KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARI POLENİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ

KÜBRA VATANSEVER

KOCAELİ 2023

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARI POLENİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ

KÜBRA VATANSEVER

Doç. Dr. Neslihan ŞAKİ		
Danışman,	**Kocaeli Üniv.**	**.....**
Doç. Dr. Mustafa Oğuzhan KAYA		
Jüri Üyesi,	**Kocaeli Üniv.**	**.....**
Prof. Dr. Gülnur ARABACI		
Jüri Üyesi,	**Sakarya Üniv.**	**.....**

Tezin Savunulduğu Tarih: 25.01.2023

Etik Beyan ve Araştırma Fonu Desteği

Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında,

- Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu,
- Çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı,
- Bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi,
- Bu çalışmanın Kocaeli Üniversitesi'nin abone olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun olduğunu,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.

☒ Bu tez çalışması kapsamında üretilen veri ve bilgiler Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından BAP-2020/2323 no'lu proje kapsamında maddi desteği alınarak gerçekleştirilmiştir.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

Kübra Vatansever

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI

Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda belirtilen koşullarla kullanıma açma izninin Kocaeli Üniversitesi'ne verdiğimi beyan ederim. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanımı bana ait olacaktır.

Tezin kendi özgün çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim kurulu tarafından yayınlanan *"Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılması İlişkin Yönerge"* kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi/ Kocaeli Üniversitesi Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

☐ Enstitü yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.

☐ Enstitü yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 6 ay ertelenmiştir.

☒ Tezim ile ilgili gizlilik kararı verilmemiştir.

……

Kübra Vatansever

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen, her konuda bana yol gösteren değerli danışman hocam Doç. Dr. Neslihan ŞAKİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda ve tezime sağladığı desteklerinden dolayı Dr. Mustafa AKIN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Maddi manevi her konuda desteklerini esirgemeyip hep yanımda olan babam ve anneme, bu süreçte küçük dokunuşlarından dolayı kardeşim Semanur ÜLGER'e, eğitim sürecimi birlikte sürdürdüğüm saygıdeğer eşim Özgür VATANSEVER'e ve bu süreçte onunla daha az oynadığım halde sevgisini hiç azaltmayan canım oğlum Yiğit VATANSEVER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde ekonomik destek sağlayan Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) komisyonuna da ayrıca teşekkür ederim (Proje No: BAP-2020/2323).

Ocak – 2023 Kübra VATANSEVER

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
TABLOLAR DİZİNİ vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ viii
ÖZET ix
ABSTRACT x
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Arı Ürünleri 2
2.1.1. Bal 2
2.1.2. Arı Sütü 3
2.1.3. Arı Zehri 4
2.1.4. Arı Ekmeği 5
2.1.5. Balmumu 5
2.1.6. Propolis 6
2.1.7. Arı Poleni 7
2.1.7.1. Arı Poleninin Toplanması 7
2.1.7.2. Arı Poleninin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri 8
2.1.7.3. Arı Poleninin Fonksiyonel Özellikleri 8
2.2. Apiterapi 9
2.3. Serbest Radikaller 9
2.3.1. Serbest Radikallerin Oluşumu 11
2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri 12
2.3.3. Serbest Radikallerin Kaynakları 13
2.4. Antioksidan Aktivite 13
2.4.1. Sınıflandırılması 14
2.4.1.1. Enzimatik Antioksidanlar 14
2.4.1.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar 15
2.4.2. Antioksidan Aktivite Yöntemleri 17
2.4.2.1. Hidrojen Transferine Dayanan Reaksiyonlar 17
2.4.2.1.1. Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametreyöntemi(TRAP) 17
2.4.2.1.2. Oksijen Radikal Absorbsiyon Kapasitesi Yöntemi (ORAC) 18
2.4.2.2. Tek Elektron Transferine Dayanan Reaksiyonlar 18
2.4.2.2.1. Folin-Ciocalteu Yöntemi (FC) 18
2.4.2.2.2. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (TEAC) 19
2.4.2.2.3. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi 19
2.4.2.2.4. Cu(II)' nin Oksidan Olarak Kullanıldığı Toplam Antioksidan Potansiyel Yöntemi (CUPRAC) 20
2.4.2.2.5. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan

Güç Yöntemi(FRAP) ..... .21
2.5. Antimikrobiyal Aktivite 21
2.5.1. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemleri ..... .22
2.5.1.1. Dilüsyon Yöntemi 22
2.5.1.2. Difüzyon Yöntemi. ..... .23
2.5.2. Bakteriler. ..... .25
2.5.2.1. Gram Pozitif Bakteriler. 26
2.5.2.2. Gram Negatif Bakteriler. 27
2.6. Literatür Özeti 28
3. MALZEME VE YÖNTEM 32
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 32
3.2. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar ..... .32
3.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması… 33
3.3.1. DPPH Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler 33
3.3.2. Toplam Fenolik Madde Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler… 33
3.3.3. FRAP Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler 33
3.4. Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması ..... .33
3.4.1. Sıvı Besiyerinin Hazırlanması 33
3.4.2. Katı Besiyerinin Hazırlanması 34
3.4.3. Suşların Ayarlanması 34
3.5. Kullanılan Mikroorganizmalar 34
3.6. Metot 34
3.6.1. Polen Ekstraktının Hazırlanması 34
3.6.2. Antioksidan Aktivite. 34
3.6.2.1. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi ..... .34
3.6.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini (Folin-Ciocalteu Yöntemi) 35
3.6.2.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP) 35
3.6.3. Antimikrobiyal Aktivite 35
3.6.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi 35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 37
4.1. Arı Poleninin Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi… 37
4.1.1. DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Tayini. ..... .37
4.1.2. Toplam Fenolik Madde Tayini. 39
4.1.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi. 42
4.2. Arı Poleninin Antimikrobiyal Aktivitesinin Değerlendirilmesi. 44
4.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi. 44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 47
KAYNAKLAR 49
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 54
ÖZGEÇMİŞ 55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Bal 2
Şekil 2.2. Arı Sütü. 3
Şekil 2.3. Arı Zehri. 4
Şekil 2.4. Arı Ekmeği. 5
Şekil 2.5. Balmumu. 5
Şekil 2.6. Propolis. 6
Şekil 2.7. Arı Poleni. 7
Şekil 2.8. Arı Poleni Tuzakları. 8
Şekil 2.9. Tokoferol. 16
Şekil 2.10. Askorbik Asit 16
Şekil2.11. Karotenoid. 17
Şekil 2.12. ORAC Yönteminin Şematik Gösterimi. 18
Şekil 2.13. $ABTS^{-}$ Radikalinin $ABTS^{2-}$ Radikaline İndirgenmesi. 19
Şekil 2.14. DPPH Radikali 20
Şekil 2.15. Cu (II) Kompleksinin Cu (I) Formuna İndirgenmesi. 20
Şekil 2.16. Fe (III)-TPTZ Kompleksinin Fe(II) Formuna İndirgenmesi. 21
Şekil 2.17. Dilüsyon Yönteminde Sıvı Besiyeri. ..... .22
Şekil 2.18. Swab İle Bakteri Alımı ve Bakterinin Agar Yüzeyine Ekilmesi. 23
Şekil 2.19. Agar Üzerine Disklerin Yerleştirilmesi. 24
Şekil 2.20. Agar Üzerinde Oluşan Zon ve Zon Çapının Ölçülmesi. 24
Şekil 2.21. Agar Üzerine Kuyu Açma ve Engelleme Zonu. 25
Şekil 2.22. Bakteri Örnekleri. 25
Şekil 2.23. Gram Boyama Tekniğinin Aşamaları. 26
Şekil 2.24. Gram (+) Bakteri. 26
Şekil 2.25. Gram (-) Bakteri. 27
Şekil 4.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi (%). 38
Şekil 4.2. Gallik Asit Standart Grafiği. 39
Şekil 4.3. Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g). 40
Şekil 4.4. Demir (III) İyonu İndirgeme Güçleri. 43
Şekil 4.5. Polen Ekstraktlarının Oluşturduğu İnhibisyon Zonları. 45

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS). 10
Tablo 2.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS). 11
Tablo 2.3. Gram(+) Bakterilerine Örnekler. 27
Tablo 2.4. Gram (-) Bakterilerine Örnekler. 27
Tablo 4.1. Polen Ekstraktlarının % DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi Verileri. 37
Tablo 4.2. Toplam Fenolik İçerik Verileri (mg GAE/g). 40
Tablo 4.3. Polen Ekstraktlarının Demir (III) İyonu İndirgeme Güçleri. 42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ABTS	: 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit))
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity (Cu(II)' nin Oksidan Olarak Kullanıldığı Toplam Antioksidan Potansiyel Yöntemi)
DPPH	: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil)
FC	: Folin-Ciocalteu Methot (Folin-Ciocalteu Yöntemi)
FCR	: Folin-Ciocalteu Reagent (Folin-Ciocalteu Reaktifi)
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power (Demir(III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi)
GETAT	: Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp
Gred, GR	: Glutathione Reductase (Glutatyon Redüktaz)
GSH	: Reduced Glutathione (İndirgenmiş Glutatyon)
GSH-Px	: Glutathione Peroxidase (Glutatyon Peroksidaz)
GSSG	: Oxidizel Glutathione (Okside Glutatyonu)
G6PDH	: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz)
HAT	: Hydrogen-Atom Transfer (Hidrojen Transferine Dayanan Reaksiyonlar)
KAT	: Katalaz
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity (Oksijen Radikal Absorbsiyon Kapasite Yöntemi)
RNS	: Reactive Nitrogen Species (Reaktif Nitrojen Türleri)
ROS	: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SET	: Single Electron Transfer (Tek Elektron Transferine Dayanan Reaksiyonlar)
SOD	: Superoxide Dismutase (Süperoksit Dismutaz)
TEAC	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi)
TRAP	: Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter (Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametre Yöntemi)

ARI POLENİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ

ÖZET

Çalışmamızın amacı, Bursa yöresinden toplanan arı poleninin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemektir. Polen, çiçekli bitkilerin üremesini sağlayan hücrelerdir. Arılar tarafından toplanarak kovanlara taşınır ve arıcılar sayesinde temin edilir. Arı poleninin kimyasal yapısı gereği antioksidan ve antimikrobiyal etki gösterdiği bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada antioksidan aktiviteyi belirlemek için DPPH radikal süpürme, demir (III) iyonu indirgeme ve toplam fenolik içerik yöntemleri kullanıldı. Ayrıca polen ekstraktlarının farklı konsantrasyonları arasındaki potansiyel farkın araştırılmasıyla da ilgilenildi.

Elde edilen sonuçlar, etanolik ekstraktının en yüksek DPPH radikal süpürme aktivitesine sahip olduğunu, hekzan ekstraktının ise en düşük değerleri gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, yüksek konsantrasyonda etanol ekstraktı % 67,45, düşük konsantrasyonda etanol % 2,65, hekzan ve su ekstraktları sırasıyla % 1,35 ve % 3,27 inhibisyon değeri göstermiştir. Demir (III) iyonu indirgeme gücü değerlendirmesi, etanol ekstraktının 50 mg/mL'de 0,287değeriyle en yüksek indirgeme potansiyeline sahip olduğunu, en düşük verinin ise 10 mg/mL'de 0,056 değeri ile hekzan ekstraktında gözlendiğini ortaya koymuştur. Toplam fenolik içerik değerlendirmesi için en yüksek veri 15,86 mg GAE/g ile etanol ekstraktında gözlenirken, en düşük veriyi aynı konsantrasyonda hekzan ekstraktı 7,13 mg GAE/g olarak göstermiştir. Antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesi ile ilgili olarak, çalışma arı poleninin etanol ve hekzan ekstraktı ile 4 gram (+) ve 1 gram (-) bakteriye karşı gerçekleştirilmiştir. İyi bir antioksidan aktiviteye sahip olmalarına rağmen, bu ekstraktlar herhangi bir bakteri inhibisyonu göstermemiştir. Bunun nedeni polen ve bitkinin coğrafi konumu, bitki türleri, iklim koşulları, numune toplama, işleme ve depolama gibi birçok faktör olabilir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidan Aktivite, Arı Poleni.

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF BEE POLLEN

ABSTRACT

The aim of our study is to explore the antioxidant and antimicrobial activities of bee pollen gathered from Bursa vicinity. Polens are cells that enable flowering plants to reproduce. It is collected by the bees, transported to the hives and provided by the beekeepers. İt is known that bee pollen has antioxidant and antimicrobial effects due to its chemical structure. In our study, DPPH radical scavenging, iron (III) ion reduction and total phenol content methods were run to determine antioxidant activity. We were also interested in investigating the potential difference between different concentrations of pollen extracts.

The results revealed that the ethanolic extract had the highest DPPH radical scavenging activity, while the hexane extract showed the lowest values. In addition, ethanol extract at high concentration showed 67.45%, at low concentration; ethanol 2.65%, hexane and water extracts showed inhibition value of 1.35% and 3.27%, respectively. Evaluation of iron (III) ion reducing power revealed that ethanol extract had the highest reduction potential with a value of 0.287 at 50 mg/mL, while the lowest data was observed in hexane extract with a value of 0.056 at 10 mg/mL. For total phenol content evaluation, the highest data was achieved in ethanol extract with 15.86 mg GAE/g, while the lowest data was shown in hexane extract at the same concentration as 7.13 mg GAE/g. Regarding the evaluation of antimicrobial activity, the study was carried out with ethanol and hexane extract of bee pollen against 4 gram (+) and 1 gram (-) bacteria. Despite having good antioxidant activity, these extracts did not show any bacterial inhibition. This may be due to many things like pollen and the geographic location of the plant, plant species, climatic conditions, sample collection, processing and storage.

Keywords: Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity, Bee Pollen.

1. GİRİŞ

Türkiye, zengin florası ve uygun coğrafi ve ekolojik konuma sahip olduğu için dünya arıcılık faaliyetlerinde oldukça avantajlıdır. Arıcılık denildiğinde akla ilk bal gelse de arı poleni, propolis, arı zehri, arı sütü, balmumu gibi yan ürünler de vardır. Bu yan arı ürünlerinin ekonomik değeri oldukça yüksektir. Bu ürünler, insanlar için oldukça besleyici ve koruyucu destek ürünleridir. Bu nedenle dünyada alternatif tıp alanında kullanılmakta ve apiterapi olarak adlandırılmaktadır (Akyol, 2015; Silici, 2014). Polen; çiçekli bitkilerin üreme hücresidir. Arılar poleni bir miktar tükürükle birleştirerek arı poleni haline getirirler. Üreticiler tarafından kurulan tuzaklarla da toplanırlar.

Bir arı vücut ağırlığıyla orantılı olarak 15-45 mg poleni tek seferde kovana taşıyabilmektedir. Kurutulmuş arı polenin nem oranı % 6-8 oranın da olması gerekir. Aksi takdirde bozulma veya besin değerinde azalmalar görülmektedir. Bu besin değerleri polenin toplandığı bölgeye ve iklim koşullarına göre değişiklik göstermektedir. Normal koşullarda arı poleninin % 7,5-40 protein, % 4-15 su, % 15-82 şeker, % 1,3-7 lipid, %1-3,5 mineral ve vitaminler ihtiva etmektedir (Bakkaloğlu, 2021).

Arı poleni ile yapılan *in vitro* çalışmalar, polenin antioksidan,antimikrobiyal, antifungal, antitümör, antidepresan, anti-inflamatuar gibi biyokimyasal aktivitelere sahip olduğunu kanıtlamıştır (Sığ, 2019: Mayda ve ark., 2019: Öztürk O. ve ark. 2021). Bu özellikler arı poleninin insan sağlığı üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu desteklemektedir. Sahip olduğu özellikler sebebiyle polenin; tıp, apiterapi, biyokozmetik ve besin maddesi olarak kullanılması teşvik edilmekte ve kullanılmaktadır (Mayda ve ark., 2019). Arı ürünleriyle ilgili yapılan çalışmalar arıcılık faaliyetlerinin devamlılığını sağlarken insanları da bilinçlendirmeyi amaçlamaktadır. Bu çalışmayla literatüre katkı sağlanarak, arı poleni üzerinde farkındalık oluşturmak amaçlanmaktadır.

Yapılan çalışmada, arı polenin antioksidan aktivitesi; DPPH, FRAP ve Folin-Ciocalteu yöntemleriyle; antimikrobiyal aktivitesi ise gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Arı Ürünleri

2.1.1. Bal

Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre bal kelimesi; bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından bitkilerin nektarlarını, bitkilerin canlı bölümündeki salgıların veya bu kısımlarda yaşayan bitkiyi emici böceklerin salgılarını toplayıp daha sonrasında da kendine özgü maddelerle birlikte değişikliğe uğrattığı, su içeriğini azalttığı ve peteklerde depolayarak olgunlaştırdığı doğal ve tatlı bir üründür (Parlakpınar ve Polat, 2021; Mutlu ve ark., 2017) (Şekil 2.1.). Arıların nektar topladığı kaynağa göre bal, 2 ana gruba ayrılır. Bunlar çiçek balı ve salgı balıdır. Çiçek balı, çiçeklerden elde edildiği için kekik, kestane, ıhlamur, lavanta gibi örnekler verilebilir. Salgı balına ise; bitkilerin ya da bitki üzerinde yaşayan böceklerin salgıları oluşturduğu için bu gruba da çam, meşe, köknar ve yaprakları örnek verilebilir (Mutlu ve ark., 2017; Karlıdağ ve Keskin, 2020).



