



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI

**KOVAN ÖNÜ VE KOVAN İÇİ ARI ZEHİRİ ÜRETİM
TEKNİKLERİNİN ZEHİR KALİTESİ VE MİKTARI
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gökhan AYDOĞDU
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

BURSA-2022

GÖKHAN AYDOĞDU FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

2022



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

KOVAN ÖNÜ VE KOVAN İÇİ ARI ZEHİRİ ÜRETİM
TEKNİKLERİNİN ZEHİR KALİTESİ VE MİKTARI
ÜZERİNE ETKİLERİ

Gökhan AYDOĞDU
Orcid:
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ

BURSA-2022

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum
“Kovan Önü ve Kovan İçi Arı Zehiri Üretim Tekniklerinin Zehir Kalitesi ve Miktarı
Üzerine Etkileri” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen
bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve
yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve
beyan ederim.

Gökhan Aydoğdu

03 / 05 / 2022

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Yüksek Lisans Öğrencisi Gökhan AYDOĞDU tarafından hazırlanan “Kovan Önü ve Kovan İçi Arı Zehiri Üretim Tekniklerinin Zehir Kalitesi ve Miktarı Üzerine Etkileri” konulu Doktora tezi 16/05/2022 günü, 11:00-14:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği ile kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER

TEZ KONTROL VE BEYAN FORMU

06/05/2022

Adı Soyadı: Gökhan AYDOĞDU

Anabilim Dalı: Veteriner-Farmakoloji ve Toksikoloji

Tez Konusu: Kovan Önü ve Kovan İçi Arı Zehiri Üretim Tekniklerinin Zehir Kalitesi ve Miktarı Üzerine Etkileri.

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR AÇIKLAMA
Tezin Boyutları	√	<input type="checkbox"/>
Dış Kapak Sayfası	√	<input type="checkbox"/>
İç Kapak Sayfası	√	<input type="checkbox"/>
Kabul Onay Sayfası	√	<input type="checkbox"/>
Sayfa Düzeni	√	<input type="checkbox"/>
İçindekiler Sayfası	√	<input type="checkbox"/>
Yazı Karakteri	√	<input type="checkbox"/>
Satır Aralıkları	√	<input type="checkbox"/>
Başlıklar	√	<input type="checkbox"/>
Sayfa Numaraları	√	<input type="checkbox"/>
Eklerin Yerleştirilmesi	√	<input type="checkbox"/>
Tabloların Yerleştirilmesi	√	<input type="checkbox"/>
Kaynaklar	√	<input type="checkbox"/>

DANIŞMAN ONAYI

Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ

İmza:

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	II
KABUL ONAY	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VI
İNGİLİZCE ÖZET	VII
1. GİRİŞ	1
1.1. Bal arıları	1
1.2. Arı zehiri	1
1.2.1. Arı zehiri toplama yöntemleri ve kalite kontrolü	2
1.2.2. Arı zehiri ürünleri ve kullanımı	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Arı ürünleri	6
2.1.1. Arı zehiri ve apiterapi açısından önemi	6
2.1.1.1. Kimyasal bileşimi ve analizi	8
2.1.1.2. Toplama ve muhafaza yöntemleri	9
2.1.1.3. Arı zehiri kalitesi	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Standart ve kimyasal maddeler	13
3.2. Numuneler ve toplanması	13
3.3. HPLC analizi ve numunelerin hazırlanması	21
3.4. Kalibrasyon eğrileri ve kromatogramlar	22
3.5. İstatistikî analiz	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	30
6. KAYNAKLAR	36
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	41
8. TEŞEKKÜR	42
9. ÖZGEÇMİŞ	43

ÖZET

Bu çalışmada Anadolu ırkı bal arısı (*Apis mellifera anatoliaca*) kolonilerinden, kovan önünden ve kovan içinden arı zehiri toplanması, toplanan arı zehirlerinin genel miktarları ile apamin, fosfolipaz A2 ve melittin miktarlarının belirlenmesi ve değerlendirilmesi amaçlandı. Bir arı çiftliğinden kovan önünden sekiz ve içinden 12 arı zehiri örneği, iki farklı cihazla, öğle (13:00-14:00 arası) ve akşam (17:00-18:00 arası) saatlerinde toplandı. Arı zehiri, numuneleri 280cm² (Tip I) ve 480cm² (Tip 2) toplama alanına sahip iki farklı cihazla toplandı. Arı zehirlerinin apamin, fosfolipaz A2 ve melittin analizi HPLC-DAD sistemi ile yapıldı. Her cihazın kendi içinde kovan önü ve içi ile öğle ve akşam toplanan miktarları arasında fark bulunmasına rağmen bunun istatistiki olarak önemli olmadığı belirlendi. Ancak Tip II arı zehiri toplama cihazı ile akşam toplanan numunelerin fosfolipaz A2 miktar ortalamasının öğle ortalamasından istatistiki olarak yüksek olduğu (p=0,048) tespit edildi. Pratik olması bakımından kovan içinden arı zehiri toplamanın daha avantajlı olduğu kanısına varıldı. Apamin, fosfolipaz A2 ve melittin oranlarının diğer benzer çalışma sonuçlarıyla uyumlu olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: Arı zehiri, Apamin, Fosfolipaz A2, Melittin.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF BEE VENOM PRODUCTION TECHNIQUES ON VENOM QUALITY AND AMOUNT

The aim of the study was collection of bee venom samples from front and inside of the hive in Anatolian honey bees (*Apis mellifera anatoliaca*), to determine collected bee venom amounts, analyze of the samples for apamin, phospholipase A2 and melittin, and to evaluate obtained results. Totally 20 bee venom samples were collected consist of eight of honey bee samples were collected from front of the hive and 12 bee venom samples were collected from inside of the hive. Bee venom samples were collected by two kinds of collectors that have 280cm² (Tip I) and 480cm²(Tip II) glass surface areas for bee venom collection at midday (13:00-14:00) and evening (17:00-18:00). Bee venom samples analyzed by HPLC-DAD system for apamin, phospholipase A2 and melittin. The amounts of bee venoms were different for Tip I for between front and inside of hive, and between midday and evening, but these differences were not significant. However, the phospholipase A2 amount of venom samples collected in evening with Tip II collector was higher than amount of midday and this difference was significant (p=0.048) as statistically. Apamin, phospholipase A2 and melittin results were similar with literatures results.

Key words: Bee venom, Apamin, Phosphalipase A2, Melittin.

1. GİRİŞ

1.1. Bal arıları

Bal arıları ürettikleri bal, polen, propolis ve arı zehiri gibi ürünler ve tozlaşma nedeniyle doğanın dengesinde, insan sağlığı ve insan beslenmesinde önemli bir role sahiptir. Ayrıca arı ürünleri son yıllarda apiterapi çerçevesinde birçok hastalığın tedavisinde ve tedaviye yardımcı olarak kullanılmaya başlanmıştır (Kaftanoğlu, Kumova ve Yeninar, 1992). Arılar polinasyon nedeniyle ekonomik olarak arı ürünlerinden daha fazla yararlıdır.

Bal arılarından bal, propolis, polen, arı sütü, arı ekmeği, balmumu, apilarnil, arı zehiri ve arı havası gibi ürünler elde edilir. Arı zehiri üzerinde de son yıllarda çalışmalar detaylandırılmış ve apiterapi çerçevesinde üretimi, kalite kontrolü ve kullanımıyla ilgili çalışmalar artmıştır.

1.2. Arı zehiri

Arı zehiri (bee venom, apitoksin) bir bal arısı ürünüdür. İşçi arılar tarafından, zehir iğesine bağlantılı iki bez tarafından üretilir. Kraliçe arılarda kendilerini savunmak amacıyla arı zehiri üretilmektedir. Bal arıları zehirlerini kendilerini veya kovanlarını tehdit eden diğer zararlılara karşı korunmak amacıyla üretir. Arı zehirinin tedavi amacıyla ilk olarak Uzakdoğu Asyada milattan önce II. Yüzyılda uygulanmış; özellikle Antik Mısır, Yunanistan ve Çin'de tedavi amacıyla kullanılmıştır. Hipokrat'ın da arı zehirini artrit (diz, ayak, dirsek ve parmak gibi eklemlerin yangısı) tedavisi için kullanıldığını bildirilmektedir (de Graaf ve ark., 2021).

Arı zehirinde 18'den fazla kimyasal madde bulunur. Bunlar başlıca peptid yapıya sahip melittin, apamin, adolapin, mast hücrelerinden salıverilen peptid, fosfolipaz A₂ gibi enzimler, histamin, epinefrin (adrenalin), prokamin ve serotonin gibi aminler ile çeşitli lipid, karbonhidrat ve amino asitlerdir. Arı zehiri vücutta başlıca kortizol düzeyinin artmasına neden olur. Bu nedenle arı zehiri yangılı durumlarda etkili olmaktadır ve artrit, romatizma, sırt ağrıları, bazı kanser ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Kim, 2013; de Graaf ve ark., 2021; Oruç

ve Aydoğdu, 2021). Ayrıca Parkinson hastalığına karşı da iyi geldiği bildirilmektedir (Cho ve ark., 2012).

Melittin arı zehirindeki önemli bir bileşendir. Başlıca antiinflamatuvar ve antiartrit etkiye sahiptir. Adolapin de antiinflamatuvar ve analjezik etkiye sahiptir. Apamin, astım gibi solunum yoluyla alınan alerjenlerden kaynaklanan yangıları azaltır. MCD (mast hücrelerinden salıverilen peptid) mast hücrelerinden histaminin salıverilmesini engelleyerek antialerjik etki yapar (Oruç ve Aydoğdu, 2021).

Apamin histamin, adrenalin, prokamin ve serotonin gibi maddeler sinirlerde impuls iletimi ve sinir hasarlarında iyileştirici etki yapar. Arı zehirinin de yılan, örümcek, akrep ve denizkeşanesi zehirleri gibi antitümoral etkisi vardır. Melittinden prostat ve göğüs kanseri tedavisinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Son ve ark., 2007). Melittin, karaciğer tümör hücrelerinde hücre döngüsü durmasını, büyüme inhibisyonunu ve apoptozu indükleyebilmektedir (Liu ve ark., 2008). Melittin ayrıca antiviral, antibakteriyel ve antikanser etkiye de sahiptir (Rady, Siddiqui, Rady ve Mukhtar, 2017).

Arı zehirinin antiviral etkisi ile ilgili çalışmalar pandemi (covid-19) sürecinde artmıştır. Arı zehiri ve içerdigi melittin vesicular stomatitis virus, influenza A virus, herpes simplex virüs, enterovirus-71 ve coxsackie virus gib pek çok virüse laboratuvar şartlarında etkili olduğu gösterilmiştir. Melittinin influenza A H1N1 virüsüne karşı fareleri koruduğu ortaya konmuştur. Fosfolipaz A2'de HIV virüsünün üremesini engellemektedir. Arı zehiri özellikle de kronik yangılı hastalıklarda ortaya çıkan ağrının azaltılmasında ağrı kesici etki göstermektedir. Arı zehiri, akapunktur uygulamasında antiinflamatuvar etki elde etmek amacıyla da kullanılabilmektedir (Son ve ark., 2007).

1.2.1. Arı zehiri toplama yöntemleri ve kalite kontrolü

Arı zehirinin toplanmasında en çok tercih edilen yöntem cam yüzeyi bulunan ve küçük tellerle arıları öldürmeyen, ancak uyaran ve rahatsız eden güçte elektrik akımı vererek bu camın üzerine belirli bir süre arıların zehirlerini boşaltması sağlanır. Böylece arılar zehir iğnelerini kaybetmez, arılar canlı kalır ve zehirin elde edilmesi ve toplanması pratiktir (Bogdanov, 2016; de Graaf ve ark., 2021).

Arı zehiri başlıca kovan önünden ve kovan içinden olmak üzere iki şekilde toplanır. Açık havada yani kovan önünden toplandığında zehirin suyu çabuk uçar ve zehir kristalleri şeklinde arı zehiri camın üzerinde kalır. Kovan içinde ortaya çıkacak pek çok olumsuz durum daha az gerçekleşecektir. Kovan önü ve kovan içinde toplanan zehir kristalleri kazıma aparatı ile kazınarak ham arı zehiri elde edilir. 1 g arı zehiri elde etmek için yaklaşık bir milyon arının zehiri gereklidir (Oruç ve Aydoğdu, 2021). Benzer sistemin kovan içinde toplanan cihazı günümüzde tercih edilen bir yöntemdir. Ancak kovan içinden arı zehiri toplandığında tüm kovanın stres altında kaldığı, kovan içindeki işlerin kesintiye uğrayacağı ve kovan içi sıcaklığın özellikle yaz aylarında çok fazla artacağı bildirilmektedir (de Graaf ve ark., 2021). Arı zehirinin toplamasının süre olarak 30-60 dakika arasında uygun olduğu; ilk 30 dakika da maksimum oranda arı zehiri toplandığı ve sonraki 30-60 dakika arasında %10 toplanan zehir miktarının düştüğü belirtilmektedir (de Graaf ve ark., 2021).

