



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**BAL ARISI (*Apis mellifera* L.) ZEHRİ VE ARI ÜRÜNLERİ İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KREM FORMÜLASYONLARININ
GELİŞTİRİLMESİ**

ASLI ELİF TANUĞUR SAMANCI

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. MERAL KEKEÇOĞLU**

DÜZCE, 2021

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BAL ARISI (*Apis mellifera* L.) ZEHRİ VE ARI ÜRÜNLERİ İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KREM FORMÜLASYONLARININ
GELİŞTİRİLMESİ

Aslı Elif TANUĞUR SAMANCI tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Meral Kekeçoğlu

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. Meral Kekeçoğlu

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Emin ÖZLÜ

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Haydar GÖKSU

Düzce Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 18/10/2021

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

18 Ekim 2021

Aslı Elif TANUĞUR SAMANCI

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. Öğretim Üyesi Meral KEKEÇOĞLU'na en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tezi okuyarak kurallara uygun hale getirilmesinde ve düzenlenmesinde verdiği katkılardan dolayı Prof. Dr. Dilek BOYACIOĞLU, Büşra KEVŞEK, Emine Merve UZUN, Elif YORULMAZ ÖNDER ve Fulya CİCERALİ'ye sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Taylan SAMANCI ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasında sağladığı kaynaklardan dolayı SBS Bilimsel Bio Çözümler San. ve Tic. AŞ. (BEE'O Propolis) şirketine teşekkür ederim.

18 Ekim 2021

Aslı Elif TANUĞUR SAMANCI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ	İV
ÇİZELGE LİSTESİ	V
KISALTMALAR.....	VI
SİMGELER	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
EXTENDED ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
1.1. ARI ZEHİRLERİNİN TOPLANMASI	3
1.2. ARI ZEHİRLERİNİN TEMİNİ, ANALİZİ VE PİLOT TESİS KURULUMU	3
1.3. KREM FORMÜLASYONU HAZIRLIĞI VE PROTOTİP GELİŞTİRME...	4
1.4. DENEME ÜRETİMİ VE TEST UYGULAMALARI	4
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	5
2.1. ARI ZEHRİNİN FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ.....	5
2.1.1. Melittin	6
2.1.2. Apamin	7
2.1.3. Ana Hücrenin Granülsüzleştirilmesi Peptidi.....	8
2.1.4. Adolapin	8
2.1.5. Fosfolipaz A2.....	8
2.2. APİTERAPİ	9
2.3. ARI ZEHRİNİN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİSİ	12
2.3.1. Arı Zehrinin Cilt Üzerine Etkileri	14
2.3.1.1. Arı Zehrinin Cilt Hastalıkları Üzerine Etkisi.....	15
2.3.1.2. Arı Zehrinin Pigmentasyona Etkisi.....	17
2.3.1.3. Arı Zehrinin Yaşlanmaya Etkisi.....	18
2.3.2. Arı Zehrinin Antikanserojenik Etkisi	18
2.3.3. Arı Zehrinin Analjezik Etkisi.....	20
2.4. ARI SÜTÜNÜN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİSİ	22
2.4.1. Arı Sütünün Cilt Üzerine Etkileri.....	23
2.5. PROPOLİSİN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİSİ.....	24
2.5.1. Propolisin Cilt Üzerine Etkileri.....	25
2.6. CİLT YAPISI.....	26
2.6.1. Epidermis	26
2.6.2. Dermis.....	27
2.6.3. Hipodermis.....	27
2.7. CİLT FONKSİYONLARI	27
2.8. KREMLER	28
2.8.1. Kremlerin Özellikleri	29
2.9. KREM ÜRETİM YÖNTEMLERİ.....	31
2.10. ARI ZEHRİNİN KOZMETİKTE KULLANIMI	32

2.11. LİTERATÜRE KATKISI.....	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	37
3.1. MATERYALLER	37
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	37
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	37
3.1.3. Krem Üretiminde Kullanılan Hammaddeler.....	38
3.1.3.1. Arı Zehri.....	39
3.1.3.2. Arı Sütü	40
3.1.3.3. Propolis.....	40
3.1.3.4. Gliserin	41
3.1.3.5. Bal.....	41
3.1.3.6. Keçiboynuzu Zamkı.....	41
3.1.3.7. Lipex Shealight	41
3.1.3.8. Jojoba Yağı	41
3.1.3.9. E Vitamini	42
3.1.3.10. Yasemin Yağı	42
3.1.3.11. NaCl.....	42
3.1.3.12. Bal Mumu.....	42
3.1.3.13. Zeytin Yağı.....	43
3.1.3.14. Akoline GC.....	43
3.1.3.15. Stearil Alkol	43
3.1.3.16. Bentonit.....	43
3.2. YÖNTEMLER.....	43
3.2.1. Arı Zehrinde Fiziksel Analizler.....	43
3.2.1.1. Saflaştırılması.....	43
3.2.1.2. Fiziksel Analizler	44
3.2.2. Arı Zehrinde Kimyasal Analizler.....	44
3.2.2.1. Arı Zehirlerinde Nem Analizi.....	44
3.2.2.2. HPLC-UV ile Arı Zehri İçeriği	44
3.2.3. Arı Zehrinde Mikrobiyolojik Analizler	46
3.2.4. Analiz Yöntemlerinin Validasyonu.....	48
3.2.5. Krem Yapısı İçin Prototip Geliştirilmesi	50
3.2.6. Krem Yapımı	54
3.2.7. Kremde Fiziksel Analizler	55
3.2.7.1. Stabilitate Testi	55
3.2.7.2. Antioksidan Etki Testi	55
3.2.7.3. Alerjen Testi.....	56
3.2.7.4. Dermatolojik Test	56
3.2.7.5. Sitotoksikite Testi	56
3.2.8. Verilerin Toplanması, İstatistikî Değerlendirme ve Sorunların Giderilmesi.....	58
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	59
4.1. ARI ZEHRİNDE FİZİKSEL ANALİZLER	59
4.1.1. Fiziksel Analizler	59
4.2. ARI ZEHRİNDE KİMYASAL ANALİZLER	60
4.2.1. Arı Zehirlerinde Nem Analizi.....	60
4.2.2. HPLC-UV ile Arı Zehri İçeriği	61
4.3. ARI ZEHRİNDE MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER	68
4.4. KREM FORMÜLASYONU	72
4.5. KREM YAPISI İÇİN PROTOTİP GELİŞTİRME	84
4.6. KREMDE FİZİKSEL ANALİZLER.....	87
4.6.1. Stabilitate Testi	87
4.6.1.1. El kremi stabilitate testi	88

4.6.1.2. Ayak kremi stabilite testi.....	90
4.6.1.3. Yüz kremi stabilite testi.....	92
4.6.1.4. Vücut kremi stabilite testi.....	94
4.6.1.5. Eklem kremi stabilite testi.....	96
4.6.2. Antioksidan Etki Tayini.....	100
4.6.3. Alerjen Testi.....	103
4.6.4. Dermatolojik Test.....	103
4.6.5. Sitotoksosite Testi.....	107
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	111
6. KAYNAKLAR	113
7. EKLER.....	127
7.1. EK 1: SÖZLEŞMELİ ARICILIK ÜRETİM SÖZLEŞMESİ TASLAĞI.....	127
7.2. EK 2: ARI ZEHİRİ GÜVENLİK BİLGİ FORMU ÖRNEĞİ.....	133
7.3. EK 3: KREM DEĞERLENDİRME FORMU ÖRNEĞİ	134
7.4. EK 4: DERMATOLOJİK TEST SONUCU ÖRNEĞİ.....	135
7.5. EK 5: SİTOTOKSİSİTE TEST SONUCU ÖRNEĞİ.....	137
ÖZGEÇMİŞ	138

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. (a) Arıların arı zehri üretimi (b) Arı zehri toplanması (c) Arıcılardan temin edilen arı zehri örneği.....	11
Şekil 2.2. Arı zehri güvenlik bilgi formu (Ek 2).....	14
Şekil 2.3. Avrupa Komisyonu arı zehrinin kozmetikteki etkileri.	33
Şekil 3.1. Krem için temin edilen doğal ürünlerin bir kısmı.	39
Şekil 3.2. Arıcılardan temin edilen arı zehri örnekleri.	39
Şekil 3.3. Arıcılardan temin edilen arı sütü örneği.	40
Şekil 3.4. Arıcılardan temin edilen propolis örneği.....	40
Şekil 3.5. Melittin, apamin ve fosfolipaz A2 standartları.	45
Şekil 3.6. Arı zehri içerik analizi için kullanılan kolon.	45
Şekil 3.7. Arı zehri içerik analizi için kullanılan HPLC analiz cihazı.....	46
Şekil 3.8. Toplam küf-maya ve toplam mezofilik aerobik sayımı analiz kitleri.	47
Şekil 3.9. <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. coli</i> ve <i>Candida albicans</i> sayımı analiz kitleri. ...	48
Şekil 3.10. Stabilitate çalışmalarının yapıldığı iklimlendirme kabinleri.	55
Şekil 4.1. Arı zehri numuneleri.....	59
Şekil 4.2. Arı zehirleri Pantone renk skalası.....	59
Şekil 4.3. Melittin kalibrasyon eğrisi.....	61
Şekil 4.4. Apamin kalibrasyon eğrisi.....	62
Şekil 4.5. Fosfolipaz A2 kalibrasyon eğrisi.....	62
Şekil 4.6. Arı zehri ana bileşen kromatogramı.	63
Şekil 4.7. Arı zehirlerinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı sonuçları.....	69
Şekil 4.8. Arı zehirlerinde <i>E. coli</i> sayımı sonuçları.....	69
Şekil 4.9. Arı zehirlerinde <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı sonuçları.....	70
Şekil 4.10. Arı zehirlerinde <i>Candida albicans</i> sayımı sonuçları.	70
Şekil 4.11. Arı zehirlerinde toplam küf ve maya sayımı sonuçları.....	71
Şekil 4.12. (a) Faz ayrımı problemi (b) opaklanma problemi.	84
Şekil 4.13. (a) Yumuşak yoğunlukta (b) Orta yoğunlukta (c) Sert yoğunlukta formülasyon denemesi.....	85
Şekil 4.14. Son formülasyon ile hazırlanan yüz kremi (1. Formülasyon).	85
Şekil 4.15. Son formülasyon ile hazırlanan vücut kremi (2. Formülasyon).	86
Şekil 4.16. Son formülasyon ile hazırlanan ayak kremi (1. Formülasyon).	86
Şekil 4.17. Son formülasyon ile hazırlanan el kremi (3. Formülasyon).	87
Şekil 4.18. Son formülasyon ile hazırlanan eklem kremi (1. Formülasyon).	87
Şekil 4.19. Antioksidan etki tayini konsantrasyon-absorbans eğrisi.	101
Şekil 4.20. Kremlerin antioksidan etkileri (% İnhibisyon).	101
Şekil 4.21. Arı zehirli el kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı.....	107
Şekil 4.22. Arı zehirli ayak kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı... 108	
Şekil 4.23. Arı zehirli yüz kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı..... 108	
Şekil 4.24. Arı zehirli vücut kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı.. 109	
Şekil 4.25. Arı zehirli eklem kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı. 109	

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Arı zehrinin bileşimini oluşturan maddeler.	5
Çizelge 3.1. Yüz kremi için deneme formülasyonları.	50
Çizelge 3.2. Vücut kremi için deneme formülasyonları.	51
Çizelge 3.3. Ayak kremi için deneme formülasyonları.	52
Çizelge 3.4. El kremi için deneme formülasyonları.	52
Çizelge 3.5. Eklem kremi için deneme formülasyonları.	53
Çizelge 3.6. Derece ve reaksiyon zonu tanımlaması.	57
Çizelge 4.1. Arı zehirlerinin fiziksel özellikleri.	60
Çizelge 4.2 Arı zehirlerinin (%) nem içeriği.	61
Çizelge 4.3. Arı zehirlerinin (%) melittin içeriği.	63
Çizelge 4.4. Arı zehirlerinin (%) apamin içeriği.	64
Çizelge 4.5. Arı zehirlerinin (%) fosfolipaz A2 içeriği.	64
Çizelge 4.6. Arı zehirlerinin (%) glikoz içeriği.	65
Çizelge 4.7. Arı zehirlerinin (%) fruktoz içeriği.	65
Çizelge 4.8. Arı zehirlerinin (%) sakkaroz içeriği.	65
Çizelge 4.9. Melittin, apamin, fosfolipaz A2 için ANOVA/Tukey sonuçları.	66
Çizelge 4.10. Glikoz, fruktoz, sakkaroz için ANOVA/ Tukey sonuçları.	66
Çizelge 4.11. Arı zehirlerinde mikrobiyolojik analiz sonuçları.	71
Çizelge 4.12. Yüz krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.	72
Çizelge 4.13. Yüz kremi için son formülasyon (1. Formülasyon).	73
Çizelge 4.14. Vücut krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.	74
Çizelge 4.15. Vücut kremi için son formülasyon (2. Formülasyon).	74
Çizelge 4.16. Ayak krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.	75
Çizelge 4.17. Ayak kremi için son formülasyon (1. Formülasyon).	76
Çizelge 4.18. El krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.	77
Çizelge 4.19. El kremi için son formülasyon (3. Formülasyon).	77
Çizelge 4.20. Eklem krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.	78
Çizelge 4.21. Eklem kremi için son formülasyon (1. Formülasyon).	78
Çizelge 4.22. Oda sıcaklığı koşullarında el kremi stabilite testi sonuçları.	89
Çizelge 4.23. +40°C sıcaklık koşullarında el kremi stabilite testi sonuçları.	89
Çizelge 4.24. El kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.	90
Çizelge 4.25. Oda sıcaklığı koşullarında ayak kremi stabilite testi sonuçları.	91
Çizelge 4.26. (+40)°C sıcaklık koşullarında ayak kremi stabilite testi sonuçları.	91
Çizelge 4.27. Ayak kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.	92
Çizelge 4.28. Oda sıcaklığı koşullarında yüz kremi stabilite testi sonuçları.	92
Çizelge 4.29. (+40)°C sıcaklık koşullarında yüz kremi stabilite testi sonuçları.	93
Çizelge 4.30. Yüz kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.	94
Çizelge 4.31. Oda sıcaklığı koşullarında vücut kremi stabilite testi sonuçları.	94
Çizelge 4.32. (+40)°C sıcaklık koşullarında vücut kremi stabilite testi sonuçları.	95
Çizelge 4.33. Vücut kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.	95
Çizelge 4.34. Oda sıcaklığı koşullarında eklem kremi stabilite testi sonuçları.	96
Çizelge 4.35. (+40)°C sıcaklık koşullarında eklem kremi stabilite testi sonuçları.	97
Çizelge 4.36. Eklem kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.	97
Çizelge 4.37. Dermatolojik test sonuçları.	104

KISALTMALAR

10-HDA	10 hidroksi-2-decenoik asit
AD	Apotik Dermatit
ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
BV	Arı Zehri (Bee Venom)
BVT	Arı Zehri Terapisi (Bee Venom Therapy)
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	2,2 difenil-1-pikrilhidrazin
ECM	Hücre Dışı Matris
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü (Food And Agriculture Organization)
HCC	Hepatosellüler Karsinom
HDF	İnsan Dermal Fibroblastları
HIV-1	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus)
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatogram
IRT	Kızılötesi Termografi
IU	Ünite
LD ₅₀	Ortalama Öldürücü Doz
MCD	Mast Hücresi Degranülasyonu
MMP-1	Metaloproteinaz-1
MMP-3	Stromelisin-1
MS	Multiple Skleroz
MTT	3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromür
PBS	Phosphate Buffered Saline
PBV	Arı Zehrindeki Polipeptidler
PLA2	Fosfolipaz A2
RA	Romatid Artrit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TFA	Trifloroasetik Asit
UV	Ultraviyole görünür spektroskopisi
UVB	Ultraviyole B

SİMGELER

%	Yüzde
<	Küçüktür
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
pH	Power of hidrojen
V	Volt
µl	Mikrolitre



ÖZET

BAL ARISI (*Apis mellifera* L.) ZEHRİ VE ARI ÜRÜNLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KREM FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ

Aslı Elif TANUĞUR SAMANCI

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Meral KEKEÇOĞLU

Ekim 2021, 137 sayfa

Arı zehri işçi arıların zehir bezlerinde üretilip, zehir torbalarında depolanan bir maddedir. Bir işçi arı, ömrü boyunca 0,3 mg civarında zehir üretmektedir. Avrupa komisyonu tarafından; kozmetik sektöründe sıkılaştırıcı ve cilt koruyucu bir bileşen olarak tanımlanan arı zehri farmakolojik açıdan da önemli aktif maddeler içermektedir. Arı zehri apiterapide yaygın kullanılan bir madde olmasına karşın formülasyonunda arı zehri içeren kremlere rastlamak oldukça güçtür. Günümüzde doğal içerikli kozmetiklere karşı artan talebin karşılanması doğrultusunda bu çalışmada etken maddesi arı zehri olan krem formülasyonları gerçekleştirilerek doğal içerikli kremler üretilmiştir. Yapılan birçok çalışma ile arı zehrinin antibakteriyel, antiinflamatuvar, sinir sistemi düzenleyici, ağrı kesici, gençleştirici vb. etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Bu çalışma ile arı zehrinin yüz, vücut, ayak, el ve eklem kremi formülasyonları ve prototipleri geliştirilerek stabilite, antioksidan etki, alerjen, dermatolojik ve sitotoksiste testleri uygulanmıştır. Arı zehri, arı sütü ve propolis doğrudan arıcılarla iletişime geçilerek sözleşmeli arıcılık modeli (Ek 1) ile üretilmeye başlanmıştır. İlk olarak arı zehrinin eldesi ve analizler için alt yapının hazırlanması, analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ve validasyonu gerçekleştirilmiştir. Arıcılardan temin edilen 6 farklı arı zehrinin HPLC-UV ile içeriklerine bakılarak seçilen arı zehri, arı zehri 4, kremlerin yapımında kullanılmıştır. Daha sonra, üretim için gerekli doğal bileşenler temin edilmiş ve farklı yoğunlukta arı zehri içeren her krem çeşidi için 9, toplamda 45 farklı formülasyon hazırlanmıştır. Gönüllüler üzerinde yapılan testler ve duyuşal testler sonucu seçilen formülasyonlar üzerinden beş krem çeşidi için prototip ürünler oluşturulmuştur. Seçilen formüllerin prototip kremlerine oda sıcaklığında ve 40°C’de olmak üzere stabilite çalışması uygulanmıştır. Stabilite testi sonucunda uygun çıkan kremler üzerinde çalışılmak üzere antioksidan, alerjen, dermatolojik ve sitotoksiste testlerine gönderilmiştir. Analizler sonucunda oluşturulan beş prototip kremin sonuçları da uygun olarak bulunmuştur. Bu çalışma ile arı zehri içerikli yüz, vücut, ayak, el ve eklem kremi formülasyonları geliştirilerek prototip kremler üretilmiştir.

Anahtar sözcükler: Arı zehri, Apiterapi, Krem, Kozmetik, Antiinflamatuvar aktivite

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF CREAM FORMULATIONS ENRICHED WITH HONEYBEE (*Apis mellifera* L.) VENOM AND BEE PRODUCTS

Aslı Elif TANUĞUR SAMANCI

Düzce University

Institute of Graduate Studies, Department of Biology

Doctoral Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Meral KEKEÇOĞLU

October 2021, 137 pages

Bee venom is a substance that is produced in the venom glands of worker bees. A worker bee produces approximately 0.3 mg of poison during its lifetime. Bee venom, which the European Commission defines as a firming and skin-protecting component in the cosmetics industry, contains pharmacologically significant active ingredients. Although bee venom is a commonly used substance in apitherapy, it is challenging to come across bee venom creams. Since there is an increasing demand for natural cosmetics, creams with natural ingredients were produced in this study by making cream formulations; the active ingredient is bee venom. Many studies have proven that bee venom has many effects such as antibacterial, anti-inflammatory, nervous system regulator, pain relief, and antiaging. In this study, face, body, foot, hand, and articular cream formulations and prototypes with the mentioned effects of bee venom were developed, and stability, allergy, dermatological, and cytotoxicity tests were performed for each of them. The bee venom, royal jelly, and propolis used in creams were produced directly by contacting the beekeepers with a contract beekeeping model. Within the scope of the study, firstly, the preparation of the venom and the preparation of the infrastructure for the analysis, the development, and validation of the analysis methods were carried out. When the contents of 6 different bee venoms obtained from beekeepers were evaluated with HPLC-UV, the selected bee venom, sample 4, was used to produce creams. Then, the necessary natural ingredients for production were provided, and nine different formulations were prepared for each type of cream containing different concentrations of bee venom. Prototype products have been created for five types of cream, based on the formulations selected from voluntary tests and sensory tests. The prototype creams of the selected formulas were tested for stability at room temperature and 40°C. The creams that were found suitable based on the stability test results were subjected to various tests, including antioxidant, allergy, dermatological, and cytotoxicity tests carried out on volunteers. The data generated on five prototype creams showed the appropriateness of the developed formulations. This study produced prototype creams by developing face, body, foot, hand, and joint pain creams containing bee venom.

Keywords: Bee venom, Apitherapy, Kream, Cosmetic, Antiinflammatory activity

EXTENDED ABSTRACT

DEVELOPMENT OF CREAM FORMULATIONS ENRICHED WITH HONEYBEE (*Apis mellifera* L.) VENOM AND BEE PRODUCTS

Aslı Elif TANUĞUR SAMANCI

Düzce University

Institute of Graduate Studies, Department of Biology

Doctoral Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Meral KEKEÇOĞLU

October 2021, 137 pages

1. INTRODUCTION

Bee venom is a pharmacologically active hive product synthesized in the venom glands of worker and queen honeybees and stored in the poison reservoir. This poison, called apitoxin, acts when the needle is immersed, reaching the immersed place through a channel directly connected with the poison bag where it is stored. Propolis is a potent adhesive, the resinous substance collected from various plant sources, transformed, and used by bees to seal the holes in its honeycombs, fix the inner walls, and protect the entrance against intruders. Propolis is known to have various biological activities such as anticancer, antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, antifungal, and antihepatotoxic effects. Another feature of propolis is its contribution to skin protection. Royal jelly is a bee secretion product that is an essential part of the honeybee larva diet and plays a significant role in muscle differentiation. It is thought that the queen bee's longevity compared to other individuals of bee families is due to the consumption of royal jelly throughout its life. One of the pharmacology areas investigates the effects of natural drug-like products and their biological and physiological systems on the body. Among the most significant natural substances, bee venom is essential for its anti-inflammatory properties. Bee venom is a substance that has been used for a long time; studies on its effects and usage areas have been conducted recently showed that it has a healing effect against nervous system diseases and skin diseases. Bee venom, which has many therapeutic properties, can be used primarily in the cosmetic industry with its anti-inflammatory and wound healing properties. Additionally, propolis and royal jelly have been known for their therapeutic effects. On the other hand, royal jelly draws attention due to its pharmacological properties. In this context, the purpose of this study is to develop a prototype cream from bee venom, propolis, honey, and royal jelly to develop cell-regenerating and pain-relieving formulations for different types of creams.

2. MATERIAL AND METHOD

With bee venom, face, body, foot, hand, and joint creams of different densities have been developed, enabling the cells to renew themselves and reduce pain. Bee venoms were first purified within the scope of physical analyzes performed on bee venom. Bee venoms have been selected by looking at the venoms' smell, appearance, and foreign matter. Foreign material and other impurities in bee venoms were removed by filtration. Moisture determination was carried out in bee venom samples where physically foreign substances were removed. HPLC-UV analysis was performed for each sample taken to determine the ingredients of bee venom samples. In bee venom samples, melittin, apamine, and phospholipase A2 were separated by high-performance liquid chromatography (HPLC) in a suitable solution diluted with water and subsequently determined photometrically in the ultraviolet region. In the microbiological analysis of bee venom samples, total aerobic mesophilic microorganism number, total mold and yeast counts, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *E.coli* analyzes were performed. As a result of the analysis, bee venom was used in cream formulations, which was found suitable. A total of 45 different prototype product trials were carried out for five types of cream, containing three different densities of creams and three different densities of bee venom. Tests were conducted on volunteers to select the appropriate one from the prototype trials. As a result of the evaluations, the appropriate formulation was selected, and the prototype cream was made. Firstly, stability tests at 25°C and 40°C were carried out on the prototype creams developed. The stability test evaluated the appearance, density, viscosity, pH, protective efficacy, and microbiological analyses. The antioxidant effect, allergy, dermatological and cytotoxicity tests were carried out for the creams whose stability test results were accepted.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Three replicate studies were carried out on six bee venoms obtained from beekeepers. Moisture values of the analyzed bee venom samples range from 9.16 to 10.56%. According to the results, no incompatibility was found in the physical properties of bee venoms. In terms of melittin, apamin, phospholipase values, bee venom 1,3, and 4 are similar and acceptable at the desired level, while the rest are outside the desired values. Chemical analyzes in bee venoms were evaluated, and it was concluded that bee venom samples of 1 and 4 could be used for cream production. The total aerobic mesophilic bacteria count assay showed no microbial growth in bee venom samples 2, 3, 4, and 6.

Microbial growth was observed 1×10^2 cfu / g in bee venom 1 and 5×10^2 cfu / g bee venom. Accordingly, bee venom sample 4 was chosen for making creams. As a result of the tests, it was decided to make formulation 1 for face cream, formulation 2 for the body, formulation 1 for foot, formulation 3 for hand, and formulation 1 for joint cream from 9 separate formulations for each cream. Based on the results of the stability tests, it was observed that creams remained in the proper formulas, maintaining their properties for up to 90 days at room temperature and $+40^\circ\text{C}$. It is concluded that the creams can be used for 12 months after opening. The antioxidant tests performed on the creams showed that it exhibits a significant antioxidant activity with values in the range of 70-80%. Based on the results obtained, it was concluded that all bee venom creams tested were not allergenic. It is concluded that all bee venom creams are dermatologically suitable without causing any irritation or allergy. Also, it was concluded that all bee venom creams tested by the obtained results are not cytotoxic.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK

This research developed various cream formulations using bee venom, propolis, honey, and royal jelly, active ingredients of natural sources. Bee venom used in cream formulations was selected considering physical, chemical, and microbiological analysis results. Since propolis is known for its antioxidant effects, stability and antioxidant analyses were performed on the prototype formulated to see its effect on the antioxidant characteristic of creams formulated. According to the stability test, it was concluded that creams maintain their properties for up to 90 days at room temperature and $+40^\circ\text{C}$. The antioxidant capacity of hand cream was 71.59%, and foot cream was 70.98%, in line with the graphic created according to test results. The face cream had an 85.44%, body cream 86.72%, and joint cream had an 80.23% antioxidant capacity. Test results performed on the prepared creams concluded that all of them were dermatologically appropriate and noncytotoxic moreover, without allergen components. While commercializing the bee venom creams, the analysis should be continued for anti-aging effect and evaluate the product's effectiveness to be declared on the label of the product. If the effectiveness is low, the studies should be repeated by increasing bee venom in the cream.