Şekil 2.1. Bal

Balın kimyasal bileşimi botanik ve coğrafi kaynağına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Balın çoğunluğunu karbonhidratlar oluşturmaktadır. Ayrıca mineral, su, protein, organik asit, enzimler, serbest aminoasit, fenolik bileşikler ve vitaminler gibi mikro ve makro bileşenlerden oluşmaktadır. Bal da bulunan temel şekerler glikoz ve fruktoz monosakkaritlerdir. Ayrıca maltoz, laktoz gibi disakkaritler ve oligosakkaritler de bulunmaktadır (Parlakpınar ve Polat, 2021; Mutlu ve ark., 2017; Karlıdağ ve Keskin, 2020).

Bal eski çağlardan bu yana insana fayda sağlamak için kullanılmış ve kullanılmaktadır. Yaralarda, yanıklarda, böcek ısırıklarında ve cilt bozukluklarını tedavi etmek için onarıcı etkisinden faydalanılmıştır. Ayrıca insan sağlığı üzerinde biyokimyasal etkileri de bulunmaktadır. Bunlar; antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik, antikanser ve sindirim sistemini düzenleyici etkilerdir. Ayrıca yapılan çalışmalar balın antiviral ve antiparaziter, antiinflamatuar, antimutajenik etkilere de sahip olduğunu göstermektedir (Güler, 2005; Karadal ve Yıldırım, 2012).

2.1.2. Arı Sütü



Şekil 2.2. Arı Sütü

Arı sütü; 5 ila 15 günlük genç işçi arıların başından ve boğaz bezlerinden salgılanan beyaz-kremsi renkte ve jel gibi akıcı formdadır (Şekil 2.2.). Tadı ekşi lezzete sahip ve keskin kokuludur. Arı sütünün bileşiminin yarısından fazlası sudur. Proteinler, lipitler, şekerler, mineraller ve bütün esansiyel amino asitler arı sütünde bulunmaktadır. Ayrıca P, Na, Mg, K, Ca, elementlerinin yanında polen ve B, C, D, E vitaminlerinin tamamını bünyesinde barındırmaktadır. Besleyici içeriği sayesinde arı sütü hem arılar hem de insanlar için önemli bir besin kaynağıdır (Karlıdağ ve Keskin, 2020; Akyol ve Baran, 2015; Karakuş ve Aslan, 2019).

Arı sütü, larvaların beslenmesi için tek besindir. İşçi arılar; arı sütü ile 3 gün, daha sonrasında ise polen ve bal ile beslenerek gelişimlerini sürdürürken, ana arı sürekli arı sütü ile beslenmektedir. Arı sütünün en önemli maddesi 10-hidroksi-2-dekanoik asit (10-HDA)'tir ve sadece arı sütünde doğal olarak bulunur. 10-HDA arı sütünün ticari değerini de belirlemektedir (Parlakpınar ve Polat, 2021; Karlıdağ ve Keskin, 2020; Akyol ve Baran, 2015; Yavuz ve Gürel, 2017). İçerisindeki etken maddeler sayesinde insan biyolojisinde önemli etkileri bulunur. 10-HDA bünyesinde bakteri barındırmadığı

için arı sütü antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Arı sütünün en önemli etkileri ise hücre yenileyici, üreme ve bağışıklık sistemi düzenleyici olmasıdır. Yapılan çalışmalara göre arı sütü antibakteriyal, antioksidan, antidiyabetik, antiinflamatuar, antitümör, antialerjik, antiaging ve antiülseratif etkiler gösterir. Ayrıca astım, bronşit, depresyon, kısırlık, hipertansiyon, iştahsızlık, sinirlilik, uykusuzluk, saç uzaması artırıcı ve kemik kırıklarında iyileşmeyi hızlandırıcı gibi pek çok hastalık üzerinde de olumlu sonuçları olduğu tespit edilmiştir (Parlakpınar ve Polat, 2021; Karlıdağ ve Keskin, 2020; Akyol ve Baran, 2015; Karakuş ve Aslan, 2019).

2.1.3. Arı Zehri



Şekil 2.3. Arı Zehri

Arı zehri, apitoksin olarak bilinir ve işçi arıların karın boşluğundaki zehir bezlerden üretilir. Arı zehri, arıların sokma eylemi sırasında enjekte edilir ve sarımtırak açık renkli hatta renksiz bir sıvıdır (Şekil 2.3.). Keskin ve acı tada sahip, kokusuz ve asidik yapıdadır. Ayrıca hava ile temasında hızlı bir şekilde kuruyup kristallenen bir maddedir (Karlıdağ ve Keskin, 2020; Altıntaş ve Bektaş, 2019; Atayoğlu, 2019).

Arı zehrinin %88'i sudan oluşur. Geri kalan kısım ise; fosfolipitler, peptitler, şekerler, amino asitler, biyoaktif aminler, enzimler, mineraller ve feromonlar gibi maddelerden oluşan kompleks bir yapıdadır. Diğer arı ürünleri gibi arı zehrinin de insan sağlığına pek çok faydası vardır. Özellikle içerisinde fazla oranda bulunan mellitin sayesinde arı zehri antifungal, antibakteriyal, antiinflamatuar ve sinir sistemini düzenleyici aktiviteler göstermektedir. Yapılan çalışmalar neticesinde antiviral, antikanser, yara iyileştirici, santral ve periferik sinir sistemi özellikler gösterdiği de belirtilmiştir (Parlakpınar ve Polat, 2021; Karlıdağ ve Keskin, 2020; Altıntaş ve Bektaş, 2019).

2.1.4. Arı Ekmeği



Şekil 2.4. Arı Ekmeği

Bal arılarının çiçeklerden topladıkları polenler, petek gözlerinde ise arı ekmeği şeklinde depolanmaktadır (Şekil 2.4.). Arı ekmeği üretilirken polen; bal ve diğer salgılar ile karıştırıldıktan sonra laktik asit fermentasyonuna bırakılarak elde edilir. Yavru arıların ve kraliçe arının temel gıda maddesidir. Arı ekmeği protein, karbonhidrat, lipit, mineral, laktik asit, şeker ve yağ içerir. Ayrıca genel içeriği; mineraller (P, S, K, Mg, Co, Zn, Cr vb) aminoasitler (fenilalanin, valin, lösin, arginin, lizin,metionin vb) ve vitaminlerden (A, B, C, D, E, K, H) oluşur (Parlakpınar ve Polat, 2021; Silici, 2014). Yapılan çalışmalarda arı ekmeğinin *E. coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* bakterilerine karşı antibakteriyal etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca üreme hormonlarına katkısı nedeniyle cinsel performansı artırma, kas gücü ve hacminin artırılması amaçlı kullanılmaktadır. İçerdiği asetilkolin nedeniyle, kronik kabızlık ve tansiyon tedavilerinde de kullanılır (Parlakpınar ve Polat, 2021; Silici, 2014; Sorucu, 2019).

2.1.5. Balmumu



Şekil 2.5. Balmumu

Balmumu 2 ya da 3 haftalık genç işçi arıların, son 4 çift karın halkaları arasındaki mum

salgı bezlerinden üretilir (Şekil 2.5.). Arılar bal mumunu petek örmek için kullanırlar. Balmumunun; kozmetik sektörü, ilaç sanayisinde hapların kaplanması, diş hekimliği, mobilya zemin ve müzik enstrümanlarının cilalanması, meyvelerin parlatılması gibi birçok alanda kullanım alanı bulunmaktadır. İçeriğinin karmaşık bir yapıda olmasının sebebi 300'den fazla maddeden oluşmasıdır. Ham maddesi glikoz, fruktoz ve sakkarozdur. Kimyasal yapısında; esterler, uzun zincirli yağ asitleri ve hidrokarbonlar ile çok az miktarda da su bulunur (Parlakpınar ve Polat, 2021; Sorucu, 2019).

2.1.6. Propolis



Şekil 2.6. Propolis

Prepoli ya da arı zamkı olarak da bilinen Propolis (işçi arılar ile yaprak, dal, tomurcuk gibi ağaçların büyümekte olan kısımlarından veya sürgünlerinden toplanarak, nektarın kovana taşınması ile polen ve arıların salgıladıkları farklı enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratılarak oluşturulmasıyla elde edilen reçinemsi yapıda olan bir maddedir (Şekil 2.6.). Arı, bitkinin reçinesini ve özsuyunu parçalayarak *Corbiculae* denilen torbada biriktirmektedir. Arılar propolisi, kovan ve yaşam alanlarındaki iç kısımlara tabaka halinde uygular. Propolis; kovanda bulunan delik veya çatlaklarının kapatılmasında, peteklerin birbirlerine yapıştırılmasında, peteklerin tamir edilmesinde, petek gözlerinin parlatılmasında, kovan girişinin daraltılmasında, arılara bulaşan hastalıklardan koloninin korunmasında ve buna bağlı olarak hastalık durumlarını etkisiz hale getirilerek olası gelişmelerin önlenmesinde kullanılır. Propolisin kimyasal yapısı, yaklaşık olarak 150 kimyasal bileşik, bal mumu, 20'den fazla mineral madde, esansiyel yağlar, reçine ve polen içermektedir (Yılmaz ve ark., 2004; Kumova ve ark., 2002). Propolis; immunomodulatör, antitümör, antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral,

antibakteriyel, antifungal ve antiparaziter gibi pek çok sayıda farmakolojik ve biyolojik aktivite içerir (Silici, 2015).

2.1.7. Arı Poleni

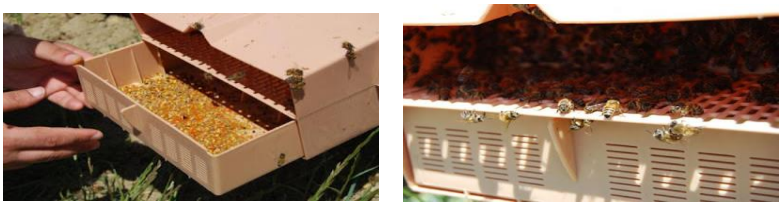


Şekil 2.7. Arı poleni

12476 bitki türü olduğu bilinen Türkiye'de, yaklaşık 500 kadarının arı beslenmesinde önemli derecede nektar ve polen kaynağı bitkiler olduğu bilinmektedir (Şekil 2.7.). Polen, çiçekli bitkilerin üreme hücresidir ve yüksek protein içeriği sayesinde arıların beslenmesinde, arı sütü üretiminde, genç arıların kas ve sindirim sitemlerinin gelişiminde, yavru gelişiminde kısacası koloninin sürekliliğini sağlamakta önemli bir rol oynamaktadır (Mayda ve ark., 2019).

2.1.7.1. Arı Poleninin Toplanması

İnsanlar yüzyıllardır çok farklı yöntemler uygulayarak, arı polenini toplamışlardır. Bu yöntemler; polenli peteklerin depolanması ve kovandan ayrılması, eski peteklerin içeriğinde bulunan polenlerin (arı ekmeği) çıkartılması ya da çiçeklere hafif dokunuşlarla polenlerin silkelenmesi ile kağıt üzerinde toplanması şeklindeki uygulamalardır. Kovan içerisinde polenin biriktirilmesi ise, işçi arının arka ayaklarındaki poleni, kovan girişine ve kovan gövdeleri arasına yerleştirilen farklı şekillerde uygulanan, yuvarlak şekildeki delikli ızgara sistemli tuzaklara düşürmesiyle sağlanır (Aydın, 2016) (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Arı poleni tuzakları

2.1.7.2. Arı Poleninin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Türkiye biyolojik çeşitliliği ve ekolojik farklılıkları sayesinde bal üretimi açısından en elverişli ülkeler arasında yer almaktadır. Bu avantaj, sadece bal üretimi için değil diğer arı ürünlerinin üretimi için de önemli bir dayanak oluşturmaktadır. Bu açıdan arı poleni üretiminde farklı bitkisel kaynaklar; kırmızı, sarı, yeşil, mor, portakal rengi gibi farklı renklerin üretiminin sebebidir. Polen tanelerinin ebadı (6 – 300 µm), rengi ve şekli de bitkisel kökenine göre farklılık göstermektedir (Mayda, 2019; Silici, 2019).

Polenin fiziksel, biyolojik ve kimyasal özellikleri; toplandığı bölgenin coğrafi konumuna, toplandığı bitkiye, toplanma şekline, iklim özelliklerine, muhafaza ve ambalaj şekline bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Silici, 2019).

Bitki kaynaklarına göre polen yaklaşık olarak 200 bileşene sahiptir. Arı poleninin karbonhidrat oranı %13-55 arasında değişiklik gösterse de ortalama %30,8 civarındadır. Bu %30,8'lik oranın, %25,7'si glukoz ve fruktoz şekerlerinden oluşmaktadır. Arı poleninin protein içeriği ise; bitki kaynağına göre %10 ila %40 civarındadır ve otalama değerinin ise %22,7 değerinde olduğu bilinmektedir. İçeriğindeki önemli amino asitler ise metiyonin, treonin, valin, histidin, lizin, fenilalanin, lösin, izolösin, ve triptofandır. Arı poleninin bileşenlerinde nükleik asitler de vardır, özellikle de ribonükleik asit bulunmaktadır. Lipit miktarının ortalama %5,1 olduğu ve bu miktarın %1 - %10 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Poleninin antioksidan aktivitesi; lipit peroksidasyonu inhibitörü ve serbest radikal süpürücü olarak bilinmektedir. Bu aktivite polende bulunan fenolik madde içeriği ile ilişkilendirilmektedir (Tabatabaei, 2017).

2.1.7.3. Arı Poleninin Fonksiyonel Özellikleri

Arı poleninin geniş tedavi edici özellikleri; antioksidan, antimikrobiyal, mantar

öldürücü, anti-radyasyon, hepatoprotektif, kemoprotektif ve/veya kimyasal yoldan önleyici, anti-enflamatuvar ve bağırsak fonksiyonlarını düzenleyici faaliyetleri mevcuttur. Ek olarak, özellikle kardiyovasküler ve antibiyotik, antikanser, antidiyareik, sindirim sistemi, bağışıklık sistemini iyileştirmesi ve buna bağlı olarak yaşlanmayı geciktirmek, gastroenterit, arteroskleroz, solunum yolu hastalıkları, prostat sorunları, alerjiye karşı faydalı etkileri olduğu biildirilmiştir (Kanar, 2017).

2.2. Apiterapi

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT), T.C. Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Geleneksel Tamamlayıcı ve Fonksiyonel Tıp Daire Başkanlığı'nın resmi internet sitesine göre "fiziksel ve ruhsal hastalıklardan korunma, bunlara tanı koyma, iyileştirme veya tedavi etmenin yanında sağlığın iyi sürdürülmesinde de kullanılan, farklı kültürlere özgü teori, inanç ve tecrübelere dayalı, izahı yapılabilen veya yapılamayan bilgi, beceri ve uygulamaların tamamıdır. Batı tıbbını destekleyici ve tamamlayıcı metotlardır" şeklinde ifade edilmektedir. Apiterapi, Latince arı anlamına gelen 'apis' kelimesinden türetilmiş olup arı ve arı ürünlerinin tamamlayıcı ve destek amaçlı kullanılması manasına gelmektedir. Apiterapi uygulamalarında arı ürünleri olarak; bal, *Apis mellifera* türü arılardan elde edilen propolis, arı zehri, polen, bal mumu, arı sütü, perga ve apilarnil (arı larvası) gibi ürünlerden yararlanılmaktadır. Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği'ne göre apiterapi, sertifikalı hekimler tarafından arı ve arı ürünlerinin belirli hastalıkların tedavisinde destekleyici veya tamamlayıcı olarak kullanılması şeklinde tanımlanmaktadır. Bu yönetmeliğe göre bal, polen, propolis ve arı sütünün sekonder immün yetmezliklerinde immün sistemi destekleyici olarak uygulanabileceği ancak; hastalığı ortadan kaldıracağı veya tek başına hastalığı tedavi edeceği gibi söylemlerde bulunulmaması belirtilmiştir. Bunun dışında; apiterapi uygulamadan önce, uygulama yapılacak kişinin arı zehri ve ürünlerine karşı alerjisinin olup olmadığının test edilmesi gerekmektedir. Bahsi geçen yönetmelikte arı zehri ve balın kullanım alanlarına değinilmiş; fakat diğer arı ürünlerinin kapsamlı kullanımı belirtilmemiştir (Parlakpınar ve Polat, 2021).

2.3. Serbest Radikaller

Dış orbitallerinde bir veya birden fazla eşlenmemiş elektronu olan, yüksek enerjiye

sahip atom ya da moleküller serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır. Yapılarında eşlenmemiş elektron bulundurdukları için diğer maddelerle kolayca reaksiyona girebilirler. Yapılarında elektronlarını çiftler halinde bulunduran atom ya da moleküller ise daha kararlı bir yapıya sahiptirler. Bu nedenle serbest radikaller kadar diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimleri yüksek değildir. Bu yüzden de kararlı bir yapıda olan, yapısında eşlenmemiş elektronu olmayan ve diğer maddeler ile radikallere nazaran daha zayıf bir halde reaksiyon veren moleküller non-radikaller şeklinde tanımlanır. Oksijen kaynaklı olanlara reaktif oksijen türleri (ROS) denilir. Nitrojen kaynaklı olanlara da reaktif nitrojen türleri (RNS) denilmektedir (Karabulut, 2016).