Arı zehiri arılığın bulunduğu bölge, arı ırkı ve mevsime göre farklılıklar gösterir. Bu nedenle zehirin protein içeriği değişebilir. Kaliteli arı zehirinin nem oranı maksimum %3 olmalıdır. Ayrıca %50-%85 protein içeriğine sahip olması gerekir, içinde arı zehiri dışında polen ve diğer istenmeyen maddeler karışmamalıdır. Zehire dışarıdan yapılacak herhangi bir katkı, kalitesini olumsuz yönde etkileyecektir. Zehir toplama, ambalajlama ve saklama koşulları da ürünün kalitesini etkilemektedir.

Toplanan arı zehirlerinde melittin, apamin ve fosfolipaz A2 gibi önemli bileşenler bakımından içerik analizleri yapılması, kalite kontrolü bakımından önemlidir. Arı zehiri numuneleri arasında içerik miktarlarında farklılıklar olabilmektedir. Özellikle analizi olmayan arı zehiri numunelerinde tağşiş de olabilmektedir.

1.2.2. Arı zehiri ürünleri ve kullanımı

Arı zehiri genellikle kristal halde bulunur ve saf olarak satılır. Ancak direk arıdan elde edilen ekstraktı, sıvı arı zehiri ve enjektabl şekilleri de bulunabilir. Arı zehiri üreticisi arıcıların temiz şartlarda çalışması ve arı zehirlerini hijyenik ve soğuk şartlarda saklaması gerekmektedir. Arı zehiri steril distile su ve serum fizyolojik ile veya bazı yağlarla enjeksiyonluk formda hazırlanır. Bu enjektabl preparatlar lisanslı

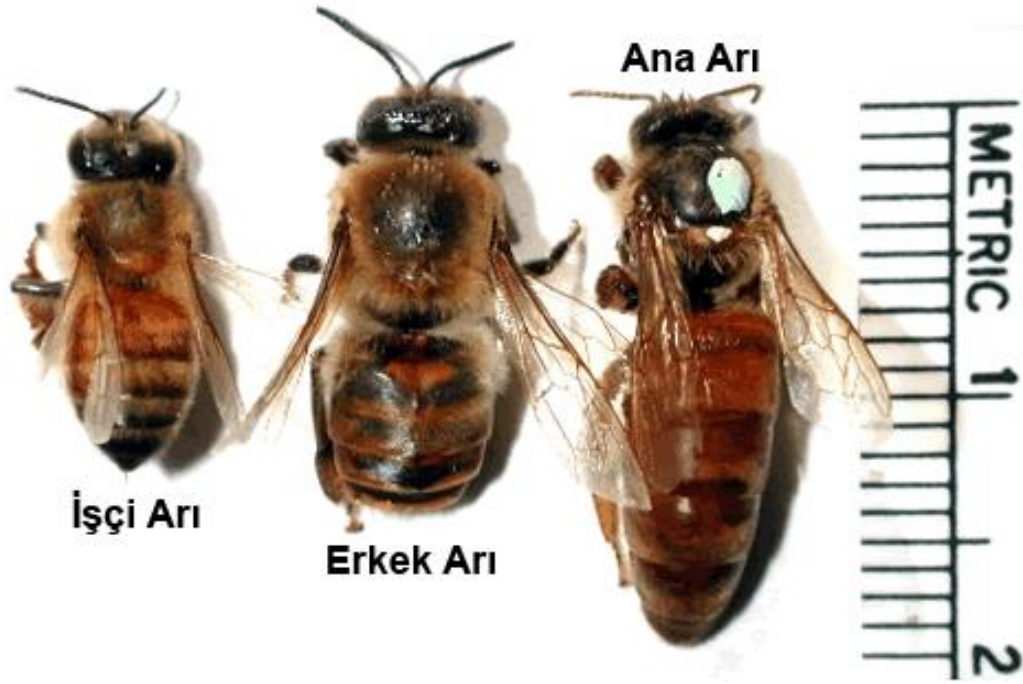
laboratuvarlarda steril olarak ve aktif bileşenlerin miktarları ayarlanarak hazırlanır. Kremeleri eklem yangıları bulunan yerlere ve kozmetik amaçlı olarak dışarıdan lokal olarak uygulanır. Arı zehiri ve glukozamin birlikte glukozamin vücutta kıkırdak yapısının korunmasına yardımcı olur. Özellikle yaşlı insanlarda glukozamin düzeyleri azalır ve eklem kıkırdakları zarar gördüğü için eklem yangıları ve buna bağlı ağrılar artar. Eklem kıkırdak oluşumuna katkıda bulunduğu için bu tür eklem yangılarında kombinasyonlar daha fazla tercih edilir. Arı zehiri kozmetikte arı zehiri maskı, deri rengini açmak, derideki benek ve lekeleri azaltmak için kullanılır. Deriyi canlandırmak amacıyla arı zehiri serumu ve bunların uçucu yağlarla birlikte cildi canlandırıcı ürünleri bulunmaktadır. Arı zehiri ve Manuka balı birlikte cildi sıkılaştırmak ve canlandırmak amacıyla kullanılmaktadır (Oruç ve Aydoğdu, 2021).

Türkiye dünyada kovan sayısı bakımından ikinci sırada yer almaktadır. Ancak Türkiye’de bilimsel olarak arı zehiriyle ilgili bilimsel çalışmalar son yıllarda hız kazanmış ve bu konuda uzman araştırmacılar yetiştirilmeye çalışılmaktadır (Şirin ve ark., 2017; Akay, 2018; Samancı, 2019; Samancı ve Kekeçoğlu, 2019; Çaprazlı ve Kekeçoğlu, 2021). Kaliteli arı zehiri üretimi ve bu konuda uzmanların yetiştirilmesi ile Türkiye arı zehiri üretimi konusunda söz sahibi olabilir. Böylece hem ülke ekonomisine hem de insan sağlığına katkı sağlanabilir. Arı zehiri içeriği ile ilgili çalışmalar artık arı zehirinin daha saf olarak elde edilmesi, içinde başta melittin olmak üzere farmakolojik etkiye sahip içeriklerin miktarlarının mümkün olduğunca bilinmesi ve arı zehiri içindeki alergen maddelerin ayrıştırılarak standard ve daha güvenli arı ürünlerinin elde edilmesi yönündedir (Lee ve ark., 2018).

Bu çalışma ile farklı arılıklarda, kovan önü ve kovan içinden arı zehiri toplama yöntemlerinin arı zehiri miktarı üzerine etkileri ve toplanan arı zehirlerinin apamin, fosfolipaz A₂ ve melittin analizlerinin yapılarak kalite açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın tamamlanmasıyla Türkiye’de arı zehiri toplama yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları, daha kaliteli arı zehiri toplanması ve arı zehirinin kalite kontrolüyle ilgili yetişmiş uzman elaman sayısı artacak ve arı zehiriyle ilgili çalışmalara daha fazla katkı sunulmaya başlanabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

Bal arıları sosyal böceklerdir. Ana, erkek ve işçi arılardan oluşan bal arısı ailesi, koloniler halinde yaşam sürer (Şekil 1). Kovan içerisinde cinsel olarak gelişmiş tek dişi ana arıdır. Koloninin en uzun arısıdır. Gereksinim olduğunda işçi arılar tarafından seçilmiş olan iki gün yaşlı larvalardan ana arı olmak üzere yetiştirilirler. Yetiştirilen bu ana arı 11 gün sonra bulunduğu petek gözünden çıkacak ve yaklaşık 18 adet erkek arı ile uçuş esnasında çiftleşecektir. Ana arı çiftleşme sırasında erkek arılardan birkaç milyon sperm hücresi alır ve bu spermleri yaklaşık iki yıl süreyle kullanır. Ana arı petek gözünden çıkıştan yaklaşık 10 gün sonra yumurtlamaya başlar. Verimli bir ana arı günde 2000-3000 adet yumurta bırakabilir. Bir kolonide sadece bir tane ana arı bulunur (Doğanay ve Aydın, 2021).



Şekil 1. İşçi, erkek ve ana arının görsel büyüklükleri.

(<https://www.tarimbilgisi.com/haber/hayvanlar/bal-arisi-kolonilerinde-hangi-arilar-var//> 25.04.2022)

2.1. Arı Ürünleri

Arı ürünleri denildiği zaman ilk akla gelen bal, polen ve balmumudur, fakat bu ürünler buz dağının görünen kısmıdır. Bunların dışında bal arısının propolis, arı sütü,

apilarnil, arı zehiri, arı ekmeği (perga), apilarnil ve kovan havası gibi biyolojik öneme sahip önemli ürünleri bulunmaktadır (Sorucu, 2019). Arı ürünlerinin her birinin insan sağlığı açısından ayrı bir önemi bulunmakla birlikte, apiterapik değeri açısından özellikle propolis ve arı zehirinin ayrı bir önemi bulunmaktadır.

2.1.1. Arı zehiri ve apiterapi açısından önemi

İşçi arılarda yumurta koyma organı değişikliğe uğrayarak savunma iğnesi halini almıştır. Bal arısının zehir kesesi ve iğnesi Şekil 2’de görülmektedir.

Arı zehiri asidik ve bazik iki farklı salgı bezininin salgılarının zehir kesesinde karışımından oluşmaktadır. Zehir kesesi, zehir pompaları ve arı iğnesinin anatomik yapısı Şekil 3’de verilmiştir. Yeni doğan arı sokamaz. Bal arısı, arı zehirini iki veya üçüncü gün salgılamaya başlamakta; ikinci ve üçüncü hafta bu üretim en yüksek düzeyine ulaşmaktadır. Yaşlı işçi arılar daha az arı zehiri üretmektedir (Bogdanov, 2016). Arı zehiri asidik (pH değeri 4.5 ile 5.5 arasındadır) yapıdadır ve zehir kesesinde depolanan bu zehirin miktarı yaklaşık 300 µg’dır (Selçuk, Dinç ve Karabağ, 2010). Arı kendi veya kovan sağlığını korumak için soktuğunda arı zehirini kurbanlarına enjekte eder (Şahinler, Toy ve Şahinler, 2019). Bir arı her soktuğunda ortalama 100 µg kuru arı zehiri enjekte eder (Bogdanov, 2016; Tunca ve Tunca, 2021). Sokma sırasında bal arısı iğnesini sokulan doku üzerinde bırakmak durumunda kalır ve bu şekilde yaşamını devam ettiremez ve ölür.

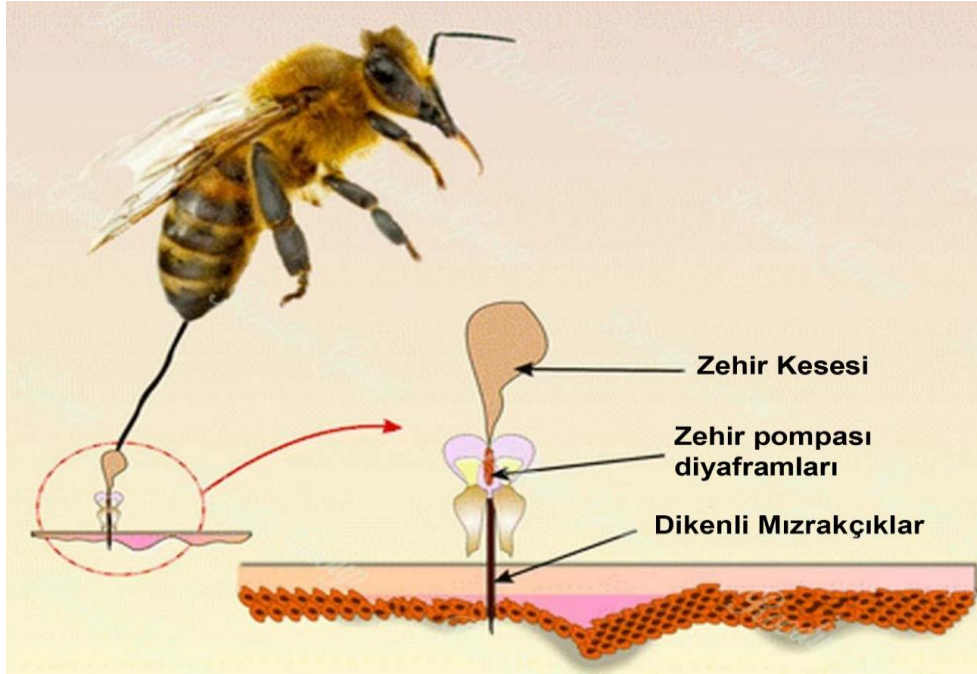
Arı zehiri arıların zehir torbasında oluşan ve içerisinde başlıca melittin, apamin, MCD, histamin, hyaluronidaz, fosfolipaz A2 bulunan, keskin kokulu, acı tadda, sarımtırak renkte, hava ile temasında hızla kuruyup kristalize olan bir maddedir.

