

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Apis mellifera
(INSECTA :HYMENOPTERA :APOIDEA :APIDAE)
ZEHRİNDEKİ HİSTAMİNİN ELEKTROKİMYASAL
OLARAK İNCELENMESİ

Tezi Hazırlayan
Mehtap ÇALIŞKAN

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2015
NEVŞEHİR

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Apis mellifera
(INSECTA :HYMENOPTERA :APOIDEA :APIDAE)
ZEHRİNDEKİ HİSTAMİNİN ELEKTROKİMYASAL
OLARAK İNCELENMESİ

Tezi Hazırlayan
Mehtap ÇALIŞKAN

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

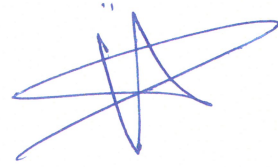
Ocak 2015
NEVŞEHİR

Yrd. Doç. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU danışmanlığında **Mehtap ÇALIŞKAN** tarafından hazırlanan " *Apis mellifera* (Insecta :Hymenoptera :Apoidea :Apidae) Zehrindeki **Histaminin Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

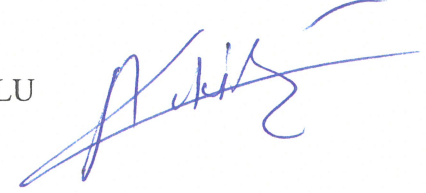
30.01/2015

JÜRİ

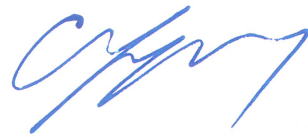
Başkan : Doç.Dr. Ümmihan T. YILMAZ



Üye : Yrd.Doç. Dr. AYSEL KEKİLLİOĞLU



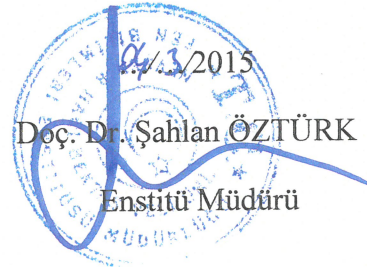
Üye : Yrd. Doç. Dr. Ramazan MERT



ONAY:

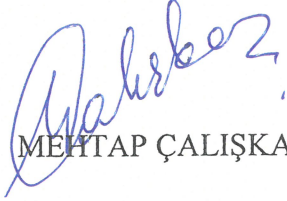
Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun. 30.01.2015..tarih ve. 2015/06..05 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

04/3/2015
Doç. Dr. Şahlan ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.


MEHTAP ÇALIŞKAN

TEŞEKKÜR

“*Apis mellifera* (Insecta :Hymenoptera :Apoidea :Apidae) Zehrindeki Histaminin Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi” konulu tez çalışmamın seçiminde, yürütülmesinde, ve sonuçlandırılmasında benden manevi destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın Yrd.Doç.Dr Aysel KEKİLLİOĞLU’na teşekkür ederim.

Yapılan çalışmada benden fikirlerini esirgemeyen, deneyimlerini paylaşan hocam Kimya Bölümü Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Haşim YILMAZ’a, Sayın Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ’a ve çalışmamızın deneysel aşamasını birlikte yürüttüğüm Derya İNAN’a katkı ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmamızda arı zehrinin temininde bize yardımcı olan Zonguldak/Ereğli Arıcılar Birliği Başkanı Sayın Selahattin GÜNEY’e ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi destekleri ile her an yanımda olan, benden sabır ve anlayışını esirgemeyen sevgili babam Selahattin ÇALIŞKAN annem Alime ÇALIŞKAN kız kardeşlerim Sevtap ÇALIŞKAN, Serap ÇALIŞKAN GÜRBAK, eniştem Adem GÜRBAK ve canım yeğenlerim Ceren Su ve Yağız Ali GÜRBAK’ a çok teşekkür ederim.

Apis mellifera
(INSECTA :HYMENOPTERA :APOIDEA :APIDAE) ZEHRİNDEKİ
HİSTAMİNİN ELEKTROKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

MEHTAP ÇALIŞKAN

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2015

ÖZET

Biyojen bir amin olan histaminin organizma metabolizmasında birçok fizyolojik ve patolojik etkisi bulunmaktadır. Histamin, dolaşım, solunum ve sinir sistemi rahatsızlıklarına; deride kızarıklık, şişme, kaşıntı vb alerjik reaksiyonlara; mide, tükürük bezi ve bronşlardaki salgı hücre ve bezlerinde çeşitli salgılama bozukluklarına neden olmaktadır. Normal olarak ağızdan alınan histamin, çeşitli vücut dokularındaki histamin düzeyini etkilememesine karşın, kandaki konsantrasyonu metabolizma tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Ancak vücuttaki histamini düzenleyen mekanizma, alınan histaminin tamamını regüle etmede yetersiz kaldığında veya aşırı derecede histamin alındığında veya diğer toksik maddeler ile histamin metabolizması bozulduğunda, histamin zehirlenmesi ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte; bazı ilaçların etki mekanizmasında ve yan etkilerinin oluşmasında, dokularda histaminle etkileşimleri önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle canlıda doğrudan veya dolaylı toksik etkiye sahip olan histaminin varlığının tespiti önemlidir. Özellikle Apidae: Insecta: Hymenoptera türü arı zehirleri yüksek miktarda histamin içerebilmektedir. Mevcut bilgilere göre, Histamin; arı zehirinin yaklaşık %1-%2' sini oluşturmaktadır. Bu nedenle arı zehrindeki eser miktardaki histamin tayini önemlidir. Eser miktardaki histaminin analizi için elektrokimyasal yöntemler kullanılmıştır. Histaminin elektroaktif olduğu yöntem ve şartlar araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda öncelikle çeşitli elektrolit ortamlarında (HCl, Britton Robinson, H₂SO₄ ve fosfat tamponu v.b.) histaminin pik akımları araştırılmıştır. Deneysel çalışmada; pH 10 Britton Robinson 10 mL elektroliti

içinde 0.5 mL 1×10^{-2} M Cu(II) iyonlarının polarogramı alınmış ortama 0.2 mL arı zehiri ilave edilerek -0.45 V'da arı zehiri içerisindeki histamine ait pik gözlenmiş ve devamında standart hismatin (0.1 mL 10^{-3} M) eklemeleri ard arda iki defa tekrarlanarak arı zehrindeki histamin miktarı belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışma ile *Apis mellifera* L.,1758 (Insecta: Hymenoptera: Apoidea) türü 1g arı zehrinde 25,3mg histamin tayini yapılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Histamin, Arı zehri, Insecta, Hymenoptera, Apidae,
Elektrokimyasal metod, KDSV, DV

Tez Danışman: Yrd. Doç. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU

Sayfa Adeti: 75

ELECTROCHEMICAL INVESTIGATION OF HISTAMINE IN VENOM OF
APIDAE (INSECTA: HYMENOPTERA: APOIDEA)

(M. Sc. Thesis)

Mehtap ÇALIŞKAN

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2015

ABSTRACT

There are many physiological and pathological effects of histamine on metabolism of the organism as an biogenic amine. Histamine causes, circulatory, respiratory and nervous system disorders; skin redness, swelling, itching, allergic reactions, and various disorders in the salivary glands and bronchial secretion in the secretory cells and glands. Although, histamine that is taken by orally doesn't effect the level of it on several body parts, is under control strictly by metabolism. But, when the mechanism that regulates the histamine in body is inefficient causes to histamine as poison. However; the formation of the mechanism of action and side effects of some medications, interaction with histamine in tissues plays an important role. Therefore, detecting the presence of histamine with direct or indirect toxic effect in vivo is important. Especially Apidae: Insecta: Hymenoptera species of bee venom has a high amount of histamine can comprise. According to current knowledge, histamine; bee venom of about 1% -2% 'constitutes' part. Therefore, bee venom is important in the determination of trace amounts of histamine. Electrochemical methods were used for the analysis of trace amounts of histamine. Method by which histamine is electroactive and conditions were investigated. Primarily in studies in various electrolyte medium (HCl, Britton Robinson, H₂SO₄ and phosphate buffer, etc.), the peak current of the histamine was investigated. In the experimental study; pH 10 Britton Robinson 0.5 ml in 10 ml of electrolyte $1 \cdot 10^{-2}$ M Cu (II) ions polarograms received media by adding 0.2 ml of venom -0.45 V that was monitored peak of histamine in the bee venom and the adding standard histamin (0.1 mL

1.10⁻³M) sequentially to determine the amount of it in twice of bee venom. As a result of this work with *Apis mellifera* L.,1758 (Insecta: Hymenoptera: Apoidea) species in 1g bee venom, 25.3 mg histamine determination is made.

KEY WORDS: Histamine, Bee venom, Insecta, Hymenoptera, Apidae, Electrochemical method, KDSV, DV

Thesis Supervisor: Assist. Prof. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU

Page Number: 75

İÇİNDEKİLER

KABÜL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEZ BİLDİRİMİ.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
RESİMLER LİSTESİ.....	xv
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xvi
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. APİDAE (INSECTA :HYMENOPTERA :APOIDEA) BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ.....	7
2.1.1. Bir kolonide bulunan arı tipleri.....	8
2.1.1.1. Ana arı.....	8
2.1.1.2. İşçi arılar.....	8
2.1.1.3. Erkek arılar.....	9
2.1.2. Arı faaliyetleri.....	9
2.1.2.1. Nektar taşıma.....	9
2.1.2.2. Su taşıma ve depolama.....	10
2.1.2.3. Propolis toplama.....	10
2.1.2.4. Polen toplama.....	10

2.2. APİDAE'NİN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ	11
2.2.1. Baş.....	12
2.2.2. Thorax	13
2.2.3. Abdomen	14
2.1.3. Arinin biyolojik gelişme dönemleri	15
2.1.3.1. Yumurta.....	15
2.1.3.2. Larva	16
2.1.3.3. Pupa.....	16
BÖLÜM 3	
ARI ZEHİRİ.....	17
3.1. ARI ZEHİRİNİ OLUŞTURAN BİLEŞİKLER VE ETKİLERİ.....	18
3.1.2. Arı zehirinin kullanım alanları	21
3.1.3. Arı zehirinin toplanması.....	22
3.1.4. Arı zehrin saklanması.....	23
3.1.4. Arı zehirinin pazarlanma şekli	23
BÖLÜM 4	
HİSTAMİN	24
4.2. HİSTAMİNİN VÜCUTTA DAĞILIMI.....	25
4.2.1. Mast hücreleri.....	25
4.2.2. Nöronal histamin.....	25
4.2.3. Diğer hücrelerdeki histamin.....	26
4.3. HİSTAMİNİN BİYOTRANSFORMASYONU	26
4.4. HİSTAMİN RESEPTÖRLERİ.....	26
4.4.1. Histamin H1	27
4.4.2. Histamin H2	28
4.4.3. Histamin H3	28

4.4.4. Histamin H4	28
BÖLÜM 5	
ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLER	29
5.1. VOLTAMETRİ	29
5.1.1. Polarografi	30
5.1.2. Polarografi yöntemleri	32
5.1.2.1. Akım-örnekleme (TAST) polarografisi	32
5.1.2.2. Normal puls polarografisi	33
5.1.2.3. Diferansiyel puls polarografisi	34
5.1.2.4. Kare dalga puls polarografisi	36
5.1.2.5. Dönüşümlü voltametri	37
BÖLÜM 6	
DENEYSEL ÇALIŞMALAR	39
6.1. MATERYAL VE METOD	39
6.1.1. Voltametri cihazı	39
6.1.2. Çalışma elektrodu	40
6.1.3. Referans elektrot	41
6.1.4. Karşıt elektrot	41
6.1.5. Ph metre	41
6.1.6. AZOT GAZI	41
6.2. REAKTİFLER, ÇÖZELTİLER VE HAZIRLANMALARI	41
6.2.1. Kullanılan reaktifler	41
6.2.2. Çözeltilerin hazırlanması	42
BÖLÜM 7	
DENEYSEL BULGULAR	47

7.1. HİSTAMİNİN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞININ İNCELENMESİ, TAYİNİ VE ANALİTİK UYGULAMALARI	47
7.1.1. Destek elektrolit seçimi ve Ph etkisi	47
7.1.1.1. Fosfat destek elektrolitinde histaminin voltametik davranışının incelenmesi	48
7.1.1.2. Sülfürik asit ve sülfat iyonları destek elektrolitlerinde histaminin voltametik davranışının incelenmesi	48
7.1.1.3. Hac/Naac destek elektrolitinde histaminin voltametik davranışının incelenmesi	48
7.1.1.4. Britton-Robinson (B-R) tamponunda histaminin voltametik davranışının incelenmesi	49
7.2. GİRİŞİM ETKİSİ	55
7.2.1. Elektroaktif iyonların girişim etkilerinin incelenmesi	55
7.2.2. Elektroaktif olmayan iyonların girişim etkilerinin incelenmesi	56
7.3. HİSTAMİNİN DÖNÜŞÜMLÜ VOLTAMETRİ (DV) ÇALIŞMALARI	56
7.4. GELİŞTİRİLEN YÖNTEMİN ARI ZEHİRİNDEKİ HİSTAMİNE UYGULANMASI	59
BÖLÜM 8	
SONUÇ VE TARTIŞMA	62
KAYNAKLAR	67
ÖZ GEÇMİŞ	73

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1. Arı zehiri bileşimindeki maddeler.....	19
Tablo 3.2. Arı zehiri bileşenlerinin terapötik etkinlik gösterdiği hastalıklar.	22
Tablo 4.1. Histaminin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	25
Tablo 7.1. 10,0 Ml B-R Tamponunda Histamin ve Cu-Histamin Kompleksinin Voltametik Davranışının Ph İle Değişiminin İncelenmesi.	52
Tablo 7.2. pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında farklıderişimlerdeki Cu-hist. kompleksinin miktar tayini	54
Tablo 7.3. Arı zehiri numunesindeki histaminin tayini.....	61
Tablo 8.1. Hymenoptera zehir bileşiminde Histamin ve diğer Biyokimyasal mad.....	65

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>Apis mellifera</i> sistematik kategorileme.....	6
Şekil 2.2. Bombus arısında başın anteriordan şematik görüntüsü	13
Şekil 4.1. Histidin aminoasitinin dekarboksilasyon ile histamine indirgenmesi.	24
Şekil 5.1. Üç tip elektrot için çeşitli destek elektrolitlerin sulu ortamda potansiyelleri ..	30
Şekil 5.2. Damlayan civa elektrot	32
Şekil 5.3. 0,01MHCl ortamında 1×10^{-5} M Cd(II) iyonlarının polarogramları.....	33
Şekil 5.4. 0,01M HCl ortamında 1×10^{-5} M Cd(II)'nin polarogramları	34
Şekil 5.5. Diferansiyel puls polarografisinde her damla için potansiyel programı.....	35
Şekil 5.6. Diferansiyel puls polarografisinde tek bir damlanın gelişim	35
Şekil 5.7.b. Kare dalga voltametrisinde Potansiyel-akım grafiği.....	37
Şekil 5.7.a. Kare dalga voltametrisinde Potansiyel-zaman	36
Şekil 5.8. Dönüşümlü voltametrizde.....	38
Şekil 7.1. 10,0 mL pH 8,0' de HAc/NaAc destek elektrolitinde Cu(II) çözeltisi ortamındaki histaminin voltamogramı	49
Şekil 7.2. 10,0 mL pH10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist. kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı	50
Şekil 7.3. 10,0 mL pH10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist. kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı.....	53
Şekil 7.4. Pb^{+2} iyonunun histamin tayinine girişim etkisinin incelenmesi.	56
Şekil 7.5. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL 1×10^{-4} M Cu-hist kompleks pikinin dönüşümlü voltamogramı	57
Şekil 7.6. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL 1×10^{-4} M Cu-hist kompleks pikinin tarama hızı ile değişiminin incelenmesi.....	58

Şekil 7.7. 10,0 mL pH 10,0 B-Rtamponunda 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL 1×10^{-4} M Cu-hist. kompleks piki akımlarının tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi.....	58
Şekil 7.8. Histaminin pik akımları	60
Şekil 7.9. Geliştirilen yöntemin arı zehrine uygulanması	60

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1.a.)Kraliçe arı, b.)Erkek arı, c.)İşçi arının genel vücut görünümü.	7
Resim 2.2. Ergin işçi arının dış vücut yapısı.....	12
Resim 4.1. Histamin reseptörünün aktif ve inaktif formu	27
Resim 6.1. Bas model elektrokimyasal analizör	39
Resim 6.2. Azot gazı ile çalışan asılı damla civa elektrot sistemi.....	40

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

i_d	Limit akımı, (A)
$E_{1/2}$	Yarı dalga potansiyeli, (V)
E	Uygulanan potansiyel, (V)
t	Damla ömrü, (s)
i_p	Pik akımı, (A)
E_p	Pik potansiyeli, (V)
Pt	Platin
k	Randles-Sevcik sabiti
i_s	Sınır akımı, (A)
x	Elektrottan olan uzaklık, (cm)
F	Faraday sabiti, (C/eg)
D	Difüzyon katsayısı, (cm ² /s)
n	Transfer edilen elektron sayısı, (eg/mol)
A	Elektrodun yüzey alanı, (cm ²)
E^0	Standart potansiyel, (V)
E_{pa}	Anodik pik potansiyeli, (V)
E_{pk}	Katodik pik potansiyeli, (V)
I_{pk}	Katodik pik akımı, (A)
I_{pa}	Anodik pik akımı, (A)
I_d	Difüzyon akımı, (A)
I	Damla ömrü sonundaki akım, (A)
ΔE	Puls genliği, (V)
Kısaltmalar	Açıklama
KDSV	Kare dalga sıyrma voltametri
DV	Dönüşümlü voltametri

FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda Örgütü
CAS	Kimyasal kuramlar serisi
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
FDL	Floresans algılama
MS	Kütle spektroskopisi
DCE	Damlayan civa elektrodu
DC	Normal polarografi
DPP	Diferansiyel puls polarografisi
TAST	Akım-örnekleme polarografisi
ACDE	Asılı civa damla elektrodu

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Yeryüzündeki omurgasız canlıların $\frac{3}{4}$ 'ünü oluşturan böcekler, ekosistemin dengeli işleyişinde önemli işlevler yüklenmektedir. Arılar Insecta sınıfı ve Hymenoptera ordosu içerisinde yer alan böceklerdir. Hymenoptera ordosu Symphyta ve Apocrita olmak üzere iki alt takıma ayrılır. Apidae türlerinin de bulunduğu Apocrita alt takımı Tenebrantia ve Aculeata olmak üzere iki grupta incelenir. Parazit yaşayan Tenebrantia türleri, sokucu arılar olarak bilinen Aculeata türlerinden ovipozitör yapısı ile ayrılır. Aculeata'da ovipozitör avın paralyze edilmesi için iğneye dönüşmüştür. Tenebrantia'da ise, yumurtanın konağa bırakılması için özelleşmiştir [1].

Arı zehiri; berrak, keskin, acımsı tada sahip, ekşimtrak kokulu ve asit reaksiyonu olan enzimler, proteinler ve aminoasitlerden oluşan kompleks bir karışımdır. Suda çözünebilir özelliktedir [2]. Asidik yapıda olan arı zehiri oda sıcaklığında ağırlığının %30-40'nı kuruyarak kaybederek açık sarı renge dönüşür. Bazı ticari preparatlarsa kahverengi renkte olur. Bu durum arı zehirinde bulunan bazı proteinlerin oksidasyona uğramasıyla oluşur [3].

Histamin, insan vücudunda kendiliğinden olan doğal bir toksin olmayıp, iletici bir moleküldür. Aynı anda birden fazla yerde dağılım gösterir ve mast hücreleri, enterokoromaffin benzeri hücreler ve nöronlardan salgırlar. Histamin etkisini H1, H2, H3 ve H4 histamin reseptörleri üzerinden göstermektedir. Böylece çevresel sinir sisteminden, mide asit sekresyonunun kontrolüne kadar olan birçok hayati fonksiyonda görev almaktadır [4,5].

İnsan vücudu biyojen aminlerin neden olduğu çeşitli toksik etkilerin ortaya çıkmasını önleyen kuvvetli bir detoksifikasyon sistemine sahiptir. Histaminin toksisite derecesi vücudun detoksifikasyon sisteminin verimliliğine bağlı olarak değişebilir. Günlük diyetle normal düzeyde alınan biyojen aminler monoamin oksidaz ve diamin oksidaz enzimleri ile yıkıldıktan sonra asetillenerek *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* gibi bakteriler tarafından zararsız hale getirilirler ya da değişime uğramadan atılırlar. Çoğu bakteri amino asitleri dekarboksile eder ve aminlere çevirir [6,7,8].

Histamin, diamin oksidaz ve histamin metiltransferaz olmak üzere iki enzimatik yolla parçalanmaktadır. Parçalanma sonunda meydana gelen ürünlerin toksisitesi histaminden daha azdır. Sağlıklı insanlarda histaminaz tarafından metabolize edilen histamin dışkı ya da idrarla atılır. Oral yolla alınan histamin insanlarda bağırsaklarda yıkımlanır ve diamin oksidaz tarafından metabolize kan düzeylerinin artması engellenir. Yıkım özellikle kalın bağırsak mukozasında aminooksidazlarca gerçekleştirilmektedir. Ancak alınan histamin düzeyinin çok yüksek olması ya da histaminle birlikte histaminin metabolizmasını engelleyen veya histaminin toksisitesini yükselten diamin oksidaz ve histamin metiltransferaz olmak üzere iki enzimatik yolla parçalanmaktadır. Parçalanma sonunda meydana gelen ürünlerin toksisitesi histaminden daha azdır. Sağlıklı insanlarda histaminaz tarafından metabolize edilen histamin dışkı ya da idrarla atılır. Oral yolla alınan histamin insanlarda bağırsaklarda yıkımlanır ve diamin oksidaz tarafından metabolize kan düzeylerinin artması engellenir. Yıkım özellikle kalın bağırsak mukozasında aminooksidazlarca gerçekleştirilmektedir. Ancak alınan histamin düzeyinin çok yüksek olması ya da histaminle birlikte histaminin metabolizmasını engelleyen veya histaminin toksisitesini yükselten diamin oksidaz ve histamin metiltransferaz inhibitörlerinin alınması durumunda, zehirlenme olayları görülebilmektedir. Kadaverin, putresin, tiramin ve β -feniletilamin gibi aminler de diamin oksidaz ve histamin metiltransferazı engelleyerek, histaminin sindirim kanalından emilme oranını yükseltmekte ve histamin zehirlenmesi büyük oranda diğer biyojen aminlerin varlığında ve miktarlarına bağlı olarak gerçekleşmektedir [9].

Şüpheli gıdalarda yüksek miktarlarda histamin tespit edilmesi, zehirlenmenin gıdayı tüketen grubun hemen hemen tamamında gözlenmesi ve şüpheli gıdanın alerjik reaksiyonlara sebep olmadığı biliniyor histamin zehirlenmesinin gıda alerjisinden kolaylıkla ayrımını sağlamaktadır [9].

Arı zehiri, batı toplumlarında alternatif tedavi yöntemleri arasında sıkça başvurulan bir ajan durumundadır. Öyle ki, sadece Amerika'da son 10 yıllık periyotta çok sayıda multipl skleroz ve romatoid artrit hastasının klasik antiinflamatuar ve immünosupresif ajanlar yerine tedavide özellikle arı zehirini ya da bileşenlerini tercih ettikleri ifade edilmektedir. İnsan sağlığı açısından yeni ilaçlara duyulan ihtiyacı gidermede arı zehirine, zengin bileşimi ve çok çeşitli farmakolojik özellikleriyle son derece etkili bir alternatif gözle bakılabilir [10].