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Oksijen, vücut için vazgeçilemez bir elementtir ve karbon, hidrojen, kükürt ve azot ile organik moleküllerin yapılarını oluşturur. Bunun dışında; hücrelerde oluşan metabolik reaksiyonlar için, gereken oksijenin %90'ı mitokondride oksidatif fosforilasyon esnasında kullanılır. Kullanılmakta olan bu oksijenin %1 ila %3'ü mitokondrilerde ROS'a dönüştürülür (Karabulut, 2016). Reaktif oksijen türlerine örnekler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Radikaller	**Formülü**	**Nonradikaller**	**Formülü**
Süperoksit	$O_2•^-$	Hidrojenperoksit	H_2O_2
Hidroksi	OH•	Hipoklorikasit	HOCl
Peroksi	ROO•	Hipobromikasit	HOBr
Alkoksi	RO•	Ozon	O_3
Hiroperoksi	HOO•	Singlet oksijen	ΔO_2

Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)

RNS, azot merkezli radikallerdir ve en önemlisini de nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) oluşturmaktadır. Bağışıklık sistemindeki hücreler, nitrik oksit ve süperoksit üretirler. Lipid oksidasyonunu oluşturabilen nitrik oksit, DNA'nın parçalanmasına da neden olabilir. $O_2^{\cdot}$ ile reaksiyona da girerek etkili oksitleme yeteneği olan peroksinitrit anyonunu ($ONOO^-$) oluşturur (Oyuktaş, 2019). Reaktif nitrojen türlerine örnekler Tablo 2.2'de

verilmiştir.

Tablo 2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)

Radikaller	**Formülü**	**Nonradikaller**	**Formülü**
Nitrikoksit	NO•	Nitrözasit	HNO_2
Nitrojen dioksit	NOO•	Dinitrojen tetraoksit	N_2O_4
		Nitrozil katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Nitronyum katyonu	NO_2^-
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitroz asit	ONOOH
		Alkilperoksi nitritler	ROONO

Oksidadif Stres

Oksidanlar (serbest radikaller) hücrelerin metabolizmalarında, genel olarak oksijenin indirgenme tepkimesiyle meydana gelen reaktif oksijen türleri halinde üretilir ve sonrasında birçoğu antioksidan savunma sistemlerinin sayesinde etkisiz hale getirilir. Üretilen oksidanlar ile antioksidan savunma sistemleri arasında bir dengenin olması, organizmaların görevlerini doğru bir şekilde devam ettirmesi için önemlidir. Reaktif oksidan türleri ile antioksidan defans sistemleri arasındaki dengenin bozulması, ROS'ların fazla üretilmesi ve buna karşılık olarak antioksidan savunma sistemlerinin düşük olmasıyla gerçekleşir. Bunun sonucunda da oksidatif stres denilen olay gerçekleşir. Oksidatif stres sebebiyle protein, DNA ve lipitler de hasar görülebilir (Oyuktaş, 2019).

2.3.1. Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikallerin meydana gelmesinde 3 yol vardır. Bunlar;

Normal bir molekülün kovalent bağlı her parçasında, ortak olan elektronlardan birinin kalarak bölünmesi; $X{:}Y \rightarrow X^{\bullet} + Y^{\bullet}$

Normal molekülden bir elektronun kaybı; $X{:}Y \rightarrow X{:} + Y^{+}$

Normal moleküle bir elektronun eklenmesi; $A + e^{-} \rightarrow A^{-\bullet}$

şeklinde gösterilirler (Özdemir, 2014).

2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Hücrelerdeki antioksidan kapasitelerini aşan oranlarda oluştuklarında serbest radikaller, biyolojik makro moleküllerde hasarlara yol açarak, hücrelerde yapısal ve fonksiyonel bozukluklara sebep olabilirler. Serbest radikaller başta Lipitlere olmak üzere, proteinlere, karbonhidratlara ve DNA'ya karşı olumsuz etkileri olmaktadır.

Proteinlere Etkileri

Serbest radikaller proteinleri direk olarak etkiler ve bu etkilenme derecesi yapısında amino asit içerikleriyle belirlenir. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikallerle daha yüksek reaktiviteye sahip olduklarından; triptofan, fenil alanin, tirozin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyon verirler. Bunun sonucu ile özellikle merkezinde karbon bulunan kükürt ve organik radikallerini oluşturur. Oluşan bu radikaller membran proteinleriyle de reaksiyona girebilirler ve bunun sonucunda işlevlerin bozulmasına sebep olabilirler. Proteinler üzerinde olan serbest radikal hasarı birikmiş ise ya da belirgin proteinlerin spesifik bölgesi üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığını devam ettirmesi yönünden ciddi etkileri olabilir (Karabulut, 2016; Oyuktaş, 2019; Özdemir, 2014).

Lipitlere Etkileri

Hücre içi organellerin membranlarında bulunan lipitler, serbest radikal hasarına karşı oldukça duyarlıdır. Serbest radikaller, lipitlerle reaksiyona girdiğinde, şekillenen lipit peroksidasyonu ciddi derecede zararlı etkiye yol açabilir. Hücre membranının, akışkanlığını ve geçirgenliğini bozan lipit peroksidasyonu hücre membranına zarar verebilir. Lipit peroksidasyonu sonucunda meydana gelen membran hasarı tersinmez yani geri dönüşümsüz bir olaydır. Hücre membranlarında reaktif oksijen türlerinin hücre hasarına sebep olması lipit peroksit radikalleri ve lipit serbest radikallerinin bir özelliğidir. Lipit reaksiyonları sonucunda oluşan lipit radikalleri dayanıksızdır ve pekçok değişikliğe uğrayarak farklı lipit radikallerini oluştururlar ve zincir tepkimeleri devam etmiş olur.

Lipit peroksidasyonu, membranın yapısındaki poliansature yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başlar ve bunun sonucunda da yağ asidi zinciri lipit radikali özelliği kazanır. Oluşan bu lipit radikali dayanıksız olduğu için bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların yerlerinin değişmesiyle dien konjugatları ve daha sonrasında da lipit radikalinin oksijen ile etkileşimiyle lipit peroksil radikali oluşur. Bu radikal, membranın yapısında bulunan yağ asitlerini etkileyerek yeni radikallerin oluşmasına sebep olur, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşürler (Karabulut, 2016; Oyuktaş, 2019; Özdemir, 2014).

2.3.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik ve hüre içi kaynaklar olarak iki kısımda incelenebilir. Biyolojik kaynaklara: Radyasyon, aktive olmuş fagositler (Respiratuar Patlama), alkol ve uyuşturucu maddeler ve de çevresel kaynaklar (sigara dumanı, hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, anestezikler, hiperoksi) neden olabilir. Hücre içi kaynaklara: Plazma membranı (lipid peroksidasyonu), Mitokondrial elektron transport zinciri, Oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma), nükleer membran ve endoplazmik retikulum elektron taşıma sistemleri (sitokrom P_{450}) sebep olabilir. Serbest radikaller, özel durumlar dışında, hücrelerdeki elektron transfer reaksiyonları ile meydana gelirler. (Özdemir, 2014).

2.4. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar (yükseltgenmeyi önleyiciler), serbest radikalleri etkisiz hale getiren ve bunların oluşturduğu zararları engelleyen maddeler olarak tanımlanır. Sağlık alanında faydalarının yaygın olması nedeniyle "antioksidan" kelimesi toplumumuzda daha da bilinir hale gelmiştir. Sözlük tanımında yükseltgenmeyi önleyici madde, yükseltgenmeye karşı tepki gösteren, peroksitler ya da oksijen tarafından yapılan tepkimeleri etkisiz hale getiren bir madde olup, tokoferollerdeki gibi çeşitli gıda ürünlerinde meydana gelen bozulmaları erteleyen, istenmeyen değişimleri geciktirmekte kullanılan madde olarak ifade edilmiştir. Biyokimya ve tıp alanında vitamin E ve β-karoten oksitlenmenin sebep olduğu canlı dokularındaki hasarlara karşı tepkime oluşturan organik maddelere karşı antioksidan olarak yer alırlar (Oyuktaş, 2019).

Organizmada bulunan karbohidrat, protein, DNA ve lipitlerin, okside olmasını engelleyen bileşenlere antioksidan denilirken, oluşan bu sisteme de antioksidan savunma mekanizması denmektedir.

Antioksidanlar; elektron aktarımı yaptıkları sırada oluşan serbest radikalleri kararlı duruma getirerek, kimyasal reaksiyonların ürettiği radikallerin zincirlerini kırarak veya hızını azaltarak ya da biyolojik moleküllerde oluşan hasarların onarımını yaparak etki gösterirler (Tabatabaei, 2017).

2.4.1. Sınıflandırılması

Canlılardaki antioksidan sistemler, serbest radikalleri engellemeye yöneliktir. Bu sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere 2 gruba ayrılabilirler.

2.4.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

1) Süperoksit dismutaz (SOD); Endojen olacak şekilde üretilen ve organizmayı oluşturan herbir hücre için gerekli bir enzimdir. Süperoksit dismutaz, vücudumuzda beş farklı formda bulunmaktadır. Bunlar; bakır-çinko, nikel, manganez, demir ve bakır SOD'lardır. Bu enzimin rolü süperoksiti hidrojenperoksite dönüştürmektir (Çaylak, 2011). Süperoksitin SOD sayesinde oksijene dönüşüm reaksiyonu Denklem (2.1)'deki gibidir.

$$2\ O_2^{\bullet -} + 2\ H_2^{+} \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2 \qquad (2.1)$$

2) Katalaz (KAT); Aerobik hücrelerde yoğun bir şekilde bulunmaktadır. Katalaz, hidrojen peroksidi glutatyon peroksidaz ile indirgeyerek oksijen ve suya dönüştürür (Çaylak, 2011). Hidrojen peroksitin katalaz sayesinde oksijen ve suya parçalanma reaksiyonu Denklem (2.2)'deki gibidir.

$$2H_2O_2 + \text{Katalaz} \longrightarrow 2H_2O + O_2 \qquad (2.2)$$

3) Glutatyon peroksidaz (GSH-Px); Yapısında selenyum içeren, karaciğerde etkili, eritrositlerde oksidatif strese karşılık etkisinin fazla olduğu bir antioksidandır ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur (Çaylak, 2011). Hidrojen peroksitin glutatyon peroksit sayesinde okside glutatyon ve suya dönüştüğü reaksiyon Denklem (2.3)'deki gibi;

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GP_x} GSSG + 2H_2O \quad (2.3)$$

şeklinde olacaktır.

4) Glutatyon redüktaz (Gred); Glutatyon disülfitin glutatyon redüktazla glutatyona dönüşmesi reaksiyonu Denklem (2.4)'deki gibi;

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{Gred} 2GSH + NADP^+ \quad (2.4)$$

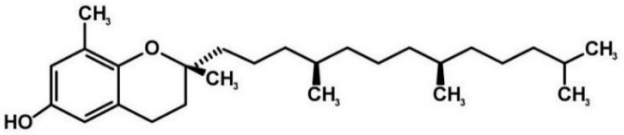
şeklinde olacaktır.

2.4.1.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

Non-enzimatik (Enzimatik olmayan) antioksidanlar; E, C ve A vitamini, lipolik asit, adenozin, lökopen, hemoglobin, metionin, bilirubin, ürat, melatonin, flavonoidler, selenyum, sistein, polifenoller, koenzim Q-10, manganez ve albüminden oluşmaktadır (Sezer,2014).

Vitamin E

Vitamin E sekiz farklı formu (*α*-, *β*-, *γ*-, *δ*-, -tokoferoller ve -tokotrienoller) bulunan ve yağda eriyen bileşiklerin genel ismidir (Şekil 2.9.). α-tokoferol yapısındaki vitamin E; yağda eriyebilen, biyolojik açıdan en aktif antioksidandır. Yapısındaki aktifliği, fenolik hidroksil gruba sahip molekül oluşturur ve bu farklılık sayesinde antioksidan özellik kazanır (Yıldız, 2011).

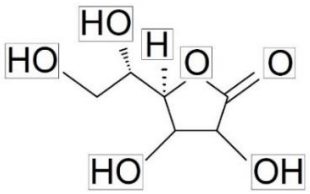


Şekil 2.9. Tokoferol

Doğada yaygın bir şekilde bulunur, hücre membranlarını koruyan ve lipitte çözünen en etkili zincir kırıcı antioksidandır. Özellikle tohum besinlerinde bol miktarda bulunan E vitamini antioksidan özellik göstermektedir. Ayrıca; hücrelerde sinyal iletim mekanizmasındaki bazı basamaklarda hücre çoğalmasına da etki etmektedir. Yapılan birçok araştırma ise kalp hastalığı olma riskini de azalttığını ortaya koyulmuştur (Yıldız, 2011; Sezer, 2014).

Vitamin C

Bünyesinde bulunan karbonil grubu ile L-Askorbik asit, çözünürlüğü fazla olan, indirgen ve asidik özellikler gösteren yükseltgenmeyi önleyen bir maddedir (Şekil 2.10.). Bilinen iyi bir anti-viral ajan olarak kabul edilir. Bu bağlamda bakteri ve enfeksiyonlardan koruyucu etki gösterir. Askorbik asid miktarının düşük olması tüm kronik hastalıklara ve lipid peroksidasyonun arttığı durumlarda ciddi bir rol oynar (Tabakoğlu, 2013).

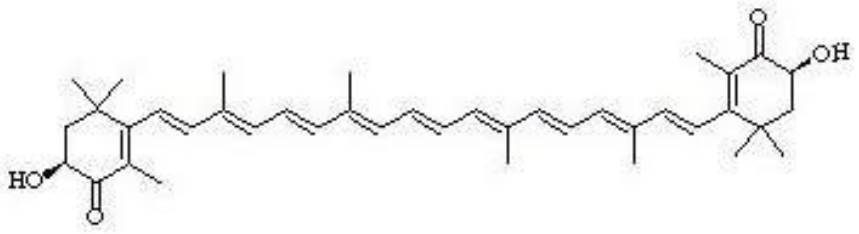


Şekil 2.10. Askorbik asit

Vitamin A

Vitamin A’nın en önemli maddesi karotenoidlerdir (Şekil 2.11.). Bu madde vücutta sentezlenemez ve suda çözünemez bir yapıdadır. Bitkilerde sarı-kırmızı renginde pigmenlere sahiptir. Karotenoidler yağ dokusuna zararı olan peroksitlerin oluşmasını son derece iyi şekilde engelleyerek antioksidan aktivite gösterir. Başta havuç olmak

üzere birçok sebze ve meyvede bulunur (Sezer, 2014).



Şekil 2.11. Karotenoid

2.4.2. Antioksidan Aktivite Yöntemleri

Reaksiyon mekanizmalarına göre antioksidan kapasite tayinleri; Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT) ve tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET) olarak iki ana gruba ayrılabilirler. Hem HAT hem de SET reaksiyon mekanizmalarını içeren üçüncü bir grupdan da söz edilebilir (Büyüktuncel, 2013).

2.4.2.1. Hidrojen Transferine Dayanan Reaksiyonlar

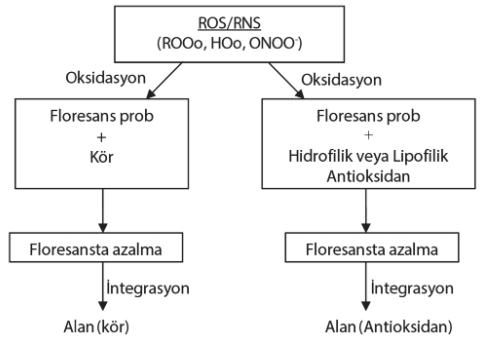
HAT mekanizmasına dayanan tayinlerin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir ve kantitasyon kinetik eğrilerinden yararlanılır. HAT'a dayanan yöntemler genellikle sentetik bir radikal üretici, yükseltgenebilir moleküler bir prob ve bir antioksidan bileşik içerir. ORAC ve TRAP gibi HAT-temelli yöntemlerde peroksil radikali (ROO•) üretmek üzere bir radikal başlatıcı kullanılır. Ortamdaki substrat ve eklenen antioksidan ikisi de radikaller için yarışır ve ROO• bir hidrojen atomunu tercihen antioksidandan alır. Sonuç olarak ROO• ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe olur ya da geciktirilir (Büyüktuncel, 2013).

2.4.2.1.1. Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametre Yöntemi (TRAP)

Bu yöntem, bir azo bileşiğinin bozunması ile kontrollü lipid peroksidasyon reaksiyonu sırasında tüketilen oksijenin ölçülmesi esasına dayanır. Plazmanın oksijen tüketimi ve geciktirme etkisi, bilinen miktardaki troloksun geciktirme etkisi ile karşılaştırılır. Her örnek için 2 saat çalışılması gerektiği için zaman alır. Bu nedenle günlük test edilecek örnek sayısı sınırlı olmaktadır (Küçükçoban,2009; Büyüktuncel, 2013).

2.4.2.1.2. Oksijen Radikal Absorbsiyon Kapasitesi Yöntemi (ORAC)

ORAC, peroksil radikalinin antioksidan inhibisyonunu ölçer. Bu metodda peroksil radikali floresans özellik gösteren bir moleküle yani probla floresans olmayan bir ürün oluşturmak üzere reaksiyona verir (Küçükçoban,2009; Büyüktuncel, 2013). Şekil 2.12'de Oksijen radikal absorbsiyon kapasite yönteminin işleyiş şeması görülmektedir.



