



**BAZI ARI ÜRÜNLERİNİN (BAL, POLEN, PROPOLİS,
ARI SÜTÜ VE ARI EKMEĞİ) LC-MS/MS İLE
SEKONDER METABOLİTLERİNİN VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Ebubekir İZOL

Danışman: Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

Doktora Tezi

Kimya Ana Bilim Dalı

2023

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI ARI ÜRÜNLERİNİN (BAL, POLEN, PROPOLİS, ARI SÜTÜ VE ARI
EKMEĞİ) LC/MS-MS İLE SEKONDER METABOLİTLERİNİN VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

(Determination of the Secondary Metabolites by LC-MS/MS and Biologic Activities of
Some Bee Products (Honey, Pollen, Propolis, Royal Jelly, and Bee Bread))

DOKTORA TEZİ

Ebubekir İZOL

Danışman: Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

Erzurum
Aralık 2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

BAZI ARI ÜRÜNLERİNİN (BAL, POLEN, PROPOLİS, ARI SÜTÜ VE ARI EKMEĞİ) LC-MS/MS İLE SEKONDER METABOLİTLERİNİN VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN danışmanlığında, Ebubekir İZOL tarafından hazırlanan bu çalışma, 21/12/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. İhsan Güngör ŞAT <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Ercan BURSAL <i>Muş Alparslan Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ <i>Dicle Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN danışmanlığında sunulan “**Bazı Arı Ürünlerinin (Bal, Polen, Propolis, Arı Sütü ve Arı Ekmeği) LC/MS-MS ile Sekonder Metabolitlerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi**” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	1	30
Kuramsal Temeller	2	30
Materyal ve Metot	12	35
Araştırma Bulguları	9	20
Tartışma ve Sonuç	1	20
Tezin Geneli	12	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Ebubekir İZOL	Prof.Dr. İlhami GÜLÇİN
21.12.2023	21.12.2023
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

X Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin oluşmasına vesile olan, bilimsel, manevi ve insani yönleri ile sürekli örnek alacağım, desteğini her zaman gördüğüm ve göreceğim, Türkiye Bilimler Akademisi Asli Üyesi ve Biyokimya Bilim Dalı Başkanı, çok kıymetli ve değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN'e,

Tez İzleme Komitesi üyesi sıfatlarıyla tez çalışmalarına destek olan ve aynı zamanda Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU ve Sayın Prof. Dr. İhsan Güngör ŞAT'a,

Tez çalışmalarımında desteğini hiç esirgemeyen her fırsatta yardımcı olan çok kıymetli Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ'a, laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. İsmail YAPICI'ya ve Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çalışan araştırmacı arkadaşlarıma,

Tez çalışmalarının yapıldığı Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'na, Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve Bingöl Üniversitesi Arı ve Doğal Ürünler Ar-Ge ve Ür-Ge Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve personellerine, arı ürünlerinin temin edilmesinde destek olan, Ankara, Aydın, Artvin, Erzurum, Hakkari, Mersin, Yalova ve Şanlıurfa illerinin Arıcılar Birlik'lerine ve arıcılara,

Akademik çalışmalarım ve doktora sürecinde maddi ve manevi desteklerini hiç eksiltmeyen, onların vesilesi ile çalışmalarımı yapabildiğim değerli anne ve babama, bu süreçte çok fazla ihmal ettiğim ve sürekli yanımda olan sevgili eşime, kızıma ve oğluma,

Teşekkür ederim.

Ebubekir İZOL

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BAZI ARI ÜRÜNLERİNİN (BAL, POLEN, PROPOLİS, ARI SÜTÜ VE ARI EKMEĞİ) LC-MS/MS İLE SEKONDER METABOLİTLERİNİN VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Ebubekir İZOL

Danışman: Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

Amaç: Bu doktora tez çalışmasında Türkiye'nin yedi farklı bölgesinde bulunan Ankara, Aydın, Artvin, Mersin, Yalova, Şanlıurfa, Erzurum ve Hakkari illerinden bal, polen, propolis, arı sütü ve arı ekmeği temin edildi. Bu arı ürünlerinin sekonder metabolitleri ve biyolojik aktiviteleri ile balların bazı kimyasal ve kalite parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Arı ürünleri temin edildikten sonra uygun ekstraksiyon yöntemleriyle ekstraksiyonları yapıldı. Bu ekstraktların LC-MS/MS ile sekonder metabolit içeriği 53 farklı bileşen taranarak kantitatif olarak belirlendi. Antioksidan aktiviteleri belirlenirken DPPH[•], ABTS^{•+} ve DMPD^{•+} radikali giderme, CUPRAC, FRAP, Fe³⁺ indirgeme ve toplam fenolik ve flavonoid miktarı belirleme metotları kullanıldı. Enzim çalışmalarında karbonik anhidraz I (hCA I) ve karbonik anhidraz II (hCA II) enzimleri insan eritrositlerinden Sepharose-4-B-L-Tirozin Sülfanilamid afinite kromatografisi ile saflaştırıldı. Arı ürünlerinin hCA I, hCA II, asetilkolinesteraz (AChE), bütirikolinesteraz (BChE), α -glukozidaz, α -amilaz enzimleri üzerinde inhibisyon etkisine bakıldı. Ayrıca bal örneklerinin Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde (TGKBT) yer alan naftalin, şeker kompozisyonu (glukoz, fruktoz, sakkaroz ve maltoz), hidroksimetilfurfural (HMF), prolin, diastaz, nem, elektriksel iletkenlik, serbest asitlik ve pH analizleri yapıldı.

Bulgular: Arı örnekleri arasında propolis örneklerinin kantitatif olarak en yüksek konsantrasyonda fenolik bileşen içerdiği gözlemlendi. Özellikle Şanlıurfa propolisinde acacetin 74,577 (mg analit/g ekstre), Erzurum propolisinde ise chrysin 68,05 (mg analit/g ekstre) en yüksek olarak bulunmuştur. 53 farklı sekonder metabolitten; toplamda propolislerde 32, arı ekmeklerinde 26, polenlerde 25, arı sütlerinde 17 ve ballarda ise 41 bileşen tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitelerde propolislerin diğer arı ürünlerine göre çok yüksek aktivite gösterdiği, sadece DMPD^{•+} yönteminde arı sütlerinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Genel olarak en düşük antioksidan aktive gösterenlerin ise ballar olduğu görüldü. Toplam fenolik ve flavonoid miktarı en yüksek olan arı ürünü ise Şanlıurfa propolisi (102,353 μ g GAE/mg, 20,471 μ g QE/mg) oldu. Enzim inhibisyon sonuçlarında ise arı ürünlerinin enzimleri inhibe ettiği belirlendi. En fazla inhibisyon potansiyeline sahip olan ürünün ise arı sütleri olduğu belirlendi. Ballarda yapılan analizlerde ise balların TGKBT'ye uygun olduğu bulundu.

Sonuç: Arı ürünlerinin; skonder metabolit içeriğinin zengin olduğu, biyolojik aktivitelerinin, metabolik enzimleri inhibisyon özelliklerinin ve toplam fenolik ve flavonoid miktarlarının yüksek olduğu ortaya konuldu. Bal örneklerinin analiz limitlerine uygun ve kalite parametrelerinin yüksek olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Arı ürünleri (bal, polen, propolis, arı sütü ve arı ekmeği), antioksidan, enzim inhibisyonu, LC-MS/MS

Aralık 2023, 173 sayfa

ABSTRACT
DOCTORAL DISSERTATION
**DETERMINATION OF SECONDARY METABOLITES BY LC-MS/MS AND
BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOME BEE PRODUCTS (HONEY, POLLEN,
PROPOLIS, ROYAL JELLY AND BEE BREAD)**

Ebubekir İZOL

Supervisor: Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

Purpose: In this PhD dissertation study, honey, pollen, propolis, royal jelly, and bee bread were obtained from Ankara, Aydın, Artvin, Mersin, Yalova, Şanlıurfa, Erzurum, and Hakkari provinces in seven different regions of Türkiye. It was aimed at determining the secondary metabolites and biological activities of these bee products and some chemical and quality parameters of honey.

Method: After the bee products were obtained, appropriate extraction methods were used to extract them. The secondary metabolite content of these extracts was quantitatively determined by LC-MS/MS by screening 53 different components. On top of that, the total quantities of phenolic and flavonoid compounds were clarified, and antioxidant activities were assessed by DPPH[•], ABTS^{•+}, and DMPD^{•+} radical scavenging, CUPRAC, FRAP, and Fe³⁺ reducing methods. In enzyme studies, carbonic anhydrase I (hCA I) and carbonic anhydrase II (hCA II) enzymes were purified from human erythrocytes by sepharose-4-B-L-tyrosine sulfanilamide affinity chromatography. The inhibition effects of bee products on hCA I, hCA II, acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), α -glucosidase, and α -amylase enzymes were investigated. Further analysis of the honey samples was carried out in accordance with the Turkish Food Codex Honey Communiqué (TFCHC) for naphthalene, sugar composition (glucose, fructose, sucrose, and maltose), hydroxymethylfurfural (HMF), proline, diastase, moisture, electrical conductivity, free acidity, and pH.

Findings: Quantitative analysis of the bee specimens revealed that propolis samples had the highest quantity of phenolic compounds. In particular, acacetin 74,577 (mg analyte/g extract) was found to be the highest in Şanlıurfa propolis and chrysin 68,05 (mg analyte/g extract) in Erzurum propolis. Out of 53 different secondary metabolites, 32 components were detected in propolis, 26 in bee bread, 25 in pollen, 17 in royal jelly, and 41 in honey. In antioxidant activities, it was determined that propolis showed very high activity compared to other bee products, and royal jelly had the highest activity only in the DMPD^{•+} method. Overall, honey exhibited the lowest antioxidant activity. The bee product with the highest total phenolic and flavonoid content was Şanlıurfa propolis (102,353 μ g GAE/mg, 20,471 μ g QE/mg). Enzyme inhibition results demonstrated that bee products inhibited enzymes. The product with the highest inhibition potential was royal jelly. In the analysis of honey, honey was found to be in compliance with TFCHC.

Results: The study revealed that bee products possess a high concentration of secondary metabolites, exhibit significant biological activities, demonstrate inhibitory effects on metabolic enzymes, and include substantial amounts of phenolic and flavonoid compounds. Honeys were found to comply with the analysis limits and have high quality parameters.

Keywords: Bee products (honey, pollen, propolis, royal jelly and bee bread), antioxidants, enzyme inhibition, LC-MS/MS

December 2023, 173 page

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ.....	xii
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	5
Arı Ürünleri (Bal, Polen, Propolis, Arı Sütü ve Arı Ekmeği).....	5
Sekonder Metabolitler.....	7
Antioksidanlar.....	9
Doğal Antioksidanlar.....	17
Sentetik Antioksidanlar.....	19
Enzimler.....	21
Asetilkolinesteraz.....	24
Bütirikolinesteraz.....	25
α -Amilaz.....	26
α -Glikozidaz.....	27
Karbonik anhidraz.....	27
Balda Önemli Fizikokimyasal Analizler ve Kalite Parametreleri.....	29
Şeker Kompozisyonu (Glukoz, Fruktoz, Sakkaroz ve Maltoz).....	30
Naftalin.....	31
HMF.....	31
Prolin.....	32
Diastaz.....	33
Nem.....	33
Elektriksel İletkenlik.....	33
Serbest Asitlik.....	34
pH.....	34

MATERYAL VE METOT	35
Kullanılan Kimyasallar	35
Cihazlar ve Diğer Gereçler	35
Arı Ürünlerinin Temin Edilmesi	36
Arı Ürünlerinin Ekstraksiyonları	37
LC-MS/MS ile Sekonder Metabolitleri Belirleme Yöntemi	39
Antioksidan Aktivite Yöntemleri	45
Fe ³⁺ - Fe ²⁺ İndirgeme Yöntemi.....	45
CUPRAC Yöntemi (Cu ²⁺ - Cu ⁺ İndirgeme).....	46
FRAP Yöntemi (Fe ³⁺ -TPTZ İndirgeme).....	47
DPPH' Giderme Yöntemi.....	48
ABTS ⁺ Giderme Yöntemi	49
DMPD ⁺ Giderme Yöntemi.....	50
Toplam Fenolik Miktarı Yöntemi	51
Toplam Flavonoid Miktarı Yöntemi	52
Enzim İnhibisyon Aktivite Yöntemleri.....	53
Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi	53
Bütirikolinesteraz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi	54
α-Amilaz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi	54
α-Glikozidaz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi	55
hCA I ve hCA II İzoenzimleri Saflaştırma Yöntemleri	56
hCA I ve hCA II İzoenzimleri için Kullanılan Çözücüler	56
CA Enzim Hemolizatının Hazırlanması	57
Afinite Jelinin Hazırlanması	57
Afinite Kolonunun Paketlenmesi, Numune İlavesi ve Elüatların Alınması	58
hCA I ve hCA II İzoenzimleri Esteraz Aktivitesi Tayini	58
hCA I ve hCA II İzoenzimleri İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi	59
Balda Fizikokimyasal Analiz Yöntemleri.....	60
Şeker Analiz Yöntemi	60
Naftalin Analiz Yöntemi.....	61
HMF Analiz Yöntemi	63
Prolin Analiz Yöntemi	63
Diastaz Analiz Yöntemi	64
Nem Analiz Yöntemi	64
Elektriksel İletkenlik Analiz Yöntemi	65

Serbest Asitlik Analiz Yöntemi	65
pH Analiz Yöntemi	66
İstatiksel Analizler.....	66
ARAŞTIRMA BULGULARI	67
LC-MS/MS ile Sekonder Metabolit Bulguları	67
Antioksidan Aktivite Bulguları	78
Radikal Giderme (DPPH [·] , ABTS ^{·+} ve DMPD ^{·+}) Yöntemleri Bulguları	78
İndirgeme (Fe ³⁺ , CUPRAC ve FRAP) Yöntemleri Bulguları	80
Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı Bulguları.....	83
Enzim İnhibisyonu Araştırma Bulguları	85
Balların Fizikokimyasal Analiz Bulguları	90
TARTIŞMA VE SONUÇ	92
KAYNAKLAR.....	102
EKLER.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ.....	114

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Reaktif Oksijen, Reaktif Nitrojen ve Oksidan Olmayan Türler	11
Tablo 2. Karbonik Anhidraz Enziminin Görev Aldığı Reaksiyonlar	28
Tablo 3. Çalışmaların Yapıldığı Cihaz ve Gereçler	35
Tablo 4. Çalışmada Taranan Sekonder Metabolitlerin Açık Kimyasal Yapıları	41
Tablo 5. LC-MS/MS Cihazı Analitik Parametreleri ve Kromatografi Koşulları	45
Tablo 6. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar (µg/mL)	46
Tablo 7. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar (µg/mL).....	47
Tablo 8. FRAP (TPTZ) Metodu Deney Tüpü İçeriği (µg/mL)	48
Tablo 9. DPPH' Giderme Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar (µg/mL)	49
Tablo 10. ABTS ^{•+} Giderme Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar (µg/mL) ..	50
Tablo 11. DMPD ^{•+} Giderme Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar (µg/mL) .	51
Tablo 12. Toplam Fenolik Miktarı Deney Tüpleri Hacimleri	52
Tablo 13. Toplam Flavonoid Miktarı Deney Tüpleri Hacimleri	53
Tablo 14. Kolinesteraz Aktivite Tayini Küvet İçeriği	54
Tablo 15. α-Amilaz Aktivite Tayini Küvet İçeriği.....	55
Tablo 16. α-Glikozidaz Aktivite Tayini Küvet İçeriği.....	56
Tablo 17. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivitesi Küvet İçeriği	59
Tablo 18. Propolislerin LC-MS/MS Sonuçları.....	68
Tablo 19. Arı Ekmekleri (Perga)'nın LC-MS/MS Sonuçları	70
Tablo 20. Polenlerin LC-MS/MS Sonuçları	72
Tablo 21. Arı Sütlerinin LC-MS/MS Sonuçları	74
Tablo 22. Balların LC-MS/MS Sonuçları.....	76
Tablo 23. Artvin Balının 3 Farklı Ekstraksiyon Yöntemi LC-MS/MS Sonuçları ..	77
Tablo 24. DPPH', ABTS ^{•+} ve DMPD ^{•+} Giderme Yöntemlerinin Sonuçları	78
Tablo 25. Fe ³⁺ , CUPRAC ve FRAP İndirgeme Sonuçları.....	81
Tablo 26. Arı Ürünlerinin Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarları Sonuçları	85
Tablo 27. Arı Ürünlerinin hCA I, hCA II, AChE Enzim İnhibisyon Sonuçları.....	86
Tablo 28. Arı Ürünlerinin BChE, α-Glikozidaz ve α-Amilaz Enzim İnhibisyon Sonuçları	88
Tablo 29. Balların Prolin, Diastaz, HMF, Nem, Elektriksel İletkenlik, Serbest Asitlik ve pH Sonuçları.....	90
Tablo 30. Balların Naftalin ve Şeker Kompozisyon Sonuçları	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Araştırmada kullanılan arı ürünleri.....	1
Şekil 2. Sekonder metabolitlerin içerdiği fenolik bileşik sınıfları.....	7
Şekil 3. Fenol halkası	9
Şekil 4. Fenol halkasındaki rezonans kararlılığı	9
Şekil 5. H ₂ O ₂ oluşumu, giderilmesi ve fenton reaksiyonu yoluyla OH ⁻ üretimi.....	12
Şekil 6. Antioksidan türleri	16
Şekil 7. Tokoferollerin molekül yapıları	17
Şekil 8. α-Tokoferol'ün radikal giderme mekanizması.....	18
Şekil 9. Flavonoidlerin metal şelatlama mekanizması	18
Şekil 10. β-Karotenin molekül yapısı.....	19
Şekil 11. Sentetik antioksidanların kimyasal yapısı	20
Şekil 12. Doğal ve sentetik antioksidanların avantaj ve dezavantajları	21
Şekil 13. Enzim inhibisyon türleri	23
Şekil 14. Dönüştürümlü inhibisyon türleri şematize hali.....	24
Şekil 15. Asetilkolinesteraz enzimi ile asetilkolin'in asetat ve kolin'e hidrolizi.....	24
Şekil 16. Bütirikolinesterazın bütirikolin'i bütirat ve koline hidrolizi.....	26
Şekil 17. Balda önemli fizikokimyasal analizler	30
Şekil 18. Naftalinin aromatik yapısı	31
Şekil 19. Hidroksimetilfurfural (HMF)'nin açık kimyasal yapısı	32
Şekil 20. Prolinin açık kimyasal yapısı	32
Şekil 21. Arı ürünlerinin temin edildiği iller.....	36
Şekil 22. Sekiz farklı ilden temin edilen beş farklı arı ürünleri (arı sütü, polen, arı ekmeği, bal ve propolis)	37
Şekil 23. Arı ürünlerinin ekstraksiyon aşamaları.....	39
Şekil 24. Arı sütü ve balın ekstraksiyon süreçleri	39
Şekil 25. LC-MS/MS cihazı.....	40
Şekil 26. LC-MS/MS standart kromatogramı ve standartlar	44
Şekil 27. Cu ²⁺ nin Cu ⁺ ya indirgenmesi.....	47
Şekil 28. Fe ³⁺ -TPTZ'nin Fe ²⁺ -TPTZ'ye indirgenmesi	48
Şekil 29. DPPH antioksidan mekanizması.....	49
Şekil 30. ABTS ile K ₂ S ₂ O ₈ 'in reaksiyonu ile ABTS ⁺ oluşumu	50
Şekil 31. Biyolojik aktivite çalışmalarından görseller	53
Şekil 32. Afinite jeli reaksiyon mekanizması	58

Şekil 33. <i>p</i> -Nitrofenil asetat'ın CA ile <i>p</i> -Nitrofenol'e dönüşümü	59
Şekil 34. Şeker standart kromatogramı	60
Şekil 35. HPLC-RID-DAD cihazı ve şeker analizi kalibrasyon grafiği.....	61
Şekil 36. Naftalin analizinin yapıldığı GC/MS/HS cihazı	62
Şekil 37. Kalibrasyon grafiği ve Headspace metot verileri.....	62
Şekil 38. Naftalin ve naftalin-D8 izotopunun GC/MS/HS kromatogramı	62
Şekil 39. HMF analizi HPLC kromatogramı ve kalibrasyon grafiği.....	63
Şekil 40. UV Spektrofotometre.....	64
Şekil 41. Refraktometre cihazı.....	65
Şekil 42. Elektriksel iletkenlik ve pH metre cihazı	65
Şekil 43. Şanlıurfa propolisinin LC-MS/MS kromatogramı.....	67
Şekil 44. Aydın arı ekmeğinin LC-MS/MS kromatogramı.....	69
Şekil 45. Erzurum polenin LC-MS/MS kromatogramı	71
Şekil 46. Ankara arı sütünün LC-MS/MS kromatogramı	73
Şekil 47. Mersin balının LC-MS/MS kromatogramı.....	75
Şekil 48. Erzurum arı ürünleri DPPH' giderme grafiği	79
Şekil 49. Erzurum arı ürünleri ABTS ⁺ giderme grafiği.....	80
Şekil 50. Erzurum arı ürünleri DMPD ⁺ giderme grafiği	80
Şekil 51. Ankara arı ürünleri Fe ³⁺ indirgeme grafiği.....	82
Şekil 52. Ankara arı ürünleri CUPRAC grafiği	82
Şekil 53. Ankara arı ürünleri FRAP grafiği	83
Şekil 54. Toplam fenolik madde miktarı standart grafiği	83
Şekil 55. Toplam flavonoid miktarı standart grafiği	84
Şekil 56. Artvin arı sütünün hCA I enzim inhibisyon grafiği.....	87
Şekil 57. Artvin arı sütünün hCA II enzim inhibisyon grafiği	87
Şekil 58. Artvin arı sütünün AChE enzim inhibisyon grafiği.....	87
Şekil 59. Artvin arı sütünün BChE enzim inhibisyon grafiği	89
Şekil 60. Artvin arı sütünün α -Glikozidaz enzim inhibisyon grafiği	89
Şekil 61. Artvin arı sütünün α -Amilaz enzim inhibisyon grafiği	89
Şekil 62. Erzurum balının HMF kromatogramı.....	90
Şekil 63. Ankara balının naftalin kromatogramı	91
Şekil 64. Yalova balının şeker kromatogramı.....	91

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-Etilbenzotiazolin-Sulfonik asit)
AChE	Asetilkolinesteraz Enzimi
AChEI	Asetilkolinesteraz İnhibitörü
BChE	Bütirilkolinesteraz Enzimi
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
CA	Karbonik Anhidraz
CAT	Katalaz
DMPD	N,N-Dimetil-Fenilendiamin
DPPH	1,1-Difenil-2-Pikril Hidrazil
DTNB	5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik asit)
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik asit
ES	Enzim-Substrat Kompleksi
ESI	Enzim-Substrat-İnhibitör Kompleksi
ETS	Elektron Transport Sistemi
FCR	Folin-Ciocalteu Reaktif
FRAP	Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü
GC/MS/HS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi/Headspace
hCA	İnsan Karbonik Anhidraz İzoenzimi
HDA	Hidroksi-trans-2-dekenoikasit
HMF	Hidroksi Metil Furfural
HPLC-DAD	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi- Diyot Dizisi Dedektörü
HPLC-RID	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi-Kırılma İndeksi Dedektörü
IC	İnhibitör Konsantrasyonu
IC₅₀	Mevcut Konsantrasyonu Yarıya İndiren İnhibitör Konsantrasyonu
IHC	Uluslararası Bal Komisyonu
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektroskopisi
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
PER	Amonyum Persülfat
PG	Propil Gallat
p-PNF	p-Nitrofenil Asetat
PNPG	4-Nitrofenil α -D-Glukopiranozid

ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süper Oksit Dismutaz
TCA	Trikloro Asetik Asit
TBHQ	Tersiyer Bütil Hidro Kinon
TEMED	Tetrametil Etilendiamin
TGKBT	Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği
TPTZ	2,4,6-Tris(2-Pyridyl)-s-Triazine
Tris	Trihidroksimetil minometan
Troloks	6-Hidroksi-2,5,7,8-Tetrametilkroman-2-Karboksilik asit
UV	Ultraviyole

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
m-	Meta
o-	Orto
p-	Para
g	Gram
L	Litre
M	Molar
meq	Miliekivalent
mg	Miligram
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mS	Metre Siemens
nM	Nanomolar
nm	Nanometre

GİRİŞ

Arı ürünleri insanlık tarihi boyunca varlığı bilinen çok önemli doğal ürünler olarak bilinmektedir. Arı ürünleri arasında en yaygın olan ürün baldır. Bal birçok kültürde yer edinmiş ve insanlığın önemli bir gıdası olmuştur. Baldan sonra en çok bilinen arı ürünü polendir. Polen arıların tek protein kaynağı olarak bal üretiminde en önemli besindir. Gelişen teknolojik imkanlar ve yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda propolis, arı sütü ve arı ekmeğinin (perga) bilinirliği daha fazla artmaktadır. Özellikle hastalıklara karşı gösterdikleri biyolojik aktiviteler ve kimyasal içerik, propolis ve arı sütünü diğer arı ürünlerinden daha kıymetli yapmaktadır. Erkek arı larvası ve arı zehri de arı ürünleri arasında yer alırken besin olarak kullanılmamaktadır (İzol 2023a). Şekil 1’de bu çalışmada araştırılan arı ürünleri verilmiştir.



Şekil 1. Araştırmada kullanılan arı ürünleri

Arı ürünlerinin gelişen bilimsel teknikler sonucunda birçok farklı kimyasal bileşen içerdiği ve biyoaktif bileşenleri ile çok farklı biyolojik aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir. Bu özellikleri nedeniyle arı ürünleri bilim insanlarının çalışmalarına çok fazla konu olmaktadır. Ancak beş farklı arı ürününün yedi farklı coğrafi bölgeden toplanarak kapsamlı bir şekilde sekonder metabolit içeriği ve biyolojik aktiviteleri bu çalışmadaki kadar

araştırılmadığı görülmektedir. Bu nedenle bu çalışmanın bilim dünyasına ve literatüre çok fazla katkı yapacağı düşünülmektedir. Bu çalışma ile arı ürünlerinin özellikle fenolik ve flavonoid bileşen içerikleri, detaylı antioksidan aktiviteleri, bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan metabolik enzimlerin inhibisyon özellikleri ve balların en önemli kalite parametre analizleri karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

Sekonder metabolitler primer metabolitlere kıyasla çok düşük konsantrasyonlarda tabiattaki doğal ürünlerde ve özellikle bitki ve bitki kaynaklı ürünlerde bulunmaktadır. Arı ürünleri de sekonder metabolitleri içinde bulunduran değerli doğal ürünlerdir. Arı ürünlerinin ilaç, gıda ve kozmetik sanayinde kullanılmasının en önemli nedenlerinden biri içerdikleri sekonder metabolitlerdir. Bu metabolitler birçok biyolojik aktivitenin nedenleri arasında olduğundan geniş bir alanda araştırılmakta ve bilimsel araştırmalardaki ilgisini devam ettirmektedir. Sekonder metabolitler içinde en önemli olan sınıf fenolik bileşiklerdir. İkincil metabolitlere örnek olarak fenolik bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler, kumarinler, terpenler, stilbenler, lignanlar, ksantonlar, lignin ve alkaloidler verilebilir (İzol 2016). Özellikle birçok fenolik ve flavonoid bileşiklerin antikanser, antibakteriyel, antimikrobiyal ve antioksidan gibi önemli biyolojik aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir.

Antioksidanlar, molekülleri oksidatif stresten kaynaklanan zararları önleyen veya azaltan bileşiklerdir. Oksidatif stres, vücutta reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı artmasını veya antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliği sonucu hücrelerde oluşan bir durumdur (Karageçili *et al.* 2023a). ROS'lar, hücrelerde lipid peroksidasyonu, protein hasarı ve DNA mutasyonları gibi zararlı etkilere neden olabilmektedir. Antioksidanlar, bu zararlı etkileri nötralize ederek veya azaltarak hücreleri korumaktadır. Bu bileşikler, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek veya ROS'ların oluşumunu engelleyerek oksidatif stresle mücadele etmektedir (İzol 2016). Antioksidanlar doğal olarak genellikle vitaminler (A, C ve E gibi), fenolik ve flavonoidler, karotenoidler ve diğer birçok bileşik içermektedir (Gülçin 2012). Ayrıca besinlerin ve ilaçların bozulmasının nedenlerinden olan lipid peroksidasyonunu geciktirmekte ve böylece raf ömrünü uzatmaktadır (Gülçin 2010). Antioksidanların oksidasyonları giderme yolları; söndürme, zincir kırma, giderme ve onarıcı etki gibi yöntemlerdir. Ekzojen ve endojen türleri bulunmaktadır. Endojen antioksidanlar amino asit, protein, enzim yapısında olabildiği gibi başka molekül sınıfında da olabilirler. Endojenlere örnek ferritin, miyogloblin, bilirubin, hemogloblin, transferrin, metiyonin, sistein, katalaz, albümin, süperoksit dismutaz, glutatyon, peroksidaz ve ürat verilebilir (Panglossi 2006). Ekzojen antioksidanlar sentetik ve doğal olabilirler. Sentetik

olanlara örnek olarak OG, TBHQ, BHT, PG ve BHA verilebilirken doğal olanlara ise A, C, E vitaminleri, tokoferoller, fenolik bileşikler, kumarinler, flavonoidler, karotenoidler örnek olarak verilebilir (Gülçin 2020).

Antioksidan sınıfları içinde en önemli bileşik türü olan fenolik ve flavonoid bileşikler doğal antioksidan potansiyeline sahiptirler. Sentetik antioksidanlar gıda, kozmetik ve ilaç sanayinde kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların zararlı etkileri tespit edildiğinden kullanılmaları sınırlandırılmış ve doğal antioksidanlara olan arayış artmıştır. Dolayısıyla son yıllarda doğal ve güvenli antioksidan kaynaklarına özellikle de günlük gıda olarak tüketilebilen bitki veya diğer besin kaynaklı arı ürünleri gibi doğal besinlere ilgi artmakta ve bilimsel çalışmalar bu alanda yoğunlaşmaktadır (Karageçili *et al.* 2023b; Gülçin 2007; Gülçin *et al.* 2009). Bu nedenle arı ürünlerinin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi doğal antioksidanlara kaynak olacaktır.

Enzimler, biyolojik sistemlerde katalizör görevi görerek kimyasal reaksiyonları hızlandıran ve % 100 ürün verimi sağlayarak yan ürün oluşturmayan çoğunluğu protein yapılarıdır. Bu reaksiyonlar, hücre metabolizma, enerji üretimi, hücre büyümesi, DNA replikasyonu ve diğer birçok temel biyolojik süreç için gereklidir. Enzimler, bir substrat molekülleri ile etkileşime girmekte ve bu molekülü daha hızlı bir şekilde başka moleküllere dönüştürmektedir. Hücredeki kimyasal reaksiyonlar enzimler ile gerçekleştirilmekte ve enzimler hücre içinde sentezlenerek kullanılmaktadır. Enzimsiz reaksiyon neredeyse yok gibidir. Enzimler 6 temel grupta incelenmektedir. Bunlar: Transferazlar, oksidoredüktazlar, liyazlar, ligazlar, izomerazlar ve hidrolazlardır. Enzimler kimyasal reaksiyonları hızlandırdıklarından çok önemli olup laboratuvarında aylarca sürececek bir reaksiyon enzimler vasıtasıyla saniyeler içinde sonlanmaktadır. Bu nedenle enzimlerin saflaştırılmaları ve tanımlamaları yapılmaktadır. Günümüze kadar yaklaşık 2000 kadar enzim saflaştırılıp tanımlanmış ve birçok bilimsel ve ticari faaliyetlerde kullanılmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu 2014).

Enzim çalışmalarında öne çıkan bir husus da hastalıkların nedenleri ve çözümleri hakkında enzimlerin aldıkları rol olmuştur. Bunun sonucunda bir kısım hastalıklar enzim inhibisyonu ile tedavi edilmiş ve edilmektedir. Örneğin glokom hastalığı için hCA II, epilepsi hastalığı için hCA I (İnci *et al.* 2023), Alzheimer hastalığı için AChE ve BChE (İzol 2021), diyabet hastalığı için α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerinin etkili olduğu belirlenmiştir. Alzheimer hastalığının tedavisinde, ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafında onaylanmış üç asetilkolinesteraz inhibitörü (AChEI) kullanılmaktadır (Yapıcı and İzol 2023; Raina *et al.* 2008). Bir çalışmada karbonik anhidraz inhibitörlerinin antitümör, ağrı

kesici, antiülser özellik gösterdiği ve emisyon tomografisinde, manyetik rezonans belirlenmesinde, epilepside, nörolojik hastalıklarda, diüretik ilaçların geliştirilmesinde öncü antibiyotik olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Beydemir and Gülçin 2004).

Bal insanlık tarihi boyunca en önemli gıdalar arasında yer almıştır. Halk arasında şifa kaynağı olarak bilinmekte ve bu amaçla kullanılmaktadır. Apiterapide ve modern tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. Fitokimyasal ve sekonder metabolit içeriği ile birçok hastalığa iyi geldiği belirtilmiştir (İzol 2023b). Antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar ve antikanser gibi farklı biyolojik aktivitesi belirlenmiştir (İzol *et al.* 2023a). Bu nedenler ile balın tağşiş ve sahteciliğini önlemek önem arz etmektedir. Bu amaçla devletler gıda kodekslerinde bal tebliğleri belirleyerek bu tebliğlerde belirli analizler ve analiz sonuçlarına göre uygunluklar düzenlemektedir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde yer alan naftalin, şeker kompozisyonu (glukoz, fruktoz, maltoz ve sakkaroz), prolin, diastaz, HMF, serbest asitlik, pH, elektriksel iletkenlik ve nem analizleri balın kalitesini ortaya çıkarmada ve sahteciliğin belirlenmesinde önemli parametreler olarak görülmektedir (Anonim 2023; Yapıcı *et al.* 2023a; Yapıcı *et al.* 2023b; Turhan and İzol 2023c).

Bu çalışmada doğal arı ürünleri olan arı sütü, propolis, polen, bal ve arı ekmeğinin: LC-MS/MS ile sekonder metabolik içeriği kantitatif olarak belirlenmiş, antioksidan aktiviteleri detaylı birçok yöntem ile ortaya çıkarılmış, günümüzde önemli bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan metabolik enzimleri inhibisyon potansiyelleri belirlenmiş ve ballar için önemli kalite parametreleri olan fizikokimyasal analizler yapılmıştır. Bu çalışma, özellikle Türkiye'nin yedi farklı bölgesinden sekiz farklı ilden beş farklı arı ürününün karşılaştırmalı ve detaylı olarak araştırılmasıyla bilim dünyasına, literatüre ve bu alandaki ticari sektöre önemli bir kaynak olacaktır.

KURAMSAL TEMELLER

Arı Ürünleri (Bal, Polen, Propolis, Arı Sütü ve Arı Ekmeği)

Arı ürünleri 2 sınıfta incelenmektedir. Bunlar:

1. *Arının doğrudan ürettikleri:* Arı sütü, erkek arı larvası (apilarnil), arı zehri ve bal mumu.
2. *Arının salgısı ile ve bitki kaynaklı ürettikleri:* Propolis, bal, polen ve arı ekmeği.

Bu sınıflandırmada olmayan arı serumu ve kovan havası (apiair)'de arı ürünleri olarak kabul edilmektedir (İzol 2021).

Bal: Arıların çiçeklerden topladıkları nektarları kendi enzimleri ile reaksiyonu sonucunda oluşturulan ve nemi azaltarak olgun hale gelmesi için petekte depolanan sarı renkli, tatlı ve viskoz bir doğal ürün olarak tanımlanmaktadır (İzol ve İzol 2022). Balın kimyasal içeriğinin (%60-80) büyük kısmını karbohidratlar oluşturur. Bunlarında çoğunu glukoz ve fruktoz oluşturmaktadır. %13-20 nem ve diğer kısımlarını ise protein, aminoasit, vitamin, fenolik bileşikler ve mineraller oluşturmaktadır. Balın yapılan birçok bilimsel çalışmada içeriğindeki biyoaktif bileşenler nedeni ile kansere neden olan serbest radikal oluşumunu ve oksidatif stresi engellediği rapor edilmiştir. Balın mide, kolon ve karaciğer kanserlerinin iyileştirilmesine etki ettiği belirlenmiştir (İzol 2022; Abdel-Latif 2015; İzol ve Bengü 2022). Yine yapılan birçok çalışmada balın antibakteriyel ve antioksidan özellik gösterdiği belirtilmiştir (Isidorov *et al.* 2015; Marshall *et al.* 2015).

Polen: Polen tohumlu bitkilerin çiçek tekalarında bulunan erkek üreme hücrelerinde oluşturulmaktadır. Arıların bitkilerdeki çiçek tozlarını vücutlarında toplayarak kendi vücut salgıları ile sıkıştırıp oluşturduğu arı ürünüdür. Kovana yerleştirilen polene ise arı poleni denilmekte ve gıda olarak dünyanın en iyi ürünlerinden olduğu belirtilmektedir. Polen arıların dışarıdan topladığı tek protein kaynağı olduğu için arı beslemesinde, arı sağlığında ve gelişiminde önemi çok büyüktür. Polen içeriğinde esansiyel amino asitler, yağ asitleri, proteinler, karbohidratlar, makro ve mikro elementler, vitaminler, polifenoller, fosfolipitler, peptitler ve organik asitler bulundurmaktadır (İzol 2021; Sonmez *et al.* 2023) Antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antitümoral, antianemi ve antiosteoporos gibi biyolojik aktiviteler göstermektedir (Milek *et al.* 2023).

Propolis: Bal arılarının, floradan topladıkları bitki nektarları ile bal mumu ve enzimleri etkileşime uğratarak meydana getirdikleri yapışkan maddeye denir. Yapışkan olduğu için arı tutkalı da denilmektedir. Kelime kökeni olarak “pro” ön, giriş anlamında

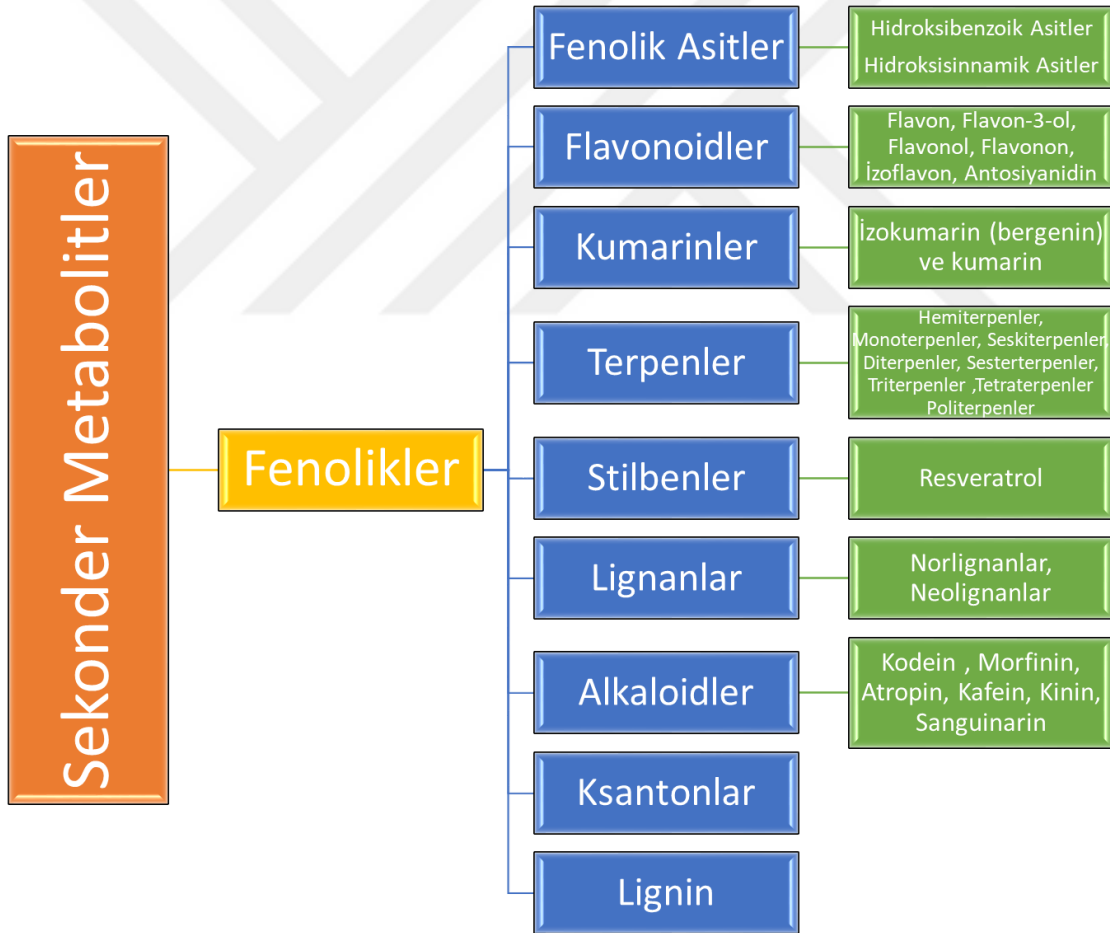
kullanılmakta ve “polis” kelimesi ise şehir anlamından olup bu iki sözcüğün birleşmesi ile arıların kovan koruması anlamında kullanılmaktadır. Arılar propolisi, peteklerin tamiri ve yapılandırılması, kovana dışarıdan gelen tehlikelere karşı korumak, kovana giren farklı canlıların uzaklaştırılması, kovan sıcaklığının dengelenmesi için kullanılmaktadır (İzol 2023c). Propolisin fizikokimyasal özelliklerine ve farklı coğrafi orjinlerine göre 12 türü belirlenmiştir (Zulhendri *et al.* 2021). Yapılan bilimsel çalışmalarda propolisin birçok farklı bileşen içerdiği ve farklı biyolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu nedenle bilim insanlarının çalışmalarını üzerine yoğunlaştıran propolis, bir çok farklı bilim dalında farklı konularda araştırılmaktadır. Antikanser, antikolinerjik, antiglokoma, antidiyabetik, antiviral, antibakteriyel ve antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir (Ozarowski and Karpiński 2023; Karageçili *et al.* 2023c; Rivera-Yañez *et al.* 2023).

Arı Sütü: Kraliçe arı ve arı larvalarını beslemek için beş-onbeş günlük işçi arıların boğaz ve üst çene bezlerinde (hipofaringeal ve mandibular) salgı şeklinde oluşturulan arı ürünüdür. Arı sütünün bileşimde çoğunlukla su, karbohidratlar ve proteinler bulunmaktadır. pH'sı 3,6-4,2 arasında olan asidik bir yapıdadır (İzol and Çağlayan 2023). Valin, lösin, treonin, izolösin, fenilalanin, lizin, glisin, prolin, metionin, tirozin gibi aminoasitleri, lipitleri, vitaminleri ve önemli mineralleri içermektedir. İçeriğinde 10-hidroksi-trans-2-dekenoikasit (10-HDA) gibi sadece arı sütünde bulunan spesifik bir biyoaktif bileşen bulundurmaktadır (İzol *et al.* 2023b). Dünya genelinde sağlık, kozmetik, gıda ve ilaç sektöründe kullanılmaktadır (Ramadan and Al-Ghamdi 2012). Arı sütünün antibakteriyel, antioksidan, antiaging, immunmodülatör, antiseptik, antiastım, antiülseratif, antialerjik gibi biyolojik aktiviteleri belirlenmiştir (Guo *et al.* 2021).

Arı Ekmeği: Bal, polen ve arı salgılarından oluşan ve laktik asit fermantasyonuna uğramış arı polenine denir. Arı ekmeği arıların petek gözlerinde oluşturup depoladığı bir üründür. Polenden daha besleyici olduğu, kimyasal içerik olarak daha zengin ve daha iyi sindirilebilir olduğu belirtilmiştir. Fermantasyon sürecinde polen hücre duvarları kısmen yıkıldığı için polene göre sindirilebilirliği daha yüksektir. Kimyasal içeriği polen ile benzerlik göstermekte ancak polenden daha fazla karbohidrat, peptit, serbest aminoasit ve enzim içermektedir. 300'den fazla bileşik içerdiği belirlenmiştir. Kimyasal içeriğinde serbest aminoasitler, karbohidratlar, mineraller, polifenoller, organik asitler, enzimler ve vitaminler bulundurmaktadır. Biyoaktif özellikleri arasında antioksidan, antitümöral, hipotansif ve antimikrobiyal gibi etkiler yer almaktadır (Bakour *et al.* 2022; İzol and Yapıcı 2023a).

Sekonder Metabolitler

Primer metabolitler biyolojik sistemler için gerekli olan yapı taşlarına denir ve bunlar; proteinler, nükleik asitler, karbohidratlar ve yağlardır. Biyolojik işlevlerle doğrudan ilgili olmayan sekonder metabolizma ile üretilen diğer maddelere ise sekonder metabolitler denir. Sekonder (ikincil) metabolitler biyolojik aktivitelerin nedenleri arasında en başta gelen bileşiklerdir. Özellikle antioksidan aktivitelerin nedenleri arasında sekonder metabolitler gösterilmektedir. İlaç, kozmetik ve gıda sanayisinde kullanılmakta ve birçok ilaca ham madde görevi görerek kaynak olmaktadır. İkincil metabolitler antikanser özellik göstererek tümörlü hücrelerin gelişimini yavaşlatmaktadır (Banerjee and Bonde 2011; Lee *et al.* 2004). Sekonder metabolitler içinde en önemli bileşik sınıfında fenolik bileşikler yer almaktadır. Sekonder metabolitlerin içerdiği fenolik bileşik sınıfları Şekil 2’de belirtilmiştir (İzol 2016).



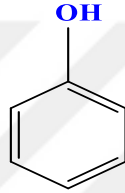
Şekil 2. Sekonder metabolitlerin içerdiği fenolik bileşik sınıfları

Bazı önemli sekonder bileşikler arasında aconitic asit, astragalin, quinic asit, gallic asit, epicatechin, epigallocatechin, catechin, epicatechin gallat, epigallocatechin gallat, acacetin, protocatechuic asit, fumaric asit, chlorogenic asit, protocatechuic aldehit, tannic

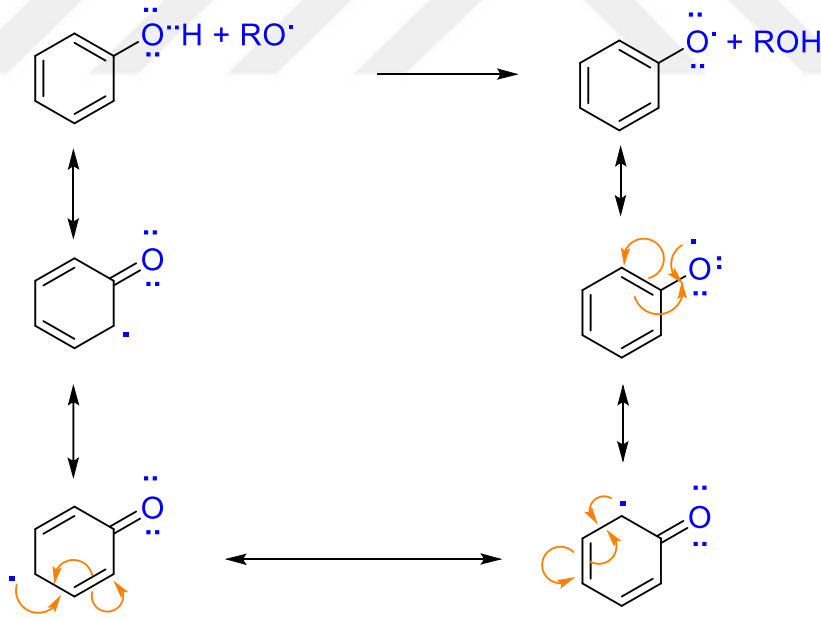
asit, gentisic asit, 4-OH benzoic asit, fisetin, caffeic asit, hesperidin, syringic asit, syringic aldehit, sinarin, daidzin, piceid, ferulic asit, sinapinic asit, *p*-coumaric asit, hesperetin, salicylic asit, mikuelianin, coumarin, rutin, *o*-coumaric asit, ellagic asit, cosmosiin, quercetin, isoquercitrin, quercitrin, nikotiflorin, daidzein, naringenin, genistein, rosmarinic asit, luteolin, kaempferol, apigenin, sinarosid, amentoflavon, vanilin, vanilik asit ve chrysin sayılabilir.