1. GİRİŞ

Arı ürünleri içerdği zengin besin değerleriyle insanlığın başlangıcından bu yana beslenmede önemli bir rol oynamıştır. Arılardan elde edilen bu doğal ürünler yalnızca beslenmede etkili değil aynı zamanda hastalıkların tedavisinde de eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Özellikle yüksek koruyucu özelliğe sahip bal, arı sütü ve polen gibi maddelerin yanında arı zehri de sahip olduğu çeşitli bileşenler ile insan sağlığında önemli bir yere sahiptir. Arı zehri kovandaki işçi arılar (*Apis mellifera*) tarafından kendilerini tehlikelere karşı korumaları için zehir bezlerinde üretilen ve daha sonra zehir torbasında depolanan bir maddedir [1]. Apitoksin olarak adlandırılan bu zehir iğne batırıldığı zaman depolandığı zehir torbası ile doğrudan bağlantılı olan bir kanal aracılığıyla batırılan yere gönderilerek etki eder. Hücreden yeni çıkmış arıların zehir üretme oranları çok azdır, büyüyüp 12 günlük olduklarında en yüksek üretim kapasitesine ulaşırlar ve 20 günlük olduklarında zehir üretme yeteneklerini kaybederler. Ergin bir arı ortalama olarak toplamda 0,15 ve 0,3 miligram arasında zehir üretebilmektedir [2]. Arılar iğnelerini batırdıklarında zehirlerinin tamamını vermeyerek yaklaşık üçte birini enjekte ederler ve bu zehrin yetişkin bir insanda kilogram başına düşen LD₅₀ (Lethal doz) yani öldürücü dozu 2,8 miligramdır. Sokma işlemi sırasında arı, iğnesiyle beraber zehir kesesi, sinir sistemi ve kaslarını kaybederek bir süre sonra ölür [3].

Farmakoloji biliminin ilgilendiği alanlardan bir tanesi de ilaç olma niteliği taşıyan doğal ürünlerin, biyolojik ve fizyolojik sistemlerinin incelenerek vücuda olan etkilerinin araştırılmasıdır [4]. Bu etkilerden biri olan doğal ve uyarlanabilir bağışıklık sistemlerini içeren inflamasyon yani iltihaplanma, enfeksiyona karşı normal bir yanıttır. Bununla birlikte, kontrol edilmeden devam etmesine izin verildiğinde, inflamatuvar etki çeşitli hastalıklar ve hatta kanser oluşumuna neden olabilir [5]. Antiinflamatuvar özellik gösteren doğal maddelerin en önemlilerinden birisi de arı zehridir. Arı zehrinin terapötik olarak kullanımı çok eskiye, arı zehrinin apiterapideki modern kullanım çalışmaları 1880’li yıllara dayanmaktadır [6]. Günümüzde etkileri ve kullanım alanlarıyla ilgili birçok çalışma yürütülüp sinir sistemi hastalıklarına ve deri hastalıklarına fayda sağladığı gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasının amacı uzun yıllardır tedavi amacıyla kullanılan arı zehrinden hücre yenileyici ve ağrı kesici özelliği olan krem formülasyonları geliştirip prototip kremler üretmektir. Birçok tedavi edici özelliği bulunan arı zehri özellikle cilt üzerindeki antiinflamatuvar ve yara kapatma özellikleri ile kozmetik sektöründe kullanılabilir. Bu bağlamda içindeki arı zehri ile hücrelerin kendilerini yenilemesini ve ağrı hissini azaltmasını sağlayan farklı yoğunluklarda yüz, vücut, ayak, el ve eklem kremleri geliştirilmiştir. Yapılan çalışma kapsamında ilk olarak farklı arı zehirleri temin edilmiş ve bunların içeriklerine dair analizler yapılmıştır. Analizler sonucunda uygun bulunan arı zehri krem formülasyonlarında kullanılmıştır. Üç farklı konsantrasyonda arı zehri farklı yoğunluklardaki kremler için kullanılmış ve toplamda kırk beş krem formülasyonu geliştirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda uygun formülasyon seçilerek prototip krem yapılmıştır. Bu prototip krem üzerinde stabilite testi yapılarak uygun çıkanlar için antioksidan etki, alerjen, dermatolojik ve sitotoksosite testleri yapılarak kremin cilt üzerindeki gösterdiği etkiler belirlenmiştir.

Arı zehri içerikli krem ürünleri ile ilgili yürütülen bu çalışmada el, yüz, vücut, eklem ve ayak olmak üzere 5 çeşit krem yapılmıştır. Çalışma kapsamında 3 farklı yoğunlukta arı zehri içerikli kremler üretilerek yapılan denemeler ve analizler sonucunda en uygun konsantrasyondaki 5 ürünün seçilmesi planlanmıştır. Çalışma kapsamında ilk olarak arı zehrinin eldesi ve analizler için alt yapının hazırlanması, analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ile validasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonrasında üretim için gerekli doğal bileşenler temin edilmiş ve her farklı krem yapısı ve arı zehri konsantrasyonlarında üretim formülleri belirlenmiştir. 3 farklı yoğunluk ve 3 farklı arı zehri konsantrasyonunda 5 çeşit olmak üzere toplamda 45 ürün prototip olarak üretilmiş ve duyuşal olarak 10 farklı gönüllüde 1 ay boyunca krem denemeleri yapılmıştır. Gönüllüler üzerinde yapılan denemeler ve 1 ay sonunda ürünlerde gözlenen duyuşal değişiklikler göz önünde bulundurularak son krem formüllerine karar verilmiştir. Karar verilen ürünlerde deneme üretimleri ve stabilite çalışmaları yapılmıştır. Yapılan stabilite çalışmaları sonucunda arı zehri içeren el, yüz, vücut, eklem ve ayak kremlerinin son formüllerine karar verilmiştir. Stabilesi uygun olan ürünlerde antioksidan etki tayini testi yapılmıştır ve Yeditepe Üniversitesi laboratuvarlarında sitotoksosite, 15 gönüllü üzerinde dermatolojik ve alerjen testine gönderilmiştir.

1.1. ARI ZEHİRLERİNİN TOPLANMASI

Çalışmada ilk olarak anlaşmalı arıcılardan arı zehri temini sağlanmıştır. 42 x 50 x 58 cm'lik bir kafesin içerisine birbirinden 5 ile 10 mm uzaklıklarda olacak şekilde teller koyulmuştur ve bu tellerden elektrik akımı geçirilmektedir. Tellerin alt kısmına ise cam bir levha yerleştirilmiştir. Arılar iki tel ile temas edince elektrik şokuna uğrayarak cam levha üzerine zehirlerini bırakmaktadır. Cam levha üzerinde hava ile temas eden arı zehri kısa sürede katılaşıp levha üzerinden bıçak ile kazınarak toplanmaktadır. Farklı bölgelerden ve farklı zamanlarda toplanan arı zehirlerinin içerikleri birbirlerinden farklı olabilmektedir. Bunun için yapılan analizlere göre krem üretimi için uygun zehirler seçilmektedir.

1.2. ARI ZEHİRLERİNİN TEMİNİ, ANALİZİ VE PİLOT TESİS KURULUMU

Arı zehri temininden sonra yapılan çalışmalarda analizler için gerekli kimyasal standart ve ekipmanlar temin edilmiştir. Yapılması gereken analizler için ilgili analiz yöntemlerine karar verilmiştir. Bu analizler ile ilgili validasyon çalışmaları tamamlanmış olup arı zehri numuneleri analiz edilmiştir. Son formüle karar verildikten sonra başlanacak pilot ölçekte üretim için gerekli ekipmanlar alınmaya başlanmıştır.

Arı zehriyle ilgili mevcut literatürler taranmış olup, çalışmanın başlangıcında bu taramadan elde edilen literatür bilgileri incelenerek kullanılması planlanan analiz yöntemlerinin prosedürleri oluşturulmuştur. Temini sağlanan arı zehirleri için fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

Fiziksel analizlerde üreticilerden temin edilen farklı arı zehirlerinin renk, koku, görünüm gibi fiziksel özellikleri incelenmiştir. Zehirlerin içerisindeki kovan artıkları, arı parçaları ve toz gibi yabancı ve istenmeyen maddelerin varlığına bakılmıştır. Ayrıca arı zehirlerinin nem içerikleri de ölçülmüştür.

Kimyasal analizlerde arı zehirlerinin melittin, apamin, fosfolipaz A2 ve şeker profili analizinde fruktoz, glikoz ve sakkaroz içeriklerindeki miktarlarına bakılarak temel kalite özellikleri belirlenmiştir. Testler uluslararası literatürde tanımlanmış yöntemlere göre yapılmıştır ve metotların doğruluğu validasyon çalışması ile kontrol edilmiştir. Validasyon çalışmalarında tekrarlanabilirlik, tekrar elde edilebilirlik, stabilite ve doğruluk gibi parametreler incelenmiştir.

Mikrobiyolojik analizler kapsamında arı zehrindeki mikrobiyolojik analizler için testler

gerçekleştirilmiştir. Arı zehirlerinde toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı, toplam küf ve maya sayısı, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *E. Coli* testleri yapılmıştır.

1.3. KREM FORMÜLASYONU HAZIRLIĞI VE PROTOTİP GELİŞTİRME

Prototip kremlerin üretimlerinin yapılabilmesi için ilk olarak üretim yöntemleri geliştirilmiş, bileşenlerin ve prototip ürünlerin hedefine uygun olarak kremde kullanılacak tüm bileşenlere karar verilerek numune temini gerçekleştirilmiştir. Numune temininden sonra 3 farklı arı zehri içeriğine sahip ve 3 farklı yoğunluktaki krem formülasyonları 5 krem çeşidi için hazırlanmıştır. Toplamda 45 krem formülasyonu hazırlanmış olup hepsi için prototip krem üretimi yapılmıştır. Hazırlanan 45 farklı krem prototipi 10 gönüllü üzerinde test edilmiştir ve gönüllüler üzerinde yapılmış olan deneme sonuçları değerlendirilmiştir. Buna ek olarak krem prototiplerinin 1 ay sonunda duyuusal kontrolü yapılmıştır. Krem formülasyonlarının ilk hali ve 1 ay sonraki halleri arasındaki farklar da değerlendirilerek el, yüz, vücut, eklem ve ayak için son krem formülasyonlarına karar verilmiştir. Deneme sonuçlarına göre formülasyonlarda düzenlemeler yapılmıştır.

1.4. DENEME ÜRETİMİ VE TEST UYGULAMALARI

Yapılan analizler sonucunda uygun özelliklere sahip olan prototipler seçilerek deneme üretimleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ürünlerde stabilite testi yapılmıştır. Stabilite testi ile kremlerde pH, viskozite, mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Stabilite testi sonucunda uygun çıkan formülasyonlar için antioksidan etki, alerjen, dermatolojik test ve sitotoksikite testleri dış bir laboratuvar (Yeditepe Üniversitesi Ar-Ge Laboratuvarı) yaptırılarak analiz edilmiştir. Elde edilen analiz verileri kullanılarak gerekli istatistiksel değerlendirme yapılmış, çalışma kapsamında üretilen kremlerin raf ömrü ve stabilitesi hesaplanmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. ARI ZEHRİNİN FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Arıların kendilerini korumak için ürettikleri arı zehri açık, berrak renkli ve suya benzer bir maddedir. Deri ile temas ettiğinde yanma ve iltihaplanmalara yol açabilen bu zehir kokusu olmayan, acı ve pH aralığı 5,0-5,5 olarak asidik bir yapıya sahiptir [7]. Genel yapısında yaklaşık %80 – 90 oranında su bulunurken içeriğindeki diğer bileşenler ise Çizelge 2.1’de görüleceği üzere peptitler, enzimler, aktif aminler, şekerler, lipitler, aminoasitler, mineraller ve uçucu bileşiklerden oluşmaktadır. Farmakolojik açıdan önemli aktif maddeler içeren bu zehrin en önemli bileşeni, kimyasal yapının yaklaşık %50’sini oluşturan polipeptit yapıdaki melittindir. Melittin, fosfolipaz A2’ye yardımcı olarak hızla kana karışır ve hücrelerin parçalanmasına yardımcı olur [8]. Arı zehrinde bulunan diğer önemli polipeptit ise apamindir. Arı zehrinde yaklaşık %2-3 oranında bulunan apamin merkezi sinir sistemini uyarırken aynı zamanda iltihap önleyici bir maddedir. Enzim yapısında olan fosfolipaz A2 arı zehrinde %12 dolayında bulunur ve etkili bir alerjen olduğu için zehrin yapısındaki en etkili maddelerden birisidir. Arı zehrinin içeriğindeki bileşenler ve miktarları Çizelge 2.1’de görüldüğü şekildedir [9].

Çizelge 2.1. Arı zehrinin bileşimini oluşturan maddeler.

Molekül Tipi	Bileşen	Kuru ağırlık başına oran (%)
Peptid	Melittin F ve türevleri	40-50
Peptid	Apamin	2-3
Peptid	Ana hücrenin granülsüzleştirilmesi peptidi	1-2
Peptid	Sekapin	0,5
Peptid	Tertiapin	0,1
Peptid	Adolapin	1
Peptid	Proteaz inhibitörleri	<0,8
Peptid	Prokamin A ve B	1,4
Peptid	Minimin ve Kardiopeptin	13-15
Enzim	Fosfolipaz A2	10-12
Enzim	Hyaluronidaz	1-3
Enzim	Asit fosfomonoesteraz	1
Enzim	α - Glukozidaz	0,6
Enzim	Lizofosfolipaz	1

Çizelge 2.1. (devam) Arı zehrinin bileşimini oluşturan maddeler.

Aktif Amin	Histamin	0,6-1,6
Aktif Amin	Dopamin	0,13-1
Aktif Amin	Norepinefrin	0,1-0,7
Şekerler	Glukoz ve Fruktoz	2
Lipid	6-fosfolipidler	4-5
Amino Asit	A-aminoasitler	1
Amino Asit	Aminobutirik asit	<0,5
Mineraller	P, Ca, Mg	3-4
Uçucu Bileşikler	-	4-8

2.1.1. Melittin

Arı zehrinin kuru ağırlığını yaklaşık %40 – 50' sini oluşturarak zehirdeki en önemli bileşenlerden olan melittin 26 lineer aminoasit dizilimine sahip bir polipeptittir. Katyonik ve hemolitik etkisi olan melittin yapısında karboksi uç ile hidrofilik ve amino tarafı ile hidrofobik kısımlar barındırarak amfipatik özellik gösterir. Amfipatik özelliği sayesinde monomerik ve tetramerik formlarında suda çözünbildiği gibi hem doğal hem de sentetik fosfolipit tabakalarını (bilayers) bozarak membrana kolaylıkla yerleşmesini sağlar. Melittinin membrana monomer olarak bağlanarak etki ettiği gözlenmiştir [10]. Yapısında bulunan hidrofilik ve hidrofobik bölgeler protein – lipit ilişkisi kurarak voltaja bağlı değişiklikler ve membran yıkımının gerçekleşmesi ile hücre zarı penetrasyonuna sebep olur [11]. Daha önce yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere melittinin sebep olduğu membran yıkımı, membranın üzerinde geçici veya kalıcı gözeneklerin oluşmasıyla gerçekleşmektedir. Geçici gözeneklerden iyon gibi küçük maddeler difüzyona uğrarken kalıcı gözeneklerden glikoz gibi maddeler hücreye geçiş yapabilir [12]. Bu sayede hücre membranının doğal yapısı bozularak membran seçiciliğinde bozulmalar meydana gelmektedir.

Arı zehri, membran yapısını bozarak yüzey gerilimini azaltmasının yanında anti inflamatuvar etkisiyle kortizol üretimini indükler. Merkezi sinir sistemini etkileyerek hipofiz bezinin kortizol üretmesini sağlar. Zehrin oluşturduğu acının asıl kaynağı olan melittin kaslara da etki ederek kan dolaşımını arttırırken aynı zamanda kan basıncının düşmesine sebep olur [13]. Değişik arı zehirleri ile yapılan bir çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerindeki etkileri incelendiğinde melittinin zehirdeki anti bakteriyel özelliğe katkı sağladığı belirtilmiştir [14].

Bunlara ek olarak kanser hücreleri üzerinde de bazı etkileri vardır. Kanser üzerine yapılan çalışmalar melittinin kanser hücrelerinde hücre döngüsünün durdurarak büyümeyi

önlediğini göstermektedir. Kanseri hücrelerin membran yapısını değiştirdiği ve dönüşümlerini de önlediği gibi aynı zamanda hücrelerin apoptotik veya nekrotik hücre ölümüne neden olur. Bu konudaki bir araştırmada dünyadaki en yaygın kanser türlerinden birisi olan karaciğer kanserindeki (HCC) kanserli hücreleri üzerinde melittinin antikanser aktivitesi test edilerek HCC hücre hattı üzerinde apoptotik hücre ölümüne sebep olduğu sonucuna varılmıştır [15]. Melittinin kanser hücrelerine olan etkisinin yumurtalık, meme ve servikal kanser türleri üzerinde de benzer özellikleri olduğu bilinmektedir [16]. HIV-1 üzerine yapılan başka bir çalışma sonucunda ilk defa melittinin güvenli bir şekilde bulaşmasını engellediği bulunmuştur. İlk olarak serbest halde bulunan melittin denendiğinde normal hücreler için toksik etki gözlemlenirken, nano partikül şeklinde uygulandığında bu etkinin ortadan kalktığı ve antiviral özelliği olduğu bulunmuştur [17].

Bunlara ek olarak radyasyondan koruyucu, fosfolipaz A2'yi aktive edici, antifungal ve antiinflamatuvar özellikleri olduğu da bilinmektedir. Arı zehri incelendiğinde melittinin olumsuz etkileri önlendiği takdirde deri, sinir ve karaciğerde gerçekteşen iltihaplanmaları önlediği bulunmuştur [18]. Melittinin düşük dozlardaki etkileri yukarıda belirtilenler olurken belirli bir kanser türü için düşük olarak ifade edilebilecek melittin dozu yükseldikçe hemolitik etki ortaya çıkabilir. Hemolitik etki ile alyuvarların hücre zarında bozulmalara yol aarak hemoglobinin hücre dışına çıkmasına sebep olur. Yüksek doz sonucu inflamatuvar etki oluşarak ciltte ve bazı organlarda iltihaplanmalara yol aatabilmektedir. Ayrıca zehirdeki alerjen maddelerden biri olduğu için diğer bileşenlerle alerjik reaksiyon gösterebilir.

2.1.2. Apamin

Arı zehrinde bulunan bir diğer önemli bileşen ise kuru ağırlığın %2 – 3'ünü oluşturan apamindir. 18 amino asit içeren apamin yapısında iki adet disülfid köprüsü içermektedir. Zehir içindeki en küçük nörotoksinlerden birisi olan apaminin en önemli özelliklerinden bir tanesi de anti inflamatuvar etkisidir. Bir çeşit kronik inflamatuvar hastalığı olan ateroskleroza, damar sertliği, sahip fareler üzerinde yapılan bir deney doza bağlı olarak apaminin antiinflamatuvar etki göstererek ateroskleroz hastalığının tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir [19]. Bunun yanında düşük dozda merkezi sinir sistemini etkilerken yüksek dozu nörotoksik etkiye sebep olmaktadır. Literatüre bakıldığı zaman apaminin merkezi sinir sistemindeki Ca^{+2} bağımlı K^{+} (Sodyum-potasyum kanalı) kanallarında seçici bloklama etkisi vardır. Nöronlarda tekrar edilen hareketler için olumlu olan bu etki ile parkinson hastalığı tedavisinde kullanılabileceği ifade edilmiştir [20].

2.1.3. Ana Hücresinin Granülsüzleştirilmesi Peptidi

Arı zehrinin %1 – 2' sini oluşturan ana hücresinin granülsüzleştirilmesi (MCD) peptidi 22 amino asit ve 2 disülfid köprüsü içererek apamine benzer bir yapıdaki peptiddir. Bu peptid mast hücrelerinde K^+ kanallarına etki ederek histaminin salınımını artırır. Farelerle yapılan bir çalışmada ana hücresinin granülsüzleştirilmesi peptidinin güçlü bir anti inflamatuvar özelliği olduğu bulunmuştur [21].

2.1.4. Adolapin

Adolapin kuru ağırlığın %1'ini oluşturan bazik bir peptiddir. Zehirdeki ağrı kesici maddelerden biri olarak romatizmal etkileri azalttığı da bilinmektedir. Aynı zamanda diğer bileşenler gibi antiinflamasyon özelliği bulunmaktadır [16].

2.1.5. Fosfolipaz A2

Diğer maddelerden farklı olarak arı zehrinin içindeki fosfolipaz A2 bir enzimdir ve kuru ağırlıkta yaklaşık olarak %10 – 12 oranında bulunmaktadır. Zehirdeki bilinen alerjen maddelerden en etkili olan bu enzim fosfolipitlerin parçalanmasına sebep olan zararlı bileşenlerdendir. Hücre membranında bulunan fosfolipitleri de parçalayarak membran yapısının bozulmasına sebep olur. İnsanda bulunan fosfolipaz A2 ile homolog olan bu enzim yapılan bir araştırma sonucu prionların sebep olduğu hücre ölümünü inhibe ettiği sonucuna varılmıştır [22]. Melittin ile aktive olabilen enzimin Alzheimer ve parkinson gibi sinir sistemi hastalıklarında etkili olduğu düşünülürken ek olarak inflamasyon oluşumunu da etkilemektedir. Fosfolipaz A'nın bu etkilerine karşılık toksik bileşenlerin parçalanmasını sağlayan fosfolipaz B'nin de arı zehrinde aktivitesi olduğu belirlenmiştir [23].

Yukarıda açıklanan maddelere ek olarak zehir içinde şekerler, uçucu bileşenler ve mineraller gibi birçok bileşen vardır. Bunların bazılarının etkileri tam olarak bilinmemekle birlikte bu konudaki araştırmalar devam etmektedir. Rusya'da arı zehri için geliştirilen bir standarda göre [24]

- Görünüşü küçük ve pul halinde toz olmalıdır.
- Sarımsı veya beyaz bir renge sahip olmalıdır.
- Suda çözünemeyen safsızlıklar %5'i geçmemelidir.
- Suyun kütle oranı %8'den fazla olmamalıdır.
- Ham külün kütle oranı %2'den fazla olmamalıdır.

- Kuru ağırlık açısından 1 mg apitoksin içindeki fosfolipaz A2'nin aktivitesi (IU) 100 IU'den az olmamalıdır.
- Melittinin kütle oranı en az %50 olmalıdır.
- Apaminin ise %2'den küçük olmaması gerekir.

Genel olarak bakıldığında arı zehrinin içermiş olduğu tüm bu maddeler ile antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, sinir sistemi düzenleyici, ağrı kesici, antiaging gibi birçok etkisi olduğu bilinmektedir [25].

2.2. APİTERAPİ

Arılardan elde edilen ürünler, insan beslenmesindeki öneminin yanında yıllar boyunca çeşitli hastalıkların tedavisinde de farklı şekillerde kullanılmıştır. Apiterapi adı verilen bu tedavi biçimi bilinen en eski tarihiyle Antik Mısır'dan günümüze kadar gelen bir yöntemdir. Amerikan Apiterapi Derneği (The American Apitherapy Society Inc)'nin tanımına göre apiterapi bal arılarının üretmiş olduğu arı zehri, bal, polen, propolis gibi arı ürünlerinin tıbbi tedavi amaçlı kullanılmasıdır [26]. Tedavi amaçlı kullanılan ilaçlar birçok kimyasal madde içerdiği için günümüzde fazla tercih edilmemeye başlanmıştır. Ayrıca ilaçların neden olduğu ağır yan etkileri ve tedavi yöntemlerinin artık yetersiz kalması sebebiyle insanlar eskiden olduğu gibi geleneksel yöntemlere yönelmiştir. İnsanların eski çağlardan beri özellikle arı iğnesini tedavi amaçlı kullanması apiterapinin uzun yıllar boyunca kullanılan bir tedavi biçimi olduğunu göstermektedir. İlk olarak Çin ve Japonya gibi uzak doğu ülkelerinde kullanılan geleneksel bir tedavi yöntemiysen son zamanlarda popülerliği artarak tüm dünya ülkeleri tarafından kabul görmüş ve bu tedavi yöntemlerinin kullanıldığı birçok apiterapi merkezleri kurulmuştur [27]. 1950'lerde arıcılık için gelişmiş tekniklere sahip ülkeler arı zehrini kullanmaya başlayarak çalışmalara başlamışlar ve terapötik etkilerini öğrenerek tedavi yöntemleri geliştirmişlerdir [28]. Arı zehrinin vücuda kontrollü ve belirli miktarlarda verilmesi ile ağrı kesici, sinir sistemini düzenleyici ve inflamatuvar etkinin önlenmesi gibi etkilerinden faydalanılır. Bu tedavi sırasında zehrin kullanılacağı yer ve dozu çok önemlidir.

Arı zehri uzun yıllardan beri hastalıkların tedavisi amaçlı olarak arılardan toplanmaktadır. Arı zehrinin birçok farklı toplama metodu bulunurken bunlardan bir tanesi sağım yöntemidir. Sağım yönteminde arının iğnesi el ile karın bölgesinden dışarıya doğru çıkartılır. Zehir haznesine doğru yavaşça tekrarlanan baskılar uygulanarak zehrin

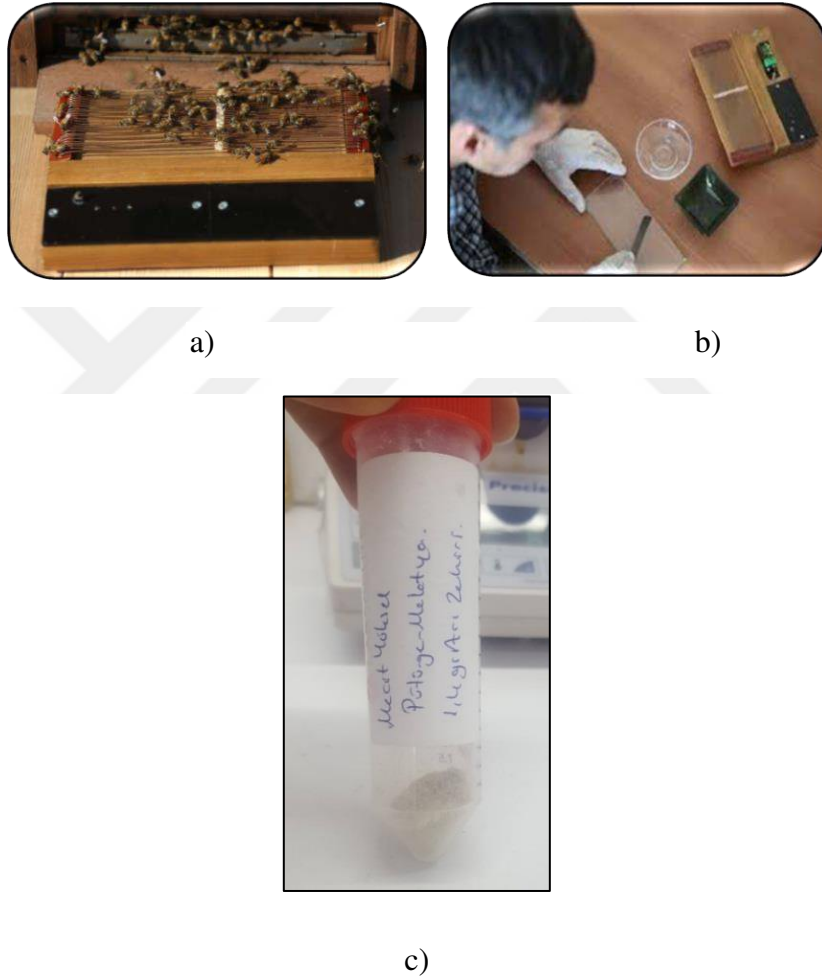
damlacıklar halinde gelmesi sağlanmış olur. Bu teknik ile yaklaşık olarak bir arıdan 0,1 – 0,25 µl aralığında zehir toplanabilmektedir [29].

