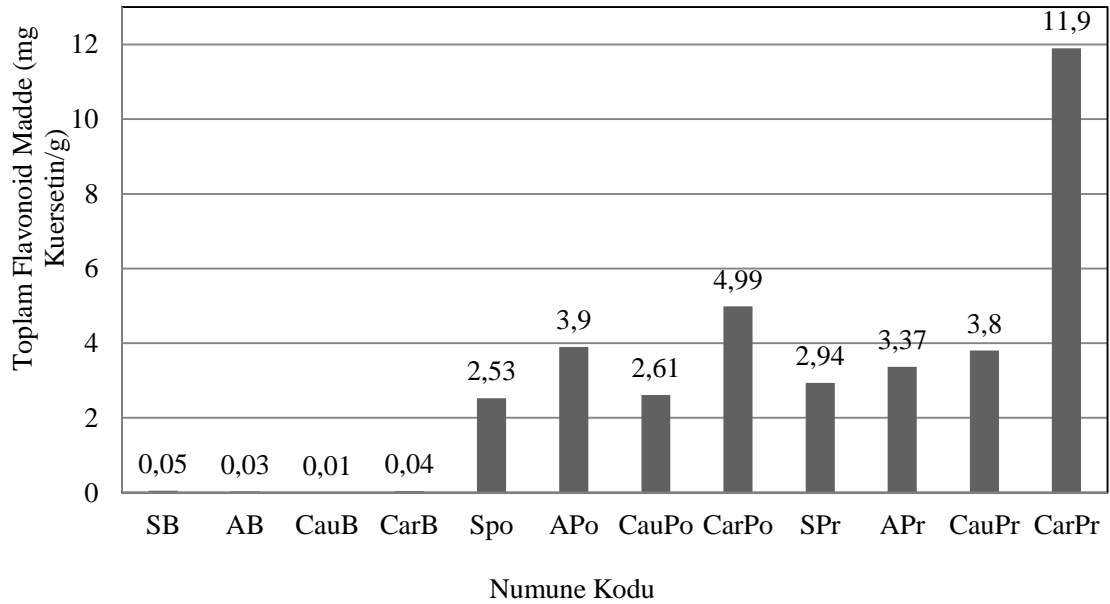
En düşük flavanoid madde miktarı ise *Apis mellifera caucasica*'dan alınan bal numunelerinde $0,01 \pm 0,01$ mg Kuersetin/g olarak hesaplandı (Şekil 13).



Şekil 12. Toplam flavanoid madde tayini standart çalışma grafiği.

Polen numuneleri için ise en yüksek flavanoid madde içeriği *Apis mellifera carnica*'da $4,99 \pm 0,99$ mg Kuersetin/g olarak hesaplanırken, en düşük değer *Apis mellifera syriaca*'da $2,53 \pm 0,64$ mg Kuersetin/g olarak hesaplandı (Şekil 13).

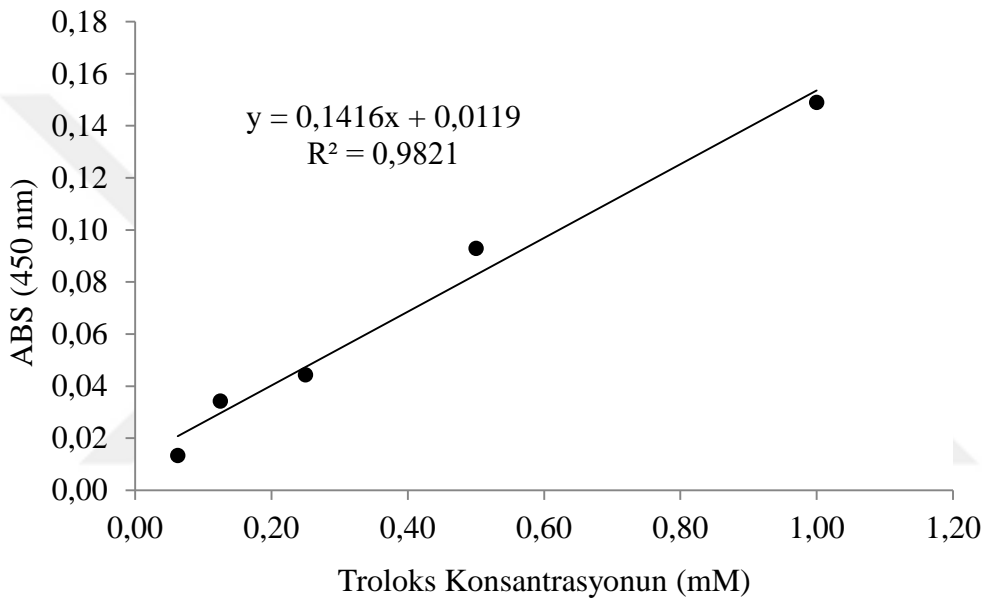
Propolis numunelerinde ise en yüksek flavanoid madde miktarı *Apis mellifera carnica*'da $11,90 \pm 2,16$ mg Kuersetin/g olarak tespit edilirken, en düşük değer *Apis mellifera syriaca*'da $2,94 \pm 0,50$ mg Kuersetin/g olarak tespit edildi (Şekil 13).