Arı zehirinin apiterapi kapsamında önemi de gün geçtikçe artmaktadır. Artrit, romatizma, sırt ağrıları gibi yangılı durumlarda, bazı kanser (prostat, karaciğer ve göğüs kanseri gibi) ve cilt hastalıklarının tedavisinde (Son ve ark., 2007; Liu ve ark., 2008; Kim, 2013; de Graaf ve ark., 2021; Oruç ve Aydoğdu, 2021); Parkinson hastalığına karşı (Cho ve ark., 2012). Arı zehiri ayrıca antiviral ve antibakteriyel etkisi de bulunmaktadır (Rady, Siddiqui, Rady ve Mukhtar, 2017).



ADAM.

Şekil 2. Bal arısı zehir kesesi ve iğnesi.
(https://www.mountsinai.org/health-library/poison/bee-poison_25.04.2022)



Şekil 3. Zehir kesesi, pompası ve iğnenin anatomik yapısı.
(<https://roodgroup.com/tag/bee-venom-buyers/>, 25.04.2022)

2.1.1.1. Kimyasal bileşimi ve analizi

Arı zehirinin içeriği ile ilgili çalışmalar 1897 yılına kadar inmektedir ve günümüzde 100'den fazla protein, peptid ve biyoamin tespit edilmiştir (Benton ve Morse, 1968; Dotimas ve Hider, 1987; Zalat ve ark., 1999; Ali, 2014).

Arı zehri bileşiminin yaklaşık %88'i su olup geri kalan kısmı peptitler, polipeptitler, enzimler, aminler, lipitler, şekerler ve amino asitler oluşturmaktadır (Son ve ark., 2007; Chen ve Lariviere, 2010; Danneels, Van Vaerenbergh, Debysen, Devreese ve de Graaf, 2015).

Melittin majör arı proteini olup 26 aminoasitten oluşan molekül ağırlığı yaklaşık 3 kDa olan ve arı zehiri kuru ağırlığının %50-60'ını oluşturur. Fosfolipaz A2 (%10-13), hyaluronidaz (%2) enzimleri ile apamin (%2-3), MCD peptid (%2-3), sekapin (%0,5-2), apamin (%1-3) peptitlerini oluşturur (Moreno ve Giralt, 2015; Bogdanov, 2016; Şirin ve ark., 2017) ve Tablo 1'de verilmiştir (Gaber ve ark., 2020).

Tablo 1. Arı zehirinin başlıca kimyasal içeriği (%).

Bileşik grupları	Bileşikler	Min.	Mak.	Ort.
Peptidler	Melittin	25,40	60,27	45,91±9,78
	Apamin	0,93	4,34	2,85±0,79
	Adolapin	-	-	2-3
Enzimler	MCD peptid	1,46	4,37	2,82±0,64
	Fosfolipaz A2	7,41	20,25	12,95±3,09
	Hyaluronidaz	-	-	1.5-2
Biyoaktif aminler	Histamin	-	-	1.5
	Dopamin	-	-	0.13-1
	Noradrenalin	-	-	0.1-0.7
Fosfolipidler		-	-	1-3
Karbonhidratlar		-	-	2-4
Serbest aminoasitler		-	-	0.2-2
Uçucu bileşikler		-	-	4-8

Min: Minimum, Mak: Maksimum, Ort: Ortalama.

Bal arısı zehiri hiyalüronidaz (Api m2), glikozil hidrolazlar ailesine aittir. Hiyalüronidaz (HYASE), interstisyel dokunun doğal bir yapıştırıcısı olan hyaluronik asidin (HA) hidrolizini yapabilen ve bu sayede kompakt bir yapı içerisinde hücrelerin yapışma özelliklerini korumayı mümkün kılan bir enzimdir. HA'nın sindirilmesi, doku ve damar duvarlarının geçirgenliğinin artmasına neden olarak diğer alerjenlerin ve zehirin toksik bileşenlerinin serbest difüzyonuna yol açar. Api m2 bal arısı zehirinin ikinci ana alerjenidir (Vetter, Visscher ve Camazine, 1999). Arı zehirine alerjisi olan popülasyonun yaklaşık yarısında hiyalüronidaz için IgE antikorları bulunur. Arı ve yaban arısı hiyalüronidaz yapısının benzerliği nedeniyle, alerjen, bu böceklerin zehirlerine karşı yönlendirilen IgE antikorlarının çapraz reaktivitesinin ana nedenidir (de Graaf, ve ark., 2021).

Bugüne kadar arı zehri karakterizasyonu için çeşitli kromatografik yöntemler geliştirilmiş olup bunlar arasında ince tabaka kromatografisi, kapiller elektroforez, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), LC-MS/MS, ultra performans sıvı kromatografisi (UPLC), MALDI-TOF teknikleri bulunmaktadır (Pacakova ve ark., 1995; Rybak-Chmielewska ve Szczêsna, 2004; Kokot ve Matysiak, 2009; Şirin ve ark., 2017; de Graaf, ve ark., 2021).

Arı zehiri melittin, apamin ve fosfolipaz A2 içerik analizleri, Türkiye’de rutin olarak Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Gıda Analizleri Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Düzce Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DUBİT)’nde yapılmaktadır (Oruç ve Aydoğdu, 2021).

2.1.1.2. Toplama ve muhafaza yöntemleri

Arı zehiri bileşenlerinden bazılarının (örneğin, melittin, dopamin, diğerleri arasında histamin) kantitatif analizleri, arının saflığını ve kalitesini ölçmenin dolaylı bir yolu olmuştur ve bunlar da zehir depolama yönteminden güçlü bir şekilde etkilenebilir. Zehir bileşenlerinin bozulması (örneğin, tüm arı zehrinde proteazların mevcudiyeti nedeniyle otoliz yoluyla), düşük sıcaklıkta vakumlu dondurarak kurutma gibi bir kurutma yöntemi kullanılarak önlenir (de Graaf ve ark., 2020).

Saklama süresini (birkaç ay) uzatmak için, kuru zehir çok iyi kapatılmış amber şişelerde tutulmalı ve -80°C’de dondurulmalıdır. Arı zehiri liyofilize edildiğinde–20 °C’de altı ay; -80 °C’de yıllarca saklanabilir (de Graaf ve ark., 2020).

Arı zehiri toplama cihazları sürekli olarak geliştirilmektedir. Günümüzde çok farklı cihazlar piyasada yer almaktadır. Ancak cihazların temel özelliği yine elektro şok uygulanmasına dayanmaktadır. Cihazlar genellikle dört bölümden oluşur. Bunlar:

1. Zehir toplama cihazı 12–15V ve 2 Amperlik pil güç şebekesinden beslenir veya doğrudan elektrik şebekesine takılır.
2. 50 ila 1000 Hz frekans, 2–3 sn süreli ve 3–6 saniyelik duraklamalarla elektriksel impuls üretimi vardır.
3. Elektrik stimülatörü birbirinden 3-4 mm uzaklıkta gerilmiş, yalıtılmamış tellerden oluşan bir yüzeye sahiptir.
4. Tellerin altında arı zehirinin bırakıldığı/toplandığı cam plaka bulunur.

Elektrik stimülatörü, aktif iletkenler ile cam sürgü arasındaki mesafe, arıların aralarına sıkışmasına izin vermeyecek şekilde tasarlanmalıdır. Aktif teller her çalışma gününün sonunda temizlenmelidir. Kurumuş arı zehiri elektrik iletken değildir ve cihazın çalışmasını olumsuz yönde etkiler. Teller temizlenmez ve bakım yapılmaz ise cihazın verimi %10'a kadar düşebilir. Elektrik stimülasyonu ile ilgili olarak özellikle önemli olan, arılar üzerinde çalışan elektriksel impulsların parametreleridir. Bunlar maksimum voltaj, darbe genişliği ve bir arıdan geçebilecek maksimum akımdır (de Graaf ve ark., 2020). Arı zehiri toplarken arıların olumsuz etkilenimini en aza indirmek için güç sürekli olarak ölçülmeli ve zararsız bir seviyede tutulmalıdır. Aparatın voltajı, arılara zarar vermemek için 12 voltu geçmemeli ve cihazın çalışma süresi boyunca bu seviye korunmalıdır.

Arı sağlığının geri döndürülemez şekilde bozulmasını önlemek için arıları uyaran elektriksel uyarılar çok kısa olmalıdır. Arı zehiri toplayıcısının güç kaynağı olarak pil kullanılması iyi olacaktır. Arı zehirinin elektrik ihtiyacı için kovana dışarıdan kablo çekilmesi arıları ayrıca strese sokabilecektir (de Graff ve ark., 2020).

Arı zehiri toplamanın arıların kış aylarında hayatta kalmalarına hiçbir etkisi yoktur. Arı zehiri toplama işlemi günlük olarak ve günde üç ila dört saatten fazla yapılırsa bal üretimi yaklaşık %10 daha düşük olabilir. Haftada iki ila üç gün ara verilmelidir. Elektro-stimülasyon için en uygun süre 30–60 dakika, uygun mola süresi ise 45–90 dakikadır.

Bal arısı zehiri üretiminde farklı saatlerde yapılan uygulamalara yönelik çalışmalar, elde edilen ürün miktarlarında ciddi farklılıklar olabileceğini göstermiştir (Nowar, 2016). Arı zehirinin gün içinde genellikle öğleden sonra toplanması önerilmektedir. Mısır'da, arı zehiri toplamak için en iyi dönemin Ağustos ayında 16:00 ile 18:00 saatleri arasında (Sanad ve Mohanny, 2013) veya yine Mısırdaki Temmuz ayında 19:00-21:00 arasında (Nowar, 2016) olduğu bildirilmektedir. Kovan başına günlük 0,0185g arı zehiri toplanabilmektedir. Arı zehiri toplama işlemi sırasında arı ölümleri olduğu, en düşük ölü işçi sayısının öğleden sonra 13:00-15:00 arasında görülmektedir. Toplama işlemi sırasında ortalama kovan başına ölü işçi arı sayısı 26.74'dür (Sanad ve Mohanny, 2013).

Arı zehiri öncelikli olarak güçlü kovanlardan toplanır. Eğer mümkünse zehir toplama işlemi çift katlı ve mevcudu güçlü olan kovanlardan yapılmalıdır. Aksi halde zayıf kovanlardan toplanıldığında zaten zayıf olan koloni daha da zayıf düşecek ve koloni fazla zarar görebilecektir. Zehir toplama genellikle, ilkbahar, yaz ve sonbahar aylarında yapılır. Ancak en etkili ve olumlu hasat yaz aylarında yapılmaktadır (Sanad ve Mohanny, 2013). Çünkü yaz aylarında nektar akımı boldur ve buna bağlı olarak da zehir miktarı ve kalitesi yüksektir. İlkbahar ve sonbahar aylarında zehir üretimi yaz aylarına göre oldukça düşüktür. Arı zehiri ortamın sıcaklığı 12°C üzerindeyken, sis olmayan ve zeminde çiy yokken ve yağmursuz havalarda toplanmalıdır (de Graff ve ark., 2020).

Zehir toplama işlemi esnasında arılar normalden çok daha fazla saldırgan olduklarından zehiri toplayan kişi ya da kişilerin özel kıyafetler kullanması gerekmektedir. Bunlar özel kumaştan yapılmış, tulum, eldiven ve ayakları koruyacak özel bir bot olabilir. Zehirin hasat edilmesi de oldukça dikkat edilmesi gereken bir konudur. Zehir uçucu olduğundan dolayı plakalardan zehiri kazıma esnasında burun ve ağız yolu ile vücuda zehir girişi olabilir. Bu durum zehirlenmelere, burun ve boğazda kaşıntı ve yanmaya, göze kızarma ve yanmaya neden olabilmektedir. Bu yüzden zehir kazıma işlemine başlamadan önce bu konu ile ilgili üretilmiş eldiven, gözlük ve maske hazır bulundurulmalıdır.