Quinic asit, fenolik asitlerden olup antioksidan, antihepatit, antikanser, antiinflamatuvar, antiviral ve antidiyabetik etkiler gösterdiği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (İnci *et al.* 2023). Flavon türevi bir molekül olan ve kantitatif olarak belirlenen acacetin (5,7-dihidroksi-40-metoksiflavon) ise güçlü antiinflamatuvar ve antikanser aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir (Singh 2020). Endojen doymamış bir dikarboksilik asit olan fumaric asit, antipsoriasis, antiinflamatuvar, nöroprotektif ve kemopreventif aktivite dahil olmak üzere dikkate değer etkileri olduğu ve ayrıca gıda asitliğini düzenlemede aktif rol aldığı bildirilmiştir (Baati *et al.* 2011). Kaempferol bileşeninin önemli antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antialerjik ve antimikrobiyal aktiviteler sergilediği kaydedilmiştir (Bangar *et al.* 2022). Chlorogenic asidin ise antiinflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal ve hepatoprotektif etkileri olduğu bildirilmiştir (Maalik *et al.* 2016). *p*-Coumaric asidin antikanser, antioksidan, antivirüs, antimikrobiyal, antidiyabetik, antihiperlipemi ve antiinflamatuvar gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri gösterilmiştir (Pei *et al.* 2016). Bir flavon türevi olan luteolin, güçlü antioksidan, antiinflamatuvar, nöroprotektif ve antikanser etkilere sahiptir. Özellikle meme kanseri hücrelerine karşı sitotoksik aktivite göstermiştir (Goodarzi *et al.* 2020). Doğal flavonoidlerden biri olan astragalın (kaempferol 3-glukozit) antioksidan, antikanser, nöroprotektif, antiülser, antidiyabetik, antiobezite ve antiinflamatuvar özellikler gibi çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir (Altay *et al.* 2022). Cosmosiin bileşeni apigenin-7-*O*- β -D-glukozit olarak adlandırılır ve önemli biyolojik aktiviteler gösterir. En önemli biyolojik aktivitelerinin antidiyabetik ve sitotoksik aktiviteler olduğu belirtilmiştir (Min *et al.* 2018). Apigenin, insan sağlığı üzerinde olumlu etkisi olan ve sağlık alanında tedavi edici işlevlerinin yanı sıra anti-Alzheimer potansiyeline sahip bir bileşendir (Salehi *et al.* 2019). 4-OH Benzoic asidin antioksidan, antimikrobiyal aktivite, fenoloksidaz ve insan karbonik anhidraz inhibitörleri gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (Rotondi *et al.* 2019). Caffeic asidin antitümör, antioksidan, antifibrozis, antihipertansiyon ve antivirüs etkilerini ortaya koyduğu bildirilmiştir (Jiang *et al.* 2005). Vanilin (4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit) önemli bir tat ve aroma molekülüdür. Birçok doğal üründe bulunmasının yanı sıra antioksidan özellik gösterir (Castan *et al.* 2013). Bitkilerde, balda

ve propoliste doğal olarak bulunan bir flavon olan chrysin (5,7-dihidroksiflavon) genellikle antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser ve antiviral aktiviteler göstermektedir. Ayrıca, chrysinin biyoyararlanımı hakkında birçok çalışma rapor edilmiştir (Mani and Natesan 2018). Naringenin molekülünün biyolojik potansiyelinin güçlü antioksidan, antibakteriyel, antikanser, antiviral ve antifungal aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir. Biyolojik olarak aktif bir bioflavonoid olan amentoflavon'un sitotoksik, antimikrobiyal, antioksidan, karsinojenik ve mutajenik etkileri olduğu bildirilmiştir (Xiong *et al.* 2021). Fenolik bileşiklerin ortak yönü fenol halkası içermeleridir (Şekil 3) Fenolik bileşikler aromatik halkalı yapılarından kaynaklanan Şekil 4'te gösterilen rezonans kararlılığı ve elektron delokalizasyonu nedeniyle radikalik forma geçmezler ve bundan dolayı antioksidan özellik göstermektedir (Gülçin 2020).



Şekil 3. Fenol halkası



Şekil 4. Fenol halkasındaki rezonans kararlılığı

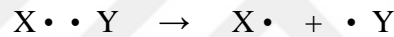
Antioksidanlar

Antioksidanlar, hücrelerde oluşan serbest radikalleri gideren ve oksidatif stresi azaltan moleküllerdir. Oksidatif stres: Oksidasyona neden olan reaktiflerin hücre içinde konsantrasyonunun artması ve antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalmasıyla oluşan

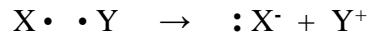
durumdur. Antioksidanları anlamamız için öncelikle serbest radikallerin bilinmesi gerekmektedir. Serbest radikaller, üzerinde ortaklanmamış elektron bulunduran aktif ve kararsız atom, iyon veya moleküllerdir. Molekül veya elementin sağ üst köşesine nokta işareti eklenerek gösterilmektedir. Kararsız yapılarını gidermek için elektron alma eğilimi gösterirler. Kısa ömürlü ve kararsız olmalarına rağmen oldukça reaktif yapıları, radikal olmayan atom ve moleküllere saldırarak onları da serbest radikal haline çevirmektedir. Bu nedenle hücre ve dokulardan elektronları kopararak birçok hastalığın oluşmasına neden olmaktadır. Serbest radikaller “oksidan moleküller” olarak da isimlendirilmektedir (Gülçin 2020).

Serbest radikaller birçok yolla oluşmaktadır. Bu yollar temel olarak 3 maddede özetlenebilir (Wu and Cederbaum 2003):

1. Sıcaklık artışı ile yüksek enerjiye sahip olan elektromanyetik dalgalar neticesinde kovalent bağlar homolitik kopabilmektedir. Bağ kopunca bağdaki elektronlar iki atom tarafından paylaşılacaktır. Bu nedenle ortaklanmamış elektronlar oluşur ve kararsız halde olan bu yapılar serbest radikalleri oluşturmaktadır.



2. Moleküllerde heterolitik bir açılma gerçekleşmesi ile oluşabilir. Sonuç olarak bağdaki iki elektron aynı atomda kalarak ve zıt yüklü iyonların oluşmasına neden olur.



3. Radikal özellikte olmayan moleküle redoks reaksiyonlarında bir elektron transferi yapılarak indirgenme gerçekleşir ise molekülde ortaklanmamış elektron oluşarak serbest radikal meydana gelmektedir (Apak *et al.* 2016)



Kaynak yönünden serbest radikallerin oluşumu dış kaynaklı veya iç kaynaklı olarak açıklanabilir (Karabulut ve Günay 2016). Dış kaynaklar: Pişirme işlemlerinde organik bileşiklerin yanması, su kirleticileri, kirletici gazlar (toluen, ozon, formaldehit, karbonmonoksit vb.), alkol, sigara, egzoz, orman yangınları, X-ray ışınları, mikrodalga ve UV ışınlar, volkanik olaylar, organik çözücüler ve zararlı kimyasallardır. İç kaynaklar ise, yorgunluk, stres, hücre içindeki elektron taşıma sistemi ile taşınan oksijenler, enzimler (NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, stokrom oksidaz), lipid peroksidasyonu, redoks reaksiyonları, araşidonik asit metabolizması, radikal zincir reaksiyonları, patojenlere karşı immun sistem, hormonlar (kortizol ve kateşolamin) olarak belirtilmektedir.

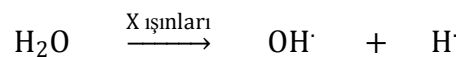
Serbest radikaller ve oksidanlar oksijen, azot ve kükürten türetilerek oluşmaktadır. Azot kaynaklı olanlar ise “reaktif azot türleri (RNS)” olarak, oksijen kaynaklı olanlar “reaktif oksijen türleri (ROS)” olarak isimlendirilmektedir. Moleküler oksijen radikal olmayanlarla yavaş olarak, serbest radikallerle ise kolaylıkla reaksiyona girerek ROS’leri meydana getirmektedir. Ömürleri kısa olup, yarı ömürleri saatlerden nanosaniyelere kadar farklılık göstermektedir (Gülçin *et al.* 2019). Reaktif oksijen, reaktif nitrojen ve oksidan olmayan türler Tablo 1’de verilmiştir (Gülçin 2020, İzol 2016).

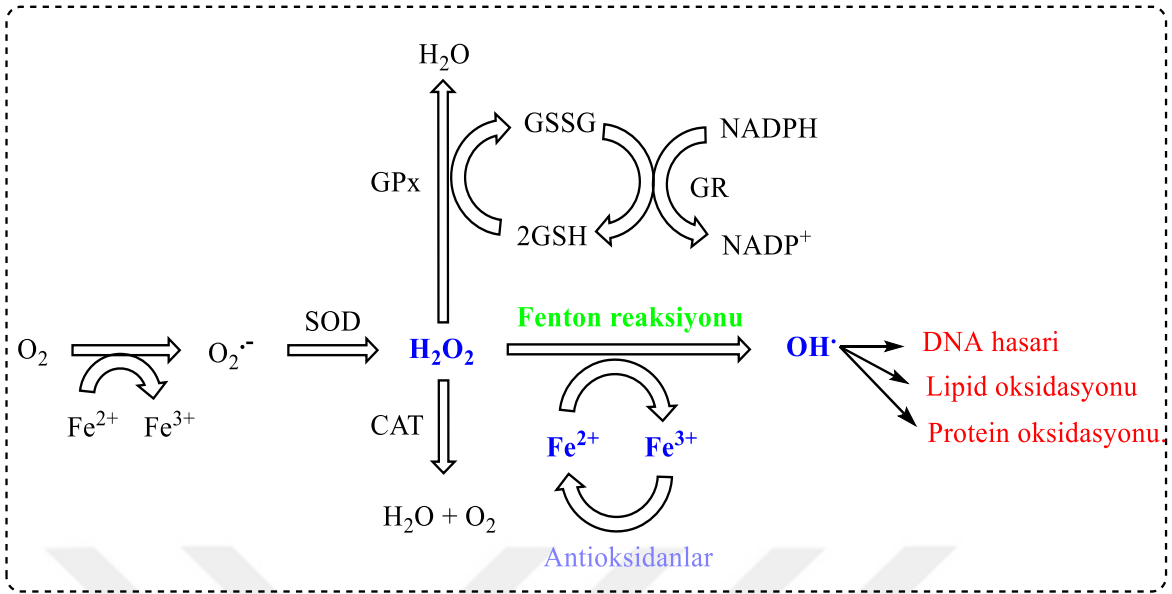
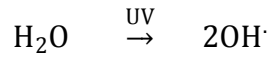
Tablo 1. Reaktif Oksijen, Reaktif Nitrojen ve Oksidan Olmayan Türler

Reaktif Oksijen ve Nitrojen		Oksidan olmayanlar	
Hidroksil radikali	OH•	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Azot Oksit radikali	NO•	Singlet oksijen	¹ Δg ¹ O ₂
Süperoksit radikali	O ₂ • ⁻	Ozon	O ₃
Lipid alkoksil radikali	LO•	Nitröz asit	HNO ₂
Lipid radikali	L•	Nitröz oksit	N ₂ O
Nitrik oksit radikali	NO•	Lipid hidroperoksit	LOOH
Protein radikali	P•	Hipobromöz Asit	HBrO
Alkoksil radikali	RO•	Hipoklorit	HOCl
Azot dioksit radikali	NO ₂ •	Nitroksil anyon	NO ⁻
Tiyil radikali	RS•	Diazot trioksit	N ₂ O ₃
Hidroperoksil radikali	HOO•	Nitrosil katyon	NO ⁺
Peroksil radikali	ROO•	Nitril klorit	NO ₂ Cl
Lipid peroksil radikali	LOO•	Hipokloröz Asit	HClO
		Peroksinitrit	ONOO ⁻
		Peroksinitröz asit	ONOOH

Süperoksit radikali (O₂•⁻) radikaller içinde en kolay ve en fazla oluşan radikaldır. Oksijen molekülünün (O₂) bir elektron alarak indirgenmesiyle çok kararsız ve radikal olan süperoksit oluşmaktadır. Genellikle moleküler oksijene elektron verenler glukoz, demir, flavin nükleotidleri, adrenalin, tiyol bileşikleri ve bakırdır. Radikal miktarının artması ile radikal zincir reaksiyonları ile diğer radikaller meydana gelir. Süperoksit radikallerinin asıl zararları H₂O₂’nin oluşumuna sebep olmaları ve metal iyonlarını indirgemeleridir. O₂•⁻, süperoksit dismutaz enzimi ile H₂O₂’ye dönüştürüldüğünden oksidatif zarara çok neden olmamaktadır (Naidu 2003). H₂O₂’nin oluşumu Şekil 5’te gösterilmiştir.

OH•, suyun X ışınlarına maruz kalmasıyla ve H₂O₂’nin UV ışınlarına maruziyetiyle ve H₂O₂’nin dimetilsülfoksit ile etkileşimi sonucunda oluşabilmektedir (Göçer 2014).





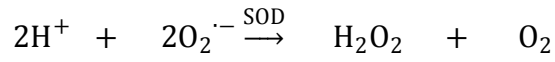
Şekil 5. H₂O₂ oluşumu, giderilmesi ve fenton reaksiyonu yoluyla OH• üretimi

NO• (nitrik oksit radikali) oldukça reaktif olup mangan, bakır, kobalt, demir gibi metallere ve oksijen ile reaksiyona girer. Yine reaktif olan NO molekülünün konsantrasyonu arttığında hücrelerde hasar oluşturmakta, oksidantlardan süperoksit ve hidrojen peroksit ile reaksiyona girip NO₂/NO₃ (nitrit/nitrat), ONOO⁻ (peroksi nitrit) moleküllerini meydana getirmektedir (Gülçin 2020).

HOO• (hidroperoksil radikali), süperoksite pH 4,8'de bir H atomunun bağlanmasıyla meydana gelmekte ve kuvvetli radikal özellik göstermektedir (Sharp *et al.* 2008).

LO• (lipid alkoksil radikali), lipid hidroperoksitlerin Fe²⁺ gibi geçiş metallere elektron göndermesi ile meydana gelmektedir. LOO• (lipid peroksil radikali), alkoksil molekülünün peroksil radikaline dönüşümü ile oluşabildiği gibi Fe²⁺ ile lipid hidroperoksitin indirgenmesi sonucunda oluşabilmektedir (Coffey *et al.* 1995). Lipid peroksil oksidantlarını E vitamini gidermektedir.

H₂O₂ (hidrojen peroksit), serbest radikal olmamasına rağmen oksijen radikallerinin meydana gelmesine neden olduğundan radikal olarak değerlendirilmektedir. Hidrojen peroksit, oksijen molekülüne iki elektron katılmasıyla veya süperoksite bir elektron katılmasıyla oluşabilmektedir. Peroksizomlarda yer alan oksidazlar H₂O₂ üretilmesini sağlamaktadır (Göçer 2014).



Serbest radikaller en fazla hücre zarlarına zarar vermektedir. Hücre zarlarından elektron kopararak kendilerini kararlı yapıp hücre zarlarını kararsız hale getirmekte ve hücre yapısına zarar vermektedir. Biyolojik sistemlerde oksidanlar ve antioksidanlar denge halindedir ve denge bozulursa serbest radikaller meydana gelmektedir. Serbest radikaller ise canlılardaki primer metabolit olan protein, lipid, nükleik asit, karbohidrat gibi biyomoleküllerde hasar oluşturmakta ve bunun sonucunda başta felç, kanser, hipertansiyon, diyabet, bağışıklık sisteminin zayıflaması ve sıtma gibi 100'den fazla hastalığın oluşabileceği yapılan bilimsel çalışmalarla belirlenmiştir (Chaudhary *et al.* 2023; Gülçin 2012).

Oksidanlar proteinleri doğrudan etkilemektedir. Etkilenme düzeyini proteinin amino asit muhtevası ortaya çıkarmaktadır. Oksidanlar yapısında sülfür ve doymamış bağ bulunduran moleküllerle yüksek oranda reaksiyona girme eğilimindedirler. Bu nedenle fenilalanin, sistein, tirozin, triptofan ve metiyonin gibi amino asitleri bulunduran proteinler radikallerle kolay bir şekilde reaksiyona girmektedir. Oksidasyona uğrayan proteinler, son derece reaktif hidroperoksitleri oluşturmaktadır. Bu nedenle oksidasyon geçirmiş proteinler farklı hastalıklara neden olmaktadır (Gülçin and Alwasel 2023; Sarma *et al.* 2010; Devasagayam *et al.* 2004).

Zararları belirtilen ROS'lar, normal aerobik canlılar ile organizmaya faydalı olmak için bağışıklık, solunum, redoksa bağlı sinyal düzenlemeleri için sınırlı sayıda ve düzenli olarak üretilmektedir (Gülçin *et al.* 2006a; Shivakumar and Kumar 2018). Hücredeki ROS'ların % 90'ından fazlası mitokondri iç membranındaki oksijenli solunum reaksiyonları ile üretilmektedir (Wei and Pang 2005). ROS'ların faydalı işlevlerinden bazıları şunlardır: Kanserli ve hasar görmüş hücrelerin ölümlerine neden olmakta, viral veya bakteriyel enfeksiyonlara karşı koruma sağlamakta, mikroorganizmalardaki zararlı etmenlerin ortadan kaldırılmasına, hücre içi depolardan kalsiyum gönderilmesine, inaktif olan büyüme sinyallerinin aktivasyonuna, moleküllerin biyolojik olarak sentezlenmesine neden olmaktadır (Karabulut ve Günay 2016).

Canlı organizmada ortaya çıkan oksidanlara karşı vücutta doğal olarak savunma yapan maddeler şeklinde savunma mekanizmasının içinde olan bileşiklere “antioksidanlar” denir. Antioksidanlar, serbest radikallerin hem oluşumlarını hem protein, lipid, nükleik asit gibi biyomoleküllere verebilecekleri zararları engellemektedir. Vücutta koruyucu bir duvar gibi hareket eden antioksidanlar, kendi elektronlarını verip radikalleri nötr hale çevirirken kendileri serbest radikal haline gelmemektedirler. Bu nedenle antioksidanlar çok

önemlidir. Antioksidanlar, biyolojik sistemdeki organ ve dokuları serbest radikallerin oksidatif hasarına karşı korumakta, oksidatif stresi azaltmakta, hastalıklara karşı tedavi etkisi göstermektedir. Ayrıca, besin ve ilaçların bozulmasına neden olan lipid peroksidasyonunu geciktirmekte ve böylece koruyuculuklarını arttırarak raf ömürlerini uzatmaktadır (Gülçin 2010; Rahaman *et al.* 2023).

Metabolizma sorunsuz çalıştığında mitokondrideki sitokrom sistemi, organelleri serbest radikallerin zararlarından korumaktadır. Sitokrom sistemi tam olarak işlev görmez ve yetersiz kalırsa metabolizmadaki enzimler devreye girmektedir. Enzimler de yetersiz görüldüğünde serbest radikaller hücre zarından elektron koparmak için saldırıya başlamakta ve membranın büyük çoğunluğunu oluşturan lipidlere saldırarak lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu, hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin oksidanlar tarafından alkoller, peroksitler ve aldehitler gibi moleküllere parçalanması olayına denilmektedir. Oluşan moleküller içinde en fazla ortaya çıkan aldehitler, oldukça reaktif özellik göstermektedir. Oluşan aldehitler buldukları konumda difüzyona uğrayarak hücrenin farklı kısımlarında hasar oluşturmaktadır. Bu nedenle hasarlı olan hücrelerdeki lipidlerin fonksiyonlarında farklılık oluşmakta ve görünümleri, besin değerleri ve kaliteleri azalmaktadır. Bu durum ise hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır. Hastalıkların oluşmasını önlemek için yeterli düzeyde C vitamini, E vitamini gibi antioksidan özellik gösteren vitaminler metabolizmada bulunursa lipid peroksidasyonu engellenebilmektedir. Antioksidanlar, lipidlerin bozunmasını engelleyerek gıdaların zararlı hale geçmesini engellemekte ve raf ömrünü de uzatmaktadır. Bundan dolayı gıdaların bozulmasını geciktirmek amacıyla katkı maddesi olarak gıda sanayisinde çok fazla kullanılmaktadır. Katkı maddesi olarak kullanılan antioksidanlar doğal ve sentetik olarak sınıflandırılmaktadır. Bilimsel çalışmalar sonucunda sentetik olanların yan etkileri belirlendiğinden doğal antioksidanlara olan ilgi artmaktadır. Gıda olarak tüketilen doğal ürünlerden antioksidan özelliği yüksek olanların belirlenmesi ve bu ürünlerin farklı sanayi kollarında kullanılması için yapılan çalışmalar sürekli artmaktadır. Arı ürünleri, bitkiler, meyveler, sebzeler, tahıllar ve baharatlar doğal antioksidan kaynağı olabilmektedir. Propolis, arı sütü, arı ekmeği, erkek arı larvası, bal, polen, sarımsak, soğan, üzüm, nar, karabiber, zencefil, zeytinyağı, kivi, kiraz, vişne ve portakal gibi doğal ürünlerin antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (İzol *et al.* 2021; Bursal and Gülçin 2011; Halliwell 1991; Prior and Cao 2000; Gülçin *et al.* 2005a; Gülçin 2005b).

Antioksidanların serbest radikalleri giderme mekanizmaları farklı etkilerle yapılmakta ve bu etkiler şunlardır (Gülçin and Alwasel 2023, Gülçin 2020):

- *Giderme etkisi (süpürücü etki)*: Serbest radikalleri başka moleküllere dönüştürerek etkisi zayıflatıp gidermektedir. Buna örnek olarak antioksidan enzimler ve mikromoleküller verilmektedir.
- *Onarıcı etki*: Elektron kaybederek hasar gören biyolojik molekülleri onararak hasarı giderip yenilenmesini sağlayan etkidir.
- *Baskılayıcı (söndürücü) etki*: Serbest radikallerdeki elektron boşluğunu H atomu ile gidererek aktifliklerini azaltmakta veya durdurmakta olan etkidir. Bu etki sınıfına örnek olarak mannitol, flavonoidler ve vitaminler verilmektedir.
- *Enzim etkisi*: Antioksidan özellik gösteren enzimlerle antioksidanların bağlanma oranını yükselten etkidir. Örnek olarak süperoksit dismutaz enzimi verilebilir.
- *Kinaz eksikliklerini önleme etkisi*: Oksidasyon reaksiyonlarına doğrudan dahil olup durduran etkidir.
- *Zincir kırıcı etki*: Serbest radikalleri kendilerine bağlayıp aktivitesini gidererek zincir kırıcı etki göstermektedir. Bu etki sınıfına seruloplazmin, hemoglobin ve mineraller örnek verilmektedir.

Laboratuvar ortamında üretilen saf maddelerin, gıda veya bitki gibi ürünlerin ekstralarının antioksidan aktivitelerini belirlemek için laboratuvar ortamında *in vitro* yapılan antioksidan kapasite belirleme metotları uygulanmaktadır (Gülçin 2020). Bu yöntemlerde önceden antioksidan aktivitesi yüksek olduğu belirlenen α - tokoferol, BHA, troloks, BHT, askorbik asit gibi bileşikler standart olarak kullanılmakta ve numunelerin antioksidan kapasitesi ile kıyaslanıp antioksidan aktiviteleri belirlenmektedir. Antioksidan aktivite metotlarında reaksiyon mekanizması başlıca iki grupta sınıflandırılmaktadır (Prior *et al.* 2005; Huang *et al.* 2005):

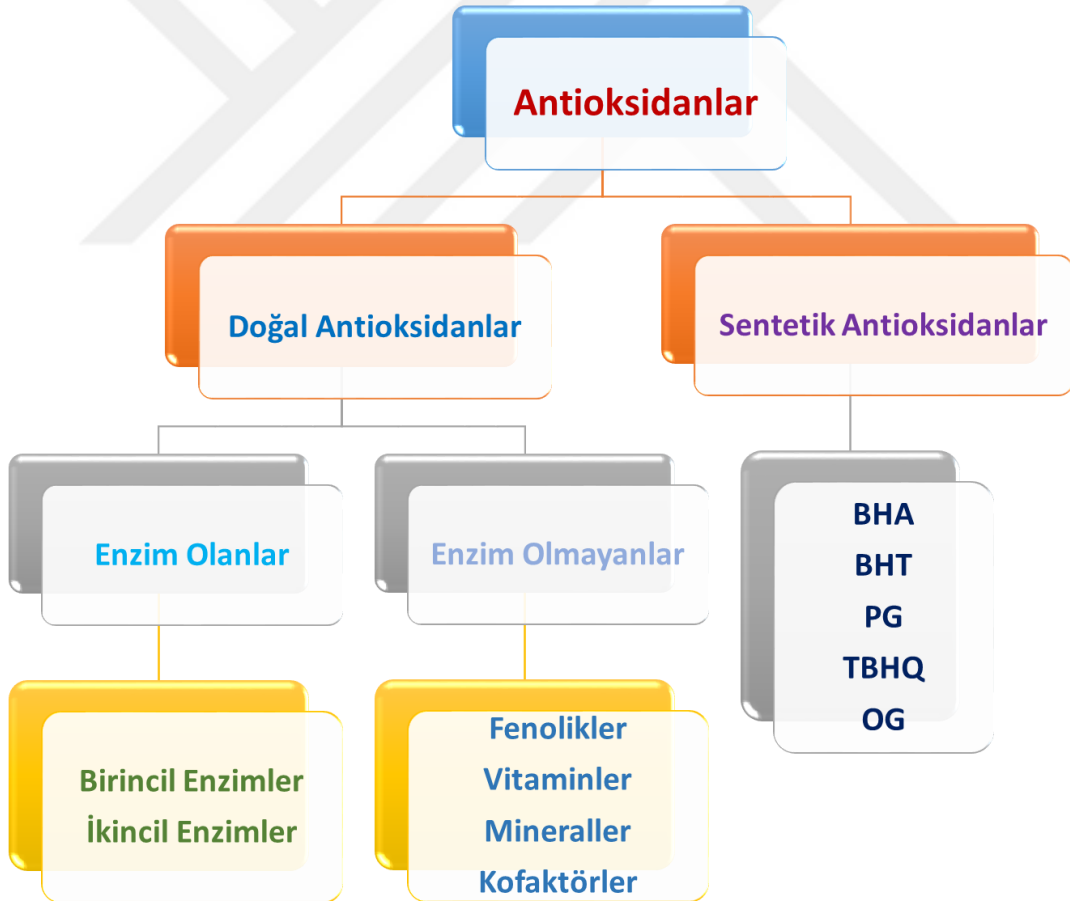
- Hidrojen atomu transferi yapılan reaksiyonlar (HAT)
- Sadece tek elektron transferi yapılan reaksiyonlar (SET)

Antioksidan potansiyeli belirlemek için kullanılan bazı deneyler şunlardır:

- DPPH• giderim aktivitesi deneyi (Blois 1958).
- ABTS^{•+} giderim aktivitesi deneyi (Re *et al.* 1999).
- DMPD^{•+} giderim aktivitesi deneyi (Fogliano *et al.* 1999)
- Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi deneyi (Liu *et al.* 2021).
- CUPRAC (Cu⁺² indirgeme antioksidan kapasitesi) deneyi (Apak *et al.* 2006).
- FRAP (Fe⁺³ iyonu indirgeme gücü) deneyi (Benzie and Strain 1996).

- ORAC (oksijen radikal absorbands kapasitesi) deneyi (Prior and Cao 2000).
- DCFH-DA (Diklorofloresin-diasetat) deneyi (Valkonen and Kuusi 1997).
- TOSC (toplam oksiradikal süpürme kapasitesi) deneyi (Winston *et al.* 1998).
- Fikoeritrin (PE) esaslı yöntemler (Ghiselli *et al.* 1995).
- Folin Ciocalteu deneyi (Singleton *et al.* 1999).
- Siklik voltametri deneyi (Kohen *et al.* 1999).
- Luminol deneyi (Whitehead *et al.* 1992).
- Metal bağlama deneyi (Dinis *et al.* 1994).
- Krosin deneyi (Tubaro *et al.* 1998).
- β -Karoten renk açılım deneyi (Miller 1971).
- TRAP (toplam radikal tutma parametresi) deneyi (Wayner *et al.* 1985)

Antioksidanlar Şekil 6'da verildiği gibi doğal ve sentetik olarak iki gruba ayrılmaktadır.

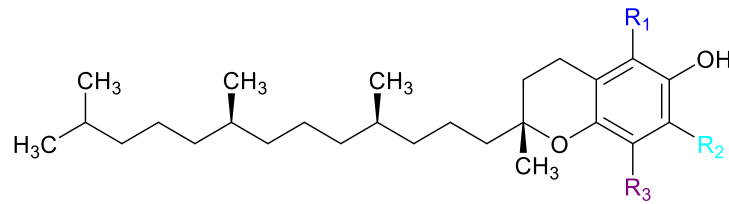


Şekil 6. Antioksidan türleri

Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, tabiatta var edilen arı ürünlerinde, bir çok gıdalarda, bitkilerde, meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Doğal antioksidanların temel kaynağı tabiatta var edilen doğal ürünlerdeki fenolik bileşiklerdir. İnsan diyetinde de antioksidan özellik gösteren çok fazla doğal besin bulunmakta ve bunlar yapısal özelliklerine göre ROS'lerin zararlarını gidermektedir. Diyet antioksidanlarının en önemli temsilcileri tokoferoller, C vitamini ve fenoliklerdir. Arı sütü, bal, polen, propolis ve arı ekmeğinin, meyve ve sebzelerin antioksidan özellik göstererek Alzheimer, katarakt, kalp-damar hastalıkları, diyabet, bazı kanser türleri, akciğer enfeksiyonu, cilt rahatsızlıkları gibi hastalıklara yakalanma oranını azalttığı ve iyileştirici etki gösterdiği bilimsel çalışmalar ile belirlenmiştir (İzol 2023a; Gülçin 2007a; Gülçin 2012; Gülçin 2020). Bazı önemli doğal antioksidanlar şunlardır: A, C (askorbik asit) ve E (tokoferoller) vitaminleri, N-asetil sistein, ürik asit, β -karoten, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz (GPx), miyogloblin, sitokrom-C-oksidad, hidroperoksidaz, ferritin, metiyonin, seruloplazmin, glutatyon ve transferrin (Panglossi 2006).

E vitamini (tokoferol), esansiyel vitaminlerden olup insan vücudunda sentezlenmez ve bu nedenle dışarıdan diyet ile alınmalıdır. Yağda ve organik çözücülerde çözünürken suda çözünmemektedir. Tokoferollerin sekiz izomeri bulunmakta ve bunlardan α -tokoferol izomeri en güçlü antioksidan aktivite göstermektedir. Antioksidanların etki mekanizmalarından giderme, onarma ve baskılama etkilerini yapmaktadır. Tokoferollerin, singlet oksijeni süpürme kapasiteleri yüksek olup küçükten büyüğe doğru sıralaması şöyledir: δ -Tokoferol < γ -tokoferol < β -tokoferol < α -tokoferol. Tokoferollerin kimyasal yapısı Şekil 7'de verilmiştir (Chan *et al.* 1994; Van Der Meulen *et al.* 1997).



$R_1=R_2=R_3=CH_3$: α -Tokoferol

$R_1=R_3=CH_3, R_2=H$: β -Tokoferol

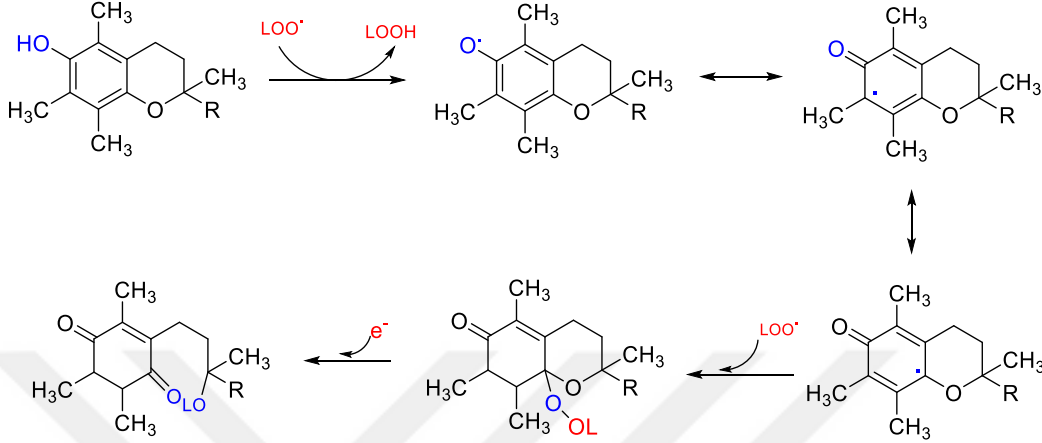
$R_1=R_2=CH_3, R_3=H$: γ -Tokoferol

$R_1=CH_3, R_2=R_3=H$: δ -Tokoferol

Şekil 7. Tokoferollerin molekül yapıları

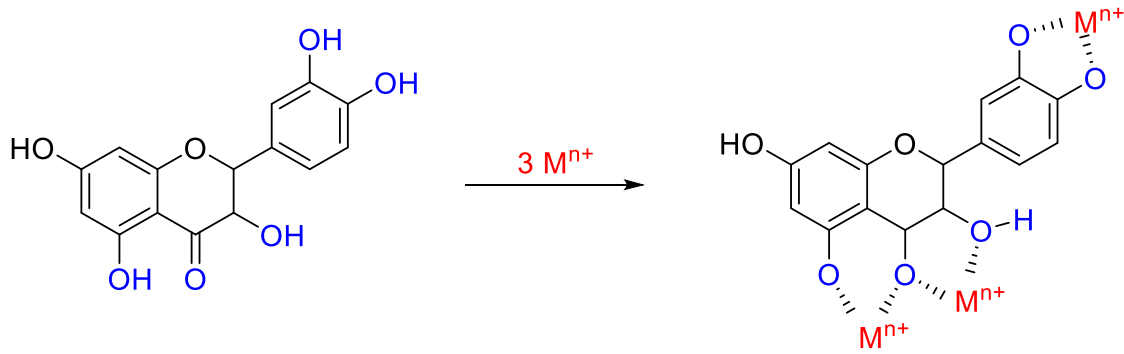
E vitamininin antioksidan özellik bakımından en önemli rolü, lipid peroksidasyonunu azaltmasıdır. Bunu lipid peroksil radikallerine (LOO') hidroksil

gruplarının H atomunu vererek yapmaktadır. Oluşan tokoferol radikali, radikalik özelliğini aromatik halka üzerinde tek elektronunun delokalizasyonu (Şekil 8) ile kaybettirmektedir (Gülçin 2020). Bu şekilde oksidan olarak etki etmemektedir. Ek olarak, α -tokoferolün radikalik özelliğini kaybetmesi C vitamini ile reaksiyonu ile de gerçekleşebilmektedir. Bunların sonucunda hücre zarı ve lipidler korunmaktadır (Packer 1991; Diplock 1998).



Şekil 8. α -Tokoferol'ün radikal giderme mekanizması

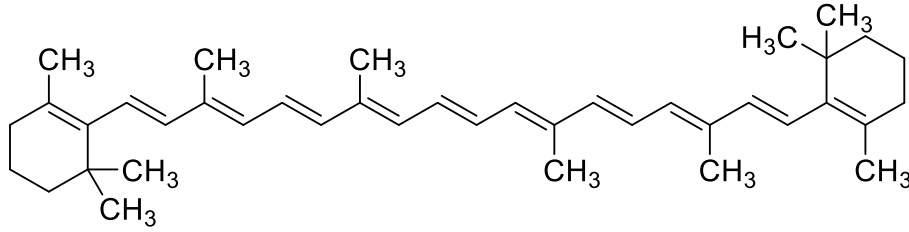
Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri, aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarının yeri ve sayısı ile ilişkili olarak değişmektedir. Doğal antioksidanların, antioksidan özelliklerinin fenolik bileşikler ile oluşturulduğu belirtilmiştir. Fenolik bileşik sınıfında yer alan flavonoidlerin metal şelatlama ile antioksidan mekanizması Şekil 9'da verilmiştir (Göçer 2014; Shen *et al.* 2022).



Şekil 9. Flavonoidlerin metal şelatlama mekanizması

Karotenoidler için en önemli bileşik, β -karoten'dir. Molekül yapısı Şekil 10'da verilen β -karoten havuç ve yeşil yapraklı bitkilerde bulunan doğal antioksidanlardandır. Vitamin A'nın ön maddesi olup barsaktaki epitel hücrelerde A vitaminini oluşturmaktadır. Antioksidan aktivitesi yüksek olup singlet oksijeni bastırmakta, peroksil radikalleriyle doğrudan reaksiyona girmekte, süperoksit radikalini gidermektedir. Gıda ve ilaç endüstrisi

için önemli bir antioksidan olup margarinelere ve peynir ürünlerine katılmaktadır (Bursal *et al.* 2021, Gülçin 2012).



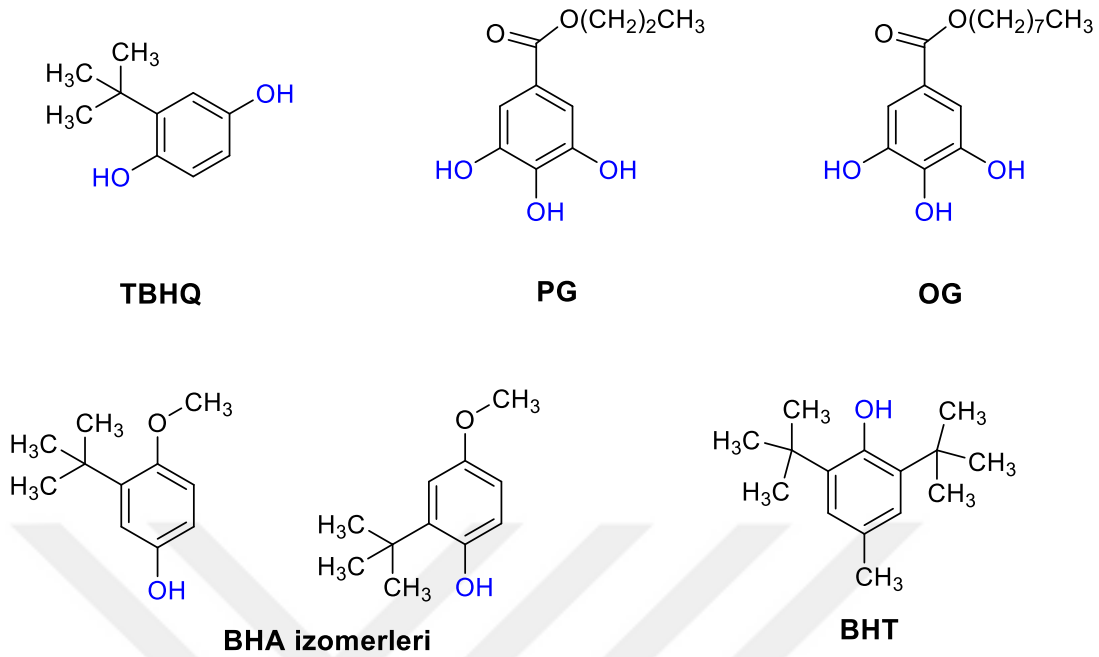
Şekil 10. β-Karotenin molekül yapısı

Doğal antioksidan sınıfında yer alabilen bazı önemli bileşikler arasında L-adrenalin (Gülçin 2009), quercetin (Song *et al.* 2020), rezveratrol (Gülçin 2010), rozmanirik asit (Nar 2011), L-karnitin (Gülçin 2006b), melatonin (Gülçin *et al.* 2008), morfin (Gülçin *et al.* 2004), serotonin (Gülçin 2008), L-tirozin, L-dopa (Gülçin 2007), propofol (Gülçin *et al.* 2005a), olivetol (Taslami 2017), tangeretin (Ashrafizadeh *et al.* 2020), genistein, formononetin, scopoletin (Durmaz 2015), kurkumin (Ak and Gülçin 2008), sinefrin, fenilefrin (Göçer 2014), oktopamin (Çağlayan 2013), apomorfin, timol, humik asit (Şehitoğlu 2012), quinic asit, malic asit, luteolin, gallic asit, *p*-coumaric asit, chlorogenic asit, ferulic asit, caffeic asit (İzol *et al.* 2021) sayılabilir.

Sentetik Antioksidanlar

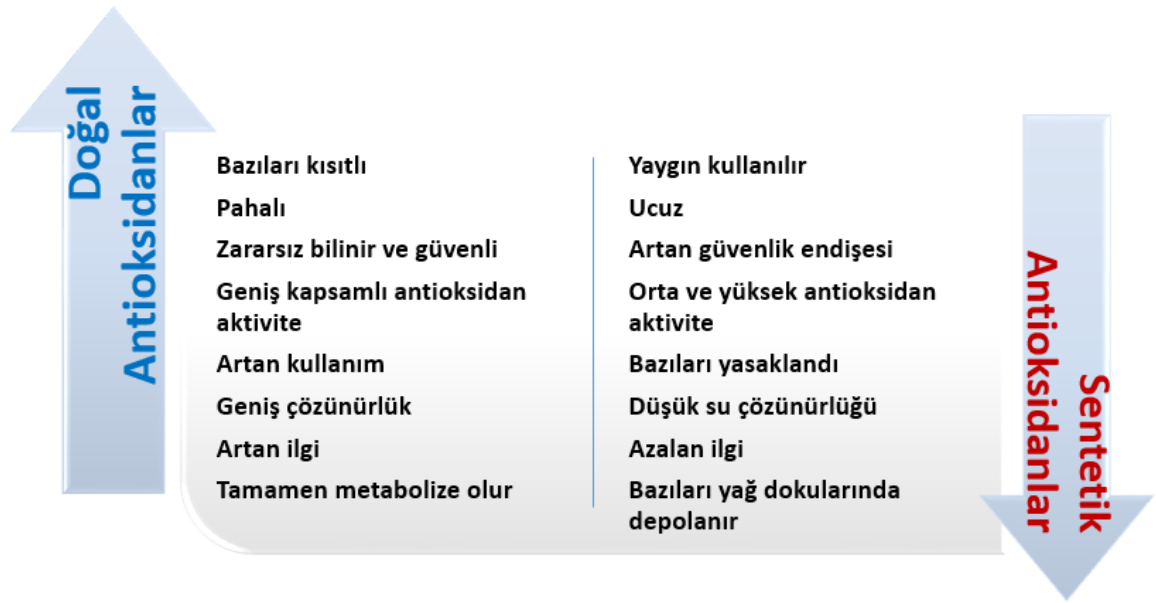
Sentetik antioksidanlar laboratuvar ortamında inorganik maddelerden üretilen bileşiklerdir. Doğal antioksidanlarla karşılaştırmak için standart bir antioksidan aktivite ölçüm sistemine sahip olmak ve gıdalara dahil edilmek üzere geliştirilmiştir. Gıdalara, çeşitli işlemlere ve koşullara dayanabilmeleri ve raf ömrünü uzatmaları için eklenmektedir. Yapılan çalışmalarda aksi ifade edilse de, neredeyse işlenmiş gıdaların tümünde güvenli olarak bilinen sentetik antioksidanlar bulunmaktadır. Sentetik antioksidanlar sıvı ve katı yağların ve lipid bulunduran diğer gıdalarda lipid oksidasyonunu geciktirmek veya başlamasını önlemek amacıyla gıdalara bilinçli şekilde eklenmekte ve 70 yılı aşkın bir süredir gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Antioksidanlara yönelik yiyecek ve içecek pazarının 500 milyar dolarlık bir sektör olduğu ve yılda %5-7 oranında büyüdüğü bildirilmekte ve ilaç, kozmetik ve gıda sanayinde kullanılmaktadır. Balık, et, patates gibi ürünlerde antioksidanlar koruyucu olarak ve renk stabilizesinin sağlanması amacıyla kullanılmaktadır. En çok kullanılanlar, fenolik bileşik sınıfında olan Oktil Gallat (OG), Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT), Propil Gallat (PG), Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA), Tersiyer Bütıl Hidrokinon (TBHQ)'dır (Şekil 11). Doğal olmayan antioksidanlar,

standart antioksidanlar olarak doğal ürünlerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Gülçin 2012, Gülçin 2020).



Şekil 11. Sentetik antioksidanların kimyasal yapısı

BHT ve BHA, gıda, farmakolojik uygulamalar ve antioksidan ile ilgili bilimsel çalışmalarda çoklukla kullanılmaktadır (Bursal *et al.* 2021). BHA, özellikle kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu kontrol etmekte etkilidir (Jittrepotch *et al.* 2006; Lee *et al.* 2005). BHT, hem antioksidan hemde antikanserojen potansiyele sahiptir. BHT ve BHA'nın karaciğer hasarına neden olduğu ve yüksek konsantrasyonlarda kullanıldıklarında kanser etkisi gösterdiğinden şüphelenilmektedir. Bu nedenle doğal olmayan antioksidanlara güven problemi ortaya çıkmıştır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), sentetik antioksidanların potansiyel zararlarına karşı gıdalardaki kullanımını sıkı bir şekilde denetlemekte ve yasal olarak sınırlandırmaktadır. Sentetik antioksidanların zararlarına karşın doğal antioksidanların tercih edilmesi ile bu problemin önüne geçilmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Yaklaşık olarak son kırk yıldır doğal antioksidanlar sentetiklere alternatif olacak şekilde çalışılmaktadır. Doğal antioksidanların sentetik olanlara karşı tercih edilmesi tüketiciler ve bilim insanları tarafından artan bir ilgi ile devam etmektedir. Sentetik antioksidan ve doğal antioksidanların avantaj ve dezavantajları Şekil 12'de sunulmuştur (Gülçin 2012; Gülçin 2020).



Şekil 12. Doğal ve sentetik antioksidanların avantaj ve dezavantajları

Enzimler

Enzimler, özel bir substrat molekülüne bağlanarak ve onunla etkileşime girerek kimyasal reaksiyon hızını artıran, hiçbir yan ürün oluşturmayan biyolojik katalizör olan proteinlerdir. Büyük bölümü protein yapısında olduğundan proteinler olarak belirtilmekte ancak çok az bir kısmı ribozim yapısındadır. Enzim substrat etkileşimi, substratın enzimin aktif bölgesine bağlanmasıyla gerçekleşir. Enzimler, çoğu zaman belirli bir substrat türüne spesifik olarak çalışmaktadır. Reaksiyon hızını yaklaşık 10^8 - 10^{20} kat arttırmaktadır. Ayrıca DNA şifrelerinin transer edilmesi görevini de yapmaktadır. Canlı sistemlerdeki tüm kimyasal tepkimeler enzimler ile gerçekleştirilmektedir (Yapıcı and İzol 2023).



Enzimlerin önemi şu şekilde özetlenebilir:

- *Hızlandırıcılar:* Enzimler, biyolojik reaksiyon hızını artırarak hücrel süreçleri daha etkili hale getirmektedir.
- *Spesifiklik:* Her enzim, belirli bir substrat veya substrat grubu ile spesifik bir etkileşime girer, bu da biyolojik süreçlerin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır.
- *Regülasyon:* Enzimler, hücrel aktivitelerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. İhtiyaç duyulan anlarda aktive olmakta ve gereksiz durumlarda inhibe olabilmektedir.

- *Enerji Üretimi:* Enzimler, hücrelerde enerji üretiminde (örneğin, glikoliz, Krebs döngüsü) kritik bir rol oynamaktadır.
- *DNA Replikasyonu ve Protein Sentezi:* Enzimler, DNA replikasyonu, transkripsiyon ve translasyon gibi genetik materyal üzerindeki süreçleri düzenlemektedir.
- *Bağışıklık Sistemi:* Bağışıklık sistemine dahil olan enzimler, mikroorganizmalarla savaşarak vücudu koruma görevini yerine getirmektedir.

Bu nedenlerden dolayı enzimler, yaşamın temel süreçlerini düzenlemede kritik bir rol oynamakta ve biyolojik sistemlerin işleyişini mümkün kılmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu 2014).

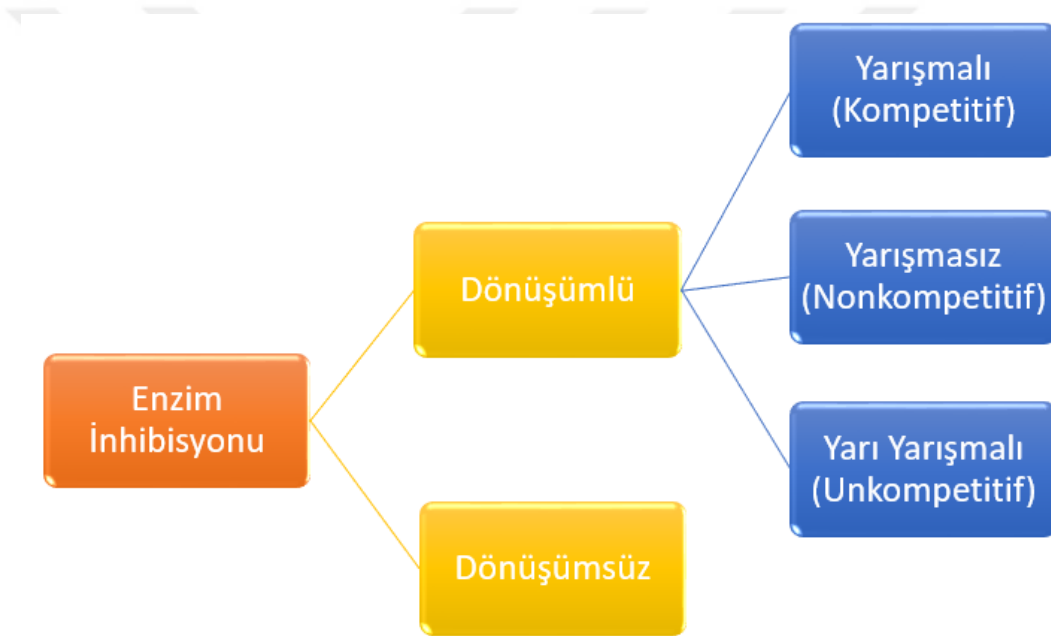
Uluslararası enzim komisyonu (E.C.) enzimleri katalizledikleri tepkime mekanizmaları ve türlerine göre 6 sınıfa ayırmıştır. Bunlar şunlardır (Taslami *et al.* 2017; Keha ve Küfrevioğlu 2014):

1. *Oksidoredüktazlar:* Redoks (indirgenme-yükseltgenme) reaksiyonlarına katılır. Elektron transferini katalizleyerek bir molekülü indirgeyip diğerini oksitleyebilmektedir. Örneğin, alkol dehidrogenaz alkolün oksidasyonunu katalizlemektedir.
2. *Transferazlar:* Bu enzimler, bir molekülden diğerine belirli bir grup transferini katalize eder. İki substratlar arasında hidrojen dışındaki grupların transferini katalizleyen enzimlerdir. Örneğin, DNA polimeraz, nükleotid gruplarını bir DNA zincirine ekleyerek nükleik asit sentezini katalize etmektedir.
3. *Hidrolazlar:* Hidrolazlar, hidroliz reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Glikozid, peptid, anhidrit ve ester gibi bağların bir su molekülünün katılarak hidroliz edilmesini katalizlemektedir. Su molekülünü bir substratın kimyasal bağlarını kırıp ekleyerek parçalamaktadır. Lipazlar, amilazlar ve peptidazlar bu gruba örnektir.
4. *Liyazlar:* Hidroliz mekanizması kullanılmadan substratlardan grupların ayrılması ve çift bağların oluşması reaksiyonlarını katalizlemektedir.
5. *İzomerazlar:* Bir molekülün izomerlerine dönüşümü katalize eder. Bu, molekülün atomlarının düzenindeki değişiklikleri içermektedir. Yapısal, geometrik ve optik izomerlerin birbirlerine dönüştürülmesi reaksiyonlarını katalizlemektedir. Triozfosfat izomeraz, gliserinaldehitin izomerizasyonunu katalize eder.
6. *Ligazlar:* Bu enzimler, iki molekülü birleştiren reaksiyonları katalizlemektedir. Bu genellikle ATP (adenozin trifosfat)'ın enerji sağladığı reaksiyonları içermekte ve

yüksek enerjili olan ve yapılarında fosfat grubu bulunan ATP, GTP (guanozin trifosfat) gibi bileşiklerden fosfat bağı açılması sonucunda meydana gelen enerji ile iki molekülün bir birine bağlanması reaksiyonlarını katalizlemektedir. DNA ligaz, iki DNA molekülünü birleştirme sürecinde rol oynar.