Şekil 13. Analiz edilen bal, polen ve propolis numunelerinin toplam flavanoid madde miktarı sonuçlarının grafiksel gösterimi.

3.3. CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

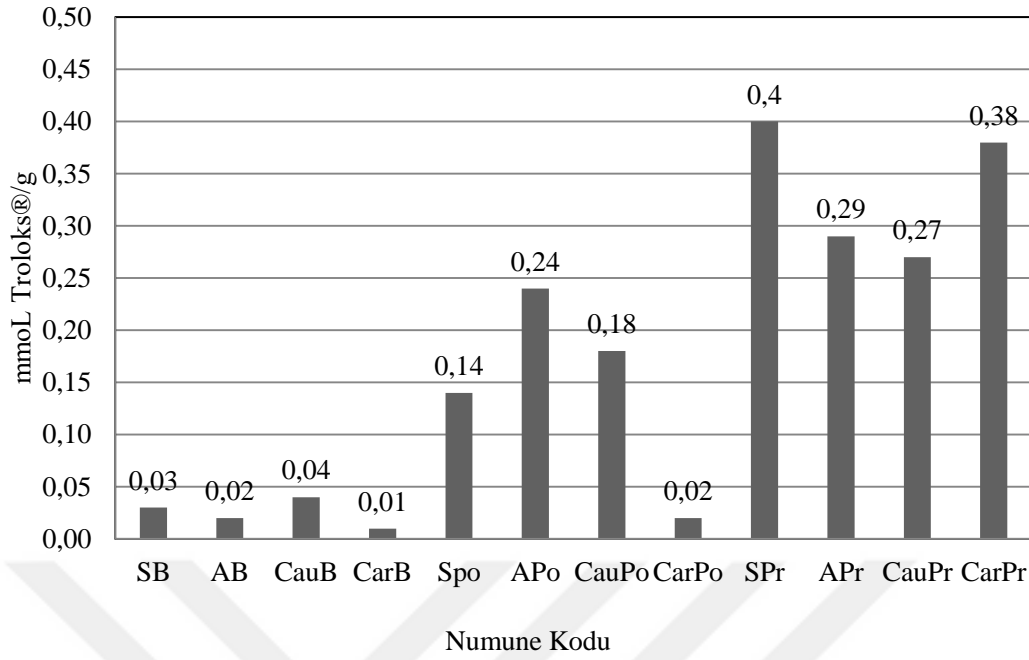
CUPRAC metodu ile antioksidan aktivite tayini Şekil 14’de verilen kalibrasyon grafik eğim denkleminde Troloks®’a eşdeğer olarak hesaplandı. Elde edilen grafik denklemi $y=0,1416x + 0,0119$ olarak bulundu. Bunun sonucunda bal numuneleri için en yüksek değer *Apis mellifera caucasica*’da bulunurken , en düşük değer *Apis mellifera carnica*’da bulunmuştur (Şekil 15).



Şekil 14. CUPRAC yöntemi standart çalışma grafiği

Polen numuneleri için ise en yüksek değer *Apis mellifera anatoliaca*’da $0,24\pm 0,04$ mmol Troloks®/g olarak belirlenirken, en düşük değer *Apis mellifera carnica*’da $0,02\pm 0,02$ mmol Troloks®/g olarak belirlendi (Şekil 15).

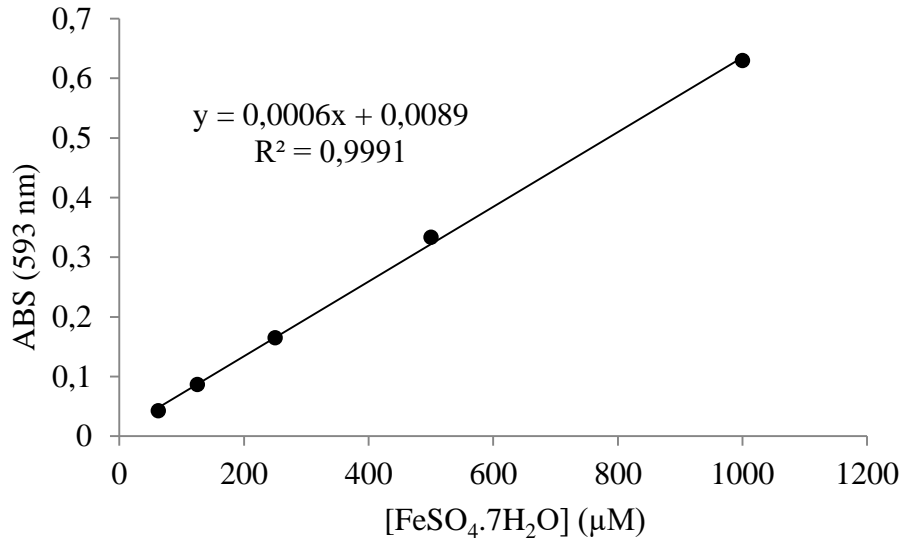
Propolis numunelerinde ise en yüksek değer *Apis mellifera syriaca*’da $0,40\pm 0,09$ mmol Troloks®/g olurken, en düşük değer *Apis mellifera caucasica*’da $0,27\pm 0,08$ mmol Troloks®/g olduğu gözlemlendi (Şekil 15).