Zehir kalitesini başlıca zehiri toplama yöntemleri, muhafaza koşulları, bölge, ırk, mevsim ve flora etkilemektedir. Zehir toplama ile ilgili uygun koşullar sağlandığında mümkün olduğu kadar arılara az zarar vermeli, kazıma işlemi bittikten

sonra çok vakit kaybetmeden zehir temiz ve mümkünse steril şişelere konmalı ve -18°C veya daha soğukta saklanmalıdır. Zehir toplamanın koloni gücü, yavru yetiştirme ve üretkenlik üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı; ancak zehir toplanması kolonilerin kışlama performansını olumsuz etkileyebildiği ve bu olumsuz etkinin kullanılan toplama tekniği ile ilgili olduğu bildirilmektedir (Skubida, Muszynska, Rybak ve Marcinkowski, 1995).

2.1.1.3. Arı zehiri kalitesi

Arı zehirinin uygun voltajda ve tekniklerle doğru bir şekilde toplanması gerekir. Arı zehirinin neminin uçmasından sonra plakadaki zehirin temiz, hava akımı, rüzgar olmayan ve güneş görmeyen bir ortamda kazınması gerekir. Oksitlenme şekillenirse rengi beyazdan kahverengi-yeşile döner, kalitesi düşer ve faydalı etkileri azalmaya başlar. Arı zehiri normal oda ısısında veya liyofilize edilerek iki yöntemle kurutularak saklanır. İyi kalite kurutulmuş bir arı zehirinin beyaz renkte (kar beyazı) olması, içine arı dışkısı, duman, polen, bal ve diğer kovan içeriğinin karışmamış olması gerekir. Dondurarak saklamak en etkili koruma yöntemidir (Bogdanov, 2016). Başta melittin olmak üzere içindeki etkin madde miktarları arttıkça etkinliği artar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Standart ve kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan arı zehiri standartlarından apamin (ALX-151-013-MC05, 0.5MG), phospholipase A2 (*Apis mellifera*, BML-SE104-0001) ve melittin (Natural, ALX-162-006-M001, 1mg) Enzo Life Sciences (NY, USA); trifluoroacetic acid Sigma-Aldric (Burlington, MA, USA) ve HPLC kalitesinde acetonitrile Merck (Darmstadt, Germany) firmasından satın alındı. HPLC analizlerinde kullanılan ultra saf su ELGA LabWater Purelab flex sistem (Marlow, Buckinghamshire, UK) kullanılarak üretildi.

3.2. Numuneler ve toplanması

Arı zehiri toplama işlemleri 6-8 Mayıs 2022 tarihleri arasında, Kazdağları eteklerinde bulunan Çanakkale'nin Çan ilçesine bağlı Söğütalan Köyünün yukarısında bulunan arılıktan (Şekil 4 ve 5) toplandı. Arılığın rakımı yaklaşık 800m'dir. Toplam 20 farklı kovandan kovan önü ve kovan içinden, öğlen (13:00-14:00 arası) ve akşam (17:00:18:00 arası) olmak üzere, sekiz adet kovan önü ve 12 adet kovan içinden olmak üzere 20 adet arı zehiri iki farklı arı zehiri toplama cihazı ile yapıldı (Tablo 2).

Tablo 2. Arı zehiri numuneleri toplama bilgileri.

Arılığın Yeri	Tarih	Başlama Saati	Cihazın Çalışma Süresi	Hasat Saati
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	06.05.2022	13:00	30 dk	14:30
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	06.05.2022	17:00	30 dk	18:30
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	07.05.2022	13.15	30 dk	14:45
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	07.05.2022	17:15	30 dk	18:45
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	08.05.2022	13:00	30 dk	14:30
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	08.05.2022	17:00	30 dk	18:30



Şekil 4. Arı zehirlerinin toplandığı arılık.



Şekil 5. Arı zehirlerinin toplandığı arılık.

Numuneler iki farklı arı zehiri toplama cihazı ile hem kovan önü hem de kovan içinden toplandı. Cihazlardan biri kovan önü zehir toplama cihazı olarak tasarlanmış BeeWhisper markalı cihazdır (Varna, Bulgaria) ve Tip 1 olarak bu cihaz adlandırılmıştır. Boyut olarak dış boyut: 26 cmx16cm, cam levhası 20 cmx14 cm ve 280cm² zehir toplama alanına sahiptir. Cihaz Şekil 6'de, elektrik teknik bilgileri Şekil 7'de görülmektedir. Whisper kovan önü zehir toplama cihazı 2 adet AA kalite 1.5 V kalem pil ile çalışmaktadır. Diğer cihaz ise kovan içi zehir toplanması için tasarlanmış Almışlar Arıcılık markalıdır (Turgutlu, Manisa, Türkiye) ve Tip 2 olarak adlandırılmıştır. Dış boyutu 38 cmx16 cm, cam levhası 30 cmx16 cm ve 480cm² alana sahiptir (Şekil 8). Cihaz 12-22 V akü ile önce kablolarla dağıtıcıya ve oradan da aparatlara elektrik akımı verilmek sureti ile çalışmaktadır. Çalışma esnasında elektrik akımı 12-15 voltta tutuldu. Her iki cihaz ile de hem kovan önü hem de kovan içi olarak başarılı bir şekilde arı zehiri toplandı.



Şekil 6. Beewhisper kovan önü zehir toplama aparatı (Tip 1).



Şekil 7. Bee whisper kovan özü zehir toplama cihazının elektrik teknik özellikleri.



Şekil 8. Almışlar Arıcılık kovan içi zehir toplama cihazı (Tip 2).

Cihazlar kovan içinde ve kovan önünde 30 dakika açık ve çalışır vaziyette bırakıldı ve bu şekilde arı zehirleri toplandı. Kovan önü ve kovan içinden arı zehirleri toplanması sırasıyla Şekil 9 ve Şekil 10'da görülmektedir. Cihazlar kapatıldıktan sonra arıların sakinleşmesi için 15 dakika beklendi ve cihazlar kovanlardan alındı. Sağım için uygun kapalı ortama taşındı.

Tip 1 (Beewhisper marka) arı zehiri toplama cihazının kovana yerleştirilmesi ve arı zehiri toplanması Şekil 9’da gösterilmiştir.



Şekil 9. Tip 1 arı zehiri toplama cihazı ile arı zehiri numunesi toplanırken.

Tip 2 (Almışlar marka) arı zehiri toplama cihazının kovana yerleştirilmesi ve arı zehiri toplanması Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Tip 2 arı zehiri toplama cihazı ile arı zehiri numunesi toplanırken.

Toplama işlemleri Tablo 2'de belirtildiği gibi öğlen (13:00-14:00 arası) ve akşam (17:00:18:00 arası) olmak üzere yapıldı. Arı zehirinin güçlü kovanların toplanması gerektiği için en az sekiz çerçeveli arıya sahip kovanlardan ve mümkün olduğunca çift katlı kovanlardan toplandı. Kovan içinden toplanırken zehir toplama cihazı çift katlı kovanlarda birinci katın üzerine yerleştirilerek toplandı (Şekil 10). Ancak aparatların kovan önünde ve kovan içinde çalışır vaziyette tutulma zamanı 30 dakikayı aşmadı. Arı zehiri içeren bu cam plakalar mümkün olan en kısa sürede, zehir toplama cihazlarının içinde ağzı kapalı plastik bir kap ile güneş işığından koruyarak zehirin kazınacağı uygun ortama taşındı. Arı zehiri güneş görmeyen temiz bir ortamda cam plakadan (Şekil 11) kazınarak (Şekil 12), darası alınmış kahverengi

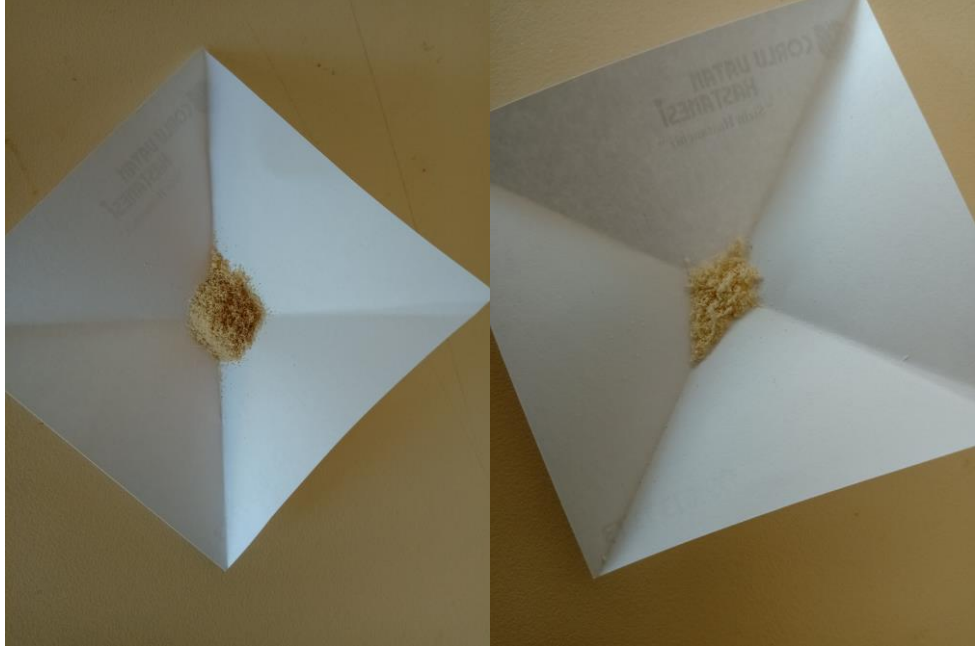
20cc'lik temiz cam şişelere alındı, etiketlendi ve buzdolabında -18 °C'de evde saklandı. Toplanan arı zehiri numunelerinin genel görüntüsü ve renkleri Şekil 13'de görünmektedir. Yine mümkün olan en kısa sürede (bir hafta içinde) laboratuvara buz kalıplarının bulunduğu bir çantada laboratuvara taşındı, darası alınmış şişelerde hassas terazide tartılarak miktarları not edildi, derin dondurucuya konuldu ve analize kadar -22°C'de saklandı. Toplanan numunelerin etiketlenmiş hali Şekil 14'de gösterilmiştir. Numuneler bütün taşıma işlemleri esnasında güneş ışığından ve nemden uzak tutuldu. Zehir toplama cihazlarının temizliği her toplamadan sonra saf etil alkol ile silinerek yapıldı.



Şekil 11. Bir kovandan toplama cihazının cam slaytında toplanmış arı zehiri.



Şekil 12. Cam plaka üzerindeki toplanan arı zehirinin kazınması.



Şekil 13. Toplanan arı zehiri numunelerinin genel olarak görünüşleri ve renkleri.



Şekil 14. Kovan önü ve içinden toplanan ve etiketlenmiş olan arı zehiri numuneleri.

3.3. HPLC analizi ve numunelerin hazırlanması

Arı zehiri numunelerinde apamin, fosfolipaz A2 ve melittin analizinde başlıca Sobral ve ark. (2016) belirttiği yöntem kullanıldı. Ancak mobil fazların asitlendirilmesinde formik asit yerine trifloroasetik asit kullanıldı ve akış oranlarında küçük değişiklikler yapıldı. Mobil faz A %0.1'lik trifloroasetik asit safsuda olacak şekilde, mobil faz B %0.1'lik trifloroasetik asit asetonitrilde olacak şekilde hazırlandı. Mobil faz ve gradient akış oranları Tablo 3'de verilmiştir. Mobil faz akış hızı 0.3ml/dakika olarak uygulandı. Standart ve numunelerin enjeksiyon miktarı 20µl olarak yapıldı.

Tablo 3. Mobil faz ve gradient akış oranları.

Zaman (dk)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0.02	95	5
12	60	40
18	40	60
25	75	25
30	95	5

HPLC sistemi (Shimadzu, LC-20 AD/SPD-M20A) degazer, ikili pompa, otosampler ve diode-array detektöre (DAD) sahiptir (Şekil 15). Numunelerin ayrılması için C18 kolon (Inertsil ODS-3, 5 mm, 4.6x150 mm) kullanıldı.