Sağım yöntemine ek olarak yapılan araştırmalar sonucunda bir diğer arı zehri toplama yöntemi olan ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Ekstraksiyon yönteminde arıların gövdelerinden veya iğnelerinin çıkartılmasının ardından ekstrasyon yapılarak zehir toplanmaktadır [30]. Yapılan çalışmalar sonucunda bu yöntemle elde edilen zehir ve elektriksel sağım yöntemiyle elde edilen zehir yapılarının birbirlerinden farklı olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon yönteminde elde edilen zehirde diğer metot ile toplanan zehirde olmayan proteinler bulunmasına rağmen ekstraksiyon yöntemi için homojenatların sınırlı olması bu yöntemin kullanımını azaltmaktadır [31].

Geliştirilen arı zehri toplama yöntemlerinin arılara zarar vermesi veya zor uygulanabilirliği yüzünden yeni yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu kapsamda en çok uygulanan yöntem arıların elektrik akımına maruz bırakılarak zehirlerin toplanmasıdır. Yapılan çalışma ile arılar düşük voltajda şoka maruz kaldıklarında nemli filtre kağıdını sokarak zehirlerini bırakmışlardır. Bu şekilde arıların herhangi bir zarar görmediği de tespit edilmiştir [32]. Elde edilen bu verilere göre elektrikli sağım için çeşitli ekipmanlar geliştirilmiştir. Amerika’da tasarlanan bir cihaz elektrikli bir cam plakadan oluşturulmuştur ve bu cihaz sayesinde arılara elektrik çarpmaz ve iğnelerini kaybetmezler. Cam plaka 12 V – 220 V arası güçlendirilerek sürekli bir akıma dönüştürülür. Oluşan akım esnek bir kablo yardımıyla cam plakadaki karşı basınçla yerleştirilmiş metal plakaya geçer. Cam plakanın üzerinde paralel olarak düzenlenmiş teller toprağa bağlıdır bu yüzden negatif bir terminal oluşturularak arıların zehir üretmesi için gerekli akım verilmiş olur. Bu sistem ile 20 ve daha fazla plakanın tedariği için gereken akım üretilir. Bu sisteme benzer içerisinde soğutma sistemi de olan başka cihazlar da geliştirilmiştir. Daha sonraki yıllarda İran’da geliştirilen bir cihazda kafes benzeri bir kutunun içerisine iç duvarları şarj edebilecek ve boşaltabilecek elektrik telleri koyulmuştur. Arılar birbirine yakın olan kablolarla temas edince 21 voltluk bir akıma 3 saniye boyunca maruz kalırlar. 7 saniye içinde tekrar şarj edilen kabloların bu döngüsü 5 dakika boyunca devam ederek arıların cam plakayı sokması sağlanır [33].

Eskiden apiterapi tedavisi için arıların iğnelerinin direk batırılması sağlanırken bununla birlikte günümüzde arının zehri üretmesi sağlanmakta, zehir batırılmaya gerek kalmadan ve arılara herhangi bir zarar verilmeden ilaç haline getirilmektedir. Farklı zehir toplama tekniklerinden genellikle Şekil 2.1’de görüldüğü gibi tellerin 5-10 mm aralıklarla paralel

olarak dizilip ve tellerin altına da camdan bir levha koyulması tercih edilir. Bu tellerden yaklaşık 12 voltluk akım geçirilir ve arı bu tellere değdiğinde akımdan dolayı zehir üretir. Zehir cam levhaya bırakılırken normalde bu aşamadan sonra ölen arı bu teknikle iğnesini ve diğer organlarını kaybetmediği için hayatta kalmaya devam eder. Havayla temas eden zehir hızlıca kristal hale geçerek levha üzerinden toplanır. Yapılan çalışmaya göre 10 kovandan yaklaşık 1 – 2 gram zehir toplanabilmektedir. Toplanan zehir miktarı toplama işleminin yapıldığı mevsime göre değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca zehrin toplama işleminin de zehir kalitesine etki edilebileceği düşünülmektedir [34].



Şekil 2.1. a) Arıların arı zehri üretimi b) Arı zehri toplanması c) Arıcılardan temin edilen arı zehri örneği.

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nın açıklamasına göre sokma tedavisinin kronik ve tedavi edilemeyen hastalara henüz kesin bir etkisinin olduğu kanıtlanmasa da multiple skleroz (MS), tendon ve diğer kas yaralanmalarına faydası olduğu belirlenmiştir [35]. Ayrıca yürütülen çeşitli klinik çalışmalar da nörolojik ve inflamatuvar hastalıklarda arı zehrinin olumlu etkileri olduğunu göstermektedir [36].

2.3. ARI ZEHRİNİN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİSİ

Arı zehri uzun yıllar boyunca insanlar tarafından çeşitli ağrılarını geçirmek üzere kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarla zehrin içeriği araştırılmış ve birçok özelliği olduğu bulunmuştur. Arı zehri önceki bölümlerde de belirttiği üzere genel olarak anti bakteriyel, anti inflamatuvar, anti aging, hücre yenileyici, sinir sistemi düzenleyici ve ağrı kesici etkilere sahiptir. Sinir sistemine yaptığı etkilerin yanında diyabetik ve çeşitli deri hastalıkları üzerine de olumlu etkileri bulunurken kanser tedavisi için de önemli bir madde olduğu düşünülmektedir. Yaralar ve iltihaplara iyi gelmesiyle cilt hastalıklarında, ağrı kesici özelliği ile romatizma ve migren tedavilerinde kullanılırken antioksidan özellik gösterdiği de bilinmektedir [37].

Yapılan çalışmalara bakıldığında en spesifik özelliği ise merkezi ve periferik sinir sistemini etkileyerek Parkinson, MS, ALS, Alzheimer ile sinir sistemi inflamatuvarların tedavisinde yardımcı olmasıdır [38]. Amyotrofik lateral skleroz (ALS) merkezi sinir sistemini etkileyerek kas hareketlerinden sorumlu motor nöronlarda ölüme yol açan bir hastalıktır ve günümüzde bu hastalığın henüz kesin bir tanı testi yoktur [39]. Hastalığın sebebi ve tanısı kesin olarak belirlenmediği gibi ilerleyişini durdurmak veya tedavisi için de bilinen bir yöntem bulunamamaktadır. Arı zehrinin hastalığın tedavisini araştırmak amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, hastalık modeli oluşturulan farelere deri altından zehir enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Farelerde motor aktivitelerinin geliştiği ve hayatta kalmalarının kontrol grubuna oranla %18 daha fazla olduğu görülmüştür. Bunun sonucunda hastalığın semptomlarının azaltılmasında arı zehrinin kullanılabileceği görülmüştür [40].

Başka bir sinir sistemi rahatsızlığı olan parkinson hastalığı dünya çapında ikinci en yaygın nörodejeneratif hastalıktır. Mevcut hiçbir tedavi hastalığın tamamen geçmesini sağlamasa da semptomatik tedaviler hastanın yaşam kalitesini arttırabilir [41]. Parkinson hastalığının tedavisi üzerine yapılan araştırmalar arı zehri akupunkturunun nöronlar üzerinde hastalığa karşı koruyucu bir özelliği olduğunu göstermiştir [42].

Sinir sistemine etkileri dışında arı zehrinin bilinen bir başka etkisi ise diyabet üzerinedir. Kısaca pankreasın ürettiği insülin hormonunun eksikliği sonucunda kan şekerinin yükselmesi olarak tanımlanan diyabet gözler, böbrekler, damarlar ve sinirler gibi vücutta birçok organa zarar veren bir hastalıktır. Diyabetin diğer patogenezi ise düşük HDL, yüksek trigliserit ve LDL konsantrasyonu ile gösterilen anormal bir lipit profilidir. Bu

nedenle diyabet için potansiyel çözüm, sadece kan şekeri seviyelerini düşürücü etkiye değil, aynı zamanda lipit düzenleme etkisine de ihtiyaç duyar. Tavşanlar ile yapılan bir çalışmada diyabet hastalığı olan tavşanlar gruplara ayrılarak bir kısmına alloxan bir kısmına arı zehri uygulaması yapılmıştır. Hastalıklı tavşanlara her gün bir arı sokması yapılarak yani 0,2-0,5 ml zehir verilerek durumları incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda arı zehri ile tedavi edilen tavşanların kan şekeri seviyeleri yaklaşık olarak %20,7 olarak azalırken kolesterol seviyelerinin %15,8 azaldığı, düşük yoğunluklu lipoproteinin (LDL) %12,7 azaldığı ve yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyelerinin (HDL) ortalama olarak %14,4 oranında arttığı görülmüştür. Sonuç olarak bal arısı zehri kan şekeri seviyesini düşürürken ayrıca lipit düzenleme aktivitesine sahiptir. Bu çalışma ile arı zehri diyabet için potansiyel bir ilaç olarak düşünülebilir [43].

Arı zehri birçok faydasının yanında sokma işleminin ardından ağrıya neden olabilmekte ve içeriğindeki alerjenik peptidler ile bazı kişilerde alerjenik reaksiyonlar gösterebilmektedir. Alerji normalde zararlı olmayan çevredeki maddelere karşı bağışıklık sisteminin immünolojik olarak göstermiş olduğu aşırı ve anormal bir tepkidir [44]. Arı sokmaları sonrasında böyle bir alerjik reaksiyon olması normaldir ve etkisi genellikle birkaç saatte geçer, bu yüzden çoğu insan için tehlikeli bir durum değildir. Bu konuyu araştırmak üzere arıcılarla yapılmış olan bir çalışmada arı ürünlerinin alerjiye olan etkileri incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda arı zehrini de kapsayan, bal harici, arı ürünlerinin tedavi edici dozlarda kullanılması ile alerjik hastalıklardan korunma ve sağlığın geliştirilmesinde etkili olabileceği ortaya çıkmıştır [45].

Arı zehri içeriğindeki bileşenler gereği arının soktuğu bölgede şişme, kızarma ve yanma gibi belirtiler oluşabilir. Arı ürünlerine karşı alerjisi olanların yanı sıra normalde arı zehrinin yukarıda anlatıldığı üzere alerjik hastalıklara karşı olumlu sonuçları vardır. Şekil 2.2’de de görüldüğü üzere arı zehri tehlikeli madde niteliği taşımamaktadır. Arı zehrinin tedavi amaçlı kullanılmasında zehrin direk sokma, saflaştırılıp enjeksiyonu veya arı zehri içerikli merhemler ile vücuda alımı sağlanmaktadır [46].

GÜVENLİK BİLGİ FORMU	
1907/2006 No'lu Yönetmeliğe (AB) göre Versiyon 5.1 Revize Edildiği Tarih 05.11.2011 Basım Tarihi 12.01.2018	
1. MADDE / MÜSTAHZAR VE ŞİRKET / İŞ SAHİBİNİN TANITIMI	
1.1 Ürün tanıtıcıları	
Ürün ismi	: Bee venom from <i>Apis mellifera</i> (honey bee)
Ürün Numarası	: V3375
Marka	: Sigma
1.2 Madde veya karışımın ilgili tespit edilen kullanımları ve tavsiye edilmeyen kullanımları	
Tanımlanmış kullanımları	: Laboratuar kimyasalları, Maddelerin imalatı
1.3 Güvenlik Bilgi Formu verenin Ayrıntılı Bilgileri	
Şirket	: Sigma-Aldrich Chemie GmbH Riedstrasse 2 D-89555 STEINHEIM
Telefon	: +49 89-6513-1444
Faks	: +49 7329-97-2319
Elektronik posta adresi	: eurtechserv@sial.com
1.4 Acil durum telefonu	
Acil telefon	: 0800 181 7059 (CHEMTREC Deutschland) +49 (0)696 43508409 (CHEMTREC weltweit)
2. TEHLİKELERİN TANITIMI	
2.1 Maddenin veya karışımın sınıflandırması	
GHS'e göre tehlikeli madde değildir. Bu madde, 67/548/EEC Direktifine göre tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır.	
2.2 Etiketleme unsurları	
Bu ürünün EC talimatlarına ve ilgili ulusal kanunlara göre etiketlenmesine gerek yoktur.	
2.3 Diğer tehlikeler - hiç	

Şekil 2.2. Arı zehri güvenlik bilgi formu (Ek 2).

Sağlık Bakanlığı'nın yaptığı açıklamaya göre arı zehri; Multipl skleroz (MS), Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) ve parkinson gibi kas ve iskelet sisteminin işleyişini etkileyen nörolojik hastalıklarda, romatizma sonucu oluşan romatoid artrit gibi kas ve eklem hastalıklarında ve ağrılı hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılabilir. Kullanımda ise herhangi bir arı ürününe alerji veya aşırı hassasiyet olması, ciddi organ yetmezliği, enfeksiyon ve karaciğer sorunları gibi durumlara dikkat edilmelidir. Gebe ve emziren kadınlarla ayrıca 18 yaş altı çocuklarda kullanımı önerilmemektedir [46].

2.3.1. Arı Zehrinin Cilt Üzerine Etkileri

Literatür çalışmalarının incelenmesi sonucunda arı zehrinin genel faydalarının yanında deri üzerine faydaları hakkında da birçok çalışma yürütüldüğü görülmektedir. Arı zehrinin cilt üzerine olan etkileri genel olarak anti inflamatuar, anti aging, hücre yenilenmesi ve pigmentasyon etkileri olarak sıralanabilir. Bu etkiler ile zehir akne, alopesi, atopik dermatit, pigmentasyon ve yaşlanma sorunlarının tedavisinde kullanılabilir. Ağrı kesici ve anti inflamatuar özellikleri ile yara izi, leke, iltihap ve kaşıntı gibi deri hastalıkları için alternatif bir tedavi yöntemidir. Ayrıca anti kanserojen etkisi ile deri kanserleri üzerinde de olumlu sonuçları vardır [47].

Literatüre bakıldığında arı zehrinin cilt hassasiyetiyle ilişkisini anlamak adına domuzlar

üzerinde birtakım testler yapılmıştır. Domuzlar rastgele arı zehri, pozitif kontrol ve etil alkol hassasiyetine göre üç gruba ayrılmış ve arı zehri uygulanmıştır. Her üç grupta da tedaviyle ilişkili klinik bulgu gözlenmemiştir. Ödem ile değerlendirilen ortalama cilt reaksiyonu ve domuzların arı zehri grubundaki duyarlılaşma oranı, ihmal edilebilir bir duyarlılaştırma potansiyelini temsil eden pozitif kontrol grubundakilere kıyasla önemli ölçüde düşük çıkmıştır. Bu verilere göre arı zehrinin iyi tolere edildiği ve dermal tahriş potansiyeli sergilemediği sonucuna ulaşılmıştır. Cilt duyarlılığını tetiklemediği düşünülen arı zehrinin kozmetik bir bileşen olarak topikal kullanımlar için harici bir uygulama sağlayabileceği düşünülmektedir [48]. Başka bir çalışmada ise tahriş hakkında bilgi edinmek için tavşanların deri ve göz mukoza membranlarına arı zehri uygulanmıştır. Tavşanların altısında deri tahrişi, dokuzunda ise göz tahrişi için araştırma yapılmış ve ilk yetmiş iki saatte deri üzerinde herhangi bir etki gözlenmemiştir. Gözde ise ilk günden sonra bazı reaksiyonlar tespit edilmiştir. Fakat bunlar kornea ve irisi etkilemeyen, ihmal edilebilir düzeyde etkilerdir. Bu araştırma da arı zehrinin tahriş edici özelliğinin yok sayılabileceğini göstermektedir [49].

2.3.1.1. Arı Zehrinin Cilt Hastalıkları Üzerine Etkisi

Arı zehrinin insan vücuduna olan etkileri incelendiği zaman özellikle ciltte oluşan birçok hastalığa iyi geldiği bilinmektedir. Sedef hastalığının bir çeşidi olan lokalize plak sedef hastalığı kronik ve inflamatuvar bir cilt hastalığıdır. Kabarık, kırmızı ve pembe zeminde beyaz, iri ve kuru kepek olarak tanımlanan sedef hastalığı çeşitli büyüklük ve şekillerde vücudun her yerinde olabilmektedir [50]. Hayati bir tehlike oluşturmamakla birlikte zorlu bir hastalık olarak hastanın hayatını ciddi derecede olumsuz etkileyebilmektedir. Henüz hastalığın nedeni bilinmediğinden tamamen geçirilmesi için bir tedavi olmamasına karşın etkileri çeşitli tedavilerle azaltılabilmektedir [51]. Bu hastalığa bulunan tedavilerde en önemli sorunlardan bir tanesi toksik etkidir. Yapılan bir çalışmada hastalığın etkilerini en zararsız yoldan yok edebilmek için yeni bir tedavi yöntemi geliştirilmiştir. Bu çalışmada hastalar dört gruba ayrılmış ve gruplara arı zehrinin intradermal, propolis oral ve topikal olarak ve son gruba ise arı zehri ve propolis kombinasyonu şeklinde tedavi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda lokalize plak sedef hastalığı için en az yan etkiye sahip tedavilerden intradermal arı zehrinin tek başına veya propolisle kombinasyonunun oral veya topikal propolisten daha iyi etki ettiği belirlenmiştir [52].

Arı zehrinin farmakolojik özellikleri deride oluşan yaraların iyileştirilmesinde etkilidir. Hayvan derisi üzerinde yapılan bir çalışmada arı zehri ve vazelin yaraların iyileştirilmesi

için kullanılarak kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Denek olarak kullanılan farelerde oluşturulan yaraların durumu çeşitli günlerde histolojik analiz ile değerlendirilmiştir. Bir gruba tedavi amaçlı arı zehri diğer gruba ise vazelin uygulanmış ve kontrol grubu oluşturulmuştur. Arı zehri kullanılan grupta diğer gruplara göre dokuların güçlenmesinden sorumlu bir protein olan kollajen-1 seviyesinde artış gözlenmiştir. Bu grupta fibroz ile ilişkili sitokinlerin eşzamanlı inhibisyonu ile yara iyileşmesinin artarak yara boyutlarında küçülmeler olmuştur. Bu çalışma ile arı zehrinin deri üzerindeki yaraların iyileştirilmesinde kollajen-1 ve çeşitli bileşenlerle birlikte önemli bir özelliği olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca cilt kusurları için topikal arı zehri tedavisinin, yara oluşumunu önleme ve oluşan yaraların boyutlarını azaltmada etkili olduğu düşünülmüştür [53].

Staphylococcus aureus bakterileri sebebiyle oluşan egzama olarak bilinen atopik dermatitis (AD), şiddetli kaşıntı ile birlikte kronik olarak tekrarlayan inflamatuvar bir cilt hastalığıdır [54]. Bu hastalıkta kaşınma sebebiyle oluşan çizikler hastalığın etkisinin daha da kötüleşmesine sebep olur. Arı zehrinin inflamatuvar ve alerjik hastalıklar üzerine etkileri düşünülerek bu hastalıkta tedavi amaçlı kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışmada farelere ilk olarak p- metoksifenetilmetilamin ve formaldehidin bir ürünü olan 48/80 maddesi verilmiştir. Bu madde mast hücrelerini etkileyerek histamin salınımına ve kaşınma hissi oluşmasına sebep olmaktadır [55]. 48/80 bileşiğinin neden olduğu çizilme davranışı üzerindeki etkilerini önlemek için farelere bir de arı zehri (0,01 ve 0,1 mg/kg) enjekte edilmiştir. Arı zehrinin ana hücrenin granülsüzleştirilmesi ve pro inflamatuvar sitokin ekspresyonunu inhibe ederek atopik dermatit ile ilişkili semptomları iyileştirebildiği gözlenmiştir [56]. Çalışma sonucunda arı zehrinin atopik dermatit hastalığı etkilerini azaltıcı ve dermatiti önleyici tedavilerin geliştirilmesinde kullanılarak cilt hastalıklarında faydalı olduğu kanısına varılmıştır.

Inflamatuvar özelliği ile akne oluşumuna sebep olan *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) Gram pozitif ve anaerobik bir bakteridir. Cilt mikrobiyotasının her yerinde bulunabilen bu bakteri cilt dışı enfeksiyon bölgelerinde potansiyel bir patojendir [57]. *P. acnes*, bir dizi enfeksiyona neden olmanın yanı sıra inflamatuvar durumlarla da ilişkili bir bakteridir ve bu özelliği ile ciltte akne oluşumuna sebep olmaktadır [58]. Normalde antibiyotikler bu bakterinin tedavisinde kullanılırken çeşitli yan etkileri olduğu için alternatif bir tedavi yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada, arı zehrinin bakterinin oluşturduğu inflamatuvar cilt hastalığına karşı terapötik etkilerini araştırmak için, bakteri enjekte edilen

farelerin sağ kulaklarının cilt yüzeyine arı zehri uygulanmıştır. Bakteri inflamatuvar etkinin artmasına sebep olurken zehir ile tedavi bu reaksiyonların önemli ölçüde azalmasını sağlamıştır. Yapılan çalışmanın sonuçları arı zehrinin inflamatuvar cilt hastalıkları üzerinde inhibitör olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu özelliği ile akne karşıtı olarak kozmetik endüstrisinde kullanılabilecek bir madde olduğu belirtilmiştir [59].

2.3.1.2. Arı Zehrinin Pigmentasyona Etkisi

Arı zehrinin cilt hastalıkları üzerindeki etkilerine ek olarak cildin pigmentasyonuna da etki ettiği bilinmektedir. İstenmeyen cilt lekeleri ve oluşan renk eşitsizlikleri için yapılan çalışmalar sonucunda arı zehrinin ciltteki pigmentasyonu etkileyen faktörler üzerinde onarıcı bir etkisi olduğu görülmektedir. Pigmentasyon melanosit proliferasyonu, melanogenez, göç veya dendriklikteki artışlardan kaynaklanabilmektedir. Son zamanlarda, arı zehrinin bir bileşeni olarak salgılanan fosfolipaz A2'nin (sPLA2) melanosit ve pigmentasyonunu uyardığı bilinmektedir [47]. Arı zehri klinik olarak romatoid artriti kontrol etmek ve antiinflamatuvar özellikleri ile ağrıyı iyileştirmek için kullanılmaktadır. Ayrıca, arı zehri ile tedaviden sonra, enjeksiyon bölgeleri etrafında pigmentasyon nadiren gözlenmiştir ve nadir oluşan bu pigmentasyon birkaç ay sürmüştür. Bununla birlikte, arı zehrinin melanositler üzerindeki etkisi hakkında yapılan bir çalışmada arı zehrinin normal insan melanositlerinde proliferasyon, melanogenez, dendriklik ve göç üzerindeki etkisi ve sinyal iletimini incelenmiştir. Bu çalışma ile arı zehrinin melanosit dozunu ve süresini bağımlı olarak artırdığı gözlenmiştir. Ayrıca arı zehrinin, artmış tirozinaz ekspresyonu ile melanogenezi ve PLA2 aktivasyonu yoluyla melanosit dendrikliğini ve göçünü indüklediği sonucuna varılmıştır. Genel olarak, bu çalışmada, arı zehrinin pigmentasyondan sorumlu olan in vitro kompleks sinyal yollarından melanosit proliferasyonu, melanogenez, dendriklik ve göç üzerinde bir etkisi olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışma ile arı zehrinin vitiligo cildinde repigmentasyonu indüklemek için terapötik bir ilaç olarak geliştirilebileceği gösterilmiştir [60].

Arı zehrinin cildi etkilediği bir başka özellik ise ultraviyole (UV) ışınlar karşı koruma sağlamasıdır. Özellikle UV ışınlarının yaklaşık %5'ini oluşturan ultraviyole B (UVB) ışınları cilt için en tehlikeli olanıdır. Düşük dozda kronik UVB maruziyetinin, cilt kalınlığı ve kırışıklık oluşumuna ek olarak cilt elastikiyetinde azalma dahil olmak üzere cilt foto yaşlanmasına, photoaging, neden olduğu bilinmektedir [61]. UVB ışınlarının cilt fibroblastlarında matris metaloproteinaz-1 (MMP-1) ve stromelisin-1 (MMP-3) sentezini

indükleyerek ciltteki foto yaşlanma ve tümör ilerlemesine sebep olmaktadır [47], [62]. Yapılan bir araştırmada arı zehrinin UVB ışınları insan dermal fibroblastlarında (HDF) MMP – 1 ve MMP – 3 ekspresyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Zehrin MMP – 1 ve MMP – 3 protein seviyelerini %50 – 85 oranında ve mRNA ekspresyonunu da azalttığı gözlenmiştir. Zarar görmüş fibroblastların düzeltilmesine yardımcı olmasıyla ultraviyole ışınlarından korunmada etkili olduğu kanıtlanmıştır [63].

2.3.1.3. Arı Zehrinin Yaşlanmaya Etkisi

Arı zehrinin en önemli özelliklerinden bir tanesi yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan değişimler üzerindeki etkileridir. Arı zehrinin kırışıklık, sarkma, cilt tonu ve düzgünlük gibi yaşlanma belirtilerini etkileyip etkilemediğinin araştırıldığı bir çalışmada yaşlanan cilt fenomenleri üzerindeki etkinliği değerlendirmek için klinik etkinlik denemeleri yapılmıştır. Kırışıklık, sarkma ve cilt düzgünlüğünün iyileştirilmesinin ölçülmesi için ölçümler, uygulamadan önce, tedaviden hemen sonra ve tedaviden 1 hafta sonra üç kez alınmıştır. Bu çalışma ile insan dermal fibroblastları (HDF'ler) kullanarak hücresel etkinlik denemeleri yoluyla, arı zehrinin, hücre dışı matris (ECM) tarafından düzenlenen genler olarak bilinen MMP1 ve COL1A1'in UVB kaynaklı gen ekspresyonu üzerinde koruyucu etkileri olduğunu doğrulamışlardır. Sonuç olarak, arı zehrinin, ECM düzenlenmiş gen ekspresyonu ve yaşlı cilt belirtileri dahil UVB ile indüklenen hücresel hasarı iyileştirdiği bulunmuştur. Bu sonuçlar yeni, etkili bir yaşlanma karşıtı kozmetik bileşen olarak arı zehrini ortaya koymaktadır [64].

Arı zehri serumunun yaşlanan cildin klinik bulguları üzerindeki yararlı etkilerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada sonuçlar, arı zehri serum tedavisinin, toplam kırışıklık alanını, toplam kırışıklık sayısını ve ortalama kırışıklık derinliğini azaltarak yüz kırışıklıklarını klinik olarak iyileştirdiğini göstermektedir. Yapılan klinik çalışmanın sonuçlarına göre arı zehri serumunun cilt kırışıklıklarının giderilmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir [65].