Şekil 15. Analiz edilen bal, polen ve propolis numunelerinin CUPRAC sonuçlarının grafiksel gösterimi.

3.4. FRAP (Fe(III) İndirgeme Antioksidan Kapasite Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

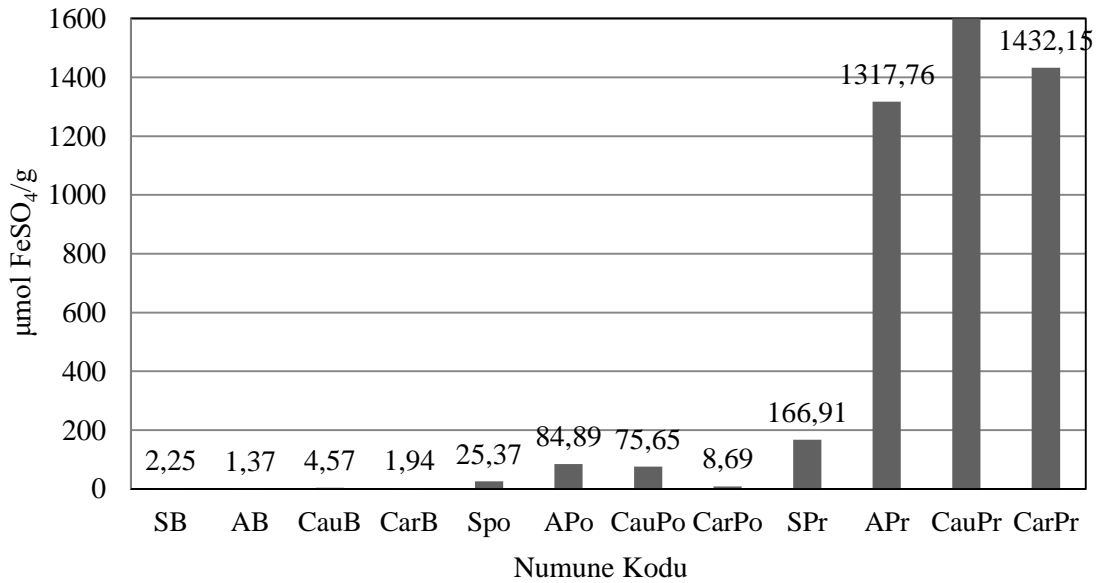
FRAP metodu ile antioksidan aktivite tayini Şekil 16'de verilen kalibrasyon grafik eğim denkleminde $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 'a eşdeğer ve R^2 değeri 0,9991 olarak hesaplandı. Elde edilen grafik denklemi $y=0,0006x + 0,0089$ olarak bulundu. Bunun sonucunda bal numuneleri için en yüksek değer *Apis mellifera caucasica*'da $4,57 \pm 1,33 \mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$ olarak, en düşük değer *Apis mellifera carnica*'da $1,94 \pm 0,62 \mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$ olarak tespit edildi (Şekil 17).



Şekil 16. FRAP standart çalışma grafiği.

Polen numuneleri için ise en yüksek değer *Apis mellifera anatoliaca*'da $84,89 \pm 10,09$ µmol FeSO₄/g olurken, en düşük değer *Apis mellifera carnica*'da $8,69 \pm 1,64$ µmol FeSO₄/g olduğu gözlemlendi (Şekil 17).