Arı zehiri önemli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir. Ancak aynı zamanda arı zehiri toksik bir etkiye de sahiptir bu nedenle zehirin kimyasal bileşimi ve bileşimin zehirlilik oranına etkisi araştırılmalıdır ki farmakolojik uygulamalarda başarılı olunabilsin. Bu nedenle gıdaların güvenilirliğinin tespitinde önem taşımaktadır [10].

Yapılan literatür çalışmalarında arı zehirindeki histaminin spesifik tayinine ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile literatürdeki bir boşluk doldurulmuştur.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

Hymenoptera takımı 20 bin civarındaki türü ile Insecta sınıfının en önemli gruplarından birini oluşturmaktadır. Insecta sınıfında yer alan böcekler, günümüzde bilinen hayvan türlerinin yaklaşık %90'ını içermektedir. Hymenoptera takımı, zarsı yapıda iki çift kanat bulunmasından dolayı 'Zar kanatlılar' olarak da bilinirler. Ön ve arka kanat hamuli adı verilen kancalarla birbirine tutturulmuştur ve uçuş sırasında birlikte hareket ederler. Ağız parçaları iyi gelişmiş mandibulları ile çiğnemeye adapte olmuştur. Çoğu türde ağız parçaları proboskis içinde gelişir. Böylece nektar gibi sıvı besinleri kolaylıkla alabilirler. Büyük birleşik gözleri ve tipik olarak üç adet basit gözleri (ocelli) vardır. Ovipozitör iyi gelişmiştir. Bazı gruplarında ovipozitör sokucu iğneye dönüşmüştür [11].

Dünyada 100.000 dolayında böcek türü taksonomik olarak sınıflandırılmıştır. Bu 100.000 tür içinde 23.000 dolayında arı türü bulunmaktadır. Arılar evrimleri süresince diğer böcek türlerinden farklılık göstererek kendilerine has morfolojik ve anatomik yapılarını geliştirmişlerdir. *Apis mellifera* L.,1758 polen toplamaya yarayan polen sepetçiklerinin oluşması, nektar ve polenle beslenmeye geçiş bu farklılaşmanın en tipik örnekleridir [12].

Apidae, bütün dünyada yaygın olarak yetiştirilmeleri nedeniyle doğadaki en önemli tozlayıcı böcek grubunu oluşturur. Doğal floradaki birçok bitkinin polinasyonunun sağlanmasında Apidae'dan sonra ikinci derecede rol oynayan ve 239 türü saptanan *Bombus* arıları, dünyada 30'dan fazla ülkede ve 25 farklı kültür bitkisinde de tozlayıcı olarak kullanılmaktadır [13,14,15].

Hymenoptera takımı; abdomenin thoraksa tüm genişliğiyle bağlandığı, çoğunluğu fitofag olan Symphyta alttakımı ve abdomenin bazal segmentinin thoraks ile kaynaşmış olduğu ve geri kalan abdomen segmentlerinden dar bir bel bölgesi ile ayrıldığı Apocrita alttakımlarına ayrılarak incelenmektedir [16].

Apocrita içinde ovipozitorleri iğne biçiminde gelişmiş olanlar Hymenoptera içindeki en büyük bölüm olan Aculeata'yı oluştururlar [17].

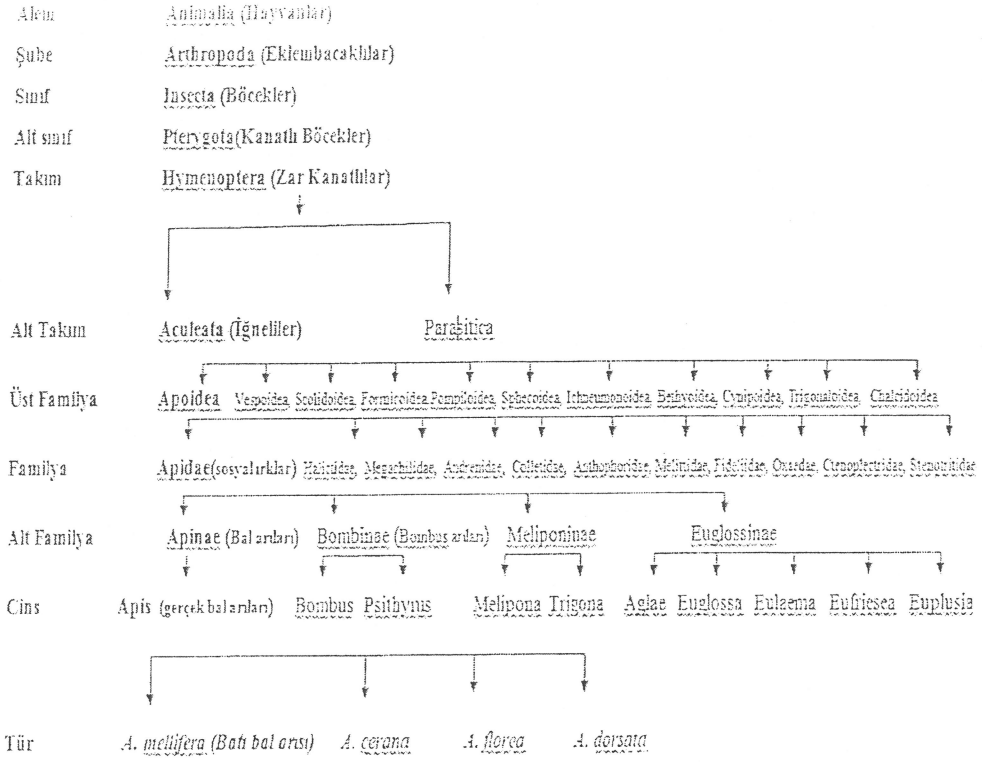
Apocrita'da abdomenin birinci segmenti toraks ile kaynaşmıştır. Abdomenin birinci ve ikinci segmentleri arasında arıya esneklik sağlayan ince bir sap (petiol) vardır. Ayaksız kurtçuk şeklinde olan larvaları parazit veya predatördür. Bu alt takım; Tenebrantia (mazi arıları, parazit arılar) ve Aculeata (sokucu arılar) olmak üzere iki gruba ayrılır [11].

Parazit yaşayan Tenebrantia türleri, sokucu arılar olarak Aculeata türlerinden ovipozitör yapısı ile ayrılır. Aculeata'da ovipozitör avın paralyze edilmesi için iğneye dönüşmüştür. Yumurta bırakma da rol oynamaz. Tenebrantia da ise, yumurtanın konağa bırakılması için özelleşmiştir [1].

Symphyta'da kanat damarları iyi gelişmiştir. Erginlerinde abdomen tüm genişliğince toraksa bağlanır. Ağız parçaları iyi gelişmiş ve çiğneyici tiptedir. Bitkilerle beslendiklerinden 'yaprak ve odun zararlısı' olarak da bilinirler. Dişilerde yumurta koyma borusu gelişmiştir. Yumurtalarını bitki dokusu içine bırakırlar [11].

Hymenoptera takımı Apidae familyasından *Apis mellifera* L.,1758 türü bal üretiminde kullanılır. Bal arıları bal ve diğer arı ürünleri dışında insan gıdasını sağlayan çoğu kültür bitkilerindeki tozlaşma rolünden dolayı tüketilen gıdaların 1/3'nün üretimini sağlamaktadır [18].

Dünya üzerinde *Apidae* familyasına bağlı dört tür bal arısı bulunmaktadır. Bunlar arasında en yaygın ve ekonomik önemi bulunanı *Apis mellifera* türüdür. Dünya üzerinde ekonomik değeri yüksek bal arısı ırkları İtalyan (*Apis mellifera ligustica*), Karniyol (*A.m. carnica*), Kafkas (*A.m. caucasica*), Avrupa esmer (*Apis mellifera mellifera*) ve Anadolu arıları (*Apis mellifera anatoliaca*) ile düşük ekonomik değere sahip Kıbrıs (*Apis mellifera cypria*) ve Suriye (*Apis mellifera syriaca*) arıları oluşturmaktadır. [19].



Şekil 2.1. *Apis mellifera* L.,1758 sistematik kategorileme [20].

Ülkemizde yaygın olan Anadolu arısı esmer renkli ve küçük yapılıdır. Kılıç ve Kalkan arısı olarak iki ayrı hattı bulunmaktadır. Kılıç arılarının hırçın karakterli ve kovan giriş deliğine dikey olarak petek ördüğü, Kalkan arılarının ise daha iyi huylu ve kovan giriş deliğine paralel petekler ördüğü bilinmektedir. Son yıllarda göçer arıcılık tipi yetiştiriciliğin yaygın olarak yapılması nedeniyle Anadolu arı ırkı diğer arılarla melezlenmiştir. Ülkemizde yaygın olarak kullanılan ve ekonomik değeri yüksek diğer arı ırkı Kafkas arısıdır. Anavatanı Orta Kafkasyadır. Özellikle Karadeniz ve Doğu Anadolu Bölgelerinin sınır bölgelerinde lokal formları koruma altına alınmıştır[19].

Ülkemizde 5 farklı bal arısı ırkı ile Avrupa (Batı) bal arısının (*Apis mellifera* L.,1758) gen merkezi olması nedeni ile arıcılık açısından dünya lideri olma potansiyelini bünyesinde barındırmaktadır. [21,22]. Son yıllarda artan virus hastalıklarına karşı ilaçlar etkili olmamaktadır. Bunun tek çözümü ise genetik varyasyonun çok olduğu ülke veya bölgelerdeki arıların arasından seçim yapıp ıslah edilerek bu tip kolonilerin

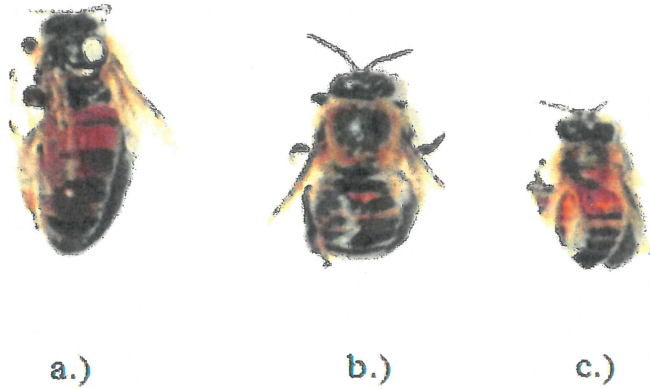
çoğaltılmasıdır. Türkiye bu konuda dünyadaki en avantajlı ülke konumundadır. Ülkemizde koloni sayısı ise 2008 yılında 4,888,961 ile dünyada Çin'den sonra 2. sırada ve toplam bal üretimi ise 81,364 ton ve koloni başına 16,6 kg olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde koloni sayısı 2010 yılında ise kayıtlı 5,4 milyon ve toplam bal üretimi ise 83,000 ton olarak tespit edilmiştir [22].

Gelişmiş ülkelerde son yıllarda çevre ve insan sağlığını korumak için organik ve biyolojik tarım teknikleri uygulanmaya başlanmıştır. Bu tarım tekniğinin en önemli unsuru doğal girdi kullanımınıdır. Bu açıdan Türkiye'de örtü altı sebze yetiştiriciliğinde tozlaşma amacıyla hormon yerine bombus arılarının kullanımı iyi tarım uygulamaları açısından da büyük önem taşımaktadır [23].

Ekonomik olarak bakıldığında bal arılarının bal ve diğer arı ürünleri hesaba katılmadan sadece tozlaşmadan sağladığı ekonomik yarar ABD'de 2000 yılında 15 Milyar dolar olarak hesaplanmış, Danimarka Üniversitesi'nde yapılan bir araştırmada bu rakamın Avrupa için 2011 yılında 22 Milyar Euro olarak rapor edildiği, ülkemizde ise bu konuda yapılmış bir değerlendirme çalışması bulunmamıştır [24].

2.1. Apidae (Insecta :Hymenoptera :Apoidea) Biyolojik Özellikleri

Bal arıları koloni adı verilen topluluklar olarak yaşayan sosyal böceklerdir. Bir arı kolonisinde ana arı, işçi arı ve erkek arı olmak üzere üç değişik tipte birey vardır.



Resim 2.1.a.)Kraliçe arı, b.)Erkek arı, c.)İşçi arının genel vücut görünümü [20].

2.1.1. Bir kolonide bulunan arı tipleri

2.1.1.1. Ana arı

Ana arı kolonide düzen ve sürekliliği sağlar. Ana arı döllenmiş yumurtadan oluşan dişi bireydir. Yumurtlama yeteneği en üst düzeydedir. Buna karşın yavrularına bakma ve besleme yeteneğine sahip değildir. Ana arının beslenme, bakım ve temizliklerini işçi arılar yaparlar. Vücut yapısı ince ve uzun, rengi işçi ve erkek arılara oranla daha açık, parlak ve canlıdır. Vücut uzunluğuna göre kanatları kısadır. Ana arılar yaşamları boyunca sadece çiftleşme ve koloninin oğul vermesi sırasında uçarlar. Ana arılarda polen sepeti, bal mumu salgı ve koku salgı bezleri gelişmemiştir. İşçi arılar ana arının varlığını, ana arıların çene altı bezinden salgıladığı feromonların varlığı ile anlarlar. Genç ana arı yüksek konsantrasyonda feromon salgılar ve daha çok ilgi görürler. Ana arının feromonları, çevresindeki işçi arılar tarafından duyurga teması ve besin alışverişi ile koloniye dağılmaktadır. Kolonide ana arı öldüğü veya kaybolduğu zaman işler aksar. Ana arılar 3-5 yıl yaşayabilmelerine karşın en verimli oldukları dönem ilk 2 yıldır [19].

2.1.1.2. İşçi arılar

İşçi arılar, döllenmiş yumurtalardan meydana gelirler. Koloninin gücüne ve mevsime bağlı olarak kolonideki işçi arı sayısı kış aylarında 10.000-20.000 arasında değişirken, ilkbaharda sayıları giderek artar ve yaz aylarında 60.000-80.000 adet olabilir [12].

İşçi arıların ömrü çıktıkları mevsime göre değişmektedir. İlkbahar ve yaz aylarında çıkan işçi arılar işlerin yoğun ve düşmanların fazla olması nedeniyle 30-35 gün yaşarlar. Ancak sonbaharda çıkan işçi arılar, kışı yorulmadan kovan içerisinde bal yiyerek geçirdikleri için 5-6 ay yaşayabilmektedir. İşçi arılar yaşamı boyunca kovan içi ve dışındaki tüm işleri, aralarında işbirliği yaparak planlı bir şekilde yürütürler [19].

1. 0-3 günlük yaşta; kendisini ve yavru gözlerini temizler ve yavrulu gözler üzerinde dolaşarak kuluçka sahasında gerekli sıcaklığın oluşmasını sağlar.
2. 3-6 günlük yaşta; petek gözlerinden aldığı çiçek tozu ve bal ile hazırladığı karışımla yaşlı larvaları besler.
3. 5-15 günlük yaşta; arı sütü salgılayarak genç larvaları besler.

4. 12-18 günlük yaşta; balmumu üretip petek örer ayrıca kovan temizliğiyle de uğraşır.
5. 18-20 günlük yaşta; kovan uçuş deliğinde ve uçuş tahtası üzerinde nöbet tutarak kovan bekçiliği yapar.

İlk 20 gününü kovan içinde, kovan içi hizmetlerle tamamlayan ve 21 günlük olan işçi arılar artık kovan dışı hizmetler için hazırlardır. Ömürlerinin geri kalan kısmını kovan dışında ve arazide çalışarak kovana nektar, polen, propolis ve su taşırlar. Kovan dışı görevleri yapan bu arılara "tarlacı arılar" denir. Tarmacı arıların kovan dışı hizmetleri aşağıda sıralanmıştır [12].

2.1.1.3. Erkek arılar

Döllenmemiş yumurtadan erkek arılar oluşur. Kolonide erkek arı sayısı oğul verme döneminde artış gösterir. Yaşam süreleri 5-7 aydır. Kolonide başlıca görevi ana arı vücudundaki yumurtaları dölmektir. Erken ilkbahar ve sonbaharda yavru petekleri üzerinde larvaların ısınmasını sağlarlar. Ancak çok fazla bal tüketmeleri nedeniyle oğul mevsiminden sonra işçi arılar tarafından öldürülerek kovan dışına atılırlar. Erkek arıların iğneleri olmadığı için kendilerini tehlikelerden koruyamazlar. Nektar ve polen toplamak için gerekli organları gelişmediği için de koloni işlerine yardım edemezler [19].

2.1.2. Arı faaliyetleri

2.1.2.1. Nektar taşıma

Arıların bal yapmak üzere çiçeklerden topladıkları şekerli sıvıya nektar (bal özü) denir. Arı, bir çiçekte nektar olup olmadığını diliyle belirler. Ayrıca nektarın kokusunu da algılayarak nektar olup olmadığını anlar. Arı, nektarı bulduğu anda hızla kursağına (bal midesi) çeker, kursağını dolduruncaya kadar çiçekleri dolaşır. Arı, küçük çiçeklerden 1000-1500 çiçek ziyaret ederek kursağını doldururken bazen büyük çiçeklerden 100 ziyaretle kursağını doldurabilmektedir. Nektar taşıyan bir arının günlük sefer sayısı ortalama 8-10'dur. Bu sayı 24'e kadar çıkabilmektedir. Arının bir seferde taşıyabildiği nektar miktarı 30-50 mg'dır. Koloniye nektar getiren arı polen toplamada olduğu gibi petek üzerinde dans ederek nektar kaynağının yerini ve kovandan olan uzaklığını

kendisini izleyen diğer arılara tarif eder. Getirdiği nektardan bir miktar kendisini izleyen arılara vererek taşıdığı nektarın şeker konsantrasyonu (yoğunluğu) hakkında bilgi verir. Arılar şeker konsantrasyonu yüksek olan nektarları tercih ederler [12].

2.1.2.2. Su taşıma ve depolama

Yaşayan bütün organizmaların suya ihtiyaç duymaları gibi arılar da suya ihtiyaç duyarlar. Ayrıca arılar suyu balın sulandırılmasında, kovana içini serinletmekte ve kovana önünü nemlendirmekte kullanılmaktadır. Suyu kovana taşıyan arılar kovana içine geldiklerinde, getirdikleri suyu diğer arılara aktarırlar. Sıcak ve kurak havalarda suyu polen ve nektar gibi depolamaktadır. Su depolama işi peteğin üst kısmına, bal mumu ile yapılan küçük bölmelere depolanır. Su taşıyan arılar 1 günde ortalama olarak 50 sefer yaparlar. Kovana taşınan su miktarı ortalama 25 mgr olup 50 mgr.a kadar çıkabilir. Dolayısıyla bir arı bir günde 1250 mg su taşımaktadır. Böylece kovana 1 litre su taşınabilmesi için 800 arının su taşıması gerekir [27].

Su kaynağının yeri, su taşıyan işçi arılarca nasanof feromonu ile işaretlenip diğer arılar tarafından daha kolay bulunması sağlanır [12].

2.1.2.3. Propolis toplama

Propolis bitkilerin taze sürgün ve tomurcuklardan arıların topladıkları reçineli bir maddedir. Kovana soğuktan korumak amacıyla delik, çatlakların kapatılmasında, uçuş deliklerinin daraltılmasında kullanılır. Özellikle erken ilkbahar ve sonbaharda toplanmaktadır. İşçi arılar ağız yardımıyla bitkiden aldıkları propolisi polen sepeti ile kovana getirirler. Bir arı bir seferde yaklaşık 10 mg propolis kovana getirebilir [19].

2.1.2.4. Polen toplama

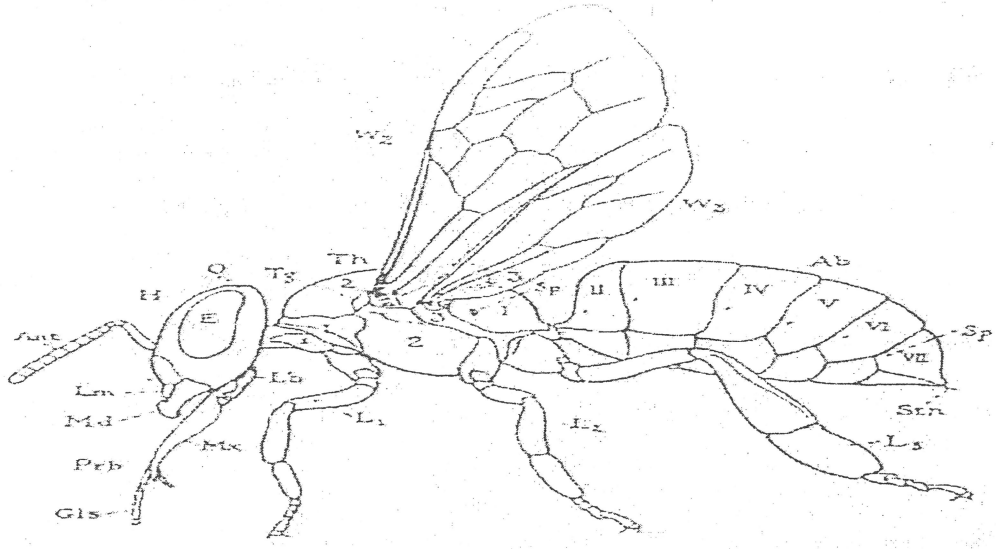
Polen protein, yağ, vitamin ve mineral madde kaynağıdır. Polen olmadan koloni kuluçka faaliyetini sürdüremez, işçi arılar arı sütü salgılayamaz. İşçi arı, çiçekleri dolaştıktan sonra vücudu üzerindeki poleni orta bacağındaki tüyler vasıtasıyla arka bacaklarında bulunan polen sepetine aktararak kovana götürür ve petek gözüne bırakır. Kovana içi hizmeti gören genç işçi arılar bu poleni göz içerisine çene ve başı ile yerleştirir ve dili ile de nemlendirirler. Bir polen yükü olan iki polen kümesini

yapabilmek için 50-100 çiçeğin ziyaret edilmesi gerekir. Bir petek gözünün polenle dolması için 1500 yonca çiçeğinin ziyaret edilmesi lazımdır. Polen toplamak için günlük uçuş sayısı ortalama 6-8 olmasına rağmen bu sayı 45'e kadar çıkabilmektedir. İşçi arının arka bacağında taşıdığı bir polen kümesinin ağırlığı 12-25 mg arasında değişmektedir. Koloniye polen getiren arı, polen kaynağının yerini ve kovandan olan uzaklığını petek üzerinde özel bir dans yaparak diğer arılara tarif eder [12].

2.2. Apidae'nin Morfolojik Özellikleri

Heteronom segmentlidirler. Vücudu oluşturan segmentler ödevlerine göre gruplaşarak özel biçimler gösterirler ve vücut birbirinden ayrı bölgelere bölünür. Bu bölgeler; baş (cephalo), göğüs (thorax), ve karın (abdomen) dir. Ancak bu bölgeler bazı gruplarda birbirine kaynaşmış olabilir. Vücut, kitin'den oluşan bir dış iskelet ile kaplanmıştır. Bu kabuk şeklindeki sert yapı, harekete engel olmamak için segmentler arasında incelik ve bir eklem derisi halini alır. Büyüme sırasında zaman zaman dış iskelet atılarak yenilenir [25].

Genel morfolojik yapısı bakımından diğer böceklerle benzemle birlikte, arının vücudu yumuşak yapıda olan yoğun bir kıl örtüsü ile kaplıdır. Başta gözler, duyargalar ve ağız parçaları bulunur. Baş, vücudun ikinci kısmı olan göğüse ince oynak bir boyunla bağlıdır. Göğüs ve karının dış kısmı segment denilen halkalardan oluşur [12].