Şekil 2.12. ORAC Yönteminin şematik gösterimi

2.4.2.2. Tek Elektron Transferine Dayanan Reaksiyonlar

Spektrofotometrik elektron transfer yöntemler, bir reaksiyonda oksidan ve antioksidan bileşen içerirler. Oksidan olan madde antioksidandan bir elektron alarak, oksidan molekülde bir renk değişikliğine sebep olur. Oluşan renk değişiminin derecesi ise antioksidanın derişimiyle doğru orantılı olarak değişir (Büyüktuncel, 2013).

2.4.2.2.1. Folin-Ciocalteu Yöntemi (FC)

Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), molibdofosfotungstik heteropoliasittir ($3H_2O.P_2O_5.13WO_3.5MoO_3.10\ H_2O$) ve aktif merkezi olarak Mo(VI) varsayılır. Mo(VI)'nın antioksidan sayesinde Mo(V)'e indirgenme reaksiyonu Denklem (2.5)'deki gibi;

$$Mo(VI)(sarı) + e^- \rightarrow Mo(V)(mavi) \qquad (2.5)$$

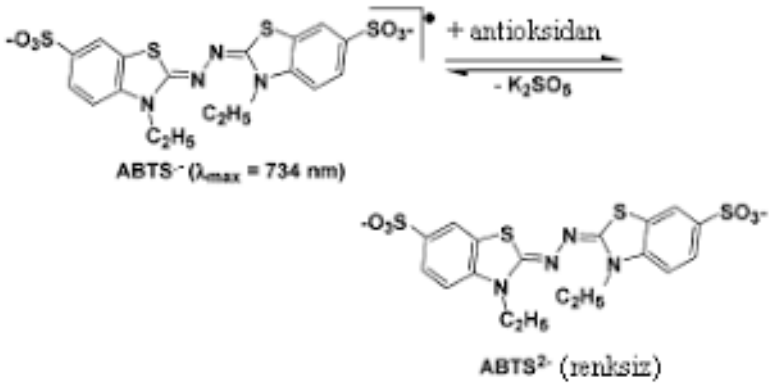
şeklinde olacaktır.

FCR, aromatik aminler, Cu(I), vitamin C gibi fenolik olmayan birçok bileşik tarafından indirgenebileceğinden, bu bileşiklere spesifik değildir. FC yöntemi aslında bir örneğin

indirgeme kapasitesini ölçer. Fenolik bileşikler FCR ile yalnız bazik şartlar altında reaksiyona verirler, bu nedenle de sodyum karbonat çözeltisiyle pH'ı 10 olacak şekilde ayarlanır. Fenolik bir protonun ayrılması, FCR'yi indirgeme yeteneğine sahip bir fenolat anyonun oluşmasına neden olur. Fenolatın FCR ile oluşturduğu mavi bileşik, fenolik bileşiklerin yapısından bağımsızdır. Bu nedenle metal merkez ile fenolik bileşikler arasında bir koordinasyon bileşiği oluşma olasılığı ihma edilir. Mavi renkli kompleks oluşumu 765 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür. Standart olarak ise genelde gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak (mg/L) verilir (Küçükçoban,2009; Büyüktuncel, 2013).

2.4.2.2.2. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (TEAC)

2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'in persülfat ile oksidasyonu ABTS•$^{+}$ radikalini oluşturur (Şekil2.15) ve bu radikalden toplam radikal süpürme kapasitesini ölçmek için yararlanılır. Bu yöntem ile antioksidan bileşikler tarafından ABTS'nin rengini kaybedilmesi esasına dayanır. E Vitamini ile onun suda çözünebilen bir türü olan Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) molekülü karşılaştırılarak, moleküllerin kararlı serbest radikali süpürme yeteneği ölçülür (Küçükçoban,2009; Büyüktuncel, 2013).

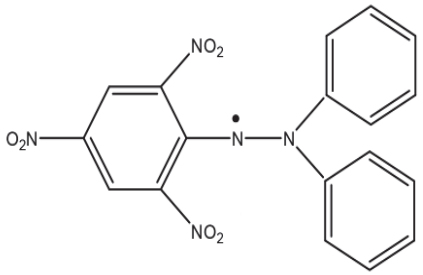


Şekil 2.13. ABTS^{-} radikalinin ABTS^{2-} radikaline indirgenmesi

2.4.2.2.3. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi

DPPH• radikali, kararlı organik azot radikallerinden biridir (Şekil 2.13.). Bu radikal, hidrojenle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Koyu menekşe rengindedir ve UV-Vis

absorpsiyon maksimumu 517 nm'dir. Bu yöntem DPPH radikalinin, bir antioksidan tarafından redoks reaksiyonuna bağlı olarak süpürülmesi esasına dayanır. Hızlı ve basit bir yöntemdir (Küçükçoban,2009; Büyüktuncel, 2013).

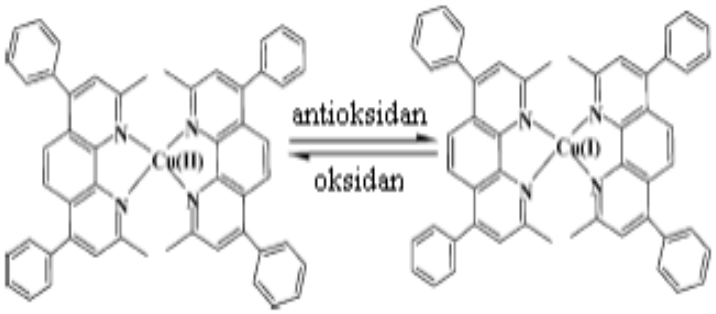


Şekil 2.14. DPPH radikali

Koyu menekşe renginde olan metanolik DPPH çözeltisinin rengi açılır ve absorbanstaki azalma UV-Vis spektrofotometre ile değerlendirilir. Metanolik DPPH çözeltisinde meydana gelen fazla renk açılması, reaksiyon karışımının absorbansındaki düşme, yani yüksek radikal süpürme kapasitesi anlamındadır (Büyüktuncel, 2013).

2.4.2.2.4. Cu(II)' nin Oksidan Olarak Kullanıldığı Toplam Antioksidan Potansiyel Yöntemi (CUPRAC)

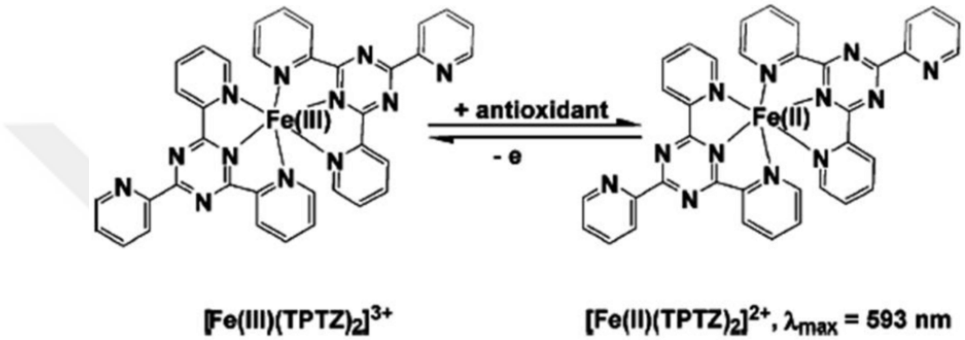
CUPRAC yöntemi, çalışılan numunedeki antioksidanlar yardımıyla Cu(II)'nin Cu(I)'e indirgenmesi esasına dayanır (Şekil 2.16). 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neokuproin veya Nc)'in Cu(II) ile bakır(II)-neokuproini oluşturduğu kompleksin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbans veren bakır(I) neokuproin [Cu(I)-Nc] şelatına indirgenmesinden antioksidan kapasite yeteneği ortaya konmaktadır (Küçükçoban,2009; Büyüktuncel, 2013).



Şekil 2.15. Cu (II) kompleksinin Cu (I) formuna indirgenmesi

2.4.2.2.5. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP)

FRAP yönteminin avantajlarından biri elektron-transfer reaksiyonu olmasıdır. Bu yöntemde Fe(III) tuzu, Fe(III)(TPTZ)2Cl3 (TPTZ=2,4,6-tripiridil s-triazin), oksidan olarak kullanılır. FRAP yöntemi, demirin çözünürlüğünü sağlamak için asidik koşullar altında (pH 3.6) yapılır. Düşük pH'ta, Fe(III)-TPTZ kompleksi, Fe(II) formuna indirgenir (Şekil 2.14). Oluşan kompleks koyu mavi renktedir ve 593 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir (Küçükçoban,2009; Büyüktuncel, 2013).



Şekil 2.16. Fe (III)-TPTZ kompleksinin Fe(II) formuna indirgenmesi

2.5. Antimikrobiyal Aktivite

Bakteriler uygun koşullarda çok hızlı çoğalan mikroorganizmalardır ve yalnızca mikroskop altında gözlemlenebilmektedirler. Bakterilerin üremesinin engellenmesi hatta ölmesi antibakteriyal olarak tanımlanmaktadır, antimikrobiyal ise sadece bakteri değil fungus, virüs, küf gibi maddeleri de engelleyen olarak tanımlanabilir.

Maddelerin antimikrobiyal etkinliklerini belirlemek için antibakteriyel, antiviral ve antifungal aktivite araştırmaları gerçekleştirilmektedir. Virus, fungus ve bakterilerin üremelerini durduran ya da inaktive eden madde konsantrasyonları belirlendikten sonra daha ileri çalışmalara geçilmektedir. Maddelerin antimikrobiyal etkinlikleri, birçok in vitro yöntem kullanılarak belirlenmektedir. Bu yöntemler sayesinde, maddenin antimikrobiyal özelliğinin olup olmadığı ortaya konmaktadır. Yöntemin belirlenmesinde; maddele sayısı, miktarı ve çözünürlüğü yanında, kullanılacak mikroorganizma cinsi, özelliği ve de yoğunluğu önem taşır. Sonuçların güvenilir olması, tekrarlanabilirliği, en kısa sürede ve en ekonomik olan yöntem seçilmelidir

(Abbasoğlu, 1996).

2.5.1. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemleri

Antifungal ile antibakteriyel aktivite yöntemleri aslında genel olarak benzerdir. Sadece kullanılan besiyerleri ve inkubasyon koşullarında farklılıklar vardır. Bu nedenle uygulanan yöntemler;

1) Dilüsyon yöntemi

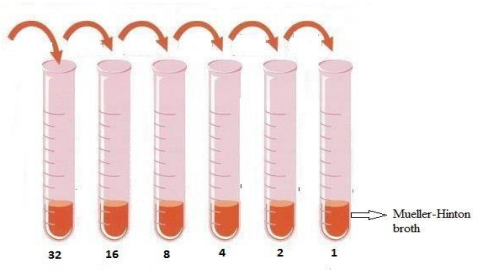
2) Difüzyon yöntemi şeklinde ayrılabilir (Abbasoğlu, 1996, Bektaş, 2011; Turhan, 2015).

2.5.1.1. Dilüsyon Yöntemi

Bu yöntem kantitatif sonuçlar verdiği için, çalışmaların sonuçlarını:

- İnokulum yoğunluğu
- Besiyeri
- İnkübasyon süresi ve sıcaklığı
- Antimikrobiyal maddenin stabilitesi etkileyebilmektedir (Turhan, 2015).

Sıvı ve katı besiyerinde bakterilere karşı antimikrobiyal *in vitro* aktivitesinin ölçümü dilüsyon tekniklerinin temelini oluşturur. Aslında, petrilere katı besiyeri ve bir seri tüpe de sıvı besiyeri konularak gerçekleştirilir. Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan antimikrobiyal madde besiyerlerine ilave edilir. Bir gece, 35^0C'de inkubasyona bırakılır ve hangi konsantrasyon da ne kadar üreme olduğu belirlenir (Abbasoğlu, 1996). Şekil 2.17'de dilüsyon yöntemlerinden sıvı besiyeri görülmektedir.



Şekil 2.17. Dilüsyon yönteminde sıvı besiyeri

Bu metot, broth ve agar dilüsyon yöntemi olarak iki farklı biçimde yapılabilen bir yöntemdir. Broth dilüsyon metodu, mikro- ve makro- dilüsyon olarak iki halde de çalışılabilir. Bu yöntemlerin prensibi benzerdir. Daha az örnekle çalışıldığından mikrodilüsyon yöntemi, makrodilüsyon yöntemine göre daha fazla ekonomiktir. Mikrodilüsyon metodunda kullanılan 96 kuyucuklu plak veya makrodilüsyon metodunda kullanılan steril tüpler ile, hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki antimikrobiyal madde dilüsyonlarının, konsantrasyonu belli olan mikroorganizmaya karşı göstermiş olduğu etki incelenmektedir.

Agar dilüsyon yönteminde ise, farklı çözücüler kullanılarak, daha katılaşmamış ve belli sıcaklıktaki agar içerisinde esansiyel yağların çözündürülmesi ile değişik konsantrasyonları hazırlanarak petri kaplarına dökülür ve agarın katılaşması sonrasında değişik miktarlardaki inokulum (1-100 µL), sürme veya nokta ekim metodları uygulanarak agar yüzeyine ekilm yapılmaktadır (Turhan, 2015; Abbasoğlu, 1996; Bektaş, 2011) (Şekil 2.18.).



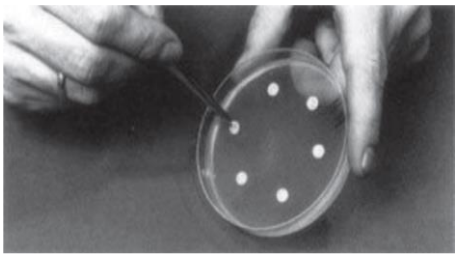
Şekil 2.18. Swab ile bakteri alımı ve bakterinin agar yüzeyine ekilmesi

2.5.1.2. Difüzyon Yöntemi

Bu yöntem, teknik açıdan basit bir metoddur. Ancak metot uygulanırken sonucunu etkileyebilecek aşağıdaki hususlara dikkat edilmesi önemlidir:

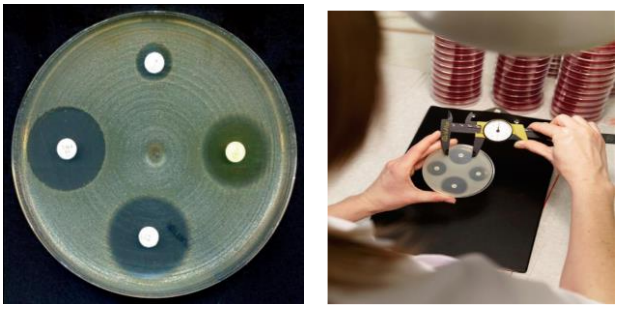
- Saf besiyeri hazırlanmalı.
- Kullanılacak agarın tipi ve konsantrasyonu hatta petri kutusuna döküldüğünde kalınlıkları aynı olmalı.
- Diskler/kuyucuklar mikroorganizma ekimi yapıldıktan sonraki 15 dakika içinde açılmalı/ yerleştirilmeli.

- Standart olarak veya çalışılacak diğer suş maddelerinin sıvı besiyerindeki süspansiyonunun konsantrasyonu/ bulanıklığı standart olmalı.
- Petri kutuları beklemeden hemen inkübe edilmeli (Turhan, 2015).



Şekil 2.19. Agar üzerine disklerin yerleştirilmesi

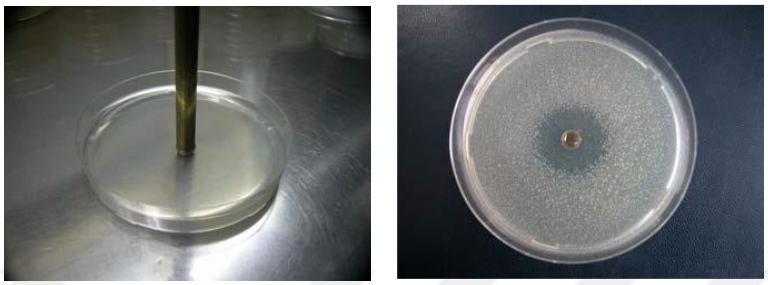
En sık kullanılan yöntemlerden biri disk difüzyon metodudur (Şekil 2.19.). Ucuz ve uygulaması da kolay olan bu metodu Kirby-Bauer geliştirmistir ve bu bilim adamının ismiyle de bilinmektedir. Metodun temeli; antimikrobiyal maddenin, kağıt disklere emdirilerek, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerinde difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu nedenle; agar besiyeri üzerinde, çalışılacak uygun dilüsyondaki mikroorganizmaların kültüründen ekim işlemi yapılır ve agarın bakteri süspansiyonunu emmesi sağlanır. Sonrasında da antimikrobiyal madde emdirilmiş steril olan diskler yerleştirilir. Uygun inkübasyon süresi ve sıcaklık sonucunda oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek ekstraktın çalışılan mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etki gösterip göstermediği değerlendirilmektedir (Abbasoğlu 1996; Bektaş, 2011; Demirpek, 2012; Turhan, 2015) (Şekil 2.20.).