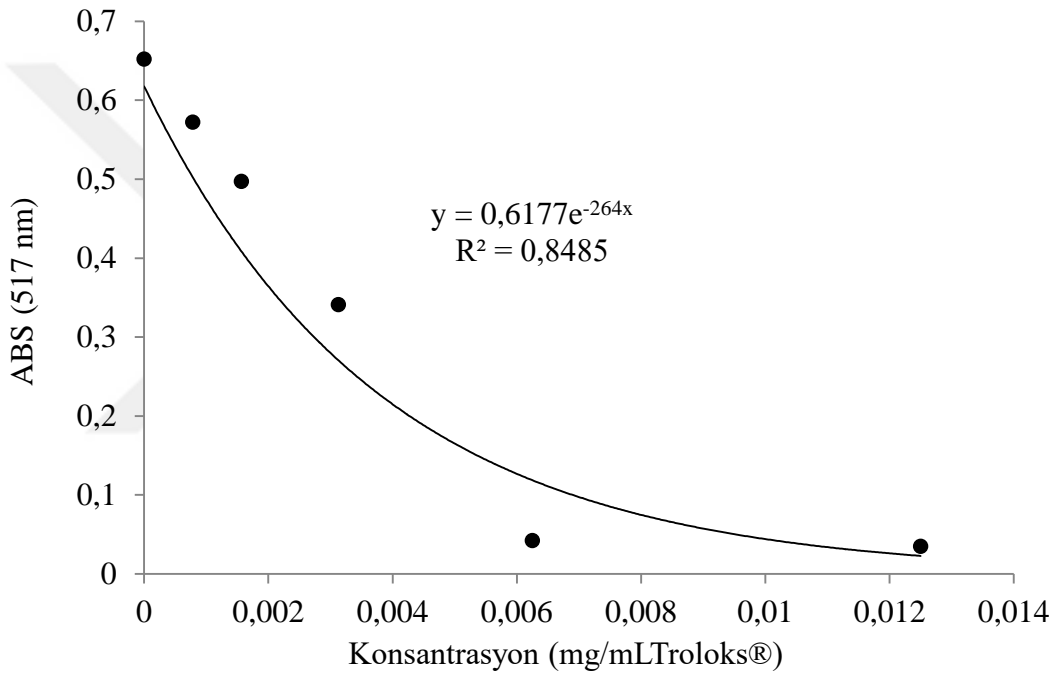
Propolis numunelerinde ise en yüksek değer *Apis mellifera caucasica*'da $1600,25 \pm 143,76$ µmol FeSO₄/g olarak, en düşük değer *Apis mellifera syriaca*'da $166,91 \pm 12,86$ µmol FeSO₄/g olarak belirlendi (Şekil 17).



Şekil 17. Analiz edilen bal, polen ve propolis numunelerinin FRAP sonuçlarının grafiksel gösterimi.

3.5. DPPH Serbest Radikali Temizleme Yöntemi Sonuçları

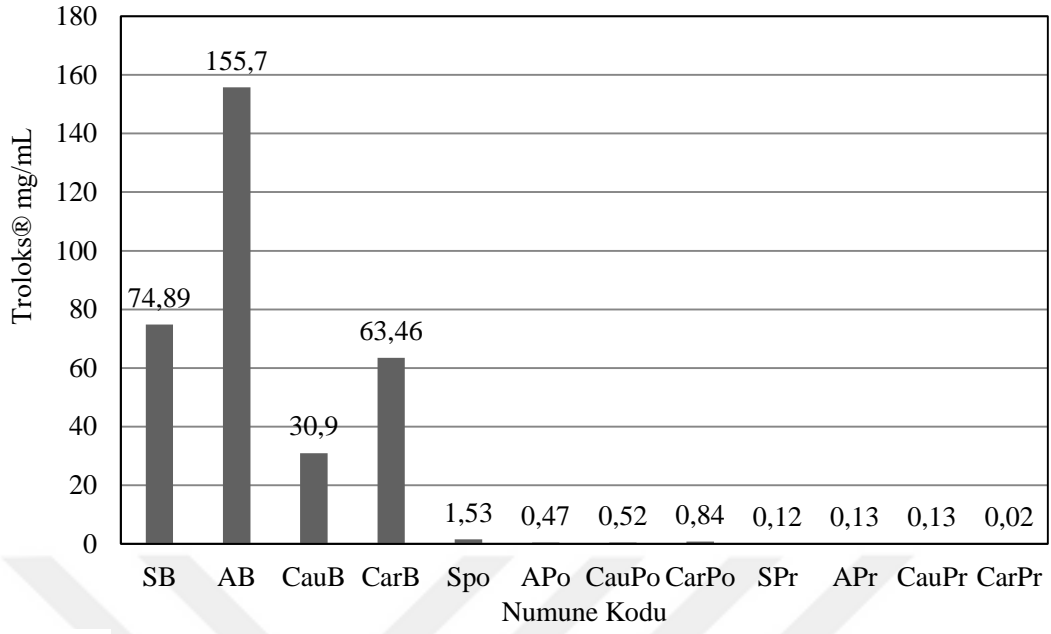
DPPH radikali temizleme yönteminde numuneler ile Troloks® standart antioksidan bileşiminin DPPH radikal giderme aktivite tayini için kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 18). Elde edilen grafik denklemi $y = 0,6177e^{-264x}$ olarak bulundu. Bunun sonucunda bal numunelerinden en yüksek SC₅₀ değeri *Apis mellifera anatoliaca*'nın sahip olduğu, en düşük SC₅₀ değerine *Apis mellifera caucasica*'nın sahip olduğu belirlendi (Şekil 19).



Şekil 18. DPPH standart çalışma grafiği

Polen numuneleri için ise en yüksek SC₅₀ değeri *Apis mellifera syriaca*'nın $1,53 \pm 0,22$ Troloks® mg/mL olarak, en düşük değer *Apis mellifera anatoliaca*'nın $0,47 \pm 0,51$ Troloks® mg/mL olarak sahip olduğu tespit edildi (Şekil 19).

Propolis numunelerinde ise en yüksek SC₅₀ değeri *Apis mellifera caucasica*'da ve *Apis mellifera anatoliaca*'da $0,13 \pm 0,01$ Troloks® mg/mL olurken, en düşük değer *Apis mellifera carnica*'da $0,02 \pm 0,02$ Troloks® mg/mL oldu (Şekil 19).