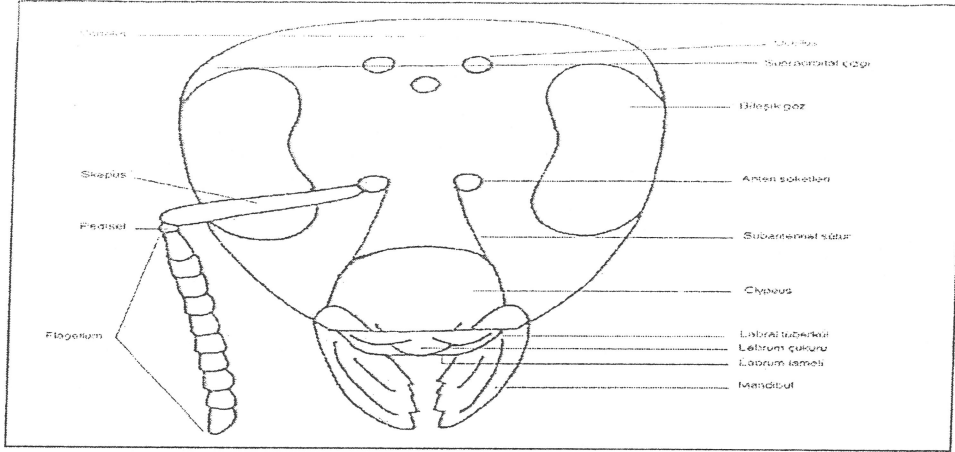


Resim 2.2. Ergin işçi arının dış vücut yapısı

H: Baş, Th: Göğüs, Ab: Karın, E: Bileşik göz, Ant:Anten, Lm: Labrum, Lb: Labium
Md: Mandibula, Mx: Maksilla, Prb; Probobsis, Gls: Glossa (Dil), Tg: Tergit, W₂ : Ön
kanat, W₃ : Arka kanat, Sp: Stigma, L₁ : Ön bacak, L₂ : Orta bacak, L₃ : Arka bacak, Stn:
Sternit [12].

2.2.1. Baş

Baş kısmında gözler, duyargalar ve beslenme organları bulunur. Arılarda başın yanlarında iki bileşik göz ile başın üst kısmında üç basit göz olmak üzere toplam beş adet göz bulunur. Bileşik gözler an bireylerine göre değişen sayıda basit gözlerden oluşmuştur [19].



Şekil 2.2. Bombus arısında başın anteriordan şematik görüntüsü

Ana arıda 3.900, işçi arıda 6.300 ve erkek arıda 13.000 adet ommatidium bulunur. Duyargalar bir çift olarak başın ön orta kısmında bulunur. Arıların koku ve tad alma, dokunma, sıcaklık, rüzgar hızı ve yönünü algılama organı olarak görev yapmaktadır. Bir çift kas ile gövdeye bağlanan duyargalar her yöne hareket edebilirler. [19]. Duyargalar dişilerde 12, erkeklerde 13 halkadan meydana gelmiştir. Duyargalar içerisinde bulunan sinir uçları sayesinde duyularına ek olarak rüzgar hızını ve hava sıcaklığını da algılayabilmektedirler. Arıların duyargaları o kadar hassastır ki 2 km mesafeden balın kokusunu alırlar. Arıların ağız yapısı; üst dudak, üst çene, alt çene ve alt dudak olmak üzere dört kısımdan meydana gelen yalayıcı-emici ağız tipine sahiptirler. Alt çeneleri yardımıyla koparıcı özellik gösterir. Alt çene ve alt dudak birlikte uzanarak hortum şeklindeki probosisi oluştururlar. Probosis ve bunun uzantısındaki dil, sıvı gıdaların alınmasını sağlar. Dil uzunluğu arı ırkına göre değişmekle birlikte 6-7 mm arasındadır. Arının; üzeri kıllarla kaplı bulunan dil kısmı, iç içe geçmiş sert ve türlü halkalardan oluşmaktadır ve bu halkalar arasında zarımsı dar ve tüysüz kısımlar vardır. Bu yapıdan dolayı dil gerektiğinde uzayıp kısalabilme özelliğine sahiptir. Beslenme işlemi bittiğinde probosis kıvrılıp başın arka kısmına katlandığında dil eski haline nazaran oldukça kısa görünmektedir [12].

2.2.2. Thorax

Arılarda thorax, ayak ve kanatların çıkış noktası olan ve içerisi kaslarla dolu olan hareketsiz kısmını oluşturur. bal arılarında göğüs; ön göğüs, orta göğüs, son göğüs ve

propodeum olmak üzere dört kısımdan oluşur. ön göğüste bir çift ön bacak; orta göğüste bir çift orta bacak ve ön kanatlar ile son göğüste bir çift arka bacak ve bir çift arka kanat bulunur. işçi arılarda her biri 6 segmentten oluşan üç çift bacak vardır [19]. Öndeki bir çift bacak baş ve antenlerin temizliğini yapmada kullanılır. Orta bacaklar daha ziyade dayanmayı-tutunmayı sağlar. Aynı zamanda polenin göğüsten ve ön bacaklardan arka bacaklara aktarılmasını ve polen sepetine doldurulmasını sağlar. Bal arılarında iki çift kanat bulunur. Kanatlar, çok ince zardan yapılmış olup kitinleşmiş damarlarla desteklenmiştir. Ön kanatlar, arka kanatlardan daha geniş, daha uzun ve daha damarlı olmakla birlikte uçuşta ikisi birlikte çalışmaktadır. Kanatlar uçmanın dışında uçuşu yönlendirmeyi de sağlarlar. Arılar kanatlarını kullanarak havada belirli bir noktada sabit kalabilmekte, uçuş yönlerini değiştirebilmekte ve ani olarak çeşitli yönlere dönüş yapabilmektedir [12].

Apocrita alttakımında, birinci metasoma segmentinin toraksın sonuna katılması ve abdomen ile dört segmentli gibi görünen toraks arasında bir bel (pedisel) bölgesi oluşması ile diğer böceklerden farklı bir durum ortaya çıkmıştır. Bu değişikliğe bağlı olarak Apiformes ile ilgili literatürde toraks terimi yerine dört segmenti kapsayacak şekilde "mesosoma" terimi kullanılmaktadır [26,27]. Mesosomayı oluşturan dört segment şöyle sıralanabilir; protoraks, mesotoraks, metatoraks ve propodeum (birinci metasomal segment). Propodeum dışındaki gerçek toraks birer çift bacak taşımaları ile ayrılır. Pronotum özellikle lateral olarak gelişim göstererek koksaları destekleyen bir alan oluşturmuştur. Pronotumun lateral bölgesinin oluşturduğu "pronotal lop" Apoidea üst familyası için paylaşılan atasal (sinapomorfik) bir karakterdir [26].

Thoraks'da baş ile thoraks arasındaki bağlantıyı sağlayan kısım colar; daha sonra gelen kısım integral bant ve sonrasındaki kısım scutellum olarak isimlendirilir [1].

2.2.3. Abdomen

Arıların karın kısmında sindirim ve üreme organları ile balmumu bezleri, koku bezleri ve iğne bulunur. Abdomenin 4, 5,6 ve 7. segmentlerinin alt kısmında balmumu salgı bezleri ile 7. segmentin üst kısmında koku salgı bezi bulunmaktadır [12]. Bal arısı larvasında 10 adet abdominal segment vardır. Fakat birinci abdominal segment göğüsle birleşir ve ergin arıda 9 segment bulunur. Son karın segmentleri de iç içe girerler ve

böylece işçi ve ana arıda 6 segment varmış gibi görünür. 8, 9. ve 10. segmentler küçülerek 7. segment içerisine gizlenmiştir [19].

Ana ve işçi arılarda abdomenin sonunda zehir kesesi ve iğne yer alır. İğne savunma amaçlı kullanılır. İşçi arı iğnesi üzerinde 9 adet geriye dönük çıkıntı bulunur ve bir kez kullanılabilir. Arı sokması sonrası iğne zehir kesesi ile sokulan yerde kalır ve işçi arı 1-1,5 saat içerisinde hayatını kaybeder. Ana arıda iğne daha düz yapıda ve 5 çift geriye dönük çıkıntı içerir. Ana arı, iğnesini sokulan yerden çekebilmektedir. Ana arı iğnesini kendine rakip ana arılara karşı kullanır. Erkek arıda iğne yoktur [12].

2.1.3. Arinin biyolojik gelişme dönemleri

Apis mellifera yaşama bir yumurta olarak başlarlar. Ana arının petek gözlerine yumurtladığı döllenmiş yumurtalardan işçi arılarla ana arılar, dölsüz yumurtalardan ise erkek arılar meydana gelir. Bir arının gelişmesinde yumurta, larva ve pupa olmak üzere 3 farklı gelişme dönemi vardır. Arılarda yumurtadan ergine toplam gelişme dönemi; ana arıda 16, işçi arıda 21 ve erkek arıda da 24 gündür [12].

2.1.3.1. Yumurta

Arı yumurtası, silindirik şeklinde, uçları yuvarlak ve uzun eksenli boyunca eğri bir dışbükey görünümündedir. Petek üzerinde işçi arı yetiştirmek için yapılmış gözler (hücreler) küçük, erkek arı yetiştirmek için yapılanlar ise büyüktür. Ana arı, büyük göze dölsüz, küçük göze döllen yumurta bırakır [12].

Yumurta, petek gözüne bırakıldığı zaman dikey konumdadır. Dikey konumda bırakılan yumurta yavaş-yavaş yana eğilerek üçüncü günün sonunda petek gözünün tabanında tamamen yatay bir konuma girer ve larvaya dönüşür. Bu özellikten faydalanarak petek gözündeki yumurtanın kaç günlük olduğu kolayca anlaşılır. Tüm arı bireylerinde yumurta dönemi 3 gündür. Döllenmiş yumurta döllenmemiş yumurtaya oranla daha hızlı gelişir ve dört saatte gelişimini tamamlar. Embriyo 3. günün sonunda yumurtadan çıkar ve larva dönemine gelir [28].

2.1.3.2. Larva

Bal arısı larvası gelişme dönemlerinde renk, şekil, hacim olarak çok hızlı ve önemli değişiklik gösterir. Bu dönemde vücudu oluşturan halkalar üzerinde gözenekler bulunur ve başta ağız parçaları oluşmuştur. Larva, yumurtadan çıktığı an arı sütü ile beslenmeye başlar [12].

Bütün arı bireyleri larva döneminin ilk üç gününde 5-15 günlük işçi arılar tarafından salgılanan arı sütüyle beslenirler. Ana arı larvaları, bütün larva dönemi boyunca işçi arı larvalarına göre, daha sık ve daha zengin arı sütüyle beslenirler. Döllü yumurta, bu beslenme farklılığından dolayı işçi veya ana arı olarak farklı bireyler şeklinde gelişir.[28].

2.1.3.3. Pupa

6 günlük larva döneminde 5 kez gömlek değiştiren larva pupa dönemine girer. Yumurtadan itibaren 8. günün sonunda işçi arı larvası içeren gözün ağzı mühürlenir. Larva 9. gününde başındaki özel bir bezden salgıladığı salgıyı kullanarak bir kozaya dönüşür. Larva, 10. gününde bu kozasında hareketsiz olarak durur. Arının; yumurta ve larva dönemi açık yavru, pupa dönemi de kapalı yavru olarak adlandırılır [12].

BÖLÜM 3

ARI ZEHİRİ

Anların zehir üretim miktarı 15. gün yaşından başlayarak artar, işçi arının kovan savunması ve tarlacılık görevlerine başladığı dönemde en üst noktaya erişir. Arı yaşlandıkça zehir miktarı azalmaktadır. Bal arısı zehiri açık renkte, kokusuz, tadı acı bir sıvıdır. Berrak asidik yapıda olan arı zehiri, oda sıcaklığında ağırlığının %30-40'nı kuruyarak kaybeder ve rengi açık sarıya dönüşür [12].

“Hymenoptera” türlerinde sadece dişi bireyler (kraliçe ve işçi arı) iğneleme özelliği gösterirken; erkek bireylerin savunma organı olan iğneleri bulunmaz. İğne işçi arılarda; barındıkları kovayı korumak, herhangi bir yağmalamaya karşı saldırıya geçmek için, kraliçe arılarda; bir kolonide iki tane ya da daha fazla kraliçe arı varsa kuvvetli olanın zehiri ile ötekinin yok edilmesini sağlar [3].

Anların iğnesi, abdomenin (karın) sonunda yer alır. İğne, diğer dişi böceklerde ovipozitörün (yumurtlama organı) yapısal değişikliğe uğramasıyla savunma organı olan kompleks bir yapıya dönüşmüş. İğne, iki kısımdan üç parçadan oluşmaktadır. Bu kısımlar, bir üst parça olan Stylet ve iki alt parçanın (Lanset) uca doğru incilmesi, vücuda doğru kalınlaşarak bir zehir torbasına bağlanmasıyla oluşur. Zehir bu iğne parçalarıyla ilişkili olan alkali ve asit salgı bezlerinden salgılanır ve zehir kesesinde depolanır [3]. İğnenin üzerinde 9 adet ok ucuna benzeyen kancacıklar bulunur. Arı iğnesini sapladıktan sonra bu kancacıklar iğnenin geri çıkmasını engeller. İğne saplandıktan sonra arı zehir keseciğini sıkarak ve iğneden vücuduna zehir zercedilen düşman büyük bir acı duyar. Arı iğnesini çıkarmaya çabalar fakat bunu başaramaz. Çoğu zaman bağırsaklarının bir bölümü de koparak iğne zehir keseciğiyle birlikte saplandığı yerde kalır. Kendini kurtaran arının yaşama şansı yoktur, bir iki gün içinde ölür. İğnesini kaybeden arı daha çok hırçınlaşır ve düşmana saldırır. Fakat tekrar sokma şansı yoktur. Ancak yaban arıları, birkaç kancası olan iğnelerini bırakmadıkları için ölmeden birçok kez sokabilirler [29].

Arı iğnelediğinde zehir kesesinde bulunan 0,15-0,3 mg zehirin tamamını boşaltmaz [3]. Arının zehir bezinin dolu ya da boş olmasına göre enjekte edilen zehir miktarı değişkendir. İmmünolojik toksik yanıt bireysel duyarlılığa göre değişir. Bağışıklık

sisteminin duyarlı olduğu dönemde ya da bireysel genetik yapı farklılığı nedeniyle tek bir arının sokması bile ölüme neden olabilir. İmmünolojik olmayan ciddi toksik etkiler 150'den fazla bal arısı ya da 20'den fazla eşek arısı sokmasından sonra ortaya çıkar [30].

Arı sokup iğnesini bıraktıktan sonra, kesinlikle zehir kesesinden tutarak çıkarmaya çalışmamalıdır. Çünkü bu hareket kesenin içindeki zehirin vücudumuza zerke edilmesine ve acımızın artmasına neden olur. En iyisi bir bıçağın yüzüyle ya da tırnağımızla sıyrarak çıkarmaktır [29].

Bal arısı zehirinde türe bağılı olarak tek tip fosfolipaz bulunmasına karşın yaban arısı ve eşek arısında farklı tipte fosfolipazların bulunması, insanlarda arı sokmalarına karşı farklı şiddette alerjik reaksiyonlara sebep olur. Duyarlı kişilerde 5-8 dakika içinde şiddetli bulgular ortaya çıkabilir, 20-30 dakika içinde ağız ya da boyun çevresinde şişme, bilinç kaybı, solunum güçlüğü, kan basıncı düşmesi gelişebilir. Ölüm 1-96 saat içinde görülür [30].

Daha önce arı sokmasına karşı alerjik reaksiyon görülen kişilere, yanlarında adrenalin ampülü ve enjektör taşımaları ve bunların kullanımını bilmeleri gerekir. Ayrıca arı sokmalarından korunabilmek için arı bulunan açık alanlarda parfüm, saç spreyi ve losyon gibi böcekleri çekebilecek kokulardan, açık renkli, parlak giysilerden kaçınılmalıdır [30].

3.1. Arı Zehirini Oluşturan Bileşikler Ve Etkileri

Arı zehiri peptidler, enzim etkisi olmayan proteinler (apamin, melitin, kinin, mastoparan), enzimler (fosfolipaz A ve B, hiyaluronidaz) ve vazoaktif aminler (histamin ve serotonin) içerir [30].

Tablo 3.1. Arı zehiri bileşimindeki maddeler [31].

MOLEKÜL TIPLERİ	BİLEŞENLER	Zehirin Kuru Ağırlığı Başına Yüzdesi
PEPTİDLER	Melittin F ve diğer melittin türevleri	50
	Apamin	1-3
	Mast hücreleri degranülasyon peptidi (MCD)	1-2
	Sekapin	0,5-2
	Tertapin	0,1
	Adolapin	1,0
	Proteaz inhibitörleri	0,8
	Prokamin A,B	1,4
	Kininin ve Kardiyopeptin	13-15
ENZİMLER	Fosfolipaz A2	10-12
	Hyaluronidaz	1-3
	Asid fosfomonoesteraz	1
	Glukozidaz	0,6
	Lizofosfolipaz	1
AKTİF AMİNLER		0,6-1,6
	Histamin	
	Dopamin	0,13-1
	Norepinefrin	0,1-0,5
ŞEKERLER	Glukoz ve Fruktoz	2
LİPİTLER	6-fosfolipidler	5
AMİNO ASİTLER	α -aminoasitler	1
	Aminobütirik asid	0,4

Melittin, hücre mebranlarını parçalayarak hızla kan dolaşımına karışır ve kan hücrelerini parçalar. Melittin, bu etkisiyle fosfolipaz A2 adlı enzimin parçalayıcı etkisine de yardımcı olur. Melittin, farmakolojik ve fizyolojik olarak; antibakteriyel, antifungal, sinir sistemini düzenleyeci, radyasyondan koruyucu etkiye sahiptir. Ayrıca ağrı kesici özelliğe sahiptir [31].

Histamin; arı zehirinin yaklaşık %1 ini oluşturur. Histamin; arı zehrine karşı hassas olan kişilerde baş ağrısı, şişme, kaşıntı, kusma ve görme bozukluğuyla, kan damarlarını genişleterek ölüme neden olabilecek etkiye sahip bir maddedir [32]. Histamin

radyoprotektif etkili bir maddedir. Arı zehrinde 2 tane histaminterminal peptid yapıtlı molekül bulunmaktadır ve bu bileşikler in vivo yavaş bir şekilde hidrolize olmak suretiyle histamin serbestleştirerek hematopoetik sistemi uyarırlar ve radyoprotektif etkinlik gösterirler [30].

Apamin, arı zehrinde % 2-3 oranında bulunan diğer bir peptiddir. Farmakolojik ve fizyolojik olarak bağışıklık sistemini güçlendirici özelliğe sahiptir. Multipl skleroz vakalarında özellikle arı zehrinin bu yapısı üzerinde durulmaktadır. Apamin sinirleri etkileyerek tetanoz benzeri krampları ortaya çıkarır. Apamin'in aynı zamanda iltihap önleyici etkileri vardır [31].

Hyaluronidaz, arı zehrin yapısından izole edilmesi ve saflaştırılması oldukça zordur ve yapısı çok iyi bilinmemektedir. Dokuların geçirgenliğini artırmak, hücrelere bağlanmış bağları çözme, hyaluronik asit polimerlerinin dokulara saldırılarını kontrol etme gibi biyokimyasal etkilerinin yanında bağışıklık sistemini; uyarıcı antijenik etki, anafilaksiyi engelleyici etkileride vardır [32]

Fosfolipaz A1-A2, bütün zehirlerin içinde bulunur. Arı zehri içersinde farmokolojik etkisi en etkin olan maddedir. Arı zehrinin hemolitik dengesini sağlamaya katkıda bulunur. Melittin ile birlikte sinerjik etki yapar. Radyoaktif aktiviteye sahiptir. Kan basıncını kontrol altına alır ve antijenik etkilidir[31].

Mast hücresi degranülasyon peptidi, etkisi iyi bilinen diğer bir aktif maddedir. Arı zehrinin bu yapısı Apamin gibi sinirleri etkiler, ancak apaminin tersine iltihabi olaylara yol açar. Apamin ve Mast hücresi degranülasyon peptidinin birbirine zıt etkileri birçok araştırmacının konusu olmaktadır [32].

Arı zehrinin içeriği bölgelere ve mevsimlere göre değişiklik göstermezler. Ülkenin değişik bölgeleri ve yılın değişik zamanlarında arılarda yapılan çalışmalarda, arı zehrinde bulunan proteinlerin aynı olduğu görülmüştür [31].

Apis türlerinden elde edilen zehirlerin benzer yapıda olmasına karşın çeşitli ırklardan elde edilen zehirlerde olduğu gibi her bir tür içinde zehrin yapısında ufak tefek farklılıklar bulunabilir. *Apis cerana* (Hindistan bal arısı) zehrinin *Apis mellifera* zehrinden iki kat daha güçlü olduğu bilinmektedir [32].

3.1.2. Arı zehirinin kullanım alanları

Arı zehrinin ilaç olarak kullanımı çok eskiye dayanmaktadır. M.Ö.2000 yıllarına ait bir papirüste arı zehrinin tedavi amaçlı kullanımının delillerine rastlanmıştır. Özellikle arı zehri ile romatizmanın tedavi edilebileceğini eski Mısırlılar da bilmekteydiler. Tedavi, ağrıyan yer, arıya sokturularak yapılırdı. Dr. Foster tarafından Almanya'da geliştirilen ve 1935 yılında piyasaya sürülen arı zehri etken maddeli ürün olan Forapin günümüzde de hala kullanılmaktadır [29].

Arı zehri temel olarak immünolojide, alerjik hastalıkların tedavisinde, romatizmal hastalıklarda, gut hastalığında, sclerozide (doku sertleşmesi), ayrıca scleroderma (yaşlılarda görülen deri sertleşmesi) ve astımı kapsayan çeşitli immünolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Dünyada bir çok araştırmacı arı zehri ile, özellikle köpek, kedi, at gibi hayvanlar üzerinde deneyler yapmışlar ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Özellikle arthritis (eklem iltihabı) ve romatizma, Multipl skleroz, kronik ağrılar, depresyon, tümörler, böbrek problemleri, kas spazmları, göz hastalıkları, meme hastalıkları, bademcik, vajinitis, ürtiker ve prostat rahatsızlıklarında başarıyla kullanıldığı belirlenmiştir. Multipl skleroz hastalığı bugün dünyada tıp otoritelerince tedavi edilemez hastalıklar arasında gösterilmektedir. Arı zehri ile 1500 Multipl skleroz hastası üzerinde yapılan ve 6 ay süren bir çalışmada tedaviye alınan 4 değişik grupta % 30-86 arasında bir başarı elde edilmiştir. Bu sonuç Multipl skleroz hastaları gelecekte umut vericidir [29].

Sıçanlarda gama ışınlamasından 24 saat önce intraperitoneal yolla verilen tüm arı zehirinin, kemik iliği hücrelerinde kromozomal anomali sıklığını belirgin şekilde düşürdüğü görülmüştür. Sadece radyasyon alan grupta kromozomal anomali sayısı 234 iken, tüm arı zehiri + radyasyon alan grupta bu rakam 68 olarak belirlenmiştir [31].

AİDS üzerinde yapılan çalışmada arı zehirinin HIV virüsünün bağışıklık sistemini çöktürücü etkisini kişinin bağışıklık sistemini güçlendirerek önce yavaşlattığı sonra da gelişimini durdurduğu ortaya konulmuştur. Yapılan araştırmalar arı zehrinin kortizon salgısını arttırdığını göstermiştir [29]

Tablo 3.2. Arı zehiri bileşenlerinin terapötik etkinlik gösterdiği hastalıklar [30].