Şekil 2.20. Agar üzerinde oluşan zon ve zon çapının ölçülmesi

Agar kuyucuk difüzyon tekniğinde, içinde test edilecek maddenin konulduğu bir kuyucuk sistemi ile çalışılan organizmanın bulunduğu uygun bir besiyeri yer alır. Bu

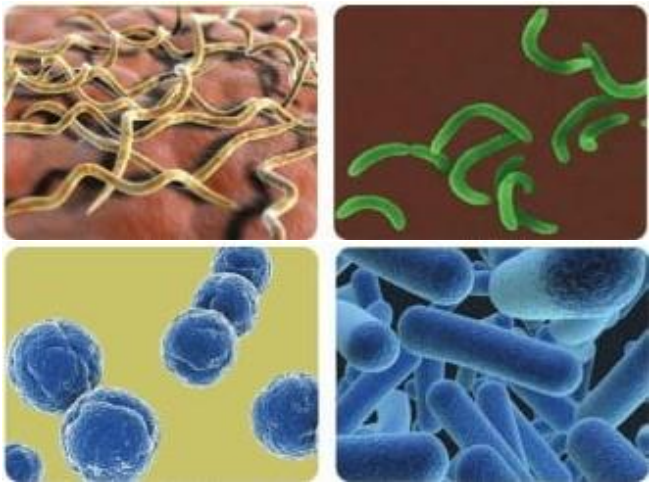
besiyeri üzerine, belirli çapta açılan kuyulara homojen bir şekilde çözülmüş karışım konulur. İnkübasyon süresi sonunda, eğer kullanılan madde etki ettiyse, çukurların etrafında açık biçimde üremenin olmadığını gösteren inhibisyon zonları meydana gelir (Şekil 2.21). Oluşan bu inhibisyon zonlarının çapları ölçülüp kaydedilir ve değerlendirilir (Turhan, 2015; Bektaş,2011; Demirpek, 2012).



Şekil 2.21. Agar üzerine kuyu açma ve engelleme zonu

2.5.2. Bakteriler

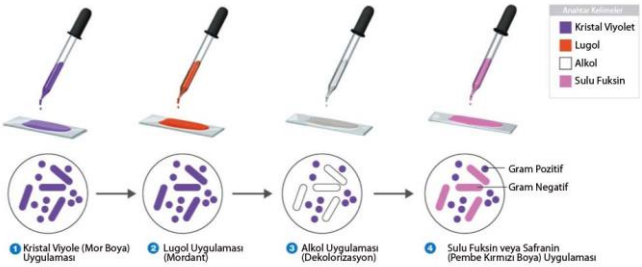
Tek hücreli mikroorganizma grubudur. Birkaç mikrometre uzunluğuna sahip olan bakterilerin çok fazla çeşidi bulunur. Bunlar; spiral, küresel, çubuksu, virgül şeklinde gruplandırılabilir (Şekil 2.22) (Bektaşlı, 2018).



Şekil 2.22. Bakteri örnekleri

Bakterilerin tam ve kesintisiz olarak etrafını saran ve sitoplazmik zarın dışında bulunan ince, esnek bir hücre duvarı bulunur. Bakteri cins ve türlerine göre kalınlığı değişir. Bu kalınlık 10 ile 25 nm arasında değişkenlik gösterir. Hücre duvarı ancak özel boyama

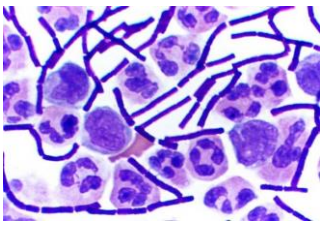
teknikleriyle boyandığında mikroskop altında farklı renkler vererek, elektron mikroskobu yardımıyla gözlenebilir. Hücre duvarının "Gram boyama" metodu ile boyama yapıldıktan sonra göstermiş olduğu renge göre Gram (+) ve Gram (-) bakteriler olarak iki gruba ayrılır. Gram (+) olanlar; gram boyama işlemi sırasında uygulanan kristal viyole boyasını hücre içerisinde tutarak, mikroskop altında mavi-mor bir renk verirler. Gram (-) ler ise; boyama işlemi uygulandığı sırada renk açılmasına maruz kaldıkları için karşıt bir boya olan safranı tutarlar, bu sebeple mikroskop altında pembe bir renk verirler. Boyama sırasında oluşan bu reaksiyonlar, her iki grupta bulunan bakterilerin hücre duvarları arasında temel olarak farklılıkların bulunmasından kaynaklanmaktadır (Bektaşlı, 2018; Arabacı, 2021). Şekil 2.23'da gram boyama tekniğinin aşamaları görülmektedir.



Şekil 2.23. Gram Boyama tekniğinin aşamaları

2.5.2.1. Gram Pozitif Bakteriler

Besiyeri analizinde gram boyama yöntemi uygulanarak, mikroskobik inceleme neticesinde mor veya mavi-siyah bir renk alan bakteri türleridir. Bu rengi almalarının nedeni Gram (+) bakterilerin hücre çeperlerinde iyot karışımı ve ultraviyole içermesidir. Hücre duvarları kalındır ve bu bakteriler parlak bir renk verirler. Gram (+) bakterilerin, gram sınıflandırma sistemi hücre duvarı arasında olan yapı farklılıklarına göredir (Çakır, 2018). Şekil 2.24'de gram pozitif bakterilerin yapısı görülmektedir.



Şekil 2.24. Gram (+) bakteri

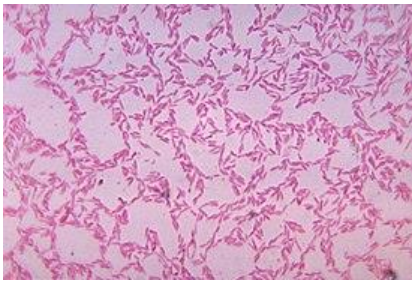
Gram (+) Bakteriler, tek halkalı flagel yapı, sitoplazmik zar (çeper ya da membran), polisakkarit kapsül, kalın hücre duvarı, teikoik veya lipoteikoik asit içeren karakteristik özelliklere sahiptirler (Çakır, 2018; Arabacı, 2021). Gram pozitif bakteri örnekleri Tablo 2.3'de listelenmiştir.

Tablo 2.3. Gram(+) bakterilerine örnekler

Koklar	**Basiller**
Staphylococcus	*Bacillus*
Steptococcus	*Clostridium*
Peptostreptococcus	*Rhodococcus*
Lactococcus	*Antinomyces*
Enterococcus	*Nocardia*
Peptostreptococcus	*Lactobacillus*
	Mycobacterium
	Corynebacterium

2.5.2.2. Gram Negatif Bakteriler

Bu bakteriler, gram boyama esnasında kristal viyole boyayı bünyelerinde barındırmayan özellikteki bakterilerdir (Tablo 2.4). Gram boyama uygulamasında; kristal viyole boyanın ardından karşı renkli bir boya eklenmekte ve bu sayede kırmızı-pembe rengine boyanmaktadır. Genellikle gram (-) bakteriler patojendir. Bu nedenle insanlarda hastalık yapma özellikleri yüksektir. Bu patojen özellik, gram (-) bakterilerin hücre duvarında bulunan değişiklikten yani lipopolisakkaritlerden kaynaklanmaktadır (Çakır, 2018). Şekil 2.25'de gram negatif bakterilerin yapısı görülmektedir.



Şekil 2.25. Gram (-) bakteri

Gram (-) bakterilerin hücre duvarlarında, gram (+) bakterilerle kıyaslandığında daha

ince bir peptidoglikan tabaka bulunur. Bu tabakanın dışında ‘’Lipopolisakkarit’’ zar mevcuttur. Hücre dış zarında ise belirli molekülleri geçiren ‘’Porinler’’ bulunurken, dış zarla peptidoglikan tabakası arasında ‘’periplazmik boşluk’’ gözlenmektedir. Yapılarında, teikoik asit veya lipoteikoik asit bulunmaz (Çakır, 2018; Arabacı, 2021).

Tablo 2.4. Gram (-) bakterilerine örnekler

Koklar	**Basiller**
Moraxella	*Escherichia, Citrobacter*
Neisseria	*Proteus, Providencia*
	Klepsiella, Enterobacter
	Salmonella, Shigella
	Aeromonas, Pseudomonas
	Acinotobacter (Değişken)
	Brucella
	Stenotrophomonas
	Legionella
	Vibrio

2.6. Literatür Özeti

İnsan sağlığına faydalı birçok sebze, meyve ve tıbbı bitki bulunur. Bunların belli oranlarda tüketilmesi sağlığımızın devamlılığı yani biyosistemimiz için gereklidir. Biyosistemimize etki gösteren bir diğer gıda maddesi ise arı ürünleridir. Başta bal olmak üzere propolis, polen ve arı sütü gibi gıda takviye ürünlerini kullanmak sağlığımız için oldukça önemlidir. Yapılan çalışma arı poleninin biyoaktifliği üzerinedir. Literatürde arı poleninin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan araştırmalar aşağıda sunulmuştur.

Zohra Mohammedi (2021) çalışmasında çeşitli bal, propolis ve arı polenleri kullanmıştır. Örnekleri metanol ile ekstrakte etmiş ve örneklerin toplam fenolik, toplam flavonoid içeriğini ve hidrojen peroksite karşı radikal süpürücü aktivitesini gözlemlemiştir. Çalışma sonucunda; bal çeşitlerinden, propolisten ve arı poleninden elde edilen ekstraktların fenolik ve flovonoid bileşik içerdiği ve hidrojen peroksite karşı antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca propolisteki fenolik ve flavonoid miktarının arı poleninden daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Paria ve arkadaşları (2021), Türkiye'nin farklı coğrafiye sahip bölgelerinden topladıkları 81 arı poleni örneği ile çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada arı poleninde bulunan toplam fenolik içeriği gram başına gallik asit eşdeğeri (mgGAE/ gr) ve toplam flavonoid analizi ise gram başına quercetin (mgQE/ gr) konsantrasyonlarına göre spektrofotometrik bir yöntemle belirlemişlerdir. Antioksidan aktiviteyi belirlemek için DPPH metodunu uygulamışlardır. Çalışma sonucunda, arı polenininin toplan fenolik madde ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca diğer ülkelerdeki polenlerle Türkiye'deki polenler arasındaki farkı; toprak, mevsim, bitki kaynağı, depolama ve ekstarksiyon yöntemlerinin sağladığını saptamışlardır.

Vilma Kaskoniene ve ark. (2020), doğal ve fermente arı polenlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, agar difüzyon ve DPPH yöntemlerini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda, fermente edilen arı poleninin fermente edilmeyen arı polenine göre antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinde artış olduğunu göstermişlerdir.

Jia ve ark. (2020), arı poleninin antioksidan ve anti-tirozinaz aktivitelerini belirlemek için polenin dört farklı fraksiyonunu (petrol eter, etil asetat, n-butanol ve su fraksiyonları) hazırlamışlardır. Çalışmada antioksidan aktivite için toplam fenolik, DPPH, ABTS ve demir indirgeme metotlarını uygularken ayrıca anti-tirozinaz tahlilini de yapmışlardır. Çalışma sonucunda farklı fraksiyonlara sahip arı polenlerinin hepsinde antioksidan ve anti-tirozinaz aktivite gözlemlemişlerdir. En iyi aktiviteye sahip olan arı poleninin ise Kamelya arı poleninin etil asetat fraksiyonu olduğunu ortaya koymuşlardır.

Vanilda ve arkadaşları (2020), Brezilyanın 8 eyaleti ve federal bölgeden 2009-2012 yılları arasında 62 adet arı poleni örneğini toplayarak kurutmuşlardır. Arı poleninin biyolojik özelliklerini ve kalitesini belirlemek için çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Antioksidan özelliğini belirlemek için; toplam flavonoid, FC metodu, ORAC, DPPH ve *β*-karoten analizleri (antioksidan özelliği) uygulanmıştır. Ayrıca antimikrobiyal aktivitesini *Escherichia coli* (ESA37), *Staphylococcus epidermides* (ESA7) ve *Candida albicans* (ESA109) mikroorganizmalarını kullanarak belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda; arı poleninin fenolik bileşikler taşıdığı ve antioksidan aktiviteye sahip

olduğu kanıtlanırken, ciddi anlamda da antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Gülşah ve ark. (2018), Romanya'dan yedi farklı arı poleni örneğini toplayarak yaptıkları çalışmada, arı poleninin bazı fizikokimyasal özelliklerini, fenolik içeriğini ve antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. Kimyasal parametreler için kül, nem, protein ve lipit analizlerini HPLC-UV cihazıyla belirlemişlerdir. Antioksidan aktivitesini belirlemek için ise FRAP ve DPPH metotları ile toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, arı poleninin antioksidan içeriklere sahip olduğunu, bunlarında polenin botanik orjinine bağlı olarak değiştiğini gözlemlemişlerdir.

Haluk Özparlak ve arkadaşları (2017), Konya Ereğli bölgesinden topladıkları arı polenlerinin antioksidan aktivitesini ve enzim inhibitör potansiyelini belirlemek için yaptıkları çalışmada; Folin-Ciocalteu yöntemini ve radikal süpürme yöntemini kullanmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda da arı poleninin antioksidan aktivite ve enzim inhibitör açısından sağlığa yararlı olduğundan bahsetmişlerdir.

Ayşe Kırkbeş (2014), arı poleninin antioksidan özelliğinin, alabalık kas ve solungaçlarındaki biyokimyasal değişikliği belirlemek için analizler yapmıştır. Çalışma sonucunda, polen ekstraktının alabalık dokularında biyokimyasal özellik üzerine etkisinin olmadığını göstermiştir.

Amany A. Tohamy ve ark. (2014), erkek albino farelerin organlarındaki oksidan/antioksidan durumunu değerlendirdikleri çalışmalarında, antioksidan kapasite testi yapmışlardır. Çalışma sonunda, arı poleni ve propolis verilen farelerde, verilmeyen farelere oranla olumlu sonuçlar olduğunu gözlemlemişlerdir.

Miriam ve ark. (2014), çalışmalarında, arı poleni örneklerini 2012 yılında Slovakya'daki arıcılardan doğrudan alıp, hemen -18°C'de dondurmuşlardır. Farklı bitkisel kökenli Haşhaş, kolza ve ayçiçeği arı polenini analiz etmişlerdir. Bu arı polenlerini malt içeceklerin hazırlanmasında kullanmışlardır. Arı poleni türleri ile zenginleştirilmiş malt içeceklerinin antioksidan aktivitesi, toplam flavonoid ve fenol içeriği incelenmiştir. Bu bağlamda antioksidan aktiviteyi belirlemek için Folin- Ciocalteu metodu ve DPPH metodunu uygulamışlardır. Çalışma sonucunda, arı poleni ile zenginleştirilmiş malt

içeceklerinin, saf şıraya oranla daha yüksek bir oranda fenolik ve flavonoid madde ihtiva ettiği ve aynı zamanda da antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Miroslava Kacaniova ve arkadaşları (2014), arı poleninin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için agar disk difüzyon yöntemini kullanmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda da *Clostridium* bakteri cinsine karşı arı poleninin antimikrobiyal aktivite geliştirdiğini saptamışlardır.

Rodica Margaoan ve ark (2013), Transilvanya'dan alınan taze arı poleninin; toplam polifenoller, toplam flavonoidler ve antioksidan aktivitesini belirlemek üzerine çalışmalar yapmışlardır. Bunun için Folin-Ciocalteu spektrofotometrik, DPPH ve FRAP yöntemlerini uygulamışlar. Çalışma sonunda, çalışılan polen örneklerinde DPPH ve FRAP analizlarine göre; toplam fenolik ve flavonoid içeriği ve aynı zamanda antioksidan aktivitesinde değişiklik gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Miroslava Kacaniova ve arkadaşları (2012), propolis, arı poleni ve balmumu örneklerinin farklı patojenik bakteri, maya ve mantar suşlarına karşı olan antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Farklı bakteriler kullanılarak yaptıkları çalışmada, agar plaklarına örneklerin ekstraksiyonu yayılarak antimikrobiyal etkisini gözlemlemişlerdir. Sonucunda arı ürünlerinin mantar, maya ve bakteri üzerinde antibakteriyal ve antifungal özelliklere sahip olduklarını göstermişlerdir.

Çalışmamızda da; Bursa yöresindeki arı polenlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenerek, insan sağlığına faydalı takviye gıda olarak kullanılabileceği öngörülmüştür. Ayrıca ilaç, kozmetik gibi alanlarda etken madde olarak kullanılabileceği amaçlanmaktadır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

- Folin-Ciocalteu çözeltisi (Sigma)
- Na_2CO_3 (Sodyum karbonat)
- Etanol
- Hekzan
- DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma)
- Gallik asit
- Metanol
- Müeller Hinton Broth
- Agar agar
- DMSO (Dimetil sülfoksit) (Merck)
- $FeCl_2$
- $FeCl_3$
- $K_3Fe(CN)_6$
- DMF
- BHA
- Trikloroasetik asit (TCA)

3.2. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

- UV-GB spektrofotometresi (Optizen Pop)
- Hassas terazi (Sartorius)
- Otomatik pipet (Eppendorf)
- Petri kabı
- Etüv
- Manyetik Karıştırıcı (Vortex-Genine)
- Otoklav (NB- 1045)
- Santrifüj (Nüve)
- pH metre
- Laboratuvar araç ve gereçleri

- Swab

3.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. DPPH Tayininde Kullanılan Çözeltiler

10^{-5} M DPPH çözeltisi hazırlamak için, 5 mg DPPH metanolde çözüldükten sonra 100 ml'ye tamamlandı ve karanlıkta bekletildi.

3.3.2. Toplam Fenolik Madde Tayininde Kullanılan Çözeltiler

%10'luk Na_2CO_3 çözeltisi: 10 g Na_2CO_3 tartıldı ve balon joje içerisinde bir miktar saf su kullanılarak çözülür, 100ml'ye tamamlandı.

Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR): Satın alındığı halde tüketildi.

3.3.3. FRAP Tayininde Kullanılan Çözeltiler

%1'lik $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisi: 1 g $K_3Fe(CN)_6.3H_2O$ tartıldı ve balon joje içerisinde bir miktar saf su kullanılarak çözüldü, 100ml'ye tamamlandı.

%0,1'lik $FeCl_3$ çözeltisi: 0,1g $FeCl_3.6H_2O$ tartıldı ve balon joje içerisinde bir miktar saf su kullanılarak çözüldü, 100ml'ye tamamlandı.

%10'luk TCA çözeltisi: 10 g TCA tartıldı ve balon joje içerisinde bir miktar saf su kullanılarak çözüldü, 100ml'ye tamamlandı.

200mM fosfat tamponu (pH 6.6): 2,84 g NaH_2PO_4 tartıldı ve bir miktar saf su kullanılarak çözüldü, pH değeri 6.6'ya ayarlandı. Sonrasında da toplam hacim 100ml'ye tamamlandı.

3.4. Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması

3.4.1. Sıvı Besiyeri Hazırlanması

10.5 g Müller-Hilton agarı 500ml saf suda çözülerek çözelti hazırlandı. Sterilize etmek için 121ºC' de 1 atm basınç altında otoklavlandı. Sonrasında bakteriyel suşlar bu besiyerinde 37ºC'de 1 gece inkübe edilerek canlandırıldı.

3.4.2. Katı Besiyeri Hazırlanması

34 g Müller-Hilton agarı 1L saf suda çözerek çözelti hazırlandı. Sterilize etmek için 121^{o}C' de 1 atm basınç altında otoklavlandı. Çözelti soğuduktan sonra 90 mm çapındaki petri kaplarına 20 ml çözelti dökülerek donması beklendi.

3.4.3. Suşların Ayarlanması

Canlandırılan suşlar UV spektrofotometre kullanılarak 0.5 McFarland'a göre ayarlandı.

3.5. Kullanılan Mikroorganizmalar

Bacillus subtilis (ATCC 6051), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25213), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (SBT8), *Bacillus subtilis* (ATCC 6033).

3.6. Metot

3.6.1. Polen Ekstraktının Hazırlanması

2 g arı poleni 50 ml etanol ile karıştırıldı ve iki saat çalkalayıcıya bırakıldı. Sonrasında iki kez süzülerek santrifüj edildi ve vakumlu evaporatörde buharlaştırıldı. Deneyler yapılana kadar elde edilen kurutulmuş ekstrakt +4°C'de muhafaza edildi.

3.6.2. Antioksidan Aktivite

3.6.2.1. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikali Süpürme Kapasitesi

DPPH radikali süpürme kapasitesi yöntemi Brand-Williams ve ark. (1995)'e göre yapıldı. Antioksidan madde olarak incelenecek polen çözeltisinden değişik konsantrasyonlarda (10, 20, 30, 40, 50 mg/mL) etanol çözeltileri hazırlandı. Her bir örnek çözeltiden sırasıyla 1 ml alındı ve üzerine 3 ml DPPH solüsyonu ile karıştırıldı. Kontrol olarak ise, 1 ml etanol ve 3 ml DPPH çözeltisi eklenerek hazırlandı. Standart olarak ise Trolox kullanıldı. Örnekler vortekslenip 1 saat boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. Sonrasında 517 nm'de absorbans değerleri UV-Vis cihazıyla ölçüldü. Deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi ve % inhibisyon aşağıdaki formül ile hesaplandı;

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_k - A_{ö} / A_k) \times 100 \quad (3.1)$$

A_k = Kontrolün absorbansı, $A_{ö}$ = Örneğin absorbansı

3.6.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini (Folin-Ciocalteu Yöntemi)

Toplam fenolik içerik tayininde, Singleton ve ark.'nın (1999) metodu uygulandı ve Folin-Ciocalteu reaktifi kullanıldı. 1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ve farklı konsantrasyonlardaki her bir ekstraktan 1'er ml eklenerek 5 dk karıştırıldı. Ardından 1 ml Na_2CO_3 ve 10 ml saf su ilave edilerek oda sıcaklığında 1,5 saat inkübe edildi. Numune absorbansları 760 nm'de UV-Vis spektrofotometre cihazıyla ölçüldü. Standart olarak gallik asidin 50-600 mg/L aralığında kalibrasyon eğrisi oluşturularak sonuçlar köre karşı kaydedildi. Deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi.

3.6.2.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP)

Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan aktivite yöntemi Oyaizu (1986) metoduna göre yapıldı. FRAP yönteminde farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerden 1'er ml alınarak 2,5 ml 200 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6.6) ve %1'lik 2,5ml potasyum ferrisiyanür eklendi. Son karışım 50 ^{0}C'de 20 dakika inkübe edildi. Ardından 2,5ml %10'luk trikloroasetik asit çözeltisi eklendi. 3000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Üst fazdan 2,5ml alındı ve 2,5ml saf su ile 0,5ml %0,1'lik demir (III) klorür eklendi. Elde edilen çözeltinin UV-Vis spektrofotometre cihazı ile 700 nm'deki absorbansı ölçüldü. Bu yöntemde standart olarak BHA kullanıldı.

3.6.3. Antimikrobiyal Aktivite

Yapılan bu çalışma da gram (+) olarak *Bacillus subtilis* (ATCC 6051), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (SBT8), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), gram (-) olarak da *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakteriyel suşları kullanıldı.

3.6.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Bakteriyel kültürler, bir gece boyunca Müller-Hilton Besiyerinde 37° C'de inkübe edildi. Steril tüplere 5mL saf su ve inkübe edilmiş mikroorganizmalar eklendi. Spektrofotometrik olarak 0.5 McFarland standartlarına (1.5 x 108 CFU/ml bakteri)

ayarlandı. Uygulamada tüplerden alınan kültürler petri kabı içerisinde bulunan Müller-Hilton besiyeri üzerine steril swab kullanılarak inoküle edildi. Polen ekstraktı ise 4 farklı konsantrasyona ayarlandı (5, 10, 15 ve 20 mg/mL). Diskler 20 µL hazırlanan çözeltilerle emdirildi ve ekim yapılmış katı besiyeri üzerine yerleştirildi. Boş diskler ise negatif kontrol amacıyla etanol (her bir boş disk için 20 µL) ile yüklendi. Ceftriakson (30 µg / disk), pozitif referans standartı olarak kullanıldı. Sonrasında da, ekim yapılan petri kapları inkübatörde 37°C' de 24 saat inkübe edildi. Antimikrobiyal aktivite, oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek değerlendirildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Arı Poleninin Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi

4.1.1. DPPH Radikal Süpürme Kapasitesi Tayini

DPPH• radikali koyu menekşe renginde oldukça kararlı organik bir bileşiktir. Yalnızca organik ortamda çözülebilir. Bu bir dezavantaj olsa da kolay ve hızlı yapılan bir yöntem olduğu için avantaj sağlamaktadır. Yapmış olduğumuz bu metot DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından süpürülmesi ve absorbansta azalma esasına dayanır. Kullanmış olduğumuz antioksidan madde polen ekstraktıdır. Polen ekstraktı ne kadar iyi süpürme kapasitesine sahip olursa, DPPH çözeltisinin rengi de daha fazla açılır ve absorbans değeri daha fazla düşer.

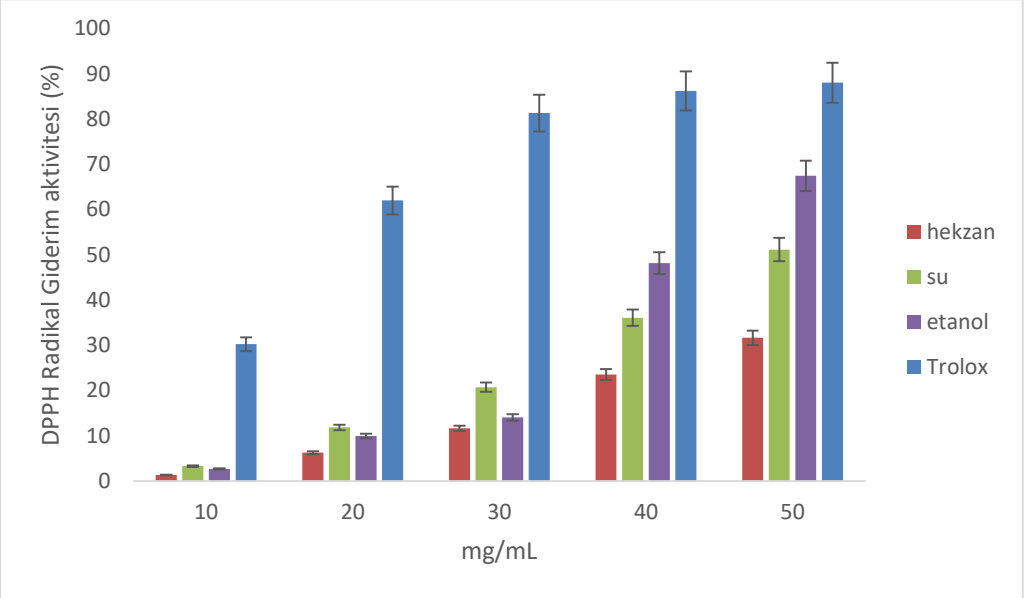
Çalışmamızda 10, 20, 30, 40, 50 mg/mL konsantrasyonlardaki polen ekstraktlarının % giderim aktiviteleri hesaplanmış ve grafiklerin çizimi de bu sonuçlara göre yapılmıştır. Denemelerde standart olarak Troloks kullanılmıştır. Polen ekstraktlarının % DPPH radikal süpürme aktivitesi sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Polen ekstraktlarının % DPPH radikal süpürme aktivitelsi verileri

Konsantrasyon (mg/mL)	**10**	**20**	**30**	**40**	**50**
Trolox	30,24	62	81,34	86,25	88,04
Hekzan ekstraktı	1,35	6,26	11,65	23,54	31,65
Su ekstraktı	3,27	11,84	20,72	36,09	51,17
Etanol ekstraktı	2,65	9,93	14,06	48,13	67,45

Yapılan çalışma sonucunda konsantrasyon arttıkça standart çözeltiye en yakın değeri etanol ekstraktı vermiştir. Konsantrasyon azaldıkça ise standart çözeltiye en yakın

değeri su ekstraktının verdiği görülmektedir. Hekzan ekstraktı ise standart çözeltiye en uzak değerleri vermiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. DPPH Radikal Giderim Aktivitesi (%)

Elde edilen bilgilere göre; en yüksek veriyi etanol ektraktı 50 mg/mL konsantrasyonda 67,45 (%) giderim değeri ile verirken, en düşük değeri ise 10 mg/mL konsantrasyonda 1,35 (%) giderim değeri ile hekzan ekstraktı göstermiştir. Yüksek konsanrasyonlar da (40-50 mg/mL) sıralama Trolox>Etanol>Su>Hekzan şeklinde olurken, konsantrasyon azaldıkça sıralama da değişmiş ve Trolox>Su>Etanol>Hekzan şeklinde sıralanmıştır.

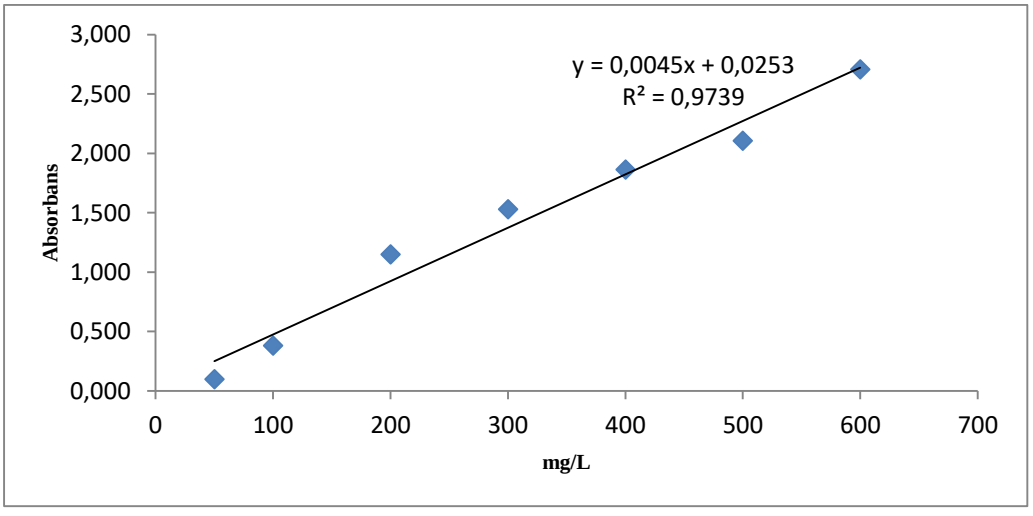
Pascoal ve ark. (2014), çalışmalarında piyasadan aldıkları sekiz arı poleni ile çalışmışlar ve DPPH metodu ile belirledikleri antioksidan aktivite verilerinin 6,69–2,98 mg/mL ekstrakt arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, Margaoan ve ark.'nın (2013) Transilvanya'daki bal arılarının topladığı polenin toplam fenolik ve antioksidan aktivitesini incelediği çalışmada; polen örneklerini renklerine göre 6 gruba ayırmış ve antioksidan kapasitelerini 1,65–0,38 mmol TROLOX/g değerleri arasında bulmuşlardır. Bir başka çalışmada; Özparlak ve ark (2017), Konya Ereğli bölgesinden topladıkları arı polleninin etanol ekstraktının antioksidan aktivitesi için, ABTS ve DPPH radikal süpürme aktivitesi yöntemlerini uygulamışlardır. Aktiviteler troloksa eşdeğer hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda ABTS ve DPPH yöntemleri için sırasıyla 34,77 mg TE/g ve 19,64 mg TE/g verilerini elde etmişlerdir.

Gülşah Aydın'ın 2016 yılında yapmış olduğu bir çalışmada; farklı kurutma yöntemleri kullanılarak farklı çözücülerle hazırlanan arı poleni ekstraktlarının en yüksek değerleri; metanol, etanol, aseton ve su ekstraktları için sırasıyla 8,28 mg/mL, 2,76 mg/mL, 7,79 mg/mL ve 10,30 mg/mL olarak bulunmuştur. Saral ve arkadaşları (2019), Türkiye'deki farklı arı ırklarına ait arı ürünlerinin antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. Bal arısı ırkına göre 4 gruba ayırdıkları örneklerin bal, polen ve propolis karşılaştırmasını yapmışlardır. Polen grubunda en yüksek değeri 1,53 mg/mL, en düşük değeri ise 0,47 mg/mL olarak bulmuşlardır. Yeşiltaş ve arkadaşlarının 2012'deki bir çalışmasında ise, İstanbul'dan toplanan polen örneklerinin antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. Çalışmada DPPH yöntemi uygulanmış ve örnekler için 9,40 mg TEAC/g – 4,40 mg TEAC/g değerleri arasında veriler bulunmuştur.

Yapmış olduğumuz bu yöntem ile literatürdeki çalışmalarda elde edilen sonuçların daha üzerinde veriler elde edilmiştir. Bu açıdan çalışmamızın literatüre uygun sonuçlar gösterdiğini söyleyebiliriz.

4.1.2. Toplam Fenolik Madde Tayini

Folin-Ciocalteu reaktifi molibdofosfotungstik heteropoliasittir. Aktif merkezi Mo(VI) varsayılmaktadır. Bu reaktif, fenolik olmayan birçok bileşik tarafından indirgendiği için fenolik bileşiklere karşı spesifik değildir. Bu nedenle toplam fenolik içeriği belirlediğimiz Folin-Ciacalteu yöntemi bazik koşullarda gerçekleştirilmiş ve standart olarak ise Gallik asit kullanılmıştır (Şekil 4.2).



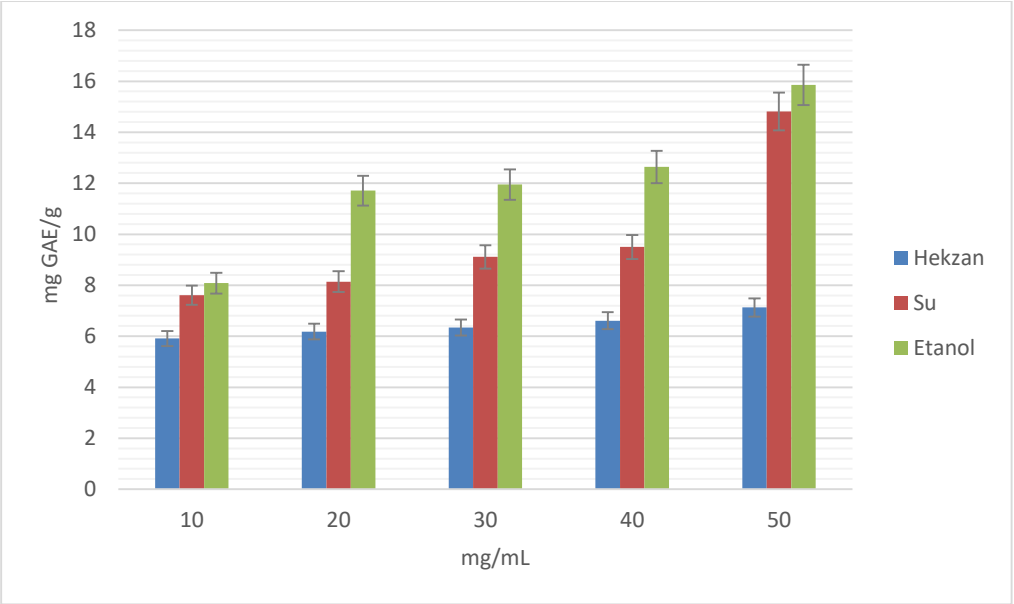
Şekil 4.2. Gallik asit standard grafiği

Yapılan bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 30, 40, 50 mg/mL) hazırlanan polen ekstraktları karşılaştırılmıştır. Elde edilen toplam fenolik değerler ise Tablo 4.2 de yer almaktadır.