Şekil 19. Analiz edilen bal, polen ve propolis numunelerinin DPPH-SC₅₀ sonuçlarının grafiksel gösterimi.

Tablo 14. Arı ürünlerinin analiz sonucu.

Numune Kodu	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g num)	Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mg Kuersetin/g num)	FRAP ($\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g num}$)	CUPRAC (mmol Troloks[®]/g num)	DPPH-SC₅₀ (Troloks[®] mg/mL)
SB	0,58±0,27 ^b	0,05±0,02 ^c	2,25±1,41 ^a	0,03±0,03 ^a	74,89±24,90 ^b
AB	0,49±0,10 ^b	0,03±0,01 ^b	1,37±0,17 ^a	0,02±0,00 ^a	155,70±76,68 ^c
CauB	0,28±0,05 ^a	0,01±0,01 ^a	4,57±1,33 ^b	0,04±0,05 ^a	30,90±1,93 ^a
CarB	0,32±0,02 ^a	0,04±0,01 ^c	1,94±0,62 ^a	0,01±0,01 ^a	63,46±4,29 ^{ab}
SPo	7,38±1,31 ^b	2,53±0,64 ^a	25,37±1,69 ^b	0,14±0,03 ^b	1,53±0,22 ^c
APo	12,58±5,05 ^c	3,90±1,00 ^b	84,89±10,09 ^d	0,24±0,04 ^d	0,47±0,51 ^a
CauPo	0,47±0,15 ^a	2,61±0,76 ^a	75,65±18,98 ^c	0,18±0,04 ^c	0,52±0,96 ^a
CarPo	0,41±0,14 ^a	4,99±0,99 ^c	8,69±1,64 ^a	0,02±0,02 ^a	0,84±0,17 ^b
SPr	18,79±2,28 ^a	2,94±0,50 ^a	166,91±12,86 ^a	0,40±0,09 ^b	0,12±0,08 ^b
APr	85,50±12,37 ^b	3,37±0,96 ^a	1317,76±216,35 ^b	0,29±0,08 ^a	0,13±0,01 ^b
CauPr	99,05±10,87 ^c	3,80±0,78 ^a	1600,25±143,76 ^c	0,27±0,08 ^a	0,13±0,01 ^b
CarPr	117,69±12,48 ^d	11,90±2,16 ^b	1432,15±101,18 ^b	0,38±0,14 ^b	0,02±0,02 ^a

*Ort ± std sapma. Aynı sütundaki küçük harfler aynı numune grubu içerisinde anlamlılık derecesini gösterir ($P<0.05$).

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Son yıllarda adından çok sıkça söz edilen ve geleceğin mucize ilacı gözüyle bakılan propolis kompozisyonu ve biyoaktif değeri toplandığı bölgenin floral özellikleri, toplanma şekline ve kullanılan arı ırkı ile kovanın durumuna göre değişmektedir.

Tüm çalışmalar en kaliteli propolis ve diğer arı ürünlerinin üretilmesine yönelik olup bu çalışmada arı ırkına göre arı ürünlerinin biyoaktif değerleri irdelendi. Bölgesel, floral, coğrafik farklılıklara göre arı ürünlerinin kalitesi ile yapılan çok sayıda çalışma Türkiye’de ve dünyada bulunmaktadır (Kolaylı, 2007). Ancak arı ırkına göre bir sınıflandırma ve biyoaktif çalışması yok denecek kadar azdır.

Literatürdeki bu eksikliği gidermeye katkıda buluma amaçlı bu çalışmada tez sonuçlarındaki verilerin daha önceden yapılmış olan bazı çalışmalarla da uyum gösterdiği görülmektedir. Nitekim TP değer aralığı 18-117 mg GAE/ g numune; TF değer aralığı 2-11 mg KE/ g numene çıktı. Kafkas propolis numunelerinin karşılaştırılmasında ise numunelerimizin fenolik değeri $99,05 \pm 10,87$ mg GAE/ g numune olurken, 2013 yılında yayınlanan bir çalışmada Kafkas arısı propolisi için tespit edilen $115,49 \pm 2,04$ mg GAE/ g numune (Aliyazıcıoğlu vd., 2013) değeri ile iki çalışmanın sonuçlarının birbirlerine uyumlu olduğu gözlemlendi. Propolis FRAP değer aralığı 166-1600 $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ numune çıktı. CUPRAC 0,27-0,40 mmol Troloks/g numune oldu. Kafkas polen numunelerinde CUPRAC değeri 0,02-0,24 mmol Troloks/g numune olurken, Anzer polenleri üzerinde yapılan bir çalışmada bu değer aralığı 33,1-91,8 $\mu\text{mol Troloks/g}$ numune (Ulusoy ve Kolaylı, 2013) ile bu iki çalışma uyum gösterdi. DPPH için SC_{50} değer aralığı 0,02-0,13 mg/mL olacak şekilde değişim gösterdi. Kafkas bal numunelerimde DPPH için SC_{50} değeri $30,90 \pm 1,93$ Troloks® mg/mL olurken, 2009 yılındaki bir çalışmada Rize bal numuneleri için bu değer aralığı 84-152 IC_{50} (mg/mL) (Ulusoy vd., 2009) ile bu iki çalışmanın uyum gösterdiği görüldü.