Otoimmün Hastalıklar	Multipl sklero, Sistemik Lupus, Eritematozus Skleroderma
Fizik Tedavi ile ilgili bozukluklar	Artralji ve Gut arititi, Romatoid aritit, Tenisçi dirseği, Bursit, Fibrozit
Nörolojik Bozukluklar	Epilepsi, Kronik ağrı, Amiloid nöropatisi, Migren
Enfeksiyon Hastalıkları	Lyme hastalığı (in vitro ve in vivo), Mycoplasma hominis (in vitro), Mastit, Tekrarlayan enfeksiyonlar
Kardiovasküler sistem bozuklukları	Hİpertansiyon, Hİperkolesterolemi ve diğer Hİperlipidemiler
Jinekolojik Sorunlar	Premenstrüel sendrom
Ürolojik Sorunlar	Empotans
Psikiyatrik Sorunlar	Depresyon
Dermatolojik Sorunlar	Skar dokuları, Kronik ülser lezyonlar
Göğüs Hastalıkları	Bronşiyal astım
Kulak-Burun-Boğaz Hastalıkları	Sağrlık

3.1.3. Arı zehirinin toplanması

Zehir toplamada en basit yöntem, zehir bezinin cerrahi yolla çıkarılması ya da arının zehiri boşaltana kadar sıkılması temeline dayanır. Hızlı buharlaşan bileşenlerin yok olmasını önlemek için, su altında zehir toplama, en kuvvetli zehri toplanmanın bir yoludur. Cerrahi olarak zehir kesesinden toplanan zehir, elektroşok yöntemle elde edilen zehirden farklı protein içeriğine sahip oluyor. [3].

Elektroşok yönteminde, daha çok 5-10 mm aralıklarla paralel dizilen tellerin altına yerleştirilen cam levhalı düzenek kullanılmaktadır. Kovan uçuş tahtası veya kovan dip tahtası üzerine konan bu düzeneğe 12 voltluk akım verildiğinde tellere temas eden arı hafif elektrik şokuyla karşılaşmakta ve zehirini cam levha üzerine bırakmaktadır. İğne cama batmayacağından arı da ölmemektedir. Sıvı olan arı zehiri, cam levha üzerine bırakılır bırakılmaz kristal hale geçer ve daha sonra jilette kazınarak toplanır. Arı zehiri toplanması sırasında arılar yüksek derecede rahatsız edileceğinden çevredeki canlılar yönünden güvenlik tedbirleri alınmalı, uygulama 1 kovan için en fazla 5-10 dakika

sümmelidir. Uygulama 10 kovana tatbik edildiğinde 1-2 g kristal zehir toplamak mümkündür [12].

3.1.4. Arı zehrin saklanması

Arı zehiri soğuğa ve sıcağa dayanıklıdır. . Kurutulmuş arı zehiri rutubetten korunursa birkaç yıl süreyle özelliklerini kaybetmez [29]. Kuru arı zehiri başta olmak üzere elde edilen tüm zehir preparatları soğutucularda veya dondurulmuş olarak koyu renkli şişelerde saklanmalıdır. Venom solüsyonu hazırlamak için ısıtılmış steril izotonik solüsyon içerisinde zehirin çözülmesi yeterlidir. Ancak bu durumda da zehir bileşimindeki aktif maddeler ısıya bağlı olarak kısmen bozulabilir. Unutulmaması gereken bir diğer husus da zehir bileşimindeki uçucu maddelerin henüz sağım aşamasında uğrayacağı kayıplardır. Bu nedenle hiçbir farmasötik şekil bizzat arının sokması ile elde edilen kadar güçlü terapötik etkinlik gösteremez. Son dönemde geliştirilen bazı teknikler sayesinde zehir artık soğuk izotonik solüsyon içerisinde de hazırlanabilmekte ve en azından bileşimindeki bazı maddelerin ısıya bağlı kaybının önüne geçilebilmektedir [3]. Arı zehiri soğuğa ve sıcağa dayanıklıdır. Kurutulmuş arı zehiri rutubetten korunursa birkaç yıl süreyle özelliklerini kaybetmez.

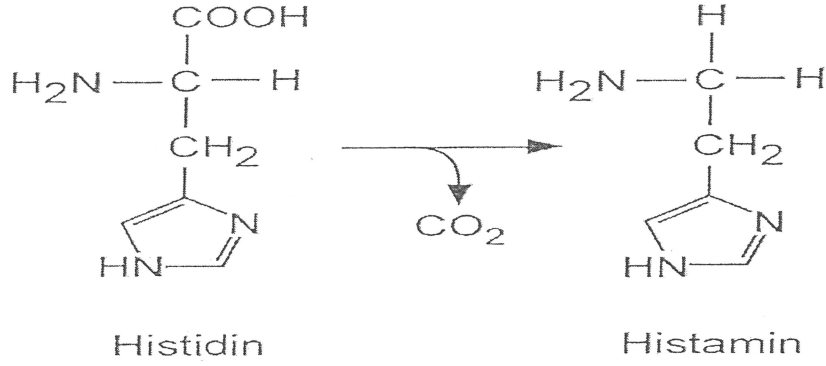
3.1.4. Arı zehrinin pazarlanma şekli

Arı zehiri; saf arı zehiri, enjekte edilebilir saf sıvı zehir, kuru kristal, tablet ve krem şeklinde pazara sunulmaktadır. Genellikle arı zehri, kuru kristal şeklinde pazarlanır. Bu şekilde hazırlanan zehir daha dengeli ve saf olmakta, dolayısıyla bozulma olasılığı azalmaktadır [3].

BÖLÜM 4

HİSTAMİN

Histamin, kimyasal olarak 2-(4-imidazol) etilamin olup, $C_5H_9N_3$ formülüyle gösterilmektedir. [33]. Histamin bitkilerde ve hayvansal dokularda da oluşur, ayrıca bazı venomlarda ve böcek sekresyonlarında da bulunur. Histamin L-histidin amino asidinin dekarboksilasyonu ile oluşur, bu reaksiyon memeli dokularında bulunan histidin dekarboksilaz enzimi tarafından katalizlenir [34].



Şekil 4.1. Histidin aminoasidinin dekarboksilasyon ile histamine indirgenmesi [35].

Histamin Otakoidler içinde ilk bulunan ve üzerinde en fazla araştırma yapılmış olanıdır. 1911'de keşfedilmiştir. İlaç olarak fazla bir önemi yoktur. Fakat vücutta birçok fizyolojik ve patolojik olaylara katkısı vardır; bu nedenle bazı ilaçların etki mekanizmasında ve yan tesirlerinin meydana gelmesinde, dokularda histaminle etkileşimleri önemli rol oynar [36]. Biosentezi; belirli hücrelerde histidin'in histidin dekarboksilaz tarafından dekarboksilenmesiyle yapılır [37].

Tablo 4.1. Histaminin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellik	Histamin
Formül	C ₅ H ₉ N ₃
IUPAC numarası	2-(1H-imidazol-4-yl)ethanamine
Molar Kütle	111,15 g/mol
Hangi madde içinde çözünür	Su
Fiziksel durum	Toz
Renk	Beyaz
Erime noktası(°C)	83,5
Kaynama noktası(°C)	209,5

4.2. Histaminin Vücutta Dağılımı

Histamin'in vücutta yerleştiği yapılar üç gruba ayrılabilirler [38].

4.2.1. Mast hücreleri

Mast hücrelerinde ve onların kanda serbest dolaşan analogları olan bazofil lökositlerde histamin-heparin kompleksi ile dolu olan bin kadar granül vardır. Bu granüller içinde histamin bulunur. İmmünolojik olaylar meydana gelirken oluşan antijen-antikor kompleksi ve ayrıca çeşitli ilaçlar ve kimyasal maddeler, mast hücrelerinden histamin'in heparinle birlikte salınmasına neden olur. Bu olay bir parsiyel ekzositoz olayıdır. Mast hücrelerinde histamin turnover'i çok yavaştır ve histidin dekarboksilaz etkinliği düşüktür; bu hücrelerde histaminin yarılanma ömrü 4 gün olarak bulunmuştur [37].

4.2.2. Nöronal histamin

Memeli beyninde histamin salıveren nöronlar bulunmaktadır. Buralardaki histaminin turnover hızı periferik mastositlerden çok daha fazladır. Beyin kapiller endotel hücrelerinde de histamin bulunmaktadır [38].

4.2.3. Diğer hücrelerdeki histamin

Mide mukozasında histamin sentez edip depolayan ve pariyetal hücrelerden hidroklorik asid salgılanmasını parakrin etkiyle düzenleyen enterokromafin benzeri hücreler vardır [37]. Histamin enterokromafin benzeri hücrelerde, solunum sistemi mukozası, lenfoid doku ile hızlı proliferasyona uğrayan kemik iliği gibi dokularda bolca bulunur [38].

4.3. Histaminin Biyotransformasyonu

Histamin ağızdan alındığında barsakta absorbe edilir, fakat sistemik dolaşıma geçemez. Çünkü barsak çeperinden ve karaciğerden geçerken metabolize edilir. Histamin, kan dolaşımından hızlı bir şekilde dokulara dağılır ve inaktive edilir. Plazmada histamin'in yarılanma ömrü çok kısadır [37].

İnsan vücudunda histaminin yarısı, histamin N-metil transferaz enzimi tarafından metilasyona uğratılır. Üçte bir kısmı, diamin oksidaz diğer adıyla histaminaz tarafından oksidatif deaminasyonla yıkılır. Histamin'in % 2-3 metabolize edilmez. Değişmemiş histamin ve histamin metabolitleri böbrekten idrarla dışarı atılır [38].

4.4. Histamin Reseptörleri

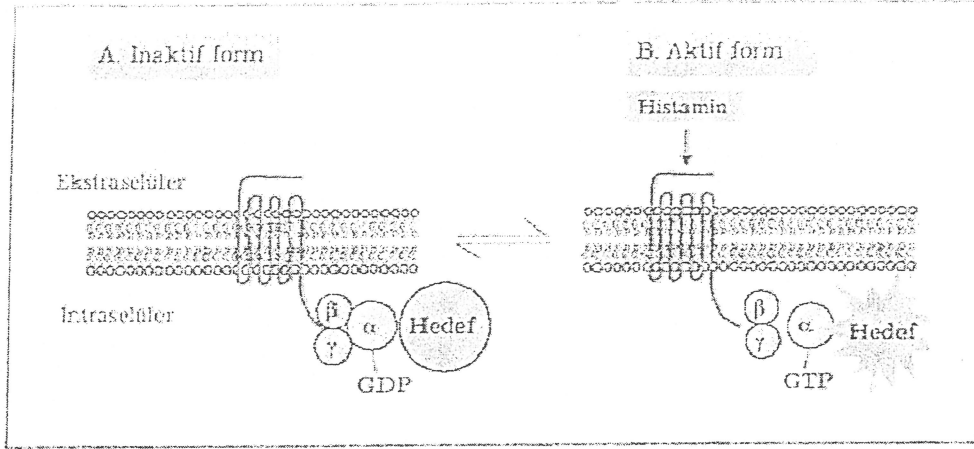
İnsanlarda dört tip histamin reseptörü vardır;

H1 reseptörleri: Bronş ve barsaklardaki kasılmalardan sorumludur.

H2 reseptörleri: Mide salgılarından sorumludur.

H3 reseptörleri: Santral sinir sistemindeki etkilerin bazılarını sorumludur [39].

H1, H2, H3, H4. Bu dört reseptörde farklı genler tarafından kodlanır. Bu reseptör grubu, yapısal olarak membranı sarmalayan yedi heliksin oluşturduğu bir integral membran proteinleri ailesidir. Reseptörün bağlanma spesifitesini gösteren ve aktivasyonla yapısını değiştirebilen alıcı kısmı, bu zincirin ekstraselüler ucundadır. Zincirin intraselüler ucunda ise " $\alpha\beta\gamma$ "heterotrimerinin oluşturduğu bir sitosolik G- protein kompleksi bulunur [37,40,41].



Resim 4.1. Histamin reseptörünün aktif ve inaktif formu [37].

Tüm G-protein- bağlantılı-reseptörlerde olduğu gibi, aktivasyon, düşük enerji içerikli GDP'nin yüksek enerji içerikli GTP'ye dönüşümü sonucunda oluşur ve bunun ardından reseptörden α , β ve γ alt üniteleri ayrılarak olaylar zincirini başlatır [37,42,43].

4.4.1. Histamin H1

Histamin H1 reseptörü allerjik yanıtta histamin etkilerinin çoğundan sorumludur. H1 reseptörün stimülasyonu sonucunda, fosfolipaz C'nin katalize ettiği bir reaksiyon olan membran inositid fosfolipidlerinin hidrolizi gerçekleşir ve bunu inositol 1,4,5-trifosfat inositol fosfolipid 3 oluşumu, protein C kinaz aktivasyonu ve kalsiyum mobilizasyonu ile intraselüler kalsiyum artışı şeklinde bir biyokimyasal olaylar zinciri takip eder; sonuçta da hücresel yanıt oluşur. H1 reseptör stimülasyonu ile oluşan başlıca yolak fosfolipaz C/IP3 yolağı olmasına karşın, başka birtakım yolakların da (fosfolipaz D, fosfolipaz A2, nükleer faktör kappa B) aktive edilebildiği bilinmektedir [37,45-47].

Allerjik hastalıkların çoğunda klinik semptomların çoğu H1 reseptör simülasyonuna bağlıdır. H1antihistaminikler burunda akıntı, kaşıntı, hapsirik ve ödeme bağlı tıkanıklığı azaltır. Burun tıkanıklığının diğer önemli bir komponenti olan venöz dilatasyona ise etkinlikleri azdır. Gözde H1 reseptör stimülasyonu allerjik konjunktivitinin semptomları olan akıntı, kızarıklık, kaşıntı ve kemozisten sorumludur. Hava yollarında H1 reseptör stimülasyonu bronş düz kaslarının stimülasyonuna ve mukus üretiminin artmasına katkıda bulunur. Ancak hava yollarındaki bu etkilerden öncelikli olarak LT'ler sorumlu

olup, H1 antihistaminiklerin astım semptomlarını gidermedeki etkinliği azdır. Deride H1 histamin reseptörleri, postkapiller venendotel hücrelerinde kontraksiyon ile endürasyon ölçümüne, duyu sinir stimülasyonu ile de kaşıntıya yol açar [37,48].

4.4.2.Histamin H2

H2 reseptörleri cAMP düzeyini arttırarak hücre fonksiyonlarını kontrol eder. Ba şlıca H2 antihistaminikler burimamid, simetidin ve ranitidindir. Özellikle simetidin ve ranitidin gastrointestinal sistemin peptik asit hastalıklarında, diğer bazı H2 antihistaminikler de şizofreni gibi nöropsikiyatrik ve nörolojik bazı hastalıkların tedavisinde kullanılır [37].

4.4.3. Histamin H3

H3 reseptörleri sadece beyinde bulunur ve ağırlıklı olarak sinirlerde histamin için presinaptik reseptör olarak çalışır [37,49].

4.4.4. Histamin H4

Uzun yıllar boyunca H3 reseptörlerinin heterojen bir grup reseptör olduğu düşünölmüş, ancak yapılan genetik çalışmalar sonucunda H4 reseptörleri bulunmuştur [37].

BÖLÜM 5

ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLER

Elektrokimyasal tekniklerin hepsinde, elektrot ile çözeltilerden oluşan sistemin vereceği cevabı ölçmek için bu sisteme bir elektriksel etki uygulanır. Alınan cevap incelenen sistemin özellikleriyle ilgili bilgi verir. Elektrokimyasal tekniklerin isimlerinden hangi parametrelerle ilgili oldukları anlaşılır [50].

Elektrokimyasal yöntemler, diğer analitik yöntemlere göre bazı üstünlüklere sahiptirler. Elektrokimyasal yöntemler çoğu kez bir elementin özel bir yükseltgenme basamağına özgüdür. Örneğin; bir seryum (III) ve seryum (IV) karışımında her bir türün derişiminin tayinini mümkün kılar, buna karşılık diğer analitik yöntemlerin çoğu sadece toplam seryum derişimini saptayabilirler. Yani elektroanalitik yöntemler ile türlendirme çalışmaları çok kolay bir şekilde yapılabilir. Elektrokimyasal yöntemlerin ikinci bir üstünlüğü ise kullanılan cihazların ucuz olmasıdır [50].

Elektroanalitik teknikler çok düşük tayin sınırına ulaşılabilirler ve elektrokimyasal yöntemlerin uygulanabildiği sistemler hakkında, ara yüzeydeki yük aktarımının stokiyometrisi ve hızı, elektrot tepkime hızı, kütle aktarım hızı, adsorbsiyon, kemisorpsiyon derecesi, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri gibi bilgileri de içeren çok sayıda bilgiler verirler [51].

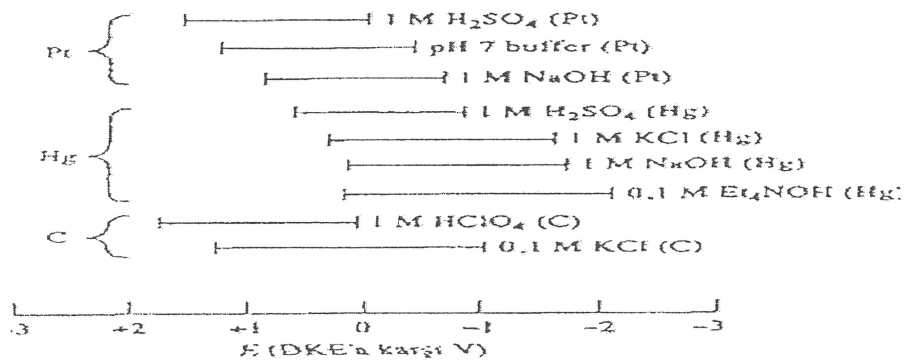
5.1. Voltametri

Voltametri, çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesine dayanan elektroanalitik yöntemlere verilen isimdir. Voltametri de mikroelettrot olarak civa elektrotları çok kullanılır [51].

Civa damla elektrodun, diğer mikroelettrotlara kıyasla çeşitli avantajları vardır. Bunlardan birincisi, hidrojen iyonlarından hidrojen oluşumundaki yüksek aşırı gerilimdir; bu durum, asidik çözeltilerden herhangi bir engelleme olmaksızın pek çok maddenin indirgenebilmesini sağlar. İkinci avantaj, sürekli olarak yeni bir metal yüzeyin yaratılmasıdır, elektrodun eskimesi veya geçmişi deneyi etkilemez; bu da elektrot önceden nasıl kullanılmış olursa olsun tekrarlanabilir akım-voltaj eğrileri

almamasını sağlar. Damla elektrodun üçüncü avantajı, herhangi bir uygulama potansiyelinde tekrarlanabilir ortalama akımlara hemen ulaşılabilmesidir. Damla elektrodun en önemli dezavantajı civanın yükseltgenmesidir; bu özellik elektrodun anot olarak kullanılmasını sınırlar. +0.4V 'dan yüksek uygulama potansiyellerinde civa(1) iyonu oluşur; bu esnadaki akım, çözeltideki diğer yükseltgenebilen polarografik dalgaları kapatır (maskeler). Bu nedenle civa damla elektrot, sadece indirgenebilen veya kolaylıkla yükseltgenebilen maddelerin analizinde kullanılabilir. Diğer dezavantajlar ise kullanımının zor olması ve tıkanma sonucu çalışamaz duruma gelebilmesidir [52].

Mikro elektrotların kullanılabilceği potansiyel aralığı sadece elektrot malzemesine değil aynı zamanda bu elektrodun daldırıldığı çözeltinin bileşimine pH'sına da bağlıdır [51].



Şekil 5.1. Üç tip elektrot için çeşitli destek elektrolitlerin sulu ortamda potansiyel aralıkları

5.1.1. Polarografi

Polarografi, çalışma elektrodu damlayan civa elektrodu (DCE) olan voltametrinin bir alt dalıdır [51].

Herhangi bir maddenin polarografik davranışı kendine özgü olduğundan yöntem, seçiciliğin gerektiği analizlerde çok uygundur. Polarografik analizlerin çoğu sulu çözeltilerde yapılır, gerekli olduğu hallerde diğer çözen sistemleri de kullanılabilir. Kantitatif analizlerde optimum konsantrasyon aralığı 10^{-2} – 10^{-4} M'dür, ancak ppb seviyelerindeki değerler de sistemde bazı değişiklikler yapılarak saptanabilir. Bir analizi

1-2 ml. hatta bir damla çözelti ile yapmak mümkündür. Bu nedenle polarograf miligramdan mikrograma kadar seviyelerdeki maddelerin analizine olanak verir. Rutin polarografik çalışmalarda karşılaşılan bağıl hata %2-3 dolayındadır [52].

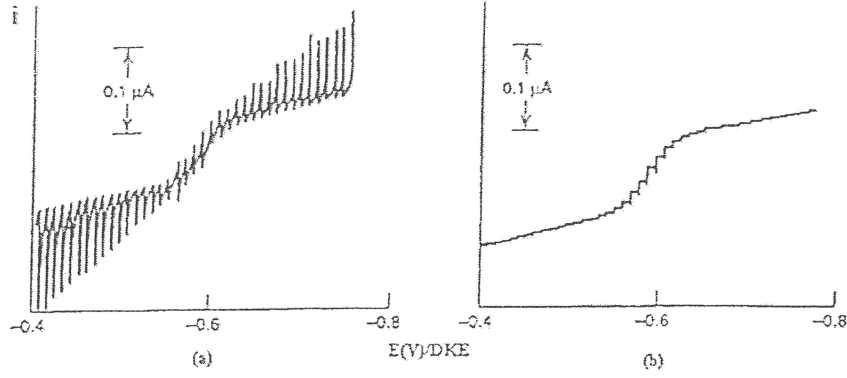
Polarografide üçlü elektrot sistemi kullanılır [51].

- Çalışma elektrotu olarak; damlayan cıva elektrot (DCE)
- Referans elektrot olarak; doymuş kalomel elektrot (DKE) veya Ag /AgCl elektrot
- Karşıt elektrot olarak; platin elektrot

Üçlü elektrot sisteminde; potansiyel çalışma elektrotu ile referans elektrot arasında uygulanır, akım ise çalışma elektrotu ile karşıt elektrot arasında ölçülür. Böylece çalışma ile referans elektrot arasında akım ölçülmez. Çünkü referans elektrotun potansiyeli küçük akımlarda sabittir ancak akım arttığında potansiyel sabit kalmaz. Üçlü elektrot sisteminin kullanılması ile aynı sistemde hem gerilim uygulanabilir hem de oluşan akım ölçülebilir [50].

Çalışma elektrotu olarak kullanılan damlayan cıva elektrotu yaklaşık 10 cm boyunda ~ 0,05 mm iç çapında ince bir kapiler borudan ibarettir. Kapilerin ucundaki cıva damlası elektroda 50 cm yüksekliğindeki cıva haznesinden gelir. Damla büyüklüğü kılcal borunun iç yarıçapına ve hidrostatik basınca (cıva kolon yüksekliğine) bağlı olarak değişir. Oluşan damlanın çapı 0,5–1 mm arasındadır ve oldukça tekrarlanabilir. Bazı uygulamalarda damla ömrü mekanik bir çekiç sistemi ile kontrol edilir. Bu sistem, damla oluşuktan belli bir süre sonra damlayı düşürür [51].

damlanın bitişinden hemen önceki 5ms'lik periyotta akım ölçülür. Damla kopmadan önce faradayik akım maksimum kapasitif akım minimum olduğundan duyarlılık artar. Gözlenebilme sınırı yaklaşık $1 \times 10^{-6}M$ olabilir [51].