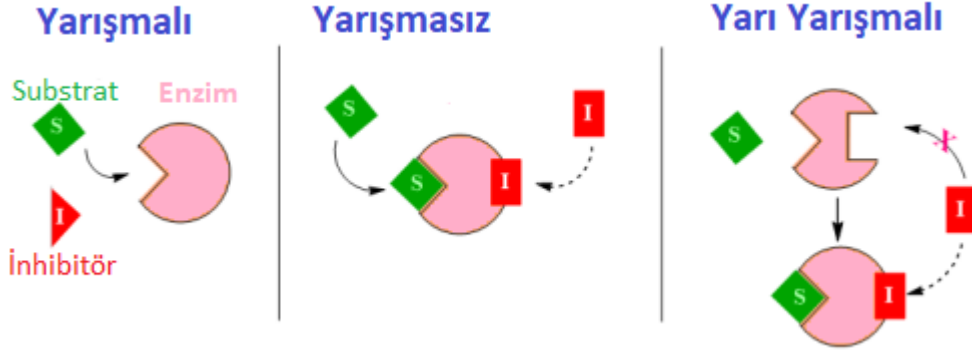
Enzimlerin bazı bileşikler ile aktivitelerinde değişiklik yapılmaktadır. Enzim aktivitelerinin sonlandırılması ya da düşürülmesine inhibisyon denir. Enzim inhibisyonuna neden olan bileşiklere ise “inhibitör” denir. Enzim inhibisyonu biyolojik sistemlerde kontrol mekanizması görevi görmektedir. Birçok hastalığın tedavisinde de enzim inhibisyonlarından faydalanılmaktadır. Ayrıca çoğu ilaç, enzim inhibisyonu yolu ile etki göstermektedir (Keha ve Küfrevioğlu 2014).

Enzim inhibisyonunun farklı türleri bulunmaktadır. Bu türler Şekil 13’te verilmiştir.



Şekil 13. Enzim inhibisyon türleri

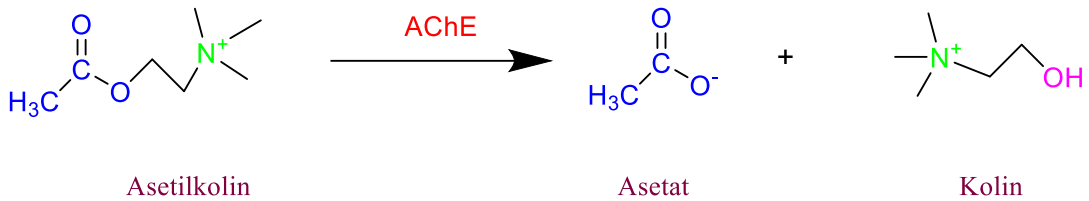
Dönüşümsüz inhibisyon türünde enzim ve substrat birbirine çok sıkı bağlandığından geri dönüşümü olmamaktadır. Bu bağlanma inhibitörün enzime kovalent bağlanması ile veya çok zor ayrışabilen bir kompleks oluşturmasıyla gerçekleşmekte ve enzimi bu bağlanma ile inhibe etmektedir. Dönüşümlü inhibisyon türleri olan yarışmalı, yarışmasız ve yarı yarışmalı inhibisyonların şematize edilmiş hali Şekil 14’te verilmiştir.



Şekil 14. Dönüşümlü inhibisyon türleri şematize hali

Asetilkolinesteraz

Asetilkolinesteraz (AChE; E.C.3.1.1.7), enzimi glikoprotein yapısındadır. Beyin, sinir hücreleri, kas ve eritrositlerde bulunmaktadır. İnsan vücudunda en fazla bulunduğu organ beyindir. Şekil 15’te gösterildiği gibi sinaptik boşluklardaki asetilkolini, kolin ve asetata ayırmakta ve sinir uçlarında biriken kimyasal bileşikleri parçalamaktadır (Gülçin *et al.* 2019; Yılmaz *et al.* 2023). İlk olarak saflaştırılması, 1938 yılında elektrik balığının (*Torpedo marmorata*) elektrik üreten dokusundan gerçekleştirilmiştir (Philips 1996). Yapısında β ve α -heliks tabakaları olup aktif merkezinde katalitik grup olarak ise histidin, serin ve glutamat amino asitleri bulunmakta ve aktif merkezin çevresini ise 14 aromatik rezidü sarmaktadır. Molekülün yüzeyinde üç substratı bağlama alanı vardır. Üç boyutlu yapısını ise Oakeshott ve arkadaşları ortaya çıkarmışlardır (Oakeshott *et al.* 1999; Yapıcı and İzol 2023).



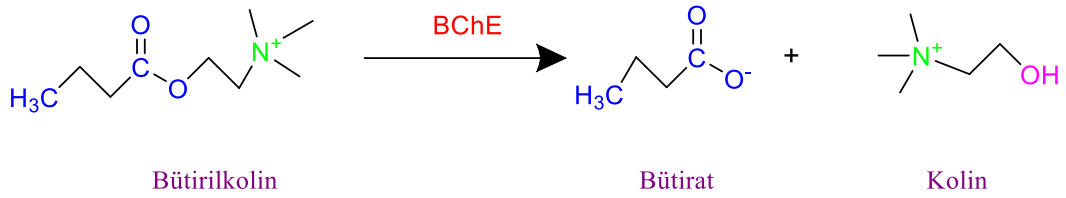
Şekil 15. Asetilkolinesteraz enzimi ile asetilkolin’in asetat ve kolin’e hidrolizi

Asetilkolin, bir sinir impulsu (uyarı) iletilirken sinir hücrelerinden salınan bir nörotransmitterdir. Bu nörotransmitter, sinir uyarısını bir nöronun (sinir hücresi) uç kısmından diğerine ileten sinaps adı verilen bağlantılarda görev yapar. Asetilkolin ayrıca kas kasılmasını da düzenlemektedir. Motor nöronlar, asetilkolin salarak kas liflerine uyarı ileterek kasların kasılmasını gerçekleştirmekte ve bu olay kasların istemli hareketlerde rol almasını sağlamaktadır. Asetilkolin ve diğer nörotransmitterlerin düzenli çalışması, sinir sisteminin sağlıklı bir şekilde işleyebilmesi ve kas sistemi için önemlidir. AChE, asetilkolini inaktive ederek sinir uyarısının devam etmesini önlemektedir. Bu işlemi sinir

uçlarından uzaklaşıp sinapsda n6ral impulsun iletim g6revini yapan asetilkolinin hidrolizini katalizleyerek gerçekleştirmektedir. Hidroliz reaksiyonu iki basamakta gerçekleşmekte ve enzim ilk basamakta elektron vererek n6kleofil işlevi yapmakta ve sonrasında ise serin rezid6s6n6n OH grubu ile asetilkolini asetat ve koline parçalamaktadır (Demir and Turkoglu 2005). Bu işlem sonucunda sinir iletileri sonlanmaktadır. Sinir h6crelerindeki asetilkolinin aktivitesi çok azalırsa sinir iletimi bloke olur ve bu sinir iletiminin oluşmaması insanlarda n6rolojik bir hastalık olan Alzheimer'ın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu hastalık durumunda beyindeki asetilkolin miktarının azalması sonucu beyin dokuları zarar g6rmektedir. Beyin dokuları zarar g6ren insanlarda hafıza problemleri ortaya çıkmaktadır. Kolinesteraz enzimlerinin h6cre yenilenmesinde ve stresi azaltmada da rol oynadıkları belirtilmiştir (Yapıcı and İzol 2023; G6lin *et al.* 2019; Pope *et al.* 2005; G6er 2014; Koçancı and Aslım 2016).

B6tirilkolinesteraz

B6tirilkolinesteraz (BChE; E.C.3.1.1.8), tetramerik glikoprotein yapısında olan bir enzimdir. Şekil 16'da g6sterildiği gibi b6tirilkolini (BCh), b6tirat ve koline hidrolizleyerek parçalamaktadır (İzol 2016). V6cuttaki sentez organı karaciğer olup buradan kana karışmakta ve akciğer, kalp, beyin, ince barsak gibi organlarda, kas ve yağ dokusu gibi dokularda da bulunmaktadır (Dave *et al.* 2000). Toksik bileşikleri asetilkolinesteraza ulaşmadan detoksifiye etme 6zelliği vardır. B6tirilkolinesterazın temel g6revi, asetilkolin ve diğer kolinester t6revlerini parçalamaktır. Bu parçalama işlemi, sinir impulsunun iletiminin sona ermesini sağlar. B6tirilkolinesteraz, asetilkolini parçalayarak sinir uyarısını sonlandırır ve sinir h6creleri arasında iletişimi d6zenlemektedir. Bazı ilaçlar, sinir uyarılarını etkileyerek belirli etkileri gerçekleştirmektedir. Bu ilaçların etkilerini sonlandırmak için b6tirilkolinesteraz 6nemlidir. 6rneğin, kolinesteraz inhibit6rleri, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılır. Bu ilaçlar, b6tirilkolinesteraz'ın aktivitesini engeller ve asetilkolin seviyelerini artırarak sinir iletimini iyileştirmektedir (Massoulie *et al.* 1993). BChE ve AChE enzimler çok benzer yapıdadır ve bu da enzimlere karşı spesifik inhibit6r geliştirmeyi zorlaştırmaktadır (G6lin *et al.* 2020).



Şekil 16. Bütirilkolinesterazın bütirilkolin'i bütirat ve koline hidrolizi

α -Amilaz

α -Amilaz (E.C.3.2.1.1), özellikle karbohidratları parçalamakla görevli olan bir sindirim enzimidir. Bu enzim, amilaz ailesine aittir ve genellikle tükürük ve pankreas sıvılarında bulunur. Canlı olan organizmalarda bulunmaktadır (İzol and Yapıcı 2023b).

α -Amilaz'ın özellikleri ve görevleri:

1. *Karbohidrat Parçalanması:* α -Amilaz, kompleks karbohidratları daha basit şekerlere parçalayarak sindirim sürecine yardımcı olur. Özellikle nişasta ve glikojen gibi polisakkaritleri, α -1,4-glikozid bağlarını hidroliz ile keserek daha küçük oligosakkaritlere dönüştürmektedir.
2. *Mide ve Pankreas Salgıları:* α -Amilaz, başta tükürük bezleri tarafından salgılanan tükürük amilazı olmak üzere, pankreastan salgılanan pankreatik amilaz şeklinde iki ana türde bulunabilir. Bu enzimler, ağızda ve ince barsakta karbohidrat sindirimine katkıda bulunmaktadır.
3. *Optimal pH ve Sıcaklık:* α -Amilazın optimal pH aralığı genellikle hafif asidik koşullarda, yaklaşık 6,7 ila 7,0 arasında bulunur. Sıcaklık etkinliği değiştirebilir, ancak genellikle vücut sıcaklığına (37°C) yakın sıcaklıklarda etkinlik göstermektedir.
4. *Klinik ve Tanısal Kullanım:* Bazı durumlarda, α -amilaz düzeyleri klinik olarak ölçülerek pankreas veya tükürük bezleri ile ilgili sorunları belirlemek amacıyla kullanılabilir. Pankreatit gibi durumlar, normalden yüksek α -amilaz düzeylerine neden olabilir.

α -Amilaz, karbohidratların sindirimine önemli bir katkıda bulunan bir enzim olup, sindirim sistemi sağlığının değerlendirilmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca 2-3 gün kadar ekmeğin raf ömrünü uzattığı için gıdalarda çok fazla kullanılmaktadır. Ticari olarak kullanılan ilk enzimin α -amilaz olduğu belirtilmiştir (Taslimi 2017).

α -Glikozidaz

α -Glikozidaz (E.C.3.2.1.20) enziminin sistematik adı α -D-glikozit glikohidrolaz'dır. α -Glikozidaz, karbohidratların sindiriminde rol oynamakta ve α -glikozid bağlarını hidroliz etmektedir. Bu enzim, glikozid bağları içeren substratları parçalayarak serbest glukoz ve diğer bileşenleri oluşturur. Özellikle bitkilerde ve bazı bakterilerde bulunan bu enzim, bitkisel hücre duvarlarında bulunan polisakkaritleri parçalayarak glukoz ve diğer karbohidratları serbest bırakmaktadır. Spesifik olarak substratın indirgeyici olmayan uç bölgesinden bir D-glukoz molekülünü hidroliz ederek glukozu serbest hale çevirmektedir. Glikozid bağlarını parçalayarak glukozun serbest bırakılması, hücrel glukoz regülasyonunda önemli bir rol oynamakta ve bu, enerji üretimi ve hücrel metabolizma için oldukça önem arz etmektedir (İzol and Yapıcı 2023; Taslimi and Gülçin 2017). α -Glikozidaz, barsak hücrelerinin fırçamsı kenar yüzey zarlarında bulunmaktadır. Buradaki α -glikozidaz, kompleks yapıdaki karbohidratların parçalanmasını gerçekleştirir. Ayrıca barsak mukoid hücrelerinden de salgılanır. Buradaki α -glikozidaz ise polisakkarit ve oligosakkaritleri, glukoz ve fruktoz birimlerine parçalar. Bu monosakkaritler barsak duvarından kolay bir şekilde emilerek kana geçmektedir (Gülçin *et al.* 2018). α -Glikozidaz enzimleri laktaz, maltaz, sukraz, glukoamilaz ve izomaltaz gibi enzimlerin örnek olarak verilebileceği bir grup enzimler sınıfını oluşturmaktadır.

Diyabet hastalığı, kandaki glukoz konsantrasyonunun çok fazla artmasıyla oluşan metabolik bir hastalık olup ve günümüz insanlığında en fazla görülen hastalıklardan biridir. Hiperglisemi kan şekerinin yüksek olduğu duruma denilmekte ve hiperglisemi durumunda tekrar glukoz yüklenmesi sonucu mitokondride ROS üretimi tetiklenmektedir. Bunun sonucunda mitokondrideki işlevlerde sorunlar başlamaktadır. Oksidanlar ve oksidatif stres, diyabet hastalığı nedenleri arasında yer almaktadır. Kandaki karbohidrat konsantrasyonunun artmaması için α -glikozidaz ve α -amilaz enzimlerinin işlevlerinin azalması gerekmekte ve bu nedenle diyabet hastalığında bu enzimlerin inhibisyonu tedavi yöntemleri olarak uygulanmaktadır. Bu yöntemle diyabet ve hipergliseminin kontrol altına alınması oldukça önemlidir (İzol and Yapıcı; Gülçin *et al.* 2019).

Karbonik anhidraz

Karbonik anhidraz enzimleri (CA: E.C.4.2.1.1), karbon dioksitin su ile reaksiyonunu katalizleyen enzimler olarak tanımlanmaktadır. CA, doku kılcal damarlarında karbon dioksitin bikarbonata dönüşümünü hızlandırmakta, akciğer pulmoner kapilerde ise bikarbonatın karbondioksite dönüşümünü katalizlemekte ve önemli biyokimyasal süreçlerde rol oynamaktadır. Sistematik adı karbonat hidroliyazdır. Solunum

olayında yer almakta ve içeriğinde Zn^{2+} bulunduran metaloenzim sınıfında yer almaktadır. Çinko, aktiviteyi artırıcı olarak etki etmektedir. CA'nın keşfi 1932 yılında yapılmış ve saflaştırılma işlemi ilk kez sığır eritrositlerinden yapılmıştır. Enzimin aktifleşmesi için katalitik bölgesinde yer alan Zn^{2+} iyonuna OH grubunun bağlanması gerekmektedir, aksi durumda inaktiftir. CA'nın, kardiyovasküler düzenlemeler, asit-baz dengesini gerçekleştirme, CO_2 'nin suda çözünüp taşınması ve vücuttan atılması, iyon değişimleri gibi fonksiyonları da gerçekleştirdiği belirlenmiştir (Göçer ve Gülçin 2011).

CA enziminin onaltı izoenzimi bulunmakta ve CA I ve CA II en önemli izomerlerden olarak kabul edilmektedir. CA I çeşitli dokularda bulunmakta, özellikle kırmızı kan hücrelerinde, böbreklerde ve pankreasta bulunmaktadır. Kırmızı kan hücrelerinde, oksijen ve karbon dioksit taşınımına yardımcı olur. CA I, dokulara oksijen taşındığında karbon dioksitin kırmızı kan hücrelerine geri taşınmasını hızlandırır. Böbreklerde, asit-baz dengesini ve elektrolit dengesini düzenlemede rol oynar. CA II özellikle böbrek, barsaklar ve mide mukozasında bulunur. Ayrıca gözde de bulunabilir. Böbreklerde, bikarbonat ve protonların geri emilimini düzenleyerek idrarın pH'sını kontrol eder. Mide mukozasında, mide asidinin üretimini düzenleyerek mide pH'sını kontrol etmektedir. Gözde, gözyaşı oluşumuna katkıda bulunur. CA VIII, CA X ve CA XI izoenzimlerinin katalitik etki göstermedikleri belirlenmiştir (Beydemir and Gülçin 2004; Supuran 2008). CA II'nin saflaştırılması daha kolaydır. Bundan dolayı hem ucuzdur hem de çok yaygın olarak kullanılmaktadır (Göçer 2014). Karbonik anhidrazların katalizledikleri reaksiyonlar Tablo 2'de verilmiştir (Supuran and Scozzafava 2001).

Tablo 2. Karbonik Anhidraz Enziminin Görev Aldığı Reaksiyonlar

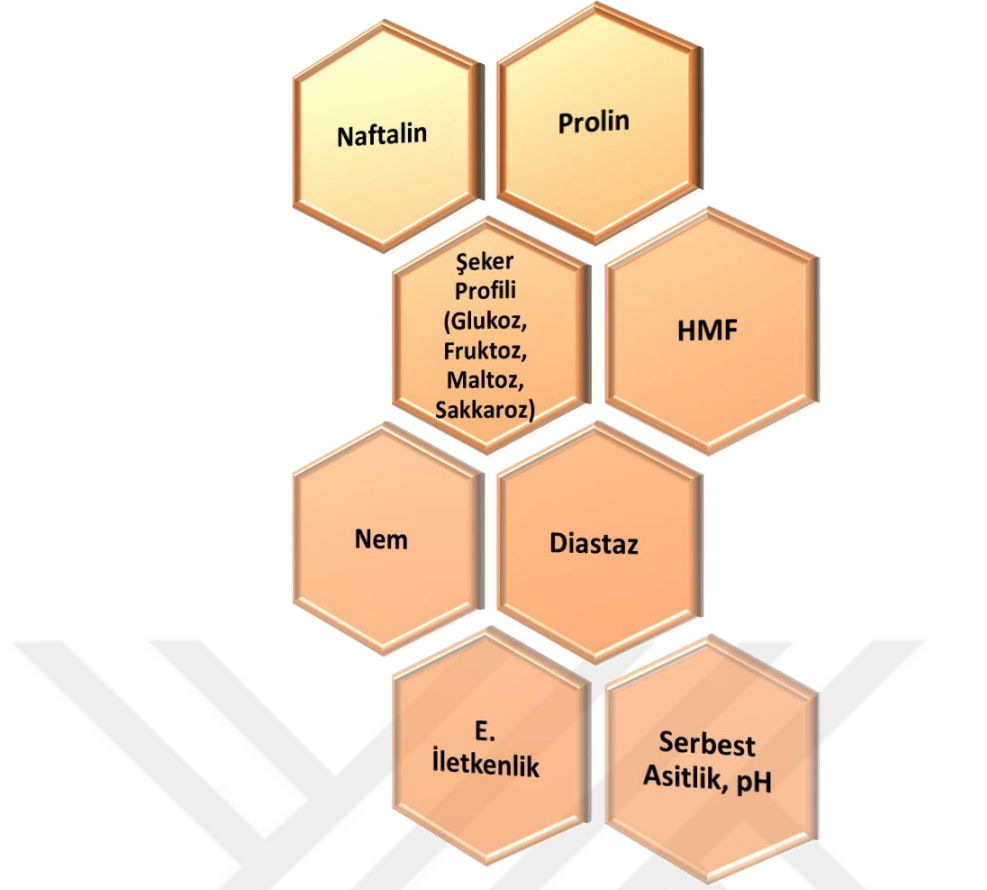
1.	$CO_2 + H_2O \leftrightarrow HCO_3^- + H^+$
2.	$NH=C=NH + H_2O \leftrightarrow H_2NCONH_2$
3.	$NH=C=O + H_2O \leftrightarrow H_2NCOOH$
4.	$RCHO + H_2O \leftrightarrow RCH(OH)_2$
5.	$RCOOAr + H_2O \leftrightarrow RCOOH + ArOH$
6.	$RSO_3Ar + H_2O \leftrightarrow RSO_3H + ArOH$
7.	$RSO_2Cl + H_2O \leftrightarrow RSO_3H + HCl$

Karbonik anhidraz enzim inhibisyonu birçok hastalık tedavisinde kullanılmaktadır. Epilepsi ve glokom bu hastalıklara örnek olarak verilmektedir (İnci *et al.* 2023; Akıncıoğlu vd 2013). CA'nın inhibisyonu veya aktivasyonu kanser, kalp ve damar hastalıkları, diyabet

ve Alzheimer gibi hastalıkların tedavi uygulamalarında önem arz etmektedir (Aslan *et al.* 2019).

Balda Önemli Fizikokimyasal Analizler ve Kalite Parametreleri

Bal dünya genelinde tüketimi olan ve bu nedenle sağlıklı bir şekilde bulunması çok önem arz eden en çok tüketilen arı ürünüdür. Balın kalite kontrolü, tüketicilerin sağlığını olumsuz etkilememek, işlenmeye uygunluğunu belirlemek ve pazarın talebini karşılamak için önemlidir. Balın yabancı bir tada sahip olmaması, mayalanmaya başlamaması, doğal enzimlerini azaltacak kadar ısıtılmaması veya insan sağlığını tehlikeye atacak bir madde içermemesi gerekir (Official Journal of the European Communities 2002). Balın fiziksel ve kimyasal bileşimi, arı türüne, çiçek kaynağına, iklim koşullarına, toprak türlerine ve uygulanan işleme bağlı olarak değişmektedir (Mulugeta and Belay, 2022; Mărgăoan et al. 2021; Lewoyehu and Amare, 2019). Bal kalitesi, balın fizikokimyasal analizi yoluyla değerlendirilebilmektedir. Günümüzde balda tağşiş ve sahtecilik çok fazla görülmektedir. Bu tür faaliyetlerin anlaşılması için devletler bal tebliğleri yayınlamakta ve uluslararası kuruluşlarda bu amaca hizmet etmek için analiz yöntemleri geliştirmektedir. Balda kalite parametresi olarak bilinen önemli fizikokimyasal analizlerden bazıları şunlardır: Şeker kompozisyonu, naftalin, HMF, prolin, diastaz, nem, elektriksel iletkenlik, serbest asitlik ve pH (Şekil 17). Bu analiz parametrelerine gelişen teknoloji ve analiz yöntemleri ile zamanla yenileri eklenmektedir. Özellikle ballarda mineral içeriği, antibiyotik ilaç ve pestisit kalıntı içerikleri ve konsantrasyonları önem arz etmektedir. Toksik özellikli bileşen ve ağır metallerin balda bulunması tüketicilerin sağlığına doğrudan etki yapmakta ve bu nedenle analizler ile belirlenmesi gerekmekte ve gerekli durumlarda bu tür ballar tüketilmemelidir.



Şekil 17. Balda önemli fizikokimyasal analizler

Şeker Kompozisyonu (Glukoz, Fruktoz, Sakkaroz ve Maltoz)

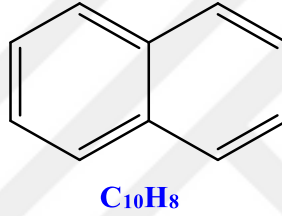
Bal içeriğinin % 60-80'i karbohidratlardan oluşmaktadır. Özellikle % 60'dan fazlasının monosakkarit olan glukoz ve fruktozdan meydana gelmektedir. Bu iki şeker bal arılarının nektardaki sakkarozu invertaz enzimi ile sulu ortamda parçalamalarıyla oluşmaktadır (Karahan *et al.* 2023). Balda birçok farklı şeker türleri de belirlenmiştir. Balın şeker muhtevası, iklime, coğrafyaya, floraya, arı sağlığına, depolama ve işleme şartlarına göre değişmektedir. Balın fruktoz/glukoz oranı kristalleşme ile ilgili önemli bir değerdir. Fruktoz/glukoz oranı 1-1,2 arasında olduğunda kristalizasyon hızlı olmakta, 1,3'den büyük olduğunda ise kristalizasyon yavaş oluşmaktadır. Kristalizasyon olayı balın kimyasal yapısını değiştirmemektedir. Kristalizasyon olayı 40°C'nin üzerinde gitmekte, 25 °C'nin üzerinde dengeli, 10°C'nin altında yavaş gerçekleşmekte, optimum sıcaklık aralığının ise 10-15°C olduğu belirtilmektedir (Seraglio 2019). Halk arasında balın kristalizasyonu donma olarak bilinmekte ve bu olay balın şekerlendiği anlamında yorumlanmaktadır. Ancak en kaliteli balların kristalizasyona uğradığı hatta uzun sürede ve düşük sıcaklıkta kristalize olmayan balların ısıtılma işlemi gören bal olabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle balın kristallenmesi onun şeker katıldığı anlamına gelmemektedir.

Balda sakkaroz yüzdesinin fazla olması erken hasat edildiğini ortaya çıkarmakta ve şekerle beslemenin fazla olduğu anlamına gelerek balda taşış yapıldığına yorumlanmaktadır (Seraglio 2019).

Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından 2023 yılında yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (TGKBT) raporunda çiçek ballarında; maltoz en fazla % 4, sakkaroz en fazla % 5, Fruktoz+glukoz değeri en az 100 g'da 60 g, Fruktoz/Glukoz oranının ise 0,9-1,4 arasında olabileceği belirtilmiştir (Anonim 2023).

Naftalin

Naftalin polisiklik aromatik bir hidrokarbon olup (Şekil 18) güve kovucularda, lavabo koku disklerinde, boya, yağlayıcı ve toprak fumigantlarının üretiminde ve naftilaminler, antranilik ve ftalik asitler ve sentetik reçinelerin imalatında ticari olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.



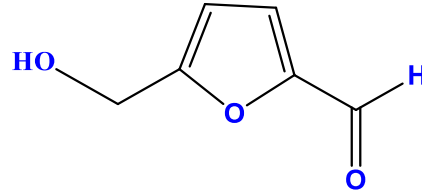
Şekil 18. Naftalinin aromatik yapısı

Bal, orman yangınları, anız yakılması ve arı kovanlarının yakınındaki sanayi tesisleri gibi çeşitli kaynaklardan ve arıların yetersiz uygulamaları sonucunda polisiklik aromatik hidrokarbonlarla kirlenebilmektedir (Albero *et al.* 2003). Tarımsal uygulamalarda insektisit, fungusitlere, arı kovanlarında zararlıları ve arı hastalıklarını kontrol etmek için akarisitlerin yaygın kullanımı, balın dolaylı veya doğrudan kirlenmesi olasılığını artırmaktadır. Naftalin, balmumu güvesi kontrol ajanı olarak arıların tarafından kullanılmakta, arılarda, balmumu ve bal gibi arı ürünlerinde kalıntı bırakmaktadır (Bogdanov *et al.* 2004). Naftalinin kanserojen bir madde olduğu ve birçok farklı kanser türlerine neden olduğu belirlenmiştir. Ciltle teması, solunması ve yutulmasının özellikle karaciğer hasarı ve sinir sistemi bozuklukları ile ilgili olduğu belirtilmiştir (Yost *et al.* 2021). TGKBT'de balda bulunması gereken en fazla naftalin konsantrasyonu 10 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) olarak belirlenmiştir.

HMF

Hidroksimetilfurfural (HMF), kimyasal formülü $C_6O_3H_6$ olan (Şekil 19) ve yapısında aromatik aldehit, aromatik alkol ve furan halkası bulundurmaktadır. HMF

oluşumu, heksosun asit ile parçalanması veya enzimatik olmayan Maillard etkileşimi sürecinde gerçekleşmektedir.

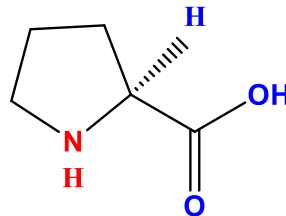


Şekil 19. Hidroksimetilfurfural (HMF)'nin açık kimyasal yapısı

Gıdalara yapılan ısı işlemlere ve uygunsuz depolama şartlarına bağlı olarak oluşmaktadır. Balda ise HMF'nin oluşma sebeplerinin başında ısı işlem gelmektedir. Balda HMF konsantrasyonunun yüksek olması balın ısı işlem gördüğü anlamına gelmekte, düşük olması ise balın ısı işlem görmeyip taze olduğunu göstermektedir. Ayrıca yüksek HMF bala ticari şurup katıldığı ihtimalini arttırmaktadır. Bala şeker şurupları ilavesinde homojen yapının sağlanması için ısı işlem uygulanmakta ve bu durum balın HMF konsantrasyonunu arttırmaktadır. Balın uzun süre beklemesi de HMF derişimini yükseltmektedir. Ayrıca baldaki karbohidrat oranının özellikle fruktozun artması da HMF artışına neden olmaktadır (Anidiobu 2019). Türkiye'de 2023 yılında yayınlanan TGKBT'de HMF konsantrasyonu en fazla 40 mg/kg olarak belirlenmiştir. Ancak İtalya, İsviçre, Finlandiya ve Almanya gibi ülkeler bal için HMF konsantrasyonunun en fazla 15 mg/kg olabileceğini belirlemiştir (Bogdanov *et al.* 2004).

Prolin

Prolin (Şekil 20), aminoasit olup diğer aminoasitlerden farklı olarak birincil amin (NH₂) grubu bulundurmaz, çünkü yan zincirinde bulunan üç karbon atomu bir halka oluşturarak peptit bağındaki nitrojene bağlanmaktadır.



Şekil 20. Prolinin açık kimyasal yapısı

Balda bulunan aminoasitlerin %50-85 oranını oluşturmaktadır. Aminoasitler proteinlerin yapı taşlarıdır. Balda yaklaşık %0,1-0,5 oranında protein bulunmaktadır. Bu protein miktarı içinde ise en fazla prolin aminoasidi bulunduğundan bal için prolin önem arz etmektedir. Prolin bal için önemli bir kalite parametresidir. Balın içeriğindeki

konsantrasyonu ne kadar yüksek ise balın o kadar kaliteli olduğu ve protein içeriğinin de aynı orantıda yüksek olduğu yorumlanmaktadır. Ayrıca depolama süresi uzun olan, ısı işleme maruz bırakılan ballarda prolin konsantrasyonu düşmektedir. Yüksek sıcaklık aminoasitleri denatürasyona uğrattığından dolayı prolini de düşürmektedir (Ecem *et al.* 2023). TGKBT’de çiçek balında prolin konsantrasyonunun en az 300 mg/kg olabileceği rapor edilmiştir (Anonim 2023).

Diastaz

Bal, içeriğinde önemli enzimleri bulundurmaktadır. Bu enzimlerin başlıcaları diastaz ve invertazdır. Diastaz enziminin görevi polisakkarit olan nişastayı disakkarit olan maltoza parçalamaktır. Balda diastaz enzimi aktivitesi, 1 saatte 40°C’de 1 g balda 0,01 g nişastayı parçalayan enzim miktarı şeklinde tanımlanmaktadır. Yüksek sıcaklık enzimlerin yapısını bozduğundan dolayı balda da diastaz sayısını düşürmektedir. Isıl işlem görmeyen, tağşiş ve sahtecilik uygulanmayan ballarda diastaz enzimi yüksektir. Diastaz sayısı yüksek olması balın kalitesi ile doğru orantılıdır. Diastaz sayısını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar balın şeker muhtevası, nektar farklılığı, flora, arı sağlığı, iklim ve coğrafi orjindir (Bogdanov 2002). TGKBT’de çiçek balında diastaz sayısının en az 8 olabileceği rapor edilmiştir.

Nem

Nem baldaki su muhtevasının bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır. Balda yaklaşık olarak %13-20 arasında nem bulunmaktadır. Nem balın aroma, tat, renk, viskozite, kristalleşme ve çözünürlük gibi birçok özelliğini etkilemektedir. Baldaki nem oranının yüksek olması kristalizasyonu arttırmaktadır. Balda nem oranının artması balın viskozitesinin düşmesine de neden olmaktadır. Ayrıca nem oranı yüksek ballar kalite açısından düşük olarak değerlendirilmektedir. Kaliteli ballar nem oranı düşük olan ve tam olarak dinlendirilmiş ballardır (Chen 2019). TGKBT’de çiçek ve salgı ballarında en fazla bulunması gereken nem %20 olarak belirlenmiştir.

Elektriksel İletkenlik

Elektriksel iletkenlik balın mineral içeriği ve konsantrasyonu, botanik orjini ve çiçek veya salgı olduğunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Çiçek ballarının elektriksel iletkenliği salgı ballarına göre daha düşük olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda elektriksel iletkenliğinin balın mineral, protein ve organik asit içeriği

ile arttığı, su içeriği ile ise elektriksel iletkenliğin azaldığı belirtilmiştir (Chua *et al.* 2012). TGKBT’de çiçek ve salgı balında elektriksel iletkenliğin en fazla 0,8 mS/cm olması gerektiği raporlanmıştır.

Serbest Asitlik

Serbest asitlik balın aromasını oluşturan, orjini hakkında bilgi veren kalite göstergelerinden biridir. Balın içeriğindeki glukonik asit ve sitrik asit miktarları salgı ve çiçek balları arasındaki farklılığın belirlenmesini sağlamaktadır. Balda en fazla görülen asitlerden biri asetik asit iken formik, laktik, bütirik, sitrik, malik asit gibi asitlerde belirlenmiştir (Mato *et al.* 2006). Serbest asitliğin yüksek olması balın fermante olmaya başladığının belirtilerindedir. Bunun nedeni ise baldaki karbohidratlar ve alkollerin, mayalar ile asetik asite dönüşmesi olarak belirlenmiştir (Alvarez-Suarez *et al.* 2007). TGKBT’de çiçek ve salgı ballarında en fazla 50 meq/kg olması gerektiği belirtilmektedir.

pH

pH asitlik ve bazlığın göstergesi olarak bir çok gıda da kalite parametrelerinden biridir. Balın pH değerinin 3,2-4,5 aralığında olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Balın pH’sını muhtevastaki karbohidratlar, mineraller, aminoasitler, peptitler ve organik asitlerin konsantrasyonu ortaya çıkarmaktadır. Özellikle de glukonik asitin varlığı neden olmaktadır. Glukonik asit, endojen bir glukoz oksidaz enzimi ile glukozun oksidasyonu sonucu üretilmekte ve çok yüksek antibakteriyel özellik göstermektedir. Bal, pH’sının yüksek olması asidik değerinin düşük olduğunu belirtmekte ve düşük olması ise asidik özelliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Balın asidik değerinin yüksek olması ise balın patojen içermesini ve nötr pH’da üremesi artan mikroorganizmaların oluşmasını engellemektedir. Balın pH’sının 3,2-4,5 aralığındaki asitlik özelliği, antibakteriyel aktivitesinin en belirgin özelliklerinden biridir (Almasaudi 2021). TGKBT’de balda pH için limit bir değer belirtilmemiştir.

MATERYAL VE METOT

Kullanılan Kimyasallar

AChE, BChE, α -glikozidaz, α -amilaz enzimleri, HMF, troloks, α -tokoferol, BHT, BHA, DPPH, L-tirozin, DMPD, ABTS, TCA, TPTZ, DTNB, PNF, CuCl_2 , aseton, neokuprin, FeCl_3 , ferrozin, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, serum albümin, asetilkolin iyodat, bütirilkolin iyodat Sigma-Aldrich GmbH (Sterheim, Germany)'den temin edilmiştir. Prolin, fruktoz, Sephadex G-25, glukoz, trihidroksimetil aminometan (Tris), naftalin, hidroklorik asit, sakkaroz, sülfirik asit, naftalin-D8 izotopu, fosforik asit, maltoz, sodyum bikarbonat, sodyum hidroksit, coommassie brilliant blue sodyum sülfat, sodyum asetat, sülfanilamid, akrilamid, bisakrilamid, etanol, glisin ve sekonder metabolit standartları G-250 Merck'ten temin edilmiştir. Kullanılan kimyasallar analitik saflıkta temin edilmiştir.

Cihazlar ve Diğer Gereçler

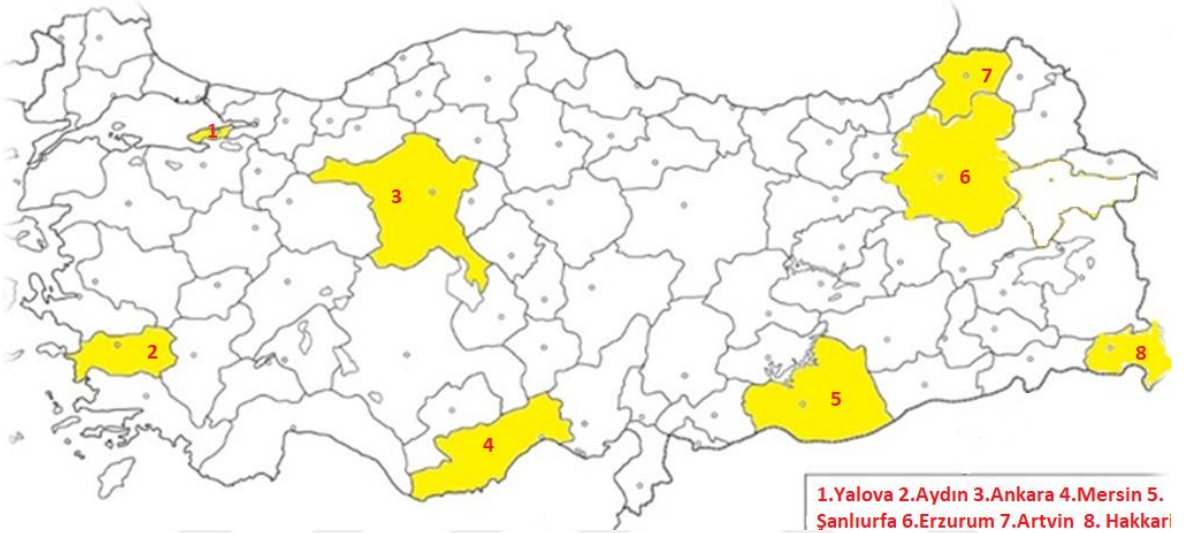
Çalışmaların yapıldığı cihaz ve diğer gereçler Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Çalışmaların Yapıldığı Cihaz ve Gereçler

Cihazlar ve Diğer Gereçler	Marka-Model
LC-MS/MS	Shimadzu LCMS 8040 model
GC-MS/HS	PerkinElmer Clarus SQ 690
HPLC/RID/DAD	Agilent 1260 Infinity II
Ultrasonik Su Banyosu	Wisd WUC-D06H
Rotary Evaporator	BUCHI/R300
pH metre	Mettler Toledo
İletkenlik Ölçer	Mettler Toledo
Refraktometre	Isolab
Vorteks	Fisons, Whirlimixer
Otomatik pipetler	Eppendorf
Ultra Destile su cihazı	Sartorius, Arium, Almanya
Manyetik karıştırıcı	Jeio Tech
Santrifüj cihazı	Hermle Z 323
Derin dondurucu (-80 °C)	Thermo
Buz Dolabı (+4/ -20 °C)	Vestel
Hassas Terazi	Weightlab WSA-224
UV-VIS Spektrofotometre	Shimadzu UV-1208
UV Spektrofotometre küveti	1 cm ³ ve 3 cm ³ lük kuartz küvet
Isıtıcı	Daihan WiseStir
Çalkalayıcı	Benchmark
İnkübatör	Nüve CO ₂
Blender	Waring Commerical

Arı Ürünlerinin Temin Edilmesi

Arı ürünleri Şekil 21’de belirtilen Türkiye’nin yedi farklı bölgesinden sekiz farklı ilden temin edilmiştir. Bu illerde bulunan Arıcular Birlikleri ile iletişime geçilerek ilgili arıcılardan temin edilmiştir. Arı ürünlerinin zarar görmemesi için gerekli hassasiyet gösterilmiş ve arı sütü gibi çabuk bozulan ürünler soğuk zincirde temin edilerek hemen -80 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Temin edilen arı ürünlerinin görselleri Şekil 22’de verilmiştir. Arı ürünleri taze olarak mevsimlerinde temin edilmiştir.



Şekil 21. Arı ürünlerinin temin edildiği iller

Arı ürünleri yapılan tüm analizlerde toplandığı yer ve kendi isimleri ile adlandırılmıştır. Yapılan isimlendirmeler şöyledir: Ankara polen, Ankara arı ekmeği, Ankara propolis, Ankara bal, Ankara arı sütü, Artvin arı sütü, Artvin polen, Artvin arı ekmeği, Artvin propolis, Artvin bal, Aydın polen, Aydın arı ekmeği, Aydın propolis, Aydın bal, Aydın arı sütü, Erzurum arı sütü, Erzurum polen, Erzurum arı ekmeği, Erzurum propolis, Erzurum bal, Hakkari polen, Hakkari arı ekmeği, Hakkari propolis, Hakkari bal, Hakkari arı sütü, Mersin arı sütü, Mersin polen, Mersin arı ekmeği, Mersin propolis, Mersin bal, Yalova polen, Yalova arı ekmeği, Yalova propolis, Yalova bal, Yalova arı sütü, Şanlıurfa arı sütü, Şanlıurfa polen, Şanlıurfa arı ekmeği, Şanlıurfa propolis, Şanlıurfa bal. Türkiye’nin yedi farklı bölgesinden sekiz farklı ilden beş farklı arı ürünü ile toplamda kırk numune temin edilmiştir.



Şekil 22. Sekiz farklı ilden temin edilen beş farklı arı ürünleri (arı sütü, polen, arı ekmeği, bal ve propolis)

Arı Ürünlerinin Ekstraksiyonları

Propolis, polen ve arı ekmeğinin ekstraksiyonları:

Propolis içeriğindeki bal mumundan dolayı oda sıcaklığında yapışkan halde bulunmaktadır. Bu nedenle -80 °C derin dondurucuda dondurulduktan sonra blender ile öğütülmüştür. Polen ve arı ekmeği ise taze olarak karanlıkta kurutulduktan sonra blender ile öğütüldü. Sonra öğütülen arı ürünlerinden 10 g tartıldı ve % 70'lik 50 mL etanol ile 2 gün boyunca çalkalayıcıda karıştırıldı. Çözelti iyice homojenleştikten sonra Whatman süzgeç kağıdı ile iki kez süzüldü. Süzme işlemi bittikten sonra çözücü evapotarör ile uzaklaştırıldı ve arı ürünlerinin ekstreleri elde edildi. Elde edilen ekstraktlar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Arı sütünün ekstraksiyonu:

Arı sütü 3 g tartılarak 25 mL metanol ilave edildi ve 1 gün boyunca çalkalayıcıda karıştırıldı. Sonra numune santrifüj edilerek proteinlerin çökmesi sağlandı. Çöken proteinin üst fazındaki süpernetant kısmı ile analizler yapılmıştır.

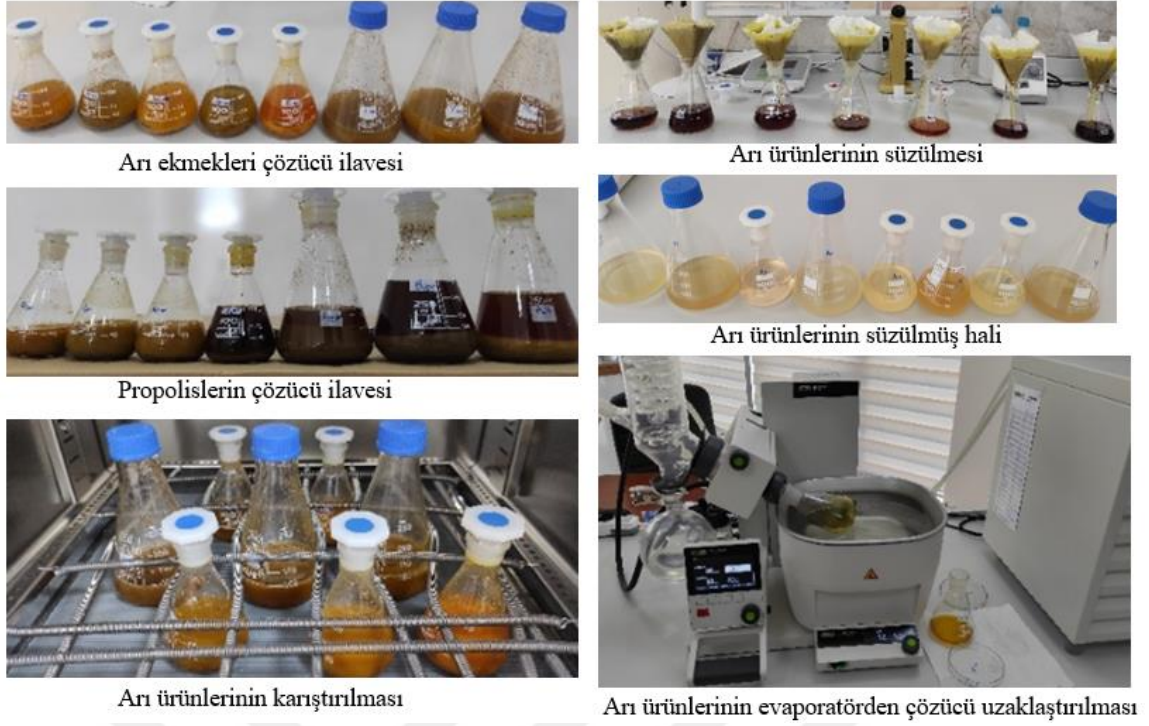
Balın ekstraksiyonu:

Balın antioksidan ve enzim inhibisyon çalışmaları için ayrı bir ekstraksiyon işlemi, sekonder metabolit içeriğinin belirlenmesi için de ayrı üç ekstraksiyon işlemi yapıldı. Antioksidan ve enzim çalışmaları için, 10 g bal tartılarak 25 mL % 70'lik etanol ile 15 dk. ultrasonik su banyosunda karıştırıldı. Homojen hale geldikten sonra çözeltiliye tekrar 25 mL % 70'lik etanol ilave edilerek tekrar 15 dk. ultrasonik su banyosunda homojen hale getirildi. Sonra Whatman süzgeç kağıdı ile iki kez süzüldü ve evaporatörde çözücü uzaklaştırılarak ekstrakt oluşturuldu. Ekstreler -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

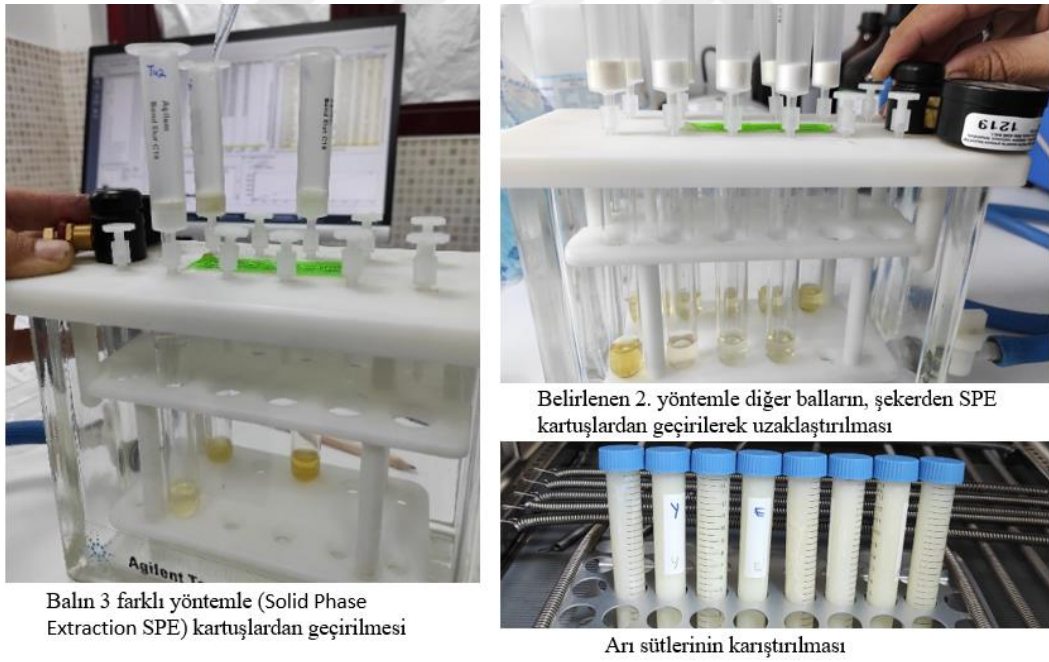
Sekonder metabolit içeriği için ise sadece bir bal belirlenerek onun üzerinden 3 farklı yöntem ile ekstraksiyon işlemi yapıldı. Bunun yapılma nedeni ise farklı yöntemlerin aynı balda içerik sonucunu ne kadar etkilediğini belirlemektir. En etkili yöntem belirlendikten sonra diğer tüm ballar bu etkili yöntem ile ekstraksiyon edildi. Bu yöntemler şunlardır:

1. 5 g bala 10 mL %2 NaCl_(aq) eklendi. 1 dk. çalkalandı. 20 mL Etilasetat (EtAOC) ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapıldı. Bu işlem 5 defa tekrar edildi. Organik (EtAOC) fazları toplandı ve sodyum sülfat ile 10 dk. kurutuldu. Sonra EtAOC formu evaporatörde uçuruldu. Elde edilen ekstreden 1000 mg/L konsantrasyonda metanol ile hazırlanan çözelti analiz için cihaza verildi.
2. 5 g bal 50 mL santrifüj tüpüne alındı. Sonra HCl ile pH'ı 2'ye ayarlanan ultrapure destile su ile 50 mL'ye tamamlandı. 10 mL (1:1) MeOH:H₂O (metanol: ultrapure destile su) karışımı ile SPE (Solid Phase Extraction) kartuşu şartlandırıldı. Sonra 50 mL bal çözeltisi SPE kartuşundan geçirildi ve SPE kartuşu 20 mL pH'sı 2 olan ultrapure destile su ile yıkandı. En son olarak 2 mL MeOH ile fenolik bileşikler elüe edilerek viallere alınıp cihaza verildi.
3. 5 g bal 50 mL santrifüj tüpüne alındıktan sonra %2'lik tuzlu su ile 50 mL'ye tamamlandı. 10 mL (1:1) MeOH:H₂O karışımı ile SPE kartuşu şartlandırıldı ve 50 mL bal çözeltisi SPE kartuşundan geçirildi. Sonra SPE kartuşu 20 mL %2'lik tuzlu su ile yıkandı. En son olarak 2 mL MeOH ile fenolik bileşikler elüe edilerek viallere alınıp cihaza verilmiştir.