Arıların beslenmesinde protein kaynağı olarak önem taşıyan polen bileşimindeki vitamin ve mineral maddeler nedeniyle de değerli bir besin maddesidir. Ayrıca arının ağız salgılarını içermesi nedeniyle de ayrı bir öneme sahiptir. Polenin besin değeri ve

yararlılığı, toplandığı bitki türü ve çeşitliliği polen değerini artırır (Doğaroğlu, 2015). Nakajima vd., 2009) arı ürünlerini antioksidan kapasitede cinsinden kıyaslamıştır. Edilen sonuçlara göre polenin propolis kadar olmasa da yüksek biyoaktivite gösterdiği sonucuna varıldı. Bu bilimsel yaklaşımın tez içerisindeki yansıması da bahsi geçen çalışmayı doğrular perspektiftedir. Tablo 14'nin verilerine göre tüm antioksidan analizlerde propolis>polen>bal antioksidan bakımından sıralaması şeklinde gerçekleşti.

Farklı arı ırkı türleri tarafından üretilen bal, polen, propolislerde yapılan biyoaktivite testlerinde elde edilen bulgular incelendiğinde arı ırkının ürün özelliklerine etkisi $P<0.05$ anlamlılık seviyesinde tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitenin birer göstergesi olan TP, TF, FRAP, CUPRAC ve DPPH test sonuçları literatürce kabul görmüş testlerdir. Bu testlerin birbirleri ile korelasyonları bilimsel yazında sıklıkla atfedilmiştir. Ancak numunelerin yapısındaki biyoaktif bileşenlerin kompozisyonuna bağlı olarak bu korelasyonlarda değişimler de görülebilmektedir.

Bal numunelerinde toplam fenolik madde miktarları bakımından SB ve AB balları aynı grup içerisinde daha yüksek aktiviteyle öne çıkarak sınıflandırılırken; CauB ve CarB numuneleri daha düşük aktiviteyle farklı bir grup içerisinde sınıflanmıştır. Toplam flavonoid içerikleri bakımından balların istatistikî açıdan farklılığı üst indislerde görüldüğü gibi SB ve CarB balları en yüksek değerde bulunmuş, sırasıyla AB ve CauB numuneleri takip etmiştir. FRAP ve DPPH değerleri açısından CauB numuneleri diğer ballardan daha yüksek aktiviteye sahip bulunmuş, CUPRAC değerleri açısından ise numuneler arasında istatistikî açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bal kıyası açısından irdelendiğinde genel manasıyla üstünlüğün *Apis mellifera Syriaca* olduğu görülürken; Kafkas arı ırkının (*Apis mellifera Caucasicca*) ürettiği bal menşeli ekstrakt, DPPH radikal süpürme testi açısından hayli aktif olduğu ortaya koyulmuştur.

Polenlerde toplam fenolik madde miktarı bakımından APo numunesi, toplam flavonoid bakımından CarPo numunesi diğer numunelerden yüksek bulunmuştur. FRAP, CUPRAC ve DPPH değerleri açısından APo numuneleri diğer polenlerden daha yüksek aktiviteye sahip bulunmuştur. Buradaki sayısal sonuç üstünlüğünü her ne kadar Apo numunesi sağlasa da Kafkas arı ırkının ürettiği CauPo numunesi de orta

derecede biyoaktivite gösterdiği ortaya koyulmuştur. Tablo 2' deki istatistiki verilerle birlikte edinilen sonuç harmanlandığında ortaya DPPH testi açısından önemli bir veri çıkmaktadır. Yine bu sonuçlara göre DPPH-SC₅₀ verileri ışığında APo numunesi ile CauPo numunesi arasında istatistiki herhangi bir fark görülememiştir. Burada bu iki örneklem türünün yüksek biyoaktivite sergilediğinin bir göstergesi olarak değerlendirmek olası bir durumdur.

Propolis numunelerinde yapılan değerlendirme sonrasında toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid miktarı ve DPPH bakımından CarPr numuneleri daha değerli bulunmuştur.