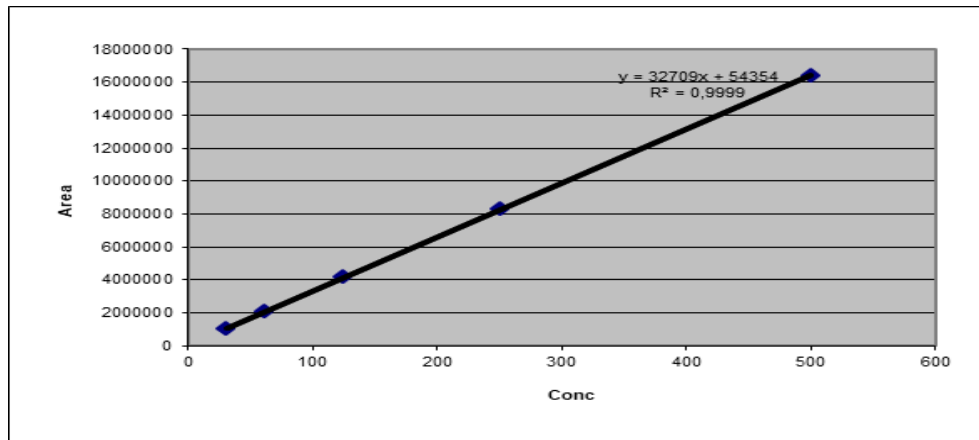
Şekil 15. Arı zehiri analizi yapılan HPLC sistemi.

Kalibrasyon eğrileri için apamin, fosfolipaz A2 ve melittin standartlarından 1mg/ml stok solüsyon hazırlandı. Bu stok solüsyonlardan da 31µg/ml, 62µg/ml, 125µg/ml, 250µg/ml ve 500µg/ml ara standartlar hazırlanarak kalibrasyon eğrileri sırasıyla çizdirildi (Şekil 16, 17 ve 18). Apamin ve melittin için deteksiyon limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) aynıydı ve sırasıyla 1µg/ml ve 3µg/ml olarak tespit edildi. Fosfolipaz A2 için ise 2,5µg/ml ve 7,5µg/ml olarak bulundu. Metodun numune ve standart olmayan basline kromatoğramı da Şekil 19'de verildi. Uyguladığımız metotta apamin için alıkonma zamanı (retention time) 14,02, fosfolipaz A2 için 17,67 ve melittinin için 20,70 dakika olduğu görüldü (Şekil 20, 21 ve 22). Karışım (mix) halinde apamin, fosfolipaz A2 ve melittin standartlarının enjeksiyonu da yapıldı (Şekil 23). Bir arı zehiri numunesine ait kromatoğramda Şekil 24'de sunuldu.

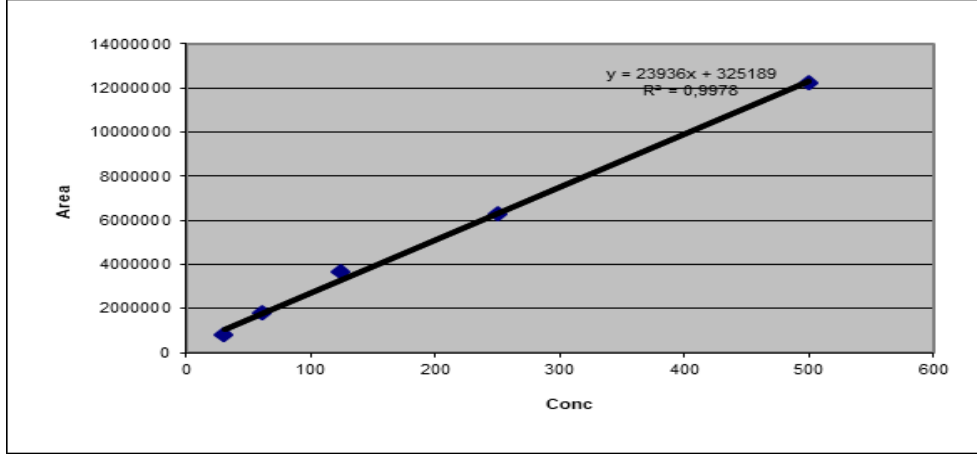
Arı zehiri numuneleri 5mg tartıldı, üzerine 10ml'ye tamamlayacak şekilde safsu ilave edildi, normal tüp karıştırıcıda 30 saniye karıştırıldıktan sonra 5 dakika da daha iyi bir çözdürme için Kokot ve ark. (2009) gibi ultrasonik banyoda karıştırıldı. Çözdürülmüş numune filtreden (Millipore Millex-HV, 0.45 µm) geçirilip viallere alındı ve 20µl HPLC sistemine enjeksiyon yapıldı. Numuneler ikişer defa analiz edildi.

3.4. Kalibrasyon eğrileri ve kromatoğramlar

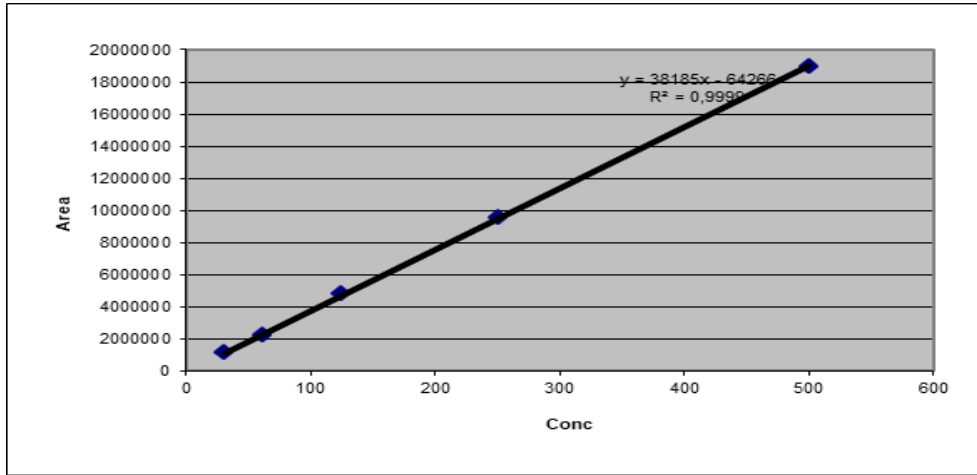
Apamin, fosfolipaz A2 ve melittin kalibrasyon eğrileri oluşturuldu, standartların ve numunelerin kromatoğramları elde edildi.



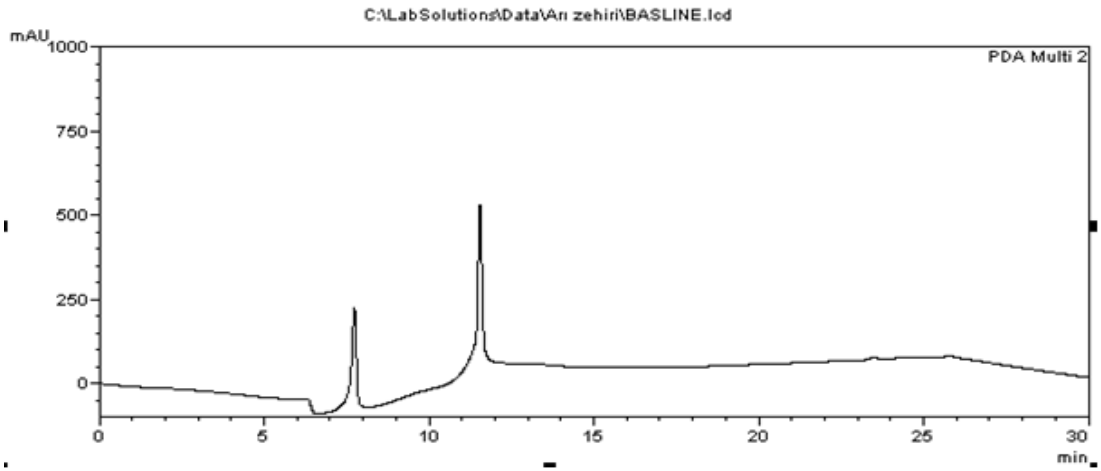
Şekil 16. Apamin kalibrasyon eğrisi ve R² değeri.



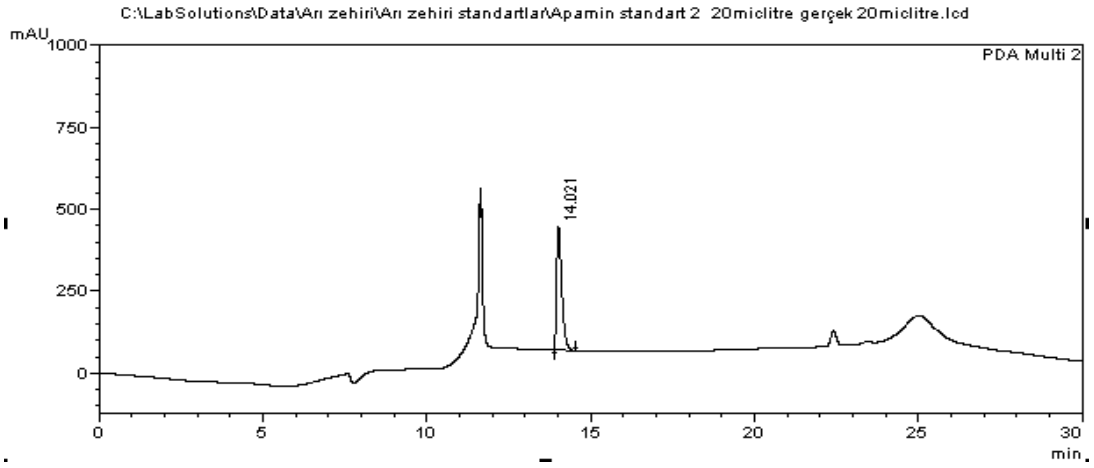
Şekil 17. Fosfolipaz A2 kalibrasyon eğrisi ve R^2 değeri.



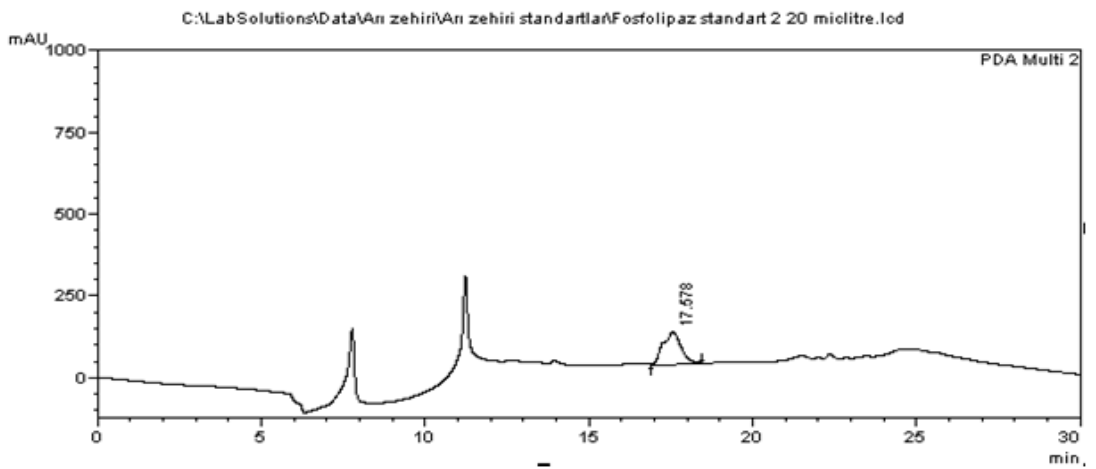
Şekil 18. Melittin kalibrasyon eğrisi ve R^2 değeri.



Şekil 19. Basline kromatogramı.



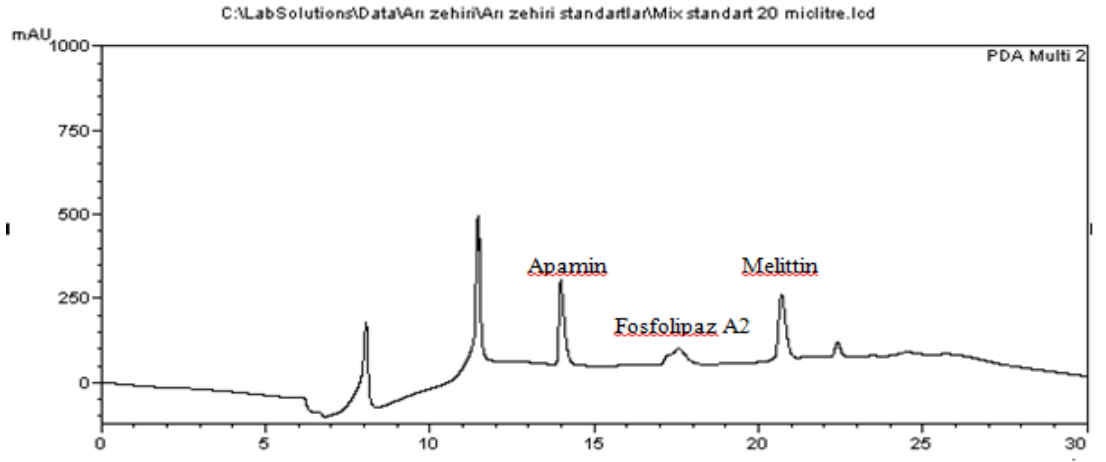
Şekil 20. Apamin standardının kromatogramı.