2.3.2. Arı Zehrinin Antikanserojenik Etkisi

Arı zehrinin bilinen olumlu sağlık etkilerine ek olarak kanser üzerine de birçok etkisi olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre arı zehrindeki polipeptidler (PBV) hepatom hücre dizisi üzerinde hücrelerin büyümesini inhibe edici etki göstermiştir. Hücre ölüm mekanizmalarının analizi PBV'nin apoptotik hücre ölümüne neden olduğunu göstermiştir. Sitotoksitenin MTT (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolium)

analizi sonuçları, PBV'nin sitotoksik etkilerinin doza ve zamana bağlı olduğunu doğrulamıştır. Bu çalışma PBV (10,0 µg/mL) ile işleme tabi tutulan insan hepatom hücrelerinin çoğalmasının önlendiğini göstermiştir. Apoptotik hücre ölümü daha sonra annexin V, propidyum iyodür boyaması ve DNA fragmentasyon analizi ile doğrulanmıştır. İn vivo deneylerde PBV (1,5 veya 3 mg/kg) ile tedavide farelerde insan hepatom hücre büyümesinde önemli bir yavaşlama olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular arı zehrinin tümörlere karşı kemoterapötik bir ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir [66].

Arı zehrinin apoptoza neden olup olmadığının araştırıldığı başka bir çalışma için arı zehri ile tedavi edilen akciğer kanseri hücreleri üzerinde fenilindol boyaması, akış sitometrik analizi ve DNA fragmentasyon analizi yapılmıştır. Morfolojik ve biyokimyasal analizler yoluyla arı zehri ile tedavi edilen akciğer kanseri hücrelerinin apoptotik ölüm yolağı sergilediği gösterilmiştir. Ek olarak, arı zehrinin siklooksijenaz ve PGE2 sentezinin ekspresyonu üzerinde engelleyici bir etkiye sahip olup olmadığının doğrulanması için bir çalışma yapılmıştır. Siklooksijenaz-2 mRNA'nın ekspresyonu ve PGE2 sentezinin arı zehri tarafından inhibe edildiği görülmüştür. Arı zehrinin insan akciğer kanseri üzerinde bir anti kanser etki gösterdiği sonucuna varılmıştır [67].

Bir diğer çalışmada, arı zehrinin, lösemik hücrelerde apoptozu indüklediği bildirilmiştir. Ayrıca arı zehri ile indüklenen apoptoza, Bcl-2'nin aşağı regülasyonu, kaspaz-3'ün aktivasyonu ve bunu takip eden bir poli polimeraz (PARP) yarılmaları eşlik etmektedir. Kaspaz-3 inhibitörü hücre canlılığını geri kazanma yeteneğine sahip bulunmuş ve kaspaz-3 aktivasyonu yoluyla arı zehri ile indüklenen apoptoz, Bcl-2-aşırı eksprese eden hücrelerde önemli ölçüde zayıflatılmıştır. Bu sonuçlar, Bcl-2'nin aşağı regülasyonunun, arı zehri ile indüklenen apoptoz ile ilişkili bir kaspaz-3'ün aktivatörü olarak başlatılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Sonuçlar, arı zehri ile indüklenen apoptozdaki anahtar regülatörlerin, insan lösemi hücrelerinde Bcl-2 ve kaspaz-3 olduğunu göstermiştir [68].

İnsan meme kanseri hücrelerinde arı zehri tarafından indüklenen apoptozun moleküler mekanizmaların araştırıldığı bir çalışmada veriler arı zehrinin mitokondriye bağımlı bir yolla apoptozu indüklediği göstermektedir [69].

Arı zehrinin farelerde ve tümör hücre kültürlerinde olası tümör büyümesi ve metastaz önleyici etkilerinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Arı zehrinin farelere intravenöz uygulanması, akciğerdeki metastaz sayısını önemli ölçüde azaltmıştır. Arı zehrinin neden

olduğu immünolojik parametrelerde de değişiklikler gözlemlenmiştir. Ayrıca arı zehrinin, tümör büyümesinin inhibisyonu ve lenf nodlarındaki lokal hücresel bağışıklık tepkilerinin uyarılmasına dayanan tümör reddini teşvik etmenin dolaylı bir mekanizmasına sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan bu çalışma ile arı zehrinin tümör büyümesini inhibe ettiği sonucuna varılmıştır [70].

2.3.3. Arı Zehrinin Analjezik Etkisi

Romatoid artrit (RA) eklemleri içeren karmaşık bir otoimmün ve inflamatuvar hastalıktır ve kadınlarda daha sık görülmektedir. Bu hastalık üzerine yapılan çalışmada kadın hastalarda iltihaplanma ve oksidatif strese neden olan romatoid artrit (RA) arı zehri akupunkturunun terapötik aktivitesi değerlendirilmiştir. 75 kadın hasta kontrol, arı zehri akupunkturu, romatoid artrit, tedavi edilen romatoid artrit ve arı zehri gruplarıyla birlikte olarak 5 gruba ayrılarak test edilmiştir. Arı zehri tedavisi ile romatoid artrit iltihabı ve oksidatif stres etkilerinin hafifleterek hastalığın rutin tedavisinden daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma arı zehrinin anti artrit etkisinin anti inflamatuvar ve antioksidan ile ilişkili olabileceğinin düşünülmesine sebep olmuştur [71]. Arı zehrinin cilt üzerindeki olumlu etkilerini kanıtlayan tüm bu çalışmalar zehrin kozmetik sektöründe kullanılabilecek önemli bir madde olduğunu göstermektedir.

Akut ve kronik ağrı durumlarının tedavisinde kullanılan ilaçlar zamanla vücutta gastrointestinal kanama ve böbrek yetmezliği gibi birtakım yan etkilere sahiptir. Bu yan etkiler sebebiyle günümüzde ağrıyı gidermek için doğal bileşenler tercih edilmeye başlanmış ve bu konu hakkında çalışmalar başlatılmıştır. Arı zehri geleneksel olarak tıpta ağrıyı hafifletmek ve RA gibi inflamatuvar hastalıkları tedavi etmek ve ağrı gibi etkilerini geçirmek için kullanılmıştır. Uzun yıllar boyunca arı zehri akupunktur yoluyla ağrılı bölgelere ağrı kesici olarak uygulanmıştır. Ağrı kesici anlamına gelen analjezik etki, arı zehri uygulamasında impuls ve nöronları uyararak analjezik sistemin, ağrı kontrol sisteminin, harekete geçmesini sağlamaktadır. Bu uyarı ile vücutta beta endorfin, enkefalin, serotonin ve norepinefrin seviyeleri yükselerek analjezik ve antiinflamatuvar etki oluşturulur [72]. Enkefalinlerin antidepresan, anksiyolitik ve antikonvülsif etkileri, betaendorfinin analjezik ve antiinflamatuvar etkinliği, serotonin ise analjezik etkisi bulunmaktadır [73]. Arı zehrinin akupunktur tedavilerinde ağrı, artrit ve multipl skleroz başta olmak üzere çeşitli hastalık tablolarında kullanımı ağrı kesici özelliğinin kanıtlar niteliktedir. Arı zehrinin vücutta tedavi amaçlı kullanılabilmesine dair yapılan bir çalışmada ham arı zehirlerinden dengeli bir zehir çözeltisi hazırlanmıştır. Arı zehrinin

enjeksiyon ve intradermal yollarla ağrılı bölgelere uygulanabileceğini ve bu bölgelerde herhangi bir toksik etki veya alerjenik reaksiyona sebep olmayacağını göstermiştir [2]. Kas-iskelet ağrıları tedavisinde arı zehri ile tedavinin analjezik etkinliğine ilişkin kanıtları değerlendiren bir çalışma gerçekleştirilerek on yedi veritabanı sistematik olarak araştırılmıştır. Bu araştırmalarda kas-iskelet sistemi ağrısı olan hastalar için yapılan arı zehri tedaviler sonucunda kas-iskelet ağrısının tedavisinde arı zehrinin etkinliği için anlamlı kanıtlar sunulmaktadır [74]. Hayvanlar ile yapılan başka bir çalışmada arı zehrinin akupunktur olarak romatit artrit kaynaklı ağrılı bölgeye uygulanması incelenmiştir. Bu çalışma ile uzun süreli arı zehri tedavisinin romatit artrite bağlı ağrı ve inflamatuvar için tedavi sağladığı kanısına varılmıştır [75]. Romatoid artrit ve osteoartrit için mevcut arı zehri akupunkturunun kanıtlarını özetlemeyi ve değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada ise literatür taranarak 67 çalışma incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda arı zehri akupunkturunun antiinflamasyon ve analjezik etkileri, çeşitli hayvan artritik modellerinde kanıtlanmıştır. İki randomize kontrollü çalışma ve üç kontrolsüz klinik çalışma, arı zehri akupunkturunun artrit tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir [76]. İnsanlar üzerinde diz osteoartriti olan hastaların ağrısını hafifletmek için arı zehri akupunkturlarının etkilerinin incelendiği bir çalışmada akupunkturun etkinliğini 4 haftalık tedaviden sonra hem ağrı kesici skorlar hem de bilgisayarlı kızılötesi termografi (IRT) kullanarak değerlendirilmiştir. Terapötik sürenin sonunda, hastalardan akupunktur tedavisinin ağrının azaltılması üzerindeki terapötik etkinliğini değerlendirmeleri istenmiştir. Arı zehri akupunkturu alan deneklerin ağrı rahatlatması bildirdikleri gözlemlenmiştir. Ayrıca, IRT skoru önemli ölçüde iyileştirilmiş ve ağrı kesici seviyesine paralel olduğu ortaya çıkmıştır [77]. Arı zehri tedavisinin anti-inflamatuvar ve analjezik etkilerini incelemek için yapılan başka bir çalışmada artritli sıçanların birinci grubuna akupunktur ikinci grubuna ise arı zehri tedavisi uygulanmış ve kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Denekler üzerindeki analjezik etkilerin, arı zehri ile tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı bulunmuştur [78]. Arı zehri enjeksiyonunun hipotansiyon, bradikardi veya sedasyon gelişmeden düşük doz klonidin kaynaklı analjezik etkileri artıp arttıramayacağını incelemek üzere yapılan bir çalışma arı zehri ile yapılan ön tedavinin akut formalinle indüklenen ağrı modelinde ve daha kronik nöropatik ağrı modelinde sürekli olarak klonidin kaynaklı analjezi güçlendirdiğini göstermiştir [79]. Metastatik kolorektal kanseri tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan oksaliplatin infüzyonu, soğuk veya mekanik uyarılara maruz kaldığında tetiklenen veya şiddetlenen spesifik duyuşal nörotoksisite belirtilerini indükler ve tedavisi henüz

bulunamamıştır. Oksaliptatin, kolorektal karsinom tedavisinde yaygın olarak kullanılan ancak baskın olarak periferik sinir sistemi içinde nörotoksisiteye neden olan etkili bir platin türevidir. Yapılan bir çalışmada tedavi için hasta farelere arı zehri uygulanmış ve arı zehri kaynaklı fosfolipaz A2'nin (PLA2) farelerde oksaliptatin kaynaklı soğuk ve mekanik alodiniyi ve mekanizmasını zayıflatıp, analjezik yollarla hafiflettiğini göstermiştir [80].

Arı zehrinin kas gevşetici özelliği ile ilgili yapılan bir çalışmada arı zehri kreminin miyorelaksan etkisi placeboya kıyasla değerlendirilmiştir. Ağrılı RDC / TMD Ia ve RDC / TMD Ib olan 79 hasta ile paralel grupta randomize çift kör çalışma yapılmıştır. Hastaların çene kaslarına 14 gün boyunca 3 dakikalık masaj ile arı zehri kremi uygulanmıştır. Placebo grubu hastalarına ise aynı işlem vazelin ile gerçekleştirilmiştir. Kas gerginliği ve maksimal kas kasılmaları ölçülerek kas tonusunda azalma arı zehri grubunda istatistiksel olarak placebo grubuna göre daha uygun bulunmuştur. Bu çalışma ile fizyoterapinin miyofasyal ağrı tedavisi için etkili bir yöntem olduğu bilinirken arı zehri kreminin kas gerginliğini azaltmada ve analjezik etki konusunda daha iyi bir etki sağladığı sonucuna varılmıştır [81].

Arı zehri akupunkturunda olduğu gibi direk arı zehrinin enjektesi veya arının iğnesinin batırılması özellikle ağrı şikayeti bulunan kişilerde mevcut şikayetin şiddetinde artışa yol açabilmekte, zira apiterapi homeopatik tedavi prensibine dayalı bir uygulamadır. Bu sebeple uzun süreli bir tedavi olan akupunktur için araştırmacılar, analjezi amaçlı arı zehri uygulamalarının başarısında hastanın bu durumu göz önüne almasını belirtmişlerdir [82]. Akupunkturun zorlu uygulanması ve uygulama sırasında ağrı şiddetinde artmaya sebep olması sebebiyle bu çalışmada arı zehrinin ağrı kesici özelliğinin bir krem ile sağlanması düşünülmüştür.

2.4. ARI SÜTÜNÜN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİSİ

Arı sütü, bir arı salgı ürünü olup bal arısı larva diyetinin en önemli parçası olarak hizmet eder ve kas farklılaşmasında önemli bir rol oynamaktadır. İlk 2-3 gün için arı sütü, olgunlaşma sürecinde tüm genç larvalara verilen tek besindir, kraliçe için ise tüm yaşam süresi boyunca özel besindir. Kraliçe arının diğer arılara göre daha uzun ömürlü olmasının nedeni ömrü boyunca arı sütü tüketmesidir [83]. Serbest amino asitler, basit şekerler, proteinler, kısa zincirli hidroksi yağ asitleri, eser elementler ve vitaminler gibi çeşitli

biyolojik olarak aktif bileşiklerin varlığı nedeniyle, arı sütünün sadece arılar için değil, aynı zamanda insanlar için de fonksiyonel olarak aktif bir takviye olduğuna inanılmaktadır. Bir diyet takviyesi olarak kullanılmasına ek olarak, arı sütünün kanser önleme, kolesterolün azaltılması ve yara iyileşmesi gibi antiyorgunluk, antihipertansif ve antibakteriyel etkiler gibi sağlığı geliştirici birçok özellik ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [84]. Birçok ülkede ticari tıbbi ürünler, sağlıklı gıdalar ve kozmetiklerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Arı sütünün antibakteriyel aktivite, antiinflamatuvar aktivite, vazodilatif ve hipotansif aktiviteler, antioksidan aktivite, antihiperkolesterolemik aktivite ve antitümör aktivitesi gibi sayısız fonksiyonel özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. Arı sütünün biyolojik aktiviteleri esas olarak biyoaktif yağ asitleri, proteinler ve fenolik bileşiklere atfedilir. Potansiyel kullanımı göz önüne alındığında, arı sütünün bileşimi hakkında ayrıntılı bilgi büyük önem taşımaktadır [85].

2.4.1. Arı Sütünün Cilt Üzerine Etkileri

Arı sütü, proteinler, karbonhidratlar, yağlar, serbest amino asitler, vitaminler ve mineraller içeren bir bal arısı ürünüdür. Temel doymamış yağ asidi olarak arı sütü, antitümör ve antibakteriyel aktiviteye ve kollajen üretimini uyarma kapasitesine sahip olabilen 10 hidroksi-2-decenoik asit (10-HDA) içermektedir. Arı sütü, fonksiyonel özellikleri nedeniyle dünyanın çeşitli yerlerine ilgi çekmektedir [86]. Yapılan bir çalışmada yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile arı sütünün 10-HDA içeriği ölçülmüş ve normal insan dermal fibroblastlarında arı sütünün UVB ile indüklenen cilt fotoğraflaması üzerindeki etkileri test edilmiştir. Arı sütü ve 10-HDA'nın UVB ile indüklenen fotoğraflama üzerindeki etkileri, UVB ışınlamasından sonra prokollajen tip I, transforme edici büyüme faktörü-b1 ve matris metaloproteinaz (MMP) -1 ölçülerek test edilmiştir. Arı sütünün yaklaşık %0,211 10-HDA içerdiği bulunmuştur. Arı sütü ve 10-HDA ile tedavi edilen UVB ışınlı insan derisi fibroblastları, prokollajen tip I ve transforme edici büyüme faktörü-b1 üretimini arttırmıştır, ancak MMP-1 seviyesi değişmemiştir. Böylece arı sütünün potansiyel olarak kollajen üretimini arttırarak cildi UVB ile indüklenen fotoya karşı koruyabileceği sonucuna varılmıştır [87].

Yapılan bir çalışmada östrojen eksikliği bağlamında cildin yaşlanmasıyla ilgili bir hayvan modeli oluşturulmuş ve arı sütünün cilt üzerindeki yaşlanma karşıtı etkileri değerlendirilmiştir. Cildin yaşlanmasının in vivo bir modelini oluşturmak için, 12 haftalık dişi sıçanlarda bilateral ovariektomi yapılmıştır. Arı sütü ovariektomi kaynaklı cilt yaşlanmasının koruyucu etkileri, tip I prokollajen ve MMP-1 protein ekspresyonu

belirlenerek incelenmiştir. Cilt dokusunun kollajen içeriği ve epidermal kalınlığı boyama teknikleri ile ölçülmüştür. Prokollajen tip I protein seviyesi, %1 arı sütü ekstraktı içeren bir besin takviyesi ile beslenen ovariektomize sıçanların derisinde artış gösterirken MMP-1 seviyesinin değişmediği gözlemlenmiştir. Özellikle, geri kazanılan kollajen miktarı normal seviyeye yakın bulunmuştur. Arı sütünün, ovariektomi kaynaklı östrojen eksikliği olan sıçanlarda kollajen üretimini artırarak cilt yaşlanmasına karşı koruma sağlayabildiği sonucuna varılmıştır [88].

Bir diğer çalışmada, bal arısı arı sütü türevi kollajen üretimi destekleme faktörü, C18 ters faz kolon kromatografisi ile alkali çözündürülmüş arı sütü fraksiyonundan saflaştırılmıştır. Arı sütünde bulunan ve piyasada bulunan çeşitli yağ asitlerinin kollajen üretimini teşvik edici aktivitelerini incelenmiştir. 10-HDA ve kollajen üretiminin doza bağlı bir şekilde arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca, 10-HDA, kollajen üretimi için önemli bir faktör olan dönüştürücü büyüme faktörü-b1 üretmek için fibroblast hücre hattı üremesini indüklemiştir. Bu sonuçlar, arı sütünün kollajen üretimini desteklediğini göstermektedir [89].

2.5. PROPOLİSİN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİSİ

Propolis çeşitli bitki kaynaklarından bal arıları tarafından toplanan reçineli maddenin genel adıdır. Propolis, arılar tarafından peteklerindeki delikleri kapatmak, iç duvarları düzeltmek ve girişi davetsiz misafirlere karşı korumak için toplanan, dönüştürülen ve kullanılan güçlü bir yapışkan, reçineli maddedir [90]. Hoş bir aromatik kokuya sahip olan propolisin kaynağına ve yaşına bağlı olarak rengi değişebilmektedir. Propoliste bulunan kimyasal madde türleri arasında mumlar, reçineler, balsamlar, aromatik ve eterik yağlar, polen ve diğer organik maddeler bulunur. Bu tür maddelerin oranı toplanma yerine ve zamanına bağlı olarak değişebilmektedir [91]. Propolisin antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar, antibiyotik, antifungal ve antihepatotoksik gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir. Son yıllarda, propolis bir sağlıklı bir takviye olarak popülerlik kazanmıştır ve aynı zamanda yiyecek ve içeceklerde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İnsan sağlığı için çeşitli hastalıkları iyileştirdiği ve iltihaplanma, kalp hastalığı, diyabet ve hatta kanser gibi hastalıkları önlediği düşünülmektedir [92].

2.5.1. Propolisin Cilt Üzerine Etkileri

Propolisin cilt üzerine etkilerine bakıldığında en önemli özelliklerinden bir tanesinin yaraları iyileştirmesi olduğu görülmektedir. Yaralanması son 48 saat içinde gerçekleşen ve benzer derinlik ve kalitede iki taraflı yanık yaraları mevcut olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada hastaların yarasına propolis cilt kremi uygulanmış ve kalan diğer yaralara da gümüş sülfadiazin uygulanmıştır. Yaralara sadece 3 günlük aralıklarla propolis cilt kremi ve gümüş sülfadiazin uygulanmıştır. Gümüş sülfadiazin ile tedavi edilen yaralar ve propolis cilt kremi arasında mikrobiyal kolonizasyonda anlamlı bir fark göstermemekle birlikte, propolis cilt kremi ile tedavi edilen yaralar gümüş sülfadiazin ile tedavi edilenlerden daha az inflamasyon ve daha hızlı sikatatizasyon göstermiştir. Sonuç olarak propolis cilt kreminin, kısmi kalınlıkta yanık yaralarının iyileşmesinde yararlı etkilere sahip olduğu anlaşılmıştır [93].

Propolisin köpeklerde kutanöz yaranın iyileşmesi üzerindeki etkisinin klinik olarak değerlendirildiği bir çalışmada genel anestezi ve tam aseptik koşullar altında, göğsün her iki tarafında, aralarında 10 cm olmak üzere iki tam kalınlıkta deri yaraları oluşturulmuştur. Bu yaralar rastgele kontrol grubu (10 yara) ve propolis grubu (10 yara) olarak iki gruba ayrılmıştır. Sonuçlar 14 ve 21 gün sonra propolis grubunda yara yüzey alanında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğunu ortaya koymuştur. Beş haftalık çalışma süresince yaranın tekrar repitelizasyonu, kasılması ve toplam yara iyileşmesi propolis grubunda kontrol grubuna göre daha hızlı olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, propolisin kutanöz yara iyileşmesi üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu ve hayvanlarda çeşitli yara tiplerinin tedavisi için önerilebileceğini desteklemektedir [94].

Propolisin bir başka özelliği ise cilt korumasına olan katkısıdır. Antioksidan ve serbest radikal temizleme etkileri propoliste bulunan fenolik bileşikler tarafınca gerçekleştirilir. Bu fenolik bileşikler cilt yüzeyine verildiğinde epidermis ve dermise nüfuz ettikten sonra, UV ve cilt altında oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerinden cildin korunmasına katkıda bulunurlar. Fenolik asitlerin deneysel olarak tasarlanmış araçlardan in vitro olarak insan derisine nüfuzunu belirlemek için tasarlanan bir çalışmada sonuçlar, propolisteki fenolik asitlerinin (vanilik, kumarik, kafeik ve ferulik asitler) cilt epidermisi ve dermisine nüfuz etme yeteneğini göstermiştir. Penetrasyon ve dağılım oranı hem aktif maddelerin fizikokimyasal özelliklerinden hem de yarı katı aracın fiziksel yapısından ve kimyasal bileşiminden etkilenmektedir. Vanilin ve vanilik asit, bu bileşiklerin konsantre edildiği,

kumarik ve ferulik asitlerin epidermis ve dermis arasında homojen bir şekilde dağıldığı ve kafeik asitin yavaş yavaş epidermise nüfuz ettiği gözlemlenmiştir [95].

2.6. CİLT YAPISI

Vücudun en dış kısmında bulunarak vücudu mekanik, mikrobiyal ve diğer her türlü dış tehlikeden koruyan yapı olan cilt ilk savunmayı sağlamaktadır. Cilt, iyi tanımlanmış anatomik bölgelere sahip çok katmanlı bir yapıya sahiptir. Cildin en temel görevleri oluşabilecek aşırı su kaybını önlemek ve geçirgenliği sağlamaktır. Aynı zamanda cilt dış çevreden gelebilecek tüm tehlikelerle ilk olarak karşılaşarak koruma sağlar. Cildin yapısı epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç katmandan oluşmaktadır. En dış katmanda bulunan yüzeysel epidermis, vücut yüzeyinde kalınlığı 0,07 mm ile 0,12 mm arasında değişen kesintisiz bir bariyer oluşturur. Epidermisin altında, 1 mm ila 4 mm kalınlığında olan içerisinde damar ve sinir uçlarının olduğu dermis bulunur. Dermisin altında ise kas ve kemiklerle beraber olan yağ dokudan oluşan 1 mm ile 2 mm kalınlığındaki hipodermis bulunmaktadır [96].

2.6.1. Epidermis

100 ila 150 mm kalınlığındaki tabakalı epidermis; stratum bazal, stratum spinosum, stratum granulosum ve stratum corneum olmak üzere dört ayrı katmandan oluşmaktadır [97]. Stratum corneum, cildin en dış tabakasıdır. Tipik olarak 10-20 um kalınlığındadır ve 10-15 kat korneositlerden oluşur. Korneositler, epidermisin daha derin katmanlarından kaynaklanan terminal olarak farklılaşmış keratinositlerden türetilmiş canlı olmayan hücrelerdir. Morfolojik olarak korneositler yaklaşık 0,2 um kalınlığında ve 40-60 um genişliğindedir [98]. Cildin doğal işlevlerinden biri olan vücudun endojen maddelerin kaybına karşı korunmasında deriden difüzyona karşı ana bariyer stratum corneum tarafından sağlanmaktadır [99]. Epidermis tabakasının yaklaşık %95'i keratinositlerden oluşurken geri kalanı melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücrelerinden (mekanoreseptörler) meydana gelmektedir [97]. Stratum corneum hariç, epidermisin geri kalanı çekirdekli hücrelerden oluşur ve bu nedenle topluca canlı epidermis olarak adlandırılır. Canlı epidermis tipik olarak 50-100 um kalınlığındadır ve kan kılcal damarları ve duyu sinir uçları içermemektedir [98].

2.6.2. Dermis

Dermis kolektif olarak hücre dışı matris (ECM) olarak adlandırılan kollajen, elastin, glikozaminoglikanların yanı sıra ECM'yi detaylandıran fibroblastlardan oluşmaktadır. Dermis oldukça vaskülerdir ve ayrıca pilosebaceous birimleri, ter bezleri, dermal yağ hücreleri, mast hücreleri ve infiltrate lökositleri içermektedir [97]. Dermis papiller ve retiküler tabakalardan oluşur ve papiller dermis, tam dermal kalınlığın yaklaşık %10'unu içeren üst tabakayı oluşturmaktadır. Yapısında çapı 0,3-3,0 mm daha kalın kollajen liflerle paketlenmiş 20-40 nm çapında ince kollajen fibrilleri içermektedir. Papiller tabakanın altında ise 60-100 nm çapında kollajen fibrilleri içeren retiküler tabaka bulunmaktadır. Retiküler kollajen fibrilleri esas olarak tip I kollajenden oluşur ve 10 mm ile 40 mm arasında fiber çapa sahiptir. Tip III kollajen, çoğunluğu papiller tabakada bulunan dermal kollajenin sadece %15'ini oluşturmaktadır [96].

2.6.3. Hipodermis

Hipodermis, cildin en iç tabakasıdır ve hipodermis esas olarak subkutan yağlardan oluşmaktadır. Vücutta bulunduğu yere göre kayma katmanları veya cildi koruyan bağ dokudan meydana gelmektedir. Bununla birlikte, göz kapağı gibi bazı yağsız ciltlerde yokluğu dikkat çekicidir. Bu cilt tabakasına gömülü daha büyük lenfatik ve kan damarları bulunmaktadır. Ayrıca yapısında fibroblastlar, adipoz hücreler ve makrofajlar bulunmaktadır [98].