Sonuç olarak, tez kapsamında analiz edilen dört farklı ırkın farklı numuneleri kendi arasında ve grup içerisinde çeşitli antioksidan metotlarla incelenmiştir. Kurulan hipotez çeşitli literatür çalışmalarına ve ırkın çeşitli fiziksel özelliklerine dayandırılarak Kafkas arı ırkının (*Apis mellifera Caucasica*) ürünlerinin diğer ırk ürünlerine göre üstünlük göstereceği mahiyetinde idi. İncelemeye alınan ve üstünlüğünü olması beklenen Kafkas arı ırkından elde edilen gerek bal, gerekse polen ve propolisin çalışma verilerine göre kurulan hipotezle korelasyon göstermediği ortaya koyulmuştur. *Apis mellifera Syriaca*, *Anatolica*, *Caucasica* ve *Carnica* türlerinin ürünlerinde kimi zaman farklı ırkın balı (örneğin; *Apis mellifera Syriaca*), yine farklı ırkın poleni (örneğin; *Apis mellifera Anatolica*) ve yine nihayetinde farklı ırkın propolisi (örneğin; *Apis mellifera Carnica*) en yüksek biyoaktiviteyi göstermiştir. Edilen sonuca göre varılan en büyük yargı, ırkın fiziksel özelliklerinin ortaya koymuş olduğu herhangi bir avantajın ötesinde, ürünlerin kaynağı olan floral çeşitlilik biyoaktivitede en büyük sorumluluk sahibidir.

5. ÖNERİLER

Türkiye arı ırkı çeşitliliği ve flora yönünden dünya ülkeleri arasında çok değerli bir yerde bulunmaktadır. Her ırkın yörelere göre bitki örtüsü, rakım, nektar kaynağı ve iklim durumlarına göre artıları ve eksileri vardır. Bu çeşitlilik çalışmada ırkların birbirlerine karşı fiziksel üstünlük ve dezavantajlarını tam olarak göstermesini engellediği düşünülmüştür. Bu yüzden farklı arı ırklarının aynı floral çeşitlilikte beslenebildiği bir ortam bu sorunu çözerek daha kesin bir gözlem yapmaya olanak sağlayabilir.

Bununla birlikte ülkemizde bulunan *Apis mellifera Meda*, *Apis mellifera ligustica* gibi başka arı türleri veya türlerin kendi içindeki ekotipleri çalışmaya dahil edilerek daha da kapsamlı bir bakış açısı elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- Ahn, M.R., Kunimasa, K., Ohta, T., Kumazawa, S., Kamihira, M., Kaji, K., Uto, Y., Hor,i H., Nagasawa, H. and Nakayama, T., 2007.** Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis: major component artepillin C inhibits in vitro tube formation and endothelial cell proliferation. *Cancer Letters*, 252(2), 235-243.
- Aliyazıcıoğlu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E. and Kolayli, S., 2013.** Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. *International Journal of Food Properties*, 16(2), 277-287.
- Akkuş İ., 1995.** Serbest Radikaller ve Fizyo-patolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- Akyuz, E., Sahin, H., Islamoğlu, F., Kolayli, S. and Sandra, P., 2014.** Evaluation of phenolic compounds in *Tilia rubra* subsp. *caucasica* by HPLC-UV and HPLC-UV-MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 17(2), 331-343.
- Almaraz-Abarca, N., Campos, M.G., Ávila-Reyes, J.A., Naranjo-Jiménez, N., Corral, J.H. and González-Valdez, L.S., 2007.** Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 119-124.
- Anklam, E., 1998.** A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63, 549–562.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S.E., 2004.** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–81.
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–6.
- Cadenas, E. and Packer, L., 2002.** Handbook of Antioxidants, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M., 2004.** Meyve ve sebzelerin bileşimi. Meyve ve Sebze İşleme teknolojisi, B. Cemeroğlu, (ed.), İkinci baskı, Birinci cilt, Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara.
- Cemeroğlu, B., 2007.** Gıda Analizleri. Gıda Teknolojileri yayınları. Ankara Üniversitesi, Mühendislik fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.

- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., 2002.** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Doğaroğlu, M., 2008.** Modern Arıcılık Teknikleri. Tekirdağ, Doğa Arıcılık Tic. Ltd. Şti.
- Doğaroğlu, M., 2015.** Arı Ürünleri ve Sağlık (Apiterapi). Editör(ler); Akçiçek, E., Yücel, B. Bölüm 3: Arı Ürünleri ve Sağlık. Syf 17-23. ISBN: 978-605-5267-26-1.
- Fıratlı, Ç., Genç, F., Karacaoğlu, M. ve Gençer, H.V., 2000.** Türkiye’de arıcılığın karşılaştırmalı analizi, sorunlar-öneriler. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi. 17-21 Ocak 2000. Ankara.
- Gómez-Caravaca, A.M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A.J., 2006.** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220–1234.
- Guitsi, M.M., and Wrolsta, R.E., 2001.** Unit F1,2,1-13. Anthocyanin. Characterization and measurement with UV-Vis spectroscopy. In current protocols in food analytical chemistry, R.E. Wrolstad, and S.J. Schwartz (eds.), F1.2:1-13, John Wiley&Sons, New York, NY, U.S.A.
- Güler, A., Kaftanoğlu, O., Bek, Y. ve Yeninar, H., 1999.** Türkiye’deki Önemli Balarısı (*Apis mellifera* L.) Irk ve Ekotiplerinin Morfolojik Karakterler Açısından İlişkilerinin Diskriminant Analiz Yöntemiyle Saptanması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 337-343.
- Güler, A., 2001.** Artvin Borçka Camili (Macahel) yöresi bal arısı (*Apis mellifera* L.)’nın morfolojik özellikleri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 473-481.
- Hallaç, T.F., 2009.** Bazı Sofralık Üzüm Çeşitlerinde Farklı Dönemlerde Alınan Yapraklardaki Fenolik ve Mineral Madde Değişimlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. S.D.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Joshi, S.R., Pechhacker, H., Willam, W. and von der Ohe, W., 2000.** A. mellifera honey from chitwan district, central Nepal. *Apidologie*, 31, 367–375.
- Kaftanoğlu, O., Kumova, U. ve Bek, Y., 1993.** GAP Bölgesinde çeşitli balarısı (*Apis mellifera* L.) ırklarının performanslarının saptanması ve bölgedeki mevcut arı ırklarının ıslahı olanakları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi GAP Yayınları, No:74. Adana.
- Karaçalı, İ., 2002.** Bahçe Ürünlerinin Muhafazası ve Pazarlanması, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir.