Şekil 5.3. 0,01MHCl ortamında $1 \times 10^{-5}M$ Cd(II) iyonlarının polarogramları [51].

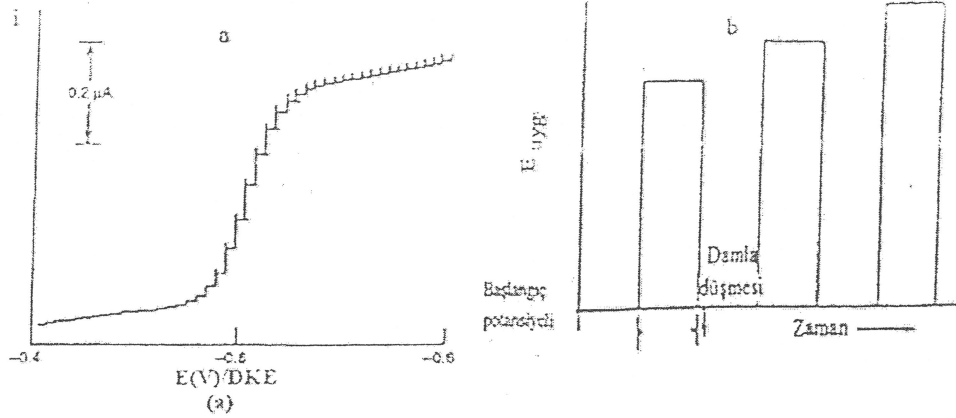
(a) Normal polarogram

(b) Tıst polarogramı

5.1.2.2. Normal puls polarografisi

Normal puls polarografisinde elektroda uygulanan potansiyel pulsları faradayik akımın olmadığı başlangıç potansiyelinden itibaren artan genliklerle uygulanır. Pulslar arasında elektrot analitin reaksiyonunun olmadığı sabit temel bir potansiyelde tutulur. Pulsun genliği her bir damlada doğrusal olarak artırılır, puls uygulandıktan 40ms sonra akım ölçülür ki bu anda yükleme akımı yaklaşık 0'dır. Ek olarak kısa puls süresinden dolayı difüzyon tabakası DC'den daha incedir ve böylece faradayik akım maksimumdur. [51,56].

Normal puls polarografisi, normal polarografiden 5-10 kat daha duyarlıdır. Ayrıca Barker ve Gardner [57] tarafından gerçekleştirilen çalışmaya göre normal puls polarografisinin polarografik olmayan (Pt disk gibi) elektrotlara da uygulanabileceğini tespit etmişlerdir [51].



Şekil 5.4. 0,01M HCl ortamında 1×10^{-5} M Cd(II)'nin polarogramları [51].

a) Normal puls potansiyel-akım

b) potansiyel-zaman

Normal puls polarografisi özellikle çevresel örneklerdeki düşük derişimlerde organikler ve ağır metallerin ölçümü için analitik araç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [51,58-61].

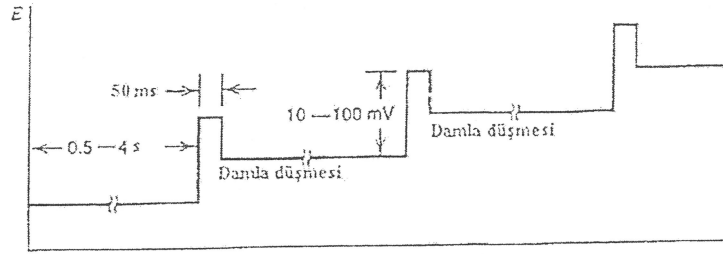
5.1.2.3. Diferansiyel puls polarografisi

Diferansiyel puls polarografisinde polarografik hücreye zamanla artan bir doğru akım potansiyel uygulanır. Klasik polarografide olduğu gibi, artış hızı 5 mV/s kadardır. Ayrıca, 1-3 saniye gibi düzenli aralıklarla, 20-100 mV kadar ilave bir de puls uygulanır; pulsun uzunluğu 50 ms kadardır ve elektrottan civa damlasının koştığı noktada sona erer. Pulsun damla ile beraber hareket etmesi için damla, elektrot hareket ettirilerek veya mekanik bir yöntemle koparılır [52].

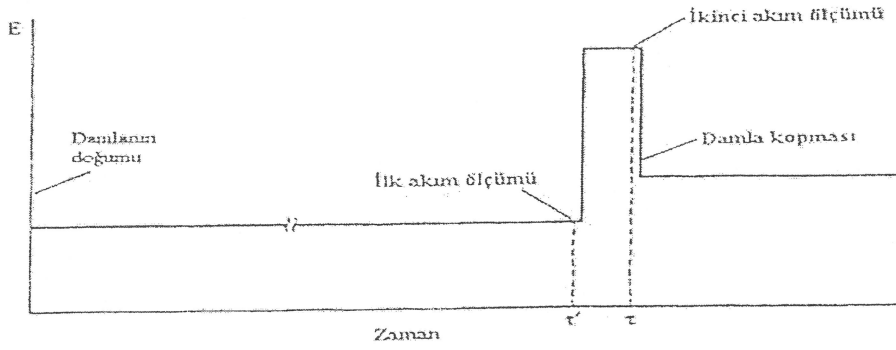
Diferansiyel puls polarografisi organik ve inorganik türlerin eser miktarlarının tayini için kullanılabilen son derece kullanışlı bir tekniktir. DPP'de dalga yapısı ve ölçüm stratejisi önceki yöntemlerden daha duyarlıdır. Dpp'nin normal puls polarografisine benzer fakat farklı yönleri de vardır [52].

1. Damlanın büyümesi boyunca uygulanan temel potansiyel, damladan damlaya sabit değil, doğrusal olarak artış gösterir.

2. Doğrusal olarak artan potansiyelle bindirilen puls yüksekliği 10-100 mV arasında değişebilen, ancak her damlaya sabit olarak uygulanan bir değerdir.
3. Her bir damlanın yaşam ömrü boyunca iki akım ölçülür. İlki t^0 zamanında puls uygulamadan önce ikincisi ise t zamanında damla maksimum büyüklüğünde iken düşmeden hemen önce ölçülür.
4. Ölçülen bu iki akım arasındaki fark [$\delta i = i(t) - i(t^0)$] potansiyelle karşı grafiğe geçirilir.



Şekil 5.5. Diferansiyel puls polarografisinde her damla için potansiyel programı

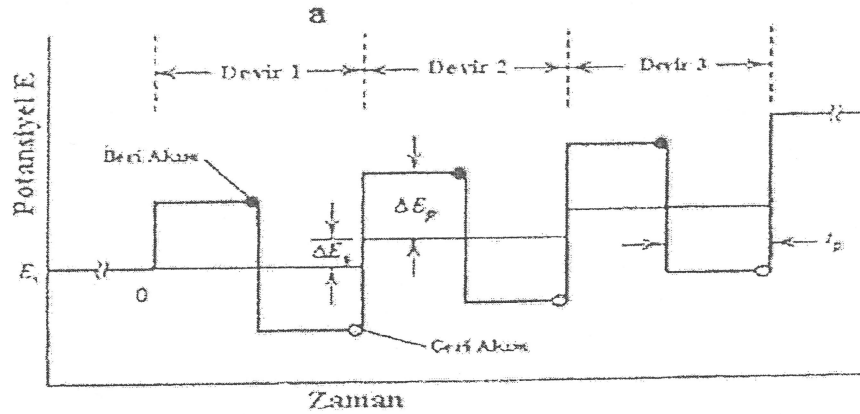


Şekil 5.6. Diferansiyel puls polarografisinde tek bir damlanın gelişim

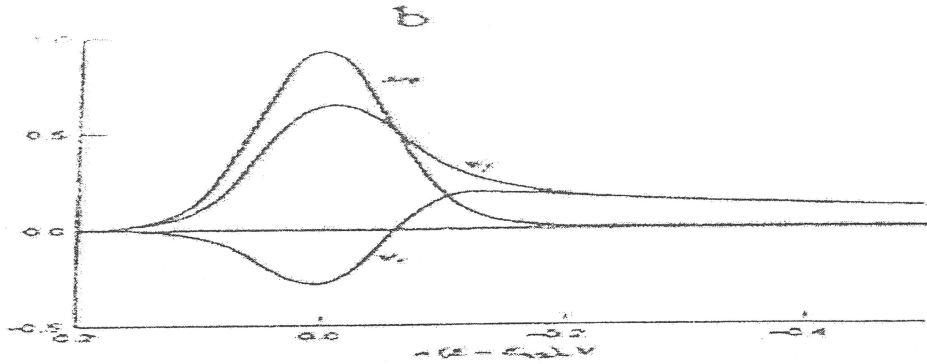
Diferansiyel puls polarogramının bir üstünlüğü, yarı dalga potansiyelleri 0,04 V ile 0,05 V kadar farklı olan maddeler için bile pik maksimumları elde edilmesidir. Oysa ki; klasik ve normal puls polarografisi için dalga potansiyel farkı en az yaklaşık 0,2V olmalıdır, aksi takdirde dalgalarda iyi bir çözüm elde edilemez. Bu, diferansiyel puls polarografisi yöntemin duyarlılığını artırır. Diferansiyel puls polarografisinin yüksek duyarlılığının iki sebebi vardır. Bunlardan birincisi, faradayik akımın artması, ikincisi ise kapasitif akımın azalmasıdır [50].

5.1.2.4. Kare dalga puls polarografisi

Bu polarografi türünde puls uygulanan polarografik yöntemlerin en iyi yönleri birleştirilmiştir. DPP'nin duyarlılığını ve artık akımı bastırmasını, NPP'nin teşhis değerini almıştır. Kare dalga voltametri (KDV) daha çok asılı cıva elektrodu gibi durgun elektroda uygulanır. Puls voltametrisinin diğer formlarında olduğu gibi elektrot ölçüm turlarının bir serisi boyunca takılı kalır. Üstelik ölçüm turları arasında difüzyon tabakası da yenilenmez. NPP, ve DPP aksine KDV polarografik mod değildir. KDV'deki dalga yapısı, DPP'dekinin özel bir durumu gibidir. KDV'de ön elektroliz periyodu, eşit süreli puls ve uygulanan bu puls tarama yönünün tersidir. Üstelik bir yöne doğru ve onun zıt yönüne doğru uygulanan simetrik çift puls üst üste çakıştırılarak merdivenli tarama içerdiğinden sonuçların yorumlanması kolaydır. KDV daima bilgisayar kontrollü potansiyostatik sistem kullanılmalıdır [51].



Şekil 5.7.a. Kare dalga voltametrisinde Potansiyel-zaman



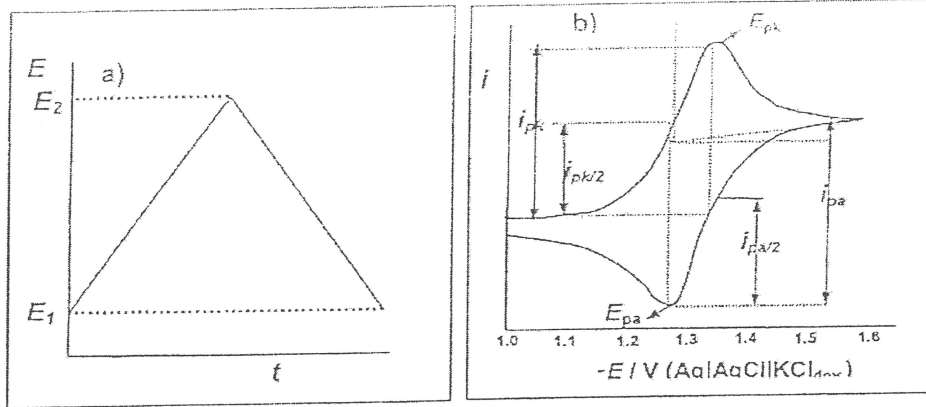
Şekil 5.7.b. Kare dalga voltametrisinde Potansiyel-akım grafiği

KDV' nin ileri ve tersinir voltagramları yüksek bilgi içeriğine sahiptir. uygun zamanda geniş bir potansiyel taraması üzerinden elektrot işlemlerini sorgulama gücüne sahiptir. KDV sistemlerin mekanizmalarının anlaşılmasında ve sistem parametrelerinin kantitatif değerlendirilmesinde DV'den daha iyidir [51].

5.1.2.5. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri tekniği, elektrokimyasal sistemlerin incelenmesinde en fazla kullanılan yöntemlerden birisidir. Dönüşümlü voltametri, çözeltide ve çözelti elektrot ara yüzeyinde elektroaktif türlerin incelenmesi açısından en uygun elektroanalitik tekniklerden birisidir [50].

Dönüşümlü voltametri de gerilim taraması ileri yönde belli bir potansiyel değerine ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilir. Negatif potansiyeller yönündeki tarama ileri tarama, zıt yöndeki tarama ise ters tarama olarak adlandırılır. Dönüşümlü voltametrizde ileri ve geri yöndeki gerilim tarama hızları aynı tutulabildiği gibi istendiğinde farklı tarama hızları da kullanılabilir. Ayrıca ileri ve geri yöndeki tarama bir kez yapılabildiği gibi, bir çok kez de yapılabilir. Damlayan cıva veya asılı cıva ileri elektroduna geri yönde bir potansiyel taraması uygulandığında elde edilen akım-potansiyel eğrisi bir dönüşümlü voltamogramdır [50].



Şekil 5.8. Dönüşümlü voltamtride

- a) Potansiyel-zaman;
- b) Potansiyel-akım eğrileri.

BÖLÜM 6

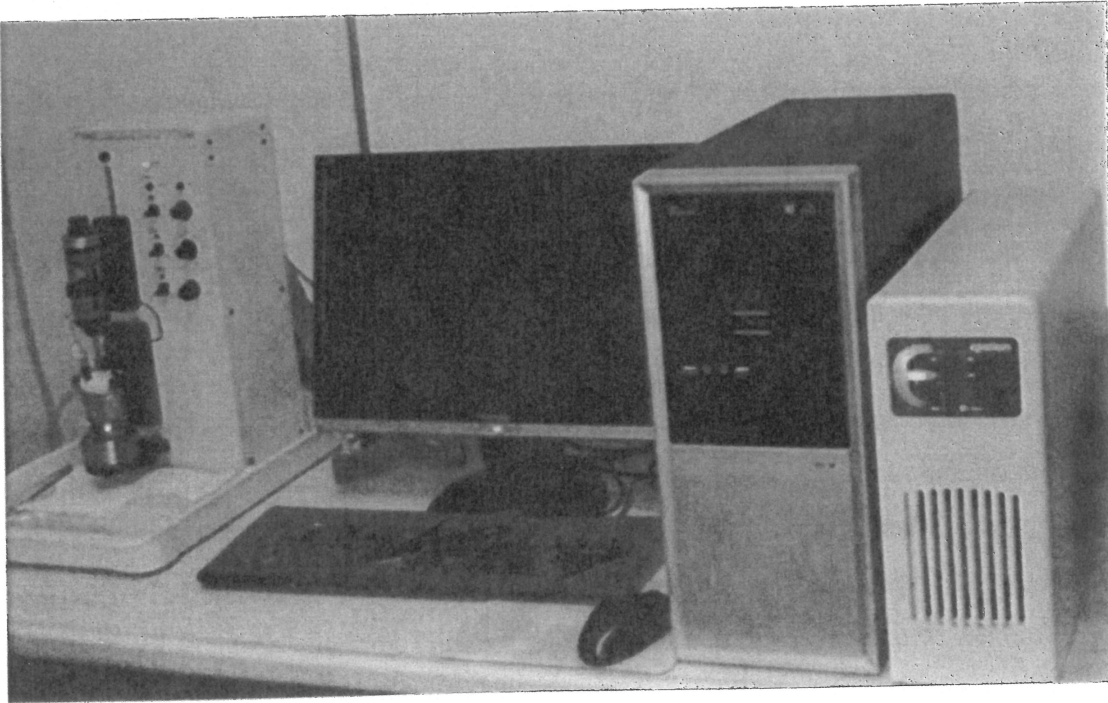
DENEYSEL ÇALIŞMALAR

6.1. Materyal ve Metod

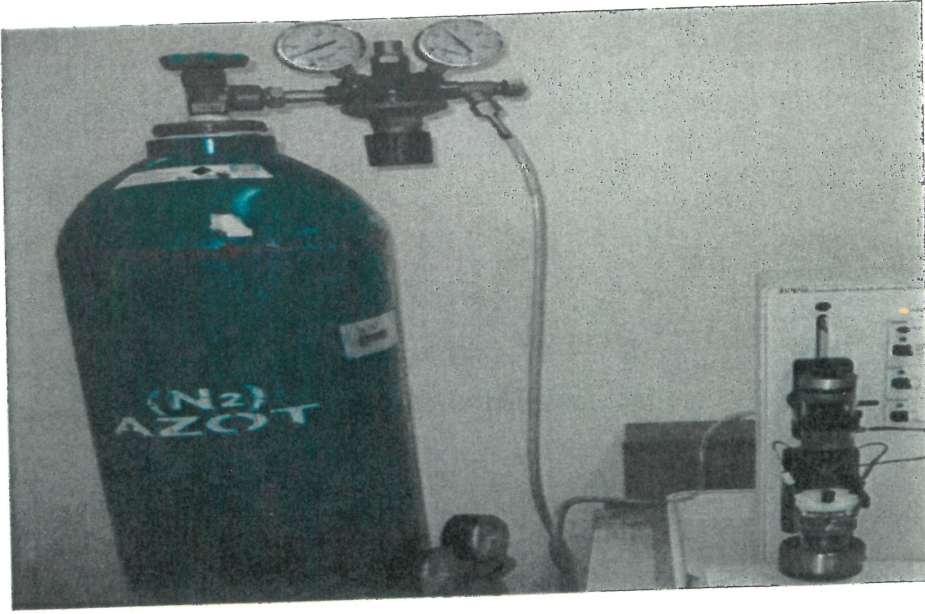
Tez çalışmamızın deneysel aşaması, 2012 Eylül - 2013 Haziran döneminde, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Kimya Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Histamin tayini amacıyla, elektrokimyasal yöntem geliştirme kapsamında yapılan deneysel çalışmalar; cihaz vb. materyal kullanımı, çözelti hazırlama, girişim etkisini inceleme vb. tüm yöntem ve uygulamalar Kimya Bölümü yüksek lisans öğrencisi Derya İnan ile birlikte ortak yürütülmüştür. Geliştirilen metod ile arı zehrine tarafımızdan başarı ile uygulanmış ve arı zehrindeki histamin tayini yapılmıştır [62].

6.1.1. Voltametri cihazı

Kare dalga sıyırma voltametrisi (KDSV) ve dönüşümlü voltametri (DV) ölçümleri için, BAS model elektrokimyasal analizör kullanılmıştır.



Resim 6.1. Bas model elektrokimyasal analizör



Resim 6.2. Azot gazı ile çalışan asılı damla civa elektrot sistemi

Kare dalga sıyrma voltametri (KDSV); için çalışma elektrodu olarak asılı civa damla elektrodu, referans elektrot, karşı elektrot kullanılmıştır.

6.1.2. Çalışma elektrodu

Çalışma elektrodu olarak kullanılan asılı civa damla elektrodunda kullanılan civa, Merck'ten sağlanmıştır. Kare dalga sıyrma voltametrisinde civanın temiz olması gerekmektedir. Civa temizlenmesinde aşağıda açıklanan yöntem kullanılmıştır. Kirlenen civa behere alındıktan sonra yaklaşık on dakika boyunca bagetle karıştırılarak, üzerinden çeşme suyu geçirilmiştir. Civanın üzerindeki çeşme suyu uzaklaştırıldıktan sonra bir litrelik cam mezüre doldurulmuş ve birkaç kez saf su ile çalkalanmıştır. Platin elek mezürün üst kısmında tutularak, civa platin elekten geçirilerek ince zerrecikler halinde mezürde bulunan saf sudan geçirilmiştir. Bu işlem beş defa tekrarlanmıştır. Daha sonra 15 M' lik HNO₃ çözeltisi (civa yıkama suyu) hazırlanmıştır. Civa yıkama suyu bir litrelik mezüre alınmış ve daha sonra yine platin elek mezürün üst kısmında tutularak, civa platin elekten yıkama suyu içerisine zerrecikler halinde süzölmüştür. Bu işlemden beş kez tekrarlandıktan sonra mezüre saf su konularak aynı işlem tekrarlanmıştır. Turnusol kağıdı ile asitliğin giderilip giderilmediği kontrol edilmiştir. Asitliği giderilen civa süzgeç kağıdı ile iyice kurutulduktan sonra polarogramlar alınarak civanın temizliği kontrol edilmiştir

6.1.3. Referans elektrot

Referans elektrot olarak doygun Ag/AgCl kullanılmıştır. Klausek hücrelerinde bulunan analit çözeltilisine temas edecek şekilde hücreye bağlanmıştır.

6.1.4. Karşıt elektrot

Platin tel karşıt elektrot olarak kullanılmış ve klausek hücrelerinde bulunan analit çözeltilisine temas edecek şekilde hücreye bağlanmıştır.

6.1.5. Ph metre

pH ölçümleri WTW pH/ION 735 (WTW instruments, Germany) model dijital pH metre kullanılarak yapılmıştır.

6.1.6. Azot Gazı

Voltamogramlarda oksijenin indirgenmesine ait dalgalar gözlenebilir. Bu nedenle voltamogram alınmadan önce, ortamda çözünmüş olan oksijenin uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla hücreye madde konulmadan önce azot gazı geçirilmiştir.

6.2. Reaktifler, Çözeltiler Ve Hazırlanmaları

Deneylerde kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır (Merck). Çözelti hazırlanmasında ve temizleme suyu olarak çalışma boyunca deiyonize su kullanılmıştır.

6.2.1. Kullanılan reaktifler

1. Histaminbihidroklorür: (C₅H₉N₃-HCl), 184,07 g/mol, Aldrich
2. Hidroklorik asit: (HCl), d=1,19 kg/L; % 37; 36,46 g/mol, Sigma-Aldrich
3. Asetik asit: (CH₃COOH), d=1,05 kg/L; %100' lük; 60,05 g/mol, Sigma-Aldrich
4. Fosforik asit: (H₃PO₄), d= 1,71 kg/L; 98 g/mol, % 85, Riedel
5. Borik asit: (H₃BO₃), 61,83 g/mol, Sigma
6. Sodyum hidroksit: (NaOH), 40 g/mol, Sigma-Aldrich
7. Demir(III) klorür heksahidrat: (FeCl₃. 6H₂O), 270,30 g/mol, Merck
8. Krom(III) klorür heksahidrat: (CrCl₃. 6 H₂O), 266,45 g/mol, Merck
9. Kurşun(II) nitrat: (Pb(NO₃)₂), 331,20 g/mol, Merck

10. Çinko nitrat hegzahidrat: ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), 297,4 g/mol, Merck
11. Kadmiyum nitrat tetrahidrat: ($\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$), 308,47 g/mol, Sigma-Aldrich
12. Kobalt(II) nitrat hegzahidrat: ($\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), 291,03 g/mol, Sigma-Aldrich
13. Nikel sülfat hegzahidrat: ($\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), 262,85 g/mol, Sigma-Aldrich
14. Magnezyum nitrat hegzahidrat: ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), 256,41 g/mol, Sigma
15. Mangan(II) sülfat monohidrat: ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 169,02 g/mol, Sigma
16. Kalsiyum nitrat tetrahidrat: ($\text{CaNO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$), 236,15 g/mol, Sigma
17. Bakır(II) nitrat monohidrat: ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 232,5 g/mol, Merck
18. Civa(II) nitrat hegzahidrat: ($\text{HgN}_2\text{O}_6 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), 342,62 g/mol, Sigma-Aldrich
19. Baryum klorür dihidrat: ($\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$), 244,263 g/mol, Merck
20. Alüminyum klorür hegzahidrat: ($\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), 241,431 g/mol, Merck
21. Selenyum dioksit: (SeO_2), 110,959 g/mol, Sigma
22. Sodyum sülfat: (Na_2SO_3), 126,04 g/mol, Sigma-Aldrich
23. Sodyum klorür: (NaCl), 58,44 g/mol, Sigma
24. Sodyum nitrit: (NaNO_2), 68,99 g/mol, Merck

6.2.2. Çözeltilerin hazırlanması

0,01 M histamin stok çözeltisinin hazırlanması

0,046 g histamin tartılıp 25 mL deiyonize suda çözülüp, ölçülü balon jodede, 25 mL'ye tamamlanmıştır.