2.7. CİLT FONKSİYONLARI

Çevredeki tehlikeler ile sürekli etkileşim halinde olan cilt birden çok işleve sahip olmasıyla ilk bariyer görevini üstlenmektedir. Cildin fonksiyonları arasında ilk olarak UV koruması, antioksidan ve antimikrobiyal koruma bulunmaktadır. Antimikrobiyal peptid ve protein üreten cilt bu şekilde antibakteriyel bir koruma ve fiziksel bir bariyer görevi görür. Ayrıca cildin duyuşal özellikleri ve vücut sıcaklığının birincil düzenleyicisi olarak da fonksiyonları bulunmaktadır. Bu fonksiyonlar içerisinde su ve diğer elektrolitlerin hareketini kontrol eden epidermal geçirgenlik bariyeri cilt için önemli bir işlevdir ve bu sayede epidermis temel bariyer görevi üstlenmektedir. Dermis yapısındaki bağlar sayesinde cilde mekanik esneklik, destek ve besleyici fonksiyonlar sağlamaktadır. Dermis sayesinde cilt yüzeyinden gelen darbelerin alt katmanlara aktarılması önlenerek koruma sağlanır. Cilt yapısında bulunan yağ tabaka ve keratinler sayesinde aşırı su kaybı

ve yabancı maddelerin vücuda girmesi önlenirken aynı zamanda soğuğa karşı koruma da sağlanmaktadır. Ayrıca ciltteki melanositler güneşten gelen UV ışınlar karşı koruma sağlarken, D vitamini sentezi de cilt tarafından gerçekleştirilmektedir [100].

2.8. KREMLER

İnsan vücudunun en büyük organı olan deri, vücudun iç bölümünü dış çevreye karşı koruyan bariyer görevindedir. Vücudun mekanik hasar, kimyasal ve mikrobiyal etkilerden korunmasını sağlayan derinin katmanları sırayla epidermis, dermis ve hipodermis olan cilt altı yağ dokusundan oluşmaktadır [101]. Vücudun en dışında bulunan cilt epidermisi ve eklerinin koruyucu özelliği mikropları ve temel vücut sıvılarını dışarıda tutmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca güneşten gelen zararlı ultraviyole radyasyon, çizikler ve yaralar dahil günlük saldırıları engeller. Bu saldırılarla karşı karşıya kalan cilt, hasarlı dokuları onarmak ve eski hücreleri değiştirmek için sürekli kendini yenilemektedir [102]. Dış ortamla devamlı temas halinde olan deri vücuttaki en çok yıpranan organlardan bir tanesidir. Bu sebeple cildin sağlıklı kalabilmesi için gerekli bakımın yapılması şarttır. Kozmetik ürünler bu noktada hayamıza girmektedir ve cilt için krem, losyon, serum ve merhem gibi birçok ürün geliştirilmiştir. 2005 yılında yayınlanan Kozmetik Yönetmeliği'ne göre kozmetik ürünler insan vücudunun epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlar gibi değişik dış kısımlarına, dişlere ve ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek ve/veya vücut kokularını düzeltmek ve/veya korumak veya iyi bir durumda tutmak olan bütün preparatlar veya maddeleri kapsamaktadır [103]. Kozmetikler, uygulama yerlerine ve temel etki alanlara göre ikiye ayrılmaktadır. Uygulanma yerlerine göre ayırmada deriye uygulanan, tozlar ve pigmentli, saç, dişlere ve ağız boşluğuna uygulanan ve diğer kozmetik preparat türleri bulunur. Temel etki alanlarına göre ise tabaka oluşturan, keratinli, sebatrop, indirekt dermatrop ve direkt dermatrop maddeler olarak sınıflandırılır. Deriye uygulanan kozmetiklere bakıldığı zaman derinin farklı kısımlarına etki eden çeşitli özelliklere sahip ürünler bulunmaktadır. Bunlar lipid tabakayı etkileyen antiseboreik ürünler, cilt altını hedefleyen zayıflatıcı ve inceltici ürünler, renklendiriciler, temizleyiciler ve nemlendiriciler olarak görevlerine göre ayrılabilir [104].

2.8.1. Kremlerin Özellikleri

Tedavi amaçlı kullanılan ve deriye uygulanan ürünlerde etkin maddeleri içinde bulunduran kısımlara taşıyıcı sistem denilmektedir. Kozmetik formülasyonlarda birçok taşıyıcı sistem kullanılabileceği gibi bunlardan klasik olanları emülsiyonlar ve kremlerdir. Emülsiyonlar birbirinin içinde karışmayan iki sıvıdan birincisinin ikincisinde homojen olarak dağılması olarak tanımlanırken kremler ise yarı katı emülsiyonlar olarak tanımlanabilir [105]. Krem su ve yağ karışımından oluşur ve yapısında çoğunlukla su bulunduran opak ve viskoz karışımlardır. Bunun sayesinde epidermis tarafından çoğu ürüne göre daha hızlı emilerek içerdikleri maddenin etkilerini gösterirler. Aynı zamanda yüksek su içeriği ile kullanımdan sonra ciltte yağlı bir tabaka bırakmazlar [106]. Kremlerin yapısına bakıldığında zaman su ve yağ dışında bunların homojenizasyonunu sağlamak için emülgatörler, kıvamlaştırıcılar, nemlendiriciler, koruyucular ve çeşitli esanslar bulunmaktadır [107].

- **Yağ Fazı**

Yağ fazı kremin içeriğindeki bileşenlerin cilde daha iyi ve kolay emilmesini sağlamaktadır. Cildin yüzeyinde yağlı bir tabaka oluşturarak cildin nem düzeyini artırır. Yağ fazı katı ve sıvı halde olabilmektedir. Kaynak olarak hayvansal, bitkisel ve mineral yağları bulunabilmektedir. Doğal bir yağ fazını oluşturmak için kremlerde doğal bitkisel yağlar ve bunların esterlerinden yararlanılabilir [107].

- **Emülgatörler**

Yağ ve su gibi yoğunluğu birbirinden farklı maddelerin homojen bir şekilde karışmasını sağlamada emülgatörler kullanılır. İki fazın karışmasını sağlayan emülgatörler alglerden elde edilebileceği gibi nişasta ve türevleri de bu amaçla kullanılabilir. Ayrıca pektin, lesitin ve polisorbat da doğal olarak kullanılabilecek emülgatörlerdendir [108].

- **Nemlendiriciler**

Deri birçok katmandan oluşan bir yapıdır ve dış ortamla temas halinde olan son katmanı olan Stratum Corneumun, görevi deriyi dış etkilere korumak, su kayıplarını önleyerek gerekli nem seviyesini korumak ve derinin sağlıklı yapısını sürdürmesini sağlamaktır. Sağlıklı bir derinin bu tabakasında yaklaşık %10 civarında su bulunur ve yumuşaklığın sağlanabilmesi için bu seviye korunmalıdır. Derinin içermesi gereken su oranını koruyabilmek için nemlendiriciler kullanılmaktadır. Doğal nemlendiriciler için gliserin, sorbitol, propilen glikol, polietilen glikol ve etilen kullanılabilir [109].

- **Koruyucular**

Çeşitli mikroorganizmaların kontaminasyonu kremi doğal yapısının bozulmasını sağlayabilir. Ayrıca kullanıcıların sağlığı için de tehlikeli olan bu mikroorganizmaların kremde yaşamalarını önlemek gerekmektedir. Ayrıca serbest radikal oluşumunu önlemek veya tutmak da gerekmektedir. Bunu sağlamak amacıyla kreme çeşitli koruyucular konulur [110]. Etkin bir koruyucu ile kremi güvenilirliği ve stabilitesinin artırılması sağlanır. Sağlık Bakanlığı'nın izin verdiği ve en çok kullanılan koruyucular metilparaben, propilparaben, imidazolidinil üre ve formaldehit çözeltilisidir. Genellikle parabenler, üre ve dezenfektan maddeler koruyucu olarak kullanılmaktadır [108].

- **Esanslar**

Krem bileşenleri bir araya getirildiklerinde hoş bir koku oluşturmazlar. Bunun önüne geçmek ve kullanıldıktan sonra vücutta güzel bir koku bırakması için krem yapısına çeşitli esanslar katılmaktadır. Genellikle bitkilerin çeşitli kısımlarının yağlarının çıkartılmasıyla elde edilen esanslar tercihe göre kremi yapısına koyulabilir. Genellikle vücutta hoş bir koku bırakması için kırmızı meyveler, sarı meyveler, parfümsü ve çiçeksi kokular tercih edilebilir [111].

- **Kıvamlaştırıcılar**

Hazırlanan krem formunun istenilen ve sürülebilir bir kıvam almasını sağlamak için kıvamlaştırıcılar kullanılır. Kıvamlaştırıcılar bir nevi yardımcı emülgatör görevini görmektedirler. Bileşenlerin istenilen kıvamda birbirleri içerisinde tutunmalarına yardımcı olurlar. Kremi olması istenilen viskoziteye ve formülasyon çeşidine göre kıvamlaştırıcı türü ve miktarı seçilmelidir [110]. Karbomerler, karagenan, ksantan gum, balmumu kremlerde sıkça tercih edilmektedir [107].

Yağ fazı için palm, Hindistan cevizi ve badem gibi bitkilerin yağı; emülgatörler için lesitin ve polisorbata çeşitleri kullanılabilir. Nemlendirici özellik için gliserin ve kremi yapısının stabilitesi için parabenler kullanılırken bu bileşikler yerine balmumu gibi doğal maddeler kullanmak daha sağlıklıdır. Farklı kullanım amaçları için geliştirilen kremlerin çeşitleri genel olarak içerdikleri yağ oranına göre ayrılmaktadır. Yağ içeriklerine göre yağlı ve yağsız kremler olarak iki çeşitten oluşurlar. Yağsız krem çeşitlerinde gliserin yerine stearin içeren sitarat kremleri, gündüz kremleri ve mat kremler bulunur. Yağlı kremlerde ise gece kremleri ve içeriğindeki yağ miktarı az olmasına rağmen temizleme kremleri vardır [110]. Suda yağ kremleri hazırlanırken ilk olarak bileşenlerin bir kısmı ısıtılarak yağ bileşenlerinin çözünmesi sağlanır. Çözünen ve dağılan yağ fazı, su fazı içine

karıştırılarak, homojenizasyonun sağlanmasına dikkat edilerek boşaltılır, sonra bu iki fazı katılaştırmak için kontrollü bir soğutma işlemi yapılır [112].

2.9. KREM ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Krem üretiminde ilk olarak malzemelere ve ürün mikro yapısına karar verildikten sonra üretim süreci tasarlanmaktadır. Bu adım üç kilit konuyu içermektedir. İlk olarak, istenen mikro yapıya sahip bir ürünü üretebilen bir işlem akış şeması oluşturulur. İkinci olarak, uygun ekipman birimleri seçilir ve son olarak ekipmanların çalışma koşulları belirlenir. Krem üretim süreçleri için akış şeması genellikle birkaç birim işleminden oluşmaktadır. Toplu işlemler için akış sayfasının bir dizi ardışık eylem olarak yorumlanması gerekmektedir. Uyumsuz bileşenler söz konusu olduğunda, ön karıştırma birimlerinde yağ ve su fazlarını oluşturmak için ayrı ayrı karıştırma işlemi uygulanmaktadır. Çözünmeyen katı bileşenler, sıvıya dağıtılmadan önce boyut küçültme veya yüzey modifikasyonu gibi ön işlemlere ihtiyaç duyabilmektedir. Ayrı fazlar daha sonra karıştırma ünitesinde karıştırılır; burada, bir faz diğer fazda damlacıklar halinde dağıtılır ve nispeten büyük damlacık boyutlarına sahip bir ön emülsiyon oluşturulur. Daha sonra, damlacık boyutunun azaltılması için bir sonraki adım homojenleştirme işlemi olmaktadır. Bu aşamaya kadar olan işlem, viskoziteyi en aza indirmek ve dolayısıyla karıştırmayı kolaylaştırmak için 70-80°C'lik yüksek bir sıcaklıkta gerçekleştirilmektedir. Karışım, homojenizasyon işleminden önce veya sonra tekrar oda sıcaklığına kadar soğutulur. Isıya duyarlı bileşenler, sıcaklık yaklaşık 40-50°C'ye düşürüldükten sonra eklenmektedir [113].

Yukarıda anlatılan prosesin diğer bir alternatifi ise düşük enerjili emülsifikasyon tekniğinin kullanılmasıdır. Soğuk işlemin avantajları oldukça açık olsa da mumsu hammaddelerin kozmetik emülsiyonlarda popüler kullanımı, pratik işlemede ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Homojenizatörlerin kullanımında bile, stearik asit ve mumsu maddelerin çoğu soğuk suda uygun şekilde emülsifiye olamamaktadır. Bu nedenle, tamamen soğuk bir emülsifikasyon sadece sıvılardan veya sıvıda çözünür bileşenlerden oluşan sınırlı emülsiyonlarla mümkündür. Bununla birlikte, çoğu kozmetik emülsiyonda, toplam mumsu malzeme miktarı genellikle %20'nin altında ve bazen sadece %3 veya %4'tür; bu nedenle, bileşenlerin %100'ünün tamamının ısıtılması gerekliliği olabilmektedir. Düşük enerjili emülsifikasyonun temeli, soğuk emülsifikasyonun avantajını, bileşenlerin bir kısmına seçici olarak ısı uygulayarak sıcak emülsifikasyonun

pratik gerekliliği ile birleştirmektedir. Düşük enerjili emülsifikasyon tekniğini uygulamanın birçok farklı yolu vardır. Bu yöntemlerden birisinde iki su ısıtıcısı ve bir otomatik ölçüm valfi kullanılmaktadır. Yağ fazının tamamı su ısıtıcılarından birinde ısıtılmakta ve suda çözünür bileşenlerin ilk kısmı diğer su ısıtıcısında ısıtılmaktadır. Bir faz inversiyonunun arzu edilebilirliğine bağlı olarak, yağ fazı, sulu faza eklenebilir veya tam tersi şekilde emülsiyon konsantresini oluşturmak için eklenmektedir. Konsantre soğutulurken, soğuğun geri kalanında deiyonize su emülsifikasyonu tamamlamak için ölçülmektedir [114].

2.10. ARI ZEHRİNİN KOZMETİKTE KULLANIMI

Kozmetik Yönetmeliği gereğince piyasaya arz edilen bir kozmetik ürün, normal ve üretici tarafından öngörülebilir şartlar altında uygulandığında, insan sağlığı açısından güvenli olmalıdır [96]. Güvenliği sağlamak adına ürünlerin analizinde fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve biyolojik testler yapılması gerekir. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Klavuz'a göre kozmetik ürünlerde kesinlikle bulunmaması gereken mikroorganizmalar *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* ve *Escherichia coli*'dir ve bunların analizleri TS EN ISO'deki analitik yöntemlere göre yapılmalıdır [115]. Gerekli olan diğer analizler ise Sağlık Bakanlığı tarafından mentol, koruyucular, ilaç etken maddesi, mikrobiyal kontaminasyon limit testleri olarak belirlenmiştir [116]. Bunlara ek olarak arı ürünleri için alerjen testlerinin de yapılması gereklidir.

Vücudun hemen hemen her yerini kaplayan deri de diğer tüm organlar gibi birtakım hasarlara maruz kalır veya yaşlanma sürecine girer. Hem iç hem de dış faktörler, kollajen değişimi gibi yollarla cilt yaşlanması, iltihaplanma, kırışıklık gibi cildin yapısında istenmeyen değişikliklerin oluşumuna katkıda bulunur. Günümüzde insanlar bu sorunları gidermek için yapay ve kimyasal maddeleri kullanmak yerine doğal içerikleri ürünlere yönelmiştir [117]. Kozmetik sektörü de bunu göz önüne alarak doğal bileşenleri kullanmaya başlamıştır. Özellikle 1990'lardan sonra yaşlanma karşıtı, bilimsel verilerce desteklenen dermokozmetik, doğaya zarar vermeyen doğal maddeler içeren ürünler tercih edilmeye başlandığı için bu yöndeki çalışmalara önem verilmiştir [118]. Doğal tedavi yöntemlerinden birisi olan arı zehri üzerine yapılan çalışmaların son yıllarda artmasıyla beraber tıp ve kozmetik alanlarında kullanımı da artmıştır. Kozmetik üzerine yapılan çalışmalar daha yeni olsa da büyük bir hızla gelişmeye devam etmektedir.

Ülkemizde ise bu tür kullanımlar için 2014 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği” çıkartılmıştır. Yönetmelik gereğince arı zehri tedavi amaçlı olarak deri içine intradermal ve subkutan enjeksiyon ile verilebilmektedir. Yönetmelikte belirtilenlere göre ürünlerin kullanılmadan önce kimyasal analizlerinin gerçekleştirilmesi ve Türk Gıda Kodeksi’ne uygun olma zorunluluğu vardır [119]. Arı zehrinin cilt üzerinde çeşitli şekillerde kullanılma yöntemleri vardır. İlk olarak zehir canlı arı tarafından iğnenin deriye batırılması sağlanarak vücuda alınabilir. Fakat bu zor ve acılı bir yöntemdir. Daha önce anlatılan yöntem ile arılardan zehir ekstrakte edilerek gerekli analizler sonunda enjeksiyonlar ve kremler hazırlanarak deriye uygulanabilir. Hastalıklı bölgeye uygulama yapılmadan önce tedavi yapılacak kişinin arı zehrine karşı bir alerjisi olup olmadığı test edilmelidir [46].

Avrupa Komisyonu (European Commission) Şekil 2.3’te görüldüğü gibi arı zehrini kozmetik sektörü bileşeni olarak sınıflandırıcı ve cilt koruyucu bir bileşen olarak tanımlamıştır [120].

Cosmetics - CosIng		31/01/2020 13:33
Ingredient: BEE VENOM		
INCI Name	BEE VENOM	
Description	Bee Venom is the venom collected from the honeybee, <i>Apis mellifera</i> consisting chiefly of melittin	
INN Name		
Ph. Eur. Name		
CAS #		
EC #		
Chemical/IUPAC Name		
Cosmetic Restriction		
Other Restriction(s)		
Functions	ASTRINGENT SKIN PROTECTING	
SCCS opinions		
Identified INGREDIENTS or substances e.g.		

Şekil 2.3. Avrupa Komisyonu arı zehrinin kozmetikteki etkileri.

Sağlık açısından büyük öneme sahip arı zehrinin cilt üzerindeki etkileri, kozmetikte mükemmel bir hammadde oluşturacağını kanıtlar niteliktedir. Özellikle anti inflamatuvar özelliği ile ciltte oluşan hasarların etkisinin azaltılması ve ağrı kesici özelliği doğal içerikli kozmetik ürünlerinin üretilmesini sağlar. Fakat 2013 yılında çıkartılan “Sağlık Beyanı ile Satışa Sunulan Ürünlerin Sağlık Beyanları Hakkında Yönetmelik”e göre kozmetik ürünlerin herhangi bir hastalığı tedavi etmek veya önlemek, tedavisine yardımcı olmak, teşhis etmek veya bir fizyolojik fonksiyonu düzeltmek, düzenlemek veya değiştirmeye ilişkin ibareler veya imalar kullanılamaz kararı belirtilmiştir [121]. Buna

rağmen ülkemizde kozmetik alanda yeni önem kazanmaya başlayan arı zehri dünyada özellikle uzak doğu ülkelerinde krem, serum ve maske gibi birçok farklı çeşitle kullanılmaktadır. Batı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde ise arı zehri alerjisi bulunan kişiler için yasal bir tedavi aracı olarak kullanılır ve cilt bakım ürünü olarak da imal edilmektedir [122]. Piyasaya bakıldığında zehrin Avrupa’da 9 ülkede maskeler, kremler, serumlar, dudak balmları, ağrı kesici ısı bantları ve kapsül gibi formlarda 22 farklı üründe kullanıldığı görülmektedir [123].

Kozmetik sektöründe bal arısı zehri içeren bir kremin çalışma mekanizmasına bakıldığında cildin toksin melittin ile hafifçe sokulduğu gibi tepki vermesi için kullanıldığı görülmektedir. Bu da vücudun kanı zehrin uygulandığı bölgeye doğru yönlendirmesine neden olur ve doğal olarak kollajen ve elastin üretimini uyarır. Kollajen vücut dokusunu güçlendiren bir etkiye sahipken elastin ise cildin gergin kalmasına ve tekrar şekillenmesine yardımcı olan proteindir. Zehrin krem formunun kasları gevşetme özelliği de bulunmaktadır [6]. Arı zehrinin dudak balmlarında kullanımı ise daha güvenli bir yoldan nemlendirme ve koruma sağlamaktadır [124].

Bu çalışmaya benzer bir tane de yaşlanma üzerine yapılmıştır. Hücreler zamanla yıkıma uğrayarak yaşlılık semptomlarının oluşmasını sağlarlar. Yaşlanan derinin eski fonksiyonlarına ulaşabilmesi için hücrelerin yenilenmesi gerekmektedir [125]. Kırıxıklıklar üzerine yapılan araştırmada arı zehri serumunun hastalarda toplam kırıxıklık alanı, toplam kırıxıklık sayısı ve ortalama kırıxıklık derinliği açısından olumlu sonuçlar sağlamıştır. Arı zehrinin cilt kırıxıklıklarının iyileştirilmesinde önemli bir rol oynadığını ve kozmetik endüstrisinde kırıxıklık karşıtı bir ajan olarak kullanıldığını göstermektedir. Arı zehri içeren kozmetiklerle uzun süreli tedavi tahriş potansiyeli ihmal edilebilir olduğundan güvenli kabul edilir. Literatürde belirttiği üzere arı zehrinin yaşlanmayla ilgili insan yüz kırıxıklıklarına karşı olumlu etkisi bilimsel olarak kanıtlanmıştır [65].

Yaşlanma dışında akne ve sivilce de birçok insan için ciddi bir cilt sorunudur. Geçirilmesi için kullanılan çeşitli kimyasallar çoğunlukla daha kötü bir yan etkiye sahiptir. Ayrıca piyasadaki ürünler yalnızca aknelerin geçirilmesi için kullanılırken arı zehri içeren formülasyonlar geçirilmesinin yanında oluşumunun önlenmesini de sağlar. Özellikle bu durum için alınan bir patentte arı zehrinin hasarlı cilt hücrelerini hızlı ve verimli bir şekilde yenilemesi sağlanmıştır. Bu buluş kozmetik ürünler, güzellik sabunları ve merhemler, bantlar veya pansumanlar gibi arı zehri içeren ve aknenin önlenmesi ile tedavisi için ürünler hazırlanmasını sağlayabilir. Özellikle arı zehri içeren losyon,

besleyici losyon, besleyici krem, masaj kremi ve esanslar da kullanılabileceğini göstermiştir [123].

Yukarıda bahsedilmiş olan artrit hastalığı eklemlerde meydana gelen iltihaplı bir hastalıktır ve ciddi eklem ağrılarına sebep olmaktadır. Tamamen iyileştirmesi için bulunan bir tedavi yöntemi yoktur fakat hastalığın etkilerinin azaltılmasını sağlamak da hastaların yaşam kalitesinin artmasını sağlayacaktır. Bu hastalık ve diğer romatizmal ağrılı hastalıklar için arı zehri içerikli ve eklemlere uygulanabilecek formülasyonlar ağrıların azaltılmasını sağlar. Arı zehrinin terapötik uygulaması geleneksel tıpta artrit, romatizma ve ağrıları gidermek için kullanılmıştır [126]. Literatürde arı zehrinin artrit kaynaklı ağrı ve iltihabın uzun süreli tedavisi için kullanılması önerilmektedir [127]. Bu bilgilere göre arı zehri içerikli ürünlerin kullanımı ile hastalarda inflamasyonun sebep olduğu ağrılar azaltılabilir.

Bugüne kadar yapılmış araştırmaların sonucunda kozmetikte arı zehrinin kullanımı ile ciltteki yara izleri ve lekelerin giderilmesi sağlanabilir. İltihap giderici etkisi ile alerji sonucu oluşan kaşıntıyı azaltarak acı hissi azaltılabilir. Ayrıca anti inflamatuvar özelliği ile oluşmuş akne ve sivilcelerin geçmesini sağlarken oluşumları da önlenir. Güneşten gelen ultraviyole ışınlar karşı bir bariyer oluşturarak cilt güneşin olumsuz etkilerinden uzak tutulur. Aynı şekilde cilt kanseri oluşumuna karşı önemli bir koruma sağlar. Yaşlanmanın ciltteki etkilerini gidererek genç bir görünüm oluşturur. Renk pigmentlerine katkı yaparak deride renk pigmenti oluşumunu uyarır. İçeriğindeki bileşenlerle uygulandığı bölgedeki kan dolaşımını hızlandırır ve cildin daha iyi beslenmesini sağlayarak daha genç ve canlı bir cilt görünümü oluşturur. Romatizmal ve ağrılı bölgelere uygulanması ile ağrı hissi azaltılabilir. Cilt üzerine tüm bu etkileri ile arı zehri kozmetikte kullanılabilecek en önemli doğal maddelerin başında gelmektedir. Bu durumdan yola çıkılarak bu çalışmada arı zehri içeren prototip krem formülasyonları hazırlanmıştır. Gerekli analizlerin yapılmasıyla cilt üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

2.11. LİTERATÜRE KATKISI

Son yıllarda, tüketicilerin doğal ve fonksiyonel kozmetiklere artan yönelimi ile birlikte, kimyasal katkı kullanmadan sağlıklı aynı zamanda etkili ürünlere olan gereksinim giderek artmıştır. Kozmetik sektöründe ulusal ve uluslararası pazardan pay alabilmenin yolu, yeni ürünlerle farklılaşarak, pazarın ihtiyaçlarını karşılayabilmekten geçmektedir. Bu çalışma

ile tüketicilerin ve sektörün bu önemli ihtiyacının karşılanması için doğal ve fonksiyonel sürülebilir özellikte homojen krem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Böylece ülkemizin rekabet gücünü artırarak, hem yeni pazarlara girmek hem de ihracatı artırmak mümkün olacaktır.

Ülkemizde ve dünyada tüketicilerin doğal ürünlere olan talebi, doğal ve fonksiyonel yeni ürünlerin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. Hali hazırda ülkemizde ve dünyada, ülkemize has çeşitli arı ürünleri (bal, polen, propolis, arı sütü), ile üretilmiş, kimyasal katkı içermeyen, doğal, fonksiyonel, homojen yapıda ve sürülebilir özellikte kremler bulunmamaktadır. Bu çalışma ile herhangi bir katkı maddesi kullanmadan, tüketicilerin ihtiyacına cevap verebilecek, kadınlar başta olmak üzere farklı tüketici gruplarına hitap edecek, doğal, katkısız kremler geliştirilecektir. Bu ürünler ile tüketici sağlığına da önemli katkı sağlanmış olacaktır.