Bu yöntemler sonucunda en fazla fenolik, flavonoid ve organik asit bileşenlerinin belirlendiği yöntemin 2. yöntem olduğu tespit edildi ve tüm balların ekstraksiyonu bu yöntemle yapıldıktan sonra LC-MS/MS ile sekonder metabolitleri belirlendi. Ekstraksiyon işlemleri ile ilgili görseller Şekil 23-24'te verilmiştir. Biyolojik aktivite yöntemlerinde arı ürünlerinin ekstrelerinden 1 mg/mL konsantrasyonundaki stok çözeltiler kullanılmıştır.



Şekil 23. Arı ürünlerinin ekstraksiyon aşamaları



Şekil 24. Arı sütü ve balın ekstraksiyon süreçleri

LC-MS/MS ile Sekonder Metabolitleri Belirleme Yöntemi

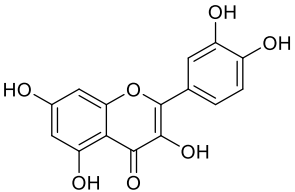
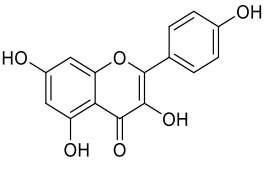
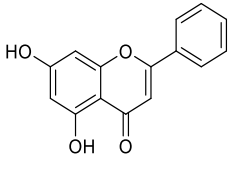
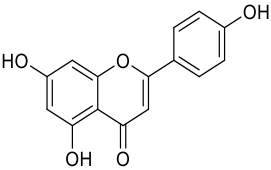
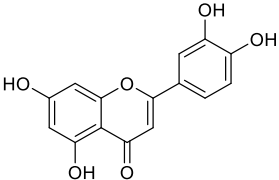
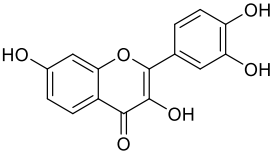
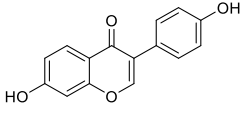
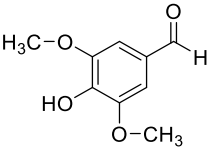
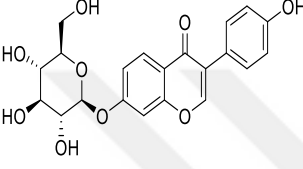
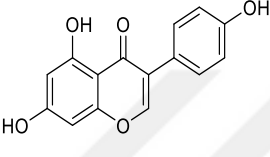
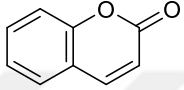
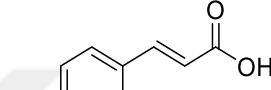
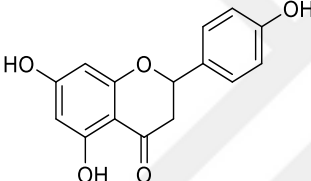
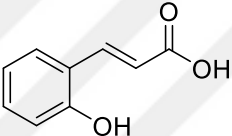
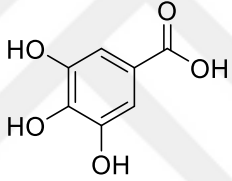
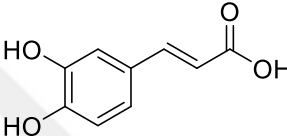
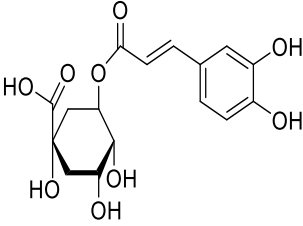
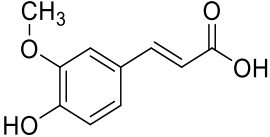
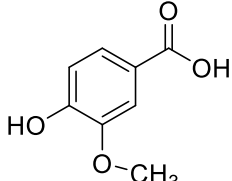
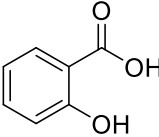
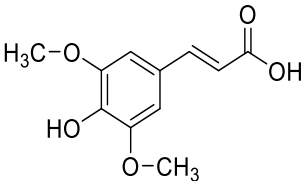
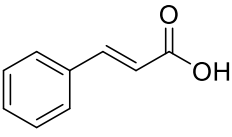
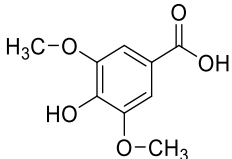
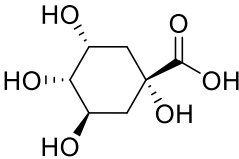
Arı ürünlerinin LC-MS/MS ile sekonder metabolitlerini belirlemek için Yılmaz'ın metot validasyonu yaparak oluşturduğu yöntem uygulandı (Yılmaz 2020). Bu yöntemin uygulamasından önce arı ürünleri ekstrelerinden 10 mg/mL derişimde stok çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltiler cihaza verilmeden önce 0.22 µm şırınga ucu filtreden süzülerek LC-MS viallerine alındı ve cihaza verildi. Sekonder metabolit olarak 53 farklı bileşenin

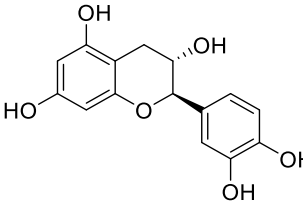
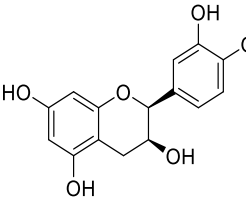
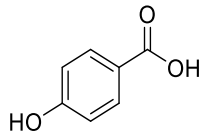
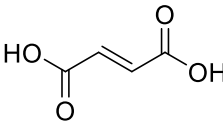
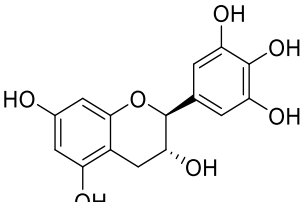
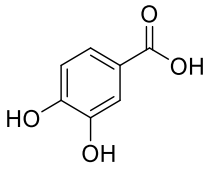
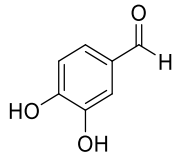
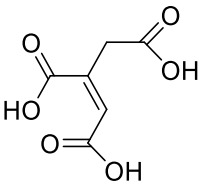
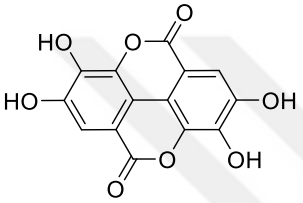
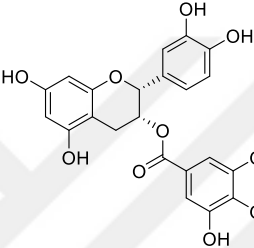
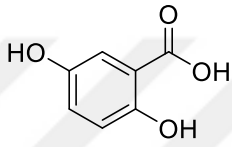
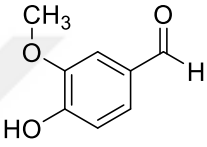
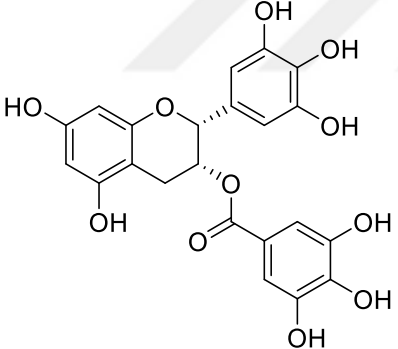
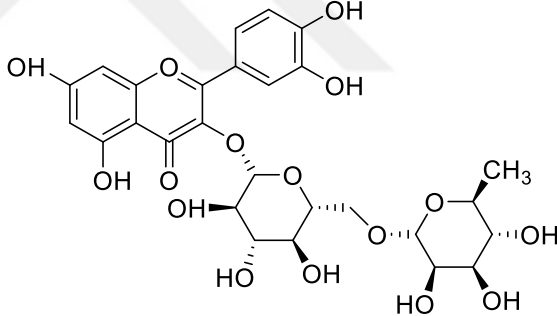
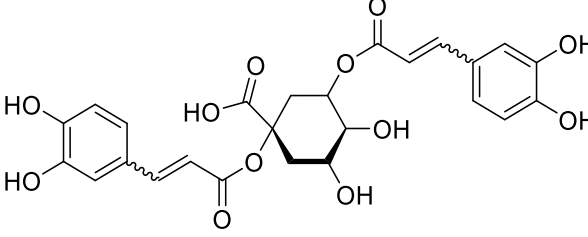
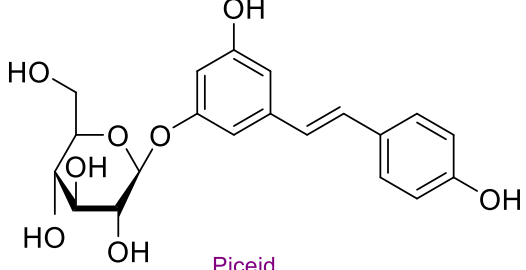
taraması gerçekleştirilerek kantitatif analizi yapıldı ve uç farklı bileşende internal standart olarak kullanıldı. Bu bileşenlerin kimyasal yapıları Tablo 4’te, LC-MS/MS cihazının analitik parametreleri Tablo 5’te verilmiştir. Analizlerin gerçekleştirildiği LC-MS/MS cihazının fotoğrafı Şekil 25’te ve standart kromatogramı ise Şekil 26’da sunulmuştur.

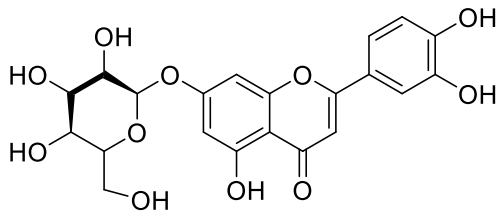


Şekil 25. LC-MS/MS cihazı

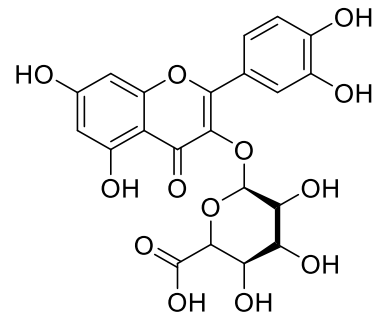
Tablo 4. Çalışmada Taranan Sekonder Metabolitlerin Açık Kimyasal Yapıları

 Quercetin	 Kaempferol	 Chrysin	 Apigenin
 Luteolin	 Fisetin	 Daidzein	 Syringic aldehyde
 Daidzin	 Genistein	 Coumarin	 p-Coumaric acid
 Naringenin	 o-Coumaric acid	 Gallic acid	 Caffeic acid
 Chlorogenic acid	 Ferulic acid	 Vanillic acid	 Salicylic acid
 Sinapic acid	 Cinnamic acid	 Syringic acid	 Quinic acid

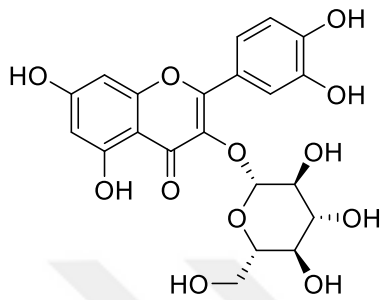
 <p>Catechin</p>	 <p>Epicatechin</p>	 <p>4-Hydroxybenzoic acid</p>	 <p>Fumaric acid</p>
 <p>Epigallocatechin</p>	 <p>Protocatechuic acid</p>	 <p>Protocatechuic aldehyde</p>	 <p>cis-Aconitic acid</p>
 <p>Ellagic acid</p>	 <p>Epicatechin gallate</p>	 <p>Gentisic acid</p>	 <p>Vanillin</p>
 <p>Epigallocatechin gallate</p>	 <p>Rutin</p>		
 <p>1,5-Dicaffeoylquinic acid</p>	 <p>Piceid</p>		



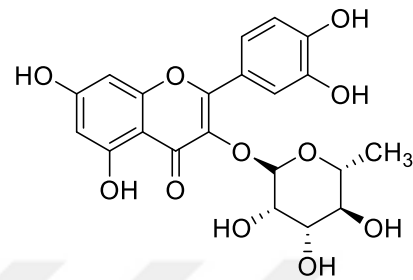
Cynaroside



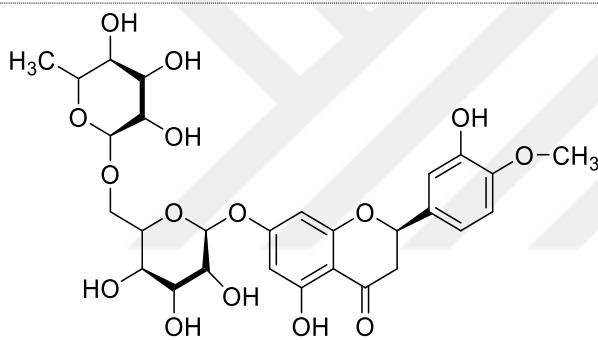
Miquelianin



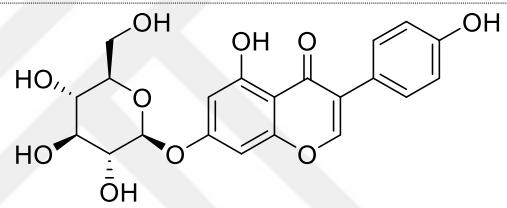
Isoquercitrin



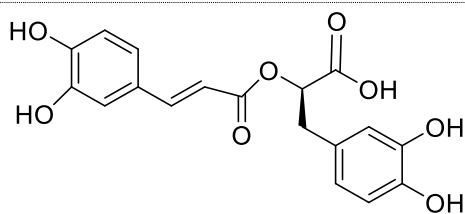
Quercitrin



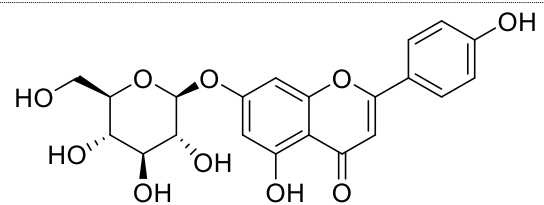
Hesperidin



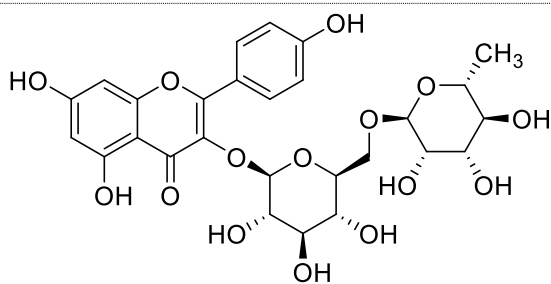
Genistin



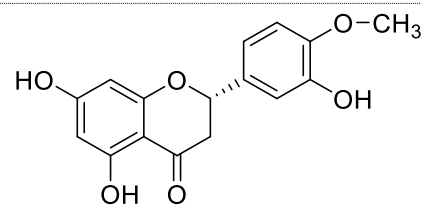
Rosmaniric acid



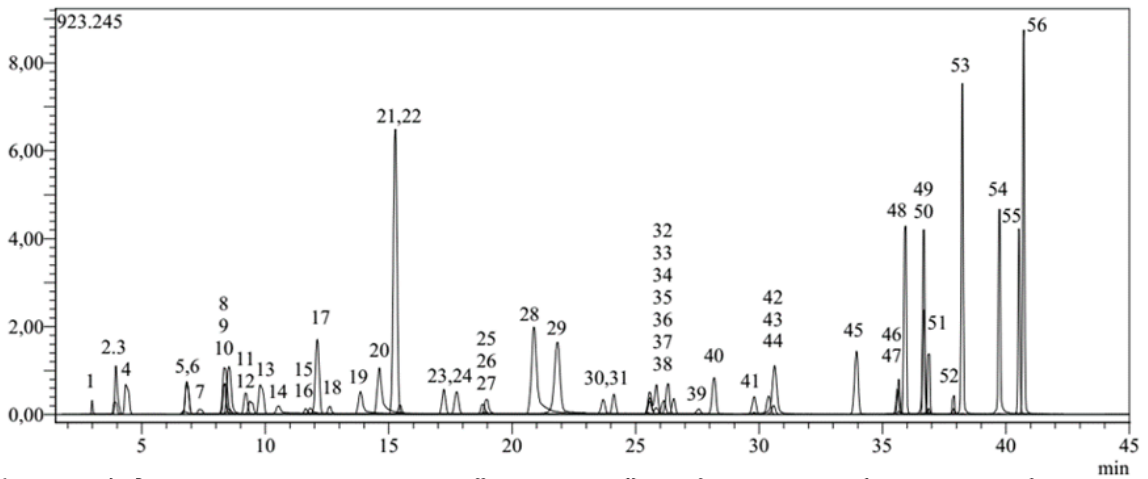
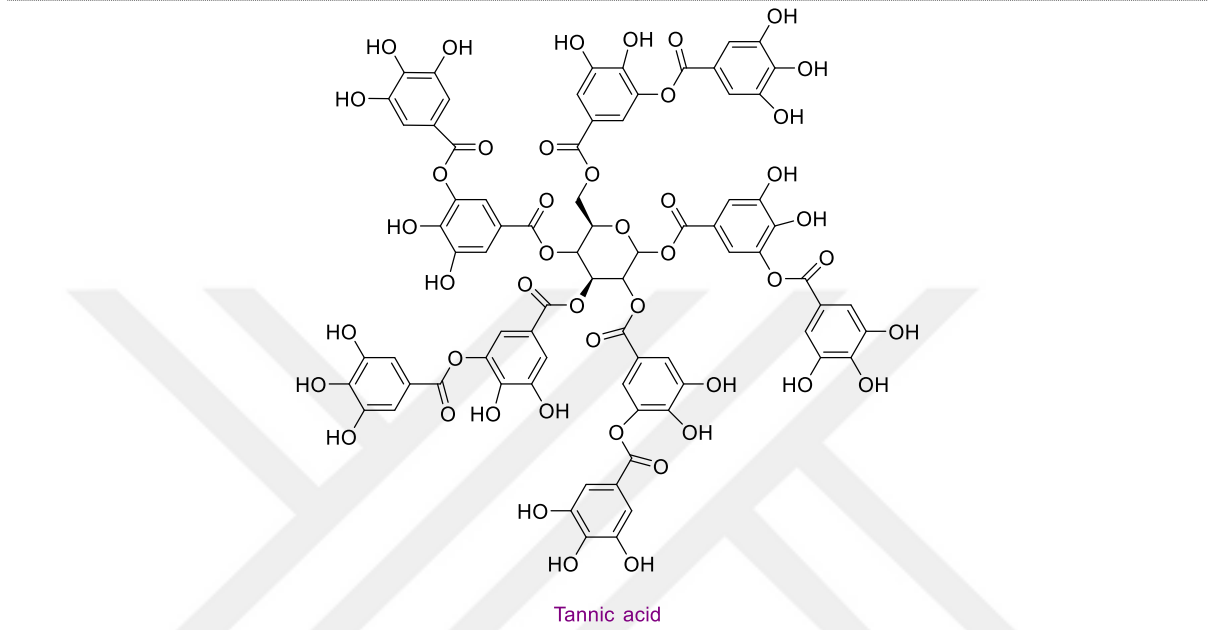
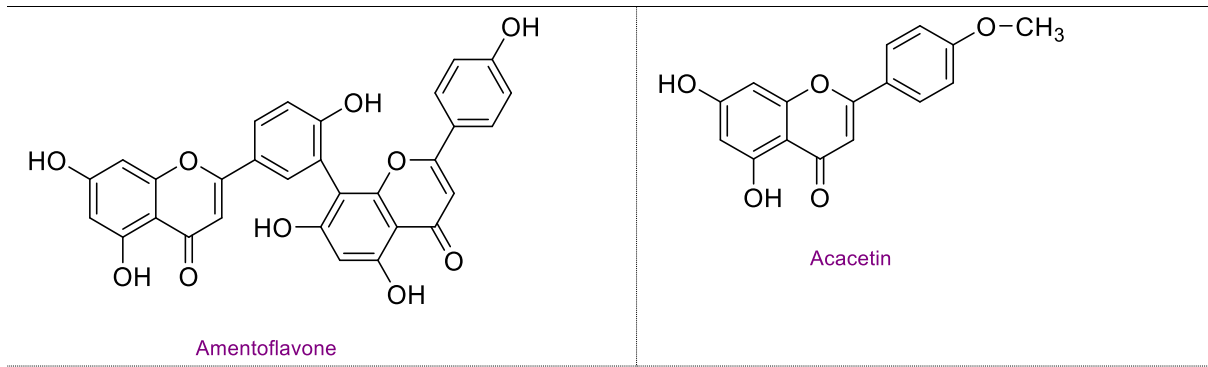
Cosmosin



Nicotiflorin



Hesperetin



1. Quinic asit, 2. Fumaric asit, 3. Aconitic asit 4. Gallic asit, 5. Epigallocatechin, 6. Protocatechuic asit, 7. Catechin, 8. Gentisic asit, 9. Chlorogenic asit, 10. Protocatechuic aldehit, 11. Tannic asit, 12. Epigallocatechin gallat, 13. Sinarin, 14. 4-OH Benzoic asit, 15. Epicatechin, 16. Vanilic asit, 17. Caffeic asit, 18. Syringic asit, 19. Vanilin, 20. Syringic aldehit, 21. Daidzin, 22. Epicatechin gallat, 23. Piceid, 24. *p*-Coumaric asit, 25. Ferulic asit-D3 (IS), 26. Ferulic asit, 27. Sinapinic asit, 28. Coumarin, 29. Salicylic asit, 30. Cyanoside, 31. Miquelianin, 32. Rutin-D3 (IS), 33. Rutin, 34. isoquercitrin, 35. Hesperidin, 36. *o*-Coumaric asit, 37. Genistin, 38. Rosmarinic asit, 39. Ellagic asit, 40. Cosmosiin, 41. Quercitrin, 42. Astragalin, 43. Nikotiflorin, 44. Fisetin, 45. Daidzein, 46. Quercetin-D3 (IS), 47. Quercetin, 48. Naringenin, 49. Hesperetin, 50. Luteolin, 51. Genistein, 52. Kaempferol, 53. Apigenin, 54. Amentoflavone, 55. Chrysin, 56. Acacetin

Şekil 26. LC-MS/MS standart kromatogramı ve standartlar

Tablo 5. LC-MS/MS Cihazı Analitik Parametreleri ve Kromatografi Koşulları

Analitik Parametreler	Kromatografi koşulları veya Model
LC-MS/MS	Shimadzu LCMS-8040 model (LC-ESI-MS/MS)
Yazılım	LabSolutions (Shimadzu)
Autosampler	SIL-30AC model
Kolon fırını	CTO-10ASvp model
İkili pompalar	LC-30AD model
Degasser	DGU- 20A3R model
Kolonlar	150 mm×2.1 mm, 2.7 µm, Agilent Poroshell 120 EC-C18 model 100 mm×2,1 mm, 2µm, RP-C18 Inertsil ODS-4
Mobil fazlar (B)	Asetonitril ve metanol
Mobil faz katkı maddeleri	Formik asit, asetik asit, amonyum asetat ve amonyum format,
Kolon sıcaklıkları	25°C, 30°C, 35°C ve 40°C
Eluent A	Su + %0,1 formik asit + 5 mM amonyum format
Eluent B	%0,1 formik asit + 5 mM amonyum format + Metanol
Gradyan elüsyon profili	20-100% B (0-25 dk.), 100% B (25-35 dk.), 20% B (35-45 dk.)
Solvent akış hızı	0.5 mL/dk.
Enjeksiyon hacmi	5 µL
MS çalışma koşulları	Nebülize edici gaz (N ₂) akışı, 3 L/dk.; kurutma gaz (N ₂) akışı, 15 L/dk.; DL sıcaklığı, 250°C; arayüz sıcaklığı, 350°C ve ısı bloğu sıcaklığı, 400°C

Antioksidan Aktivite Yöntemleri

Antioksidan aktivite yöntemlerinin tümünde standart olarak kullanılan α -tokoferol, trolox, BHT ve BHA, etanol ile 10 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan stok çözeltiler kullanılmıştır.

Fe³⁺ - Fe²⁺ İndirgeme Yöntemi

Çözeltiler

- Fosfat tamponu (0,2 M): 3,12 g Na₂HPO₄ 80 mL saf suda çözülerek pH'sı 6,6'ya ayarlandı ve destile su ile son hacim 100 mL yapıldı.
- % 1'lik K₃Fe(CN)₆ çözeltisi: 1 g K₃Fe(CN)₆'den alınarak 100 mL destile suda çözüldü.
- % 10'luk TCA çözeltisi: TCA'dan 5 g alınarak 50 mL destile suda çözüldü.
- % 1'lik FeCl₃ çözeltisi: FeCl₃.6H₂O'dan 165 mg tartılıp 100 mL destile suda çözüldü.

Yöntem

Oyaizu'nun (1986) yöntemi modifiye yapılarak uygulandı (Gülçin *et al.* 2009). Deney tüplerine pipetlemeler Tablo 6'da belirtildiği sırayla yapıldı ve vortekslendi. Tüplerden 1'er mL alınarak her birine 1'er mL destile su ilave edilip vortekslendi ve 10 dk. karanlıkta inkübe edildikten sonra 700 nm'de absorbanslar ölçüldü. Kör olarak destile su kullanılmıştır. Kontrolü hazırlamak için deney tüpü içeriğine numune yerine destile su konularak ölçüm yapıldı. Absorbans sonuçları tüpler 2 kat seyreltildiği için 2 ile çarpılarak hesaplanmıştır.

Tablo 6. Fe³⁺ - Fe²⁺ İndirgeme Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar (µg/mL)

Tüp İçeriği (µL)	15	30	45	60
Numune/Standart	67,5	135	202,5	270
Destile su	432,5	365	297,5	230
Fosfat tamponu	1250	1250	1250	1250
FeCl ₃ çözeltisi	250	250	250	250
K ₃ Fe(CN) ₆ çözeltisi	1250	1250	1250	1250
TCA çözeltisi	1250	1250	1250	1250
Toplam	4500	4500	4500	4500

CUPRAC Yöntemi (Cu²⁺ - Cu⁺ İndirgeme)

Çözeltiler

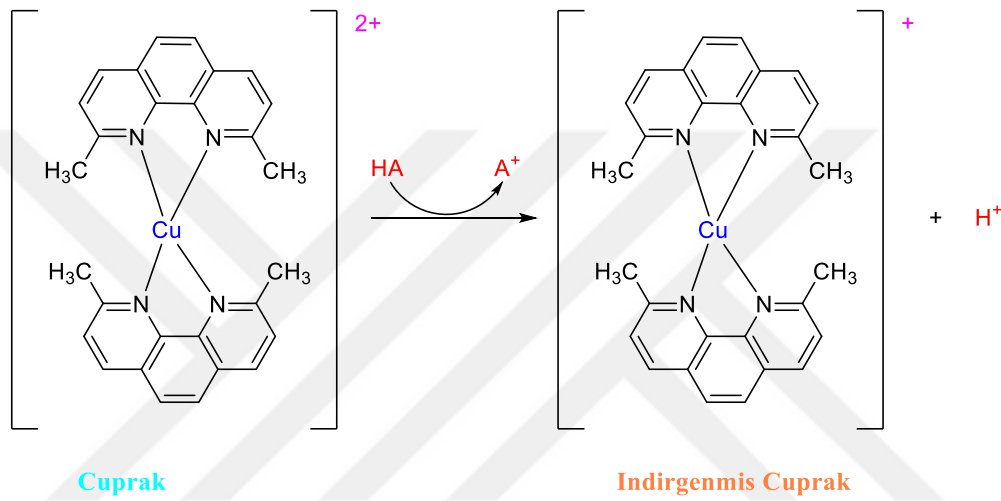
- 1 M CH₃COONH₄ tamponu: CH₃COONH₄'den 3,85 g alındı ve 40 mL destile su ile çözüldü. pH'sı 6,5'e ayarlandı ve nihai hacim 50 mL'ye tamamlandı.
- 0,01 M CuCl₂ çözeltisi: CuCl₂'den 0,067 g tartıldı ve 50 mL destile su ile çözüldü.
- Neokuprin çözeltisi (7,5.10⁻³ M): 3,9 g neokuprin alınarak 25 mL etanol ile çözüldü.

Yöntem

Apak ve arkadaşlarının (Apak *et al.* 2006) yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirildi (Ak and Gülçin 2008). Deney tüplerine pipetlemeler Tablo 7'de verildiği sırayla yapıldı ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra yarım saat karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edilerek 450 nm'de absorbanslar ölçüldü. Kör olarak destile su kullanıldı. Cu²⁺'nın Cu⁺'ya indirgenmesi Şekil 27'de gösterilmiştir.

Tablo 7. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar ($\mu\text{g/mL}$)

Tüp içeriği (μL)	15	30	45	60
Numune/Standart	15	30	45	60
Destile su	685	670	655	640
CuCl_2	125	125	125	125
Asetat tamponu	125	125	125	125
Neokuprin çözeltisi	50	50	50	50
Toplam	1000	1000	1000	1000



Şekil 27. Cu^{2+} nin Cu^{+} ya indirgenmesi

FRAP Yöntemi (Fe^{3+} -TPTZ İndirgeme)

Çözeltiler

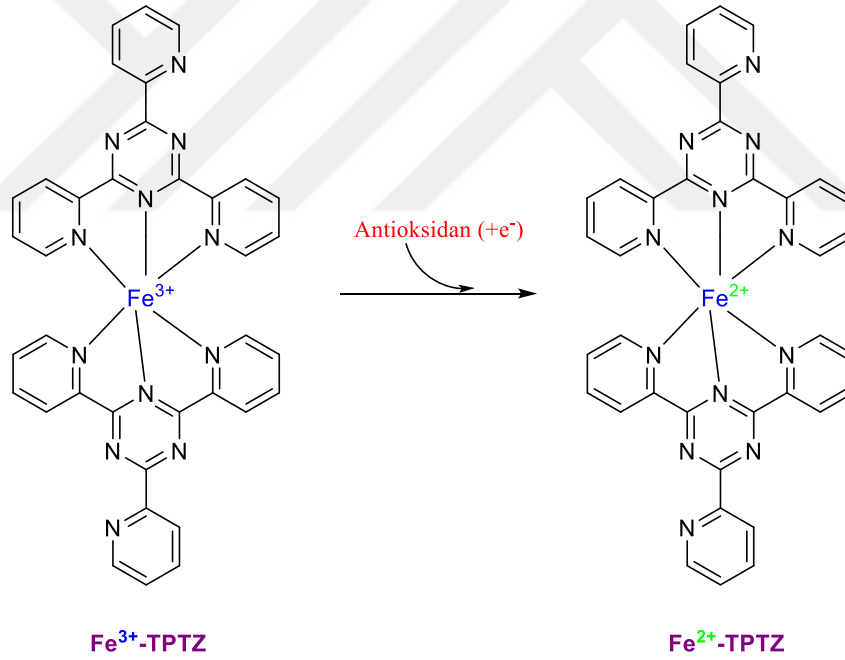
- *40 mM HCl çözeltisi:* Yaklaşık 50 mL destile suya 0,334 ml %37 lik HCl çözeltisi ilave edildi ve son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- *10 mM TPTZ çözeltisi:* Yukarıda hazırlanan HCl çözeltisine 0,312 g TPTZ eklenerek çözüldü.
- *0,3 M CH_3COONa tamponu:* 80 mL destile suda 2,46 g CH_3COONa çözüldü ve pH'sı 3,6'ya ayarlandıktan sonra son hacim destile su ile 100 mL yapıldı.
- *FeCl_3 çözeltisi (20 mM):* 100 mL destile suda 0,54 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözümlenerek hazırlandı.
- *FRAP reaktifi:* 1 hacim FeCl_3 , 1 hacim TPTZ çözeltisi, 10 hacim asetat tamponu çözeltisi karıştırıldı.

Yöntem

Deney tüplerine pipetlemeler Tablo 8’de verildiği sırayla yapıldı ve vortekslendi. Üst bölümlerinden 1’er mL alınarak her birine 1’er mL destile su eklendi. Vortekslendikten sonra 10 dk. karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edilerek 593 nm’de köre (sodyum asetat tamponu) karşı absorbanlar ölçüldü. 2 kat seyreltme yapıldığı için absorbanlar 2 ile çarpılarak hesaplandı. Fe³⁺-TPTZ’nin Fe²⁺-TPTZ’ye indirgenmesi Şekil 28’de gösterilmiştir.

Tablo 8. FRAP (TPTZ) Metodu Deney Tüpü İçeriği (µg/mL)

Tüp içeriği (µL)	15	30	45	60
Numune/Standart	37,5	75	112,5	150
Asetat tamponu	712,5	675	637,5	600
FeCl ₃ çözeltisi	1000	1000	1000	1000
FRAP reaktifi	750	750	750	750
Toplam	2500	2500	2500	2500



Şekil 28. Fe³⁺-TPTZ’nin Fe²⁺-TPTZ’ye indirgenmesi

DPPH’ Giderme Yöntemi

Çözeltiler

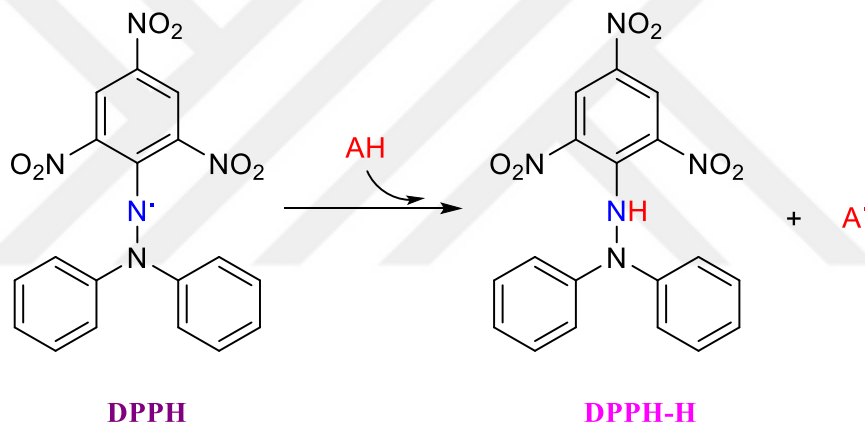
- 10⁻³ M’lık radikal çözeltisi: 100 mL balon jöjeye 39,43 mg DPPH tartıldı ve etanol ile tamamlandı ve 16 saat karıştırıldıktan sonra çözelti hazırlandı.

Yöntem

Blois yöntemi (Blois 1958) esas alınarak gerçekleştirildi. Oksidan olarak DPPH 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. DPPH mekanizması Şekil 29'da sunulmuştur. Radikal ve etanolden oluşan kontrol çözeltisi kullanılmadan önce absorbansı $1 \pm 0,025$ nm'ye ayarlandı. Deney tüplerine pipetlemeler Tablo 9'da belirtilen konsantrasyonlarda yapıldıktan sonra vortekslenerek oda sıcaklığı ve yarım saat karanlıkta inkübe edilip 517 nm'de köre (etanol) karşı absorbansları belirlendi.

Tablo 9. DPPH· Giderme Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar ($\mu\text{g/mL}$)

Tüp içeriği	15	30	45	60
Numune/Standart	20	40	60	80
Etanol	730	710	690	670
DPPH· çözeltisi	500	500	500	500
Toplam	1250	1250	1250	1250



Şekil 29. DPPH antioksidan mekanizması

ABTS⁺ Giderme Yöntemi

Çözeltiler

- *0,1 M Fosfat tamponu:* Na₂HPO₄'den 2,4 g tartılıp 180 mL saf suda çözüldü. pH'sı 7,4'e ayarlandıktan sonra son hacim destile su ile 200 mL yapıldı.
- *ABTS⁺ çözeltisi (2 mM):* ABTS'den 110 mg tartılarak alınarak 100 mL fosfat tamponunda yaklaşık 15 dk. karıştırıldı ve çözünme gerçekleştikten sonra üzerine 66,23 mg K₂O₈S₂ belirli limitlerle eklenerek çözüldükten sonra 1-1,5 saat karıştırılarak hazırlandı (Şekil 30).

Yöntem

- *0,1 M CH₃COONa tamponu:* CH₃COONa'dan 0,82 g alınıp 80 mL destile suda çözülerek pH 5,25'e ayarlandıktan sonra nihai hacim destile su ile 100 mL yapıldı.
- *0,01 M DMPD⁺ reaktifi:* 0,1 M 100 mL sodyum asetat tamponuna (pH: 5,25) 0,1 M 1 mL DMPD çözeltisi ve 0,05 M 0,2 mL FeCl₃ çözeltisi ilave edildi ve çözülerek hazırlandı.

Yöntem

Fogliano ve arkadaşlarının (Fogliano *et al.* 1999) yöntemi esas alınarak uygulandı. 0,1 M 100 mL sodyum asetat tamponuna (pH: 5,25) 0,1 M 1 mL DMPD çözeltisi ve 0,05 M 0,2 mL FeCl₃ çözeltisi ilave edilerek 0,01 M DMPD⁺ reaktifi oluşturuldu. DMPD⁺ reaktifi ve destile sudan oluşan kontrol çözeltisinin absorbansı kullanılmadan önce 1±0,025 nm'ye ayarlandı. Deney tüplerine pipetlemeler Tablo 11'de verildiği sırayla yapılarak vorteks ile karıştırıldıktan sonra 50 dk. karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve son olarak 505 nm'de absorbanslar ölçüldü. Kör olarak sodyum asetat tamponu kullanılmıştır.

Tablo 11. DMPD⁺ Giderme Yönteminde Kullanılan Konsantrasyonlar (µg/mL)

Tüp içeriği (µL)	15	30	45	60
Numune/Standart	22,5	45	67,5	90
Destile su	477,5	455	422,5	410
DMPD ⁺ reaktifi	1000	1000	1000	1000
Toplam	1500	1500	1500	1500

Toplam Fenolik Miktarı Yöntemi

Çözeltiler

- *FCR* olduğu şekilde kullanıldı.
- *Na₂CO₃ çözeltisi (%2'lik):* 50 mL'lik balon jojeye 1 g Na₂CO₃ alınıp, 40 mL destile suda çözüldü. Nihai hacim destile su eklenerek 50 mL yapıldı.
- *Gallik asit çözeltisi (Standart):* 10 mL destile su içinde 10 mg gallik asit çözülerek hazırlandı.

Yöntem

Arı ürünlerinin fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak belirlendi (Singleton *et al.* 1999). Standart madde olarak gallik asit kullanıldı. İlk olarak

standart grafik çizimi için 10 mg/mL konsantrasyonunda stok çözelti hazırlandı. 10 mL destile suda 10 mg gallik asit çözülüp hazırlanan stokdan 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 µL gallik asit içeren çözelti tüplere alındı ve son hacim destile su ile 23 mL'ye tamamlandı. Daha sonra sırasıyla 0,5 mL FCR ve üç dakika sonra %2'lik Na₂CO₃'den 1,5 mL eklendi ve iki saat sürecek şekilde normal koşullarda karıştırdı. Son olarak 760 nm'de köre (destile su) karşı absorbanslar belirlendi. Kontrol olarak ise numune yerine destile su kullanıldı. Numunelerin absorbanslarına karşılık gallik asit ekivalenti (GAE) (µg) olarak hesaplandı. Toplam fenolik madde miktarını belirlerken deney tüpleri hacim içeriği Tablo 12'de gösterilmiştir. Tüm numuneler için 3 tekrarlı analiz yapılmıştır.

Tablo 12. Toplam Fenolik Miktarı Deney Tüpleri Hacimleri

Numune (µL)	250	500	750	1000
Saf su (mL)	22,75	22,5	22,25	22
FCR (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5
%2'lik Na ₂ CO ₃ (mL)	1,5	1,5	1,5	1,5

Toplam Flavonoid Miktarı Yöntemi

Çözeltiler

- *Quercetin çözeltisi (Standart):* 10 mL destile suda 10 mg kersetin çözüldü.
- *Na₂CO₃ çözeltisi (%2'lik):* 50 mL'lik balon jøjeye 1 g Na₂CO₃ alınıp ve 40 mL destile suda çözüldü. Son hacim destile su ile 50 mL'ye tamamlandı.
- *Al(NO₃)₃ çözeltisi (%10'luk):* 135 mL saf suya 15 g Al(NO₃)₃ alınıp ilave edilip çözünerek hazırlandı.
- *CH₃COOK çözeltisi (1M):* 160 mL destile suda 19,8 g CH₃COOK alınıp çözüldü. Son hacim destile su ile 200 mL'ye tamamlandı.

Yöntem

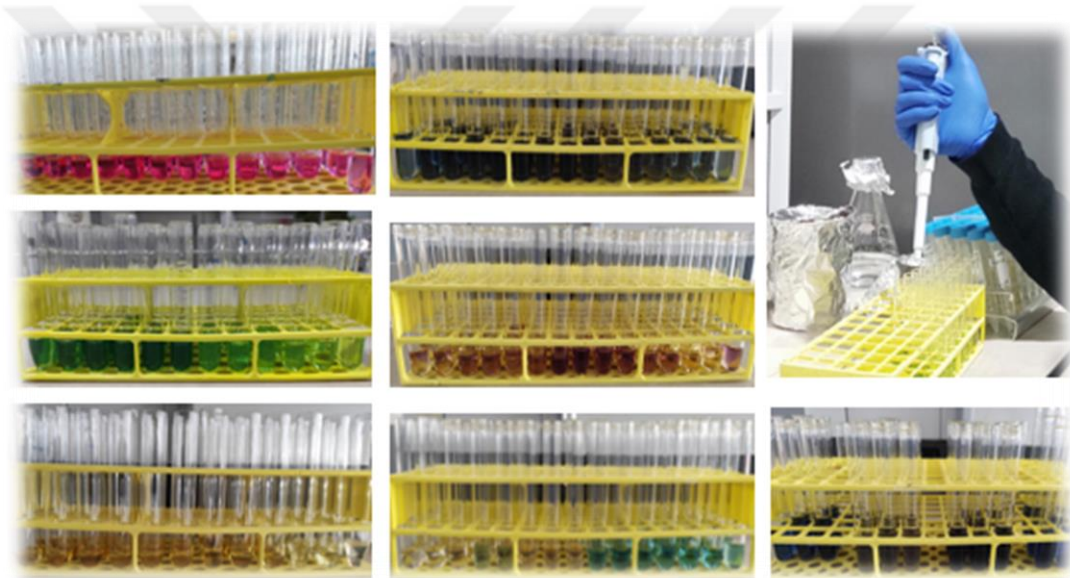
Arı ürünlerinde bulunan toplam flavonoid miktarı Park ve arkadaşlarının uyguladığı yöntem esas alınarak belirlendi (Park *et al.* 1997). Standart flavonoid madde olarak kersetin kullanıldı. İlk olarak grafik çizilmesi için hazırlanan stokdan 10, 20, 30, 40 ve 50 µg kersetin içeren çözelti aynı hacimlerde µL olarak eklendi ve tüplere 0,1 mL (1,0 M) CH₃COOK (suda) ve 0,1 mL Al(NO₃)₃(%10) eklendi. Karışıma 4,3 mL etanol eklenerek karıştırılıp seyreltildi. Normal şartlarda kırk dakika inkübasyona bırakıldı ve 415 nm'de köre (etanol) karşı absorbanslar ölçüldü. Standart kersetin grafiğinden çıkarılan

denklemden toplam flavonoid konsantrasyonu kersetin ekivalenti (QE) (μg) olarak belirlendi. Toplam flavonoid miktarı deney tüpleri sıralaması ve hacimleri Tablo 13'te sunulmuştur.

Tablo 13. Toplam Flavonoid Miktarı Deney Tüpleri Hacimleri

Numune (μL)	250	500	750	1000
CH_3COOK	100	100	100	100
$\text{Al}(\text{NO}_3)_3$	100	100	100	100
Etanol	4300	4300	4300	4300

Arı ürünlerinin biyolojik aktivite belirleme çalışmalarından görseller Şekil 31'de verilmiştir.



Şekil 31. Biyolojik aktivite çalışmalarından görseller

Enzim İnhibisyon Aktivite Yöntemleri

Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi

Çözeltiler

- *10 mM asetilkolin iyodat çözeltisi:* 14,5 mg asetilkolin iyodat alınarak 5 mL destile suda çözüldü.
- *1 M Tris-HCl tamponu:* 0,182 g EDTA, 15,14 g Tris tartılarak 100 mL destile suda çözüldü ve pH'sı 8'e ayarlandı. Nihai hacim destile su ile 125 mL yapıldı.
- *DTNB çözeltisi (10 mM):* 0,1 g sodyum sitrat 2 mg DTNB, tartıldı. 10 mL saf suda çözüldü.

Yöntem

AChE asetilkolinin, tiyolin ve asetata parçalamaktadır. Enzim inhibisyonunu belirlemede tiyokolin kullanılmaktadır. Tiyokolin ile DTNB'nin reaksiyonu sonucu sarı renkli 5-Tiyo-2-Nitrobenzoik asit oluşmakta ve 412 nm'de absorbans vermektedir (Ellman *et al.* 1961). Enzim inhibisyonu IC₅₀ değeri belirlenerek yapıldı. Bunun için deney tüpüne Tablo 14'te verildiği gibi pipetlemeler yapıldı ve 412 nm'de 3 dk. boyunca absorbans ölçümü yapıldı. Son olarak konsantrasyona karşı % enzim aktivitesi grafiği çizildi ve bu grafik denklemden IC₅₀ sonuçları belirlenmiştir.

Bütirilkolinesteraz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi

Çözeltiler

- 10 mM DTNB çözeltisi: 19,8 mg DTNB tartılarak 5 mL destile suda çözüldü.
- Tris-HCl tamponu (1 M): 15,14 g Tris alınarak 100 mL destile suda çözüldü ve pH'sı 8'e ayarlandıktan sonra nihai hacim destile su ile 125 mL yapıldı.
- Bütirilkolin iyodat çözeltisi (5 mM): 75,3 mg bütirilkolin iyodat alınarak 50 mL destile suda çözüldü.

Yöntem

Bütirilkolinesteraz, asetilkolinesteraz ile aynı yöntemde belirlendi. Farklı olarak substrat olarak bütirilkolin iyodat ve enzim olarak ise bütirilkolinesteraz kullanıldı. Enzim inhibisyon çalışmalarında önemli bir nokta ise kontrollere göre enzim hacminde değişiklik yapılmasıdır.

Tablo 14. Kolinesteraz Aktivite Tayini Küvet İçeriği

Küvet içeriği	Hacim (µL)
Tampon	100
Destile su	780
DTNB çözeltisi	50
Enzim çözeltisi	20
Numune (İnhibitör)	(Değişebilir)
Substrat (Asetilkolin iyodat ve bütirilkolin iyodat)	50
Toplam hacim	1000

α-Amilaz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi

Çözeltiler

- *Sodyum Fosfat tamponu (0,1 M)*: 5,99 g sodyum fosfat 450 mL destile suda çözüldü ve pH'sı 6,9'a ayarlandıktan sonra nihai hacim destile su ile 500 mL yapıldı.
- *Nişasta çözeltisi*: 20 mg nişastanın 20 mL destile suda ısıtılarak çözüldü.

Yöntem

Xiao ve arkadaşlarının yöntemi esas alınak uygulandı (Xiao *et al.* 2006). Enzim ticari olarak hazır satın alındı. Küvet içeriği Tablo 15'te verildiği gibi dolduruldu. Enzim substratı olan nişasta zor çözünmekte bu nedenle çözüne kadar ısıtıcı karıştırıcıda beklendi. Farklı numune konsantrasyonları belirlenerek yöntem uygulandı ve 580 nm'de absorbans değerleri belirlenerek IC₅₀ belirlendi.