0,1 M HCl (% 37'lik $d=1,19$ g/mL)

HCl çözeltisinden 0,83 mL ölçülü balona alınarak deiyonize su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,1 M NaOH çözeltisi

0,40 g NaOH katısı tartılmış ve deiyonize su ile çözüldükten sonra 100 mL'lik balon jodede deiyonize su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,1 M $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}$ tamponu

9,08 g KH_2PO_4 ve 11,87 g Na_2HPO_4 . 2 H_2O ayrı ayrı tartılıp, deiyonize su ile çözüldükten sonra 1,0 L' ye tamamlanmış ve uygun miktarlarda karıştırılarak istenilen pH'ya ayarlanmıştır.

1,0 M HAc/NaAc tampon çözeltisi

57,2 mL derişik asetik asit çözeltisine, deiyonize suyla yıkanmış 6,0 g katı NaOH eklenmiş ve deiyonize su ile ölçülü balonda 1,0 L' ye tamamlanmıştır. pH-metre kullanılarak çözelti, çalışma ortamına uygun pH'lara ayarlanmıştır.

Britton-Robinson (B-R) tamponunun hazırlanması

Britton-Robinson tampon çözeltisinin hazırlanması için 2,3 mL saf asetik asit; 2,7 mL %85' lik fosforik asit ve 2,5 g borik asit karıştırılıp deiyonize su ile 1 L' ye tamamlanmıştır. Hazırlanan B-R tamponu 0,1 M NaOH veya 0,1 M HCl çözeltisinden damla damla ilave edilerek pH'sı istenilen değerlere ayarlanmıştır.

0,02 M H_2SO_4 çözeltisi

0,279 mL % 95-97' lik H_2SO_4 çözeltisinden alınarak deiyonize su ile 250 mL' ye tamamlanmıştır. pH'sı istenilen değerlere ayarlanmıştır.

Deneylerde kullanılan iyonların 0,01 M' lik stok çözeltileri hazırlanmıştır. Seyreltik çözeltilerin derişimleri zamanla değişebileceğinden, stok çözeltiler 1×10^{-3} M' lik çözeltilere seyreltilmesiyle günlük olarak hazırlanmıştır.

0,01 M Fe(III) çözeltisi

0,135 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Cr(III) çözeltisi

0,1332 g $\text{CrCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Pb(II) çözeltisi

0,331 g Pb(NO₃)₂ tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Zn⁺² çözeltisi

0,1487 g Zn(NO₃)₂ · 6 H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Cd⁺² çözeltisi

0,308 g CdN₂O₆ · 4 H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Co(II) çözeltisi

0,1455 g CoN₂O₆ · 6 H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Ni⁺² çözeltisi

0,066 g NiSO₄ · 6 H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Mg⁺² Çözeltisi

0,128 g Mg(NO₃)₂ · 6 H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Mn(II) Çözeltisi

0,084 g MnSO₄ · H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Ca⁺² Çözeltisi

0,236 g Ca(NO₃)₂ · 4 H₂O tartılıp deiyonize ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M CU(II) Çözeltisi

0,232 g Cu(NO₃)₂ · H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Hg(II) Çözeltisi

0,857 g Hg(NO₃)₂ · 6 H₂O tartılıp deiyonize suyla çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 250 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Ba⁺² Çözeltisi

0,122 g BaCl₂ · 2 H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Al⁺³ Çözeltisi

0,121 g AlCl₃ · 6 H₂O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Se(IV) Çözeltisi

0,055 g SeO₂ tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 SO₃⁻² Çözeltisi

0,126 g Na₂SO₃ tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Cl^- Çözeltisi

0,5844 g NaCl tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 NO_2^- Çözeltisi

0,069 g NaNO_2 tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

BÖLÜM 7

DENEYSEL BULGULAR

7.1. Histaminin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini Ve Analitik Uygulamaları

Yapılan çalışmalarda eser miktardaki histaminin tayini için uygun bir yöntem kullanmak amaçlanmıştır. Bu amaçla, destek elektrolit ortamı olarak B-R (Britton-Robinson) tamponunun, en uygun destek elektroliti olduğu tespit edilmiştir. Histamin tayinine pH'nın etkisi incelenmiş, ardından Cu (II) çözeltisi ilavesiyle histaminin Cu(II) iyonları ile kompleks oluşturduğu belirlenmiştir. 10^{-6} M seviyesinde histaminin tayinine olanak sağlayacak pik, B-R tamponu ortamında ve Cu(II) iyonu ile kompleks oluşturduğunda en iyi şekilde gözlemlenmiştir. Arı zehrindeki (*Apis mellifera*) histaminin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla, çeşitli iyonların girişim etkileri incelenmiştir. Ayrıca histaminin voltametrik davranışlarını incelemek için, dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları da yapılmıştır [62].

7.1.1. Destek elektrolit seçimi ve Ph etkisi

Histaminin pik akımından yararlanarak doğrudan tayinini yapabilmek için, histaminin pik akımının maksimum olduğu elektrolit ortamı araştırılmıştır. 1,0 M HAc/NaAc çözeltileri pH 6,0 ve pH 8,0'de, 0,1 M $H_2PO_4^- - HPO_4^{2-}$ çözeltileri pH 6,0 ve pH 7'de, 0,02 M H_2SO_4 çözeltisi pH 2,0 ve pH 7,0'de, 0,02 M SO_4^{2-} iyonu pH 8,0 ve pH 10,0'da destek elektrolitleri pH 2,0 ve pH 10,0 aralığında Britton-Robinson tamponu kullanılarak histamin piklerine bakılmıştır.

Hücreye 10,0'ar mL destek elektrolitleri alınarak, çözünmüş halde bulunan oksijeni uzaklaştırmak için içerisinde 5 dakika % 99,999 saflıkta azot gazı geçirilmiş ve destek elektrolitlere ait voltamogramlar kaydedilmiştir. Art arda Histaminin standart çözeltisinden hücreye ilaveler yapıldıktan sonra hücreden azot gazı geçirilerek, voltamogramlar alınmıştır.

Eser miktardaki histaminin doğrudan tayini için yapılan çalışmalar sonucunda histamine ait kantitatif tayinini sağlayacak herhangi bir pike rastlanmamıştır [62]. Yapılan literatür taramasında histaminin bakır iyonları ile kompleks oluşturduğu tespit edilmiştir [62,63]. Cu(II) iyonları ve histaminin bir arada bulunduğu çeşitli elektrolit ortamları ve ile histaminin kantitatif tayini sağlayacak yeni bir pik olup olmadığı araştırılmıştır.

7.1.1.1. Fosfat destek elektrolitinde histaminin voltametrik davranışının incelenmesi

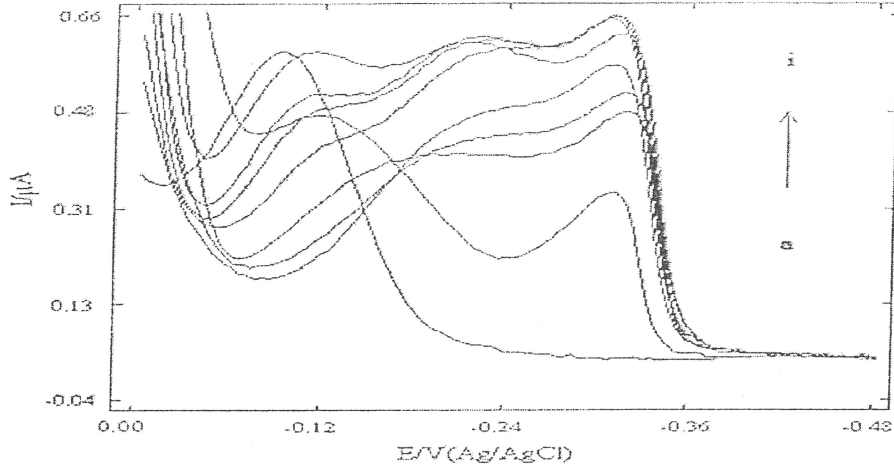
0,1 M $H_2PO_4^-$ - HPO_4^{2-} destek elektrolitinde pH 6,5 ve pH7,0 histamin ilaveleri yapıldığında kayda değer bir pik gözlenmemiştir.

7.1.1.2. Sülfürik asit ve sülfat iyonları destek elektrolitlerinde histaminin voltametrik davranışının incelenmesi

pH 10,0 sülfat iyonu destek elektrolitinde 0,2 mL 1×10^{-3} M histaminin voltamogramı alınmış ve -389 mV'da keskin bir pik görülmüştür. Fakathücreye ard arda standart histamin ilaveleri yapıldığında pik akımlarındaki artışların orantılı olmadığı görülmüştür. pH 2,0 ve pH 8,0 aralığında yapılan çalışmalarda pik gözlenirse de, standart histamin ilavelerinde pik akımlarının düzensiz arttığı görülmüştür.

7.1.1.3. Hac/Naac destek elektrolitinde histaminin voltametrik davranışının incelenmesi

pH 8,0 HAc/NaAc destek elektrolitinde hücreye 0,1 mL 1×10^{-3} M Cu(II) iyonu eklendiğinde -93,1 mV'da Cu(II) iyonlarına ait indirgenme piki görülmüştür. Art arda 3 kez hücreye 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin eklendiğinde -311 mV'da Cu(II) iyonlarının indirgenme pikinden -93,1 mV daha negatif potansiyelde keskin yeni bir pik görülmüştür. Histamin eklenmesiyle pik akımlarında bir artış olduğu ancak, bu artışların standart olarak eklenen histamin miktarı ile orantılı olmadığı görülmüştür.



Şekil 7.1. 10,0 mL pH 8,0' de HAc/NaAc destek elektrolitinde Cu(II) çözeltisi ortamındaki histaminin voltamogramı

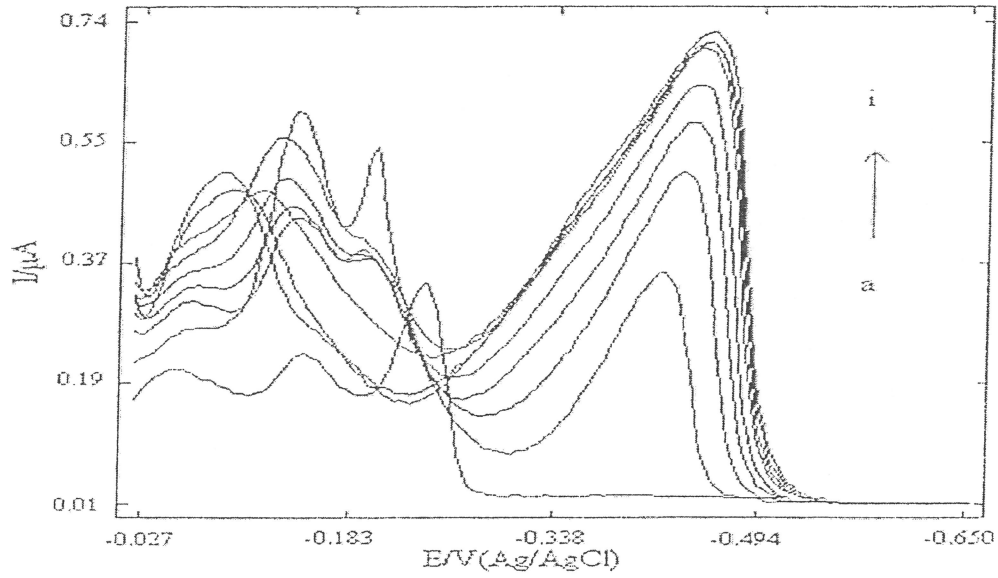
- a) 10,0 mL pH 8,0' de HAc/NaAc + 0,1 mL 1×10^{-3} M Cu(II)
- b) a + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- c) b + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- d) c + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- e) d + 0,1 mL 1×10^{-3} M Cu(II) + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- f) e + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- g) f + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- h) g + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- i) h + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin

7.1.1.4. Britton-Robinson (B-R) tamponunda histaminin voltametrik davranışının incelenmesi

pH 10,0'da 10,0 mL B-R tamponuna 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu (II) iyonu eklendiğinde -242 mV'da Cu(II)'ye ait indirgenme piki kaydedilmiştir. Hücreye standart 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin ilave edildiğinde bakır iyonları ile histaminin -420 mV'da Cu-Histamin kompleks piki kaydedilmiştir.

Standart histamin ilaveleri yapıldığında pik akımlarında artış görülmüş, fakat, bu artışların standart histamin miktarı ile orantılı olmadığı görülmüştür. Bu nedenle pH

10,0'da 10,0 mL B-R tamponuna 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu (II) iyonları ilavesi yapılmış ve -156 mV'da Cu(II)'ye ait indirgenme piki gözlenmiştir. Hücreye standart 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin ilaveleri yapıldığında bakır iyonları ile histaminin -388 mV'da Cu-Histamin kompleksi piki gözlenmiştir. Standart histamin ilavelerinde pik akımlarında artış olduğu ve bu artışların standart eklenen histamin miktarı ile orantılı olduğu gözlemlenmiştir [62].



Şekil 7.2. 10,0 mL pH10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist. kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı [62].

- 10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu + 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltilisi
- a + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- b + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- c + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- d + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- e + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- f + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- g + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- h + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin
- i) h + 0,1 mL 1×10^{-3} M histamin

Eser miktardaki histamin tayini için en iyi sonuç pH 10'da B-R tamponu destek elektroliti ve Cu(II) çözeltilisi ortamında alınmıştır. pH 10'da Cu-Histamin kompleksine

ait pikin pik akımları histaminin derişimi ile doğrusal bir artış gösterdiği ve kompleksin pik şekli keskin olduğu için tayin amaçlı kullanılabilceğine karar verilmiştir. pH (2,0 – 8,0) B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramda yalnız histamine ait pik gözlenmemiştir. pH 2,0 de Cu(II) ortamında B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramda ise Cu-Hist kompleksine ait pik gözlenmemiştir. pH 4,0 ve 6,0'da Cu(II) ortamında B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramında ise Cu-Hist kompleksine ait pikler yayvan olarak gözlenmiş fakat standart histamin ilavelerine karşı Cu-Hist kompleksine ait pikin pik akımındaki artışlar orantılı değildir. pH 8,0'de Cu(II) ortamında B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramında -244 mV'da Cu-Hist kompleksine ait pik yayvan olarak gözlenmiştir. Standart histamin ilavelerine karşı pik akımındaki artışlar orantılıdır. pH 10,0 B-R tamponunda aynı şartlarda alınan komplekse ait pikin akımı, pH 8,0'e göre daha yüksek olduğundan çalışmalar pH 10,0'da yapılmıştır [62].

Cu iyonları ile histamin arasındaki reaksiyonun tam gerçekleştiği ortam şartlarını belirlemek için, 1×10^{-5} M'lık histamin çözeltisinden 10,0 mL B-R tamponu ve 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltisi bulunan elektrolit içine 0,2'şer mL'lik ilaveler yapılmıştır. Alınan voltamogramda 1×10^{-5} M derişimdeki histaminin ilaveleri ile Cu-Histamin pikinin gözlenmemiştir. Daha sonra 10,0 mL B-R tamponu ve 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltisine standart 1×10^{-3} M histamin ilaveleri yapıldığında Cu-Hist. kompleksine ait pik akımlarının orantılı olarak artmadığı görülmüştür. Burada Cu (II) iyonlarının çözeltisi yeterli olmadığı için Cu-Histamin kompleks pikinde artış görülemediği ve bu yüzden Cu (II) iyonlarının çözeltisinin derişimi artırıldığında, düzenli artışların görülebileceği düşünülmüştür. Fakat başka bir hücreye pH 10'da 10 mL B-R tamponuna 0,1 mL 1×10^{-1} M Cu(II) çözeltisi ilave edildiğinde bu ortamda elektrolit içerisinde Cu (II) iyonlarının çöktüğü gözlenmiştir. Bu durumda aynı elektrolit ortamında, standart histamin çözeltisinden 1×10^{-4} M ve Cu (II) iyonlarının derişiminden 0,2 mL 1×10^{-3} M alınarak histamin tayini yapılabileceği denenerek gözlemlenmiştir. Diğer bir denemede ise; aynı elektrolit ortamında 1×10^{-3} M standart histamin çözeltisi ve 0,2 mL 1×10^{-2} M Cu(II) iyonları varlığında da histamin tayininin yapılabildiği görülmüştür [62].

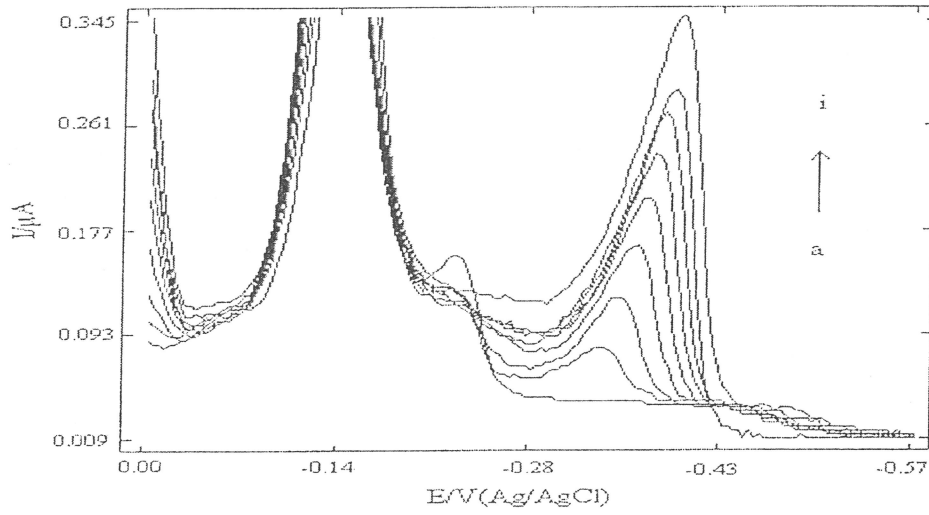
Tablo 7.1. 10.0 Ml B-R Tamponunda Histamin ve Cu-Histamin Kompleksinin Voltametrik Davranışının Ph İle Değişiminin İncelenmesi [62].

pH B-R Tamponu	1x10 ⁻⁵ M Histamin (hücrede)		Cu-Histamin 1x10 ⁻⁵ M Cu(II)_1x10 ⁻⁵ M Histamin (hücrede)	
	Epik(mV)	Pik şekli	Epik(mV)	Pik şekli
	2	Pik yok	Pik yok	Pik yok
4	-409	Yayvan	-361	Yayvan
6	Pik yok	Pik yok	-447	Yayvan
8	Pik yok	Pik yok	-244	Yayvan
10	-394	Keskin	-420	Keskin

pH B-R Tamponu	1x10 ⁻⁶ M Histamin (hücrede)		Cu-Histamin 1x10 ⁻⁵ M Cu(II) -1x10 ⁻⁶ M Histamin (hücrede)	
	Epik(mV)	Pik şekli	Epik(mV)	Pik şekli
	10	-282	Keskin	-388

Kantitatif Reaksiyonun Gerçekleştiği Ortam Şartları I

10,0 mL pH 10,0'da B-R tamponu ve 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltisi bulunan elektrolit içine 1×10^{-4} M'lık histamin çözeltilerinden standart ilaveler yapılarak voltamogramlar kaydedilmiş ve Cu-Hist kompleksine ait pik akımlarının orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Geliştirilen bu ortamda standart ekleme yöntemi ile histamin tayini gerçekleştirilmiş ve tayin aralığı belirlenmiştir [62].



Şekil 7. 3. 10,0 mL pH10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist. kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı

- a) 10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu + 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltisi
- b) a + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin
- c) b + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin
- d) c + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin
- e) d + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin
- f) e + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin
- g) f + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin
- h) g + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin
- i) h + 0,1 mL 1×10^{-4} M histamin

Tablo 7.2. pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında farklı derişimlerdeki Cu-hist. kompleksinin miktar tayini (1×10^{-6} M histamin hücrede)

$\bar{X}_{\text{histamin}}(\text{M})$	S	$\bar{X}_{\text{histamin}} \pm ts/N^{1/2}$	% BSS
$0,92 \times 10^{-6}$	$0,017 \times 10^{-6}$	$(0,92 \pm 0,02) \times 10^{-6}$	1,9

(% 90 Güven Aralığında), N=4

pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisi ortamında hücreye, farklı derişimlerdeki histamin çözeltisinin standart eklemeleriyle 1×10^{-6} M – 8×10^{-6} M aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür [62].

$$I_p (10^{-6} \text{ A}) = 0,0366 \text{ C } (10^{-6} \text{ M}) - 0,0495 \quad (R^2 = 0,9916) \quad (n=8) \quad (7.1.1)$$

Kantitatif Reaksiyonun Gerçekleştiği Ortam Şartları 2

10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu ve 0,2 mL 1×10^{-2} M Cu(II) çözeltisi bulunan elektrolit içine 1×10^{-3} M'lık histamin çözeltilerinden standart ilaveler yapılarak voltamogramlar kaydedilmiş ve Cu-Histamin kompleksine ait pik akımlarının orantılı olarak arttığı görülmüştür [62].

pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisi ortamında hücreye, farklı derişimlerdeki histamin çözeltisinin standart eklemeleriyle $3,0 \times 10^{-5}$ M – $9,0 \times 10^{-5}$ M aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür [62].

$$I_p (10^{-6} \text{ A}) = 0,1251 \text{ C } (1 \times 10^{-5} \text{ M}) - 0,7975 \quad (R^2 = 0,9921) \quad (n=9) \quad (7.1.2)$$

Doğrudan yapılan deneylerden gözlenerek yapılan hesaplamalarda, genel olarak gözlenebilme sınırı için Sinyal/Gürültü oranı 3, tayin alt sınırı için Sinyal/Gürültü oranı 10 olarak alınmıştır. Bu değerler sırasıyla gözlenebilme sınırı $0,33 \times 10^{-6}$ M ve tayin alt sınırı 1×10^{-6} M olarak belirlenmiştir.[62].