Bu çalışmada doğrudan arıcılarla üretim sözleşmesinin yapıldığı bir iş modeli temel alınarak, propolis, arı sütü, polen ve bal gibi arıcılık ürünleri ve arı zehri üretilcektir. Arı ürünlerinin doğal olarak mevcut biyolojik aktivitelerinin korunabilmesi için uygun işleme yöntemleri araştırılarak ürünler kozmetikte kullanılacak forma getirilecektir. Sözleşmeli arıcılık modeli (Ek 1) ile gıda güvenliğinin temel prensiplerinden biri olan, ileriye ve geriye dönük izlenebilirliğin sağlanması hedeflemektedir. Böylece “KOVANDAN SOFRAYA” prensibi ile biyolojik aktivitesi korunmuş, doğal ve güvenli arı ürünleri elde edilebilecektir. Bu çalışmada tasarlanan yeni sürülebilir ve fonksiyonel arı zehri içeren krem dünya standartlarına uygun kalitede üretilcek hem ülkemiz hem de dünya için yenilik olacaktır. Yeni tasarlanan ürünlerin formülasyon ve üretim yöntemlerinin belirlenmesi konusunda bilime ve sektöre yapacağı katkılar sayesinde insan sağlığına faydalı kremler geliştirilecektir. Ayrıca sağlıklı ve kaliteli yaşamaya destek olacak bu ürünlerin, sektörde yeni bir pazar yaratması da beklenmektedir. Çalışmanın istihdama katkı sağlayacağı ve yeni projelerin ve üniversite-sanayi iş birliklerinin önünü açacağı da öngörülmektedir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERİYALLER

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Analizler için kullanılan kimyasal, standart, sarf malzeme ve ekipmanlar ile ilgili bilgiler aşağıda sunulmuştur:

- HPLC-UV (Hitachi-VWR); standartlar, kolon ve gerekli kimyasallarla birlikte arı zehrinde apamin, fosfolipaz A2, melittin konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanıldı.
- HPLC-RI; standartlar, kolon ve gerekli kimyasallarla birlikte arı zehrinde şeker profili tayini (fruktoz, glikoz, sakaroz) belirlenmesinde kullanıldı.
- Refraktif İndeks (RI) dedektör (Hitachi-VWR 5450) şeker analizlerinde kullanıldı.
- Nem analizi için infrared ısıtıcılı nem tayin cihazı (Precisa XM50) kullanıldı.
- Mikrobiyoloji analizleri için 3M petrifilm'lerden yararlanılıp arı zehri ve son ürün analizlerinde kullanıldı. Ayrıca mikrobiyolojik analizlerin uygun ortam koşullarında gerçekleştirilmesi steril kabin, analizlerin uygun sıcaklıkta yapılabilmesi için inkübatör (Binder 13-19561) ve analiz atıklarının bertarafı için için otoklav (Varioklav 25T) kullanıldı.
- pH metre (VWR pH 1000L) krem formüllerinde pH analizinde kullanıldı.
- Viskozimetre son ürünlerde viskozite tayininde kullanıldı.
- Filtrasyon arı zehirlerinin saflaştırılmasında kullanıldı.
- İklimlendirme kabinleri (Nüve TK120) stabilite testi için kullanıldı.
- UV-VIS spektrofotometre antioksidan etki testinde kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

- | | |
|-----------------------------|--------------------|
| • Trifloroasetik Asit (TFA) | • Apamin |
| • Asetonitril | • Fosfolipaz A2 |
| • Asetik Asit | • Melittin (Sigma) |

- Fruktoz standardı
- Glikoz standardı
- Sakkaroz standardı
- Turanoz standardı
- Maltoz standardı
- Trehaloz standardı
- Melezitoz standardı
- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)
- 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT)
- Maltotrioz standardı
- İzomaltoz standardı
- Erloz standardı
- Carrez I
- Carrez II
- 1N NaOH
- CHROMagar Candida
- Dimetil Sülfoksit (DMSO)
- Etanol

3.1.3. Krem Üretiminde Kullanılan Hammaddeler

Krem üretiminde kullanılacak hammaddelerin belirlenmesi için piyasada bulunan çeşitli kremler incelendi. Bu inceleme sonucunda kremlerin içerisinde bulunan bileşenlerin neler olduğu bulundu. Kremlerin yapısına bakıldığı zaman su ve yağ dışında bunların homojenizasyonunu sağlamak için emülgatörler, kıvamlaştırıcılar, nemlendiriciler, koruyucular ve çeşitli esanslar bulunmaktadır. Piyasadaki kremlerde bulunan kimyasal içerikler yerine kullanılacak doğal bileşenler araştırıldı. Oluşturulacak krem formülasyonlarında yağ fazı için zeytinyağı, jojoba yağı, shea yağı esterleri gibi doğal yağlar denendi. Ürünlerde antioksidan, antifungal, antibakteriyel etkinliği çok yüksek bir arı ürünü olan saf propolis ekstraktı doğal koruyucu olarak kullanılmıştır. Kremlerde doğal bir koku verici olan doğal yasemin yağı tercih edildi. Krem formülasyonlarında emülgatör için bentonit, stearil alkol ve akoline GC denendi. Ayrıca viskozite kontrolü için keçiboynuzu zamkı, NaCl ve bal mumu, nemlendirici olarak da gliserin kullanıldı. Bu araştırmalar sonucunda kremlerde kullanılacak doğal bileşenler aşağıda belirtildiği şekilde belirlendi ve Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

- Deiyonize su
- Gliserin
- Bal
- Keçiboynuzu zamkı
- Lipex Shealight
- Jojoba Yağı
- E Vitamini
- Yasemin Yağı

- NaCl
- Bal Mumu
- Zeytin Yağı
- Akoline GC
- Stearil Alkol
- Bentonit



Şekil 3.1. Krem için temin edilen doğal ürünlerin bir kısmı.

3.1.3.1. Arı Zehri

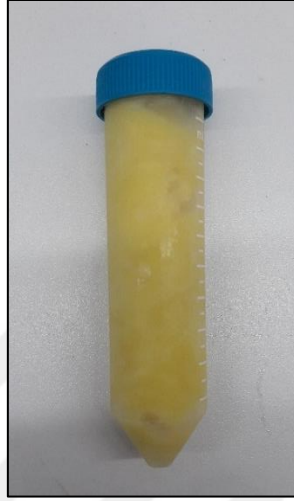
Krem formülasyonlarında etken madde olarak kullanılmak üzere arıcılardan Şekil 3.2’de görüldüğü gibi 6 farklı arı zehri örneği temin edildi ve 1’den 6’ya kadar şekildeki gibi kodlandı. Arı zehirleri toplandıkları bölge ve zamana göre birbirlerinden farklılık gösterebilmektedir. Bu farklılıklara göre uygun olan zehrin seçilmesi için fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler gerçekleştirildi. Uygun olan arı zehirleri krem yapımında temel etken madde olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Arıcılardan temin edilen arı zehri örnekleri.

3.1.3.2. Arı Sütü

Arı sütü arıcılardan temin edilerek Bölüm 2.4.1’de anlatılmış olan cilt üzerine yararlarından faydalanmak üzere krem formülasyonlarında kullanıldı. Arı sütü arı zehrinin alındığı arıcılardan temin edildi. Şekil 3.3’de görüldüğü üzere arı sütü kremlerde arı zehrine ek olarak yardımcı etken madde olarak kullanıldı.



Şekil 3.3. Arıcılardan temin edilen arı sütü örneği.

3.1.3.3. Propolis

Propolisin Bölüm 2.5.1’de anlatılan etkilerinden faydalanmak için krem formülasyonlarına eklendi. Şekil 3.4’de görülen propolisler arıcılardan temin edilerek kremlerde koruyucu olarak kullanıldı.



Şekil 3.4. Arıcılardan temin edilen propolis örneği.

3.1.3.4. *Gliserin*

Cilt bakım ürünlerinde gliserinin önemi iyi bilinmekle birlikte kozmetikte ve farmasötik formülasyonlarda kullanımı yaygındır. Faydalarını açıklamayı amaçlayan çalışmalar gliserinin nemlendirici ve koruyucu özelliklerine odaklanmıştır. Gliserin ciltteki stratum corneum tabakasına difüze olmakta, cilt nemini arttırmakta ve klinik kuruluk belirtilerini hafifletmektedir [128]. Krem formülasyonunda yumuşatıcı olarak gliserin kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.5. *Bal*

Geleneksel tıpta bal, cilt iyileştirici özellikleri nedeniyle dünya çapında tanınmaktadır. Eski Yunanlılar ve Mısırlılar cilt yaralarını ve yanıkları tedavi etmek için balın topikal uygulamasını kullanmışlardır. Fas'ta geleneksel tıbbi balın yara, egzama ve iltihap tedavisinde etkili olduğunu belgelenmiştir [129]. Yapılan çalışmalar balların dermatolojik olarak önemli mikroorganizmaların büyümesini inhibe edebileceğini göstermiştir. Son zamanlarda yapılan bazı in vitro ve in vivo çalışmalar, balın cilt bağışıklık sistemi ile ilgili immünolojik parametreleri modüle edebildiğini göstermektedir [130]. Balın cilt üzerindeki bahsedilen olumlu etkileri göz önünde bulundurulduğunda krem formülünde yardımcı etken madde olarak kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.6. *Keçiboynuzu Zamkı*

Keçiboynuzu zambkı, keçiboynuzu ağacından (*Ceratonia siliqua L*) ekstrakte edilen doğal bir polisakkarittir. Bu polisakkaritin ana özelliğı, geniş bir sıcaklık ve pH aralığında sudaki çözeltilerinin yüksek viskozitesidir [131]. Krem formülasyonunda viskozite ayarlaması için keçiboynuzu zambkı kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.7. *Lipex Shealight*

Kozmetikte sıkça kullanılan lipex shealight, shea yağı oleil esterleridir. Düşük viskozite, ara serpm ve iyi çözündürme özellikleri ile hafif bir yapıya sahiptir ve ciltte kullanıldığında yüksek nemlendirme sağlamaktadır [132]. Düşük erime noktası ve soğuk işlemlere uygunluğu ile birçok kozmetik üründe kullanılmaktadır. Yumuşatıcı etki yaratması ve cilt bakımı sağlaması amacı ile formülasyonlarda lipex shealight kullanıldı.

3.1.3.8. *Jojoba Yağı*

Jojoba yağı, bir çöl bitkisi olan jojoba çalıların yağı açısından zengin tohumlarından elde edilen mumsu bir esterdir. Amerikalılar ve Meksikalılar bu yağı egzama, saç bakımı ve

her türlü cilt tipi için kullanmışlardır. Jojoba yağı ve türevleri Amerika Birleşik Devletleri, Meksika, İsrail, Japonya ve Avrupa'da kozmetik üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır [133]. Jojoba yağının krem formülasyonunda yumuşatıcı olarak kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.9. *E Vitamini*

E vitamini, antioksidan özellikleri nedeniyle cilt bakım endüstrisinde artan ilgi gören temel bir besindir [134]. Yapılan birçok deneysel çalışma, E vitamininin ciltteki serbest radikal söndürücü fotoprotektif ajan olarak belirleyici bir işlev sergilediğini ve bu nedenle UV kaynaklı hastalıklardan korunmada potansiyel bir madde olarak kullanılabileceğini göstermektedir [135]. Kozmesötikleri içeren cilt bakımı alanında, fotoprotektif etkilere işaret eden geniş bir deneysel kanıt gövdesi vardır [134]. E vitamininin bahsedilen özelliklerinden faydalanmak amacı ile krem formülasyonunda kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.10. *Yasemin Yağı*

Yasemin esansiyel yağı (*Jasminum sambac* L., *Oleaceae*) gıda, parfüm ve kozmetik endüstrilerinde koku vermek amacıyla giderek daha fazla kullanılmaktadır [136]. Hafif ve hoş kokusu sebebiyle krem formülasyonunda yasemin yağının parfüm olarak kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.11. *NaCl*

Krem formülasyonuna NaCl ilavesi, görünür viskozitede ani bir artışla sonuçlanmaktadır [137]. Hacim arttırıcı ve maskeleyici bir madde olan NaCl krem yapısının kalınlaşarak viskozitesinin artmasını sağlamaktadır. Bu nedenle krem içeriğinde viskozitenin ayarlanmasında NaCl kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.12. *Bal Mumu*

Balmumu, genç işçi arıların karnında 12 ila 18 gün arasında özel balmumu bezleri tarafından sıvı formda salgılanan karmaşık bir üründür. Balmumu hava ile temas halinde, katılaşmaya başlamaktadır. En çok kullanılan balmumu, *Apis mellifera* ve *Apis cerana* türleri tarafından üretilmektedir [138]. Balmumu kozmetik sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır ve krem formülasyonlarında viskozite arttırıcı olarak balmumu kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.13. Zeytin Yağı

Sızma zeytinyağı, yağın belirli stabilitesinden sorumlu olan fenolik bileşenler açısından zengindir [139]. Zeytinyağı, yüksek sabunlaşmayan fraksiyonu nedeniyle, farmasötik teknolojisinde en çok beğenilen ve umut verici bitkisel yağlardan biridir ve birçok dermatolojik preparatta bulunabilir [140]. Krem formülasyonlarında yumuşatıcı karakterinden faydalanmak için zeytinyağı kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.14. Akoline GC

Akoline emülsiyonlaştırıcılarının tipik özelliklerinin birçoğu, lipidlerin sıvı kristal yapıları oluşturmadaki kabiliyetinden türetilmektedir [141]. Bitkisel yağlardan elde edilen bir emülgatör olan Akoline GC tahriş edici etkiler olmadan gelişmiş cilt sıkılığını ve pürüzsüzlüğünü göstermektedir. Yüz bakım ürünlerinde, vücut nemlendiricilerinde ve yaşlanma karşıtı formülasyonlarda sıkça kullanılmaktadır. Teze konu olan krem formülasyonlarında yumuşatıcı, emülsifiye edici, cilt bakımına katkıda bulunucu ve dengeleyici özellikleri nedeni ile kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.15. Stearil Alkol

Cilde tıbbi veya kozmetik bir madde uygulamak için yaygın bir yöntem olarak emülsiyon oluşturmak kullanılmaktadır. Kremlerin hazırlanmasında, sürfaktan/uzun zincirli alkol tipinde karışık emülgatörler sıklıkla kullanılmaktadır [142]. Krem formülasyonlarında emülgatör olarak stearil alkol kullanılmasına karar verildi.

3.1.3.16. Bentonit

Bentonit değerli bir emülgatör olmasının yanı sıra koruyucu görevi de görmektedir [143]. Farklı dokular geliştirme kabiliyeti ile son derece kararlı emülsiyonlar oluşturmaktadır. Krem formülasyonunda bentonitin bu özelliğinden faydalanılarak emülgatör olarak kullanılmasına karar verildi.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Arı Zehrinde Fiziksel Analizler

3.2.1.1. Saflaştırılması

Krem üretimi için kullanılan arı zehirlerinde ilk olarak zehirlerin koku, görünüm ve yabancı maddesine bakılarak uygun olan arı zehirleri seçildi. Arıcılardan temin edilen arı

zehirlerinin içerisinde çeşitli safsızlıklar olması ihtimaline karşı krem üretimine geçmeden önce safsızlıklar giderilmelidir. Safsızlıkların giderilmesi için zehirler kremin içerisinde kullanılacak saf suda çözündürülerek filtre edildi. Filtrasyon ile arı zehirlerindeki yabancı madde ve diğer safsızlıklar giderildi.

3.2.1.2. Fiziksel Analizler

Arı zehirlerinin fiziksel analizlerinde ilk olarak toplanan numunelerin görünüş, renk ve kokuları üzerinde duyuşsal analizler gerçekleştirildi.

Zehirlerin duyuşsal analizi ile koku tayini yapıldı. Arı zehirlerinin renk analizi için ise Pantone renk skalası kullanıldı. Bu renk skalasına göre her zehre renk kodu verildi.

3.2.2. Arı Zehrinde Kimyasal Analizler

3.2.2.1. Arı Zehirlerinde Nem Analizi

Arı üreticilerinden temin edilen arı zehirlerinde nem tayini yapıldı. Nem tayini Precisa XM50 nem tayin cihazı ile 105°C’de yapıldı. Alınan 6 farklı numunenin her biri için 3 tekrarlı olacak şekilde analiz edilmiştir. Analiz sonucunda çıkan sonuçlar değerlendirildi.

3.2.2.2. HPLC-UV ile Arı Zehri İçeriği

Arı zehri numunelerinin içerdiği maddeleri belirlemek amacıyla alınmış her numune için HPLC-UV analizi yapıldı. Arı zehri numunelerinde melittin, apamin ve fosfolipaz A2, su ile seyreltilmiş uygun bir çözeltide yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile ayrıldı ve bunu takiben ultraviyole bölgede fotometrik olarak belirlendi. Analiz Supelco Supelcosil LC-318 kolonu (cat no:58858) kullanılarak 220 nm’de gerçekleştirildi. Mobil faz A için ultra saf su ve %0,1 trifloroasetik asit (TFA); mobil faz B için 80:20 asetronitril (ACN): ultra saf su ve %0,1 trifloroasetik asit kullanılmıştır. Akış hızı 1 ml/dakika ve enjeksiyon hacmi 40 nonolitre olacak şekilde ayarlanmıştır [144]. Analizde kullanılan kimyasal maddeler apamin (Sigma), fosfolipaz A2 (Sigma), melittin (Sigma), asetronitril (Merck), trifloroasetik asit (Carlo Erba) temin edildi (Şekil 3.5 ve Şekil 3.6).



Şekil 3.5. Melittin, apamin ve fosfolipaz A2 standartları.



Şekil 3.6. Arı zehri içerik analizi için kullanılan kolon.

Stok standart çözeltileri hazırlamak için Fosfolipaz A2 ve melittin ultra saf suda çözüldü. Apamin ise 0,05 M asetik asitli ultra saf suda ile çözülerek her biri 1 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Her bir çözeltiden alınarak %2, %5, %10, %20, %40, %50 şeklinde standart çözeltiler oluşturuldu. Bu standart çözeltiler daha sonra viallere alınarak Şekil 3.7’de görülen HPLC cihazına verildi ve kalibrasyon eğrileri oluşturuldu. Standartlara ek olarak içerikleri incelenecek olan arı zehri örneklerinden 5’er mg tartılarak saf su ile 10 ml’ye seyreltildikten sonra şırınga ucu filtreden geçirilip HPLC cihazına verildi. Çalışmada kullanılan HPLC cihazı Şekil 3.7’te verilmiş ve miktar tayini, pik alanları ya da pik yükseklikleri kullanılarak, dış standard metoduna göre yapılmıştır. Her bir örnek için üçer tekrarlı analiz yapıldı.

Arı zehri örneklerinde şeker analizleri için HPLC cihazı Thermo Hypersil APS-2 kolonu kullanılmıştır. Analizde Refraktif İndeks (RI) dedektör ve Asetonitril: ultra saf su mobil fazı ile izokritik analiz gerçekleştirildi. Arı zehirlerinden 0,5 g örnek alınarak içerdiği

şeker tür ve miktarları analiz edildi. Arı zehirleri Asetonitril-su çözeltisi ve Carrez I-II ile ekstrakte edildikten sonra santrifüjlenerek filtrelendi. Her bir arı zehri için üçer tekrarlı analiz yapıldı ve değerler Minitab 18 istatistik programı kullanılarak değerlendirildi.



Şekil 3.7. Arı zehri içerik analizi için kullanılan HPLC analiz cihazı.

3.2.3. Arı Zehrinde Mikrobiyolojik Analizler

Arı zehri numunelerinin mikrobiyolojik analizlerinde aşağıdaki testler yapılmıştır:

- Toplam Aerobik Mezofilik Mikroorganizma Sayısı
- Toplam Küf ve Maya Sayısı
- *Staphylococcus Aureus*
- *Candida Albicans*
- *E. coli*

Toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayımı için ilk olarak temin edilen arı zehri numuneleri hazırlanarak steril bir kaba tartıldı. Steril kap içerisine damıtılmış su ilave edilerek homojenize edildi. Mikroorganizmaların optimal büyümesi ve geri kazanımı için örnek süspansiyonun pH değeri 1N NaOH ile ayarlanarak 6,6 – 7,2'ye getirildi. Şekil 3.8'deki petrifilm üzerine 1 mL numune koyularak 1 dakika katılaşması beklendi. Daha sonra 48 saat 35°C'de inkübe edilip tüm kırmızı kolonilerin ebat ve renk yoğunluğundan bağımsız sayımı yapıldı.

Toplam maya ve küf sayımında örnek tartılarak steril bir kaba koyuldu. İçerisine ISO yöntemine 6887-1'e göre %0,1 pepton suyu, pepton tuzu seyreltici eklendi. Homojenize edildikten sonra 1 mL petrifilm, Şekil 3.8, koyuldu ve 3-5 gün 20°C'de inkübe edilip renkli bölgelerin sayımı yapıldı. Mayalar küçük, bronzdan mavi-yeşile dönük renkli kolonilerdir. Küfler ise geniş ve kahverengi, bej, turuncu ve mavi-yeşil renklidir.



Şekil 3.8. Toplam küf-maya ve toplam mezofilik aerobik sayımı analiz kitleri.

Staphylococcus aureus sayımı için arı zehri örneğine ISO 6887-1:1999 yöntemine göre pepton tuz seyreltisi ve tamponlu pepton suyu koyulup seyreltilerek homojenize edildi. pH 1N NaOH ile 6-8 aralığına ayarlandı ve Şekil 3.9'daki petrifilm yerleştirildi. 24 saatlik 37°C'de inkübe edilip kırmızı-mor renkli kolonilerin sayımı yapıldı.

Basit kültür ortamında veya seçici kültür ortamında (CHROMagar Candida) üreyebilen *Candida albicans* sayımı için arı zehirleri seyreltilip homojenize edildikten sonra petrifilmlere, Şekil 3.9, koyuldu. İnkübasyon için 25-37°C'de 24-72 saat bekletildikten sonra sayımı yapıldı.

E.coli sayımı için ilk olarak temin edilen arı zehri numuneleri tartılarak steril bir kaba alındı. Steril kap içerisine damıtılmış su ilave edilerek homojenize edildi. Mikroorganizmaların optimal büyümesi ve geri kazanımı için örnek süspansiyonun pH değeri 1N NaOH ile ayarlanarak 6,6-7,2'ye getirildi. Şekil 3.9'daki petrifilm üzerine 1 mL numune koyularak 1 dakika katılaşması beklendi. Daha sonra 24 saat 35°C'de inkübe edilerek gazlı mavi kolonilerin sayımı yapıldı.



Şekil 3.9. *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ve *Candida albicans* sayımı analiz kitleri.

3.2.4. Analiz Yöntemlerinin Validasyonu

Arı zehri örneklerinde yapılan analizler için validasyon çalışmaları yapıldı. Yapılan validasyonlar aşağıda belirtildiği gibidir;

► Kimyasal analizler:

- Nem tayini
- Apamin konsantrasyonu (HPLC-UV)
- Fosfolipaz A2 konsantrasyonu (HPLC-UV)
- Melittin konsantrasyonu (HPLC-UV)

Metodun validasyonu için seçicilik, tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik, geri kazanım, doğrusalılık, tespit limiti ve tayin limiti validasyon parametreleri incelendi.

Seçicilik parametresi için 3 farklı bölgeden toplanan arı zehirleri ve melittin, fosfolipaz A2 ve apamin standart maddeleri kullanıldı. Analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Arı zehirleri ve standart maddeler ayrı ayrı analiz edilerek piklerin birbirine girişim yapmadığı gösterildi. Tekrarlanabilirlik parametresi için 3 farklı bölgeden toplanan arı zehirleri 6 tekrarlı olarak analiz edildi ve tekrarlı analizler için RSD_r değeri hesaplandı. Tekrar üretilebilirlik parametresi için iki farklı analist 3 farklı bölgeden toplanan arı

zehirlerinde farklı günlerde 6 tekrarlı olarak çalışıldı ve elde edilen sonuçlardan RSD_R değeri hesaplandı. Elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik bağıl standart sapmaları (RSD_r ve RSD_R) Horwitz eşitliğine göre değerlendirildi. Horwitz eşitliğinden elde edilen HORRAT değeri 0,5 -2,0 arasında olması beklenmektedir [145]. Tekrarlanabilirlik için apamin, fosfolipaz A2 ve melittin için bulunan en yüksek HORRAT değerleri sırasıyla 0,6; 0,3; 0,3 tekrar üretilebilirlik için bulunan en yüksek HORRAT değerleri ise 0,5; 0,7; 0,12 olarak bulundu.

Tekrarlanabilirlik değerlendirmesi formülü [146];

$$\%RSD_{rH} = \%RSD_{RH} \times 0,66 \quad (3.1)$$

$$HORRAT_r = RSD_r / RSD_{rH} \quad (3.2)$$

Tekrar üretilebilirlik değerlendirmesi formülü [146];

$$\%RSD_{RH} = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (3.3)$$

$$HORRAT_R = RSD_R / RSD_{RH} \quad (3.4)$$

Geri kazanım için analiz sonuçları bilinen arı zehri üzerine 3 farklı konsantrasyonda (%2, %10, %50) standart madde eklenerek 4 tekrarlı olarak analiz edildi ve geri kazanım değerleri hesaplandı. Hesaplanan geri kazanım değerleri %92-%105 aralığında ve uygun değerlerde bulundu.

Doğrusallık parametresi için her bir standart madde konsantrasyonu %2, %5, %10, %20 ve %50 olacak şekilde 3 tekrarlı analiz yapılarak kalibrasyon eğrileri oluşturuldu. Melittin için kalibrasyon eğrisi denklemi $y=204801x + 237390$ ve $R^2=0,9983$; apamin için kalibrasyon eğrisi denklemi $y=117724x + 47615$ ve $R^2=0,9999$; fosfolipaz A2 için kalibrasyon eğrisi denklemi $y=124632x + 75840$ ve $R^2=0,9960$ olarak bulundu.

Tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) için tekrarlanabilirlik kriterini sağlayan en düşük konsantrasyon tespit edilerek bu konsantrasyonda hazırlanan standart çözeltisi 6 tekrarlı analiz edildi. Tekrarlanabilirlik koşullarına uyan sonuçların standart sapmalarından $LOD= s \times 3 + \text{ort}$ ve $LOQ= s \times 10 + \text{ort}$ olarak hesaplanmıştır. Melittin, apamin ve fosfolipaz A2 için LOD değerleri sırasıyla %3,5; %2,0 ve %8,1 olarak bulundu.

3.2.5. Krem Yapısı İçin Prototip Geliştirilmesi

Arı zehri içeren yüz, vücut, ayak, el ve eklem için krem formülasyonları hazırlandı. Laboratuvarında hazırlanan kremlerin formülasyonları farklı yoğunlukta arı zehri içeren ve kıvam olarak farklı yoğunluklarda olacak şekilde denendi. Ön denemelerde yapılan krem formlarının bazılarında faz ayrılmaları gözlemlendi. Faz ayrımı olmayan stabil kremlerin formülasyonları üzerinde geliştirmeler yapılarak deneme formülasyonları hazırlandı. Denemeler için farklı krem yapısı ve arı zehri konsantrasyonları için üretim yöntemi ve prototip ürünlerin geliştirilmesi yapıldı. Bu bağlamda 5 çeşit krem için 3 farklı yoğunlukta krem ve 3 farklı yoğunlukta arı zehri içeren toplamda 45 farklı prototip ürün denemesi yapıldı.