Tablo 15. α -Amilaz Aktivite Tayini Küvet İçeriği

Küvet içeriği	Hacim (μ L)
Numune (İnhibitör)	- (Değişebilir)
Nişasta	500
Tampon	250 (Değişebilir)
Enzim	250
Toplam hacim	1000

α -Glikozidaz Enzimi İnhibisyon Aktivite Yöntemi

Çözeltiler

- *0,1 M sodyum fosfat tamponu*: 6 g NaH₂PO₄ tartıldı. 450 mL destile suda çözüldü. pH'sı 6,9'a ayarlandıktan sonra son hacim destile su ile 500 mL yapıldı.
- *p-NPG çözeltisi (5 mM)*: 37,6 mg p-NPG tartılarak 25 mL yukarıda hazırlanan sodyum fosfat tamponu ile çözüldü.

Yöntem

Tao ve arkadaşlarının yöntemi esas alınak uygulandı (Tao *et al.* 2013). Tablo 16'da verilen pipetlemeler yapıldı ve 405 nm'de 3 dk. boyunca absorbans ölçümü yapıldı. IC₅₀ değeri için arı ürünleri stok çözeltilerinin 6 farklı konsantrasyonda pipetlemeler yapıldı. 405 nm'de 3 dk. absorbans değerleri belirlenip IC₅₀ değerleri hesaplandı.

Tablo 16. α -Glikozidaz Aktivite Tayini Küvet İçeriği

Küvet içeriği	Hacim (μ L)
Tampon	100
Destile su	820 (Değişebilir)
Enzim çözeltisi	30
Numune(İnhibitör)	- (Değişebilir)
<i>p</i> -NPG	50
Toplam hacim	1000

hCA I ve hCA II İzoenzimleri Saflaştırma Yöntemleri

hCA I ve hCA II İzoenzimleri için Kullanılan Çözücüler

- *Afinite jeli tamponu (200 mM):* 16,8 g NaHCO_3 tartılarak 950 mL destile suda çözüldü ve 1 N NaOH ile pH'sı 8,8'e ayarlandıktan sonra hacim destile su ile 1 L'ye tamamlanarak hazırlandı.
- *Jeli dengeleme tamponu (25 mM Tris-HCl/0,1 M Na_2SO_4):* 14,2 g Na_2SO_4 ve 3,028 g Tris tartılarak 950 mL destile suda çözüldü. 1 M NaOH ile pH'sı 8,7'ye ayarlandıktan sonra hacim destile su ile 1 L'ye tamamlanarak hazırlandı.
- *Jeli yıkama tamponu (25 mM Tris-HCl/22 mM Na_2SO_4):* 3,214 g Na_2SO_4 ve 3,028 g Tris tartılarak 950 mL destile suda çözüldü. 1 M NaOH ile pH'sı 8,7'ye ayarlandıktan sonra hacim 1 L'ye destile su ile tamamlanarak hazırlandı.
- *hCA I izoenzimi elüsyon tamponu (25 mM Na_2HPO_4 /1 M NaCl):* 14,63 g NaCl ve 2,2 g Na_2HPO_4 tartılarak 200 mL destile suda çözüldü. pH'sı 6,3'e ayarlandıktan sonra hacim 250 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.
- *hCA II izoenzimi elüsyon tamponu (0,1 M CH_3COONa /0,5 M NaClO_4):* 9,187 g NaClO_4 ve 2,04 g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ tartılarak. 120 mL destile suda çözülerek 1 N HCl ile pH'sı 5,6'ya ayarlandı ve nihai hacim destile su ile 150 mL yapıldı.
- *Diyaliz tamponu:* 6 g Tris 900 mL destile suda çözülerek pH'sı H_2SO_4 ile 7,4'e ayarlandı ve nihai hacim destile su ile 1 L'ye tamamlandı.
- *Tris- SO_4 tamponu (0,05 M):* 6,057 g Tris tartılarak 950 mL destile su ile çözüldü ve 1 N H_2SO_4 ile pH'sı 7,4'e ayarlandıktan sonra nihai hacim destile su ile 1 L yapıldı.

- *Nitrofenil asetat çözeltisi (PNF)*: 13,5 mg PNF tartıldı. 1 mL asetonda çözüldü. Nihai hacim destile su ile 25 mL yapıldı.

CA Enzim Hemolizatının Hazırlanması

İnsan eritrositinden 10 mL alınarak 40 mL buzlu destile su ilave edildi ve 5-10 dk. aralığında hücrelerin patlamasını sağlamak için karıştırıldı. 13.000xg'de +4 °C'de 30 dk. boyunca santrifüj edilerek çöken kısma dokunmadan üst faz hemolizat dikkatlice alındı ve alınan hemolizata azar azar tris eklenerek pH'sı 8,7'ye ayarlandı ve bu işlemden sonra hazır olan hemozilat +4 °C'de saklandı (Çoban *et al.* 2008).

Afinite Jelinin Hazırlanması

Afinite jeli belirli basamaklar izlenerek hazırlandı. Bu basamaklar şunlardır:

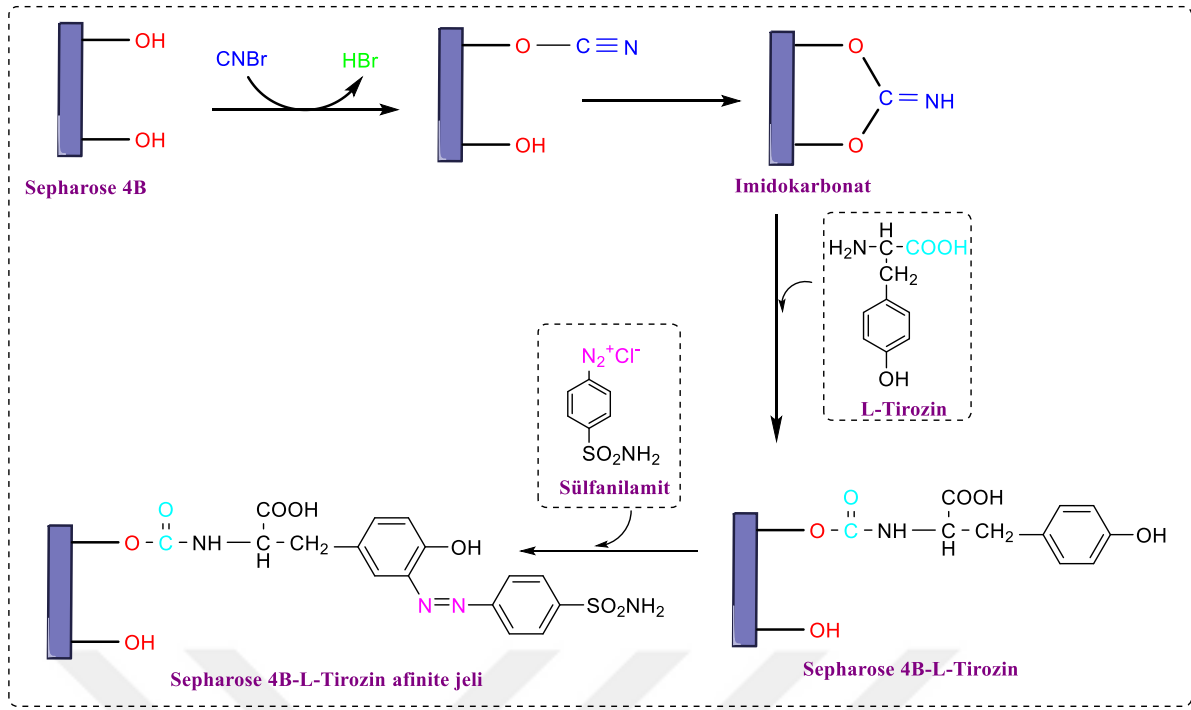
1) CNBr ile aktifleştirilmiş Sepharose-4B'ye L-Tirozin takılması

İlk olarak afinite jeli hazırlama işlemine CNBr ile aktifleştirilen Sepharose-4B matriksi ile başlandı. Matriks soğuk 0,1 M 250 mL NaHCO₃ (pH:10) tamponu ile yıkandı ve aynı tamponun 20 mL'sinde 80 mg L-tirozin çözünmüş solusyon ilave edilerek +4 °C'de 2 saat yavaşça karıştırıldı. 16 saat +4 °C'de bekletildikten sonra etkileşime girmeyen L-tirozin'in uzaklaştırılması için 280 nm'de absorbans vermeyinceye kadar yıkama suyu ile yıkandı. Yıkama 100 mL 0,2 M NaHCO₃ tamponu (pH:8,8) ile sürdürüldü ve matrikse takılı L-tirozin'li jel aynı tampona (40 mL) eklendi.

2) Sülfanilamid kenetlendirilmesi

25 mg sülfanilamid 1 M 10 mL HCl (0°C) içinde çözüldü ve 75 mg NaNO₂ içeren çözeltiden damla damla 5 mL ilave edildikten sonra 10 dk. reaksiyon süreci için beklendi. Bu işlem sonrasında diazolanmış olan sülfanilamid 40 mL sepharose-4B-L-tirozin çözeltisine eklendi. pH 9,5'e 1 M NaOH ile ayarlandı ve normal şartlarda 3 saat yavaş yavaş karıştırıldı. 1 L destile su ve 0,05 M 200 mL Tris-SO₄ (pH: 7,4) tamponu ile yıkama yapılarak üzerine aynı tampondan ilave edildikten sonra saklandı (Bingöl 2022).

CNBr Sepharose-4B-L-Tirozin afinite jeli tepkime mekanizması Şekil 32'de verilmiştir (Atasever *et al.* 2013).



Şekil 32. Afinite jeli reaksiyon mekanizması

Afinite Kolonunun Paketlenmesi, Numune İlavesi ve Elüatların Alınması

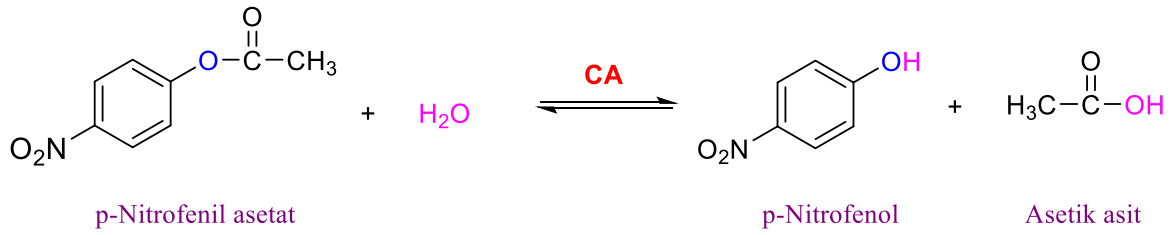
Hazırlanan jel Tris-HCl (pH: 7,8) dengeleme tamponuna alınarak içinde biriken hava su trombu ile alındı. Jel 1x10 cm'lik kapalı sistem soğutmalı kolona ilave edilerek jel çöktükten sonra peristaltik pompa ile yıkama tamponuyla yıkandı. Sonra dengeleme tamponu ile dengelendi ve elüatlar alınarak 280 nm'de absorbanlara bakıldı. Absorbanların eşitlenmesi ile kolon dengelenmiştir.

Hemolizat (pH'sı 8,7) afinite kolona damla damla eklendi ve 25 mM 400 mL Tris-HCl (pH'sı 8,7) /22 mM Na₂SO₄ çözeltisi ile yıkanarak safsızlıklar uzaklaştırıldı. İlk olarak pH'sı 6,3 olan 1 M NaCl/25 mM Na₂HPO₄ elüsyon tamponu eklendi ve CA I izoenzimi saflaştırıldıktan sonra NaCH₃COO (0,1 M) / NaClO₄ (0,5 M, pH: 5,6) elüsyon tamponu eklenerek CA II izoenzimi elüe edilerek 2 mL'lik santrifüj tüplerine eklendi. Son olarak elüatların 280 nm'deki absorbanları belirlendi.

hCA I ve hCA II İzoenzimleri Esteraz Aktivitesi Tayini

Karbonik anhidraz enziminin esteraz aktivitesi göstermesine bağlı olarak yapılmaktadır. CA enziminin substratı *p*-Nitrofenil asetat (PNF)'dir. Enzim PNF'yi hidroliz ederek *p*-Nitrofenol veya *p*-Nitrofenolat oluşturur (Şekil 33) ve esteraz aktivitesi tayini bu esasa dayanmaktadır. Oluşan bileşikler de 348 nm'de maksimum absorbsiyon verir. PNF çözeltisi hazırlanırken günlük hazırlanması, ışıktta çabuk bozulduğu için folyaya

sarılması ve çözücü olarak aseton kullanılmasına dikkat edilmesi gerekmektedir. Aseton kullanılmasının nedeni ise diğer çözücülere göre hidrolizi çok az inhibe etmesidir (Göçer and Gülçin 2013; Verpoorte *et al.* 1967).



Şekil 33. *p*-Nitrofenil asetat'ın CA ile *p*-Nitrofenol'e dönüşümü

Esteraz aktivitesini belirlemek için 1 mL'lik küvete Tablo 17'de belirtildiği gibi pipetlemeler yapıldı. Kör için 400 µL tampon, 240 µL destile su (enzimden gelen 20 eklendi), 360 µL PNF'den hazırlandı. Son olarak köre karşı 30 saniyede bir olmak üzere 3 dk. boyunca 248 nm'de absorbans ölçümleri yapıldı. Son absorbans ile ilk absorbans arasındaki fark alınarak aktivite belirlendi (Bu fark spektrofotometreden kaynaklandığı için yapıldı bazı farklı spektrofotometrelerde farklı hesaplanmaktadır).

Tablo 17. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivitesi Küvet İçeriği

Kuarz küvet içeriği	Hacim (µL)
Tris-SO ₄ tamponu	400
Destile su	220 (İnhibitöre göre değişebilir)
PNF çözeltisi	360
Numune (İnhibitör)	- (Suya göre değişebilir)
Enzim Çözeltisi	20
Toplam Hacim	1000

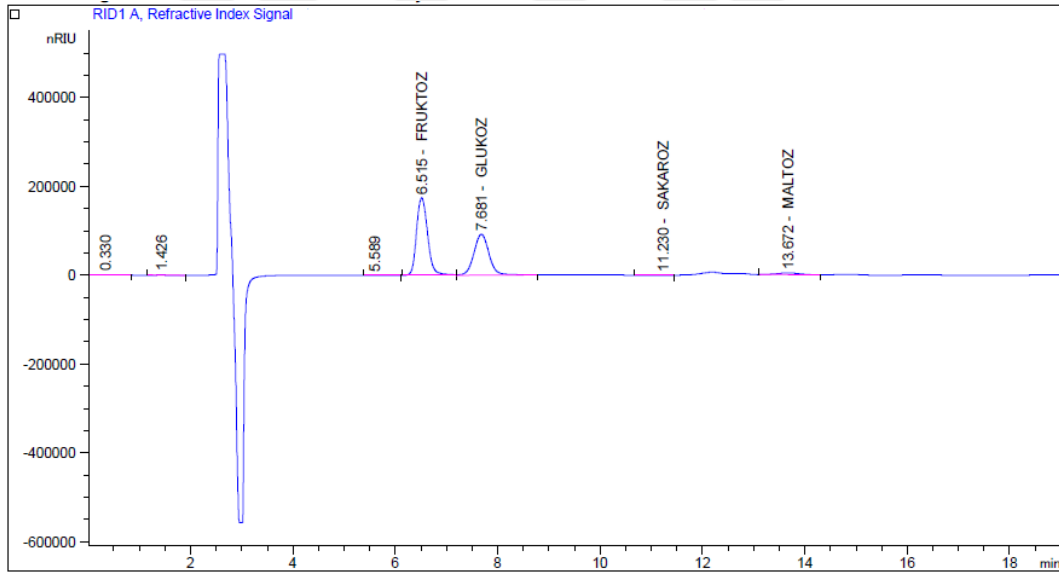
hCA I ve hCA II İzoenzimleri İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim inhibisyonları IC₅₀ değerleri bulunarak esteraz aktivitesi yöntemi ile belirlendi. Bunun için arı ürünleri ekstralarının DMSO ile hazırlanan stoklarından 6 farklı konsantrasyonlarında pipetlemeler yapıldı ve 348 nm'de 3 dk. absorbans ölçümü yapıldı. Konsantrasyona karşı % enzim aktivitesi grafiği çizildi ve bu grafik denkleminde IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

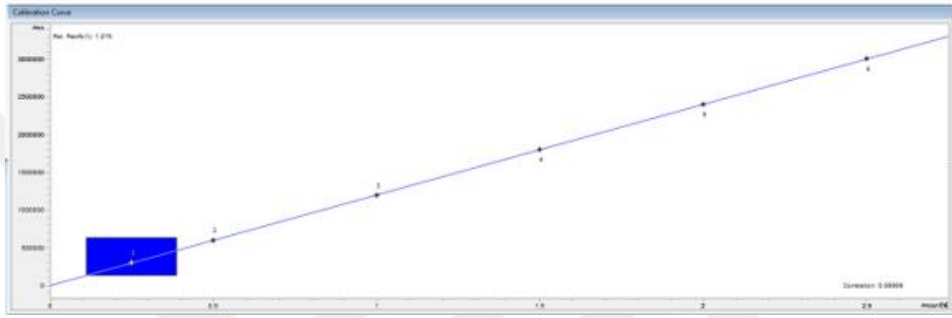
Balda Fizikokimyasal Analiz Yöntemleri

Şeker Analiz Yöntemi

Balda şeker analiz yöntemi Türk Standartları Enstitüsü (TS 13359) ve Uluslararası Bal Komisyonu (IHC Bölüm 7.2)'de belirtilen yöntem esas alınarak belirlendi (Karahan *et al.* 2023). Bu yöntemle göre, 5 g bal tartıldı ve yaklaşık 40 mL ultrapure destile suda çözüldü. Sonra üzerine 25 mL metanol eklenerek balon jöjeye alındı ve ultrapure destile su ilavesiyle hacim 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltinin yaklaşık 1,5 mL'si steril tek kullanımlık ve 0,45 µm şırınga filtresi ile süzülerek HPLC viallerine aktarıldı ve HPLC cihazı ile analiz yapıldı. Elde edilen pik alanı kalibrasyon eğrilerindeki formüller kullanılarak şeker konsantrasyonları % olarak hesaplandı. Şeker standartları çözeltisine ait kromatogram Şekil 34'te verilmiştir. HPLC analizi için kromatografik koşullar ise şöyledir: mobil faz ultra saf su: asetonitril (20:80, v/v) karışımı, akış hızı 1,3 mL/dak, enjeksiyon hacmi 10 µL ve tespit sıcaklığı 30°C. Şeker ve HMF analizlerinin yapıldığı HPLC-RID-DAD cihazı ve şeker kalibrasyon grafiği Şekil 35'te gösterilmiştir.



Şekil 34. Şeker standart kromatogramı



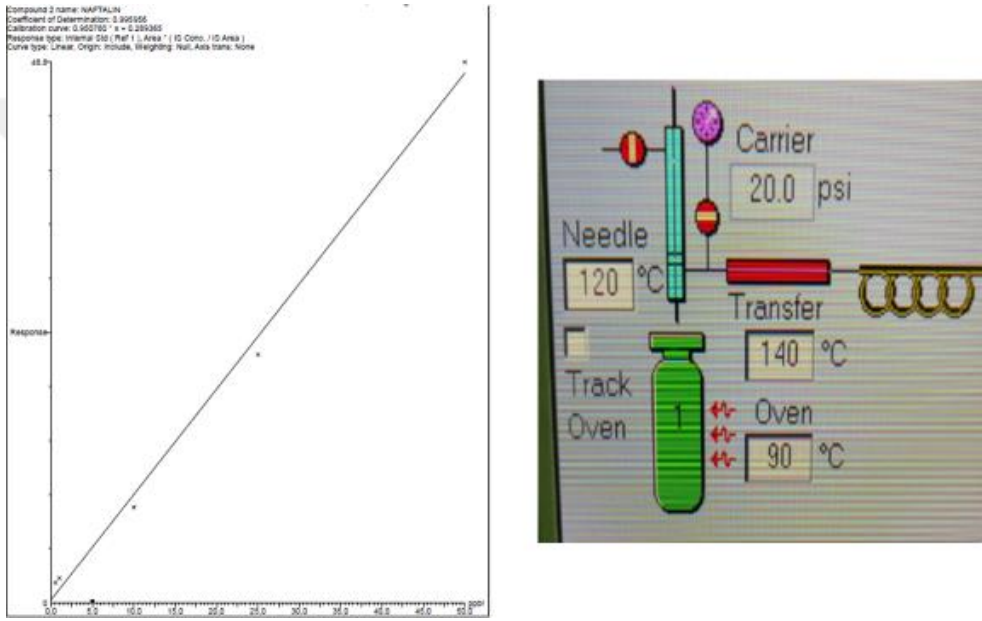
Şekil 35. HPLC-RID-DAD cihazı ve şeker analizi kalibrasyon grafiği

Naftalin Analiz Yöntemi

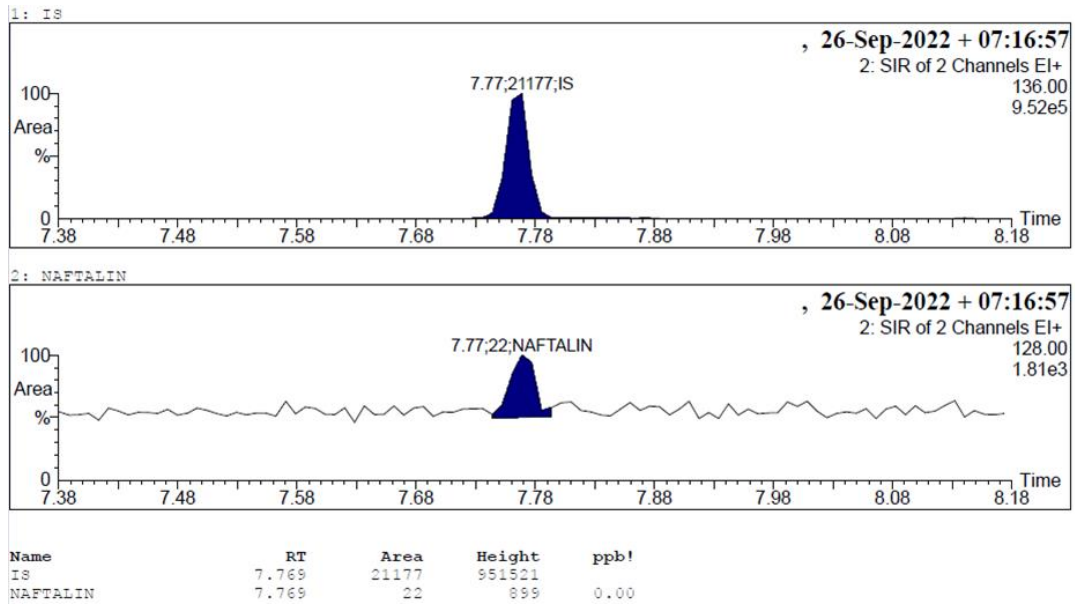
Naftalin analiz yöntemi İzol tarafından geliştirilen yöntem ile yapıldı. 1 g bal 20 mL GS/MS/HS (Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy/Headspace) (Şekil 36) vialine tartıldı. Üzerine 10 mg/L konsantrasyonunda metanol ile hazırlanmış naftalin-D8 internal standardı eklendi ve vial kapağı kapatılarak HS Autosampler (otomatik örnekleyici) kısmına yerleştirildi ve analiz yapıldı. Kullanılan cihaz markası PerkinElmer, GC modeli Clarus 690, MS modeli Clarus SQ 8T, HS modeli TurbaMatrix 40 Trap'dır. Headspace metot verileri ve kalibrasyon grafiği Şekil 37'de verilmiştir. Naftalin ve naftalin-D8 izotopunun kromatogramı Şekil 38'de verilmiştir. Cihaz yazılımı olarak TurbaMass Ver. 6.1.2 kullanılmıştır. Analiz sonuçları cihaz yazılımında yer alan NIST kütüphanesi ile doğrulanmıştır. Analiz işleminde 30 m, 0,25 mmID, 0,25 µm Elite-WAX kolonu kullanılmıştır. Analiz süresi 10 dk. olup çözücü gecikme süresi 0'dan 3 dk., MS Scan zamanı 3,5'den 10 dk. olup kütle aralığı 35-250 olarak belirlenmiştir.



Şekil 36. Naftalin analizinin yapıldığı GC/MS/HS cihazı



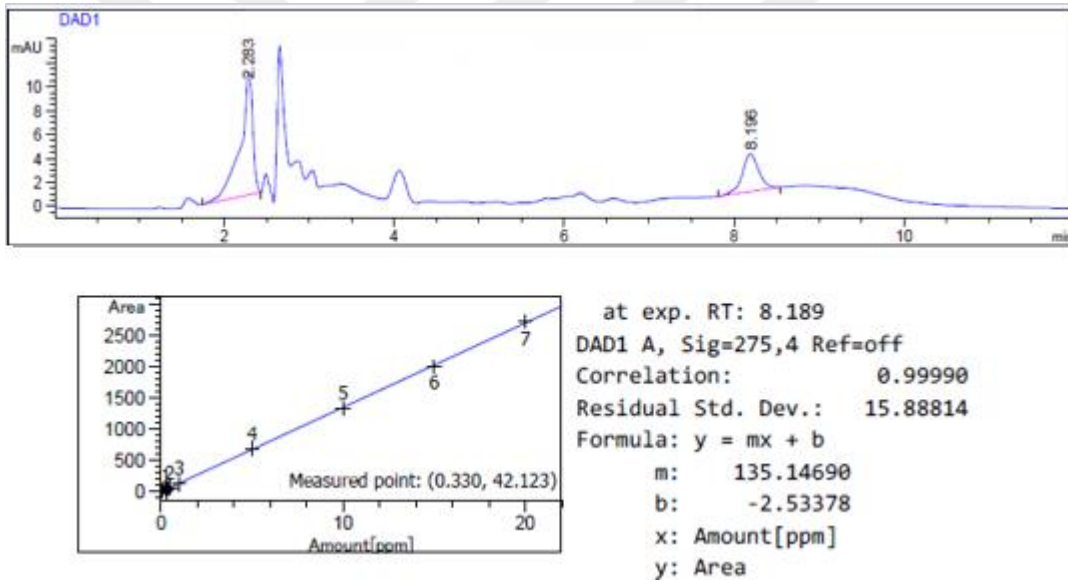
Şekil 37. Kalibrasyon grafiği ve Headspace metot verileri



Şekil 38. Naftalin ve naftalin-D8 izotopunun GC/MS/HS kromatogramı

HMF Analiz Yöntemi

Balların HMF analizleri IHC (Bölüm 5.1) ve TS 13356 yöntemleri ile uyumlu olan Bogdanov ve arkadaşlarının yaptığı yöntem esas alınmıştır (Bogdanov *et al.* 2002). Analiz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi cihazı ile yapıldı. Analiz için 5 g bal 50 mL balon jodede tartıldı ve 25 mL ultrapure destile su ilave edilerek karıştırılıp iyice çözünmesi sağlandı. Balona 0,5 mL carez I eklendi ve iyice karıştırıldı ve bu kez 0,5 mL carez II çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı. Nihai hacim ultrapure destile su ile 50 mL'ye tamamlandı ve 3 saat inkube edildi. Sonra çözelti süzülerek süzütüden 1,5 mL enjektör ile alınıp 0,22 µm membran filtre ile süzülüp HPLC viallerine alındı ve cihaza verildi. Her bir bal numunesinin pik alanı ile standart çözeltinin pik alanı karşılaştırılarak HMF konsantrasyonları hesaplandı. Cihaz çalışma koşulları: Dedektör DAD, kolon C18 4.6x250 mm, kolon sıcaklığı 30 °C, akış hızı 1 mL/dk., enjeksiyon hacmi 20 mL, mobil faz; metanol: ultrapure destile su (10:90). HMF kalibrasyon grafiği Şekil 39'da sunulmuştur.



Şekil 39. HMF analizi HPLC kromatogramı ve kalibrasyon grafiği

Prolin Analiz Yöntemi

Bogdanov ve arkadaşlarının yaptığı ve IHC (Bölüm 10) ile TS 13357 uyumlu olan yöntem uygulandı. Çözeltiler yöntemde belirtildiği gibi hazırlandı. 5 g bal 100 mL balon jodede tartılarak 50 mL destile su eklenerek bal çözüldü. Son hacim destile su ile 100 mL yapıldı. Bu çözeltiden 0,5 mL alınarak deney tüpüne aktarıldı. Ayrıca 0,5 mL kör için destile su bir tüpe ve 0,5 mL prolin standart çözeltisi de ayrı bir tüpe aktarıldı. Üç analiz tüpüne de 1 mL ninhidrin çözeltisi ve 1 mL formik asit ilave edilerek 15 dk. karıştırıldı. Ardından 15 dk. kaynar su banyosunda bekletildi ve sonra 70°C'de farklı bir su banyosunda 10 dk. bekletildi. Su banyosundan çıkarılan tüplere 5 mL %50'lik 2-propanol

solüsyonu ilave edildi ve 45 dk. oda şartlarında inkübasyona bırakıldı. Son olarak 510 nm’de absorbansları belirlendi. Prolin konsantrasyonları referans metotta yer alan formül ile hesaplandı (Bogdanov *et al.* 2002).

Diastaz Analiz Yöntemi

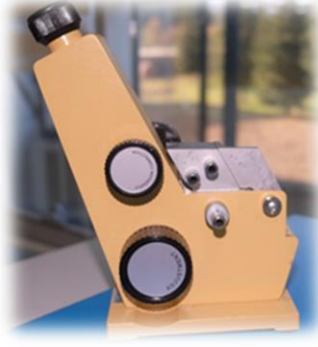
Diastaz analizi Afshari ve arkadaşlarının yaptığı ve IHC (Bölüm 6.2.)’de verilen metot ile uyumlu olan yöntem esas alınarak yapıldı. 1 g bal tartılarak asetat tamponu ile 100 mL balon jodede tamamlandı. Çözeltiden 5 mL deney tüpüne aktarıldı. Kör için ise 5 mL asetat tamponu diğer bir tüpe alındı. İki deney tüpü su banyosunda 40°C’de 5 dk. inkübe edildi ve iki tüpede Phadebas tableti eklendi. Tüpler 10 sn. vortekslelendikten sonra tekrar su banyosuna alındı. Yarım saat sonra tüplere 1 mL NaOH çözeltisi eklendi ve vortekslelendi. Daha sonra tüpler 3600 rpm’de 5 dk. santrifüjlendi ve süpernatant kısmı 620 nm de UV Spektrofotometre ile destile suya karşı okundu (Afshari *et al.* 2022). Diastaz ve prolin analizinin yapıldığı UV Spektrofotometre cihazı Şekil 40’ta gösterilmiştir.



Şekil 40. UV Spektrofotometre

Nem Analiz Yöntemi

Balda nem analizi Bogdanov ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği ve IHC (Bölüm 1) ile TS 13365 yöntemleriyle uyumlu olan metot uygulandı. Bu kapsamda Abbe refraktometresi kullanıldı. Bal numunesi iyice karıştırıldıktan sonra baldan refraktometre alt prizmasını kaplayacak miktarda prizmaya damlatıldı. Daha sonra refraktometre üst prizması kapatılarak mercek kısmında yer alan cetvel yardımı ile görülen değer not alındı ve metotta verilen tabloda bulunan değere karşılık gelen % nem içeriği belirlendi (Bogdanov *et al.* 2002; AOAC 2005). Nem analizinin gerçekleştirildiği refraktometre Şekil 41’de sunulmuştur.



Şekil 41. Refraktometre cihazı

Elektriksel İletkenlik Analiz Yöntemi

Elektriksel iletkenliğin belirlenmesi TS 13366 metodu ile uyumlu olan yöntem uygulandı ve bunun için balın nem değeri kullanıldı. Balın nem değerine göre en az 20 g kuru madde içerecek miktarda bal tartılarak 100 mL'lik beherde 70 mL destile su ile çözüldü ve 100 mL balon jojeye aktarılark nihai hacim destile su ile 100 mL yapıldı. Ortam sıcaklığının 20 °C'ye ayarlanması ile kalibrasyonu yapılan kondüktometre (Şekil 42) ile bal numunelerinin elektriksel iletkenlik değeri belirlendi (Anonim 2001).



Şekil 42. Elektriksel iletkenlik ve pH metre cihazı

Serbest Asitlik Analiz Yöntemi

Bal numunelerinin serbest asitliğini belirlemek için TS 13360 metodu ile uyumlu olan yöntem uygulandı. Bal numunesinden 250 mL'lik beherde 10 g bal tartıldı ve 75 mL ultra destile su ilave edilerek karıştırılıp çözüldü. Çözünen bal numunesine 5 damla fenolftalein çözeltisi damlatıldı ve 0,05 N NaOH pH'sı 8,3 olan çözeltisi damlatılarak titrasyon yapıldı. Pembe renk olunca titrasyon sonlandırıldı. Harcanan NaOH çözeltisi not alınarak balların asitlik değeri metotta yer alan formül ile hesaplandı (Bogdanov *et al.* 2002).

pH Analiz Yöntemi

Balların pH'sı belirlenirken 10 g bal 100 mL'lik behere tartıldı ve 75 mL ultra destile su ile çözüldü. pH metrenin kalibrasyonu standart çözeltiler (pH:4.00-7.00-10.00) ile yapıldıktan sonra pH metre probu bal çözeltisine daldırılarak pH belirlendi (Bogdanov *et al.* 2002).

İstatiksel Analizler

Antioksidan sonuçlar 3 tekrarlı yapılan analizlerin sonuçları standart sapma ile verilerek ve analizleri SPSS programı ile yapıldı. Ayrıca analizlerde Excel kullanılmış ve ANOVA testi de uygulanmıştır. Tukey'nin post hoc testi kullanılarak değerlendirildi; $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

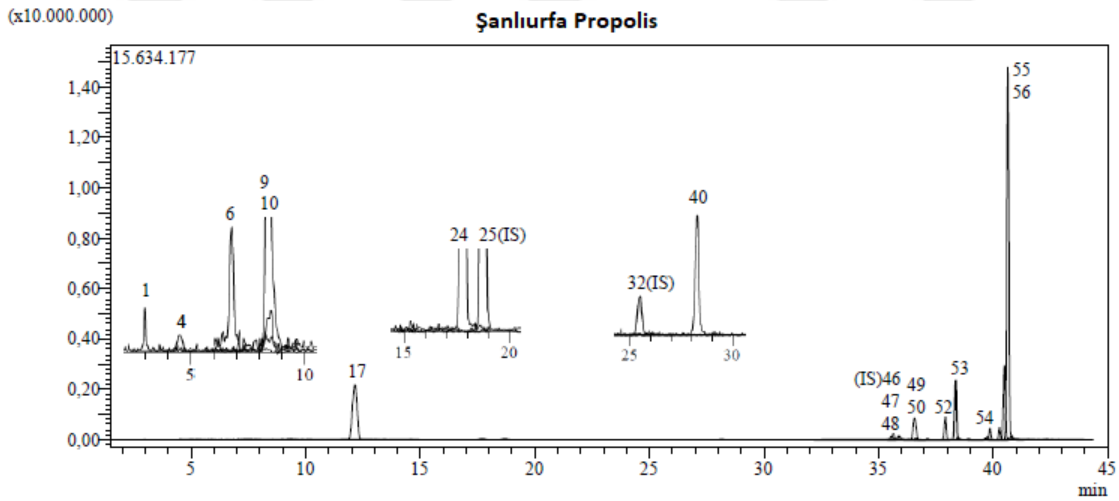


ARAŞTIRMA BULGULARI

LC-MS/MS ile Sekonder Metabolit Bulguları

LC-MS/MS ile arı ürünlerinde 53 farklı fenolik, flavonoid bileşik ve organik asitler kantitatif olarak incelendi. Bulgular Tablo 17-22’de verilmiştir. Quercetin-D3, rutin-D3, ferulic asit-D3 bileşikleri internal standart olarak kullanılmıştır.

Propolis numunelerinde en yüksek konsantrasyonda belirlenen bileşiğin acacetin (74,577 mg analit/g ekstre) olduğu belirlendi. Yalova propolisinde caffeic asit 14,421, Ankara propolisinde quercetin 6,919, Mersin propolisinde naringenin 8,244, Şanlıurfa propolisinde apigenin 5,309, Ankara propolisinde amentoflavone 10,216, Ankara propolisinde chrysin 57,922 ve Erzurum propolisinde ise chrysin 68,05 (mg analit/g ekstre) konsantrasyonunda belirlenmiştir. Toplamda 32 farklı sekonder metabolit propolislerde belirlenmiştir. Özellikle acacetin ve chrysin konsantrasyonlarının yüksek olması bu bileşenler için propolislerin hem madde olabileceğini göstermektedir. Propolislerin fenolik ve organik asit içeriğinin zengin olduğu görülmüştür. Şanlıurfa propolisinin kromatogramı Şekil 43’te sunulmuştur. Şanlıurfa propolisi en yüksek konsantrasyonda acacetin içerdiği için seçilmiştir.



Şekil 43. Şanlıurfa propolisinin LC-MS/MS kromatogramı

Tablo 18. Propolislerin LC-MS/MS Sonuçları

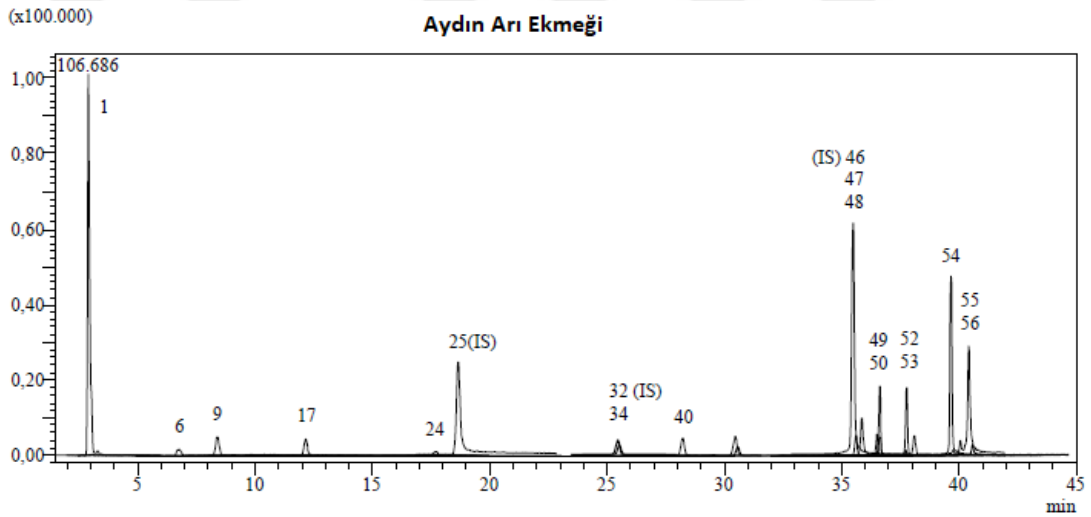
	Sekonder Metabolitler	Propolis (mg analit/g ekstre)							
		Hakkari	Şanhurfa	Yalova	Erzurum	Ankara	Artvin	Mersin	Aydın
1	Quinic asit	0,936	0,306	0,134	0,38	0,171	2,023	0,185	3,522
2	Fumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Aconitic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Gallic asit	0,068	0,04	0,311	-	0,215	0,041	0,024	0,026
5	Epigallocatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Protocatechuic asit	0,617	0,316	0,683	0,196	0,139	0,035	0,146	0,54
7	Catechin	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Gentisic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Chlorogenic asit	0,019	0,093	0,051	0,013	0,012	-	0,176	0,039
10	Protocatechuic aldehit	0,16	0,725	2,538	1,619	0,336	0,24	0,422	0,131
11	Tannic asit	0,17	-	-	-	0,538	-	0,013	0,07
12	Epigallocatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Sinarin	-	-	-	-	-	-	-	-
14	4-OH Benzoic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Epicatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Vanilic asit	-	-	1,675	2,269	0,495	1,179	2,054	-
17	Caffeic asit	2,549	17,912	14,421	8,267	3,162	1,068	3,095	0,653
18	Syringic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Vanillin	-	-	0,837	-	0,274	0,381	0,253	-
20	Syringic aldehit	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Daidzin	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Epicatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Piceid	-	-	-	-	-	-	-	-
24	<i>p</i> - Coumaric asit	0,219	2,155	2,821	2,052	2,582	4,282	3,194	0,13
25	Ferulic asit-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
26	Ferulic asit	-	-	-	-	1,252	2,828	4,594	-
27	Sinapic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Coumarin	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Salicylic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Cynarside	-	-	-	-	0,014	0,012	0,013	0,02
31	Miquelianin	-	-	-	-	-	-	0,025	0,242
32	Rutin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
33	Rutin	-	-	-	-	0,079	-	0,182	0,166
34	isoquercitrin	-	-	-	0,026	0,215	0,03	0,325	1,331
35	Hesperidin	-	-	-	0,036	0,142	-	0,262	0,219
36	<i>o</i> - Coumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Genistin	-	-	-	-	-	-	-	-
38	Rosmarinic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
39	Ellagic asit	-	-	-	0,026	0,113	-	-	-
40	Cosmosiin	-	0,071	-	0,034	0,084	0,045	0,067	0,09
41	Quercitrin	-	-	-	0,061	0,143	0,026	0,653	0,248
42	Astragalin	-	-	-	-	0,061	0,021	0,472	0,39
43	Nicotiflorin	-	-	-	-	-	0,02	0,409	0,134
44	Fisetin	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Daidzein	-	-	-	2,211	1,993	-	-	-
46	Quercetin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
47	Quercetin	3,138	4,114	1,421	6,724	6,919	0,934	1,854	3,03
48	Naringenin	4,781	6,52	5,096	0,727	0,639	3,969	8,244	2,631
49	Hesperetin	0,224	0,37	0,271	1,459	1,528	0,186	0,627	0,28
50	Luteolin	0,6	2,389	0,563	-	-	0,232	1,412	2,087
51	Genistein	-	-	-	2,706	2,02	-	-	-
52	Kaempferol	3,445	4,186	1,879	3,523	3,426	2,014	3,121	0,565
53	Apigenin	3,084	5,309	1,982	0,009	0,043	1,991	3,254	1,788
54	Amentoflavone	0,004	0,002	-	8,588	10,216	0,004	-	0,49
55	Chrysin	6,42	10,273	10,976	68,05	57,922	9,163	7,491	2,489
56	Acacetin	57,245	74,577	8,58	-	-	8,946	59,381	59,305

-. Tespit Edilmedi, U: Uygulanmadı, IS: İnternal Standart

Arı ekmekleri, propolislere göre kalitatif olarak kıyaslandığında daha az bileşen içerdiği belirlenmiştir. Kantitatif olarak da pergaların konsantrasyonlarının propolislere

göre çok düşük olduğu belirlenmiştir. Pergada en yüksek konsantrasyonda bulunan bileşiğin quinic asit (12,002 mg analit/g ekstre) olduğu ve Aydın iline ait olduğu belirlenmiştir. Yalova propolisinde quercetin konsantrasyonu 1,922 (mg analit/g ekstre) olarak bulunmuştur. Gallic asit (0,045 mg analit/g ekstre) sadece Şanlıurfa arı ekmeğinde belirlenmiş olup diğer arı ekmeğinde tespit edilmedi. Vanilin (0,044 mg analit/g ekstre), rutin (0,029 mg analit/g ekstre) ve cynaroside (0,077 mg analit/g ekstre) yalnız Erzurum arı ekmeğinde belirlendi.

Arı ekmeğinin toplamda ise 26 farklı sekonder metabolit içerdiği görülmüştür. Ancak quinic asit ve quercetin dışında diğer kantitatif olarak belirlenen bileşenlerin konsantrasyonlarının düşük olduğu görülmüştür. Aydın arı ekmeğinin kromatogramı Şekil 44'te verilmiştir. Quinic asit en yüksek konsantrasyonda Aydın arı ekmeğinde belirlendiği için seçilmiştir.



Şekil 44. Aydın arı ekmeğinin LC-MS/MS kromatogramı

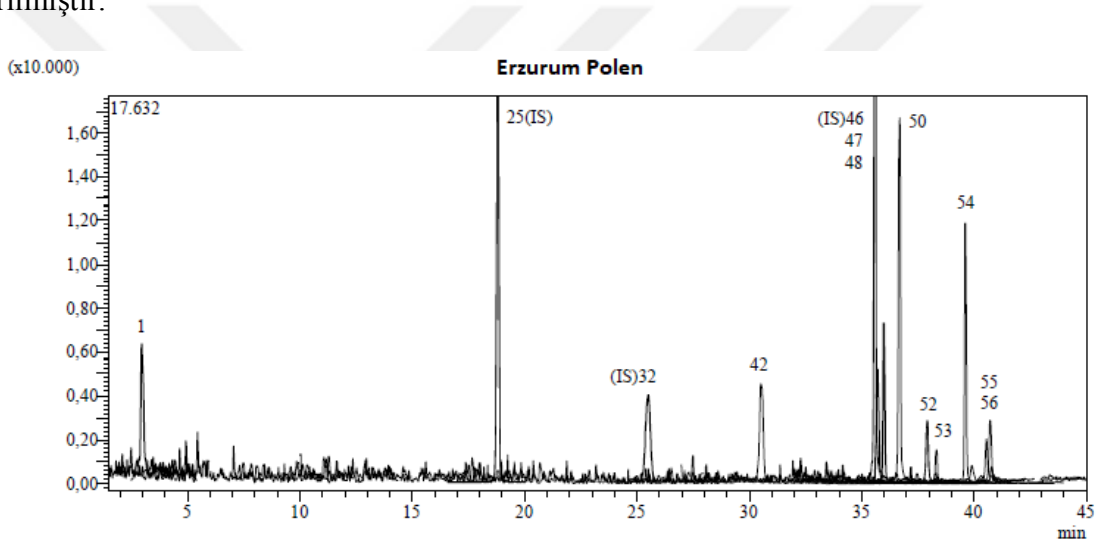
Tablo 19. Arı Ekmekleri (Perga)'nın LC-MS/MS Sonuçları

	Sekonder Metabolitler	Arı Ekmeği (mg analit/g ekstre)							
		Hakkari	Şanhurfa	Yalova	Erzurum	Ankara	Artvin	Mersin	Aydın
1	Quinic asit	1,62	2,005	1,844	0,489	3,486	2,428	1,193	12,002
2	Fumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Aconitic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Gallic asit	-	0,045	-	-	-	-	-	-
5	Epigallocatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Protocatechuic asit	-	-	-	-	-	-	0,017	0,012
7	Catechin	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Gentisic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Chlorogenic asit	-	-	0,03	0,117	0,009	-	-	0,045
10	Protocatechuic aldehit	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Tannic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Epigallocatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Sinarin	-	-	-	-	-	-	-	-
14	4-OH Benzoic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Epicatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Vanilic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Caffeic asit	0,057	-	0,113	0,022	0,024	-	-	0,027
18	Syringic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Vanillin	-	-	-	0,044	-	-	-	-
20	Syringic aldehit	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Daidzin	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Epicatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Piceid	-	-	-	-	-	-	-	-
24	<i>p</i> - Coumaric asit	0,065	-	0,049	0,04	0,066	-	-	0,039
25	Ferulic asit-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
26	Ferulic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Sinapic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Coumarin	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Salicylic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Cynarside	-	-	-	0,077	-	-	-	-
31	Miquelianin	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Rutin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
33	Rutin	-	-	-	0,029	-	-	-	-
34	isoquercitrin	-	0,107	0,384	0,024	0,205	0,024	0,357	0,066
35	Hesperidin	-	-	-	0,042	0,02	0,008	0,037	-
36	<i>o</i> - Coumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Genistin	-	-	-	-	-	-	-	-
38	Rosmarinic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
39	Ellagic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
40	Cosmosiin	-	-	-	0,022	0,019	-	-	0,016
41	Quercitrin	-	-	0,145	0,179	0,328	-	-	-
42	Astragalın	-	0,23	0,075	-	0,02	0,168	0,22	0,223
43	Nicotiflorin	-	-	-	-	-	0,041	-	0,043
44	Fisetin	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Daidzein	-	-	-	0,026	0,611	-	-	-
46	Quercetin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
47	Quercetin	0,25	0,097	1,922	0,012	0,069	0,026	0,693	0,136
48	Naringenin	0,016	0,015	0,078	-	0,062	0,056	0,053	0,055
49	Hesperetin	0,02	-	0,132	0,103	0,085	-	0,059	0,014
50	Luteolin	0,176	0,215	0,042	-	-	0,008	0,06	0,046
51	Genistein	-	-	-	0,062	0,248	-	-	-
52	Kaempferol	0,356	0,331	0,383	0,013	0,029	0,034	0,137	0,11
53	Apigenin	0,194	0,01	0,015	0,003	0,08	0,013	0,006	0,031
54	Amentoflavone	0,004	0,414	0,03	0,041	0,025	0,214	0,021	0,133
55	Chrysin	0,009	0,003	0,023	0,125	0,102	0,061	0,006	0,009
56	Acacetin	0,623	0,017	0,05	-	-	0,089	0,039	0,195

-: Tespit Edilmedi, U: Uygulanmadı, IS: İnternal Standart

Polen numunelerinde en yüksek konsantrasyonda belirlenen bileşimin astragalin (2,487 mg analit/g ekstre) olduğu görülmüştür. Polen numuneleri de propolise göre çok düşük oranda ve sayıda bileşik içermektedir. Arı ekmeklerinden de genel olarak bileşence daha fakir olduğu belirlenmiştir. Quinic (1,687 mg analit/g ekstre) asit en yüksek konsantrasyonda Hakkari poleninde belirlendi. Isoquercitrin (1,258 mg analit/g ekstre) en yüksek derişimde Aydın poleninde, quercitrin (1,51 mg analit/g ekstre) ise en yüksek Ankara poleninde tespit edildi. Protocatechuic asit (0,006 mg analit/g ekstre) ve tannic asit (0,01 mg analit/g ekstre) yalnız Mersin poleninde, chlorogenic asit (0,008 mg analit/g ekstre) sadece Artvin poleninde belirlendi.