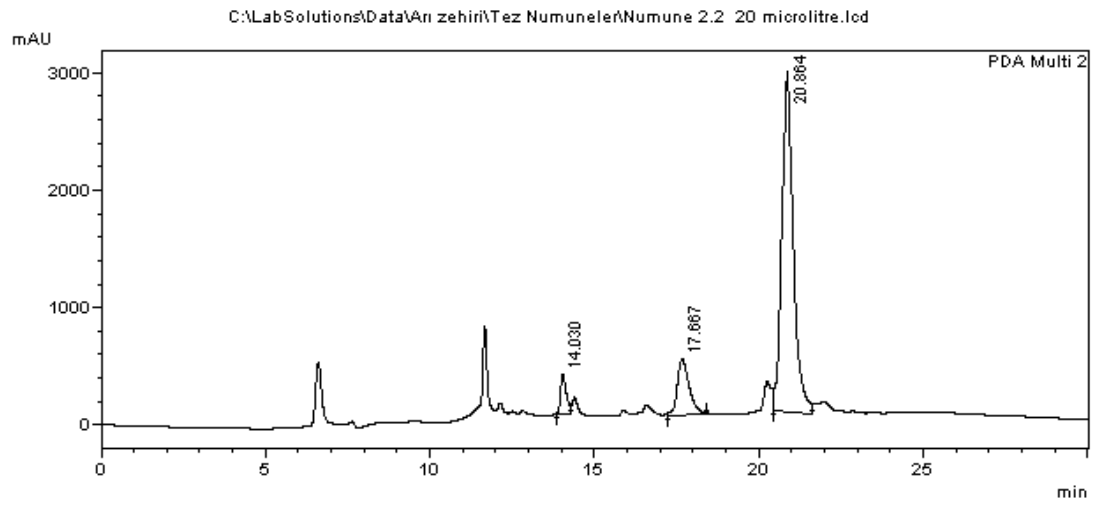
Şekil 21. Fosfolipaz A2 standardının kromatogramı.



Şekil 22. Melittin standardının kromatogramı.



Şekil 23. Standartların karışım (mix) halindeki kromatogramı.



Şekil 24. Bir arı zehiri numunesi kromatogramı.

3.5. İstatistik Analiz

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 20 programında yapılmıştır. Arı zehirlerinin kovan önü ve kovan içinden, öğle ve akşam vakti toplanan arı zehiri miktarları; analizi yapılan apamin, fosfolipaz A2 ve melittin kovan önü ve içindeki miktarlarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U Testi kullanıldı. Elde edilen sonuçlar $p < 0,05$ ise anlamlı olarak yorumlandı.

4. BULGULAR

İki farklı zehir toplama cihazı ile öğle vakti (13:00-14:00 arası) ve akşam vakti (17:00-18:00 arası) sekiz adet kovan önu ve 12 adet kovan içinden toplanan ve toplam 20 adet olan arı zehiri numunelerinin miktarları Tip I (280 cm²) ve Tip II (480 cm²) cihazlara göre Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Kovan önu ve içinden toplanan arı zehiri miktarları.

Arılığın Yeri	Tarih/ Zaman	Kovan Önu		Kovan İçi	
		280 cm ²	480 cm ²	280 cm ²	480 cm ²
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	06.05.2022/öğle	34 mg	52 mg	24 mg	130 mg
	06.05.2022/akşam	21 mg	alınamadı	19 mg	110 mg
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	07.05.2022/öğle	22 mg	74 mg	15 mg	82 mg
	07.05.2022/akşam	alınamadı	alınamadı	17 mg	55 mg
Kazdağları, Söğütalan, Çan, Çanakkale	08.05.2022/öğle	20 mg	46 mg	15 mg	71 mg
	08.05.2022/akşam	24 mg	alınamadı	45 mg	75 mg

Tip I ve II cihazlarına göre kovan önu ve içinden, öğle ve akşam toplanmasına göre miktarları ise Tablo 5 ve 6’da sunulmuştur.

Tablo 5. Tip I (280 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önu, içi, öğle ve akşama göre minimum, maksimum ve ortalama miktarları (mg).

Kovan önu (n:5)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:5)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
20,00-34,00	15,00-45,00	15,00-34,00	17,00-45,00
24,20±5,67	22,50±11,51	21,66±7,06	25,20±11,36

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma.

Tablo 6. Tip II (480 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önu, içi, öğle ve akşama göre minimum, maksimum ve ortalama miktarları (mg).

Kovan önu (n:3)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:3)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
46,00-74,00	55,00-130,00	46,00-130,00	55,00-110,00
57,33±14,74	87,16±27,66	75,83±29,85	80,00±27,83

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma.

Numune analizlerinde apamin, fosfolipaz A2 ve melittin pikleri tespit edilmiş ve Şekil 24’de gösterilmiştir. Tip I ve II cihazlarına göre kovan önu ve içinden, öğle ve akşam toplanmasına göre apamin miktarları Tablo 7 ve 8’de verilmiştir.

Tablo 7. Tip I (280 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önu, içi, öğle ve akşama göre apamin miktarları (%).

Kovan önu (n:5)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:5)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
0,92-2,20	0,84-1,42	0,90-2,20	0,84-1,42
1,37±0,50	1,10±0,25	1,30±0,49	1,13±0,24

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma.

Tablo 8. Tip II (480 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önu, içi, öğle ve akşama göre apamin miktarları (%).

Kovan önu (n:3)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:3)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
1,04-1,48	0,70-1,38	0,70-1,48	1,10-1,38
1,22±0,22	1,04±0,28	1,02±0,27	1,28±0,15

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma.

Tip I ve II cihazlarına göre kovan önu ve içinden, öğle ve akşam toplanmasına göre fosfolipaz A2 miktarları Tablo 9 ve 10’da görülmektedir.

Tablo 9. Tip I (280 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önu, içi, öğle ve akşama göre fosfolipaz A2 miktarları (%).

Kovan önu (n:5)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:5)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
4,94-10,66	4,66-8,52	4,94-10,66	4,66-6,90
7,00±2,27	6,45±1,38	7,38±2,11	5,88±0,81

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma.

Tablo 10. Tip II (480 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önu, içi, öğle ve akşama göre fosfolipaz A2 miktarları (%).

Kovan önu (n:3)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:3)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
5,06-8,10	4,18-8,90	4,18-8,10	6,52-8,90
6,47±1,53	6,27±1,96	^a 5,56±1,42	^b 7,90±1,23

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma. a,b: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki farkı göstermektedir.

Tip I ve II cihazlarına göre kovan önü ve içinden, öğle ve akşam toplanmasına göre melittin miktarları Tablo 11 ve 12’de sunulmuştur.

Tablo 11. Tip I (280 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önü, içi, öğle ve akşama göre melittin miktarları (%).

Kovan önü (n:5)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:5)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
19,68-36,82	4,92-27,22	4,92-36,82	17,20-27,22
25,51±6,70	19,12±8,12	21,80±10,52	22,29±4,09

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma.

Tablo 12. Tip II (480 cm²) cihazla toplanan arı zehiri numunelerinin kovan önü, içi, öğle ve akşama göre melittin miktarları (%).

Kovan önü (n:3)	Kovan içi (n:6)	Öğle (n:6)	Akşam (n:3)
<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>	<u>Min-mak/Ort</u>
20,02-29,82	15,38-26,26	15,38-29,82	20,18-26,26
24,64±4,92	20,42±4,68	20,77±5,51	23,94±3,28

Min-mak/Ort: Minimum-maksimum/ortalama, ±: Standard sapma.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Arı zehirinin kovan önünden ve kovan içinden toplanması konusunda araştırmacılar arasında görüş ayrılıkları bulunmaktadır. Kovan önünden arı zehirinin toplanmasını savunanlar arı zehirinin suyunun daha çabuk uçtuğunu ve zehir kristalleri şeklinde arı zehirinin camın üzerinde kaldığını belirtmektedir. Ancak kovan içinden arı zehiri toplandığında tüm kovanın stres altında kaldığı, kovan içindeki işlerin kesintiye uğrayacağı ve kovan içi sıcaklığın özellikle yaz aylarında çok fazla artacağı bildirilmektedir (de Graaf ve ark., 2021). Kovan içinden arı zehirinin toplanmasını savunanlar ise kovan dışından nektar ve polen toplamış olarak gelen tarlacı arıların elektrik akımıyla karşılaşınca kusma ve stresle nektar ve polenin arı zehiri üzerine dökülüp karışabileceğini savunmaktadır. Kovan içi üretimde bu ihtimalin daha düşük olacağı bildirilmektedir. Kovan önünden tek cihazla arı zehiri toplanabilirken kovan içinden birden fazla toplama cihazıyla aynı anda toplanabileceği ve birim zamanda daha fazla zehir toplanabileceği belirtilmektedir (Çaprazlı ve Kekeçoğlu, 2021). Kovan önünden arı zehirini toplarken kovana giren ve çıkan arılardan toplanabileceği ve bu miktarın da kovan içine göre daha az olacağı, yine kovan önünde toplanmanın olumsuz hava şartlarından ve diğer kirleticilerden daha fazla etkileneceği savunulmaktadır (Han ve ark., 2007; Al-Ghamdi ve Abou-Shaara, 2012; Serrinha, Correia ve Marques, 2019). Kovan içinde toplanırken de cihaz kovana yerleştirilirse arı ürün ve atıklarıyla arı zehirinin kontaminasyon oranının artacağı, ancak ikinci kata, çerçeve şeklinde yerleştirilen veya ballık üzerine yerleştirilen cihazlarla toplamada kontaminasyon riskinin daha az olacağı bildirilmektedir (Robson, 1988; Han ve ark., 2007; Serrinha, Correia ve Marques, 2019). Bu bilgilerin hepsinin belirli bir gerçekliği bulunmakla birlikte bilimsel olarak netleştirilmesi için daha kontrollü ve detaylı yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

Bu çalışmanın amaçlarından biri kovan önü ve içinden toplanan zehir miktarlarında bir fark olup olmadığı, bir fark varsa bunun istatistiksel olarak bir önemi olup olmadığını tespit edilmesidir. Bu amaçla, bu çalışmada Tip I (280 cm²) ve Tip II (480 cm²) arı zehiri toplama alanına sahip iki farklı marka cihazla hem

kovan önü hem de kovan içinden, öğle vakti (13:00-14:00 arası) ve akşam vakti (17:00-18:00 arası) üç gün süreyle arı zehiri numuneleri toplandı. Öğle vakti hem kovan önü hem de kovan içinden tam olarak (12 adet) arı zehiri numunesi toplanabilirken akşam vakti 8 adet arı zehiri numunesi toplanabildi (Tablo 4). Dört adet arı zehiri numunesi arılar cihaza gelmediği için toplanamadı, toplanamayan numunlerin tamamı kovan önü numunesiydi. Arılığın yeri Kazdağlarının kuzeyinde yaklaşık 800 metre rakıma sahipti ve havalar çalışmanın yapıldığı Mayıs ayı başında serin gitmekteydi. Öğle vakti hava sıcak iken rahatlıkla kovan içi ve önünden arı zehiri toplanırken akşam vakti serin olduğu için arıların kovana girdiğini ve gelenlerinde cihaz üzerine çıkmayı tercih etmediği görüldü. Bu durum serin havalarda kovan içinden arı zehiri toplamanın daha avantajlı olduğunu göstermektedir.