Yüz kremi için %0,1, %0,05 ve %0,07 oranlarında arı zehri içeren ve her bir arı zehri konsantrasyonu için de %7,0, %6,5 ve %6,0 oranında lipex shealight olan krem formülasyonları hazırlandı. Deneme için hazırlanan yüz kremlerinin formülasyonları Çizelge 3.1’de görüldüğü şekildedir.

Çizelge 3.1. Yüz kremi için deneme formülasyonları.

Hammadde İsmi	Formül (%)								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Deiyonize Su	79,40	79,90	80,40	79,45	79,95	80,45	79,43	79,93	80,43
Keçi-boynuzu Zamkı	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Gliserin	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Arı Sütü	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Bal	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Arı Zehri	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05	0,05	0,07	0,07	0,07
Stearil Alkol	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Akoline GC	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Lipex Shealight	7,0	6,5	6,0	7,0	6,5	6,0	7,0	6,5	6,0
Jjoba Yağı	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
E Vitamini	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Propolis Ekstraktı	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Yasemin Yağı	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Toplam	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Vücut kremi için arı zehri ve shea yağı konsantrasyon oranları değiştirilerek deneme formülasyonlar hazırlandı. %0,1, %0,05 ve %0,07 oranlarında arı zehri için %5,5, %5 ve %4,5 lipex shealight ile çalışıldı. Çizelge 3.2’de vücut kremi deneme formülasyonlarında kullanılan bileşenlerin oranları verilmiştir.

Çizelge 3.2. Vücut kremi için deneme formülasyonları.

Hammadde İsmi	Formül (%)								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Deiyonize Su	76,9	77,4	77,9	76,95	77,45	77,95	76,93	77,43	77,93
Keçi-boynuzu Zamkı	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Gliserin	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Arı Sütü	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Bal	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Arı Zehri	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05	0,05	0,07	0,07	0,07
Stearil Alkol	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Akoline GC	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Lipex Shealight	5,5	5	4,5	5,5	5	4,5	5,5	5	4,5
Jojoba Yağı	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
E Vitamini	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Propolis Ekstraktı	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Yasemin Yağı	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Toplam	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Ayak kremi için %0,1, %0,05 ve %0,07 oranlarında arı zehri için deneme çalışması yapıldı. Farklı yapı sağlamak için ise bentonit oranları %8, %7,5 ve %7 oranlarında kullanıldı. Çizelge 3.3’de ayak kremi deneme formülasyonlarında kullanılan bileşenlerin oranları verilmiştir.

Çizelge 3.3. Ayak kremi için deneme formülasyonları.

Hammadde İsmi	Formül (%)								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Deiyonize Su	69,6	70,1	70,6	69,65	70,15	70,65	69,63	70,13	70,63
Gliserin	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
NaCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Arı Sütü	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Bal	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Arı Zehri	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05	0,05	0,07	0,07	0,07
Bentonit	8,0	7,5	7,0	8,0	7,5	7,0	8,0	7,5	7,0
Jojoba Yağı	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Shea Yağı	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Propolis Ekstraktı	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Yasemin Yağı	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Toplam	100	100	100	100	100	100	100	100	100

El kremi için %0,1, %0,05 ve %0,07 oranlarında arı zehirleri için bentonit oranları %8, %7,5 ve %7 olarak kullanıldı. Çizelge 3.4’de el kremi deneme formülasyonlarında kullanılan bileşenlerin oranları gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. El kremi için deneme formülasyonları.

Hammadde İsmi	Formül (%)								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Deiyonize Su	68,6	69,1	69,6	68,65	69,15	69,65	68,63	69,13	69,63
Gliserin	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
NaCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Arı Sütü	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Bal	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Arı Zehri	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05	0,05	0,07	0,07	0,07
Bentonit	8,0	7,5	7,0	8,0	7,5	7,0	8,0	7,5	7,0
Jojoba Yağı	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Shea Yağı	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Propolis Ekstraktı	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Yasemin Yağı	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Toplam	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Eklem kremi için yapılan deneme formülasyonlarında %0,1, %0,08 ve %0,06 oranları olacak şekilde arı zehirleri denendi. Ayrıca her bir arı zehri oranı için shea yağı %20, %19,5 ve %19 olarak denemeler yapıldı. Çizelge 3.5’de eklem kremi deneme formülasyonlarında kullanılan bileşenlerin oranları verilmiştir.

Çizelge 3.5. Eklem kremi için deneme formülasyonları.

Hammadde İsmi	Formül (%)								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Bal Mumu	14,1	14,6	15,1	14,12	14,62	15,12	14,14	14,64	15,14
Shea Yağı	20	19,5	19	20	19,5	19	20	19,5	19
Arı Sütü	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Zeytin Yağı	58,5	58,5	58,5	58,5	58,5	58,5	58,5	58,5	58,5
Bal	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Arı Zehri	0,1	0,1	0,1	0,08	0,08	0,08	0,06	0,06	0,06
Propolis Ekstraktı	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Yasemin Yağı	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Toplam	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Yapılan çalışmalar sonucunda her krem türünde 3 farklı arı zehri konsantrasyonu için farklı formülasyonlar geliştirilerek prototip kremler üretildi. Yapılan prototip denemelerinden uygun olanın seçilmesi için gönüllüler üzerinde beğeni testleri yapıldı. 10 gönüllü üzerinde yapılan beğeni testinde her gönüllüye içerisinde sürülebilirlik, kıvam, görünüş, kaşıntı, kızarıklık, sıkılaştırıcı etki, koku, pürüzlülük parametreleri açısından krem özelliklerinin değerlendirileceği formlar (Ek 3) dağıtıldı. Bu formlarda verilen skalada krem formülasyonları için gönüllülerden numaralandırma yapmaları istendi. Gönüllülerden 0 ile 10 puan arasında numaralandırma yapmaları istendi. Sürülebilirlik, kıvam, görünüş, sıkılaştırıcı etki ve koku için 0 yok, 10 var anlamına gelmektedir. Kaşıntı, kızarıklık ve pürüzlülük için 0 var, 10 yok anlamına gelmektedir. 1 ay sonunda bu numaralandırmalar sonucu en yüksek puana sahip krem formülasyonu belirlendi. Bu testte kullanılan kremler ile test bitim tarihinde üretilen yeni kremler karşılaştırılarak aralarındaki zamana ve kullanım şekline bağlı farklılıklar değerlendirildi. Gönüllü testlerine ve test sonrası yapılan son değerlendirmeye göre 5 krem tipi için hazırlanan 9’ar formülasyondan en yüksek puanları alan kremler seçildi. Seçilen bu formülasyonlara göre yüz, vücut, ayak, el ve eklem kremlerinin hepsinden birer tane prototip üretildi.

3.2.6. Krem Yapımı

Yüz kreminin hazırlanması için formülasyondaki miktarlar kadar keçiboynuzu zımkı ve deiyonize su tartılarak karıştırıldı ve 90°C'deki ısıtıcıya koyularak keçiboynuzu zımkı eriyene kadar ısıtıldı. Eridikten sonra ısıtıcıdan alınarak su banyosuna koyuldu ve soğutulmaya başlandı. Termometre yardımıyla sıcaklığı kontrol edilerek 55-50°C'ye kadar soğutulan karışıma gliserin ve bal eklenerek karıştırıldı, daha sonra arı sütü ve arı zehri de ilave edilerek karıştırılmaya devam edildi. Ayrı bir kapta yağ fazının hazırlanması için stearil alkol, alkoline GC, lipex shealight ve jojba yağı tartılarak karıştırıldı. Hazırlanan yağ fazı ısıtıcıda 50°C'ye ulaşana kadar kontrollü bir şekilde sürekli karıştırılarak ısıtıldı. Tüm bileşenler eriyip homojen bir hal alınca yağ fazı ısıtıcıdan alınıp üzerine E vitamini ilave edildi. Daha sonra su banyosuna koyularak, 2000 devir/dakika (rpm) sabit hıza sahip homojenizatör tarafından homojenize edilmeye başlandı. Bu sırada hazırlanan arı zehirli faz eklendi ve hepsi homojenize olana kadar karıştırılmaya devam edildi. İstenilen faz oluşmaya başlanınca en son propolis ve yasemin yağı da eklenerek bir süre daha karıştırıldıktan sonra kaplara koyularak krem hazırlandı. Vücut kremi de yüz kreminin hazırlanma yöntemine göre yapıldı.

Ayak ve el kremi için ilk olarak ısıtıcı 40°C'ye ayarlanarak ısıtılmaya başlandı. Bu sırada yağ fazını oluşturmak için bentonit, jojoba yağı ve shea yağı istenilen miktarlarda tartılıp, karıştırılarak ısıtıcıya koyuldu. Isıtma aşamasında kontrollü bir şekilde karıştırılarak yağ fazının eriyip homojen bir kıvam alması sağlandı. Yağ fazı erirken ayrı bir kapta deiyonize su, gliserin, NaCl, arı sütü, bal ve arı zehri tartıldıktan sonra çözünene kadar karıştırıldı. Yağ fazı eriyince ısıtıcıdan alınarak su banyosuna koyularak soğutma işlemi gerçekleştirildi. Soğuyan fazın üzerine arı zehirli karışım ilave edilerek 3000 devir/dakika (rpm) hızındaki homojenizatörde karıştırıldı. Homojen bir kıvam alana kadar karıştırma işlemi devam etti ve en son karışımın üzerine propolis ve yasemin yağı eklenerek kısa bir karıştırma işlemi gerçekleştirildi. Karışım istenilen kıvama gelince homojenizatörden alınarak kaplara koyuldu ve soğumaya bırakıldı.

Eklem kremi için bal mumu, shea yağı ve zeytinyağı istenilen ölçülerde tartılarak bir kapta karıştırıldı. Karışım ısıtıcıya alınarak termometre ile kontrol edilerek 70°C'ye ulaşana kadar karıştırılarak ısıtıldı. Yağ fazı tamamen eriyip homojen bir kıvam alınca ısıtıcıdan alınarak su banyosunda soğumaya bırakıldı. Soğuyan fazın üzerine arı sütü, bal ve arı zehri istenilen miktarlarda tartılarak ilave edildi. Karışım 2000 devir/dakika (rpm) hızındaki homojenizatöre koyularak karışımın homojen bir kıvam alması sağlandı. En son

karışımın üzerine propolis ve yasemin yağı eklenerek kısa bir süre daha karıştırıldı ve kaplara alınarak soğumaya bırakıldı.

3.2.7. Kremde Fiziksel Analizler

3.2.7.1. *Stabilite Testi*

Bir kozmetik ürünün, uygun şartlarda depolandığı durumlarda, başlangıçtaki fonksiyonlarını yerine getirdiği ve güvenilirliğini korumaya devam ettirdiğinin belirlenmesi için yapılan bir analiz türüdür. Stabilite çalışmaları 25°C ve 40°C derecelerde Şekil 3.10'daki iklimlendirme kabinlerinde yapıldı.

Stabilite testi için görünüm, yoğunluk, viskozite, pH, koruyucu etkinlik ve mikrobiyolojik analizleri değerlendirildi.



Şekil 3.10. Stabilite çalışmalarının yapıldığı iklimlendirme kabinleri.

3.2.7.2. *Antioksidan Etki Testi*

Antioksidan etki testi için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak serbest radikalın süpürülmesine göre antioksidan aktivite hesaplandı. Farklı konsantrasyonlarda dilüetler hazırlanarak çalışma solüsyonları hazırlandı. DPPH radikalinden 19,7 mg tartılarak etanolde çözülüp hacmi 25 mL'ye tamamlandı. Ardından bir tüpe 2,7 mL ekstrakt eklenip üzerine 300µL DPPH çözeltisi eklendi. Kör için ekstrakte yerine etanol koyuldu. Hazırlanan karışımlar karıştırıldıktan sonra karanlık ve oda sıcaklığında bir yerde 15 dakika boyunca inkübe edildi. Köre karşı absorbands 517 nm

dalga boyunda UV-VIS spektrofotometre ile ölçüldü. İnhibasyon değeri Denklem 3.1 kullanılarak hesaplandı.

$$\%İnhibasyon = \frac{Kör\ Absorbans - Örnek\ Absorbans}{Kör\ Absorbans} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.7.3. Alerjen Testi

Geliştirilen krem prototiplerinden stabilite testinden uygun sonuç alanlar için Yeditepe Üniversitesi Ar&Ge ve Analiz Merkez Laboratuvarları'ndan alerjen testi hizmet alımı yapıldı. Alerjen testleri LC-MSMS analiz metoduna göre uygulanmıştır. LC-MSMS metodu için ölçüm limiti %0,0001 olarak alınmıştır.

3.2.7.4. Dermatolojik Test

Stabilite testinden uygun sonuç alan prototip kremlerin hassas ciltlere etkisinin incelenmesi için dermatolojik test uygulandı. Yeditepe Üniversitesi Ar&Ge ve Analiz Merkez Laboratuvarları'nda gerçekleştirilen dermatolojik testler normal cilde sahip 15 gönüllü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Dermatolojik değerlendirme için gönüllüler üzerinde patch testleri uygulanmıştır. Kremler bir ay boyunca uygulanması gerektiği şekilde gönüllüler üzerinde uygulanmıştır. Bir ay sonunda kremlerin cilt üzerindeki etkileri incelenmiştir. Cilt üzerinde olumsuz bir etki bırakmayanlar dermatolojik olarak uygun kabul edilmiştir.

3.2.7.5. Sitotoksisite Testi

In vitro olarak gerçekleştirilen sitotoksisite testi ile kremlerin dozuna ve maruziyet sürelerine bağlı olarak hücrelerde meydana getirdiği değişiklikler gözlemlendi [147]. Sitotoksisite testi bir dış laboratuvar tarafından TS EN ISO 10993-5 standartlarına göre yapıldı. Sitotoksisite testi ile maruziyet sonucundaki canlı ve ölü hücre sayıları karşılaştırılarak sitotoksik etki belirlenmiştir. Analiz sağlıklı fare fibroblast hücresi canlılığının metabolik aktivite yoluyla hesaplanmıştır. Sarı renkli, suda çözünür MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide], canlı hücrelerde metabolik olarak mavi-mor renkte, suda çözünmeyen formazana indirgenir. Canlı hücre sayısı, formazanın alkolde çözüldükten sonra renk yoğunluğu tayin edilerek hesaplanmıştır. Buna göre sağlıklı fare fibroblast hücresi, 24 kuyucuklu kültür kabına ekilmiştir ve yarı-konfluent bir katman oluşturuncaya kadar (24 saat) inkübe edilmiştir. Daha sonra direkt temas için numuneler 0,45 µm gözenek büyüklüğüne sahip bir filtre kağıdının yüzeyine uygulanarak test maddesi hücre yüzeyine gelecek şekilde kuyucuklara yerleştirilmiştir. Filtre kağıtları kuyucuk alanının 1:10 yüzeyine karşılık gelecek şekilde

hazırlanarak sterilize edilmiştir. 24 saatlik inkübasyondan sonra her numune için formazan oluşumu tayin edilmiştir ve kontrol kültürlerinden elde edilen değerlerle karşılaştırılmıştır. Hücre canlılığı, 570 nm’de optik yoğunluk olarak okunan, mavi-mor renkte oluşan formazanın miktarıyla doğrudan ilişkilidir. Kontrol gruplarının %100 canlı ve ölü olduğu kabul edilerek bunlara oranla canlılık değeri hesaplanır. Bu kapsamda negatif kontrol grubu olarak PBS (Phosphate buffered saline) ve pozitif kontrol grubu olarak SDS (0,4 mg/ml sodyum dodesil sülfat) kullanılmıştır. Negatif kontrol grubu ile dokuların yaşayabilirliği, pozitif kontrol grubu ile de bariyer fonksiyonunun ve oluşan doku hassasiyeti tanımlanmaktadır [148]. Negatif kontrol grubu olarak kullanan PBS 7,4 ile nötr bir pH’a sahipliği ve içerisindeki Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonları sayesinde hücre ozmalaritesini sabit tutmaktadır [149]. Keratinositlere karşı orta derecede toksisiteye sahip bir anyon yüzey aktif madde olan SDS pozitif kontrol grubu olarak maddelerin cilt üzerindeki toksik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Pozitif kontrol grubunda kullanılan SDS sitotoksik madde olarak ve normal keratonisitlerine dayalı olarak test sistemlerinin yanıtının tekrarlanabilmesinde tercih edilmektedir [150]. Hücre canlılığı üzerindeki etki için aynı anda pozitif ve negatif kontrol de analiz edilerek sonuçta yaşayan hücre sayısı negatif kontrolde yaşayan hücre sayısına oranlandı. Negatif kontrole kıyasla canlılıktaki azalma Denklem 3.2’de verilen şekilde hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hücre Canlılık} = \frac{100 \times OD_{570e}}{OD_{570b}} \quad (3.2)$$

OD_{570e} ; arı zehri krem numunesi konsantrasyonunun ölçülen optik yoğunluğunun ortalama değerini, OD_{570b} ise negatif kontrol grubunun ölçülen optik yoğunluğunun ortalama değerini ifade etmektedir.

Direkt temasla yapılan deney için reaksiyon dereceleri Çizelge 3.6’da belirtilmiştir.

Çizelge 3.6. Derece ve reaksiyon zonu tanımlaması.

Derece	Reaksiyon	Reaksiyon Zonu Tanımlaması
0	Yok	Numune etrafında veya altında saptanabilir bir zon yok
1	Çok az	Numune altında bazı şekli bozuk veya parçalanmış hücreler var
2	Hafif	Sadece numune altında zon oluşumu var
3	Orta	Zon oluşumu numune sınırlarını 1 cm’e kadar aşmış
4	Şiddetli	Zon oluşumu numune sınırlarını 1 cm’den daha fazla aşmış

Çizelge 3.6’da belirtilen 2’den büyük derecelendirme değerin bulunması sitotoksik etki olarak kabul edilmektedir.

3.2.8. Verilerin Toplanması, İstatistiki Değerlendirme ve Sorunların Giderilmesi

Elde edilen analiz verilerini kullanarak gerekli istatistiki değerlendirme yapılarak, çalışma kapsamında üretilen kremlerin raf ömrü ve stabilitesi hesaplandı. Tekrarlı yapılan çalışmalardaki veriler normallik ve tek yönlü ANOVA/Tukey testi ile değerlendirildi.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. ARI ZEHRİNDE FİZİKSEL ANALİZLER

4.1.1. Fiziksel Analizler

Arıcılardan temin edilen 6 farklı arı zehrinin fiziksel özellikleri incelendi ve sonuçlar Çizelge 4.1’de görüldüğü şekildedir. Arı zehirlerinin hepsinin görünüşü tipik toz şeklinde ve kokuları tipiktir. Arı zehirlerinin renkleri açık sarı, bej ve açık kahverengi olmak üzere farklılık göstermektedir.



Şekil 4.1. Arı zehri numuneleri.

					
PANTONE 4018 C	PANTONE 4242 C	PANTONE 7502 C	PANTONE 142 C	PANTONE 2006 C	PANTONE 4017 C
Arı zehri 1	Arı zehri 2	Arı zehri 3	Arı zehri 4	Arı zehri 5	Arı zehri 6

Şekil 4.2. Arı zehirleri Pantone renk skalası.

Şekil 4.2’de görüldüğü üzere Pantone renk skalasına göre arı zehirlerine renk kodları verildi. Bu skalaya göre arı zehri 1’e 4018 C, arı zehri 2’ye 4242 C, arı zehri 3’e 7502 C, arı zehri 4’e 142 C, arı zehri 5’e 2006 C ve arı zehri 6’ya 4017 C kodları verildi. Arı zehri

standardında zehirler sarımtırak renk şeklinde nitelendirilmiştir [151]. Ayrıca zehrin kuruduktan sonra sarı-kahverengi arasında toz bir hal aldığı bilinmektedir [152]. Bu özelliklere bakıldığında zehir numunelerinin renklerinin uygun olduğuna karar verildi. Arı zehirlerinin kokusunun değerlendirilmesi için literatür taraması yapıldığında bal benzeri keskin bir koku şeklinde bir tanımlama olduğu görüldü [151, 152]. Ayrıca arı zehrinin kokusu izopentil asetat kokusu ile ilişkilendirilmektedir böylece arı zehrinin kokusu muz benzeri bir koku olarak tanımlanmaktadır [153, 154]. Bu açıdan değerlendirildiğinde arı zehri kokusu bal ve muz kokusuna benzer nitelikte tipik bir koku olarak nitelendirildi. Zehirlerin görünüş, renk kodları ve koku özellikleri Çizelge 4.1’de görüldüğü şekildedir.

Çizelge 4.1. Arı zehirlerinin fiziksel özellikleri.

Numune	Görünüş	Renk Kodu	RGB	HEX/HTML	CMYK	Koku
Arı Zehri 1	Tipik Toz	4018C	209 178 73	D1B249	9 19 76 7	Tipik
Arı Zehri 2	Tipik Toz	4242C	136 118 79	88764F	28 36 63 29	Tipik
Arı Zehri 3	Tipik Toz	7502C	206 184 136	CEB888	13 20 45 3	Tipik
Arı Zehri 4	Tipik Toz	142C	241 190 72	F1BE48	0 21 77 0	Tipik
Arı Zehri 5	Tipik Toz	2006C	235 188 78	EBBC4E	1 21 76 1	Tipik
Arı Zehri 6	Tipik Toz	4017C	222 184 59	DEB83B	5 18 81 4	Tipik

4.2. ARI ZEHRİNDE KİMYASAL ANALİZLER

4.2.1. Arı Zehirlerinde Nem Analizi

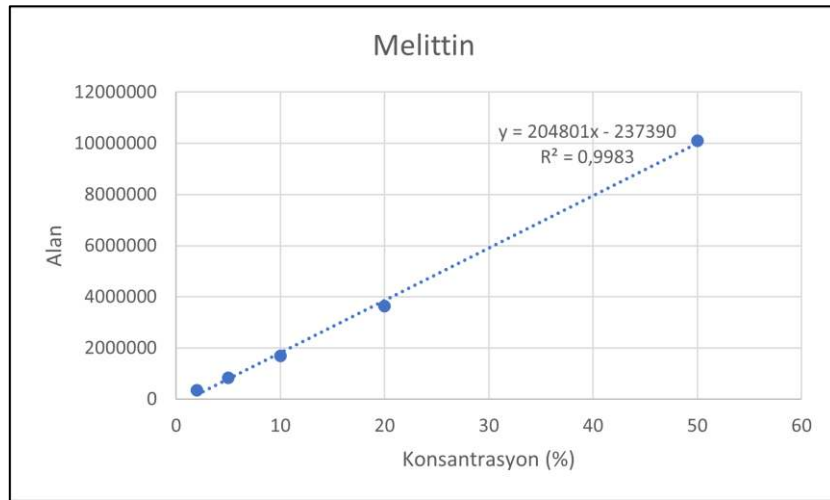
Arıcılardan elde edilen 6 adet arı zehrinde 3 adet tekrarlı çalışma yapıldı. Analiz edilen arı zehri örneklerinin nem değerleri Çizelge 4.2’de görüldüğü üzere %9,16 – 10,56 aralığında değiştiği gözlemlendi. Literatürde belirtildiği üzere kurutulmuş arı zehri en yüksek oranda %12 nem içermelidir [24, 6, 155]. Arı zehirlerinde gerçekleştirilen nem analizlerinde en yüksek nem değeri %10,56 bulunduğu için çalışmada kullanılan bütün arı zehirleri %12 oranının altında kaldı. Yapılan çalışmalar sonucunda arı zehirlerinin nem içeriklerinde herhangi bir uygunsuzluk bulunmadı.

Çizelge 4.2 Arı zehirlerinin (%) nem içeriği.

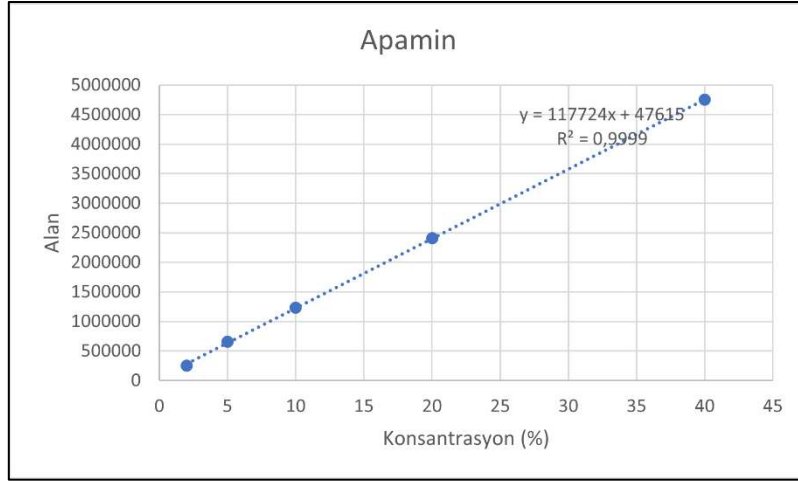
Numune	Analiz Sayısı	Ortalama
Arı Zehri 1	3	9,85
Arı Zehri 2	3	10,41
Arı Zehri 3	3	9,74
Arı Zehri 4	3	9,29
Arı Zehri 5	3	10,56
Arı Zehri 6	3	9,16

4.2.2. HPLC-UV ile Arı Zehri İçeriği

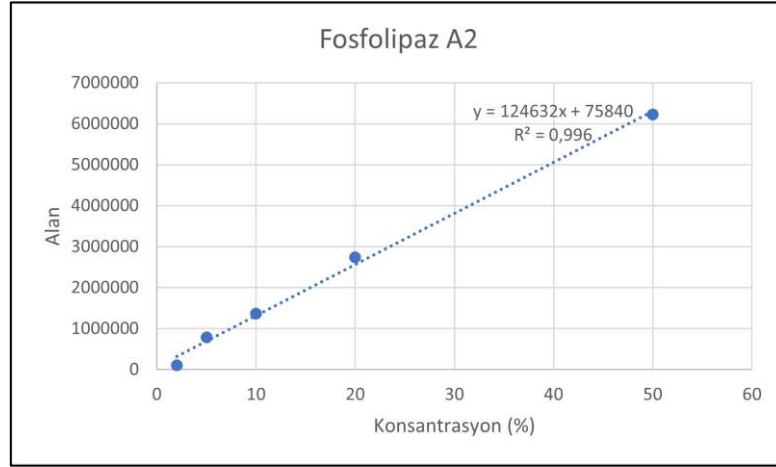
Arıcılardan elde edilmiş 6 farklı arı zehri örneğinde kimyasal içeriklerinin bulunması için HPLC-UV cihazı kullanıldı. 3 adet tekrarlı çalışma sonucunda ana bileşenlerin miktarları bulundu. Bu çalışmalar sonucunda ölçülen içerik oranları normallik ve tek yönlü ANOVA/Tukey testi ile değerlendirildi. HPLC-UV metodu ile alıkonma süreleri melittin için 23 dakika, apamin için 12 dakika ve fosfolipaz A2 için ise 18 dakika olarak bulundu. Arı zehri içerik analizindeki ana bileşenlerin, melittin, apamin, fosfolipaz A2 kalibrasyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.3, 4.4 ve 4.5'te gösterildiği gibi bulundu.



Şekil 4.3. Melittin kalibrasyon eğrisi.