Tablo 4.2. Toplam fenolik içerik verileri (mg GAE/g)

Konsantrasyon (mg/mL)	**10**	**20**	**30**	**40**	**50**
Etanol ekstraktı	8,08	11,71	11,95	12,64	15,86
Su ekstraktı	7,61	8,14	9,11	9,50	14,81
Hekzan ekstraktı	5,91	6,18	6,34	6,61	7,13

Çalışma sonucunda her ekstrakt grubu konsantrasyona bağlı olarak verilerinde artış göstermiştir (Şekil 4.2). Farklı ekstraktlar arasında en yüksek değere etanol ekstraktı (15,86 mg GAE/g), en düşük değere ise (5,91 mg GAE/g) hekzan ekstraktının sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.3. Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g)

Hekzan ekstraktı konsantrayona bağlı olarak ciddi bir artış göstermezken, etanol ekstraktında bu artış görülmektedir. Su ekstraktında ise 50 mg/mL konsantrasyonuna geldiğinde ciddi bir artış (14,81 mg GAE/g) gözlemlenmiştir. Toplam fenolik madde içeriği açısından etanol > su > hekzan sıralaması yapılabilir.

Yıldız (2011), 4 farklı ilden alınan kestane polenlerini incelemiş ve toplam fenolik içerik madde miktarını 28,87 mg GAE/g – 13,68 mgGAE/g değerleri arasında bulmuştur. Rebiai ve ark. (2012) Cezayir'den aldıkları arı polenlerini hasat tarihi ve coğrafi kökenine göre 5 gruba ayırarak antioksidan tayini yapmışlardır. Folin-Ciacalteu yöntemiyle buldukları toplam fenolik içeriğini en yüksek 36,02 mg GAE/g, en düşük ise 26,69 mg GAE/g olarak saptamışlardır. Saral ve arkadaşları (2019), Türkiye'deki farklı arı ırklarına ait arı ürünlerinin antioksidan aktivitesini değerlendirdikleri çalışmada, 4 gruba ayırdıkları polenlerin karşılaştırmasını yapmışlardır. Çalışma sonucunda polenlerin en yüksek 1258 mg GAE/100 g değeri ile en düşük 41 mg GAE/100 g değerinde total fenolik içeriğine sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Margaoan ve ark.'nın 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada, Transilvanya'dan bal arılarının topladığı polen örneklerini renklerine göre 6 gruba ayırmış ve buna göre fenolik içerik belirlemişlerdir. Bu doğrultuda en yüksek ve en düşük değerler sırasıyla 8,87 mgGAE/g ve 3,76 mgGAE/g olarak bulunmuştur. Aydın (2016), yapmış olduğu çalışmada; farklı kurutma yöntemleri kullanarak farklı çözücülerle hazırladığı arı poleni ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarını belirlemiştir. Standart olarak gallik asit kullandıkları çalışmalarında, metanol için 7,21mg/g; etanol için 2,36; aseton için 3,16; su için 2,65 mg/mL değerlerini bulmuşlardır. 2017 yılında Uçar ve ark., arı poleninin su ve DMSO ekstraksiyonu ile bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Toplam fenolik içeriği; su ekstraktı için 5.29 mg GAE/g, DMSO ekstraktı için ise 18.86 mg GAE/g olarak saptamışlardır.

Karkar ve arkadaşları (2018) çalışmalarında, kestane arı poleninin antioksidan etkisi ve fenolik bileşiklerini farklı ekstraklar hazırlayarak belirlemişlerdir. Ekstraklarda etanol, su ve metanol çözücülerini kullanmışlardır. Toplam fenolik içeriği en yüksek olan 43,48mg GAE/g ile etanol bileşiğidir. Bunu sırayla su ekstraktı (28,45mg GAE/g), etanol-metanol ekstraktı (13,91 mg GAE/g) ve su-etanol ekstraktı (4,12 mg GAE/g) izlemiştir. Ayrıca Özparlak ve ark (2017), Konya Ereğli bölgesinden toplanan arı

polenin etanol ekstraktının antioksidan aktivitesini belirlemişlerdir. Folin-Ciacalteu yöntemiyle toplam fenolik içerik değerini ise15,90 mg GAE/g olarak bulmuşlardır.

Yapmış olduğumuz çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda literatürle karşılaştıracak olursak; verilerimizin (15,86 - 5,91 mg GAE/g) literatürdeki verilerle uyumlu olduğu değerlendirilmiştir. Karkar ve ark'larının sonuçlarının (43,48 mg GAE/g) yüksek olmasının nedeninin ise, kestane arı poleni olduğu bilinmektedir.

4.1.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi

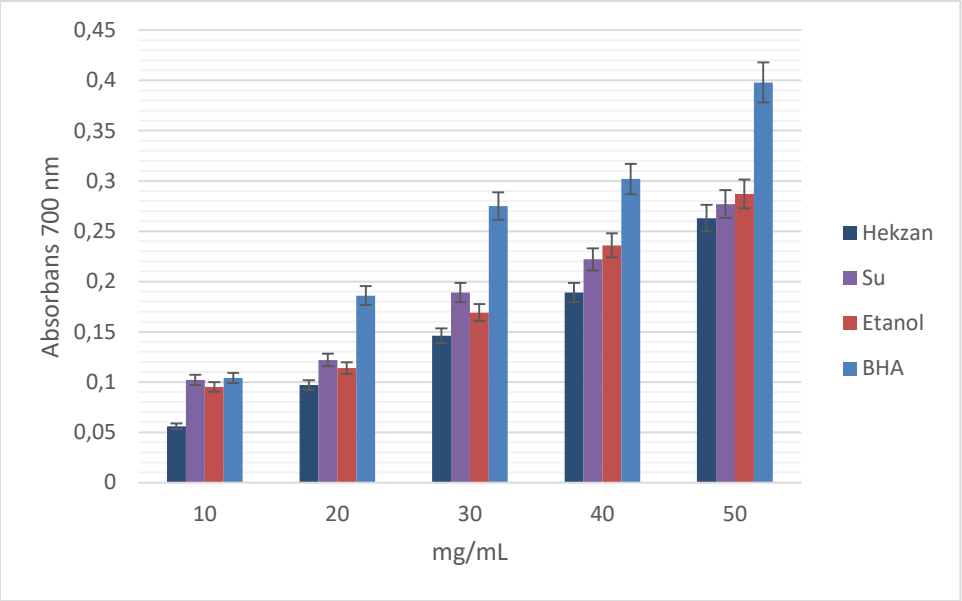
FRAP yönteminde, Fe(III) tuzu oksidan olarak kulanılmaktadır. Demir çözünürlüğünü sağlamak için de reaksiyon asidik ortamlarda gerçekleştirilmelidir. Fe(III)-TPTZ kompleksi, düşük pH değerinde Fe(II) formuna indirgenerek antioksidan kapasite ölçülür.

Çalıştığımız bu yöntemde standart olarak BHA kullanılmıştır. Polen ekstrakt konsantrasyonları 10, 20, 30, 40 ve 50 mg/mL şeklinde ayarlanmıştır. Polen ekstraktlarının Demir (III) iyonu indirgeme güçleri Tablo 4.3' de görülmektedir.

Tablo 4.3. Polen ekstraktlarının demir (III) iyonu indirgeme güçleri

Konsantrasyon (mg/mL)	**10**	**20**	**30**	**40**	**50**
BHA	0,104	0,186	0,275	0,302	0,398
Su Ekstraktı	0,102	0,122	0,189	0,222	0,277
Hekzan Ekstraktı	0,056	0,097	0,146	0,189	0,263
Etanol Ekstraktı	0,095	0,114	0,169	0,236	0,287

Standart çözeltiye en yakın değeri etanol ekstraktı, en uzak değeri ise hekzan ekstraktı vermiştir. Çalışılan ekstratların değer sıralaması ise BHA>Etanol>Su>Hekzan şeklinde verilebilir. (Şekil 4.3).



Şekil 4.4. Demir (III) İyonu İndirgeme Güçleri

Elde edilen verilere göre; BHA standartına en yakın absorbans değeri 0,287 ile 50 mg/mL konsantrasyonunda etanol ekstraktıyla elde edilir iken, en düşük absorbans değeriyse 0,056 olarak 10 mg/mL konsantrasyonda hekzan eksraktına aittir. Uygulanan bütün konsantrasyonlarda genel bir sıralama yapılacak olursa BHA>Etanol>Su>Hekzan şeklindedir. Konsantrasyon arttıkça yükselen absorbans değerleri, antioksidan kapasitenin arttığının göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Literatüre göre çalışmamızı değerlendirdiğimizde; Yıldız (2011), 4 farklı ilden alınan kestane polenlerini incelemiş ve çalışmasında metanol ekstraktı kullanmıştır. Antioksidan kapasiteyi belirlemede sadece FRAP yönteminden değil, toplam fenolik madde ve toplam flavonol içerik yöntemlerinden de yararlanmıştır. Antioksidan kapasitesi değeri polenlerin kuru ve yaş örnekleri ile değerlendirilmiştir. Bu bağlamda, yaş polen numuneleri 70,76mM TE/g – 56,16mM TE/g aralığında veri sağlarken, kuru polen numuneleri ise 82,31mM TE/g – 68,04mM TE/g aralıklarında sonuçlar vermiştir. Özparlak ve ark (2017), Konya Ereğli bölgesinden toplanan arı polenin etanol ekstraktının antioksidan aktivitesini FRAP ve CUPRAC yöntemlerini uygulayarak belirlemişlerdir. Çalışmalar troloks çözeltisine eşdeğer olarak gösterilmiştir. Çalışma sonucunda FRAP yöntemi için 18,02mg TE/g, CUPRAC yöntemi için de 77,12 mg TE/g verilerini belirlemişlerdir. Margaoan ve ark (2013), Transilvanya'dan bal arılarının

topladığı polenin antioksidan aktivitesini, metanol ekstraktı kullanarak belirlemişlerdir. Bu amaçla toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid içerik, DPPH ve FRAP yöntemlerini uygulamışlardır. Çalışma sonucunda, en yüksek değeri 3,17 mmol Fe^{2+}/g, en düşük değeri ise 0,38 mmol Fe^{2+}/g olarak FRAP yöntemiyle göstermişlerdir.

Gülşah Aydın'ın (2016) yapmış olduğu çalışmada; 3 farklı kurutma yöntemi kullanılarak farklı çözücülerle hazırlanan arı poleni ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri için en yüksek değerler, metanol ekstraktları arasında 95,25 mg TEAC/g, etanol ekstraktları arasında 24,35 mg TEAC/g, aseton ekstraktları arasında 18,73 mg TEAC/g ve su ekstraktları arasında 30,55 mg TEAC/g olarak bulunmuştur.

Saral ve ark (2019), Türkiye'deki farklı arı ırklarına ait arı ürünlerinin antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. Çalışmada bal arısı ırkına göre 4 gruba ayırdıkları örneklerin bal, polen ve propolis karşılaştırmasını yapmışlardır. FRAP yöntemi ile polen grubunda en yüksek değeri 84,89 µmol $FeSO_4.7H_2O$/g, en düşük değeri ise 8,69 µmol $FeSO_4.7H_2O$/g olarak belirlemişlerdir.

Karkar ve ark (2018), kestane arı poleninin antioksidan etkisi ve fenolik bileşiklerini farklı ekstrakt hazırlayarak belirlemişlerdir. Ekstraktlarda etanol, su ve metanol çözücülerini kullanmışlardır. FRAP yöntemi uygulandığında en yüksek değeri 20,24 mM TE/g ile etanol ekstraktı göstermiştir. Su ekstraktı 14,36 mM TE/g, etanol-metanol ekstraktı 5,58 mM TE/g ve su-etanol ekstraktı ise 3,15 mM TE/g olarak belirlenmiştir.

Yapmış olduğumuz çalışma, literatürle kıyaslandığında elde ettiğimiz verilerin uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Kullanılan çözücülerin veri sıralaması bizim çalışmamızda olduğu gibi etanol > su > hekzan şeklindedir.

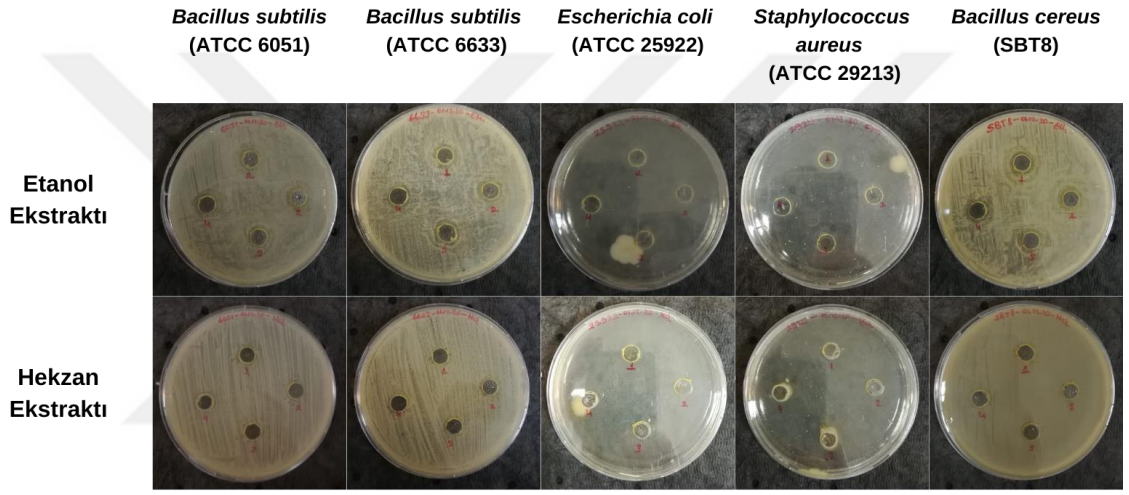
4.2. Arı Poleninin Antimikrobiyal Akivitesinin Değerlendirilmesi

4.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Antimikrobiyal; bakteri, küf, fungus, virüs, gibi maddeleri engelleyen olarak tanımlanabilir. Çalışmamız da antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem antimikrobiyal duyarlılık testlerinde çok yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Burada; kültür ortamı içerisine inoküle edilen

bakteri ortamına antimikrobiyal ajan olacak madde eklenir ve bu maddenin bakteriyi çoğalmasını engelleyici veya öldürücü etkisi gözlemlenir. Çalışılacak maddenin inkübasyon sonrasında çevresinde oluşan inhibisyon zonu değerlendirilerek sonuca varılır.

Çalışmamız da 4 farklı konsantrayonda (25, 50, 75, 100 mg/mL) hazırlanan arı poleni ekstraktları 5 bakteri (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (SBT8), *Bacillus subtilis* (ATCC 6051), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25213), *Bacillus subtilis* (ATCC 6033)) üzerinde incelenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Polen Ekstraktlarının Oluşturduğu İnhibisyon Zonları

Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda, kullanılan bakterilere karşı polen ekstraktları herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Buna karşılık literatürde, Kaskoniene ve ark. (2020), doğal ve fermente arı polenlerinin antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, disk difüzyon yöntemini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda, fermente edilen arı poleninin fermente edilmeyen arı polenine göre antimikrobiyal aktivitesinde artış olduğunu göstermişlerdir. Kacaniova ve ark (2014), yapmış oldukları çalışma da ise, arı poleninin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için agar disk difüzyon yöntemini kullanmış ve çalışma sonucunda da *Clostridium* bakteri cinsine karşı arı poleninin antimikrobiyal aktivite geliştirdiğini saptamışlardır.

Vanilda ve ark'ları (2020), Brezilyanın 8 bölgesinden elde ettikleri arı poleni örnekleri ile *Escherichia coli* (ESA37), *Staphylococcus epidermides* (ESA7) ve *Candida albicans*

(ESA109) mikroorganizmalarını kullanarak, antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda; arı poleninin ciddi anlamda antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Kacaniova ve ark. (2012), propolis, arı poleni ve balmumu örneklerinin farklı patojenik bakteri, maya ve mantar suşlarına karşı olan antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Farklı bakteriler kullanılarak yaptıkları çalışmada, agar plaklarına örneklerin ekstraksiyonu yayılarak antimikrobiyal etkisini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak da arı ürünlerinin mantar, maya ve bakteri üzerinde antibakteriyal ve antifungal maddelere sahip olduklarını göstermişlerdir.