Toplamda ise 53 bileşenden 25 tanesini içerdiği tespit edilmiştir. Erzurum polenin LC-MS/MS kromatogramı Şekil 45'te verilmiştir. Diğer illerin kromatogramları eklede verilmiştir.



Şekil 45. Erzurum polenin LC-MS/MS kromatogramı

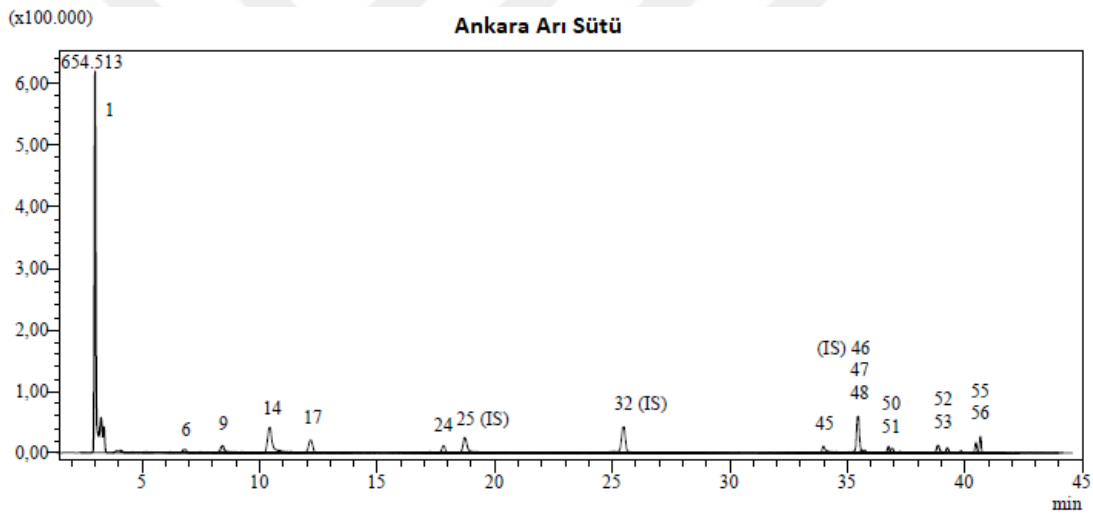
Tablo 20. Polenlerin LC-MS/MS Sonuçları

	Sekonder Metabolitler	Polen (mg analit/g ekstre)							
		Hakkari	Şanlıurfa	Yalova	Erzurum	Ankara	Artvin	Mersin	Aydın
1	Quinic asit	1,687	0,333	0,358	0,904	0,088	0,145	0,14	0,938
2	Fumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Aconitic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Gallic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Epigallocatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Protocatechuic asit	-	-	-	-	-	-	0,006	-
7	Catechin	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Gentisic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Chlorogenic asit	-	-	-	-	-	0,008	-	-
10	Protocatechuic aldehit	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Tannic asit	-	-	-	-	-	-	0,01	-
12	Epigallocatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Sinarin	-	-	-	-	-	-	-	-
14	4-OH Benzoic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Epicatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Vanilic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Caffeic asit	0,027	-	0,041	-	-	-	-	-
18	Syringic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Vanillin	-	-	-	-	0,012	-	0,07	-
20	Syringic aldehit	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Daidzin	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Epicatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Piceid	-	-	-	-	-	-	-	-
24	<i>p</i> - Coumaric asit	-	-	-	-	0,043	0,021	-	-
25	Ferulic asit-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
26	Ferulic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Sinapic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Coumarin	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Salicylic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Cynarside	-	-	-	-	-	-	-	-
31	Miquelianin	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Rutin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
33	Rutin	-	-	-	-	-	0,015	0,078	-
34	isoquercitrin	-	0,952	0,325	-	0,654	0,025	0,352	1,258
35	Hesperidin	-	-	-	-	0,01	0,017	0,11	0,013
36	<i>o</i> - Coumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Genistin	-	-	-	-	-	-	-	-
38	Rosmarinic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
39	Ellagic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
40	Cosmosiin	-	-	-	-	0,038	0,013	-	-
41	Quercitrin	-	-	0,193	0,216	1,51	-	0,035	-
42	Astragalın	0,04	0,455	0,403	-	-	0,171	1,129	2,487
43	Nicotiflorin	-	-	-	-	-	0,038	0,079	0,052
44	Fisetin	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Daidzein	-	-	-	0,018	0,086	-	-	-
46	Quercetin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
47	Quercetin	-	-	-	0,036	0,066	0,034	0,077	0,057
48	Naringenin	0,047	0,11	0,409	-	0,007	0,152	0,141	0,062
49	Hesperetin	-	-	-	0,046	1,031	-	-	0,005
50	Luteolin	0,182	0,018	0,023	-	-	0,012	0,082	0,247
51	Genistein	-	-	-	0,008	0,089	-	-	-
52	Kaempferol	0,051	0,023	0,033	0,003	0,005	0,024	0,075	0,024
53	Apigenin	0,033	0,008	0,013	0,029	0,072	0,006	0,003	0,019
54	Amentoflavone	0,161	0,026	0,047	0,006	0,006	0,006	0,005	0,103
55	Chrysin	0,057	0,017	0,088	0,016	0,055	0,009	0,021	0,005
56	Acacetin	0,228	0,1	0,175	-	-	0,042	0,068	0,282

-. Tespit Edilmedi, U: Uygulanmadi, IS: Internal Standart

Arı sütü numunelerinde en yüksek konsantrasyonda quinic asit (19,242 mg analit/g ekstre) olduğu belirlenmiştir. Tüm illerdeki arı sütlerinde quinic asidin en yüksek konsantrasyonda olduğu tespit edilmiştir. Arı sütlerinin quinic asit konsantrasyon sıralaması şöyledir: Mersin (19,242)>Ankara (16,958)>Artvin (16,66)> Erzurum (14,371)> Aydın (13,501)> Şanlıurfa (12,631)> Hakkari (10,763 mg analit/g ekstre). 4-OH Benzoic asit, quinic asitten sonra en yüksek konsantrasyonda tüm arı sütlerinde belirlendi. 4-OH Benzoic asit (6,482 mg analit/g ekstre) en fazla Ankara arı sütünde, protocatechuic asit (0,204 mg analit/g ekstre) en fazla Artvin arı sütünde, caffeic asit (0,298 mg analit/g ekstre) en fazla Aydın arı sütünde, *p*-coumaric asit en fazla Hakkari arı sütünde ve quercetin (0,226 mg analit/g ekstre) ise en yüksek konsantrasyonda Artvin arı sütünde tespit edildi.

Propolisler ile kıyaslandığında arı sütünün bileşence daha fakir olduğu görülmüştür. Toplamda ise arı sütlerinde 17 bileşen tespit edilmiştir. Örnek olarak Ankara arı sütünün kromatogramı Şekil 46'da sunulmuştur.



Şekil 46. Ankara arı sütünün LC-MS/MS kromatogramı

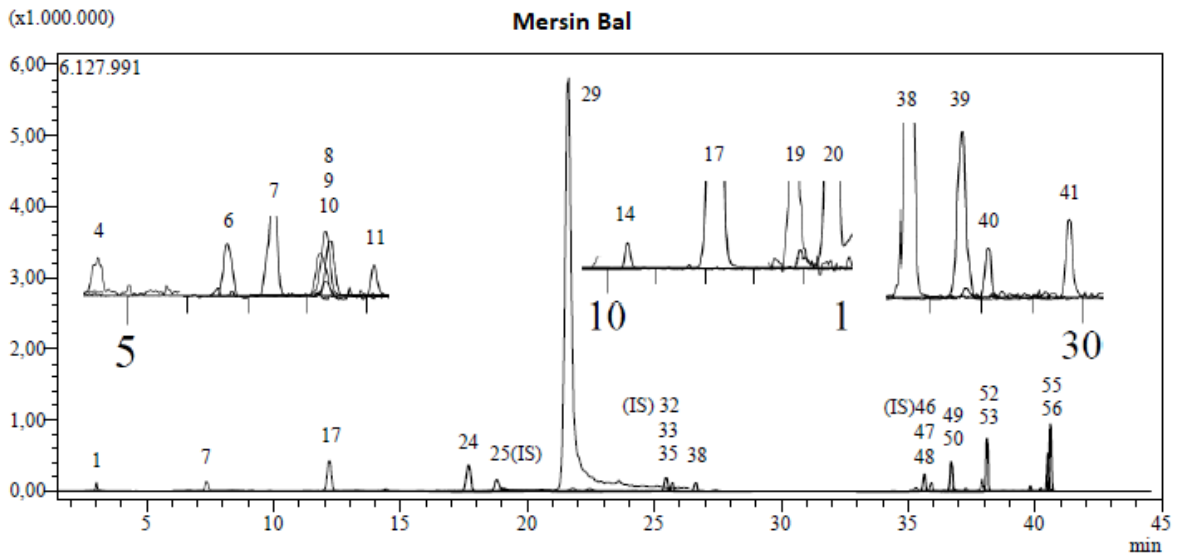
Tablo 21. Arı Sütlerinin LC-MS/MS Sonuçları

	Sekonder Metabolitler	Arı Sütü (mg analit/g ekstre)							
		Hakkari	Şanlıurfa	Yalova	Erzurum	Ankara	Artvin	Mersin	Aydın
1	Quinic asit	10,763	12,631	11,811	14,371	16,958	16,66	19,242	13,501
2	Fumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Aconitic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Gallic asit	-	0,023	-	0,022	-	0,038	-	0,017
5	Epigallocatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Protocatechuic asit	0,088	0,014	0,094	0,076	0,152	0,204	0,111	0,15
7	Catechin	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Gentisic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Chlorogenic asit	-	0,034	-	-	0,029	-	-	-
10	Protocatechuic aldehit	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Tannic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Epigallocatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Sinarin	-	-	-	-	-	-	-	-
14	4-OH Benzoic asit	2,778	3,964	2,92	2,187	6,482	2,489	4,863	3,004
15	Epicatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Vanilic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Caffeic asit	0,097	0,104	0,078	0,07	0,142	1,196	0,077	0,298
18	Syringic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Vanillin	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Syringic aldehit	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Daidzin	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Epicatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Piceid	-	-	-	-	-	-	-	-
24	<i>p</i> - Coumaric asit	0,98	0,319	0,252	0,376	0,434	0,724	0,749	0,722
25	Ferulic asit-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
26	Ferulic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Sinapic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Coumarin	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Salicylic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Cynarside	-	-	-	-	-	-	-	-
31	Miquelianin	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Rutin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
33	Rutin	-	-	-	-	-	-	-	-
34	isoquercitrin	-	-	-	-	-	0,044	-	-
35	Hesperidin	-	-	-	-	-	-	-	-
36	<i>o</i> - Coumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Genistin	-	-	-	-	-	-	-	-
38	Rosmarinic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
39	Ellagic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
40	Cosmosiin	-	-	-	-	-	-	-	-
41	Quercitrin	-	-	-	-	-	-	-	-
42	Astragalın	-	-	-	-	-	-	-	-
43	Nicotiflorin	-	-	-	-	-	-	-	-
44	Fisetin	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Daidzein	-	-	-	0,014	0,022	-	-	-
46	Quercetin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
47	Quercetin	-	0,113	-	-	0,101	0,226	-	0,118
48	Naringenin	0,026	0,017	0,015	0,013	0,029	0,039	0,018	0,054
49	Hesperetin	-	-	-	-	-	-	-	-
50	Luteolin	-	0,003	0,003	-	0,006	-	0,002	0,004
51	Genistein	-	-	-	0,007	0,008	-	-	-
52	Kaempferol	0,033	0,045	0,062	0,057	0,069	0,069	0,02	0,042
53	Apigenin	0,006	0,005	0,005	0,003	0,008	-	0,003	0,011
54	Amentoflavone	-	-	-	-	-	-	-	-
55	Chrysin	0,015	0,014	0,027	0,015	0,048	0,009	0,02	0,081
56	Acacetin	0,092	0,036	0,051	0,03	0,099	0,039	0,071	0,544

-: Tespit Edilmedi, U: Uygulanmadı, IS: İnternal Standart

Balların, fenolik ve organik asit içeriğinin zengin olduğu tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyonda belirlenen bileşiğin ise salicylic asit (43,132 mg analit/g ekstre) olduğu tespit edilmiştir. Quinic asit (4,175) en yüksek konsantrasyonda Yalova balında, protocatechuic asit (0,921) en yüksek Artvin balında, chlorogenic asit (1,111) ve 4-OH benzoic asit (1,844) en yüksek Şanlıurfa balında, caffeic asit (7,818) en yüksek Artvin balında, vanillin (23,753) en yüksek Şanlıurfa balında, syringic aldehit (4,448) ve *p*-coumaric asit (11,779) en yüksek Artvin balında, quercetin (4,929) en yüksek Şanlıurfa balında, naringenin(3,971), acacetin (11,208) ve chrysin (4,548 mg analit/g ekstre) en yüksek Yalova balında tespit edildi.

Toplamda 53 bileşenden 41 bileşen kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. Arı ürünleri içinde en fazla bileşen içeren ürünün bal olduğu tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyonsa salicylic asit içeren Mersin balının örnek olarak LC-MS/MS kromatogramı Şekil 47’de verilmiştir. Diğer arı ürünlerinin LC-MS/MS kromatogramları Ek 1-37’de sunulmuştur.



Şekil 47. Mersin balının LC-MS/MS kromatogramı

Tablo 22. Balların LC-MS/MS Sonuçları

	Sekonder Metabolitler	Bal (mg analit/g ekstre)							
		Hakkari	Şanlıurfa	Yalova	Erzurum	Ankara	Artvin	Mersin	Aydın
1	Quinic asit	0,243	3,478	4,175	0,457	0,895	0,468	0,431	0,273
2	Fumaric asit	-	-	-	-	-	1,112	-	-
3	Aconitic asit	-	-	-	-	-	0,002	-	-
4	Gallic asit	-	0,021	0,076	-	-	-	0,038	-
5	Epigallocatechin	-	-	-	-	-	-	-	0,852
6	Protocatechuic asit	-	0,606	0,655	0,156	0,328	0,921	0,438	0,192
7	Catechin	-	-	-	-	-	-	1,957	-
8	Gentisic asit	0,249	0,645	0,031	-	0,039	-	0,093	-
9	Chlorogenic asit	0,055	1,111	0,027	0,032	0,208	0,049	0,064	0,365
10	Protocatechuic aldehit	-	0,29	0,264	0,063	0,274	0,171	0,071	0,094
11	Tannic asit	-	0,016	0,03	-	-	-	0,037	-
12	Epigallocatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Sinarin	-	-	-	-	-	-	-	-
14	4-OH Benzoic asit	-	1,844	-	-	0,849	-	0,78	-
15	Epicatechin	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Vanilic asit	-	-	-	-	-	13,32	-	-
17	Caffeic asit	0,173	4,132	4,534	1,988	6,195	7,818	2,87	1,607
18	Syringic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Vanillin	1,915	23,753	2,166	1,093	33,507	21,756	0,841	-
20	Syringic aldehit	-	0,279	0,796	-	-	4,448	0,216	-
21	Daidzin	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Epicatechin gallat	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Piceid	-	-	-	-	-	-	-	0,013
24	<i>p</i> - Coumaric asit	0,082	2,667	1,282	0,795	1,614	11,779	1,466	0,408
25	Ferulic asit-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
26	Ferulic asit	-	-	-	-	-	5,139	-	-
27	Sinapic asit	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Coumarin	-	0,052	0,031	-	-	-	0,214	0,24
29	Salicylic asit	1,071	7,871	3,214	2,16	1,698	5,274	43,132	0,59
30	Cynarside	-	-	-	-	-	-	-	-
31	Miquelianin	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Rutin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
33	Rutin	-	0,715	-	-	0,115	-	0,049	-
34	isoquercitrin	-	0,785	0,047	-	0,094	0,826	-	-
35	Hesperidin	-	0,238	0,02	-	0,358	-	0,261	-
36	<i>o</i> - Coumaric asit	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Genistin	-	-	-	-	-	-	-	-
38	Rosmarinic asit	0,057	0,322	0,032	0,151	0,082	0,127	1,396	-
39	Ellagic asit	-	-	0,711	-	-	-	0,331	-
40	Cosmosiin	-	0,16	-	0,031	-	0,043	0,012	0,04
41	Quercitrin	-	0,233	0,145	0,205	0,038	0,873	0,043	0,047
42	Astragalın	-	0,161	-	0,129	0,03	0,38	-	-
43	Nicotiflorin	-	2,598	0,019	0,224	0,122	-	-	0,054
44	Fisetin	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Daidzein	-	0,01	-	0,009	0,015	0,006	-	-
46	Quercetin-D3 (IS)	U	U	U	U	U	U	U	U
47	Quercetin	0,167	4,929	2,405	0,992	1,91	0,598	3,068	0,825
48	Naringenin	0,536	2,371	3,971	2,144	2,206	3,641	2,769	2,289
49	Hesperetin	0,009	0,061	0,11	0,043	0,355	0,046	0,339	0,011
50	Luteolin	0,021	0,345	0,152	0,613	0,168	0,407	1,041	0,177
51	Genistein	-	-	-	0,052	-	-	-	-
52	Kaempferol	1,311	3,201	1,333	1,598	0,977	2,831	1,741	1,013
53	Apigenin	0,257	3,282	0,706	1,295	0,897	0,623	1,876	0,808
54	Amentoflavone	-	-	-	0,048	0,005	0,007	-	0,005
55	Chrysin	1,378	2,283	4,548	1,562	1,457	3,45	1,98	1,47
56	Acacetin	6,847	8,7	11,208	7,558	7,437	7,587	5,751	8,84

-. Tespit Edilmedi, U: Uygulanmadı, IS: İnternal Standart

Tablo 23. Artvin Balının 3 Farklı Ekstraksiyon Yöntemi LC-MS/MS Sonuçları

	Sekonder Metabolitler	Bal (mg analit/g ekstre)		
		Artvin (1.yöntem)	Artvin (2.yöntem)	Artvin (3.yöntem)
1	Quinic asit	1,701	0,468	0,232
2	Fumaric asit	-	1,112	0,749
3	Aconitic asit	0,016	0,002	0,004
4	Gallic asit	-	-	-
5	Epigallocatechin	-	-	-
6	Protocatechuic asit	1,994	0,921	1,042
7	Catechin	-	-	-
8	Gentisic asit	-	-	-
9	Chlorogenic asit	-	0,049	0,015
10	Protocatechuic aldehit	-	0,171	0,067
11	Tannic asit	-	-	-
12	Epigallocatechin gallat	-	-	-
13	Sinarin	-	-	-
14	4-OH Benzoic asit	-	-	-
15	Epicatechin	-	-	-
16	Vanilic asit	-	13,32	2,764
17	Caffeic asit	0,142	7,818	2,433
18	Syringic asit	-	-	-
19	Vanillin	0,15	21,756	7,167
20	Syringic aldehit	-	4,448	3,88
21	Daidzin	-	-	-
22	Epicatechin gallat	-	-	-
23	Piceid	-	-	-
24	<i>p</i> - Coumaric asit	0,183	11,779	5,318
25	Ferulic asit-D3 (IS)	U	U	U
26	Ferulic asit	-	5,139	1,721
27	Sinapic asit	-	-	-
28	Coumarin	-	-	-
29	Salicylic asit	0,027	5,274	0,168
30	Cynaroside	-	-	-
31	Miquelianin	-	-	-
32	Rutin-D3 (IS)	U	U	U
33	Rutin	-	-	-
34	isoquercitrin	-	0,826	0,427
35	Hesperidin	-	-	-
36	<i>o</i> - Coumaric asit	-	-	-
37	Genistin	-	-	-
38	Rosmarinic asit	-	0,127	0,056
39	Ellagic asit	-	-	-
40	Cosmosiin	-	0,043	0,025
41	Quercitrin	0,023	0,873	0,488
42	Astragalin	-	0,38	0,339
43	Nicotiflorin	-	-	-
44	Fisetin	-	-	-
45	Daidzein	-	0,006	0,007
46	Quercetin-D3 (IS)	U	U	U
47	Quercetin	-	0,598	0,172
48	Naringenin	0,053	3,641	3,432
49	Hesperetin	-	0,046	0,03
50	Luteolin	0,005	0,407	0,434
51	Genistein	-	-	-
52	Kaempferol	0,039	2,831	2,389
53	Apigenin	0,009	0,623	0,843
54	Amentoflavone	-	0,007	0,009
55	Chrysin	0,02	3,45	2,744
56	Acacetin	0,031	7,587	5,809

-: Tespit Edilmedi, U: Uygulanmadı, IS: Internal Standart

Arı ürünlerinde bal ekstraksiyonu yaparken üç farklı ekstraksiyon yöntemi Artvin balı seçilerek uygulandı. Balların ekstraksiyon yöntemleri literatüre göre farklılıklar

göstermektedir. Bu nedenle belirlediğimiz üç farklı ekstraksiyon yöntemi ile ballar ekstrakte edildi. Sonuç olarak ballarda bileşen sayısı ve konsantrasyon miktarı en yüksek olan değerlerin 2. Yöntem olduğu tespit edilmiştir. Ekstraksiyon yöntemleri arasında konsantrasyon miktarı açısından farklılık olduğu görülmüştür. Artvin balının üç ekstraksiyon yöntemi kromatogramları Ek 17-19'da verilmiştir.

Antioksidan Aktivite Bulguları

Radikal Giderme (DPPH[·], ABTS^{·+} ve DMPD^{·+}) Yöntemleri Bulguları

Arı ürünlerinin DPPH[·], ABTS^{·+} ve DMPD^{·+} giderme yöntemlerinin sonuçları Tablo 24'te verilmiştir.

Tablo 24. DPPH[·], ABTS^{·+} ve DMPD^{·+} Giderme Yöntemlerinin Sonuçları

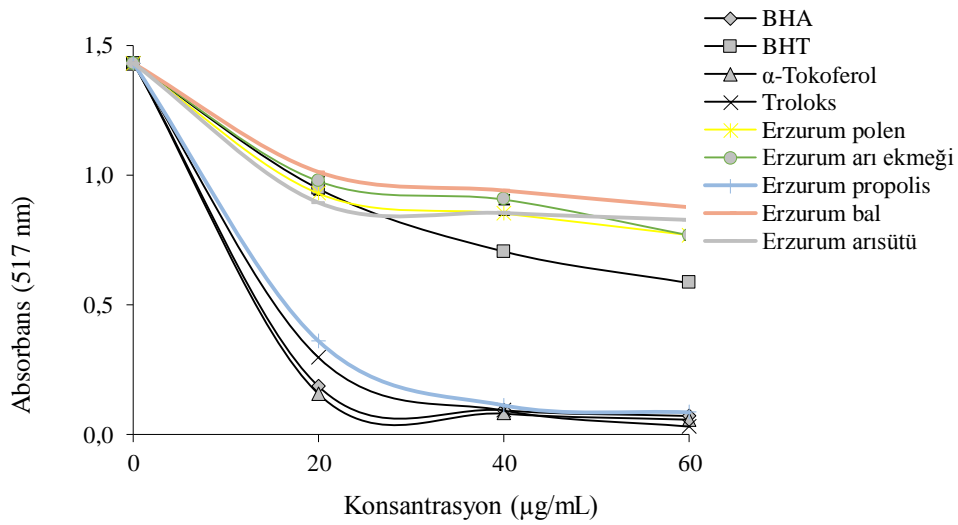
Standart ve Numuneler		DPPH [·] (λ_{517})		ABTS ^{·+} (λ_{734})		DMPD ^{·+} (λ_{505})	
		IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	r ²	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	r ²	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	r ²
Standart	BHA	27,413	0,9547	20,724	0,9804	40,120	0,9936
	BHT	59,957	0,9982	32,110	0,9938	-	-
	α -Tokoferol	26,667	0,9507	24,463	0,9754	-	-
	Trolox	28,295	0,9758	29,787	0,9675	10,657	0,9777
Erzurum	Polen	78,049	0,9649	37,952	0,9453	40,609	0,9612
	Arı ekmeği	80,427	0,9690	39,944	0,9883	53,333	0,9910
	Propolis	29,860	0,9849	22,477	0,9235	29,026	0,9860
	Bal	94,770	0,9690	105,917	0,9892	70,643	0,9877
	Arı sütü	84,598	0,9528	38,883	0,9984	15,818	0,9908
Mersin	Polen	71,580	0,9350	32,625	0,9484	43,682	0,9718
	Arı ekmeği	80,889	0,9761	41,158	0,9258	62,176	0,9786
	Propolis	33,416	0,9988	27,574	0,9239	20,163	0,9735
	Bal	101,152	0,9380	107,128	0,9897	65,286	0,9409
	Arı sütü	88,251	0,9439	33,276	0,9206	22,308	0,9813
Yalova	Polen	70,104	0,9769	29,632	0,9844	45,000	0,9880
	Arı ekmeği	79,552	0,9494	50,651	0,9698	52,833	0,9869
	Propolis	31,402	0,9963	25,861	0,9435	21,381	0,9900
	Bal	85,736	0,9409	139,771	0,9456	78,333	0,9573
	Arı sütü	82,102	0,9757	32,782	0,9768	16,407	0,9921
Hakkari	Polen	95,892	0,9547	35,940	0,9214	48,947	0,9767
	Arı ekmeği	89,783	0,9557	63,575	0,9925	39,304	0,9706
	Propolis	55,539	0,9906	34,912	0,9781	19,660	0,9932
	Bal	88,144	0,9629	166,069	0,9348	69,786	0,9628
	Arı sütü	75,290	0,9438	29,589	0,9593	16,623	0,9915
Aydın	Polen	79,307	0,9661	36,827	0,9992	42,682	0,9769
	Arı ekmeği	75,277	0,9419	49,432	0,9837	34,600	0,9823
	Propolis	48,031	0,9848	35,655	0,9963	29,750	0,9955
	Bal	94,929	0,9545	150,441	0,9473	60,800	0,9359

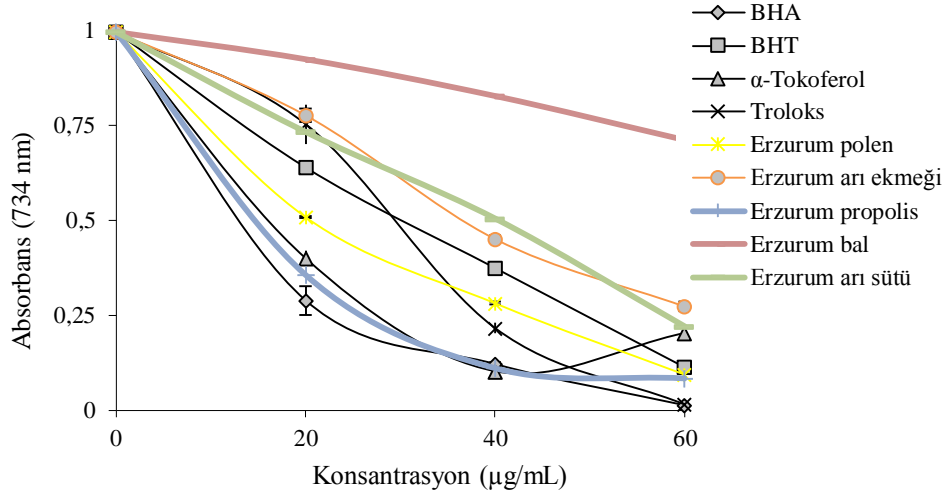
Tablo 24. (devam)

	Arı sütü	71,523	0,9485	27,994	0,9802	16,760	0,9813
Artvin	Polen	77,592	0,9482	30,506	0,9873	39,565	0,9742
	Arı ekmeği	80,329	0,9510	39,214	0,9568	43,810	0,9713
	Propolis	33,936	0,9987	28,471	0,9506	18,128	0,9831
	Bal	83,789	0,9348	190,259	0,9343	49,368	0,9267
	Arı sütü	81,660	0,9410	31,327	0,9874	19,489	0,9947
Şanlıurfa	Polen	65,626	0,9786	29,986	0,9447	48,211	0,9603
	Arı ekmeği	82,768	0,9420	34,054	0,9977	49,105	0,9804
	Propolis	26,937	0,9453	26,211	0,9260	23,205	0,9901
	Bal	94,458	0,9423	113,063	0,9866	61,533	0,9465
	Arı sütü	79,596	0,9434	27,223	0,9281	15,211	0,9909
Ankara	Polen	75,056	0,9653	51,656	0,9793	45,333	0,9907
	Arı ekmeği	90,080	0,9419	40,427	0,9922	38,739	0,9593
	Propolis	33,283	0,9957	27,000	0,9897	21,548	0,9905
	Bal	86,363	0,9620	197,882	0,9372	61,267	0,9539
	Arı sütü	84,925	0,9429	28,429	0,9734	16,143	0,9919

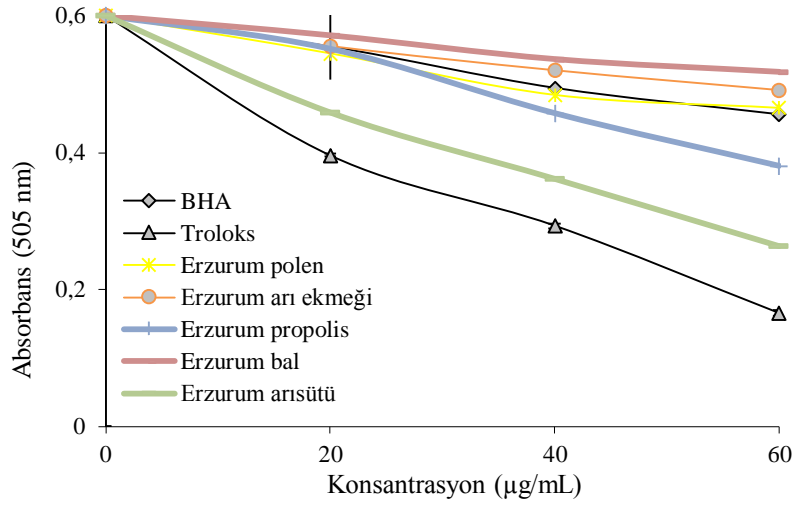
Tüm değerler üç paralel ölçümün ortalamasıdır (n = 3 ve $p < 0,05$ anlamlı kabul edilir).

Arı ürünlerinin radikal giderme aktivite yöntemleri sonuçları Trolox, α -Tokoferol, BHA ve BHT standart antioksidanları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. İki radikal giderme yönteminde de arı ürünleri içinde aktivitesi en yüksek olanın propolis numuneleri olduğu belirlenmiştir. Ancak DMPD⁺ yönteminde ise arı sütleri daha aktif olup BHA standardından da daha fazla aktivite göstermektedir. Özellikle propolislerin genel olarak BHT standart antioksidanından yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve diğer standartlara da yakın aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Arı ürünlerinden örnek olarak birer radikal giderme grafikleri Şekil 48-50’de sunulmuştur. Diğer illerin grafikleri eklerde verilmiştir.

**Şekil 48.** Erzurum arı ürünleri DPPH⁺ giderme grafiği



Şekil 49. Erzurum arı ürünleri ABTS•+ giderme grafiği



Şekil 50. Erzurum arı ürünleri DMPD•+ giderme grafiği

İndirgeme (Fe³⁺, CUPRAC ve FRAP) Yöntemleri Bulguları

İndirgeme yöntemleri olarak Fe³⁺-Fe²⁺, CUPRAC (Cu²⁺-Cu⁺) ve FRAP (Fe³⁺-TPTZ) bulguları trolox, α-tokoferol, BHA ve BHT standart antioksidanları ile birlikte Tablo 25'te verilmiştir. Arı ürünlerinin indirgeme yöntemleri grafikleri bir il seçilerek Şekil 51-53'te sunulmuştur. Diğer arı ürünlerinin grafikleri ise Ek 38-79'da verilmiştir.

Tablo 25. Fe³⁺, CUPRAC ve FRAP İndirgeme Sonuçları

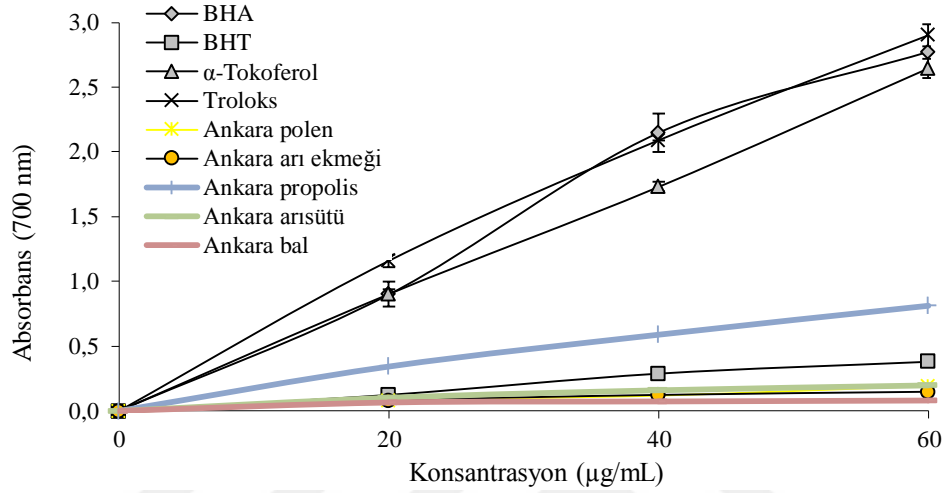
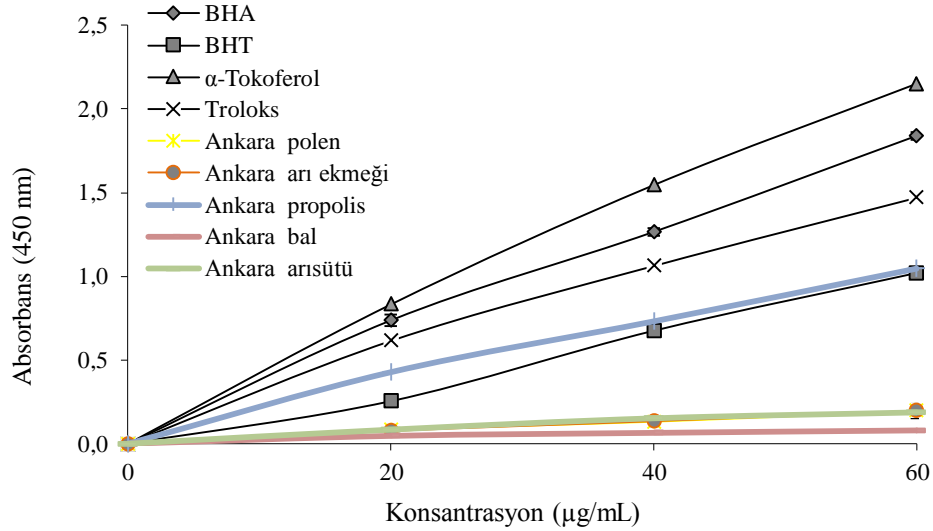
Standart ve Numuneler		Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme		Cu ²⁺ -Cu ⁺ İndirgeme		Fe ³⁺ -TPTZ İndirgeme	
		λ 700	r ²	λ 450	r ²	λ 593	r ²
Standart	BHA	2,773±0,002	0,9858	1,840±0,022	0,9946	1,250±0,016	0,9905
	BHT	0,379±0,031	0,9896	1,020±0,007	0,9919	0,945±0,034	0,9958
	α-Tokoferol	2,645±0,077	0,9997	2,151±0,019	0,9950	1,755±0,023	0,9932
	Trolox	2,900±0,085	0,9934	1,469±0,016	0,9904	1,181±0,006	0,9912
Erzurum	Polen	0,265±0,002	0,9610	0,246±0,012	0,9911	0,470±0,004	0,9736
	Arı ekmeği	0,212±0,004	0,9900	0,261±0,036	0,9933	0,394±0,004	0,9893
	Propolis	1,364±0,052	0,9951	1,780±0,033	0,9899	1,289±0,009	0,9920
	Bal	0,079±0,001	0,8827	0,096±0,007	0,9728	0,3±0,001	0,9954
	Arı sütü	0,197±0,005	0,9781	0,247±0,008	0,9555	0,601±0,010	0,9976
Mersin	Polen	0,251±0,002	0,9913	0,294±0,009	0,9869	0,475±0,007	0,9714
	Arı ekmeği	0,160±0,001	0,9820	0,195±0,020	0,9934	0,337±0,003	0,9968
	Propolis	1,207±0,001	0,9993	1,896±0,139	0,9957	1,381±0,017	0,9934
	Bal	0,087±0,004	0,9479	0,084±0,007	0,9549	0,269±0,008	0,9382
	Arı sütü	0,263±0,003	0,9951	0,204±0,006	0,9945	0,547±0,007	0,9689
Yalova	Polen	0,300±0,008	0,9940	0,331±0,027	0,9904	0,548±0,005	0,9834
	Arı ekmeği	0,161±0,004	0,9983	0,223±0,011	0,9931	0,342±0,006	0,9590
	Propolis	0,997±0,007	0,9943	1,293±0,036	0,9976	1,29±0,038	0,9915
	Bal	0,077±0,001	0,8710	0,085±0,012	0,9750	0,270±0,006	0,8995
	Arı sütü	0,187±0,006	0,9904	0,186±0,006	0,9868	0,717±0,002	0,9902
Hakkari	Polen	0,18±0,004	0,9650	0,134±0,005	0,9668	0,356±0,007	0,9983
	Arı ekmeği	0,148±0,001	0,9796	0,208±0,006	0,9881	0,324±0,007	0,9698
	Propolis	0,391±0,005	0,9990	1,099±0,050	0,9950	0,858±0,048	0,9933
	Bal	0,252±0,001	0,8829	0,075±0,005	0,9200	0,265±0,004	0,9863
	Arı sütü	0,224±0,006	0,9922	0,196±0,007	0,9977	0,673±0,008	0,9927
Aydın	Polen	0,209±0,002	0,9669	0,186±0,007	0,9953	0,410±0,004	0,9635
	Arı ekmeği	0,203±0,001	0,9786	0,312±0,003	0,9967	0,425±0,006	0,9897
	Propolis	0,498±0,008	0,9918	0,843±0,040	0,9954	0,991±0,007	0,9920
	Bal	0,264±0,004	0,9540	0,077±0,003	0,9416	0,25±0,007	0,9251
	Arı sütü	0,297±0,002	0,9936	0,181±0,007	0,9796	0,637±0,006	0,9997
Artvin	Polen	0,219±0,005	0,9903	0,288±0,009	0,9968	0,519±0,004	0,9861
	Arı ekmeği	0,160±0,004	0,9476	0,204±0,013	0,9807	0,365±0,006	0,9972
	Propolis	1,168±0,058	0,9742	0,801±0,026	0,9903	1,345±0,022	0,9916
	Bal	0,291±0,004	0,8916	0,075±0,003	0,9138	0,254±0,006	0,9530
	Arı sütü	0,259±0,015	0,9874	0,177±0,009	0,9924	0,574±0,006	0,9587
Şanlıurfa	Polen	0,221±0,004	0,9908	0,371±0,016	0,9886	0,559±0,004	0,9944
	Arı ekmeği	0,151±0,008	0,9776	0,229±0,007	0,9745	0,371±0,006	0,9665
	Propolis	1,358±0,039	0,9909	0,976±0,027	0,9904	1,586±0,015	0,9932
	Bal	0,077±0,002	0,9312	0,093±0,005	0,9490	0,275±0,005	0,8939
	Arı sütü	0,270±0,003	0,9880	0,184±0,010	0,9927	0,736±0,007	0,9846
Ankara	Polen	0,193±0,004	0,9917	0,195±0,042	0,9910	0,38±0,004	0,9958
	Arı ekmeği	0,147±0,001	0,9975	0,196±0,006	0,9964	0,349±0,006	0,9544
	Propolis	0,812±0,006	0,9952	1,046±0,042	0,9932	1,396±0,026	0,9932

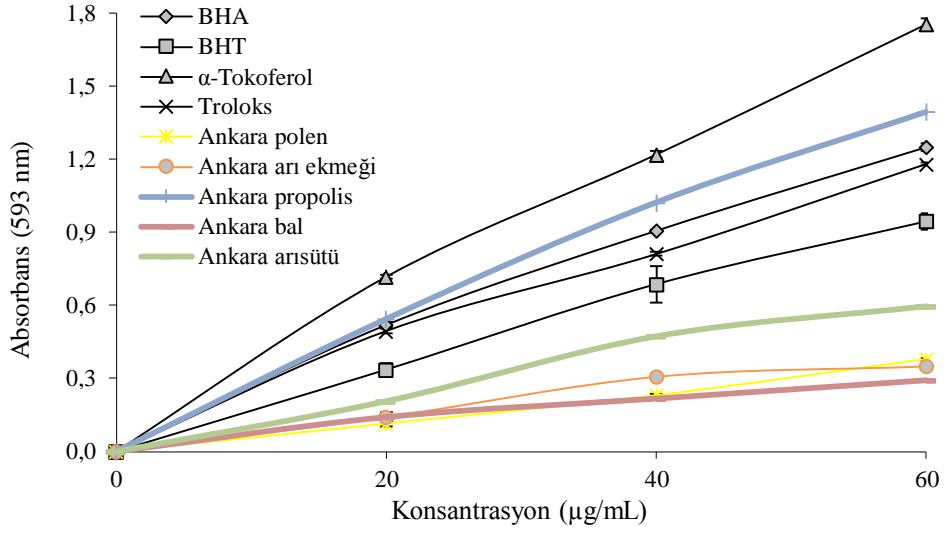
Tablo 25. (Devamı)

Bal	0,080±0,002	0,9369	0,079±0,003	0,9182	0,292±0,002	0,9723
Arı sütü	0,197±0,002	0,9937	0,187±0,009	0,9700	0,597±0,007	0,9824

Tüm değerler üç paralel ölçümün ortalamasıdır (n = 3) ve ortalama ± SD olarak sunulmuştur ($p < 0,05$ anlamlı kabul edilir).

Arı ürünlerinin indirgeme yöntemleri sonuçları içinde en yüksek aktivite gösteren numunenin yine propolisler olduğu belirlenmiştir. Propolis numunelerinin BHT standart antioksidanından daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

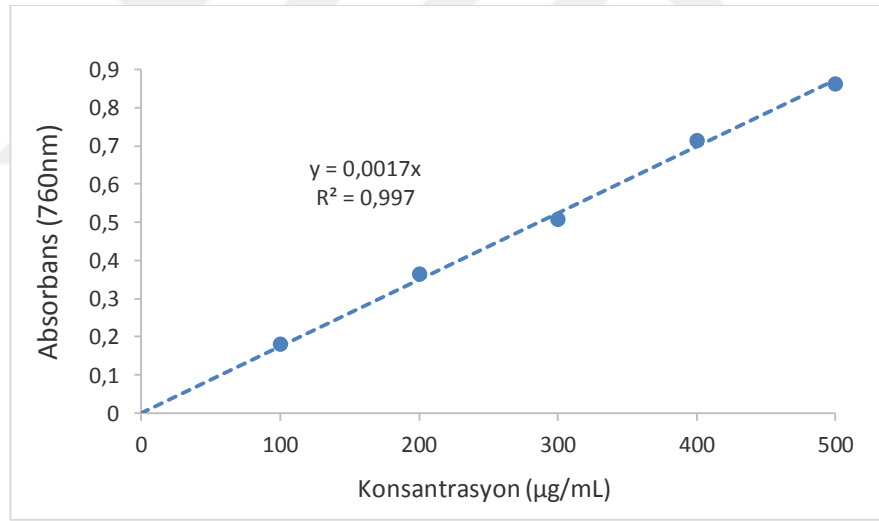
**Şekil 51.** Ankara arı ürünleri Fe³⁺ indirgeme grafiği**Şekil 52.** Ankara arı ürünleri CUPRAC grafiği



Şekil 53. Ankara arı ürünleri FRAP grafiği

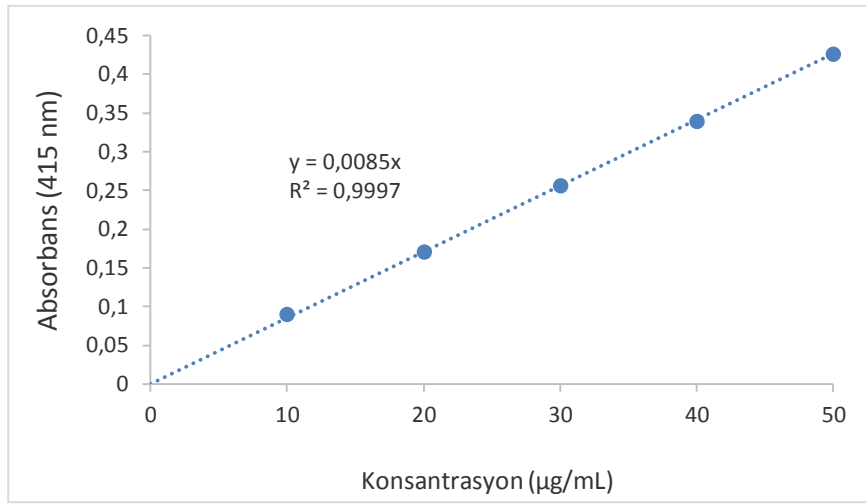
Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı Bulguları

Toplam fenolik madde miktarı sonuçları Şekil 54'te sunulan standart grafikten hesaplanmıştır.



Şekil 54. Toplam fenolik madde miktarı standart grafiği

Toplam flavonoid miktarı sonuçları ise Şekil 55'te sunulan standart grafikten hesaplanmıştır.



Şekil 55. Toplam flavonoid miktarı standart grafiği

Toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları sonuçları Tablo 26'da verilmiştir.

Arı ürünlerinden toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı en fazla olanın propolis ürünleri olduğu belirlenmiştir. En yüksek olan numunenin ise Şanlıurfa propolisi (fenolik:102,353, falvonoid:20,471) olduğu tespit edilmiştir. Arı ürünlerinde fenolik miktarının flavonoid miktarından daha yüksek olduğu görülmüştür. Propolis numuneleri dışında diğer arı ürünlerinin genel olarak fenolik ve flavonoid miktarlarının birbirlerine yakın olduğu bulunmuştur.

Tablo 26. Arı Ürünlerinin Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarları Sonuçları

Arı Ürünleri		Toplam Fenolik (µg GAE/mg ekstre)	Toplam Flavonoid (µg QE/mg ekstre)
Propolis	Erzurum	96,471	19,412
	Mersin	76,471	15,529
	Yalova	82,353	16,824
	Hakkari	52,941	10,588
	Aydın	57,647	11,529
	Artvin	84,706	16,941
	Şanlıurfa	102,353	20,471
	Ankara	73,529	14,706
Polen	Erzurum polen	44,706	8,941
	Mersin polen	41,176	8,235
	Yalova polen	48,824	9,765
	Hakkari polen	41,176	8,235
	Aydın polen	38,235	7,647
	Artvin polen	51,176	10,235
	Şanlıurfa polen	41,176	8,235
	Ankara polen	35,294	7,059
Arı ekmeği	Erzurum	40,588	8,118
	Mersin	38,824	7,765
	Yalova	39,412	7,882
	Hakkari	37,647	7,529
	Aydın	40,000	8,000
	Artvin	39,412	7,882
	Şanlıurfa	39,412	7,882
	Ankara	39,412	7,882
Bal	Erzurum	34,706	6,941
	Mersin	36,471	7,294
	Yalova	35,294	7,059
	Hakkari	37,059	7,412
	Aydın	37,647	7,529
	Artvin	38,235	7,647
	Şanlıurfa	37,647	7,529
	Ankara	38,824	7,765
Arı sütü	Erzurum	38,824	7,765
	Mersin	41,765	8,353
	Yalova	47,647	9,529
	Hakkari	44,118	8,824
	Aydın	41,765	8,353
	Artvin	39,412	7,882
	Şanlıurfa	41,176	8,235
	Ankara	42,941	8,588

GAE: Gallic asit ekivalenti, QE: Quercetin ekivalenti

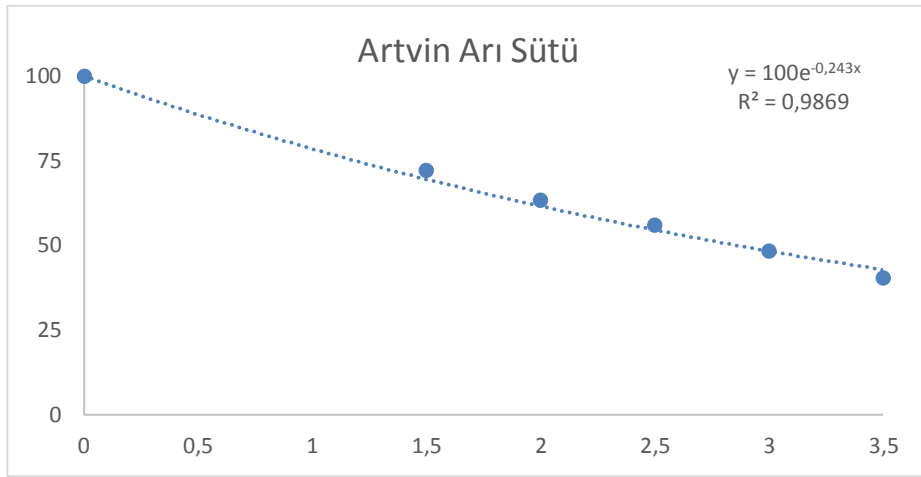
Enzim İnhibisyonu Araştırma Bulguları

hCA I, hCA II, AChE, BChE, α -Glikozidaz ve α -Amilaz enzim inhibisyon çalışmaları sonucunda elde edilen verilerle arı ürünlerinin farklı konsantrasyonlarına karşı % enzim aktivitesi grafiği çizilerek bu grafikten elde edilen denklemlerden IC_{50} ve r^2 değerleri hesaplandı. IC_{50} ve r^2 sonuçları Tablo 27-28'de verilmiştir. Grafikler ise Şekil 56-61'de sunulmuştur.