Tip I (280 cm² arı zehiri toplama alanına sahip) arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden (24,20±5,67 mg) toplanan arı zehiri miktarı ortalamasının kovan içinden toplanan miktardan (22,50±11,51 mg) daha yüksek olduğu (Tablo 5), ancak bu farkın istatistiki olarak önemli olmadığı görüldü (p=0,247). Aynı cihazla öğle vakti toplanan arı zehiri miktarlarının ortalamasının da (21,66±7,06 mg) akşam toplanan zehir miktarı ortalamasından (25,20±11,36 mg) düşük (Tablo 5) olmakla birlikte istatistik olarak önemsiz olduğu tespit edildi (p=0,662). Tip II (480 cm² arı zehiri toplama alanına sahip) arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden (57,33±14,74 mg) toplanan arı zehiri miktarı ortalamasının kovan içinden toplanan miktar ortalamasından (87,16±27,66) daha düşüktür (Tablo 6). Ancak bu farkın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlendi (p=0,095). Aynı cihazla öğle vakti toplanan arı zehiri miktarlarının ortalamasının da (75,83±29,85) akşam vakti toplanan zehir miktarı ortalamasından (80,00±27,83) düşük (Tablo 6) olmakla birlikte istatistik olarak önemsiz olduğu görüldü (p=0,714). Bu çalışma sonuçları, her iki cihazla arı zehiri toplandığında, Tip I arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden daha fazla arı zehiri toplanırken Tip II toplama cihazı ile kovan içinden daha fazla arı zehiri toplandığı göstermektedir (Tablo 5 ve 6). Bu sonuçlar cihaza bağlı olarak kovan önünden de kovan içinden de daha fazla miktarlarda arı zehiri toplanabileceğini göstermektedir. Tip I cihazı kovan önünden arı zehiri toplamaya göre tasarlanmış, Tip II cihazı ise kovan içinden arı zehiri toplamak için

tasarlanmıştır. Sonuçlar da bu kullanım (tasarlanma) amaçlarıyla uyumlu çıkmıştır. Ayrıca bu çalışma ile kovan önünden arı zehiri toplamak için tasarlanmış bir cihazın kovan içinden toplamak içinde kullanılabileceğini göstermektedir. Aynı durum kovan içinden arı zehiri toplamak için tasarlanmış bir cihazın kovan önünden arı zehiri toplamak için de kullanılabileceğini göstermektedir.

Tespit edilen apamin miktarları değerlendirildiğinde, Tip I (280 cm² arı zehiri toplama alanına sahip) arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden (1,37±0,50 mg) toplanan arı zehirindeki apamin miktarı ortalamasının kovan içinden toplanan miktarın ortalamasından (1,10±0,25 mg) daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 7). Ancak bu fark istatistiki olarak önemli değildir (p=0,329). Öğle vakti toplanan arı zehirlerindeki apamin miktarları ortalamasının da (1,30±0,49 mg) akşam vakti toplanan zehirlerin apamin miktarı ortalamasından (1,13±0,24 mg) fazla (Tablo 7) olmakla birlikte istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (p=0,262). Tip II (480 cm² arı zehiri toplama alanına sahip) arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden toplanan arı zehiri miktarı ortalamasının (1,22±0,22 mg) Tip I de olduğu gibi kovan içinden toplanan miktardan (1,04±0,28 mg) daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 8). Ancak bu fark istatistiki olarak önemli değildir (p=0,381). Öğle vakti toplanan arı zehirlerindeki apamin miktarları ortalamasının (1,02±0,27 mg) akşam vakti toplanan zehirlerin apamin miktarı ortalamasından (1,28±0,15 mg) düşük olduğu (Tablo 8), bu farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu görülmektedir (p=0,247). Bu durum Tip I'deki durumla da zıt olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, arı zehiri toplama cihazına göre kovan önü ve içi ile öğle ve akşam vakti apamin miktarlarının değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymaktadır.

Fosfolipaz A2 sonuçları değerlendirildiğinde, Tip I arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden (7,00±2,27 mg) toplanan arı zehirindeki fosfolipaz A2 miktarı ortalaması kovan içinden toplanan miktar ortalamasından (6,45±1,38 mg) daha yüksektir (Tablo 9). Ancak istatistiki olarak bu fark önemli değildir (p=0,931). Öğle vakti toplanan arı zehirlerindeki fosfolipaz A2 miktarları ortalamasının da (7,38±2,11 mg) akşam vakti toplanan zehirlerin fosfolipaz A2 miktarı ortalamasından (5,88±0,81 mg) yüksektir (Tablo 9), ancak bu fark istatistiki olarak önemsizdir (p=0,247). Tip II arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden toplanan arı zehiri fosfolipaz A2 miktarı ortalamasının (6,47±1,53 mg) kovan içinden toplanan

miktardan ($6,27 \pm 1,96$ mg) daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 10). Ancak bu fark istatistiki olarak önemli değildir ($p=1,000$). Kovan önu fosfolipaz A2 miktar ortalamasının kovan içinden yüksek olması Tip I sonucuyla da benzerlik göstermektedir. Öğle vakti toplanan arı zehirlerindeki fosfolipaz A2 miktarları ortalamasının ($5,56 \pm 1,42$ mg) akşam vakti toplanan zehirlerin fosfolipaz A2 miktarı ortalamasından ($7,90 \pm 1,23$ mg) düşüktür (Tablo 10). Ancak, bu farkın istatistiki olarak önemli olduğu anlaşılmaktadır ($p=0,048$). Tip I ve II de kovan önünde tespit edilen fosfolipaz A2 miktarları kovan içindeki miktardan fazladır. Öğle ve akşam sonuçlarının ise iki cihazda da farklı olduğu görüldü.

Melittin miktarları değerlendirildiğinde, Tip I arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden ($25,51 \pm 6,70$ mg) toplanan arı zehirindeki melittin miktarı ortalamasının kovan içinden toplanan miktar ortalamasından ($19,12 \pm 8,12$ mg) daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 11). Ancak istatistiki olarak bu fark önemli bulunmamıştır ($p=0,429$). Öğle vakti toplanan arı zehirlerindeki melittin miktarları ortalaması ($21,80 \pm 10,52$ mg) akşam vakti toplanan zehirlerin melittin miktarı ortalamasından ($22,29 \pm 4,09$ mg) düşüktür (Tablo 11). Ancak bu farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu görülmektedir ($p=1,000$). Tip II arı zehiri toplama cihazı ile kovan önünden toplanan arı zehiri melittin miktarı ortalamasının ($24,64 \pm 4,92$ mg) kovan içinden toplanan miktardan ($20,42 \pm 4,68$ mg) daha yüksektir (Tablo 12). Bu fark istatistiki olarak önemli bulunmamaktadır ($p=0,381$). Öğle vakti toplanan arı zehirlerindeki melittin miktarları ortalamasının ($20,77 \pm 5,51$ mg) akşam vakti toplanan zehirlerin melittin miktarı ortalamasından ($23,94 \pm 3,28$ mg) düşüktür (Tablo 12). Ancak, bu fark yine istatistiki olarak önemli değildir ($p=0,262$). Kovan önünden toplanan arı zehiri numunelerindeki melittin miktarı her iki cihazda da kovan içine göre yüksektir. Akşam toplanan numunelerdeki melittin miktarların da öğleye göre her iki cihazda da daha yüksek olduğu görülmektedir.

Zehir toplama çalışmaları sırasındaki deneyimlerimiz, kovan içinden zehir toplamanın daha pratik ve sağlıklı olabileceği yönündedir. Tablo 4’de görüldüğü gibi eşit cihaz yerleştirilmesine rağmen kovan içinden 12 defa kovan önünden 8 defa numune toplanabildi. Özellikle kovan önünden akşamları numune toplanamadığı periyotlar oldu. Arılığın yeri serin olduğu için öğleyin sıcak olması bunu teşvik etmiş olmalı, kovan içinde ise hava sıcaklığı daha uygun olması, arıların kovana çoğunluk

olarak girmesi bunun ana nedenlerinden olabilir. Öğle ve akşam toplanan zehir miktarları arasında önemli bir fark görülmemektedir ve istatistik olarak da bir fark bulunmamaktadır. Ancak serin yerlerdeki arılıklarda öğle vakti arı zehiri toplamının akşama göre daha pratik olabileceği ve daha fazla miktarda zehir toplanabileceği yönünde oldu. Kovan içinden zehir toplanmasında hava şartlarının kovan önü kadar çok önemli olmadığı görüldü. Bu durumun kovan önünde toplamının olumsuz hava şartlarından ve diğer kirleticilerden daha fazla etkileneceğini savunanlarla (Han ve ark., 2007; Al-Ghamdi ve Abou-Shaara, 2012; Serrinha, Correia ve Marques, 2019) uyumlu olduğu görüldü.

Cam zehir toplama alanı 280cm^2 (Tip I) ve 480cm^2 (Tip II) alanlarda toplanan zehir miktarlarına baktığımızda yaklaşık alanda iki kata yakın fark olmasında rağmen 480cm^2 alandan yaklaşık üç kat daha fazla arı zehiri toplandığını görmekteyiz (Tablo 5 ve 6). Bu çalışmanın sonuçları Çaprazlı ve Kekeçoğlu'nun (2021) belirttiği gibi kovan içinde daha geniş cam yüzeyine sahip zehir toplama cihazı koyarak kovan önüne göre daha fazla zehir toplanabileceğini de desteklemektedir.

Arı zehirinde tespit edilen apamin, fosfolipaz A2 ve melittin miktarlarını değerlendirdiğimizde tüm numunelerde bu üç ana bileşenin tespit edildiği ve benzer çalışma sonuçlarıyla da piklerin geliş sırasının; apamin, fosfolipaz A2 ve melittin miktarlarının dağılımının uyumlu olduğu görülür (Kokot ve ark., 2009; Moreno ve Giralt, 2015; Sobral ve ark., 2016; Samancı, 2019; Samancı ve Kekeçoğlu, 2019; Gaber ve ark., 2020). Her iki tip cihazla, kovan önü ve içinden, öğle ve akşam vakti toplanan arı zehiri numunelerindeki apamin, fosfolipaz A2 ve melittin miktarlarının % ortalamalarını (Tablo 7-12) incelediğimizde, diğer çalışma sonuçlarıyla genellikle uyumlu olduğu görülmektedir (Moreno ve Giralt, 2015; Bogdanov, 2016; Şirin ve ark., 2017; Samancı, 2019; Samancı ve Kekeçoğlu, 2019; Gaber ve ark., 2020; Çaprazlı ve Kekeçoğlu, 2021; de Graaf, ve ark., 2021). Bir miktar bu çalışma sonuçları ortalaması düşük olmakla birlikte, bu durumun ana nedenlerinden biri ilkbaharda ve arıların yeni gelişmeye başladığı, yüksek rakımda (800 metre) ve serin bir havada toplanmış olmasına bağlayabiliriz. Ayrıca, iyi kalite olan beyaz renkte arı zehiri toplanması ve yaz aylarında toplanması durumunda bu miktarların daha da artması beklenmektedir. Toplanan arı zehirlerinin rengi genelde yeşilimsi sarımsı renge yakındır (Şekil 13). Bu da toplanan arı zehirlerinin polen ve nektar gibi

arılardan gelen diğer maddelerle kontamine olabildiğini göstermektedir. Bu konuda daha fazla çalışılmaması gerektiği kanısındayız. Arı zehiri içeriğinin arı zehirinin toplandığı mevsim, hangi arı ırkından elde edildiği, toplama şekli ve saklama şartlarına göre değişkenlik içerdiği bilinmektedir (Sanad ve Mohanny, 2013; Nowar, 2016; Bogdanov, 2016; Çaprazlı ve Kekeçoğlu, 2021; de Graaf, ve ark., 2021).

Sonuç olarak arı zehiri toplama cihazına bağlı olarak kovan önü veya içi ile öğle ve akşam vakti toplanan arı zehiri miktarlarının ortalamasının değişkenlik gösterdiği tespit edildi. Ancak bu çalışma şartlarında elde edilen bu sonuçlardaki farklılıklar istatistiki olarak önemli olmasa da toplanabildiğinde (serin ve soğuk havalarda toplanamayabiliyor) akşam vakti daha fazla arı zehiri toplanabildiği tespit edildi. Apamin, fosfolipaz A2 ve melittin miktarları oranlarında kovan önü ve içi ile öğle ve akşam vaktinde genel olarak istatistiki fark olmadığı görüldü. Ancak, Tip II cihazı ile toplanan arı zehirinde akşam toplanan numunelerin fosfolipaz A2 miktarının istatistiki olarak öğle toplanan numunelerin ortalamasından yüksek olduğu belirlendi. Arı zehirinin kovan önü ve içinden rahatlıkla toplanabildiği, iki toplama yönteminin de kendine göre avantaj ve dezavantajları olduğu bilinmektedir. Miktar olarak, kovan içinin birim zamanda daha fazla arı zehiri toplanmasına uygun olduğu, serin havalarda kovan içinden daha rahat zehir toplanabildiği kanısına varıldı. Bununla birlikte, kovan içinden arı zehiri toplamanın dezavantajlarının daha detaylı araştırılması gerektiği kanısındayız. Zehir toplama alanı arttıkça daha fazla zehir toplanabildiği tespit edildi. Arı zehiri içerikleri olarak, hedeflenen apamin, fosfolipaz A2 ve melittin analizlerinin başarılı bir şekilde yapıldığı, tespit edilen miktarların da genel ortalamalardan düşük kaldığı görüldü.