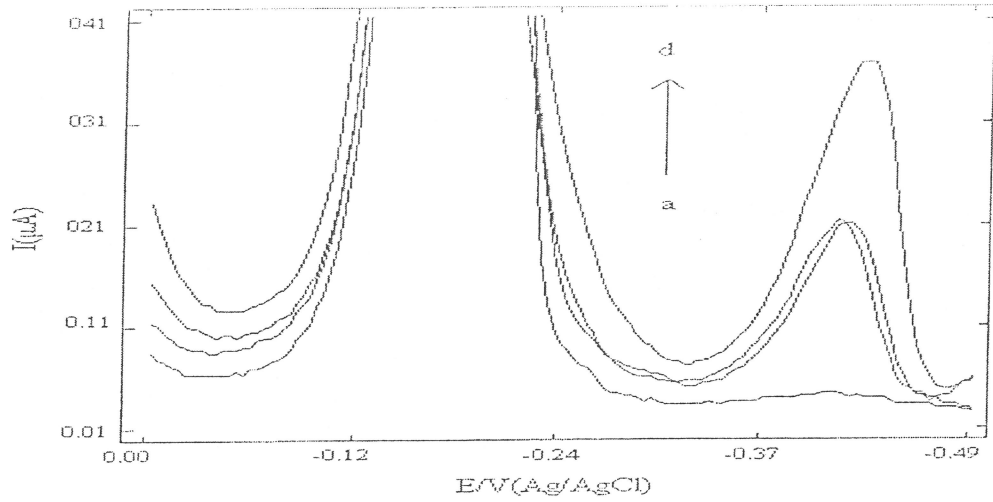
7.2. Girişim Etkisi

7.2.1. Elektroaktif iyonların girişim etkilerinin incelenmesi

Arı zehrinde, histamin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla, Zn^{+2} , Mg^{+2} , Ca^{+2} , Fe^{+3} , Al^{+3} , Ni^{+2} , Pb^{+2} , Se^{+4} , SO_3^{-2} , Cl^- , Co^{+2} , Cr^{+3} , Cd^{+2} , Hg^{+2} , Ba^{+2} , Mn^{+2} , NO_3^- , NO_2^- iyonlarının, histamin tayinine girişim etkileri incelenmiştir.

Yapılan çalışmada pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisi ortamında, Fe^{+3} , Hg^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Ni^{+2} , NO_2^- , Se^{+4} , SO_3^{-2} iyonlarına ait herhangi bir pik gözlenmemiştir. Zn^{+2} , Cd^{+2} , Mn^{+2} iyonlarına ait pik potansiyelleri Cu-Histamin kompleks pikinden daha negatif potansiyellerdedir. Burdan yola çıkarak Cu-Histamin kompleksinin bu iyonlarla herhangi bir etkileşmesinin olmadığı anlaşılmıştır. Çalışılan bu iyonların arı zehrindeki histamin tayinine herhangi bir girişim etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Elektroaktif iyonlardan Pb^{+2} 'nin histaminle girişimi etkisini belirlemek için 10,0 mL pH 10,0' da B-R tampon çözeltisi ve 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltisi üzerine 0,2 mL 1×10^{-4} M histamin, daha sonra Pb^{+2} ilavesiyle -388 mV' taki voltagramına bakıldığında Cu-Histamin kompleks pikinin yüksekliğinde herhangi bir değişim olmadığı görülmüştür. Bu voltamogramlardan Pb^{+2} varlığında histaminin geri kazanımı % 104 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 7.4. Pb^{+2} iyonunun histamin tayinine girişim etkisinin incelenmesi [62].

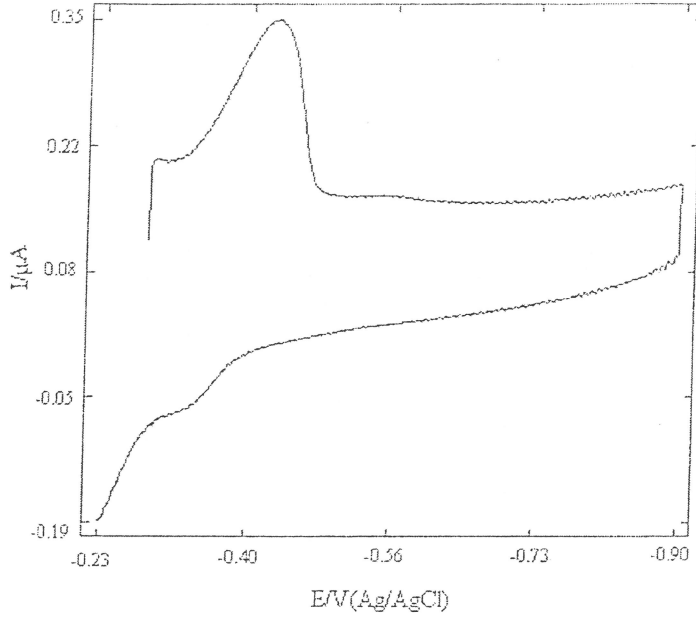
- a) 10,0 mL pH 10,0' da B-R tampon çözeltisi + 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltisi
- b) a + 0,2 mL 1×10^{-4} M histamin
- c) b + 0,1 mL 1×10^{-3} M Pb^{+2} çözeltisi
- d) c + 0,2 mL 1×10^{-4} M histamin

7.2.2. Elektroaktif olmayan iyonların girişim etkilerinin incelenmesi

Arı zehrinde bulunabilecek bazı elektroaktif olmayan Ca^{+2} , Mg^{+2} , Ba^{+2} , Al^{+3} , Cl^- ve NO_3^- iyonlarının da girişim etkileri incelenmiştir. Cl^- iyonunun histamin tayinine girişim etkisi için yapılan hesaplamalar sonucunda Cl^- varlığında histaminin geri kazanımı % 100 bulunmuştur. Çalışma sonucunda elektroaktif olmayan iyonların histaminin indirgenme pikine önemli bir girişim etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

7.3. Histaminin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları

Histaminin voltametrik davranışını incelemek amacıyla 10,0 mL B-R tamponu içeren hücreye 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) çözeltisi ilave edilerek voltamogramı alındıktan sonra 0,1 mL 1×10^{-4} M standart histamin çözeltisi ilaveleri yapılmış ve histaminin pik akımındaki artışlar takip edilmiştir. Dönüşümlü voltamogramda çalışmasında pik şekillerinin daha belirgin olduğu görülmüştür. Bu çalışmaların -236 mV ile -900 mV aralığında potansiyel taraması yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir. (Şekil 7.5).

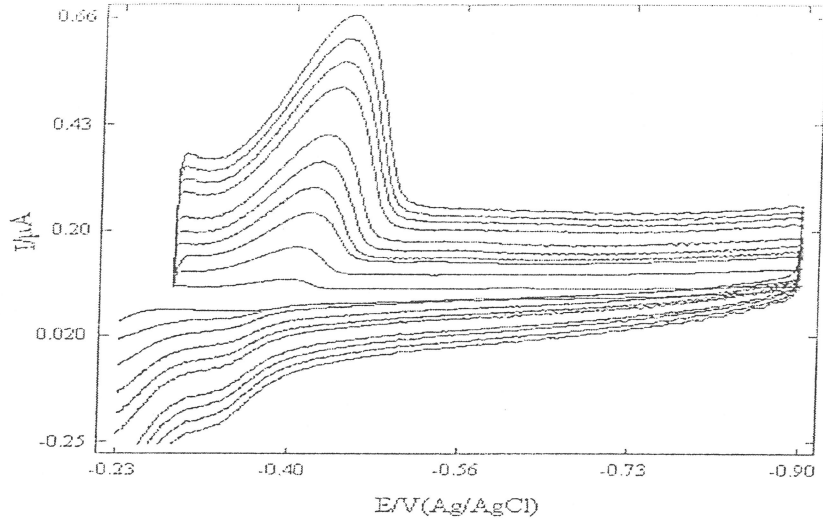


Şekil

7.5. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL 1×10^{-4} M Cu-hist kompleks pikinin dönüşümlü voltamogramı

Tarama hızı 400 mV s^{-1} pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisindeki dönüşümlü voltamogramında $-430,1 \text{ mV}$ 'ta bir katodik pik, yapılan geri tarama sonucunda da $-328,5 \text{ mV}$ 'ta bir anodik pik kaydedilmiştir. Bu pikler histaminin KDSV'sinde -388 mV 'ta kaydedilen pike karşılık gelir [62].

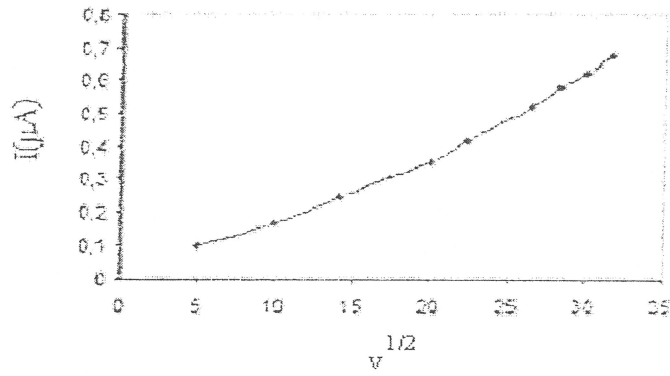
Histaminin indirgenme pikinin katodik pik akımları, tarama hızı arttıkça artmaktadır, pik potansiyelleri de negatife kaymaktadır. Anodik pik akımları da tarama hızı arttıkça artmaktadır.



Şekil 7.6. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL 1×10^{-4} M Cu-hist kompleks pikinin tarama hızı ile değişiminin incelenmesi

Yapılan hesaplamak sonucunda $R^2 = 0,9936$ değerinin histaminin pik akımıyla tarama hızı arasında doğrusal bir ilişki göstermektedir.

$$I_{pk} (10^{-6} A) = 0,0006 v (mV/s) + 0,1176 \quad (R^2 = 0,9936) \quad (7.2.1)$$



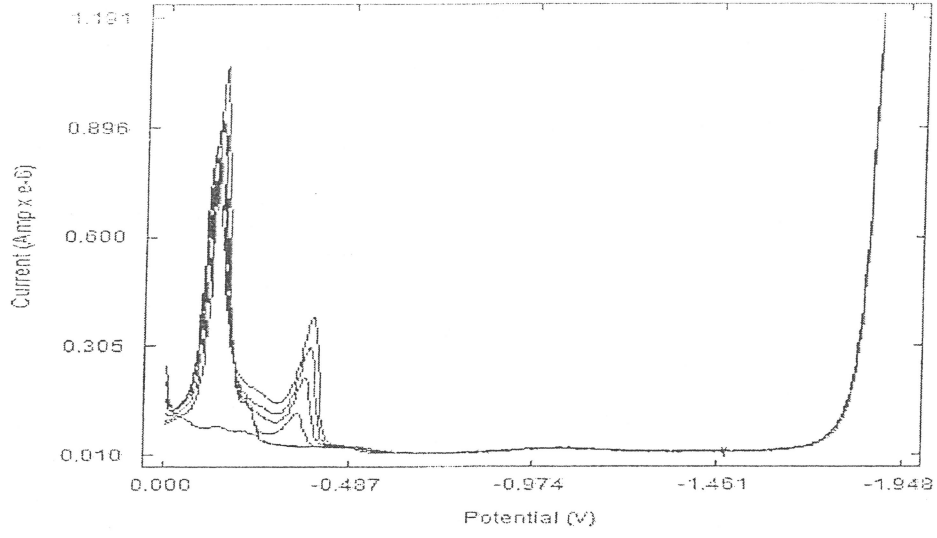
Şekil 7.7. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL 1×10^{-3} M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL 1×10^{-4} M Cu-hist. kompleks piki akımlarının tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi

DV verilerinden yararlanarak histaminin indirgenme reaksiyonunun tersinirliği de incelenebilir. Tersinir bir elektrokimyasal tepkimede anodik pik potansiyeli (Epa) ile katodik pik potansiyeli (Epk) arasında en fazla 59/n mV'luk bir gerilim farkı olmalı ve aynı zamanda anodik pik akımı (Ipa) katodik pik akımına (Ipk) eşit olmalıdır. Buradan aktarılan elektron sayısıdır. Elektrot tepkimesinin tersinirliği azaldıkça anodik ve katodik pikler birbirinden daha farklı gerilimlerde ve daha yayvan olarak gözlenir. Tam tersinmez bir elektrot tepkimesinde ise, ürünün çok hızlı bir şekilde tüketilmesinden dolayı geri pik tamamen kaybolur [62].

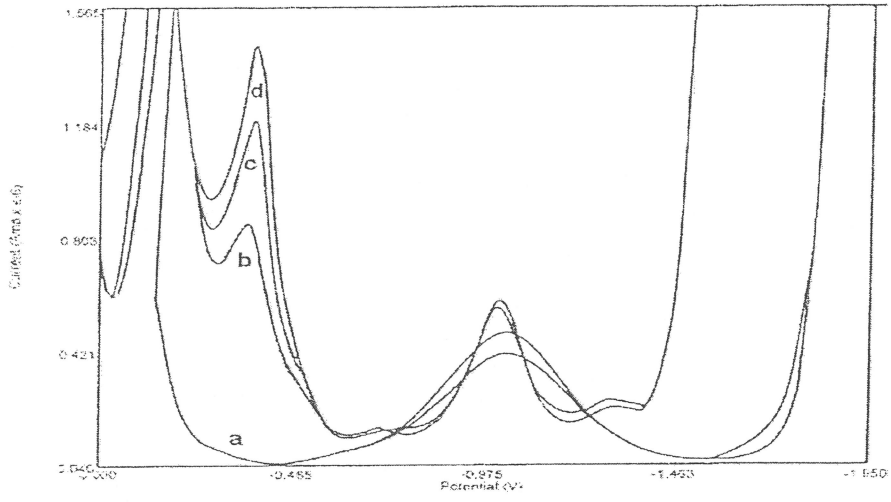
Histaminin KDSV'sinde -388 mV'ta kaydedilen indirgenme piki için, ileri taramada 400 mV/s için -430,1 mV'ta katodik bir pik, geri taramada ise -328,5 mV'ta anodik bir pik elde edilmesi nedeniyle sistem tam tersinmezdir. Bu nedenle sistemin tam tersinmez olduğu düşünölmektedir. İndirgenme mekanizması da tam tersinmez olabilir. Tam tersinmez sistemlerde $I_{pk}/I_{pa} \neq 1$ 'dir. Histamin için 400 mV tarama hızında $I_{pa} = 0,35272 \mu A$ ve $I_{pk} = -0,0541 \mu A$ olarak ölçölmüş, $|I_{pk} / I_{pa}| = 0,15$ olarak bulunmuştur (Tablo7.5). I_{pk} ve I_{pa} birbirine eşit değildir. Tam tersinmez tepkimelerde E_{pk} ' da, v'nin artmasıyla negatif değerlere kayma çok az göröölür. Histaminin 25-1000 mV/s tarama hızı aralığındaki katodik pik potansiyeli -397,4 mV'tan -460, 9 mV' a kadar çok az kaydığı göröölümüştür. Elde edilen bu sonuçlara göre histaminin indirgenme mekanizmasının tam tersinmez olabileceği düşünölmektedir[62].

7.4. Geliştirilen Yöntemin Arı Zehirindeki Histamine Uygulanması

Arı zehiri çok çeşitli endikasyonlara neden olmaktadır. Bu durum arı zehirinin bileşiminde 18 farklı biyoaktif molekülün varlığından kaynaklanır. Bunlardan histamin arı zehirinin yaklaşık %1 ini oluşturur. Tez çalışmasında, öncelikle, eser miktardaki histaminin analizi için elektrokimyasal yöntemler kullanılmıştır. Bu amaçla, histaminin elektroaktif olduğu yöntem ve şartlar araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda çeşitli elektrolit ortamlarında (HCl, Britton Robinson, H₂SO₄ ve fosfat tamponu v.b.) histaminin pik akımları araştırılmıştır. (Şekil 7.8) Çalışmanın sonraki aşamasında uygun elektrolit ortamı belirlenerek, eser miktardaki histamin tayini sırasında gerçekleştirilecek girişimler araştırılarak geliştirilen yöntem [62] arı zehirindeki histamin analizine uygulanmıştır.



Şekil 7.8. Histaminin pik akımları



Şekil 7.9. Geliştirilen yöntemin arı zehrine uygulanması

- a) 10 ml pH 10 Britton Robinson + 0,5 mL 1×10^{-2} M Cu(II)
- b) a + 0,2 mL arı zehiri
- c) b + 0,1 ml 10^{-3} M histamin
- d) c + 0,1 ml 10^{-3} M histamin

Uygulamada; pH 10 Britton Robinson 10 mL elektroliti içinde 0.5 mL 1×10^{-2} M Cu(II) iyonlarının polarogramı alınmış ortama 0.2 mL arı zehiri ilave edilerek -0.45 V 'da arı zehiri içerisindeki histamine ait pik gözlenmiştir. Daha sonra standart hismatin 0.1 mL 10⁻³ M eklemeleri ard arda iki kere yapılmıştır

Bu çalışma 5 kez tekrarlanmış ve arı zehirindeki histamin miktarı belirlenmiştir. Q testi güven aralığı %95 olmak üzere uygulanmış ve arı zehrinde bulunan histamin miktarları içerisinde çok farklı değerlere sahip sonuçların ortalamaya katılıp katılmayacağı belirlenmiştir. Bu sonuca göre hesaplanan histaminin miktarlarının hepsinin ortalamaya katılacağına karar verilmiştir. Sonuçlar Tablo 7.3'de vermiştir.

Tablo 7.3. Arı zehiri numunesindeki histaminin tayini (güven aralığı % 90)

\bar{X} histamin (mg histamin / 1 g arı zehiri)	S	\bar{X} histamin $\pm ts/N^{1/2}$	N	% BSS
25,3	2,9	25.3 \pm 3.4	4	13

Çalışma kapsamında ; histaminin arı zehrindeki tayinini gerçekleştirilmede; hızlı, kolay, doğru, kesin, duyarlı, seçici ve herhangi bir ayırma işlemine gerek duyulmayan voltametrik yöntem ve teknik kullanarak, eser miktardaki histaminin tayini amacıyla geliştirilen metot [62] ile *Apis mellifera* L.,1758 (Insecta:Hymenoptera:Apoidea) arı zehrindeki, histamin tayininde başarıyla uygulanmıştır. Uygulama sonucunda 1gr. Arı zehrinde 25,3 mg histamin varlığı tesbit edilmiştir.

BÖLÜM 8

SONUÇ VE TARTIŞMA

Hymenoptera takımına ait olan Apidae familyasından *Apis mellifera* L.,1758 bütün dünyada yaygın olarak bulunan doğadaki en önemli tozlayıcı böcek grubunu oluşturur. Gerek yabani gerekse de kültür bitkisi olarak floranın temel üyelerinin polinasyonunun sürekliliğinde ve sürdürülebilirliğinde önemli rol üstlenmektedir.

Hymenoptera" türlerinde sadece dişi bireyler iğneleme özelliği gösterirken; erkek bireylerin savunma organı olan iğneleri bulunmaz. Zehir salgılama bireysel veya sosyal böceklerde olduğu gibi savunma amaçlı, bazı türlerde avını öldürmek, hareketsiz bırakmak, avını saklamak ve yavrusunu beslemek için de kullanılır. İşçi arılarda barındıkları kovayı korumak herhangi bir yağmalamaya karşı saldırıya geçmek için, kraliçe arılar ise bir kolonide iki tane ya da daha fazla kraliçe arı varsa aralarında rekabet savaşında ve en kuvvetli olanın zehiri ile ötekini yok etmek için kullanılır .

Arı zehirinde 18 farklı biyoaktif molekülün olması arı zehrine çeşitli özellikler kazandırmaktadır. Bu moleküllerden biri olan histamin arı zehrinin yaklaşık %1 ini oluşturur. Histamin; baş ağrısı, şişme, kaşıntı, kusma ve görme bozukluğuyla, kan damarlarını genişleterek ölüme neden olabilecek etkiye sahip bir maddedir. Histamin, biyolojik olarak vücutta kalbi uyararak, ekstrasvasküler yüzey kaslarının kasılmasına veya gevşemesine neden olarak farklı semptomlarla da kendini gösterebilmektedir. Histaminin gıdalardaki varlığı ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, bir biyojen amin olan histidin gıdalarda gelişen ve dekarboksilaz enzimine sahip mikroorganizmalar aracılığı ile oluştuğu tespit edilmiştir. Bu nedenle gıda bozulmasının göstergesi olan histamin gıdalarda bozulma indikatörü olarak bilinmekte ve bozulmuş veya toksik etkiye sahip maddelerde eser miktardaki histaminin tayini önem arz etmektedir.

Yapılan literatür araştırması sonucunda herhangi bir çalışmada voltametrik histamin tayinine rastlanmamıştır. Histaminin elektrokimyasal davranışları KDSV ve DV teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Histaminin tayini için farklı destek elektrolitlerde, 0,1 M $H_2PO_4^- - HPO_4^{2-}$ (pH 6,0 - 7,0), 1,0 M HAc/Ac (pH 6,0 - 8,0), 0,02 M H_2SO_4 (pH 2,0 - 7,0) , 0,02 M SO_4^{2-} iyonu (pH 8,0 – 10,0) ve pH 2,0 – 10,0 aralığında B-R tamponunda çalışılmış ve en uygun çalışma ortamı olarak pH 10,0 B-R tamponu ve Cu

(II) çözeltisini içeren ortam belirlenmiştir. Histamin tayini için yapılan bu çalışmada Cu-Hist. pikinin pik akımları, histaminin farklı derişimlerinde doğrusal olarak artmış ve pik şekilleri keskin ve dik olarak kaydedilmiştir. Histamin tayini için pH 10,0 B-R tamponu ve Cu (II) çözeltisi ortamında alınan KDSV'lerde -388 mV'da yeni bir pik kaydedilmiştir. Bu pikin akımları histaminin derişimleriyle doğrusal bir artış gösterdiği ve pik şekilleri keskin olduğu için tayin amaçlı kullanılmıştır. Geliştirilen bu ortamda standart ekleme yöntemi ile histamin tayini gerçekleştirilmiştir. Histamin tayini için uygulanan yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla Co^{+2} , Cr^{+2} , Fe^{+3} , Hg^{+2} , Ni^{+2} , NO_2^- , Se^{+4} , SO_3^{-2} , Pb^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Mn^{+2} , Al^{+3} , Ba^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} , NO_3^- ve Cl^- iyonlarının histamin tayinine girişim etkileri incelenmiştir [62].

Tez çalışmamız kapsamında ilgili bölümlerde değinilen metot ve uygulamalar kullanılarak arı zehrindeki histamin miktar tayini yapmak amacıyla pH 10 Britton Robinson 10 mL elektroliti içinde 0.5 mL $1 \times 10^{-2} M$ Cu(II) iyonlarının polarogramı alınmış ortama 0.2 mL arı zehiri ilave edilerek -0.45 V 'da arı zehiri içerisindeki histamine ait pik gözlenmiştir. Daha sonra standart histamin (0.1 mL $10^{-3} M$) eklemeleri ard arda iki kere yapılmıştır ve uygulanan her bir çalışma 5 kez tekrar edilmiştir. Bunun neticesinde ve arı zehrindeki histamin miktarı belirlenmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda Q testi güven aralığı % 95 olmak üzere, *Apis mellifera* L.,1758 (Insecta: Hymenoptera:Apoidea) taksonunda 1g arı zehrinde 25,3 mg histamin varlığı tayin edilmiştir.