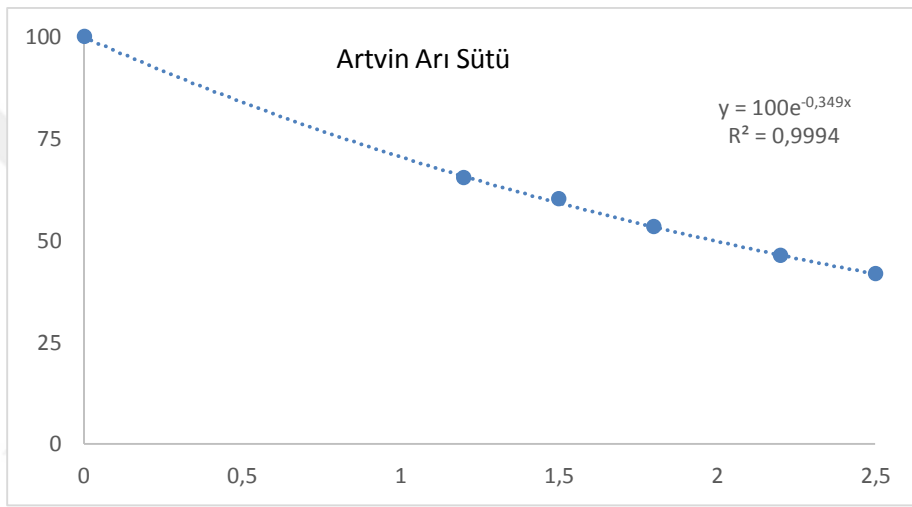
Tablo 27. Arı Ürünlerinin hCA I, hCA II, AChE Enzim İnhibisyon Sonuçları

	Arı ürünleri	hCA I		hCA II		AChE	
		IC ₅₀ (µg/mL)	r ²	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²
Erzurum	Polen	8,70	0,9856	9,60	0,9954	7,40	0,9945
	Arı ekmeği	10,50	0,9961	11,25	0,9887	8,30	0,9761
	Propolis	29,40	0,9822	27,35	0,9769	23,10	0,9524
	Bal	11,20	0,9458	9,70	0,9956	8,20	0,9589
	Arı sütü	1,20	0,9498	1,80	0,9886	1,10	0,9897
Mersin	Polen	10,10	0,688	9,35	0,9779	8,50	0,9907
	Arı ekmeği	8,10	0,9589	8,95	0,9678	5,25	0,9883
	Propolis	19,90	0,9865	22,60	0,9766	20,55	0,9568
	Bal	7,40	0,9974	6,95	0,9581	5,25	0,9663
	Arı sütü	1,10	0,9577	1,90	0,9828	1,50	0,9912
Yalova	Polen	6,60	0,9812	8,35	0,9789	7,35	0,9633
	Arı ekmeği	10,10	0,9558	7,75	0,9888	4,10	0,9915
	Propolis	18,50	0,9986	13,25	0,9849	18,30	0,9563
	Bal	6,70	0,9879	5,90	0,9917	7,30	0,9598
	Arı sütü	1,90	0,9785	2,30	0,9795	2,05	0,9894
Hakkari	Polen	7,80	0,9881	5,90	0,9979	4,450	0,9768
	Arı ekmeği	9,70	0,9921	10,95	0,9852	5,45	0,9634
	Propolis	19,30	0,9765	21,35	0,9891	25,70	0,9782
	Bal	9,50	0,9911	8,30	0,9908	5,70	0,9892
	Arı sütü	3,10	0,9908	2,70	0,9926	3,55	0,9795
Aydın	Polen	6,75	0,9556	5,45	0,9882	4,45	0,9876
	Arı ekmeği	9,20	0,9913	10,55	0,9921	5,70	0,9853
	Propolis	23,95	0,9984	19,85	0,9886	20,70	0,9954
	Bal	8,45	0,9915	7,90	0,9909	8,70	0,9697
	Arı sütü	2,85	0,9869	1,98	0,9994	3,10	0,9952
Artvin	Polen	9,35	0,9689	11,55	0,9825	1,33	0,9958
	Arı ekmeği	10,15	0,9812	6,75	0,9689	8,55	0,9556
	Propolis	24,70	0,9299	25,90	0,9576	29,55	0,9927
	Bal	10,30	0,9638	8,20	0,9985	6,50	0,9645
	Arı sütü	2,40	0,9912	2,90	0,9289	1,85	0,9458
Şanlıurfa	Polen	6,60	0,9845	5,15	0,9915	8,40	0,9956
	Arı ekmeği	10,15	0,9914	11,35	0,9728	7,40	0,9982
	Propolis	23,35	0,9925	23,15	0,9589	20,45	0,9796
	Bal	5,70	0,9821	4,70	0,9879	6,25	0,9788
	Arı sütü	2,35	0,9786	2,15	0,9906	3,25	0,9922
Ankara	Polen	6,90	0,9841	6,20	0,9949	7,85	0,9662
	Arı ekmeği	10,70	0,9668	9,55	0,9885	7,45	0,9895
	Propolis	12,40	0,9874	18,70	0,9789	23,30	0,9895
	Bal	7,75	0,9764	5,45	0,9899	6,20	0,9938
	Arı sütü	3,20	0,9834	3,05	0,9927	2,40	0,9659
	Standart (Asetazolamid)	5,20	0,9895	3,75	0,9887	-	-
	Standart (Takrin)	-	-	-	-	2,25	0,9883

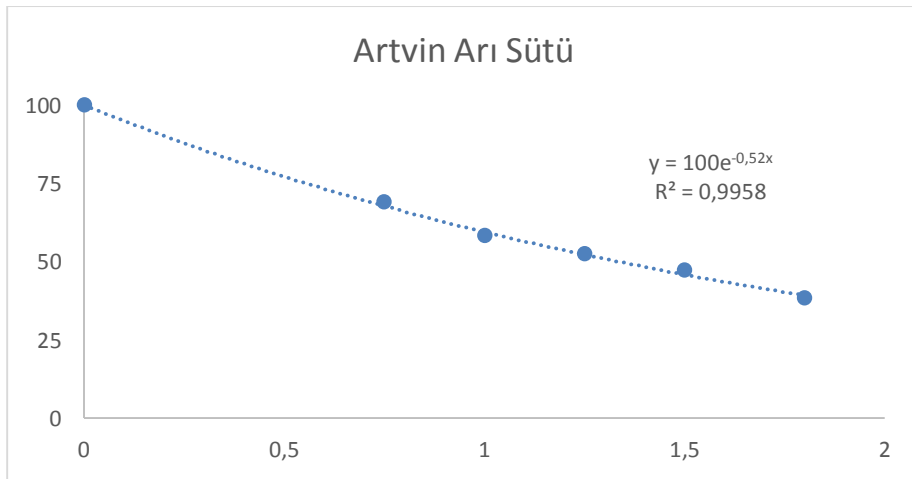
Asetazolamid, standart inhibitör olarak hCAI ve hCA II enzimleri için, Takrin standart inhibitör olarak AChE ve BChE enzimleri için kullanıldı.



Şekil 56. Artvin arı sütünün hCA I enzim inhibisyon grafiği



Şekil 57. Artvin arı sütünün hCA II enzim inhibisyon grafiği

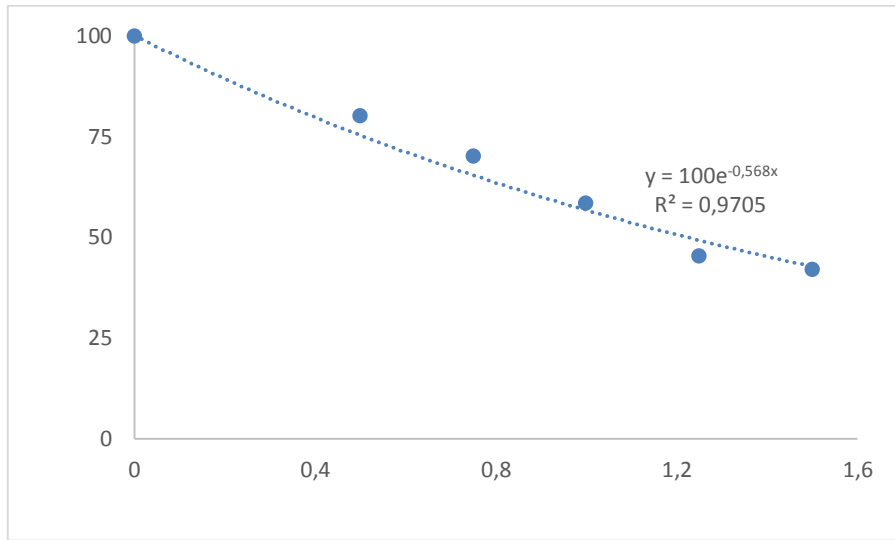


Şekil 58. Artvin arı sütünün AChE enzim inhibisyon grafiği

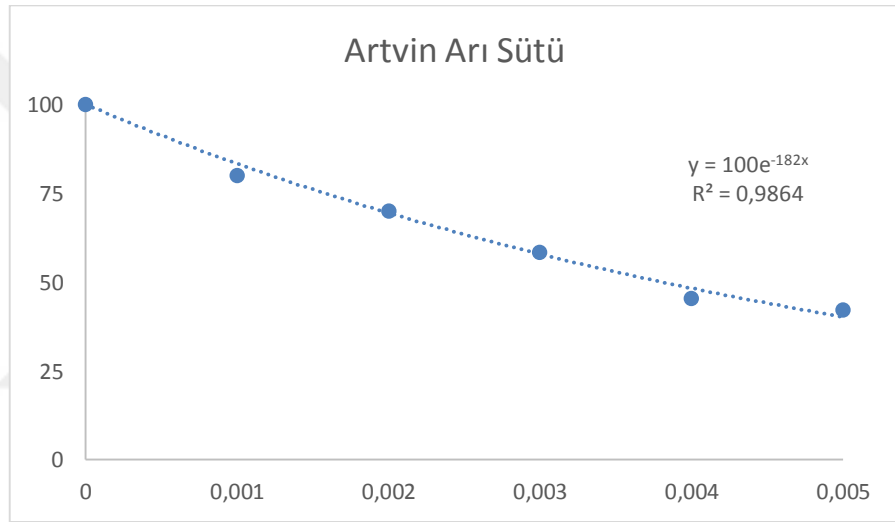
Tablo 28. Arı Ürünlerinin BChE, α -Glikozidaz ve α -Amilaz Enzim İnhibisyon Sonuçları

	Arı ürünleri	BChE		α -Glikozidaz		α -Amilaz	
		IC ₅₀ (μ g/mL)	r ²	IC ₅₀ (μ g/mL)	r ²	IC ₅₀ (μ g/mL)	r ²
Erzurum	Polen	8,55	0,9786	10,12	0,9783	12,35	0,9888
	Arı ekmeği	9,52	0,9688	11,35	0,9952	8,87	0,9869
	Propolis	30,75	0,9489	24,83	0,9856	21,13	0,9918
	Bal	9,33	0,9908	10,17	0,9766	7,33	0,9507
	Arı sütü	2,30	0,9861	2,10	0,9975	1,70	0,9688
Mersin	Polen	9,12	0,9768	9,75	0,9766	-	-
	Arı ekmeği	4,54	0,9961	9,26	0,9884	10,55	0,9778
	Propolis	17,53	0,9921	22,17	0,9666	15,90	0,9776
	Bal	6,30	0,9889	8,51	0,9871	6,37	0,9866
	Arı sütü	2,15	0,9912	1,40	0,9588	1,90	0,9914
Yalova	Polen	5,71	0,9951	10,12	0,9918	6,45	0,9912
	Arı ekmeği	6,23	0,9885	14,20	0,9779	9,73	0,9915
	Propolis	21,17	0,9912	15,15	0,9689	19,77	0,9897
	Bal	5,20	0,9789	8,37	0,9925	9,13	0,9893
	Arı sütü	1,85	0,9856	2,95	0,9887	5,63	0,9756
Hakkari	Polen	5,93	0,9961	8,63	0,9681	-	-
	Arı ekmeği	4,57	0,9912	10,95	0,9589	6,75	0,9779
	Propolis	21,25	0,9902	13,52	0,9674	19,30	0,9897
	Bal	4,52	0,9783	10,35	0,9756	7,33	0,9799
	Arı sütü	3,20	0,9907	2,50	0,9901	1,8	0,9755
Aydın	Polen	5,17	0,97210	9,35	0,9888	5,35	0,9825
	Arı ekmeği	7,20	0,9956	10,53	0,9756	7,20	0,9666
	Propolis	25,93	0,9849	28,77	0,9879	25,97	0,9985
	Bal	9,12	0,9945	9,93	0,9758	10,23	0,9852
	Arı sütü	1,22	0,9958	1,50	0,9949	1,70	0,9871
Artvin	Polen	6,11	0,9915	9,72	0,9841	-	-
	Arı ekmeği	4,33	0,9878	11,33	0,9988	5,97	0,9891
	Propolis	20,97	0,9204	23,15	0,9843	29,73	0,9762
	Bal	9,10	0,9916	12,90	0,9915	10,85	0,9689
	Arı sütü	1,22	0,9705	3,80	0,9864	3,22	0,9951
Şanlıurfa	Polen	7,40	0,9468	10,22	0,9865	-	-
	Arı ekmeği	6,63	0,9597	12,57	0,9983	9,17	0,9780
	Propolis	24,65	0,9689	20,75	0,9956	17,57	0,9902
	Bal	7,56	0,9867	8,21	0,9863	7,76	0,9886
	Arı sütü	2,95	0,9946	1,95	0,9764	1,75	0,9766
Ankara	Polen	8,69	0,9682	9,80	0,9918	6,37	0,9854
	Arı ekmeği	7,15	0,9956	11,47	0,9983	8,55	0,9789
	Propolis	19,72	0,9684	20,15	0,9756	18,70	0,9655
	Bal	6,63	0,9798	8,13	0,9895	6,33	0,9912
	Arı sütü	2,90	0,9901	1,97	0,9908	1,51	0,9751
	Standart (Takrin)	2,25	0,9883	-	-	-	-
	Standart (Akarboz)	-	-	5,85	0,9890		

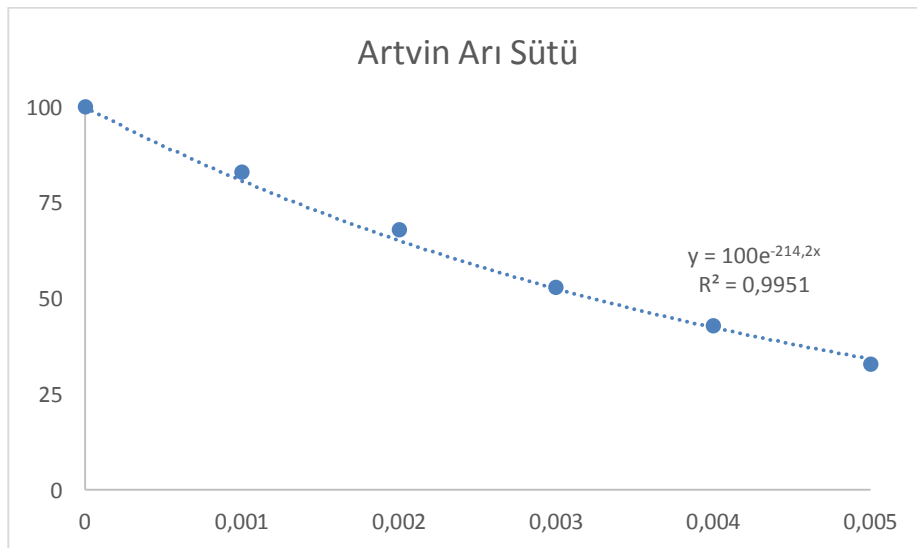
Akarboz, standart inhibitör olarak α -glikozidaz ve α -amilaz enzimleri için kullanıldı.



Şekil 59. Artvin arı sütünün BChE enzim inhibisyon grafiği



Şekil 60. Artvin arı sütünün α -glukozidaz enzim inhibisyon grafiği



Şekil 61. Artvin arı sütünün α -amilaz enzim inhibisyon grafiği

Balların Fizikokimyasal Analiz Bulguları

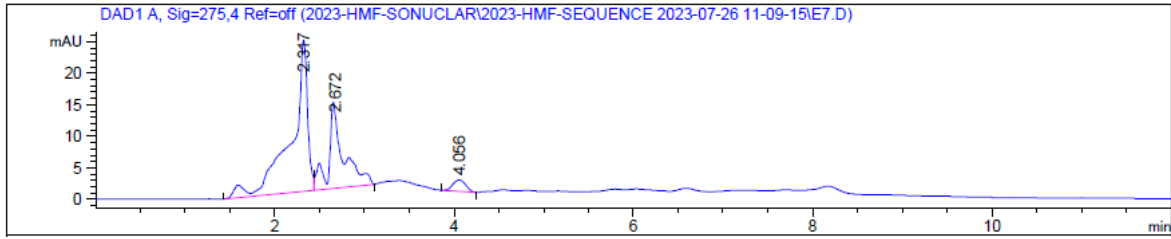
Balların fizikokimyasal analizler olarak; naftalin, şeker kompozisyonu (glukoz, fruktoz, sakkaroz, maltoz, fruktoz+glukoz, fruktoz/glukoz), prolin, diastaz, HMF, nem, elektriksel iletkenlik, serbest asitlik ve pH değerleri Tablo 29-30'da verilmiştir.

Tablo 29. Balların Prolin, Diastaz, HMF, Nem, Elektriksel İletkenlik, Serbest Asitlik ve pH Sonuçları

Bal Örnekleri	Prolin (mg/kg)	Diastaz	HMF (mg/kg)	Nem (%)	E. İletkenlik (mS/cm)	S. Asitlik (meq/kg)	pH
	TS 13357	IHC (5.1)	TS 13356	TS 13365	TS 13366	TS 13360	TS 13360
Hakkari	410,39±11,85	14,433±0,115	14,85	14,46±0,11	0,1779±0,029	23,87±1,33	3,98
Aydın	853,33±15,65	30,8±0	3,66	15,73±0,11	0,2698±0,041	15,11±3,1	4,02
Şanlıurfa	806,32±10,99	25±0,173	4,62	14,8±0,00	0,2119±0,033	19,82±3,15	4,05
Artvin	524,89±4,549	31,2±0,173	7,21	14,6±0,2	0,2188±0,059	34,13±1,27	3,88
Ankara	597,21±11,04	11,9±0	33,64	14,13±0,11	0,2039±0,061	34,3±1,15	4,06
Yalova	621,92±3,13	8,8±0	36,91	15,73±0,11	0,1973±0,073	34,19±1,13	3,95
Erzurum	389,90±9,95	20,7±0	-	16,2±0,2	0,1871±0,052	33,48±2,75	4,03
Mersin	505,00±8,91	25,6±0,173	-	15,4±0,2	0,2195±0,063	32,67±1,95	3,85

(3 tekrar ortalaması ± Standart Sapma. -: Tespit Edilmedi. TS: Türk Standardı)

Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (2020) bal analizleri için limit değerleri şunlardır: Prolin en az 300 (mg/kg) olmalı, HMF en fazla 40 (mg/kg) olmalı, diastaz en az 8 olmalı, nem en fazla 20 (%) olmalı, elektriksel iletkenlik en fazla 0,8 (mS/cm) olmalı, serbest asitlik en fazla 50 (meq/kg) olmalıdır. Erzurum balının HMF kromatogramı Şekil 62'de sunulmuştur. Diğer balların kromatogramları Ek 80-86'da verilmiştir.



Şekil 62. Erzurum balının HMF kromatogramı

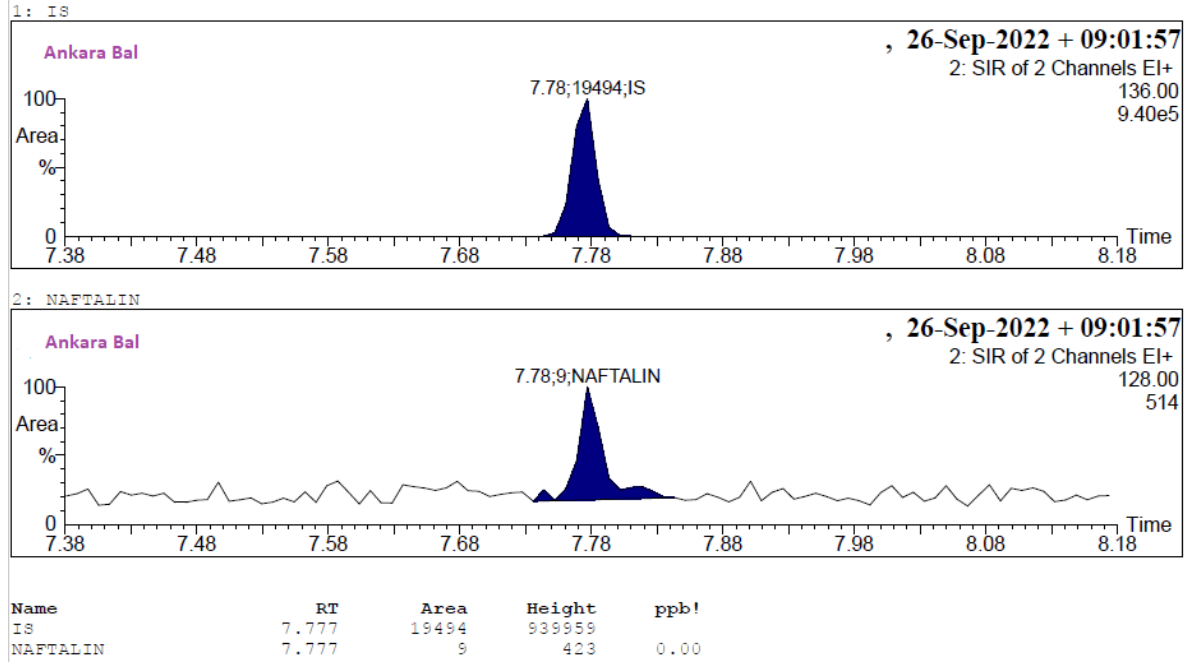
Tablo 30. Balların Naftalin ve Şeker Kompozisyon Sonuçları

Bal Örnekleri	Naftalin (µg/kg)	Glukoz (%)	Fruktoz (%)	Sakkaroz (%)	Maltoz (%)	Fruktoz + Glukoz	Fruktoz/ Glukoz
	Kurumsal	TS 13359	TS 13359	TS 13359	TS 13359	TS 13359	TS 13359
Hakkâri	-	30,2559	45,74298	-	2,6504	75,9988	1,51186
Aydın	-	29,88529	35,02657	0,04222	1,62037	64,9118	1,17203
Şanlıurfa	-	29,66597	37,91801	-	1,92507	67,5839	1,27816
Artvin	-	24,1193	34,58529	0,11563	3,33614	58,7045	1,43392
Ankara	-	33,00825	40,29085	0,20038	2,10858	73,2991	1,22062
Yalova	-	32,96605	37,80822	0,09248	2,38891	70,7742	1,14688
Erzurum	-	31,05042	39,88147	0,02394	2,40654	70,9318	1,28441
Mersin	-	28,36716	41,04222	-	2,60421	69,4093	1,44682

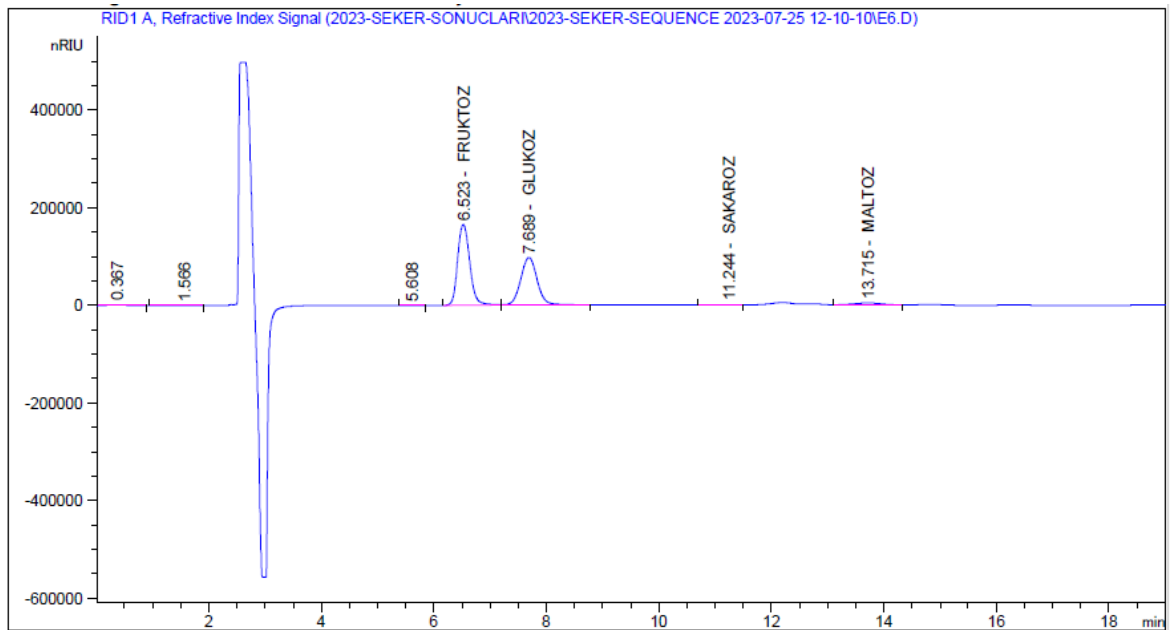
(3 tekrar ortalaması ± Standart Sapma. -: Tespit Edilmedi. TS: Türk Standardı)

Ankara balının naftalin kromatogramı Şekil 63'te ve Yalova balının şeker kromatogramı ise Şekil 64'te sunulmuştur. Diğer illerin naftalin kromatogramları Ek 87-

93'te, şeker kromatogramları ise Ek 94-100'de verilmiştir. TGKBT raporunda yer alan naftalin ve şeker kompozisyonu için limit değerler şunlardır: Naftalin en fazla 10 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) olmalı, fruktoz + glukoz % 60'dan az olmamalı, Fruktoz/Glukoz % 0,9-1,4 aralığında olmalı, sakkaroz en fazla % 5 olmalı ve maltoz en fazla % 4 olmalıdır. Yapılan tüm analizlerde araştırılan balların TGKBT'de belirtilen limit değerlerine göre uygun olduğu, sadece Hakkari, Artvin ve Mersin ballarının fruktoz/glukoz oranlarının yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 63. Ankara balının naftalin kromatogramı



Şekil 64. Yalova balının şeker kromatogramı

TARTIŞMA VE SONUÇ

Arı ürünleri bilim, gıda, ilaç ve kozmetik sanayi gibi alanların çok fazla ilgisini çekmekte ve inovatif birçok ürün arı ürünleri ile oluşturulmaktadır. Arı ürünlerini değerli yapan nedenlerin başında zengin biyoaktif kimyasal bileşen içeriği ve göstermiş oldukları farklı biyolojik aktiviteler gelmektedir (Durazzo *et al.* 2021).

Propolis ürünlerinin LC-MS/MS sonuçlarına bakıldığında, en yüksek konsantrasyonda acacetin (74,577 mg analit/g ekstre) bileşeninin Şanlıurfa propolisinde olduğu belirlenmiştir. Bal, polen, arı sütü ve arı ekmekleri ile kıyaslandığında kantitatif ve kalitatif olarak propolislerin çok fazla üstünlüğü görülmüştür. Propolisin zengin içeriği bilinmekle birlikte Türkiye'nin yedi farklı bölgesinde çok geniş bir coğrafyada genel olarak büyük bir farklılık görülmemektedir. Ancak bileşen bazlı olarak farklılıklar görülmektedir. Biyoaktif bileşen olarak bilinen quercetin (mg analit/g ekstre), Hakkari propolisinde 3,138, Şanlıurfa propolisinde 4,114, Yalova propolisinde 1,421, Erzurum propolisinde 6,724, Ankara propolisinde 6,919, Artvin propolisinde 0,934, Mersin propolisinde 1,854 Aydın propolisinde ise 3,03 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar arasında çok büyük farklılık gözlenmemektedir. Ancak yine önemli biyoaktif bileşen olan chrysin için, Hakkari propolisinde 6,42, Şanlıurfa propolisinde 10,273, Yalova propolisinde 10,976, Erzurum propolisinde 68,05, Ankara propolisinde 57,922, Artvin propolisinde 9,163, Mersin propolisinde 7,491 ve Aydın propolisinde ise 2,489 (mg analit/g ekstre) olarak bulunmuştur. Chrysin için Erzurum propolisinde 68,05 (mg analit/g ekstre) belirlenmiş iken Aydın propolisi için ise 2,489 (mg analit/g ekstre) belirlenmiş ve bu bileşen için farklı coğrafyalar arasında büyük bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Propolislerde konsantrasyonu en yüksek olarak bulunan bileşenler şu şekilde sıralanabilir: Acacetin > chrysin > caffeic asit > quercetin > naringenin > apigenin > kaempferol > hesperetin > quinic asit > *p*-coumaric asit > ferulic asit > vanilic asit. Şanlıurfa, Mersin, Aydın ve Hakkari propolislerinin acacetin ve chrysin bileşiği için ham madde olabileceği belirlenmiştir.

Anadolu propolisinin fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesinin araştırıldığı çalışmada toplam fenolik ve flavonoid miktarı sırasıyla 147,28 (mg GAE/g) ve 30,58 (mg QE/g) olarak belirlenmiştir. Ayrıca 25 farklı fenolik standart ile sekonder metabolit içeriği araştırılmış ve en yüksek konsantrasyonda caffeic asit, caffeic asit fenil ester, chrysin ve sinnamik asit olduğu belirlenmiştir. Çalışmada Türkiye'nin 40 farklı yerinden Anadolu propolisi temin edilmiş ve antioksidan özellikleri FRAP ve DPPH yöntemleri ile belirlenmiştir (Kolaylı *et al.* 2023). Literatürde Anadolu propolisi ile ilgili en güncel

çalışmalardan biri olan bu çalışma ile çalışmamız kıyaslandığında, sonuçlarda farklılıklar olmakla birlikte genel olarak uyumlu olduğu görülmüştür. Çalışmamızda sekonder metabolit içerik ve antioksidan özellik çok detaylı ve farklı yöntemler ile belirlenmiştir. Ayrıca metabolik enzim inhibisyonlarının çalışmamızda belirlendiği ve sadece propolisin değil arı sütü, arı ekmeği, polen ve balında aynı özellikleri araştırılmıştır. Bu yönleri ile çalışmamızın önemi ortaya çıkmaktadır.

Türkiye’de Berdav propolisinin araştırıldığı çalışmada acacetin konsantrasyonu 76,359 (mg analit/g ekstre) olarak belirlenmiştir. Bulunan bu değer Şanlıurfa propolisi ile yakın çıkmıştır. Sonuçların farklı çıktığı bileşenlerinde olduğu görülmektedir (Karageçili 2023c). Yine Türkiye’de yapılan bir çalışmada propolislerde 32 farklı fenolik bileşen araştırılmış ve bu çalışmada da propolislerdeki fenoliklerin konsantrasyonlarında farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Ozdal *et al.* 2019). Bu çalışmada 53 farklı bileşen analiz edilmişken propolislerde 32 farklı sekonder metabolit belirlenmiştir. Farklı bir çalışmada ise propolisde 62 bileşen bakıldığı ve bu gibi farklı yöntemler ile yapılan araştırmaların devam ettiği görülmektedir (Falcão *et al.* 2013).

Arı ekmeğininin LC-MS/MS sonuçlarında en yüksek konsantrasyonda belirlenen bileşenin quinic asit (12,002 mg analit/g ekstre) olduğu ve Aydın arı ekmeğinde bulunduğu tespit edilmiştir. Arı ekmeğininin propolislere göre bileşence fakir olduğu görülmüştür. Belirlenen önemli biyoaktif bileşenler şunlardır: Caffeic asit, *p*-coumaric asit, isoquercitrin, quercitrin, astragalin, quercetin, naringenin, hesperetin, luteolin, kaempferol, chrysin, amentoflavone, apigenin. Bu çalışmada arı ekmeğinde 26 biyoaktif bileşen belirlenmiştir. Arı ekmeğininin LC-MS/MS ile 23 farklı fenolik bileşiğinin tanımlandığı bir çalışmada en yüksek konsantrasyonda rutin (12613,49 µg/100 g) olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada da arı ekmeğinde bileşenler arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (Bayram *et al.* 2021). Farklı bir çalışmada ise arı ekmeğininin LC-MS/MS ile 55 farklı organik asit bileşiği araştırılmıştır. Yapılan çalışmada arı ekmeği içeriğinde en baskın organik asidin sitrik asit olduğu belirlenmiştir (Çelik *et al.* 2022).

Organik asitler, arı ürünlerinin mikrobiyal ve sindirim özelliklerinden sorumludur ve aynı zamanda gıda koruyucuları olarak kullanılmaktadır. Arı ekmeğinin organik asit içeriğinde şu bileşenler tespit edilmiştir: glukonik asit (79,2 g/kg), formik asit (6,75 g/kg), asetik asit (10,7 g/kg), propiyonik asit (1,3 g/kg), bütirik asit (0,33 g/kg) ve oksalik asit. Glukonik asit ve asetik asit antibakteriyel özellik göstermekte ve bu nedenle arı ekmeğinin doğal antibiyotik ve gıda koruyucu olarak kullanılabilceği belirtilmiştir. Arı ekmeğinin polifenolik bileşen içeriğinin belirlendiği çalışmada quercetin, kaempferol, mirisetin,

isorhamnetin ve herbasetin olmak üzere flavonol türevlerinin bulunduğu otuz iki fenolik bileşik tanımlanmıştır. Farklı çalışmalarda da kaempferol, chrysin, apigenin, *p*-kumarik asit, caffeic asit, naringenin, rosmarinic asit, luteolin, miricetin, rutin ve quercetin belirlenmiştir. Yapılan bu derlemede aynı zamanda arı ekmeklerinin iyi antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Bakour *et al.* 2022). Bu bileşenlerin çoğu bizim çalışmamızda da araştırılmış ve belirlenmiş, ayrıca arı ekmeğinin antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Arı ekmeği bu yönleri ile gıda, ilaç ve sağlık alanlarında kullanılabilir. Özellikle belirli sekonder metabolitler için ham madde olabileceği görülmüştür.

Polenlerin LC-MS/MS sonucunda en yüksek konsantrasyonda belirlenen bileşenin astragalin (2,487 mg analit/g ekstre) olduğu tespit edilmiştir. Polenlerin sekonder metabolit içeriğinin propolislerden çok düşük olduğu ve arı ekmeğinden kantitatif olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Konsantrasyonu yüksek olan bazı önemli bileşikler şunlardır: Quinic asit, caffeic asit, isoquercitrin, quercitrin, quercetin, naringenin, luteolin, apigenin, kaempferol, chrysin, acacetin ve amentoflavon. Taraması yapılan 53 fitokimyasaldan 25 tanesi polenlerde belirlenmiştir. Türkiye’de yapılan bir çalışmada Bayburt ilinden temin edilen polenin LC-MS/MS ile 23 farklı fenolik bileşik içeriği taranmış ve en bol bulunan bileşenin rutin (115442.25 ± 7774.28 µg/kg) olduğu tespit edilmiştir (Gercek *et al.* 2021). Bu çalışmada ise beş ilin polen numunelerinde rutin tespit edilememiş olup Artvin poleninde 0,015 (mg analit/g ekstre), Mersin poleninde ise 0,078 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar arı ürünlerinin farklı coğrafya ve iklim koşullarında farklı içerikler bulundurduğunu göstermektedir. Polen örneklerinin LC teknikleri ile içerik analizleri birçok farklı çalışmalarda uygulanmaktadır (Perveen *et al.* 2019; Bayram *et al.* 2021; Çelik *et al.* 2022).

Arı sütü, arı beslenmesinde ve gelişiminde en önemli gıdadır. Arı sütlerinin LC-MS/MS ile sekonder metabolit analizinde en yüksek konsantrasyonda olan bileşenin quinic asit (19,242 mg analit/g ekstre) olduğu ve Mersin ilinden temin edilen ürün olduğu belirlenmiştir. Arı sütlerinin genel olarak kantitatif yönden propolislerden daha fakir olduğu ancak polen ve arı ekmeğinden ise daha zengin olduğu görülmüştür. Ancak bazı bileşenlerin propolislerden daha yüksek konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir. Arı sütlerinde tespit edilen önemli biyoaktif bileşenler şunlardır: Gallic asit, protocatechuic asit, chlorogenic asit, 4-OH benzoik asit, quercetin, caffeic asit, naringenin, *p*-coumarik asit, apigenin, kaempferol, acacetin ve chrysin. Arı sütlerinde toplamda 17 bileşen belirlenmiştir.

Arı sütü, içeriği ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle fonksiyonel gıdalara konulmaktadır. Bu tür gıdalarda yapılan çalışmada arı sütünün ilave edildikleri gıdaların antioksidan aktivitesini ve kimyasal içeriğini arttırdığı bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada arı sütlerinde en fazla bulunan fenolik bileşiğin kafeik asit fenetil ester olduğu en az olan bileşenin ise luteolin olduğu belirlenmiştir (Kılıç and Aydemir 2022). Arı sütünün kimyasal içeriğinin araştırıldığı çalışmada arı sütünün flavonoid içeriğinin arı ekmeği ve arı poleninden daha fakir olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada 3 arı ürününün toplam fenolik içeriği sıralaması arı poleni (105,68 µg/g) > arı sütü (66,35 µg/g) > arı ekmeği (56,93 µg/g) şeklinde belirlenmiştir (Darwish *et al.* 2023). Çalışmamızdaki arı sütü sonuçlarının bu çalışma ile tam olarak uygun olmadığı görülmüş ve bunun nedeninin iklim, flora, arı türü ve sağlığı olabileceği ön görülmektedir.

Balların LC-MS/MS sonucunu belirlemeden önce, karbohidrat içeriğinin çok yüksek olduğundan fenolik ve flavonoid bileşiklerin baskılanacağını ön görmemizden dolayı ekstraksiyon yöntemleri farklı seçildi ve şekerlerin bu yöntem ile uzaklaştırılması sağlandı. En yüksek verimli olan ekstraksiyon metodunun 2. Yöntem olduğu belirlendikten sonra tüm ballar bu yöntemle ekstrakte edildi. Ballarda en yüksek konsantrasyonda belirlenen bileşenin Mersin balında bulunan salicylic asit (43,132 mg analit/g ekstre) olduğu belirlenmiştir. Toplamda ise ballarda 41 sekonder metabolit tespit edilmiştir. Kalitatif olarak en yüksek sayıda bileşen ballarda belirlenmiştir. Bu biyoaktif bileşenlerden bazıları şunlardır: Vanilin, acacetin, chrysin, apigenin, kaempferol, luteolin, hesperetin, naringenin, nikotiflorin, rosmarinic asit, *p*-coumaric asit, quercitrin, caffeic asit, 4-OH benzoic asit, gallic asit ve quercetin. Sidr ve Talh ballarının bileşenlerinin belirlendiği çalışmada ballarda 53 bileşenden 27 tane belirlenmişken etil asetat ve etanol ekstraktlarında en baskın bileşenin quinic asit (4454 µg/g) olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak balların antioksidan ve enzim aktivitelerinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Al Qahtani *et al.* 2022).

Antioksidanlar birçok hastalığa karşı tedavi edici etki yapmaktadır. Doğal ve sentetik antioksidanlar bulunmakta ve gıda ve ilaç sanayinde çoklukla kullanılmaktadır. Ancak sentetik olanların zararları olduğu belirlenmiş olup doğal antioksidanlara olan ilgi bu nedenle artmaktadır (Gülçin 2020). Arı ürünleri içinde gıda olarak tüketilen bal, polen, arı sütü, arı ekmeği ve propolis doğal bir antioksidan özellik gösterdiği yapılan bilimsel çalışmalar ile belirlenmiştir (İzol 2023a). Bu çalışmada arı ürünlerinin radikal giderme ve indirgeme metotları ile *in vitro* olarak antioksidan özellikleri detaylı bir şekilde ortaya çıkarılmıştır. Uygulanan bütün antioksidan yöntemlerinde standart antioksidan

olarak BHA, BHT, α -tokoferol ve trolox kullanıldı. Radikal giderme yöntemlerinden olan DPPH metodunda standartların IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) değerleri 26,667-59,957 arasında bulundu ve en düşük aktiviteyi gösteren standardın BHT (59,957) olduğu tespit edildi. Arı ürünlerinde DPPH aktivitesi en yüksek olan ürünün propolis olduğu belirlendi. Sekiz ilden toplanan propolisler DPPH yönteminde BHT standardından daha yüksek aktivite göstermiştir. Propolis örneklerinin DPPH giderme yönteminde IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) sonuçları Şanlıurfa (26,937) > Erzurum (28,860) > Yalova (31,402) > Ankara (33,283) > Mersin (33,416) > Artvin (33,936) > Aydın (48,031) > Hakkâri (55,539) olarak belirlendi. Şanlıurfa propolisi standart antioksidan olan BHT (27,413), trolox (28,295) ve BHA (27,413)'den daha fazla antioksidan aktivite gösterdi ve α -tokoferol (26,667)'ye ise çok yakın aktivite gösterdi. Bu nedenle özellikle Şanlıurfa propolisinin doğal antioksidan olarak kullanılabilmesi tespit edilmiştir. Propolislerin özellikle standart antioksidanlardan daha yüksek antioksidan aktivite göstermeleri antioksidan potansiyellerinin çok yüksek olduğunu göstermiştir.

ABTS⁺ giderme yönteminde standart antioksidanların IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) sonuçları BHA (20,724), BHT (32,110), α -tokoferol (24,463), trolox (29,787) olarak bulundu. Arı ürünleri içinde ABTS yönteminde en yüksek antioksidan aktivite gösteren ürünün propolis örneklerinin gösterdiği belirlendi. Propolis örneklerinin ABTS sonuçları IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) Erzurum (22,477) > Yalova (25,861) > Şanlıurfa (26,211) > Ankara (27,000) > Mersin (27,574) > Artvin (28,471) > Hakkari (34,912) > Aydın (35,655) olarak belirlendi. Aydın propolisi hariç diğer bütün propolislerin BHT standardından daha fazla antioksidan özellik gösterdiği tespit edildi. Propolislerin ABTS yönteminde kullanılan diğer standart antioksidanlara yakın antioksidan özellik gösterdiği belirlendi. Propolislerin yüksek antioksidan özellik gösterdiği böylece ortaya kondu. ABTS yönteminde Aydın arı sütünün (27,994) Aydın propolisinden (35,655) daha yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu görüldü. Ayrıca Hakkari arı sütü (29,589) Hakkari propolisinden (34,912) daha yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu tespit edildi. Böylece bazı bölgelerde arı sütlerinin propolislerden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Diğer arı ürünleri içinde ise ABTS yönteminde en düşük antioksidan aktiviteyi gösteren ürünün bal örnekleri olduğu tespit edildi. ABTS yönteminde genel olarak antioksidan özellik arı ürünleri içinde propolis > arı sütü > polen > arı ekmeği > bal şeklinde olduğu belirlenmiştir.

DMPD⁺ giderme yöntemi sonuçlarında standart antioksidan olan BHT ve α -tokoferolün antioksidan aktivitesi belirlenemedi. Diğer standartların IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) sonucu BHA (40,12), trolox (10,657) olarak tespit edildi. DMPD yönteminde en yüksek antioksidan aktivite gösteren arı ürünü propolisin aksine arı sütü örnekleri olmuştur. Arı

sütü örneklerinin BHA standart antioksidanından daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. DMPD metodunda arı sütü örneklerinin IC₅₀ (µg/mL) sonucu Şanlıurfa (15,211) > Erzurum (15,818) > Yalova (16,407) > Hakkari (16,623) > Aydın (16,760) > Artvin (19,489) > Ankara (16,143) > Mersin (22,308) olarak belirlendi. Sadece Artvin propolisi (18,128) ve Mersin propolisi (20,163) kendi illerindeki arı sütlerinden daha yüksek antioksidan özellik gösterdi. Genel olarak arı ürünlerinin DMPD metodu sonuçlarına göre antioksidan aktivite sıralaması arı sütü > propolis > polen > arı ekmeği > bal şeklindedir. Ancak polen ve arı ekmeklerinin aktiviteleri bu sıralamada bazı illere göre değiştiği görüldü. Bu metoda göre en yüksek antioksidan aktivite gösteren arı ürünü Şanlıurfa arı sütü (15,211) iken, en düşük aktivite gösteren arı ürünü ise Yalova balı (78,333) olduğu tespit edilmiştir. Arı sütü ve propolislerin doğal ve yüksek antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Arı ekmeği, polen ve bal örneklerinin ise standart antioksidanlar kadar olmasa da antioksidan aktivite gösterdiği görüldü. Radikal giderme yöntemlerinde propolis numunelerinin arı sütü hariç diğer arı ürünlerine karşı daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Fe³⁺ indirgeme yönteminde standart antioksidanların sonuçları (λ₇₀₀) trolox (2,900) > BHA (2,773) > α-tokoferol (2,645) > BHT (0,379) olarak bulundu. Bu yöntemde arı ürünleri içinde en yüksek antioksidan aktiviteyi propolis örneklerinin gösterdiği belirlendi. Propolis örneklerinin bu yöntemdeki sonuçları (λ₇₀₀) Erzurum (1,364) > Şanlıurfa (1,358) > Mersin (1,207) > Artvin (1,168) > Yalova (0,997) > Ankara (0,812) > Aydın (0,498) > Hakkari (0,391) olarak bulundu. Propolis örneklerinin BHT standart antioksidanından daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve diğer standart antioksidanlardan düşük aktivite gösterdiği tespit edildi. Bu metotta propolis örneklerinden sonra en yüksek antioksidan aktiviteyi arı sütü numunelerinin gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak bu yöntemdeki antioksidan aktivite sıralaması propolis > arı sütü > polen > arı ekmeği > bal olarak tespit edilmiştir. En yüksek antioksidan aktiviteyi gösteren arı ürünü Erzurum propolisi (1,364) iken en düşük antioksidan aktiviteyi gösteren ürünün ise Şanlıurfa balı (0,077) olduğu görüldü. Ancak Artvin balı (0,291), Aydın balı (0,264) ve Hakkari balı (0,252) örnekleri kendi illerindeki polen ve arı ekmekleri numunelerinden daha yüksek sonuç göstererek antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlendi. Bunun nedenleri arasında bitki örtüsü, arı sağlığı, iklim ve coğrafya olabileceği ön görülmektedir.

CUPRAC yöntemi sonuçlarında (λ₄₅₀) standart antioksidanlar α-tokoferol (2,151) > BHA (1,840) > trolox (1,469) > BHT (1,020) olarak bulundu. Bu yöntemde arı ürünleri

içinde en yüksek antioksidan aktiviteyi gösteren ürünlerin propolis numuneleri olduğu belirlendi. Bu yöntemdeki propolis numuneleri sonuçları Mersin (1,896) > Erzurum (1,780) > Şanlıurfa Hakkari (1,099) > Ankara (1,046) > Yalova (0,997) > (0,976) > Aydın (0,843) > Artvin (0,801) olarak tespit edildi. Bu yöntemde propolis örneklerinin yarısının BHT standardından yüksek kalan diğer yarısının ise düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Arı ürünlerinin bu yöntemdeki antioksidan aktivite sıralaması genel olarak propolis > polen > arı ekmeği > arı sütü > bal şeklindedir. Bu sıralamaya uymayan örnekler olup genel olarak bu sıralama verilmiştir. Bu yöntemde en yüksek antioksidan aktivite Mersin propolisinde iken en düşük aktivite ise Hakkari balı (0,075) olduğu tespit edilmiştir.

FRAP indirgeme yöntemi sonuçları (λ_{593}) standart antioksidanlar α -tokoferol (1,755) > BHA (1,250) > trolox (1,181) > BHT (0,945) olarak bulundu. Bu yöntemde en yüksek antioksidan aktivite gösteren arı ürünlerinin yine propolis örnekleri olduğu görüldü. Propolis numunelerinin sonuçları Şanlıurfa (1,586) > Ankara (1,396) > Mersin (1,381) > Artvin (1,345) > Yalova (1,29) > Erzurum (1,289) > Aydın (0,991) > Hakkari (0,858) olarak tespit edildi. Hakkari propolisi hariç diğer propolis örneklerinin BHT standardından daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve Aydın ve Hakkari propolisleri hariç diğer propolislerin BHA ve trolox standartlarından daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlendi. Böylece propolislerin çok güçlü antioksidan özellik gösterdiği birçok *in vitro* yöntem ile belirlenmiştir. Arı ürünlerinin FRAP metodundaki antioksidan aktivite sonuçları genel olarak propolis > arı sütü > polen > arı ekmeği > bal şeklinde belirlendi. Böylece arı ürünleri içinde propolisin çok güçlü antioksidan özellik gösterdiği, arı sütünün birçok standart antioksidan daha yüksek aktivite gösterdiği, polen, arı ekmeği ve balın standart antioksidanlar kadar olmasa da antioksidan aktivite gösterdikleri kapsamlı bir şekilde belirlenmiştir.

İndirgeme yöntemlerinde ise arı ürünleri içinde en fazla antioksidan aktivitenin yine propolislerde olduğu bulunmuştur. En yüksek antioksidan aktiviteyi Mersin propolisi (λ_{450} :1,896) göstermiştir. Standart antioksidanların indirgeme yöntemleri sonuçları 0,379-2,900 arasında değişmekte olduğu belirlenmiştir. Arı ürünlerinin ise sonuçları 0,075-1,896 arasında değişmektedir.