6. KAYNAKLAR

- Akay, M. (2018). Melittin, a major component of bee venom: Determination by capillary electrophoretic methods / Kapiler elektroforetik yöntemlerle arı zehrindeki majör bileşen melittinin analizi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Kimya Bilim Dalı. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=UWEvRQLqTpYm3dZMi_GwZA&no=aB4iavMROyxbLHiOjVcIUw
- Ali, E. M. (2014). Contributions of some biological activities of honey bee venom. *Journal of Apicultural Research*, 53(4), 441–451. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.4.13>
- Al-Ghamdi, A. A. ve Abou-Shaara, H. F. I. (2012). A Trap for the Collection of Honey Bee Venom. European Patent (EP2514306B1). <https://patents.google.com/patent/EP2514306B1/en>
- Benton, A. W. ve Morse, R. A. (1968). Venom toxicity and proteins of the genus *Apis*. *Journal of Apicultural Research*, 7(3), 113–118.
- Bogdanov, S. (2016). Bee Venom: Production, Composition And Quality. In: The Bee venom: Production, composition, quality. In: The bee venom book, Chapter 1, Bee product science. Muehlethurnen, Switzerland. Retrieved from May 2017. <http://www.bee-hexagon.net/venom/production-composition-quality> <https://doi.org/10.1080/00218839.1968.11100200>
- Chen, J. ve Lariviere, W.R. (2010). The nociceptive and anti-nociceptive effects of bee venom injection and therapy: A double-edged sword. *Progress in Neurobiology*, 92; 151–183. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.06.006>
- Cho, S. Y., Shim, S. R., Rhee, H. Y., Park, H. J., Jung, W. S., Moon, S. K., Park, J. M., Ko, C. N., Cho, K. H. ve Park, S. U. (2012). Effectiveness of acupuncture and bee venom acupuncture in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism ve Related Disorders*, 18(8), 948-952.
- Çaprazlı, T. ve Kekeçoğlu, M. (2021). Bal Arısı Zehrinin Kompozisyonunu ve Üretim Miktarını Etkileyen Faktörler (Factors Affecting the Composition and Production Amount of Honey Bee Venom). *U.Ü. Arı Derg./U. Bee J.* 21: 132-145, <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.901279>

- Danneels, E. L., Van Vaerenbergh, M., Debyser, G., Devreese, B. ve de Graaf, D.C. (2015). Honeybee venom proteome profile of queens and winter bees as determined by a mass spectrometric approach. *Toxins*, 7(11), 4468-4483. <https://doi.org/10.3390/toxins7114468>
- De Graaf, D. C., Brochetto Bragab, M. R., Claro, R., de Abreu, R. M. M., Blank..., S., Bridts, C. H., ... Van Vaerenbergh, M. (2021). Standard methods for Apismellifera venom research, *Journal of Apicultural Research*, 60(4): 1-31.
- Doğanay, A. ve Aydın, L. (2021). Bal Arısı Kolonisinin Sosyal Yapısı ve Davranışları. Bal Arısı Yetiştiriciliği, Ürünleri, Sağlığı içinde (s. 126-151). Bursa: Bora Basım Yayın Dağıtım Ltd. Şti. ISBN: 978-975-2447-04-2
- Dotimas, E. M., ve Hider, R. C. (1987). Honey bee venom. *Bee World*, 68(2), 51–70. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1987.11098915>
- Gaber, S., Elsayed, E., Ashour, M. H., Elsayeh, H. A. S., Wahed, W. Y. A., Khalil, M. A. F., ... Gomaa, E. (2020). Propolis Extract: A Possible Antiseptic Oral Care against Multidrug-Resistant Non-Fermenting Bacteria Isolated from Non-Ventilator Hospital-Acquired Pneumonia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(1), 123-131.
- Dodoloğlu, A. ve Genç, F. (2017). Arıcılığın Temel Esasları. Atatürk Üniversitesi Ofset Tesisi.
- Han, S. M., Lee, K. G., Yeo, J. H., Kweon, H. Y., Woo, S. O., Lee, M. L., ... Kim, C. G., (2007). Device for Collecting Bee Venom. WIPO Patent (WO2007037566A1). <https://patents.google.com/patent/WO2007037566A1/en>
- Kaftanoğlu, O., Kumova, U. ve Yeninar, H. (1992). Varroa Mücadelesinde Son Gelişmeler. Doğu Anadolu Bölgesi I. Arıcılık Semineri., Erzurum, Türkiye. 127-168.
- Kim. C. M. H. (2013). Apitherapy – Bee Venom Therapy. *Biotherapy - History, Principles and Practice*. Springer Netherlands. (pp. 77-112).
- Kokot, Z. J. ve Matysiak, J. (2009). Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LCD-AD. *Chromatographia*, 69(11-12), 1401-1405.
- Lee, Y., Kim, S., Kim, I. ve Lee, H. (2018). Standardization of the Manufacturing Process of Bee Venom Pharmacopuncture Containing Melittin as

the Active Ingredient. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine (eCAM)*. Article ID: 2353280, 7 sayfa. <https://doi.org/10.1155/2018/2353280>

Liu, S., Yu, M., He, Y., Xiao, L., Wang, F., Song, C., Sun, S., Ling, C., ve Xu, Z. (2008). Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway. *Hepatology*, 47(6), 1964–1973.

Moreno, M. ve Giralt, E. (2015). Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan. *Toxins*, 7: 1126-1150. <https://doi.org/10.3390/toxins7041126>

Nowar E. E. (2016). Venom Glands Parameters, Venom Production and Composition of Honeybee *Apis mellifera* L. Affected by Substitute Feeding, Middle East. *Journal of Agriculture Research*, 5(4), 596-603. ISSN: 2077-4605

Oruç, H. H. ve Aydoğdu, G. (2021). Arı Zehiri. Bal Arısı Yetiştiriciliği, Ürünleri, Sağlığı içinde (s. 193-197). Bursa: Bora Basım Yayın Dağıtım Ltd. Şti. ISBN: 978-975-2447-04-2

Pacakova, V., Štulík, K., Hau, P. T., Jelinek, I., Vinš, I. ve Sýkora, D. (1995). Comparison of high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the determination of some bee venom components. *Journal of Chromatography A*, 700(1), 187-193.

Rady, I., Siddiqui, I. A., Rady, M. ve Mukhtar, H. (2017). Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy. *Cancer Letters*, 402, 16-31. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.010>

Robson, C. H. (1988). Bee Venom Collection Apparatus. (1988, 26 Nisan). U.S. Patent (US4739531A). <https://patents.google.com/patent/US4739531A/en>

Rybak-Chmielewska, H. ve Szczêsna, T. (2004). HPLC Study of Chemical Composition of Honeybee (*Apis Mellifera* L.) Venom. *Journal of Apicultural Science*. 48(2), 187-193.

Samancı, T. (2019). Anadolu balarısı (*Apis mellifera anatoliaca*)’ndan doğal olarak elde edilen arı zehirlerinin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Düzce Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Tez No: 598807.

Samancı, T. ve Kekeçoğlu, M. (2019). Anadolu Bal Arısı Arı Zehrinin ve Ticari Olarak Elde Edilen Arı Zehirlerinin Kimyasal İçerik Bakımından

- Karşılaştırılması (Comparison of commercial and Anatolian bee venom in terms of chemical composition). *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19(1), 61-68.
- Sanad, R. E. ve Mohanny, K. M. (2013), The Efficacy of a New Modified Apparatus for Collecting Bee Venom in Relation to Some Biological Aspects of Honeybee Colonies. *Journal of American Science*, 2013; 9(10): 177-182. ISBN: 1545-1003.
- Serrinha, V., Correia, S. D. ve Gastão Marques, G. (2019). Productivity and Economic Analysis of a New Intensive Collector in the Portuguese Market with Implication of Open Innovation Perspective. *J. Open Innov. Technol. Mark. Complex.* 5(3), 71.
- Selçuk, M., Dinç, H. ve Karabağ, K. (2010). Bal arısı zehrinin biyokimyasal yapısı ve tıptaki yeri. MYO-ÖS 2010 - Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu. <https://www.yumpu.com/tr/document/read/23888703/bal-arasa-zehrinin-biyokimyasal-yapasa-ve-taptaki-yeri>
- Sorucu, A. (2019), Arı Ürünleri ve Apiterapi. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*,10(1), 1-15. ISSN: 1309-4769.
- Skubida, P., Muszynska, J., Rybak, M. ve Marcinkowski, J. (1995). Bee venom collection and its effect on the general output of the apiary and wintering, *Pszczelnicze-Zeszyty-Naukowe*, 39(2), 209–221. ISSN: 0552-4563.
- Sobral, F., Sampaio, A., Falcão, S., Queiroz, M.J.R.P., Calhelha, R.C., Vilas-Boas, M. ve Ferreira, I. C. F. R., (2016). Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal. *Food Chem. Toxicol.*, 94, 172–177.
- Son, D. J., Lee, J. W., Lee, Y. H., Song, H. S., Lee, C. K. ve Hong, J. T. (2007). Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacology & Therapeutics*, 115(2), 246-270.
- Şahinler, N., Toy, N. Ö. ve Şahinler, S. (2019) Arı zehri ve kullanım alanları, 4th International Anatolian Agriculture, Food, Environment and Biology Conference, Congress Book.. Ed.: Şekeroğlu, A., Eleroğlu, H. ve Duman, M..394-399.

Şirin, Y., Çakır, H.E., Can, Z., Yıldız, O. ve Kolaylı, S. (2017). Bal arısı zehrinin karakterizasyonunda sds-page elektroforez kullanılabilirliğinin araştırılması. *Uludağ Arıcılık Dergisi*,16(2), 49-56.

Tunca, R. İ. ve Tunca, H. (2021). Apiterapide arı zehrinin özellikleri. Atayoğlu A.T.(Ed.), Apiterapi. 1. Baskı (s. 149-153). Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021.

Vetter, R. S., Visscher, P. K., Camazine, S. (1999). Mass envenomations by honey bees and wasps. *West J Med*, 170(4), 223–227.

Zalat, S., Nabil, Z., Hussein, A. ve Rahka, M. (1999). Biochemical and haematological studies of some solitary and social bee venoms. *Egyptian Journal of Biology*, 1, 57–71. ISSN: 1110-6859

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

C

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
 cm^2 : Santimetre kare

D

DAD: Diode Array Detector
dk:Dakika

H

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

L

L: Litre

M

mg: Miligram
 μg : Mikrogram

8. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ve bu tezin hazırlanmasında desteğini esirgemeyen ve değerli bilgilerini benimle paylaşan, kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana ve çalışmama faydalı olabilmek için elinden gelenin fazlasını sunan, bir sorunla karşılaştığımda rahatça arayabildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve şu ana kadar bana verdiği değerli bilgilerden fazlasıyla faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Ayrıca yüksek lisans derslerimde bilgi ve tecrübelerinden fazlasıyla yararlandığım Prof. Dr. Songül Sonal, Doç. Dr. Murat Cengiz'e, tez yazımında tecrübesini esirgemeyen Dr. Meltem Çaycı'ya ve sonuçların istatistiki değerlendirmesini yapan Dr. Öğr. Üyesi Ender Uzabacı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saha çalışmalarımızda özellikle zehir toplama cihazı konusunda bizlere destek veren Apimaye Arıcılık Ekipmanları Ltd. Şti. Genel Müdürü Emre Yıldırım ve Manisa bölgesinden profesyonel arıcı dostumuz, Murat Almışlar'a teşekkür ediyorum. Yine saha çalışmalarında cihazlarını kullanımımıza sunarak ve tecrübelerini bizimle paylaşarak destek olan Hakan Şen ve Yavuz Sin'e teşekkür ederim.

Bu çalışma süresince saha çalışmalarımnda bana destek veren eşim Birgül Aydoğdu, oğlum Furkan Aydoğdu ve kızım Senanur Aydoğdu'ya ve tüm arıcı dostlarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Gökhan AYDOĞDU
03 /05/ 2022

9. ÖZGEÇMİŞ

Lisans eğitimimi Havayolları ve Turizm Sanayi üzerine 1992 – 1994 yılları arasında Oxford Üniversitesi yaptım. 2009 – 2013 yılları arasında Anadolu Üniversitesi, İktisat Fakültesini örgün eğitimle bitirdim. 2019 yılında beri Anadolu Üniversitesi, Laborant ve Veteriner Sağlık bölümünde eğitimime devam etmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım. Kaz dağlarında 3 ayrı noktada arı çiftliğim var ve Apimaya markası altında üretim yapıyoruz. Aktif olarak arıcılık ve arı ürünleri satışı yapmaktayım.