Arı arı toksik ve alerjik bileşime ve ekiye sahiptir. Duyarlı kişilerde 5-8 dakika içinde şiddetli bulgular ortaya çıkabilir, 20-30 dakika içinde ağız ya da boyun çevresinde şişme, bilinç kaybı, solunum güçlüğü, kan basıncı düşmesi Ergin bir insan için öldürücü zehirdozu (LD50), vücut ağırlığının her bir kilogramı için 2.8 mg'dır. Örneğin, 60 kg. ağırlığında bir kişinin toplam 168 mg arı zehiri alması durumunda hayattakalma şansı %50 olmakta. Arılar tarafından aynı anda 600 kez sokulan ve iğneleri hemen çıkartılmayan bir insan için her bir arının bütün zehiri boşalttığı (0.3 mg) varsayıldığında bu iğneler bir kişi için öldürücü olabilmekte; 10 kg ağırlığında bir çocuk için ise kesin öldürücü olmaktadır. [63-67]

Pekçok insanın ölümüne neden olan alerjik reaksiyon vücuda giren herhangi bir antijene karşı vücudun oluşturduğu bir tepki olduğundan bu durum birveya birkaç arı iğnesiyle

meydana gelebilir. İnsanlar arı sokmalarına karşı farklı yapıda semptomlar gösterebilirler. Bu durum, o insanın bağışıklık sistemine bağlı olarak zamanla değişebilen bir olay. Aşırı duyarlılık döneminde bulunan bir insanı tek bir arının sokması bile, ölümüne neden olabilmekte. İğne vücuda girdikten 5-8 dakika içerisinde şiddetli semptomlar; 20-30 dakika içerisinde ağız veya boyun çevresinde şişme, bilinç kaybı, solunum güçlüğü, kan basıncının düşmesi 1-96 saat içerisinde de ölüm görülebilmektedir. [71].Dünyanın çeşitli ülkelerinde böcek ve arı sokmalarından yılda 5 ile 100 kişi ölmektedir. [72]. Son yıllarda yapılan araştırmalar, arı zehirine karşı duyarlılığın kalıtsal bir özellik taşıdığı ve bazı genler tarafından kontrol edildiği üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda yabani arı zehirine karşı bağışıklık kazanılması durumunda; bir kişinin 2240 iğne sokulduğu halde yaşadığı bildirilmektedir.[70-80]

İnsan yaşamında hayati önemi olan arı zehiri aynı zamanda pek çok hastalığın tedavisinde çok eski uygarlıklardan günümüze kadar kullanılan bir maddedir. Zehir, Batı ve Doğu Avrupa, Kuzey Amerika, Asya ülkelerinde insan ve veteriner ilacı olarak geniş çapta kullanılmaktadır. [73].

Tablo 8.1 incelendiğinde sokucu- ısırtıcı özelliği olan Hymenoptera'ya ait bazı türlerde zehir bileşimini oluşturan temel molekül sınıflarının gerek varlığı gerekse miktar tayinine dair tespitler görülebilmektedir. *Apis mellifera* L.,1758 türünde, %0,7-1,6 histamin bulunduğu bildirilmektedir. [74-80]. Burada özellikle çeşitli yaban arısı gruplarında ve karınca türlerinde histaminin varlığı tespit edilmekte ancak miktarının net olarak belirlenmediği anlaşılmaktadır. Ayrıca Hymenopter türlerindeki zehir kompozisyonu bakımından enzimlerin, peptidlerin ve küçük moleküllerin araştırıldığı bunların varlık ve miktar tespitlerinin incelendiği görülmektedir. Burada *Apis mellifera* L.,1758 türünün zehir içeriğinin dominant elemannın melittin (%40-50) olmasına rağmen diğer Hymenopter türlerinde melittinin varlığına dair bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, tablo incelendiğinde *Apis mellifera* L.,1758 türünde %10-12 fosfolipaz A2, %1-2 Hyaluronaz asit enzimleri, %3 oranında apamin, %2 MCD peptidi, %0,1-1 dopamin, %0,1-0,2 noradrenalin bulunmaktadır. *Apis sp.* zehirinde türe bağlı olarak tek tip fosfolipaz bulunmasına karşın yaban arısı ve eşek arısında farklı tipte fosfolipazların bulunması, insanlarda arı sokmalarına karşı farklı şiddette alerjik reaksiyonlara sebep olduğu ifade edilmektedir. [72-80].

Tablo 8.1. Hymenoptera zehir bileşiminde Histamin ve diğer Biyokimyasal maddeler

Molekül sınıfları ^a	Maddeler ^a	Bakardları ^b (<i>Apis sp.</i>) ^c	Eşek arıları ^b (<i>Apis mellifera</i>) ^c	Eşek arıları ^b (<i>Apis mellifera</i>) ^c	Eşek arıları ^b (<i>Apis mellifera</i>) ^c	Ateş karıncaları ^b (<i>Formicidae</i>) ^c	Diğer dev karıncalar ^b (<i>Formicidae</i>) ^c	Beş karıncaları ^b (<i>Formicidae</i>) ^c	Bombus arıları ^b (<i>Bombus sp.</i>) ^c
Enzimler ^d	Fosfolipaz A2 ^e	%10-12 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e	± ^e	+b ^e	+b ^e	+b ^e
	Hyaluronik asit ^e	%1-2 ^e	± ^e	± ^e	± ^e	+1 ^e	± ^e	± ^e	± ^e
Peptidler ^d	Melittin ^e	%40-50 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e	=	0 ^e	=	0 ^e
	Apamin ^e	%3 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e	=	=	=	=
	MCD ^e	%2 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e	=	=	=	=
Küçük moleküller ^d	Histamin ^e	%0,7-1,6 ^e	± ^e	=	± ^e	± ^e	=	+b ^e	± ^e
	Dopamin ^e	%0,1-1 ^e	± ^e	=	± ^e	± ^e	=	=	=
	Noradrenalin ^e	%0,1-0,2 ^e	± ^e	0 ^e	=	=	=	=	=
	Asetikolun ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e	± ^e	=	=	0 ^e	± ^e
	Serotonin ^e	0 ^e	± ^e	± ^e	± ^e	0 ^e	=	0 ^e	=

Tablo 8.1 incelendiğinde sokucu- ısırıcı özelliği olan Hymenoptera'ya ait bazı türlerde zehir bileşimini oluşturan temel molekül sınıflarının gerek varlığı gerekse miktar tayinine dair tespitler görülebilmektedir. *Apis mellifera* L.,1758 türünde, %0,7-1,6 histamin bulunduğu bildirilmektedir. [72-80]. Burada özellikle çeşitli yaban arısı gruplarında ve karınca türlerinde histaminin varlığı tespit edilmekte ancak miktarının net olarak belirlenmediği anlaşılmaktadır. Ayrıca Hymenopter türlerindeki zehir kompozisyonu bakımından enzimlerin, peptidlerin ve küçük moleküllerin araştırıldığı bunların varlık ve miktar tespitlerinin incelendiği görülmektedir. Burada *Apis mellifera* L.,1758 türünün zehir içeriğinin dominant elemanının melittin (%40-50) olmasına rağmen diğer Hymenopter türlerinde melittinin varlığına dair bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, tablo incelendiğinde *Apis mellifera* L.,1758 türünde %10-12 fosfolipaz A2, %1-2 Hyaluronik asit enzimleri, %3 oranında apamin, %2 MCD peptidi, %0,1-1 dopamin, %0,1-0,2 noradrenalin bulunmaktadır. *Apis sp.* zehirinde türe bağlı olarak tek tip fosfolipaz bulunmasına karşın yaban arısı ve eşek arısında farklı tipte fosfolipazların bulunması, insanlarda arı sokmalarına karşı farklı şiddette alerjik reaksiyonlara sebep olduğu ifade edilmektedir. [72-80].

Sonuç olarak; bu tez çalışması ile histaminin elektrokimyasal davranışları KDSV ve DV teknikleri kullanılarak *Apis mellifera* L.,1758 Apidae (Insecta: Hymenoptera: Apoidea: zehrinde histaminin varlığı miktar olarak tayin edilmiştir. Bu çalışmamızda zehrin % 2.5'inin histaminden oluştuğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında hızlı, duyarlı, kesin, seçici ve ayırma işlemi olmaksızın tayin yapılması amacıyla geliştirilen [62] voltametrik teknik kullanılmıştır. Böylece mevcut bilgilerde [3-5,10,12-13,20,24-24,37-38,43,47,61-67,68-75] histaminin varlığı, etkisi ve arı zehrindeki miktarı % 1- 2 oranına ulaşırken tez çalışmamızda 1g. arı zehrindeki ortalama 25.3 mg ile, zehrin % 2.5'ni histaminin teşkil ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu oranın, bireysel ve genetik farklılıklar ağırlıklı olarak belirleyici olmakla birlikte bireylerde toksik özellik ve alerjik reaksiyon geliştirebilme bakımından ciddi bir miktar olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte arı zehrindeki histaminin elektrokimyasal yöntemle tayinine dair literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışmamız ile literatürdeki bir boşluk kısmen ve başlangıç olarak giderilmiş olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Kekillioglu, A. "Ankara, Kırıkkale Ve Kırşehir İlleri Apidae (Insecta: Hymenoptera: Apoidea) Türleri Üzerine Faunistik, Sistematik Araştırmalar Ve Ekolojik Gözlemler", *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri,Enstitüsü Doktora Tezi*, s:1, Ankara, 2005
2. İnternet: Adnan Menderes Üniversitesi Çine Arıcılık Müzesi www.Aricilikmuzesi.Net/Sabityazilar.aspx
3. Bilim Teknik Dergisi, S:89, Aralık 2000.
4. Katzung, B.G., "Histamine, Serotonin And Ergot Alkaloids. Basic And Clinical Pharmacology", *Mcgraw Hill, New York*, s.: 255-264, 2007.
5. Maintz, L., Novak, N., "Histamine And Histamine Intolerance", *J. Clin. Nutr*, 85, 1185-119, 2007.
6. Köse, S., Kaklıkaya, N., Koral, S., Tufan, B., Buruk, K.C., Aydın, F. "Commercial Test Kits And The Determination Of Histamine İn Traditional (Ethnic) Fish Products- Evaluation Against An EU Accepted HPLC Method", *Food Chemistry*, 125, 1490-1497, 2011.
7. Bodmer, S, Imark, C., Kneubuhl, M. "Biogenic Amines İn Foods: Histamine And Food Processing", *Inflamm., Res.*, 48, 296-300, 1999.
8. Stratton, J.E., Hutkins, R.W., Taylor, S.L. "Biogenic Amines İn Cheese And Other Fermented Foods: A Review", *Journal Of Food Protection*, s: 460- 470, 1991.
9. Gürbüz, O., Değirmencioglu, N. "Gıdalarda Biyojen Amin Oluşumu", *Gıda*, s: 565-570, 2003.
10. Selçuk, M, ve Dinç, H. Ve Karabağ, K. "Bal Arısı Zehrinin Biyokimyasal Yapısı ve Tıptaki Yeri", *MYO-ÖS 2010-Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu*, s:3-4, Düzce 2010.
11. Salman, S., "Omurgasız Hayvanlar Biyolojisi", *Palme Yayıncılık*, Ankara, s: 501, 2006.
12. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Yaygın Çiftçi Eğitimi Projesi, "Arıcılık" Yayın No:33, 4.Bölüm, s:1, 2001.
13. Benton, T." The Bumblebees of Essex. The Nature of Essex Series", No: 4, *Loginga Books, Essex*, S: 9, 2000.
14. Goodwin, S. and Steiner, M., "Introduction of *Bombus terrestris* for biological pollination of horticultural crops in Australia", *Gosford IPM Services*, 1997

15. Williams, P.H. "An annotated checklist of bumblebees with an analysis of patterns of description", *Bulletin of the Natural History Museum: Entomology Series* 67:79-152, 1198.
16. Borror, D.J., Triplehorn, C.A., Johnson, N.F., " An Introduction to the Study of Insects, Saunders College Publications", *Philadelphia*, s:875, 1989.
17. Michener, C. D., "The Bees of The World", *John Hopkins Univ. Press*, Balitomor, USA, 2000.
18. Delaplane, K.S., Mayer, D.F., "Crop pollination by bees. CABI Publishing", *University Press*, Cambridge, 2000
19. Korkmaz, A., "Arıcılık", *Samsun Valiliği İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayınıdır*, Samsun, s:4-5, 2010.
20. Kılınçer, N., Gençer, V., "İnsanlarda Allerjiye Neden Olan Sokucu İğneli Böcekler", *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, Ankara, 2008.
21. Kandemir, İ., "Amerika Birlesik Devletleri'nde Toplu Arı Olumleri ve Koloni Çökme Bozukluğu (CCD) Uzerine Bir Derleme", *U. Arı Drg./U. Bee J.* 7: 63-69, 2007.
22. Yılmaz, B., "Türkiye Arı Yetiştiricileri Merkez Birliği Kuruluşu ve Çalışmaları", *IV Marmara Arıcılık*, 2011.
23. Karaman, S., Yılmaz, İ., " Cam sera domates üretiminde polinasyon için bombus arısı kullanımını belirleyen faktörlerin analizi", *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(1), s: 99-107, 2007.
24. Çakmak, İ., "Bal Arısı Koloni Kayıpları ve Çözüm Yolları Avrupa Birliği Ülkeleri ve Türkiye'de Arıcılık BAL: Besin ve Şifa Kaynağı Olarak", *Arıcılık Araştırma Dergisi*, Yıl :4, Sayı :7, s :3,Haziran 2012.
25. internet: Omurgasızlar /Böcekler /Entomoloji, Prof. Dr. Ali Demirsoy, 2003. yunus.hacettepe.edu.tr
26. Engel, M. S., "A Monograph of the Baltic Amber Bees and Evolution of the Apoidea (Hymenoptera)", *Bulletin of the American Museum of Natural History*, No:259, 2001
27. Stephen, W. P., Bohart, G. E., Torchio, P. F., "The Biology and External Morphology of Bees; Agricultural Exp. Sta.", *Oregon State University, Corvallis*, 140 p, 1969.
28. internet: İsparta İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü www.ispartatarim.gov.tr/yetistiricilik, Bal Arısı
29. internet: T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı "Arı ürünlerinin üretimi ve değerlendirilmesi" <http://balikesir.tarim.gov.tr/burhaniye/Belgeler/14>

30. internet; Ulusal Zehir Merkezi, Sağlık Bakanlığı, "Zehirlenmeler Tanı ve Rehberleri 2007" http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/200712101406290_bitkapak.pdf
31. Kelle, D, "Apiterapi". *Dicle Tıp Dergisi*, 34:4, 311-315, 2007
32. Derebaşı, E., Canbakal, E.K, " Arı Zehirinin Kimyasal Yapısı ve Tıbbi Çalışmalarda Kullanımı", *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 1,2, s :32, Aralık 2009.
33. Rawles, D.D., Flick, J., "Biogenic amines in fish and shellfish", *Adv. Food Nut.* s: 329-365, 1996.
34. internet; Tuncer, M., "Biyojen Aminler", *B.Ü. Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı*, Ankara moodle.baskent.edu.tr/mod/resource/view.php?id=40168
35. Huss, H., " Assurance of seafood quality", *FAO Fisheries Technical* s: 334., 46 47, 1994
36. Bachert, C., "Histamine a major role in allergy", *Clin Exp Allergy*, s:15-19, 1998.
37. Altınışık, H.B., "Çeşitli Dozlardaki Magnezyum Sülfatin Asetil Kolin, Histamin Ve Potasyum Klorür İle Oluşturulan Bronkospazm Üzerine İn Vitro Etkileri", *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi*, s:17, 2008.
38. internet; Histamin ve Antihistaminikler
yeniweb.mersin.edu.tr/uploads/294/files/histamin.ppt
39. internet; T.C. Millî Eğitim Bakanlığı Acil Sağlık Hizmetleri, "Endokrin Sistem İlaçları ve Otakoidler", Ankara, 2011
mtegm.meb.gov.tr/.../Endokrin%20sistem%20ilaçları%20ve%20otokoidler
40. Cotran, R.S., Kumar, V., "Collins T. Basic Pathology", *W.B. Saunders Company*, Philedelphia, s.:86-96, 2000.
41. Lieberman PL. "Anaphylaxis and anaphylactoid reactions. *In: Middleton's Allergy, Principles and Practice*, s:1497-1522, 2003.
42. Church MK. Histamine receptors, inverse agonism, and allergy. *J World Allergy Org.* 2004; 16:112-116.
43. Leurs, R., Watanabe, T., Timmerman H. Histamine receptors are finally coming out", *Trends Pharmacol Sc.* s:337-339, 2001.
44. İnal, A., ve Altıntaş, D.U., "Histamin Reseptörleri", *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi*, s:138-147, Adana, 2005.
45. Hill, S.J., Ganellin, C.R., Timmerman, H., Schwartz, J.C, Shankley, N.P, Young, J.M., Schunack, W., Levi, R., Haas, H.L, "International Union of Pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors", *Pharmacol Rev*, s:253-278, 1997.

46. Hu, Q., Deshpande, S., Irani, K., Ziegelstein, R.C. , "Ca²⁺ oscillation frequency regulates agonist-stimulated NF- κ B transcriptional activity", *J Biol Chem*, s:274, 1999.
47. Bakker, R.A, Schoonus, S., Smit, M.J, Timmermen, H., Leurs R., " Histamine H1-receptor activation of NF- κ B: Roles for G $\beta\gamma$ and G $\alpha_q/11$ - subunits in constitutive and agonist-mediated signaling", *Mol Pharmacol* , s:1133-1142, 2001.
48. Del Valle, J., Gantz I., "Novel insights into histamine H2 receptor biology", *Am J Physiol*, s: 273:987-996, 1997.
49. Oda, T., Morikawa, N., Saito, Y., Masuho, Y., Matsumoto, S., "Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor referentially expressed in leukocytes", *J Biol Chem*, s:36781-36786, 2000.
50. Çiçek, E., "Diferansiyel Puls Polarografisi İle Alanikarb Tanım İlacının Tayini İçin Yöntem Geliştirilmesi", *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s:57 , Ankara, 2009.
51. T., Yılmaz, Ü., "Bazı iyonların çeşitli ortamlarda diferansiyel puls polarografisi ile tayini için yöntem geliştirilmesi", *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, s. 8-9, Ankara, 2008.
52. internet; Voltametri ve Polarografi
www.bayar.edu.tr/besergil
53. Wahlin, E., "Purification of pyridine for use in polarography" *Radiometer Polarographics*, s:76, 1951.
54. Barek, J., Danhel, I. "Physicochemical methods in the analysis of dyes and dye intermediates. Part IV. Analysis of mixtures of 4-nitrotoluene-2-sulfonic acid and 4,4'-dinitrostilbene-2,2'-disulfonic acid by TAST polarography, differential pulse polarography and thin layer chromatography", *Collect. Czech. Chem.*, s: 1673-84, 1985.
55. Meites, L., "Polarographic Techniques, A division of John Wiley & Sons", *New York*, 1965.
56. Wang, J., "Analytical Electrochemistry", *Second Eddition, A division of John Wiley and Sons*, s: 67, New York, 2001.
57. Barker, G.C., Gardner, A. W. "Pulse polarography" *Fresenius'Zeitschrift fuer Analytische Chemie*, s:173, 79-83, 1960.
58. Osteryoung, J., "Voltammetry for the future", *Accts. Chem. Res.*, 26: 77-83 1993.

59. Osteryoung, J. and Osteryoung, "Pulse polarographic analysis of toxic heavy metals", *American Laboratory (Shelton, CT, United States)* 4(7): 8-12, 14-16, 1972.
60. Siegerman, H. D.; Flato, J. B.; O'Dom, G. W. "Detection and quantitation of antibiotics by differential pulse polarography", *Autom. Microbiol. Immunol.*, s: 305-34. 1975.
61. Sanecki, P., "A distinguishing of adsorption-catalyzed and regular part of faradaic current for inorganic cation-organic adsorbate system: probabilistic curves in cyclic voltammetry and normal pulse polarography", *Electrochem Commun.*, s: 753-756, 2004.
62. İnan, D., "Histaminin Kare Dalga Sıyırma Voltametrisi İle Tayini Ve Uygulanması", Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir 2013.
63. Mikulski, D., et al., " Experimental and quantum-chemical studies of histamine complexes with copper (II) ion" *Polyhedron*, s: 31, 285-293, 2012.
64. internet: T.C.Nevşehir Valiliği Çevre Ve Şehircilik İl Müdürlüğü İl Çevre Durum Raporu,Nevşehir,2012. www.csb.gov.tr/db/ced/eduardosya/nevsehir_icdr2011.pdf
65. Yücel, B., "Apiterapi; Arı Ürünlerinin İnsan Sağlığı Üzerindeki Önemi", *Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama Ve Araştırma Merkezi: 56* , Kasım, 2004
66. Bukantz, S. C., "Deahs following insect sting", *Hosp. Pract.*, s: 10: 12-13, 1975.
67. Shipolini, R.A., "Biochemistry of bee venom. In: handbook of natural toxins", Vol.2, A.T. Tn, (ed), *Marcel Dekker*, s:49-85, New York, 1984
68. Vick, J.A., Brooks, R.B., "Pharmacological studies of the major fractions of bee venom", *American Bee J.*, 112(8):288-289, 1972.
69. Harry, R.C., Riches, A. "Hypersensitivity Bee Venom. Bee World". s: 7-22, 1982.
70. Schmidt, J.O., "Allergy to venomous insects. In:The hive and the honeybee" J.M.Graham, ed. Dadant and Sons, *Hamilton, Illinois*, USA.1209-1269, 1992
71. Pence, R.J., "Methods for producing and bio-assaying intact honeybee venom for medical use", *American Bee J.*, 121(10):726-731, 1981
72. Mahmoud, M. A., "Studies on Bee Venom and Its Medical Uses", *International Journal of Advancements in Research & Technology, Volume 1, Issue2*, Temmuz-2012
73. R.A. Shipolini, G.L. Callewaert, R.G. Cottrell, C.A. Vernon, "The amino-acid sequence and carbohydrate content of phospholipase A2 from bee venom". *Eur. J. Biochem* 48: 465-476, 1974.

74. D.R. Hoffman, and C.L. Wood, "Allergens in Hymenoptera venom XI. Isolation of protein allergens from *Vespula maculifrons* (yellow jacket) venom". *J. Allergy Clin. Immunol* 74: 93-103, 1984.
75. Schmidt, J.O., "Allergy to venomous insects" (In. *The Hive and the Honey Bee*, Edited by Joe M. Graham, Dadant and Sons, Hamilton, Illinois, 1999").
76. V. Prince, D.E. Gunson, and A. Scarpa, "Sting like a bee! The ionophoric properties of a melittin". *Trends Biochem. Sci.* 10:99, 1985.
77. R.A. Shipolini, "Biochemistry of bee venom". In: *Handbook of natural toxins*, Vol. 2, A.T. Tn, (ed.), *Marcel Dekker*, New York 732 s: 49-85, 1984.
78. J. Meier, and J. White, "Clinical toxicology of animal venoms and poisons". *CRC Press*, Inc. ISBN 0-8493-4489-1, 1995.
79. A.W. Benton, and R.A. Morse, "Venom toxicity and proteins of the genus *Apis*". *J. Apic. Res.*; 7(3): 113-118, 1968.
80. A.W. Benton, R.A. Morse, and J.D. Stewart, "Venom collection from honeybees", *Science* 142: 228-230, 1963.

ÖZ GEÇMİŞ

Mehtap ÇALIŞKAN 1980 yılında İzmir’de doğdu. İlk öğrenimini Ankara Selçuklu İlköğretim Okulu’nda, orta öğrenimini Bingöl Lisesi’nde, lise öğrenimini Ordu Lisesinde tamamladı. 1998’de kazandığı Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden mezun oldu. 2009 yılında Manisa Celal Bayar Üniversitesi’nden Ortaöğretim Alan Öğretmenliği Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi aldı. 2011 yılında Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Tezli Yüksek Lisansa başladı. Özel bir dershanede Biyoloji ve Fen Bilgisi öğretmeni olarak görev yapmaktadır.

Adres : 9728 SK NO:21 LİMONTEPE/İZMİR

Tel : 0 505 831 05 96

e-posta : mehtap_serap_sevtap@hotmail.com