Arı ürünleri içinde en düşük aktivitenin genel olarak 6 yöntemde de ballar olduğu belirlenmiştir. Ancak antioksidan özellik gösteren sekonder metabolitlerin kalitatif olarak balda fazla olduğu belirlenmiş olup antioksidan özelliği ile uyum göstermediği görülmüştür. Bunun nedenin ise sekonder metabolit belirleme yönteminde ballara farklı

ekstraksiyon yöntemleri uygulanmış olup en verimli yöntem seçilerek fenolik bileşiklerin belirlenmesinin olabileceği ön görülmektedir. Antioksidan yöntemlerde ise sekonder metabolit ekstraksiyon yöntemi kullanılmayıp farklı yöntem uygulanmıştır. Böylece farklı ekstraksiyon yöntemlerinin biyolojik aktivite yöntemlerinde farklılığa neden olabileceği ön görülmektedir. Antioksidan aktivitenin en önemli nedenleri arasında fenolik bileşikler gösterilmektedir. Fenolik bileşen içeriği kalitatif ve kantitatif olarak ne kadar yüksek ise antioksidan aktivite de o kadar yüksek olmaktadır. Arı ürünlerinin antioksidan kapasitesinin içerdikleri zengin fenolik bileşenlerden kaynaklanabileceği ön görülmektedir.

Arı ürünleri içinde toplam fenolik madde miktarı en yüksek olarak bulunan Şanlıurfa propolisidir (102,353 µg GAE/mg). Arı ürünlerinin toplam fenolik miktarı 34,706-102,353 (µg GAE/mg) arasında olduğu bulunmuştur. En düşük miktarın ise balda olduğu belirlenmiştir. Toplam flavonoid miktarı ise en fazla yine Şanlıurfa propolisinde tespit edilmiştir (20,471 µg QE/mg). Arı ürünlerinin toplam flavonoid miktarları 7,059-20,471 (µg QE/mg) arasında değiştiği bulunmuştur. Balın toplam fenolik miktarının düşük çıkması, LC-MS/MS ile fenolik içeriğin zengin çıkması birbiri ile uyumlu görülmemektedir. Bunun nedeni LC-MS/MS analizinde bal için uygulanan ekstraksiyon yönteminin fenolik madde miktarı belirlenmesinde uygulanan yöntemden farklı olması olabilir yada LC-MS/MS yönteminde belirlenen fenoliklerin dışında çok daha fazla fenolik bileşen olabileceğinden kaynaklanabileceği ön görülmektedir.

Enzim inhibisyon sonuçlarında ise arı ürünlerinin içinde en fazla inhibisyon aktivitesine sahip ürünlerin arı sütleri olduğu belirlenmiştir. Propolislerin ise enzim inhibisyon aktiviteleri antioksidan aktivitelerdeki gibi yüksek belirlenmeyip arı ürünleri içinde az olduğu görülmüştür. Arı ürünlerinin çalışılan α -Amilaz, α -Glikozidaz, hCA I, hCA II, AChE ve BChE enzimlerini inhibe etme güçleri yüksek olduğundan bu enzimler ile ilgili olan epilepsi, glokom, Alzheimer ve diyabet hastaları için tüketiminin faydalı olacağı ön görülmektedir. Literatürde bu beş arı ürününün bu 6 enzim ile inhibisyon çalışmasına neredeyse rastlanılmamıştır. Belirli bir arı ürünü ve belirli birkaç enzim ile çalışma yapılmıştır. Bu yönü ile bu çalışmanın literatüre büyük bir veri sunduğu ve katkı yaptığı görülmektedir. Bal, polen ve propolislerin hCA I ve hCA II enzim inhibisyonlarının araştırıldığı çalışmada propolislerin en yüksek aktivite gösterdiği ve sonra polen ve balın inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile çalışmamızdaki propolislerin benzer sonuçlar göstermediği, polenlerin daha fazla enzim inhibe ettiği ve balların yakın sonuçlar verdiği belirlenmiştir (İmdat *et al.* 2016).

Bal, gıda olarak ve çeşitli hastalıkların tedavilerinde şifa kaynağı olarak çok fazla tüketilmektedir. Bu nedenle kalite parametrelerine uygun olması, sahtecilik ve tağşişten uzak olması gerekmektedir. Bu amaçla Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde bal için önemli fizikokimyasal analizler belirtilmiş ve uluslararası standartlara uygun olan limitler belirlenmiştir. Bu çalışmada Türkiye'nin 7 farklı bölgesinden 8 farklı ilden toplanan ballarda naftalin, şeker kompozisyonu, prolin, diastaz, HMF, nem, elektriksel iletkenlik, serbest asitlik ve pH analizleri yapılmıştır.

Sekiz farklı ilden toplanan balların prolin değerlerinin 853-389 (mg/kg) aralığında, diastaz değerlerinin 31,2-8,8 aralığında, HMF değerlerinin 36,9-0 (mg/kg) aralığında, nem sonuçlarının 16,2-14,1 (%) aralığında, elektriksel iletkenlik sonuçlarının 0,269-0,178 (mS/cm) aralığında, serbest asitlik sonuçlarının 34,3-15,1 (meq/kg) aralığında ve pH değerlerinin ise 4,06-3,85 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Naftalinin kanserojen bir madde olduğu ve balda kalıntı bırakmasının insan sağlığını ciddi etkileyeceği bilinmektedir (Turhan and İzol 2023). Naftalin ballarda ölçüm limitinin altında kaldığından tespit edilememiş ve bu yönü ile bal için zarar oluşturmadığı görülmüştür. Şeker sonuçlarında ise fruktoz+glukoz yüzdeleri 75,99-58,7 aralığında olduğu ve en düşük oranın Artvin balı olduğu ve limit değerinin altında olduğu belirlenmiştir. Fruktoz/glukoz oranı ballarda 1,51-1,14 aralığında olup Hakkari, Artvin ve Mersin ballarının limit değerinin çok az üstünde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sakkaroz, Hakkari, Şanlıurfa ve Mersin ballarında tespit edilememiştir. Sakkarozun ballarda düşük olması şeker takviyesinin olmadığı bir göstergesi olabileceği ön görülmektedir. Bal günümüzde ekonomik gerekçelerden dolayı şeker takviyesinin oldukça fazla yapıldığı bir üründür. Bu nedenle ballarda şeker limitlerinin takviye olmadığını göstermesi memnuniyet vericidir. Prolin değeri (853 mg/kg) en yüksek olan balın Aydın iline ait olduğu ve diastaz değerinin (31,2) ise en yüksek olduğu balın Artvin iline ait olduğu belirlenmiş ve bu sonuçlara göre balların yüksek kalitede olduğu yorumlanmıştır. Ballarda yapılan analizlerde coğrafi olarak farklılıklar görülmüştür. Arı ürünlerinin kimyasal içeriklerinin ve biyolojik aktivitelerinin floraya, coğrafyaya, toprak yapısına, iklim koşullarına, arı beslenmesine, arı hastalıklarına, arı türüne, depolama ve ambalajlama koşullarına göre değişiklik gösterebileceği literatürde belirtilmiştir.

Bal en çok tüketilen şifa kaynağı olarak görülen bir ürün olduğundan dolayı kalite göstergesi olan analizlerin düzenli olarak yapılması gerekmektedir. Çünkü sahtecilik ve tağşişi belirlemenin tek yolu kimyasal ve biyolojik analizlerdir. Naftalin ve HMF gibi kanserojen etkisi olan bileşenlerin belirlenen limitlerin üstünde olmaması sağlık açısından

oldukça önemlidir. Ayrıca ballarda en sık rastlanan antibiyotik ve pestisit kalıntıları balları şifa kaynağından çıkarıp zararlı hale çevirmektedir. Özellikle toksik ağır metallerinde ballarda tespit edilmesi yine balı zararlı yapmaktadır. Bu gibi nedenler ile özellikle arıcıların bal üretiminde arılıkları sanayi kuruluşları ve tarımsal arazilerden uzak yerlerde kurmaları, arı hastalıklarına karşı antibiyotik yerine doğal koruyucular kullanmaları, dışarıdan bala şeker, prolin, enzim katmamaları gerekmektedir. Bal birçok analizi yapıldıktan sonra uygun ise pazarlanmalıdır.

Doğal antioksidanlara olan ihtiyaç ve gıdaların zengin kimyasal ve biyolojik aktivitelere sahip olması günümüz insanlığının tercih ettiği önemli bir durumdur. Özellikle gıda olarak tükettiğimiz besinlerin inorganik içerikten uzak ve doğallığı ile birlikte hastalıklara karşı güçlü ve vücudumuzun ihtiyacını karşılayabilecek düzeyde biyoaktif bileşenleri içermesi önemlidir. Bu doğrultuda arı ürünleri çok değerli doğal ürünlerdir. Bu çalışma ile arı sütü, arı ekmeği, bal, propolis ve polen gibi önemli ve tüketimi yüksek olan arı ürünlerinin farklı coğrafi bölgelerden, detaylı kimyasal içerik, kapsamlı antioksidan aktivite, önemli metabolik enzimlere karşı inhibisyon potansiyelleri ve balların kalite parametrelerine uygunluğu belirlenmiştir. Araştırılan arı ürünleri içinde kantitatif açıdan genel olarak en zengin biyoaktif kimyasal bileşen içerenin bal olduğu belirlenmiştir. Antioksidan aktivitede ise en fazla aktivite gösteren ürünün propolis olduğu tespit edilmiştir. Enzim inhibisyon potansiyellerinde farklılıklar gözlenmesine karşın genelde en aktif ürünün ise arı sütü olduğu görülmüştür. Böylece glokom, epilepsi, Alzheimer ve diyabet hastalarının arı ürünlerini tüketmeleri tavsiye edilmektedir. Çalışma sonucunda özellikle propolisin birçok biyoaktif sekonder metabolit için ham madde olabileceği, arı sütünün metabolik hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği, bal, polen ve arı ekmeğinin benzer şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir. Arı ürünlerinin tıp, gıda, farmakoloji, ilaç ve kozmetik alanlarında kullanılabileceği görülmüştür. Bu çalışma ile propolis, arı ekmeği, arı sütü, bal ve polen ile ilgili literatüre çok kapsamlı ve detaylı veriler kazandırılmış, ayrıca arı ürünlerinin sağlıklı besinler içindeki kalitesi kapsamlı bir şekilde belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Latif, M.M., 2015. Chemoprevention of gastrointestinal cancers by naturalhoney. *World Journal Pharmacology* 4(1), 160-167.
- Afshari, A., Ram, M., & Mohamadi, S., 2022. Quality evaluation of Iranian honey collected from Khorasan province, Iran. *International Journal of Food Science*, 2022.
- Ak, T., Gülçin, İ., 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interaction*, 174, 27-37.
- Akincioğlu, A., Akbaba, Y., Göçer, H., Göksu, S., Gülçin, İ., Supuran, C.T., 2013. Novel sulfamides as potential carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(6), 1379-1385.
- Albero, B., C. Sa´nchez-Brunete, and J. L. Tadeo., 2003. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in honey by matrix solidphase dispersion and gas chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 86, 576–582.
- Almasaudi, S., 2021. The antibacterial activities of honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2188-2196.
- Al Qahtani, H. W., Yagi, S., Yılmaz, M. A., Cakır, O., Tarhan, A., Mustafa, A. A., & Zengin, G., 2022. Chemical profile, antioxidant and enzyme inhibition activities of natural Saudi Sidr and Talh honeys. *Chemistry & Biodiversity*, 19(7), e202200227.
- Alvarez-Suarez, J.M., 2017. Bee products-chemical and biological properties. 1st edition, Springer, 306 p.
- Altay, A., Yeniceri, E., Taslimi, P., Taskin- Tok, T., Yılmaz, M. A., & Koksall, E., 2022. A biochemical approach for hedysarum candidissimum from Turkey: Screening phytochemicals, evaluation of biological activites, and molecular docking study. *Chemistry & Biodiversity*, 19(9), e202200348.
- Anidiobu, V. O., Nwalor, J. U., & Babalola, F. U., 2019. Comparative Study of Rheological Characterization and Classification of Honeys with Their Physicochemical Properties. *International Journal of Food Engineering*, 5(4), 268-275.
- Anonim., 2001. Revised codex standard for honey, standards and standard methods. Codex Alimentarius Commission FAO/OMS, 11(1987), 7.
- Anonim., 2023. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği, Tarım ve Orman Bakanlığı, Ankara, 2023/37. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2023/11/20231124-5.htm>.
- AOAC., 2005. Honey official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International, 18th edition, 44, 25-37.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., Erçağ, E., 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(5-6), 292-304.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., Çapanoğlu, E., 2016. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanism and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (5), 997-1027.
- Ashrafizadeh, M., Ahmadi, Z., Mohammadinejad, R., & Ghasemipour Afshar, E., 2020. Tanageretin: A mechanistic review of its pharmacological and therapeutic

- effects. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 31(4), 20190191.
- Aslan, H.E., Demir, Y., Özaslan, M.S., Türkan, F., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö.I., 2019. The behavior of some chalcones on acetylcholinesterase and carbonic anhydrase activity. *Drug and chemical toxicology*, 42(6), 634-640.
- Atasever, A., Ozdemir, H., Gulcin, I., Kufrevioglu, O.I., 2013. One-step purification of lactoperoxidase from bovine milk by affinity chromatography. *Food chemistry*, 136(2), 864-870.
- Baati, T., Horcajada, P., Gref, R., Couvreur, P., & Serre, C., 2011. Quantification of fumaric acid in liver, spleen and urine by high-performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56(4), 758-762.
- Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaaid, D., El Ghouzi, A., Es-Safi, I., Mechchate, H., & Lyoussi, B., 2022. Bee bread as a promising source of bioactive molecules and functional properties: an up-to-date review. *Antibiotics*, 11(2), 203.
- Bangar, S. P., Chaudhary, V., Sharma, N., Bansal, V., Ozogul, F., & Lorenzo, J. M., 2022. Kaempferol: A flavonoid with wider biological activities and its applications. *Critical Reviews in Food science and nutrition*, 1-25.
- Banerjee, S.K., Bonde, C.G., 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Bridelia Retusa Spreng* Bark: Impact of dielectric constant and geographical location. *J. Med. Plants Res.*5: 817-822.
- Bayram, N. E., Gercek, Y. C., Çelik, S., Mayda, N., Kostić, A. Ž., Dramićanin, A. M., & Özkök, A., 2021. Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin—similarities and differences. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), 103004.
- Beydemir, Ş., Gülçin, İ., 2004. Effects of melatonin on carbonic anhydrase from human erythrocytes in vitro and from rat erythrocytes in vivo. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 19(2), 193-197.
- Benzie, I. F. F. ve Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Bingöl, Z., 2022. Resveratrol ve türevleri: Antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve bazı metabolik enzimler üzerinde inhibisyon etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., Von Der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., ... & Vit, P., 1999. Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. *Bee world*, 80(2), 61-69.
- Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C., 2002. Harmonised methods of the international honey commission. *Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld*, 5, 1-62.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Oddo, L. P., 2004. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S4-S17.
- Bursal, E., & Gülçin, İ., 2011. Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food research international*, 44(5), 1482-1489.

- Bursal, E., Yılmaz, M. A., İzol, E., Türkan, F., Atalar, M. N., Murahari, M., ... & Ahmad, M., 2021. Enzyme inhibitory function and phytochemical profile of *Inula discoidea* using in vitro and in silico methods. *Biophysical Chemistry*, 277, 106629.
- Castan, L., Del Toro, G., Fernández, A. A., González, M., Ortiz, E., & Lobo, D., 2013. Biological activity of liposomal vanillin. *Journal of medicinal food*, 16(6), 551-557.
- Chan, K.M., Decker, E.A., Feustman, C., 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 34(4), 403-426.
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., ... & Sharifi-Rad, J., 2023. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in chemistry*, 11, 1158198.
- Chen, C., 2019. Relationship between water activity and moisture content in floral honey. *Foods*, 8(1), 30.
- Chua, L. S., Abdul-Rahaman, N. L., Sarmidi, M. R., & Aziz, R., 2012. Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chemistry*, 135(3), 880-887.
- Coffey, M.D., Cole, R.A., Colles, S.M., Chisolm, G. M., 1995. In vitro cell injury by oxidized low density lipoprotein involves lipid hydroperoxide-induced formation of alkoxyl, lipid, and peroxy radicals. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(4), 1866-1873.
- Çağlayan, C., 2013. Oktopamin: Antioksidan kapasitesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve hCA II) üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Çelik, S., Gerçek, Y. C., Özkök, A., & Ecem Bayram, N., 2022. Organic acids and their derivatives: Minor components of bee pollen, bee bread, royal jelly and bee venom. *European Food Research and Technology*, 248(12), 3037-3057.
- Çoban, T.A., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., Ekinci, D., 2008. The inhibitory effect of ethanol on carbonic anhydrase isoenzymes: in vivo and in vitro studies. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23, 266-270.
- Darwish, A. M., El-Wahed, A., Aida, A., Shehata, M. G., El-Seedi, H. R., Masry, S. H., ... & El-Sohaimy, S. A., 2023. Chemical profiling and nutritional evaluation of bee pollen, bee bread, and royal jelly and their role in functional fermented dairy products. *Molecules*, 28(1), 227.
- Demir, H., Turkoglu, V., 2005. Effects of neostigmine methylsulfate on enzyme activity of acetylcholinesterase in rat serum, plasma, muscle and liver in vivo. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 32(1).
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, R.D., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal Association Physicians India*, 52, 794-804.
- Durmaz, L., 2015. Bazı kumarin türevleri: Antioksidan kapasiteleri ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve II) ile asetilkolinesteraz enzimi üzerine etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. ve Almeida, L. M., 1994. Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315, 161-169.

- Diplock, A., 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Jr Feather-Stone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.
- Falcão, S. I., Vale, N., Gomes, P., Domingues, M. R., Freire, C., Cardoso, S. M., & VilasBoas, M., 2013. Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC–MS spectrometry: Uncommon propolis rich in flavonoid glycosides. *Phytochemical Analysis*, 24(4), 309–318.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritieni, A., 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 1035-1040.
- Gercek, Y. C., Celik, S., & Bayram, S., 2021. Screening of plant pollen sources, polyphenolic compounds, fatty acids and antioxidant/antimicrobial activity from bee pollen. *Molecules*, 27(1), 117.
- Gezici, S., Koçum, D., 2021. Nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde nöroprotektif ajan olarak tıbbi bitkiler ve fitokimyasallar. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10(2), 325-337.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Maiani, G., Azzini, E. ve Ferro-Luzzi, A. 1995. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine*, 18, 29-36.
- Goodarzi, S., Tabatabaei, M. J., Mohammad Jafari, R., Shemirani, F., Tavakoli, S., Mofasseri, M., & Tofghi, Z., 2020. Cuminum cyminum fruits as source of luteolin-7-O-glucoside, potent cytotoxic flavonoid against breast cancer cell lines. *Natural product research*, 34(11), 1602-1606.
- Göçer, H., 2014. Sinefrin ve fenilefrin: antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve hCA II) ile asetilkolin esteraz enzimi üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Göçer, H., Gülçin, İ., 2011. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): Correlation of structure and antioxidant properties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62, 821-825.
- Gülçin, İ., 2005b. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56(7), 491-499.
- Gülçin, İ., 2006b. Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine. *Life Sciences*, 78, 803-811.
- Gülçin, İ., 2007. Comparison of in vitro antioxidant and antimicrobial activities of L-Tyrosine and L-Dopa. *Amino Acids*, 32(3), 431-438.
- Gülçin, İ., 2008. Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23, 871-876.
- Gülçin, İ., 2009. Antioxidant activity of L-Adrenaline: An activity-structure insight. *Chemico-Biological Interaction*, 179, 71-80.
- Gülçin, İ., 2010. Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(1), 210-218.

- Gülçin, İ., 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391.
- Gülçin, İ., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gülçin, İ., Alici, H.A., Cesur, M., 2005a. Determination of in vitro antioxidant and anti radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53, 281-285.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H., 2023. DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Alici, H.A., Elmastaş, M., Büyükokuroğlu M.E., 2004. *In vitro* antioxidant properties of morphine. *Pharmacological Research*, 49, 59-66.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Boyer, L., 2006a. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research and Technology*, 223, 759-767.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A., Chea, A., Topal, F., 2009. Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stepna rotunda*: cepharantine and fangchinoline. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25(1), 44-53.
- Gülçin, İ., Gören, A.C., Taslimi, P., Alwasel, H.S., Kılıç, Ö., Bursal, E., 2020. Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of Anatolian pennyroyal (*Mentha pulegium*)- analysis of its polyphenol contents by LC-MS/MS. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101441.
- Gülçin, İ., Kaya, R., Goren, A.C., Akincioglu, H., Topal, M., Bingol, Z., Alwasel, S., 2019. Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1511-1526.
- Gülçin, İ., Taslimi, P., Aygün, A., Sadeghian, N., Bastem, E., Kufrevioglu, Ö.İ., Şen, F. 2018. Antidiabetic and antiparasitic potentials: Inhibition effects of some natural antioxidant compounds on α -glycosidase, α -amylase and human glutathione S-transferase enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 741-746.
- Halliwell, B., 1991. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *The American Journal of Medicine*, 91(3), 14-22.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Inci, H., Izol, E., Yilmaz, M. A., İlkaya, M., Bingöl, Z., & Gülçin, I., 2023. Comprehensive phytochemical content by LC/MS/MS and anticholinergic, antiglaucoma, antiepilepsy, and antioxidant activity of Apilarnil (Drone Larvae). *Chemistry & Biodiversity*, 20(10), e202300654.
- Isidorov, V., Bagan, R., Bakier, S., Swiecicka, I., 2015. Chemical composition and antimicrobial activity of Polish herb honeys. *Food Chemistry*, 171, 84-88.
- Izol, E., 2016. Bazı *Allium* (Yabani Sarımsak) türlerinin aflatoksin, ağır metal ve sekonder metabolit içeriklerinin ICP-MS ve LC-MS/MS ile belirlenmesi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır

- İzol, E., Temel, H., Yılmaz, M. A., Yener, I., Olmez, O. T., Kaplaner, E., ... & Ertas, A., 2021. A detailed chemical and biological investigation of twelve *Allium* species from Eastern Anatolia with chemometric studies. *Chemistry & Biodiversity*, 18(1), e2000560.
- İmdat, A., Karahalil, F.Y., Supuran, C.T., 2016. Investigation of the inhibitory properties of some phenolic standards and bee products against human carbonic anhydrase I and II. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31,119-124.
- İzol, E., 2023a. The Place of Bee Products in Functional Medicine. In *Functional Medicine Part 2*, ed. Haspolat Y.K., Atlı A., Aşır F., Orient Publications, 11-16. ISBN: 978-625-6893-11-5.
- İzol, E., 2023b. Phytochemicals in Honey and Health Effects. In *Honeybees, Plants and Health*, ed. Koçyiğit M., İzol E., Haspolat Y.K., Orient Publications, 85-96. ISBN : 978-625-6598-03-4
- İzol E., 2023c. A Miraculous Bee Product:Propolis. In *Functional Medicine-Part 5*, ed. Haspolat Y.K., Atabay A., Aşır F., Orient Publications, 15-24. ISBN:978-625-6893-62-7.
- İzol, E., 2021. Yenilikçi Arı Ürünleri ve Biyolojik Önemleri. In *Tarım Uygulamalarında Yenilikçi Yaklaşımlar*, ed. İnci H., Kökten K., Iksad Publications, 77–116.
- İzol, E. 2022. Arı Ürünlerinin Sağlıklı Beslenmedeki Önemi. In *Sağlıklı Yaşam ve Beslenme*, ed. Haspolat Y.K., Ertuğrul S., Orient Publications, 313-323. ISBN:978-605-2945-6-2.
- İzol, E. & Bengü, A.Ş., 2022. Apiterapi ve Klinik Uygulamalar. In *Sağlık Bilimlerinde İnovatif Yöntemler, Teoriler ve Uygulamalar*, ed. Bengü A.Ş., İzol E., Iksad International Publishing House,1, 21, ISBN:978-625-8213-40-9.
- İzol, E., Çağlayan, C., 2023. Protective Effects of Royal Jelly on Heavy Metal Toxicity. In *The Significance of Bee Products in Health*, ed. İzol E., Haspolat Y.K., Gülçin İ., Orient Publications, 1-8. ISBN: 978-625-6893-27-6.
- İzol, E., Gülçin, İ., Yılmaz, M.A., 2023a. Health Effects of Honey and Honey Sherbet with Spiritual and Scientific Sources. In *Functional Foods*, ed. Haspolat Y.K., Kavak V., Asena M., Orient Publications, 89-95. ISBN : 978-625-6893-99-3.
- İzol, E.,&İzol, İ., 2022. Arı Ürünlerinin Spektroskopik Yöntemlerle Metal Konsantrasyonlarının Belirlenmesi ve Çevreye Etkileri. In *Tarımsal Üretimde, Tarımsal Kirliliğin Ayak İzi*, ed. Kökten K., İnci Ş., Iksad International Publishing House, 1, 209–230. ISBN: 978-625-8405-32-3.
- İzol, E., Yapıcı, İ., 2023a. Bioactive Phenolic Content of Bee Bread. In *3rd International Black Sea Modern Scientific Research Congress Full TextsBook* p:1109-1114, ISBN - 978-625-367-025-2. March 9-10, Konya, Türkiye.
- İzol, E., Yapıcı, İ., 2023b. Effect of α -Glucosidase and α -Amylase Enzymes on Diabetes. In *6. International Marmara Scientific Research and Innovation Congress Book* p:234-241, ISBN: 978-625-367-375-8. October 07-08, İstanbul, Türkiye
- İzol, E., Yapıcı, İ., Gülçin, İ., 2023b. 10-Hydroxy-2-Decenoic Acid (10-HDA) and Bioactive Components in Royal Jelly. In *Biological Activities of Honeybee Products*, ed. İzol E., Haspolat Y.K., Gülçin İ., Orient Publications, 1-9. ISBN: 978-625-6893-17-7.

- Jiang, R. W., Lau, K. M., Hon, P. M., Mak, T. C., Woo, K. S., & Fung, K. P., 2005. Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza*. *Current medicinal chemistry*, 12(2), 237-246.
- Jittrepotch, N., Ushio, H., Ohshima, T., 2006. Effects of EDTA and a combined use of nitrite and ascorbate on lipid oxidation in cooked Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*) during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 99(1), 70-82.
- Karabulut, H., Günay, M.Ş., 2016. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4 (1), 50-59.
- Karageçili, H., İzol, E., Kireççi, E. & Gülçin, İ., 2023a. Antioxidant, antidiabetic, antiglaucoma, and anticholinergic effects of Tayfi grape (*Vitis vinifera*): A phytochemical screening by LC-MS/MS analysis. *Open Chemistry*, 21(1), 20230120.
- Karageçili, H., İzol, E., Kirecci, E., Gulcin, I., 2023b. Determination of antioxidant, anti-alzheimer, antidiabetic, antiglaucoma and antimicrobial effects of Zivzik Pomegranate (*Punicagranatum*) —A chemical profiling by LC-MS/MS. *Life*, 13, 735.
- Karageçili, H., Yılmaz, M. A., Ertürk, A., Kiziltas, H., Güven, L., Alwasel, S. H., & Gulcin, İ., 2023c. Comprehensive metabolite profiling of Berdav propolis using LC-MS/MS: Determination of antioxidant, anticholinergic, antiglaucoma, and antidiabetic effects. *Molecules*, 28(4), 1739.
- Karahan, D., Yurt, B., & Güven, E. Ç., 2023. Investigation of the effect of creamed honey production process on the sugar profile of honey. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 12(2), 76-81.
- Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2014. *Biyokimya*. Aktif Yayınevi, 643s, Erzurum.
- Kılıç A., S., & Aydemir, M. E., 2022. Determination of antioxidant capacities with the phenolic and flavonoid contents of royal jelly mixtures. *Bee Studies*, 14(1), 9-15.
- Koçancı, F.G., Aslım, B., 2016. Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas Journal of Agriculture and Life Science*, 6(1), 19-35.
- Kohen, R., Beit-Yannai, E., Berry, E. M. ve Tirosh, O., 1999. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry. *Methods in Enzymology*, 300, 285-296.
- Kolaylı, S., Birinci, C., Kara, Y., Ozkok, A., Samancı, A. E. T., Sahin, H., & Yildiz, O., 2023. A melissopalynological and chemical characterization of Anatolian propolis and an assessment of its antioxidant potential. *European Food Research and Technology*, 249(5), 1213-1233.
- Lee Y.K., Bone N.D., Streg A.K., Jelinek D.F., Kay N.E., 2004. VEGF receptor phosphorylation status and apoptosis is modulated by a green tea component, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in B cell chronic lymphocytic leukemia, *Blood* 104, 788–794.
- Lee, S., Decker, E.A., Faustman, C., Mancini, R.A., 2005. The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n-3 oil fortified ground beef patties. *Meat Science*, 70(4), 683-689.
- Lewoyehu, M., & Amare, M., 2019. Comparative assessment on selected physicochemical parameters and antioxidant and antimicrobial activities of honey samples from

- selected districts of the amhara and tigray regions, Ethiopia. *International Journal of Food Science*, 2019.
- Liu, F., Ooi, V.E., Chang, S.T., 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sciences*, 60(10), 763-771.
- Liu, R., Xu, Y., Chang, M., Tang, L., Lu, M., Liu, R., Wang, X., 2021. Antioxidant interaction of α -tocopherol, γ -oryzanol and phytosterol in rice bran oil. *Food Chemistry*, 343, 128431.
- Maalik, A., Bukhari, S. M., Zaidi, A. S. M. A., Shah, K. H., & Khan, F. A., 2016. Chlorogenic acid: a pharmacologically potent molecule. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 73(4), 851-4.
- Mani, R., & Natesan, V., 2018. Chrysin: Sources, beneficial pharmacological activities, and molecular mechanism of action. *Phytochemistry*, 145, 187-196.
- Mărgăoan, R., Topal, E., Balkanska, R., Yücel, B., Oravec, T., Cornea-Cipcigan, M., & Vodnar, D. C., 2021. Monofloral honeys as a potential source of natural antioxidants, minerals and medicine. *Antioxidants*, 10(7), 1–48.
- Marshall, S., Gu, L., Schneider, K.R., 2015. Health benefits and medicinal value of honey. *Ifas Extension*, University of Florida.
- Mato, I., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J., & Sancho, M. T., 2006. Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(5), 1541-1550.
- Miller, H.E., 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 48, 91.
- Milek, M., Mołoń, M., Kula-Maximenko, M., Sidor, E., Zagula, G., & Dżugan, M., 2023. Chemical composition and bioactivity of laboratory-fermented bee pollen in comparison with natural bee bread. *Biomolecules*, 13(7), 1025.
- Min, Z., Tang, Y., Hu, X. T., Zhu, B. L., Ma, Y. L., Zha, J. S., ... & Chen, G. J., 2018. Cosmosiin increases ADAM10 expression via mechanisms involving 5'UTR and PI3K signaling. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 198.
- Mulugeta, M., & Belay, A., 2022. Comb honey and processed honey of *Croton macrostachyus* and *Schefflera abyssinica* honey differentiated by enzymes and antioxidant properties, and botanical origin. *Heliyon*, 8(5), e09512.
- Naidu, K.A., 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2(1), 1-10.
- Nar, M., 2011. Rozmarinik asitin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I VE hCA-II) üzerine inhibisyon etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Oakeshott, J.G., Claudianos, C., Russell, R.J., Robin, G.C., 1999. Carboxyl/cholinesterases: a case study of the evolution of a successful multigene family. *Bioessays*, 21(12), 1031-1042.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.
- Official Journal of the European Communities., 2002. Council Directive 2001/110/EC of December 2001 relating to honey. *Off J Euro Comm*, L10: 47-52.

- Ozidal, T., Ceylan, F. D., Eroglu, N., Kaplan, M., Olgun, E. O., & Capanoglu, E., 2019. Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. *Food Research International*, 122, 528-536.
- Ożarowski, M., & Karpiński, T. M., 2023. The effects of propolis on viral respiratory diseases. *Molecules*, 28(1), 359.
- Packer, L., 1991. Protective role of vitamin E in biological systems. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(4), 1050-1055.
- Panglossi, H.V., 2006. *Antioxidants: New research*. Nova Science Publishers, 9-13p, New York, USA.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M., Contado, J.L., 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologiae Technologia*, 40, 97-106.
- Perveen, S., Orfali, R., Al-Taweel, A. M., Khan, A., Alghanem, B., & Shaibah, H., 2019. Simultaneous identification of phenolic and flavonoid contents in bee pollen by HPLC-ESI-MS data. *Biomedical Research*, 30, 770-774.
- Phillips, D.C., 1966. The three-dimensional structure of an enzyme molecule. *Scientific American*, 215(5), 78-93.
- Pope, C., Karanth, S., Liu, J., 2005. Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: uses and misuses of a common mechanism of action. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19, 433-446.
- Prior, R.L., Cao, G., 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35(4), 588-592.
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Rahaman, M. M., Hossain, R., Herrera- Bravo, J., Islam, M. T., Atolani, O., Adeyemi, O. S., ... & Sharifi- Rad, J., 2023. Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update. *Food Science & Nutrition*, 11(4), 1657-1670.
- Raina, P., Santaguida, P., Ismaila, A., Patterson, C., Cowan, D., Levine, M., Booker, L., Oremus, M., 2008. Effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for treating dementia: Evidence review for a clinical practice guideline. *Annals of Internal Medicine*, 148(5), 379-397.
- Ramadan, M. F., & Al-Ghamdi, A., 2012. Bioactive compounds and healthpromoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 39-52.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rivera-Yañez, N., Ruiz-Hurtado, P. A., Rivera-Yañez, C. R., Arciniaga-Martínez, I. M., Yopez-Ortega, M., Mendoza-Arroyo, B., ... & Nieto-Yañez, O., 2023. The role of propolis as a natural product with potential gastric cancer treatment properties: A systematic review. *Foods*, 12(2), 415.
- Rotondi, G., Guglielmi, P., Carradori, S., Secci, D., De Monte, C., De Filippis, B., ... & Supuran, C. T., 2019. Design, synthesis and biological activity of selective hCAs inhibitors based on 2-(benzylsulfinyl) benzoic acid scaffold. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 1400-1413.

- Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., ... & Martins, N., 2019. The therapeutic potential of apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1305.
- Sarma, A.D., Mallick, A.R., Ghosh, A.K., 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(3), 185-192.
- Seraglio, S. K. T., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O., 2019. An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. *Food Research International*, 119, 44-66.
- Sharp, E.N., Rupper, P., Miller, T.A., 2008. The structure and spectra of organic peroxy radicals. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10(27), 3955-3981.
- Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., Jin, B., 2022. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 132531.
- Shivakumar, A., Kumar, M.S.Y., 2018. Critical review on the analytical mechanistic steps in the evaluation of antioxidant activity. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48(3), 214-236.
- Singh, S., Gupta, P., Meena, A., & Luqman, S., 2020. Acacetin, a flavone with diverse therapeutic potential in cancer, inflammation, infections and other metabolic disorders. *Food and Chemical Toxicology*, 145, 111708.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants*, 299, 152-178.
- Song, X., Wang, Y., & Gao, L., 2020. Mechanism of antioxidant properties of quercetin and quercetin-DU complex. *Journal of molecular modeling*, 26, 1-8
- Sonmez, E., Kekecoglu, M., Sahin, H., Bozdeveci, A., & Karaoglu, S. A., 2023. Comparing the biological properties and chemical profiling of chestnut bee pollen and bee bread collected from Anatolia. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-11.
- Supuran, C. T., 2008. Carbonic anhydrases-an overview. *Current Pharmaceutical Design*, 14(7), 603-614.
- Supuran, C.T., Scozzafava, A., 2001. Carbonic anhydrase inhibitors. *Current medicinal chemistry-immunology, Endocrine Metabolic Agents*, 1(1), 61-97.
- Şehitoğlu, M.H., 2012. Bazı fenolik doğal bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I VE hCA-II) üzerine inhibisyon etkilerinin incelenmesi. *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.*
- Taslimi, P., 2017. Olivetol'un antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve bazı metabolik enzimler üzerinde inhibisyon etkilerinin incelenmesi. *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum*
- Taslimi, P., Caglayan, C., Gulcin, İ., 2017. The impact of some natural phenolic compounds on carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α - glycosidase enzymes: An antidiabetic, anticholinergic, and antiepileptic study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(12), e21995.
- Taslimi, P., Gülçin, İ., 2017. Antidiabetic potential: *In vitro* inhibition effects of some natural phenolic compounds on α - glycosidase and α - amylase enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(10), e21956.

- Tao, Y., Zhang, Y., Cheng, Y., Wang, Y., 2013. Rapid screening and identification of α -glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR. *Biomedical Chromatography*, 27(2), 148-155.
- Tubaro, F., Ghiselli, A., Rapuzzi, P., Maiorino, M., Ursini, F., 1998. Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 1228-1234.
- Turhan, M., İzol, E., 2023. Healing Honey and Harmful Pesticides. In 2. International Selçuk Scientific Researches Congress Book p:321-328, ISBN: 978-625-367-391-8, October 21-22, Konya, Türkiye
- Valkonen, M. and Kuusi, T., 1997. Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. *Journal of Lipid Research*, 38, 823-833.
- VanDer Meulen, J.H., McArdle, A., Jackson, M.J., Faulkner, J.A., 1997. Contraction-induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats: the role of vitamin E. *Journal Applied Physiology*, 83(3), 817-823.
- Verpoorte, J.A., Mehta, S., Edsall, J.T., 1967. Esterase activities of human carbonic anhydrase B and C. *Journal of Biological Chemistry*, 242, 147-154.
- Wayner, D.D.M., Burton, G.W., Ingold, K.U. ve Locke, S., 1985. Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters*, 187, 33-37.
- Wei, Y.H., Pang, C.Y., 2005. The role of mitochondria in human aging process. *Biotech International*, 17, 8-13
- Whitehead, T.P., Thorpe, G.H.G. ve Maxwell, S.R.J. 1992. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analytica Chimica Acta*, 266, 265-277.
- Winston, G.W., Regoli, F., Dugas, A.J., Fong, J.H. ve Blanchard, K.A., 1998. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biology and Medicine*, 24, 480-493.
- Wu, D., Cederbaum, A.I., 2003. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Research Health*, 27(4), 277.
- Xiao, D., Lew, K. L., Kim, Y. A., Zeng, Y., Hahm, E. R., Dhir, R., & Singh, S. V., 2006. Diallyl trisulfide suppresses growth of PC-3 human prostate cancer xenograft in vivo in association with Bax and Bak induction. *Clinical Cancer Research*, 12(22), 6836-6843.
- Xiong, X., Tang, N., Lai, X., Zhang, J., Wen, W., Li, X., ... & Liu, Z., 2021. Insights into amentoflavone: A natural multifunctional biflavonoid. *Frontiers in pharmacology*, 12, 768708.
- Yapıcı, İ., İzol, E., 2023. Effects of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes on human memory. In 6. International Marmara Scientific Research and Innovation Congress Book p:242-249, ISBN: 978-625-367-375-8. October 07-08, İstanbul, Türkiye
- Yapıcı İ., İzol E., Tarhan, A., 2023a. Significant Bioactive Components in Bee Products. In *Bee and Bee Products*, ed. İzol E., Koçyiğit M., Haspolat Y.K., Orient Publications, 1-15. ISBN: 978-625-6893-29-0.

- Yapıcı, İ., İzol, E., Gülçin, İ., 2023b. The Role of Enzymes in Honey Quality. In Safety of Bee Products, ed. İzol E., Haspolat Y.K., Orient Publications, 1-9. ISBN: 978-625-6893-14-6.
- Yilmaz, M. A., 2020. Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation. *Industrial Crops and Products*, 149, 112347.
- Yilmaz, M. A., Cakir, O., İzol, E., Tarhan, A., Behcet, L., & Zengin, G., 2023. Detailed phytochemical evaluation of a locally endemic species (*Campanula baskilensis*) by LC- MS/MS and its in- depth antioxidant and enzyme inhibitory activities. *Chemistry & Biodiversity*, e202301182.
- Yost, E. E., Galizia, A., Kapraun, D. F., Persad, A. S., Vulimiri, S. V., Angrish, M., ... & Druwe, I. L., 2021. Health effects of naphthalene exposure: a systematic evidence map and analysis of potential considerations for dose–response evaluation. *Environmental health perspectives*, 129(7), 076002.
- Zulhendri, F., Chandrasekaran, K., Kowacz, M., Ravalía, M., Kripal, K., Fearnley, J., & Perera, C. O., 2021. Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: A review. *Foods*, 10(6), 1360.

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Ebubekir İZOL
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
EBmail:	
Eğitim	
Lise:	80. Yıl Cumhuriyet Lisesi
Lisans:	Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya
Yüksek lisans:	Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı (2016)
Doktora:	Atatürk Üniversitesi (2020-2023)
Yabancı Dil Bilgisi	
	İngilizce: İyi
Yayınlar	
SCI-Expanded Yayınlar	
İnci, H., İzol, E. , Yılmaz, M. A., İlkaya, M., Bingöl, Z., Gülçin, İ., 2023. Comprehensive chemical content by LC-MS/MS and anticholinergic, antiglaucoma, antiepilepsy, antioxidant activity of Apilarnil (Drone Larvae). <i>Chemistry&Biodiversity</i> , e202300654.	
Yılmaz, M.A., Cakir, O., İzol, E. , Tarhan, A., Behçet, L., Zengin, G. (2023). Detailed phytochemical evaluation of a locally endemic species (Campanula baskilensis) by LC-MS/MS and its in-depth antioxidant and enzyme inhibitory activities. <i>Chemistry&Biodiversity</i> , e202301182.	
Karageçili, H., İzol, E. , Kireççi, E. & Gülçin, İ., 2023. Antioxidant, antidiabetic, antiglaucoma, and anticholinergic effects of Tayfi grape (<i>Vitis vinifera</i>): A phytochemical screening by LC-MS/MS analysis. <i>Open Chemistry</i> , 21(1), 20230120.	
Karageçili, H., İzol, E. , Kireççi, E., Gulcin, I., 2023. Determination of antioxidant, antibalzheimer, antidiabetic, antiglaucoma and antimicrobial effects of Zivzik Pomegranate (<i>Punicagranatum</i>) —A Chemical Profiling by LC-MS/MS).	

Life, 13, 735.

Gulsoy, E., Tarhan, A., **İzol, E.**, Dogru Cokran. B., Simsek. M., 2022. A research on chemical, mineral and fatty acid compositions of two almond cultivars grown as organic and conventional in south eastern Turkey. *Grasas y Aceites*, 73(3), e477.

Bursal, E., Yılmaz, M. A., **İzol, E.**, Türkan, F., Atalar, M. N., Murahari, M., ... & Ahmad, M., 2021. Enzyme inhibitory function and phytochemical profile of *Inula discoidea* using in vitro and in silico methods. *Biophysical Chemistry*, 277, 106629.

Kandemir, F. M., Caglayan, C., Darendelioğlu, E., Küçükler, S., **İzol, E.**, & Kandemir, Ö., 2021. Modulatory effects of carvacrol against cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity by molecular targeting regulation. *Life Sciences*, 277, 119610.

İzol, E., Temel, H., Yılmaz, M. A., Yener, I., Olmez, O. T., Kaplaner, E., ... & Ertas, A., 2021. A detailed chemical and biological investigation of twelve *Allium* species from eastern Anatolia with chemometric studies. *Chemistry&Biodiversity*, 18(1), e2000560.

Uluslararası Yayınlar

İzol, E., Çiçek, İ., Behçet, L., Kaya, E. & Tarhan, A., 2023. Trace element analysis of some medicinal and aromatic plant species by ICP-MS. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 12(1), 21-29. DOI: 10.46810/tdfd.1113610.

İzol, E. & İnik, O., 2022. Topraktaki ağır metallerin güncel analiz yöntemleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 116-120. DOI: 10.31590/ejosat.1111496.

İzol, E., Kaya, E., & Karahan, D., 2021. "Investigation of some metals in honey samples produced in different regions of Bingöl province by ICP-MS. *Mellifera*, 21(1), 1–17.

Uluslararası Kitap Editörlükleri

1. HONEYBEES, PLANTS AND HEALTH, Editör, Orient Publications, 20.10.2023.
2. PROGRESS IN AQUACULTURE, Editör, Orient Publications, 20.10.2023.
3. MEDICINAL, AROMATIC PLANTS AND PHYTOCHEMICALS, Editör, Orient Publications, 25.09.2023.
4. BEE AND BEE PRODUCTS, Editör, Orient Publications, 12.05.2023.
5. THE SIGNIFICANCE OF BEE PRODUCTS IN HEALTH, Editör, Orient Publications, 12.05.2023.
6. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF HONEYBEE PRODUCTS, Editör, Orient Publications, 28.04.2023.

7. SAFETY OF BEE PRODUCT, Editör, Orient Publications, 28.04.2023.
8. SAĞLIK BİLİMLERİNDE İNOVATİF YÖNTEMLER, TEORİLER VE UYGULAMALAR, Editör, Iksad Publishing House, 03.10.2022.

Projeler

1. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve Yüksek Öğretim Kurumu eş güdümlünde “Bölgesel Kalkınma Odaklı Misyon Farklılaşması ve İhtisaslaşması” Programı Bingöl Üniversitesi “Tarım ve Havza Bazlı Kalkınma” Alanı, 2017K214000, “PİKOM-KP.2022.001 *Sürdürülebilir, Tekrarlanabilir ve Güvenilir Analiz Stratejilerinin Geliştirilmesi*” (11/05/2022-10/12/2024). **Araştırmacı** (Ulusal).
2. TÜBİTAK 1002, *Ratlarda Vinkristin ile Oluşturulan Karaciğer Toksisitesi Üzerine Bingöl Arı Sütünün Pi3k/Akt/Mtor Sinyal Yolağı Aracılı Endoplazmik Retikulum Stresi, Apoptosis ve Otofaji Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması* (01/04/2022-01/04/2023). **Araştırmacı** (Ulusal).
3. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve Yüksek Öğretim Kurumu eş güdümlünde “Bölgesel Kalkınma Odaklı Misyon Farklılaşması ve İhtisaslaşması” Programı Bingöl Üniversitesi “Tarım ve Havza Bazlı Kalkınma” Alanı, 2017K214000, “PİKOM-Arı.2019.004 *Pikom projelerinde kullanılacak merkezi laboratuvar cihazlarının bakım, onarım ve eğitim hedeflerinin gerçekleştirilmesi*” (05/07/2019-22/11/2022). **Araştırmacı** (Ulusal).
4. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve Yüksek Öğretim Kurumu eş güdümlünde “Bölgesel Kalkınma Odaklı Misyon Farklılaşması ve İhtisaslaşması” Programı Bingöl Üniversitesi “Tarım ve Havza Bazlı Kalkınma” Alanı, 2017K214000, “PİKOM-Arı.2019.012 *Bingöl Bölgesinden Elde Edilen Propolisin Enkapsülasyon ve Taşınımı için NanoBMikro Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi ve Karakterize Edilmesi*” (24/12/2019-24/06/2023). **Araştırmacı** (Ulusal).
5. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve Yüksek Öğretim Kurumu eş güdümlünde “Bölgesel Kalkınma Odaklı Misyon Farklılaşması ve İhtisaslaşması” Programı Bingöl Üniversitesi “Tarım ve Havza Bazlı Kalkınma” Alanı, 2017K214000, “PİKOM-KP.2021.003 *Bingöl'de Üretilen Balların Biyoyararlılık düzeyinin belirlenmesi ve Krem Bal Üretimi*” (22.04.2021-21.04.2022). **Araştırmacı** (Ulusal).
6. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve Yüksek Öğretim Kurumu eş güdümlünde “Bölgesel Kalkınma Odaklı Misyon Farklılaşması ve İhtisaslaşması” Programı Bingöl Üniversitesi “Tarım ve Havza Bazlı Kalkınma” Alanı, 2017K214000, "PİKOM-KP.2021.002 *Bingöl Arı Ürünleri ile Katma Değeri Yüksek Alternatif Ürünlerin Üretimi*" (22/04/2021-13/03/2023). **Araştırmacı** (Ulusal).
7. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve Yüksek Öğretim Kurumu eş güdümlünde “Bölgesel Kalkınma Odaklı Misyon Farklılaşması

ve İhtisaslaşması” Programı Bingöl Üniversitesi “Tarım ve Havza Bazlı Kalkınma” Alanı, 2017K214000, “PİKOM-Arı.2020.001 Bingöl Üniversitesi Modern Arıcılık Kompleksi (BÜMAK)” (2019-2023). **Proje Uzmanı** (Ulusal).

8. Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi (BAP). *Zivzik narı (Punica granatum L.) ve Tayfi üzümü (Vitis vinifera L.)’nin antioksidan, antiBAzheimer, antidiyabetik ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi.* (01/09/2021-31/08/2022). **Araştırmacı** (Ulusal).
9. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve Yüksek Öğretim Kurumu eş güdümlünde “Bölgesel Kalkınma Odaklı Misyon Farklılaşması ve İhtisaslaşması” Programı Bingöl Üniversitesi “Tarım ve Havza Bazlı Kalkınma” Alanı, 2017K214000, “PİKOM-KP.2021.001 Bingöl’de Yerel Arıcılık Potansiyelinin Verim, Kalite ve Kışlatma Açısından Değerlendirilmesi: Örnek Model Uygulamalar” (01/01/2021–01/01/2024). **Proje Uzmanı** (Ulusal).
10. TÜBİTAK 1001, “*Pistacia lentiscus L un in vitro Sürgün Kallus ve Hücre Süspansiyon Kültürlerinde Antikanser Aktivite Gösteren Kimyasal Bileşenlerin Üretilmesi*”. (15/04/2015-15/04/2018) **Bursiyer** (Ulusal).
11. Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), “*Bazı Allium Türlerinin Aflatoksin, Ağır Metal ve Sekonder Metabolit İçeriklerinin ICP-MS, LC-MS/MS ve HPLC ile Belirlenmesi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi*”. (10/02/2014-08/04/2016) **Araştırmacı** (Ulusal).

**ÖZ
GEÇ
MİŞ**