Graikou ve ark (2011), çalışmalarında yunan poleninin kimyasal analizini yapmışlardır. Bu doğrultuda polenin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Antimikrobiyal aktivite için, agar seyreltme tekniğini kullanmışlar ve diklorometan ekstraktının çok zayıf bir aktivite gösterdiğini, metanol ve su ekstraktlarının ise Gram pozitif bakterilere karşı çok iyi antibakteriyel aktivite gösterirken, antifungal aktivitenin daha zayıf olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan çalışma sonucunda numunelerimizin antimikrobiyal aktivite göstermediği görülmüştür. Buna karşılık literatürde polen örneklerinin ciddi antimikrobiyal ajan oldukları bildirilmektedir. Bizim sonuç alamamızın sebebi; polenlerin botanik orjini, toplanma ve kurutulma yöntemi, saklama koşulları olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Polen, çiçekli bitkilerin üreme hücresidir ve bal arıları tarafından toplanarak arı poleni haline getirilir. Arı poleni yüksek oranda proteine sahiptir. Bu sebeple koloninin devamlılığını sağlar. Arı poleni ayrıca karbonhidrat, vitamin, mineral gibi maddeler bulundurur.

Serbest radikallerin hücrelere bağlanıp oksidasyonunu engelleyen maddelere antioksidan madde denilmektedir. Polen bu açıdan iyi bir ajan olarak düşünüldüğünden çalışmamız da yer verilmiştir. Çalışmamızda antioksidan aktivite için DPPH radikal giderim, demir (III) indirgenme gücü ve toplam fenolik madde tayini yöntemleri uygulanmıştır.

Antimikrobiyal ise; bakteri, küf, fungus gibi zararlıların gelişmesini engelleyen veya yok eden madde olarak tanımlanır. Çalışmamızda polenin antimikrobiyal etkisini gözlemlemek için disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır.

Çalışmamızda arı poleninin farklı konsantrasyonlardaki antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Bunun için etanol, hekzan ve su ekstraktları kullanılmıştır. DPPH radikal giderim yöntemi sonucunda; standarda en yakın değeri 50 – 40 mg/mL konsantrasyonlarında 67,45% ile etanol ekstraktı vermişken, 30 – 20 – 10 mg/mL konsantrasyonlar da ise su ekstraktı vermiştir. Çalışılan tüm konsantrasyonlarda ise standarda en uzak veriyi hekzan ekstraktı vermiştir. Toplam fenol içeriğinde ise; en yüksek sonucu etanol ekstraktı 15,86 mg GAE/g değeri ile gösterirken, en düşük sonucu ise 5,91 mg GAE/g değeri ile hekzan ekstraktı göstermiştir. Ekstraktlar konsantrasyona bağlı olarak artış göstermiştir. Genel sıralama ise etanol > su > hekzan şeklindedir. Demir (III) indirgenme gücü yöntemi ile elde edilen veriler ise; 40 – 50 mg/mL konsantrasyondaki sonuçlarda standarta en yakın veri etanol ekstraktı ile görülürken, 30 – 20 – 10 mg/mL konsantrasyonlarında standarta en yakın veriyi su ekstraktı göstermiştir. Hekzan ekstraktının ise bütün konsantrasyonlar da en düşük veriyi gösterdiği gözlemlenmiştir. Genel olarak yapmış olduğumuz antioksidan çalışmalarında arı poleninin konsantrasyon artışına bağlı olarak sonuçlarda da artış gözlemlenmiştir.

Literatür araştırmalarına göre arı poleninin antimikrobiyal aktivite gösterdiği açıktır. Bu

çalışmalar için arı poleninin etanol ve hekzan ekstraktları ile disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Dört adet gram (+) ve bir adet gram (-) bakteri kullanarak uygulamış olduğumuz disk difüzyon yönteminde herhangi bir inhibisyon zonu gözlemlenememiştir.

Elde edilen bilgiler doğrultusunda; polenin insan sağlığına faydalı, besin değeri yüksek bir gıda olduğu söylenebilir. Ayrıca içerisinde bulunan fenolik ve flavonoid maddeler sayesinde birçok hastalığı tedavi etmeye yardımcı madde olarak veya tek başına kullanılacağı öngörülmektedir. Bu doğrultuda birçok veri göstermiştir ki polenin antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, anti-inflamatuar, antiaging ve bağışıklık sistemini düzenleyici etkileri vardır.

Çalışmamız polenin ya da genel olarak arı ürünlerinin kullanılmasının artması hususunda buna bağlı olarak da arıcılık faaliyetlerinin devamlılığının sağlanmasına faydalı olacağı düşüncesindedir. Ayrıca polenin kimyasal yapısı gereği sadece gıda olarak değil kozmetik gibi sektörlere de yön vermesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

Abbasoğlu, U. (1996). Antimikrobiyal Aktivite Araştırma Yöntemleri, *FABAD J. Pharm. Sci., 22*, 111-118.

Akyol, E., Baran, Y. (2015). Arı Sütünün Yapısı, İnsanlar ve Arılar İçin Önemi. *U. Arı Drg., 15*(1), 16-21.

Altıntaş, L., Bektaş, N. (2019). Apiterapi: 1. Arı Zehri. *U. Arı D. 19*(1), 82-95.

Arabacı, Ç. Ak, K. (2021). Gram Boyama ve Metilen Boyama, *Güncel Laboratuvar Tıbbı*. (57-63). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri.

Arruda, V., Santos, A., Sampaio, D., Araujo, E., Peixoto, A., Estevinho, L., Almeida-Muradian, L. (2021). *Journal of Apicultural Research, 60*(5), 775-783.

Atayoğlu, A. T. (2019). Apiterapiye Genel Bakış, *J Biotechnol and Strategic Health Res.,* (3), 61-66.

Aydın, G. (2016). Farklı Kurutma Yöntemleri ve Farklı Özütleme Çözgenlerinin Arı Poleninin Antioksidan Kapasitesi ve Fenolik İçeriği Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu, 436584.

Bakkaloğlu, Z. (2021). Arı Poleni Proteinleri ve Fonksiyonel Özellikleri. *U. Arı D., 21*(2), 247-256.

Bektaş, E. (2011). *Cotinus coggygria* (Scop.) Bitkisinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 300192.

Bektaşlı, F. (2018). Fen Ve Biyoloji Öğretmen Adaylarının Arkebakteri, Bakteri ve Protista Alemleri Hakkındaki Bilgi Düzeyleri ve Kavram Yanılgıları. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 516676.

Brand-Williams, W., Culivier, M.E., Berset, C. (1995). Use Of Free Radical Method To Evaluation of Antioksidant Activity. *LWT - Food Science and Technology, 28*, 25-30.

Büyüktuncel, E. (2013). Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometriik Yöntemler. *Marmara Pharmacetical Journal, 17*, 93-103.

Çakır, Ş. (2018). Gram (+) ve Gram (-) Bakterileri Nasıl Ayırt Ederiz?. Lab Akademi, https://labakademi.com/gram-ve-gram-bakterileri-nasil-ayirt-ederiz/, (Ziyaret Tarihi: 29 Kasım 2021).

Çaylak, E. (2011). Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. *Tıp Araştırma Dergisi, 9(*1), 73-83.

Demirpek, U. (2012). Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri. Klimik, https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf (Ziyaret Tarihi: 14 Ocak 2022).

Güler, Z. (2005). Doğu Karadeniz Bölgesinde Üretilen Balların Kimyasal ve Duyusal Nitelikler, *GIDA 30*(6), 379-384.

Graikou, K., Kapeta, S., Aligiannis, N., Sotiroudis, G., Chondrogianni, N., Gonos, E., Chinou, L. (2011). Chemical Analysis of Greek Pollen- Antioxidant, Antimicrobial and Proteasome Activation Properties. *Chemistry Centraj Journal*, *5*(33), 1-9.

Kasaniova, M., Vatl'ak, A., Vukovic, N., Petrova, J., Brindza, J., Nozkova, J., Fatrcova-Sramkovva, K. (2014). Antimicrobial Activity of Bee Collected Pollen against Clostridia. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 47*(2) 362-365.

Kacaniova, M., Vukovic, N., Chlebo, R., Hascik, P., Rovna, K., Cubon, J., Dzugan, M., Pasternakiewicz, A. (2012). The Antimicrobial Activity of Honey, Bee Pollen Loads and Beewax from Slovakia. *Arch. Biol. Sci., Belgrade, 64*(3), 927-934.

Kanar, Y. (2017). Farklı Kurutma Yöntemlerinin Arı Poleninin Fizikokimyasal Özellikleri ve Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu, 494986.

Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). Serbest Radikaller. *MAKÜ Sağ. Bil. Enst. Derg., 4*(1), 50-59.

Karadal, F., Yıldırım, Y. (2012). Balın Kalite Nitelikleri, Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg. 9*(3), 197-209.

Karkar, B., Şahin, S., Güneş, M.E. (2018). Antioxidative Effect of Turkısh Chestnut Bee Pollen on DNA Oxidation System and Phenolic Compounds. *Gıda The Journal of Food, 43*(1), 34-42.

Karakuş, Z., Aslan, R. (2019). Fonksiyonel Bir Gıda Takviyesi: Arı Sütü (Royal Jelly). *Göller Bölgesi Aylık Hakemli Ekonomi ve Kültür Dergisi, 6*(70), 13-18.

Karlıdağ, S., Keskin, M. (2020). Arı Ürünlerine Genel Bir Bakış. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 3*(1), 58-63.

Kaskoniene, V., Adaskeviciute, V., Kaskonas, P., Mickiene, R., Maruska, A. (2020). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Natural and Fermented Bee Pollen. *Food Bioscience,34,* 100532.

Kırkbeş, A. (2014). Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Kas ve Solungaç Dokularında Farklı Konsantrasyonlarda Polen Ekstraktı Uygulaması ile Meydana Gelen Biyokimyasal Değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde, 351994.

Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B. C., Ceyran, G. (2002). Önemli Bir Arı Ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 10-23.

Küçükçoban, Ç. (2009). Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Erik Çeşitlerinin Toplam Antioksidan Kapasitelerinin ve Başlıca Antioksidan Bileşenlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 252823.

Margaoan, R., Marghitaş, L., Dezmirean, D. S., Bobiş, O., Tomoş, L., Mihai, C., Bonta, V. (2013). Honeybee-collected Pollen from Transylvania: Palynological Origin, Phenolic Content and Antioxidant Activity. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 70*(2), 311-315.

Mayda, N. (2019). Arı Poleni ve Arı Ekmeğinin Palinolojik, Kimyasal ve Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 639286.

Mayda, N., Keskin, M., Keskin, Ş., Özkök, A. (2019). Bilecik İlinden Toplanan Arı Polenlerinin Botanik Orijinleri ile Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi, 19*(2), 152-160.

Mohammedi, Z. (2021). Extraction, Phenolic Content and Hydrogen Peroxide Scavengini Capacity of Extracts from Some Honey Samples, Propolis and Bee Pollen, Biology, *Medigine, & Natural Product Chemistry, 10*(1), 27-32.

Mutlu, C., Erbaş, M., Arslan, S. (2017). Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Bazı Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Tontul Akademik Gıda, 15*(1), 75-83.

Okumuş, G., Varadi, A., Yıldız, O., Yücel, B. (2018). Physicochemical and Antioxidant Properties of Bee-Pollens Collected from Romania, *6th İnternational Muğla Beekeeping & Pine Honey Congress*, Muğla, Türkiye, 15-19 October 2018.

Oyaizu, M. (1986). Esmerleşme Tepkimeleri Ürünleri Üzerine Çalışmalar: Glukozaminden Hazırlanan Esmerleşme Tepkimesi Ürünlerinin Antioksidatif Aktiviteleri. *Japonya Beslenme Dergisi, 44,* 307-315.

Oyuktaş, Z. (2019). Samsun Yöresinden Temin Edilen Arı Polenlerinin Renk, Bileşen ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bil. Enstitüsü, Samsun, 561916.

Özdemir, F. (2004). Radyasyonun Oluşturduğu Serbest Radikallerin Ortadan Kaldırılmasında CoQ_{10}'nun Koruyucu Etkisi. Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 156932.

Özparlak, H., Zengin, G., Ceylan, R. (2017). Ereğli (Konya, Türkiye) Bölgesinden Bal Arılarının Topladığı Polenin Etanol Ekstraktının Antioksidan ve *in Vitro* Bazı Enzim İnhibitör Aktiviteleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi, 43*(2), 163-173.

Öztürk, O, Ünal, M, Göktepe, M.E. (2021). Apiterapi ve Klinik Çalışmalar, Atayoğlu A.T., (Ed.). *Apiterapi* (1) (167-7). Ankara: Türkiye Klinikleri.

Parlakpınar, H., Polat, S. (2021). Apiterapi Ürünlerinin Biyokimyasal İçeriği. Atayoğlu A.T., (Ed.), *Apiterapi* (1) (38-48). Ankara: Türkiye Klinikleri.

Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feas, X., Estevinho, L.M. (2014). Biologial Activities of Commercial Bee Pollens: Antimicrobial, Antimutagenic, Antioxidant and Anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology, 63*, 233-239.

Rebiai, A., Lanez, T. (2012). Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Apis Mellifera* Bee Pollen From Northwest Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences, 4*(2), 155-163.

Saral, Ö., Kılıçarslan, M., Şahin, H., Yıldız, O., Dinçer, B. (2019). Evaluation of Antioxidant Activity of Bee Products of Different Bee Races in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 43*, 441-447.

Sezer, K., Keskin, M. (2014). Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü. *F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg., 28*(1), 49-56.

Sığ, A. K. (2019). Bee Pollen – A Potential Therapeutic Agent. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 28*(2), 156-160. DOI: 10.17827/aktd 423992.

Silici, S. (2014). Arı Poleni ve Arı Ekmeği. *U. Arı Drg., 14*(2), 99-105.

Silici, S. (2019). Bal Arısı Ürünleri ve Apiterapi. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 7*(9), 1249-1262.

Silici, S. (2015). Propolis Üzerine Ön Klinik Araştırmalar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31*(3), 185-191.

Singleton, V.L., Ortholer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology, 299*, 152-178.

Soares de Arruda, V.A., Viera dos Santos, A., Sampaio, D.F., Araujo, E.S., Peixoto, A. L.C., Estavinho, L.M., Almeida-Muradian, L.B. (2021). Brazillian Bee Pollen: Phenolic Content, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity. *Journal of Apicultural Research, 60*(5), 775-783.

Solgajova, M., Ivanisova, E., Nozkova, J., Francakova, H., Toth, Z., Drab, S. (2014). Antıoxıdant Actıvıty And Polyphenol Content of Malt Beverages Enrıched Wıth Bee Pollen, Journal of Microbiology. *Biotechnology and Food Sciences, 3*(3), 281-284.

Sorucu, A. (2019). Arı Ürünleri ve Apiterapi. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 10*(1), 1-15.

Su, J., Yang, X., Lu, Q., Liu, R. (2021). Antiokxidant and Anti-Tyrosinase Activities of Bee Pollen and İndentification of Active Components. *Journal of Apicultural Research, 60*(2), 297-307.

Tabakoğlu, E., Durgut, R. (2013). Veteriner Hekimlikte Oksidatif Stres ve Bazı Önemli Hastalıklarda Oksidadif Stresin Etkileri. *AVKAE Derg., 3*(1), 69-75.

Tabatabaei, P., Nisbet, C. (2021). Investigation of Phenolic Compounds and Antioksidant Capacity of Bee Pollen Collected from Different Geographical Regions in Turkey. *Kocatepe Veterinary Journal, 14*(3), 359-365.

Tabatabaei, R. (2017). Türkiye'nin Farklı Coğrafi Bölgelerinden Toplanan Arı Poleninin Fenolik Bileşikleri ve Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 468750.

Tohamy, A.A., Abdella, E.M., Ahmed, R.R., Ahmed, Y.K. (2014). Assessment of Anti-mutagenic, Anti- histopathologic and Antioxidant Capacities of Egyptian Bee Pollen and Propolis Extracts. *Cytotechnology, 66*, 283-297.

Turhan, D. (2015). Bazı Esansiyel Yağların *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 405042.

Uçar, M., Barlak, Y., Değer, O. (2017). Antıoxıdant Propertıes of Dmso and Water Extracts of Turkısh Bee Pollen. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutıcal Scıences, 11*(6), 154-163.

Yavuz, İ., Gürel, F. (2017). Chemical properties of the royal jellies in Turkish markets. *Mediterr Agric Sci 30*(3), 281-285.

Yıldız, O. (2011). Bir Gıda Maddesi Olarak Kestane Poleninin Kimyasal Bileşimi, Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemdeki Rolü. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 294990.

Yılmaz, L., Yılsay-Özcan, T., Bayizit-Akpınar, A. (2004). Propolis'in Kimyasal Bileşimi, Biyolojik Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi* (6), 34-38.

Yeşiltaş, B., Çapanoğlu, E., Fıratlıgil-Durmuş, E., Boyacıoğlu, D. (2012). İstanbuldan Toplanan Polen Örneklerinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi, *3. Gıda Güvenliği Kongresi*, İstanbul, Türkiye, 3-4 Mayıs 2012.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Vatansever, K., Şaki, N. (2021). Arı Poleninin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi, *33. Ulusal Kimya Kongresi*, Online, Türkiye, 7-9 Ekim 2021.

ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 2009 yılında başladığı Mustafa Kemal Üniversitesi Kırıkhan MYO Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bölümü'nden 2011 yılında mezun oldu. 2012 yılında geçiş hakkından faydalanarak Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne başladı ve 2016 yılında bitirdi. 2018-2019 eğitim öğretim yılında Milli Eğitim Bakanlığına bağlı Anadolu Lisesi'nde Kimya Öğretmenliği yaptı. 2019 yılında Kocaeli Üniversitesi Kimya Anabilim Dalın'da Yüksek Lisans öğrenimine Doç. Dr. Neslihan Şaki danışmanlığında başlamış olup halen devam etmektedir. Evli ve bir erkek çocuğu vardır.