- Kekeçođlu, M., 2010.** Türkiye’deki Bal Arısı Çeşitliliği Morfometrik, Biyokimyasal ve Moleküller Teknikler (PZR-KPUP, DNA dizi analizi), Arıcılık Araştırma Dergisi, 4, 5-9.
- Koç, A.U. and Karacaoğlu, M., 2011.** Effects of queen rearing period on reproductive features of Italian (*Apis mellifera ligustica*), caucasian (*Apis mellifera caucasica*), and aegean ecotype of Anatolian honey bee (*Apis mellifera anatoliaca*) queens. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 35(4), 271-276.
- Kolayli, S., Yildiz, O., Sahin, H. and Aliyazioglu, R., 2013.** Biochemistry and physicochemical properties of honey. In: honey in traditional and modern medicine. (L. Boukraa, ed.). pp. 21-35, CRC Pres, Taylor & Francis Group. ISBN: 13:978-1-4398-4016-0.
- Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S. and Hara, H., 2009.** Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. BMC Complementary and Alternative Medicine, 9: 4 DOI: 10.1186/1472-6882-9-4.
- Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y., 2002.** İnsan Biyokimyası. Yaşlanma Biyokimyası. Sözmen E.Y.Editor(s). Palme Yayıncılık, Ankara, s. 665-674.
- Özenç, B., 2011.** Fumaria officinalis’un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Konya.
- Öztürk, A.I., Alatas, I., Settari, A., Bodurođlu, Y., Uyguner, B. ve Bozkurt, M., 1992.** Ege Bölgesi arı popülasyonlarında bazı morfolojik özelliklerin saptanması. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir, Türkiye.
- Papas, A.M., 1996.** Determinants of Antioxidant Status in Humans, Lipids, 31, 77-82.
- Pietta, P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products. 63, 1035-1042.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G., 1996.** Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. Free Radical Biology and Medicine, 20 933-956.
- Ruttner, F., 1988.** “Biogeography and taxonomy of honeybees. Springer- Verlag. Berlin, Almanya.
- Sheppard, W.S., Arias, M.C., Grech, A. and Meixner, M. D., 1997.** *Apis mellifera* ruttneri, a new honey bee subspecies from Malta. Apidologie, Vol. 28, pp. 287-293.
- Sheppard, W.S. and Meixner, M.D., 2003.** *Apis mellifera* pomonella, a new honey bee subspecies from Central Asia. Apidologie, Vol. 34, pp. 367–375

- Silici, S., Koç, N.A., Ayangil, D. and Çankaya, S., 2005.** Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybee against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. *Journal of Pharmacological Sciences*, 99, 39–44.
- Silici, S. and Kutluca, S., 2005.** Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 69–73.
- Silva, T.M.S., Camara, C.A., Lins, A.C., Barbosa-Filho, J.M., Silva, E.M.S., Freitas, B.M. and Santos, R.F.A., 2006.** Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 507-511.
- Slinkard, K. and Singleton, V.L., 1977.** Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49–55.
- Ulusoy E. and Kolaylı S., 2013.** Phenolic composition and antioxidant properties of Anzer bee pollen, *Journal of Food Biochemistry* 1745-4514
- Ulusoy E., Kolaylı S. and Sarıkaya A.O., 2009.** Antioxidant and antimicrobial activity of different floral origin honeys from Turkey, *Journal of Food Biochemistry* 1745-4514
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian M., 2002.** Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1619-1624.

ÖZGEÇMİŞ

Mehmet KILIÇARSLAN, 1988 yılında Zonguldak/Ereğli’de doğdu. İlköğretimi ve orta öğrenimini Cumhuriyet İlköğretim Okulu’nda 2002 yılında lise eğitimini Ereğli Lisesi’nde 2005 yılında tamamladı. 2008 yılında başladığı lisans eğitimini 2015 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü’nde tamamladı. Aynı yıl Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans programına başladı. Halen yüksek lisans programına devam etmektedir. Mehmet KILIÇARSLAN ’ın yabancı dili İngilizce’dir.