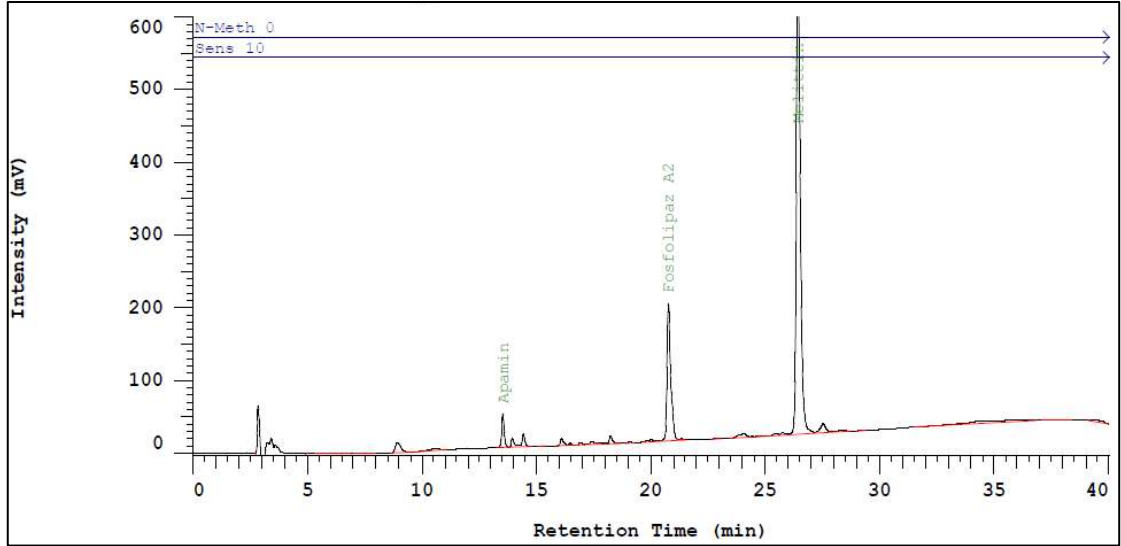


Şekil 4.4. Apamin kalibrasyon eğrisi.



Şekil 4.5. Fosfolipaz A2 kalibrasyon eğrisi.

Yapılan çalışma sonucunda arı zehirlerine dair elde edilen kromatogramlar birbirleriyle benzerdir ve Şekil 4.6’da gösterildiği gibi bulundu.



Şekil 4.6. Arı zehri ana bileşen kromatogramı.

Analiz sonucu kromatogramlardan elde edilmiş ana bileşenlerin verileri Çizelge 4.3, 4.4 ve 4.5'te gösterilmiştir. Arı zehri örneklerine ait melittin analiz sonuçları ortalamaları Çizelge 4.3'ye göre %14,85 – 43,95 aralığındadır. TS 13126 Bal Arısı Zehri standardına göre melittin, kuru maddede (m/m) %40 – 50 oranındadır [151]. Bu kapsamda arı zehri 1, arı zehri 3 ve arı zehri 4 standartlara uygundur, diğer zehirler krem yapımı için uygun değildir.

Çizelge 4.3. Arı zehirlerinin (%) melittin içeriği.

Numune	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	Ortalama
Arı Zehri 1	43,65	43,47	43,95	43,69 ± 0,242
Arı Zehri 2	26,63	27,19	26,46	26,76 ± 0,382
Arı Zehri 3	42,98	43,22	43,31	43,17 ± 0,171
Arı Zehri 4	42,07	41,96	42,15	42,06 ± 0,095
Arı Zehri 5	15,12	14,85	14,93	14,97 ± 0,139
Arı Zehri 6	31,11	31,14	31,24	31,16 ± 0,068

Örneklerin HPLC-UV metoduna göre analizinde arı zehrinin içerdiği apamin miktarı %0,84 – 2,33 aralığında değişmektedir (Çizelge 4.4). TS 13126 Bal Arısı Zehri standardına göre apamin, kuru maddede (m/m) %1 – 3 aralığındadır [151]. Bu kapsamda arı zehri 5 dışındaki bütün zehirler standarda uygundur ve krem yapımında kullanılabilirler.

Çizelge 4.4. Arı zehirlerinin (%) apamin içeriği.

Numune	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	Ortalama
Arı Zehri 1	1,85	1,91	1,85	1,87 ± 0,035
Arı Zehri 2	1,38	1,41	1,40	1,40 ± 0,015
Arı Zehri 3	2,26	2,26	2,33	2,28 ± 0,040
Arı Zehri 4	2,02	1,96	1,96	1,98 ± 0,035
Arı Zehri 5	0,88	0,84	0,85	0,86 ± 0,021
Arı Zehri 6	1,33	1,37	1,34	1,35 ± 0,021

Analiz sonucunda arı zehirlerindeki fosfolipaz A2 içerikleri %9,26 – 14,83 aralığında değişmektedir (Çizelge 4.5). TS 13126 Bal Arısı Zehri standardına göre fosfolipaz A2, kuru maddede (m/m) %10 – 12 oranındadır [151]. Yapılan analiz sonucunda arı zehri 2 standart değerlerin dışında bulundu. Krem yapımında arı zehri 1, arı zehri 3, arı zehri 4, arı zehri 5 ve arı zehri 6 kullanılabilir.

Çizelge 4.5. Arı zehirlerinin (%) fosfolipaz A2 içeriği.

Numune	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	Ortalama
Arı Zehri 1	11,95	12,26	12,34	12,18 ± 0,206
Arı Zehri 2	9,26	9,26	9,28	9,27 ± 0,012
Arı Zehri 3	14,79	14,81	14,83	14,81 ± 0,020
Arı Zehri 4	11,52	11,49	11,53	11,51 ± 0,021
Arı Zehri 5	13,97	14,26	14,55	14,26 ± 0,29
Arı Zehri 6	10,43	10,46	10,51	10,47 ± 0,040

HPLC cihazı ile melittin, apamin ve fosfolipaz A2 içeriklerine ek olarak arı zehirlerinin şeker oranları da analiz edildi. Numunelerde şeker oranını ölçmek için fruktoz, glikoz, sakkaroz, turanoz, maltoz, trehaloz, izomaltoz, erloz, melezitöz ve maltotrioz analizleri yapıldı. Hiçbir arı zehri numunesinde maltoz ve trehaloz tespit edilmedi.

Glikoz tayni sonucunda arı zehirlerindeki glikoz miktarları %1,4 – 13,7 aralığında bulundu (Çizelge 4.6). Yapılan çalışma ile arı zehri numunelerindeki glikoz miktarları arasında büyük farklar olduğu belirlendi. En yüksek glikoz içeriğine arı zehri 5 sahipken en düşük glikoz içeriği ise arı zehri 1'dedir.

Çizelge 4.6. Arı zehirlerinin (%) glikoz içeriği.

Numune	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	Ortalama
Arı Zehri 1	1,5	1,4	1,6	1,5 ± 0,100
Arı Zehri 2	4,5	4,5	4,7	4,6 ± 0,115
Arı Zehri 3	2,3	2,2	2,2	2,2 ± 0,058
Arı Zehri 4	2,6	2,4	2,5	2,5 ± 0,100
Arı Zehri 5	13,4	13,4	13,7	13,5 ± 0,173
Arı Zehri 6	7,5	7,7	7,5	7,6 ± 0,115

Fruktoz tayni sonucunda arı zehirlerindeki fruktoz miktarları %1,1 – 16,2 aralığında bulundu (Çizelge 4.7). Yapılan çalışma ile arı zehri numunelerindeki fruktoz miktarları arasında büyük farklar olduğu belirlendi.

Çizelge 4.7. Arı zehirlerinin (%) fruktoz içeriği.

Numune	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	Ortalama
Arı Zehri 1	1,5	1,1	1,1	1,2 ± 0,231
Arı Zehri 2	6,1	5,8	5,9	5,9 ± 0,153
Arı Zehri 3	4,2	4,1	3,9	4,1 ± 0,153
Arı Zehri 4	3,2	3,2	3,5	3,3 ± 0,173
Arı Zehri 5	16,2	16,2	15,9	16,1 ± 0,173
Arı Zehri 6	11,5	11,7	11,6	11,6 ± 0,100

Sakkaroz tayini sonucunda numunelerdeki miktarlar %0,0 – 1,3 aralığında bulundu (Çizelge 4.8). Analiz sonucunda bazı numunelerde sakkaroz içeriğine rastlanmadı.

Çizelge 4.8. Arı zehirlerinin (%) sakkaroz içeriği.

Numune	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	Ortalama
Arı Zehri 1	0,0	0,0	0,1	0,0 ± 0,058
Arı Zehri 2	0,0	0,0	0,0	0,0 ± 0,000
Arı Zehri 3	1,0	1,1	1,3	1,1 ± 0,153
Arı Zehri 4	1,1	1,2	1,2	1,2 ± 0,058
Arı Zehri 5	0,3	0,2	0,5	0,3 ± 0,153
Arı Zehri 6	0,2	0,2	0,4	0,3 ± 0,115

Çizelge 4.3, 4.4 ve 4.5'te yer alan melittin, apamin, fosfolipaz analiz sonuçları, Minitab19 kullanılarak %95 anlamlılık düzeyinde normallik ve iki yönlü ANOVA/Tukey testi ile değerlendirildi. Test sonucu ve gruplandırma Çizelge 4.9'da verilmiştir. Melitin, apamin, fosfolipaz değerleri bakımından Arı Zehri 1, 3 ve 4 birbirine benzer ve istenilen düzeyde kabul edilebilirken, geri kalanı istenilen değerlerin dışındadır.

Çizelge 4.9. Melittin, apamin, fosfolipaz A2 için ANOVA/Tukey sonuçları.

Numune	Arı Zehri 1	Arı Zehri 2	Arı Zehri 3	Arı Zehri 4	Arı Zehri 5	Arı Zehri 6
Melitin	43,69 ^a	26,76 ^{ab}	43,17 ^a	42,06 ^a	14,97 ^b	31,16 ^{ab}
Apamin	1,87 ^a	1,40 ^{ab}	2,28 ^a	1,98 ^a	0,86 ^b	1,35 ^{ab}
Fosfolipaz	12,18 ^a	9,27 ^{ab}	14,81 ^a	11,51 ^a	14,26 ^b	10,47 ^{ab}

¹Her özellik için satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık vardır (P<0.05).

Çizelge 4.6, 4.7 ve 4.8'de yer alan glikoz, fruktoz ve sakkaroz analiz sonuçları, Minitab19 kullanılarak %5 hata oranı ile normallik ve iki yönlü ANOVA/Tukey testine tabii tutuldu. Test sonucu ve gruplandırma Çizelge 4.10'da verilmiştir. Test sonucunda glikoz, fruktoz ve sakkaroz değerler açısından arı zehri 1, 3 ve 4 arasında önemli bir fark olmadığı görüldü. Arı zehri 5'in en yüksek glikoz ve fruktoz değerine sahip olduğu görüldü.

Çizelge 4.10. Glikoz, fruktoz, sakkaroz için ANOVA/ Tukey sonuçları.

Numune	Arı Zehri 1	Arı Zehri 2	Arı Zehri 3	Arı Zehri 4	Arı Zehri 5	Arı Zehri 6
Glikoz	1,5 ^c	4,6 ^{bc}	2,2 ^c	2,5 ^c	13,5 ^a	7,6 ^{ab}
Fruktoz	1,2 ^c	5,9 ^{bc}	4,1 ^c	3,3 ^c	16,1 ^a	11,6 ^{ab}
Sakkaroz	0,0 ^c	0,0 ^{bc}	1,1 ^c	1,2 ^c	0,3 ^a	0,3 ^{ab}

¹Her özellik için satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık vardır (P<0.05).

Arı zehirlerinde yapılan kimyasal analizler değerlendirildi. Analizler sonucunda, altı arı zehri numunesinin ortalama melittin oranı %33,64 olarak bulundu. Yapılan bir çalışmada melittin içeriği Avrupa arı zehri için %29,6 ve Afrika kökenli arı zehri örnekleri için %25,5 olarak bulunmuştur [156]. Bu bağlamda, numune olarak kullanılan arı zehirlerinin melittin içeriği Avrupa ve Afrika kökenli arı zehirlerine nispeten daha yüksektir. Romanya'dan toplanan 5 arı zehri örneğinin analiz edildiği başka bir çalışmada, melittin içeriği %27,66 ile %64,22 arasında değişerek ortalama olarak %58,45 bulunmuştur [157]. Romanya çalışmasına kıyasla, çalışmada kullanılan arı zehirlerinin ortalama melittin içeriği daha azdır. Arı zehirlerinin içeriğindeki bu farklılıklar farklı arı türleri yüzünden

kaynaklanabilmektedir [156].

Afrika bal arısı ile yapılan bir çalışmada zehir profili araştırılmış ve zehirdeki ortalama fosfolipaz A2 içeriği %12,2 olarak bulunmuştur [158]. Bu çalışma kapsamında 6 farklı arı zehri numunesinde ortalama fosfolipaz A2 içeriği bu değere yakın çıktı. Ancak Romanya'dan toplanan 5 arı zehri örneğinin incelendiği bir başka çalışmada, örneklerin fosfolipaz A2 içeriği, ortalama içeriği %15,13 olmak üzere %10,96 - 22,86 aralığında bulunmuştur, bu çalışmaya oranla çalışmadaki zehir numuneleri Romanya'daki bazı zehirlerden yüksek olmasına rağmen ortalama değere kıyasla daha az bulundu [157].

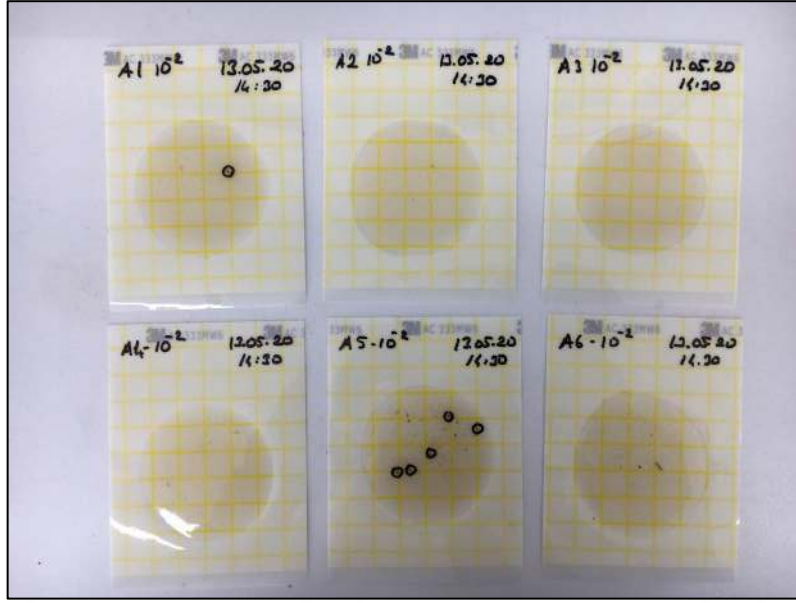
Arı zehri numunelerinin apamin miktarları Kuzeydoğu Portekiz'de yapılan bir çalışmayla kıyaslandığında Romanya'daki çalışmaya oranla daha yakın değerler olduğu görüldü [159, 157]. Zehir içeriklerindeki bu farkın zehirlerin üretim mevsimindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir çünkü toplam protein miktarı böcek yaşına göre değişiklik göstermektedir. Zehir çıkarma için yaz ve kış aylarında 7, 14, 21, 28, 35 ve 40 günlük *Apis mellifera* L. işçi zehir bezlerinin toplam protein içeriğini analiz eden bir çalışmada, sonuçlar yaşlı işçilerin zehir çıkarmasının daha yüksek olduğunu göstermiştir [160].

Arı zehirleri için en önemli bileşenlerden birisi olan mellitin standarda göre karşılaştırıldı ve düşük mellitin içeriğine sahip zehirlerin krem yapımında kullanılmamasına karar verilirken mellitin oranı yüksek olanlardan tercih yapıldı. TS 13126 Bal Arısı Zehri standardıyla karşılaştırıldığında melittinin %40 ile %50 arasında bir değere sahip olması gerektiği için arı zehri 2 (%26,76), 5 (%14,97) ve 6 (%31,16) limit değerler dışında kaldığı için kullanılmamasına karar verildi [151]. Mellitin açısından yüksek içeriğe sahip olan 1 (%43,69), 3 (%43,17) ve 4 (%42,96) numaralı zehir örneklerin kremlerde kullanılabileceği sonucuna varıldı. Zehirlerin apamin içerikleri de standartla karşılaştırıldı ve %0,86 – 2,28 arasında değerlere göre apamin açısından 5 numaralı zehir hariç hepsinin uygun olduğu görüldü. Fosfolipaz A2 açısından ise 2 numaralı zehir limit değerlerin altında kalırken diğer zehirler uygun olarak kabul edildi. Bu sebeple mellitin içeriğine göre uygun olan zehirler diğerler bileşenler için de uygun çıkarak 1,3 ve 4 numaralı zehirlerin kremlerde kullanılabilesinin uygunluğu kabul edildi. Arı zehirlerinin şeker içerikleri ise birbirlerinden çok farklı oranlarda çıktığı gözlemlendi. Zehirlerin şeker içerikleri açısından değerlendirilmesinde standarda göre glikoz ve fruktoz toplamı %2 ile %6 arasında olmalıdır. Bu açıdan incelendiğinde 2, 5 ve 6 numaralı zehirleri %6'dan daha fazla bulundu. Arı zehri 1'deki bileşenlerin oranları melittin

%43,69, apamin %1,87 ve fosfolipaz A2 %12,18 şeklindedir. Glikoz miktarı %1,5 ve fruktoz miktarı ise %1,2'dir. Arı zehri 1 sakkaroz içermemektedir. Arı zehri 3'ün içerdiği aktif maddeler olarak %43,17 mellitin, %2,28 apamin, %14,81 fosfolipaz A2 içermektedir. Şeker içeriği ise %2,2 glikoz, %4,1 fruktoz ve %1,1 sakkaroz içermektedir. Arı zehri 4 ise tipik toz formunda, açık sarı renkte ve %9,26 nem içeriğine sahiptir. İçeriğindeki mellitin oranı %42,06 (%40-%50), apamin oranı %1,98 (%1-%3) ve fosfolipaz A2 oranı %11,52 (%10 - %12) ile arı zehrinde olması gereken miktarlara uygundur. Arı zehri 4 içerisinde %2,5 glikoz, %3,3 fruktoz ve %1,2 sakkaroz içermektedir. Yapılan analizler ile kremler için seçilecek zehirlerde ilk olarak farmakolojik olarak aktif maddeler olan mellitin, apamin ve fosfolipaz A2 göz önünde tutuldu. Bu kapsamda mellitin oranı en yüksek ve diğer bileşenler açısından da standarda uygun değerleri içeren 1, 3 ve 4 numaralı zehirlerinin kullanılmasına karar verildi. Bütün zehirleri için mikrobiyolojik analiz yapılırken kremlerde kullanılması için seçilen zehirlerin mikrobiyolojik içerikleri sonraki bölümde anlatıldığı şekilde incelenerek en uygun olanı seçildi.

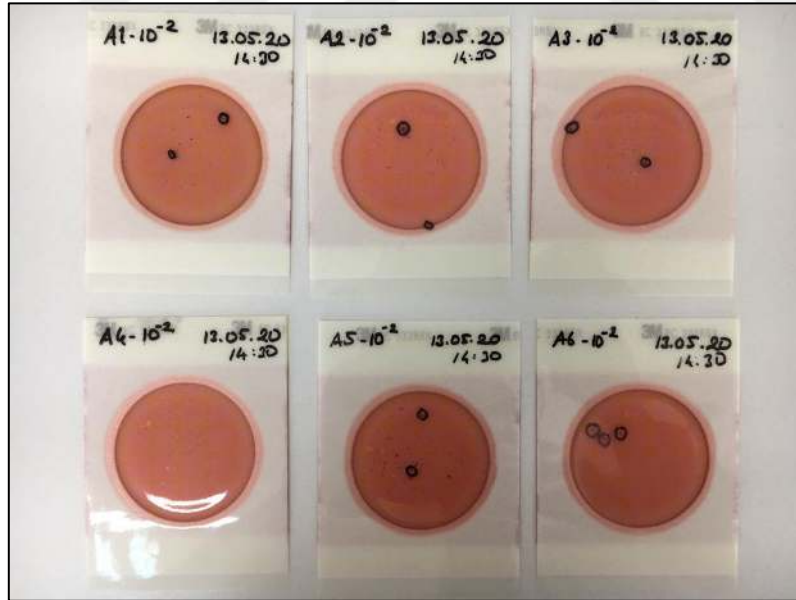
4.3. ARI ZEHRİNDE MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER

Krem ürünlerinde kullanılacak arı zehirlerinde toplam aerobik mezofilik, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, toplam küf ve maya gibi mikroorganizmaların varlığı raf ömrü ve kalite kriterleri açısından önem arz etmektedir. Bu nedenle bu mikroorganizmaların mikrobiyolojik analizi sonucu kob/g cinsinden verilerek arı zehirlerinin mikrobiyolojik uygunluğu incelendi. Arı zehirlerinde yapılan toplam aerobik mezofilik bakteri sayımında Şekil 4.7'de görüldüğü üzere arı zehri 2 (A2), arı zehri 3 (A3), arı zehri 4 (A4) ve arı zehri 6 (A6)'da herhangi bir gelişme gözlenmedi. Arı zehri 1 (A1)'de 1×10^2 ve arı zehri 5 (A5)'te 5×10^2 kog/g mikrobiyal gelişme gerçekleşti.



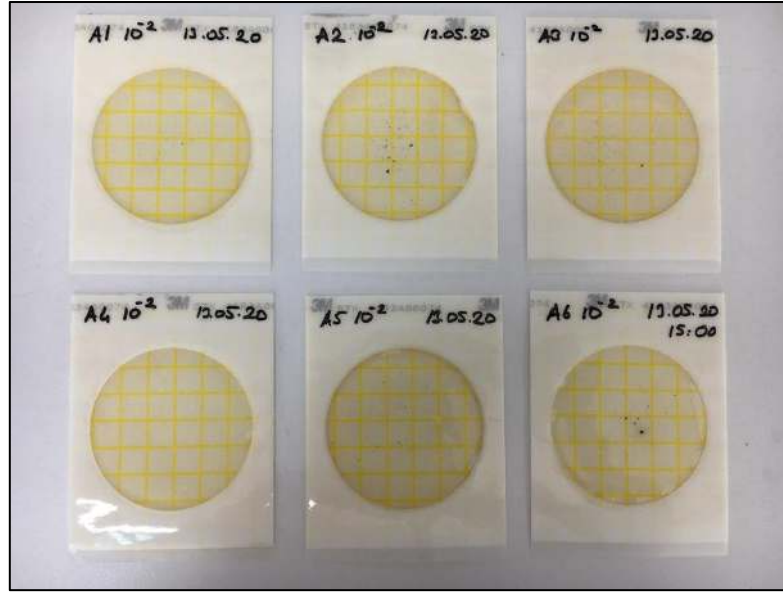
Şekil 4.7. Arı zehirlerinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı sonuçları.

Altı arı zehri numunesi üzerinde yapılan *E.coli* testi sonucunda elde edilen görünüm şekil 4.8’de gösterilmiştir. Arı zehirlerinde gerçekleştirilen *E. coli* sayımlarında arı zehri 1, arı zehri 2, arı zehri 3 ve arı zehri 5’te 2×10^2 kob/g mikrobiyal gelişme gözlenir iken arı zehri 4’te mikrobiyal gelişme gözlenmedi. Arı zehri 6’da 3×10^2 kob/g sayım yapıldı.



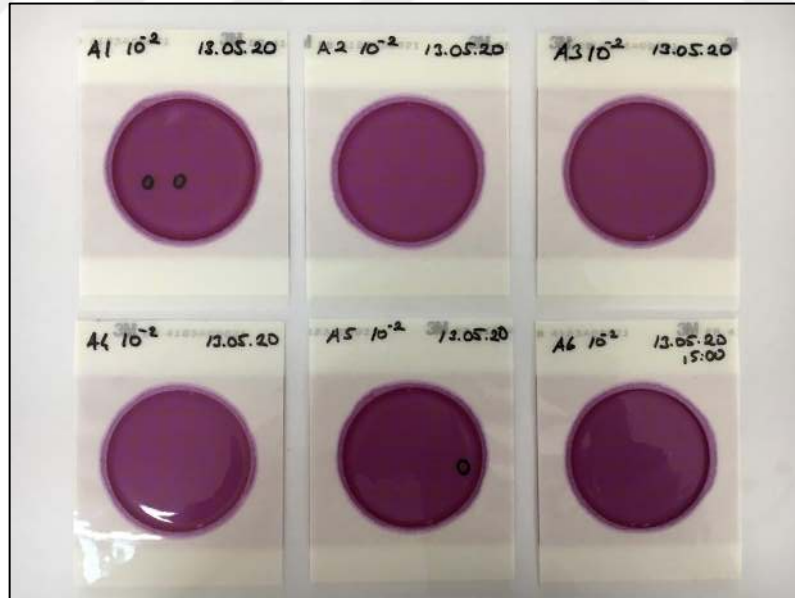
Şekil 4.8.Arı zehirlerinde *E. coli* sayımı sonuçları.

Arı zehri numunelerinde gerçekleştirilen *Staphylococcus aureus* sayımı sonuçları Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Altı arı zehri numunesinde de herhangi bir mikrobiyal gelişme tespit edilmedi.



Şekil 4.9. Arı zehirlerinde *Staphylococcus aureus* sayımı sonuçları.

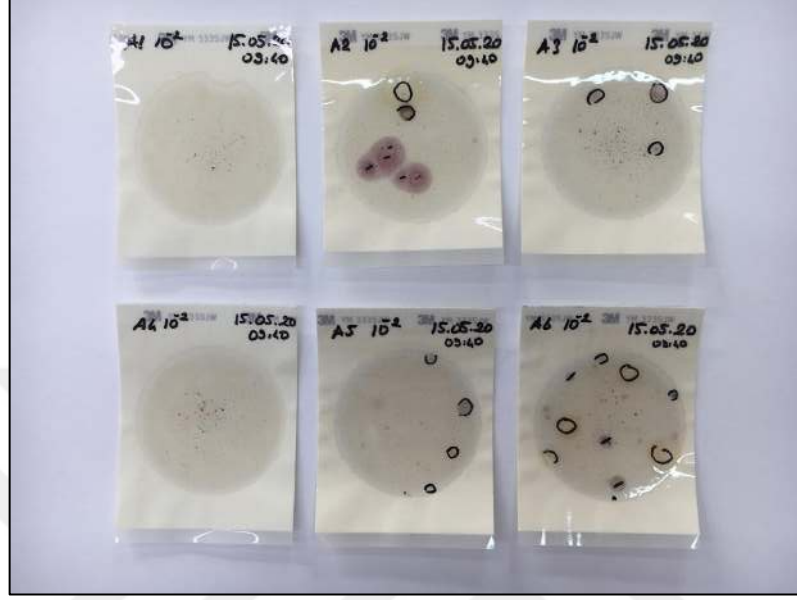
Altı adet arı zehri için yapılan *Candida albicans* sayımı analiz sonuçları Şekil 4.10'da gösterildiği gibi bulundu. En fazla gelişme 2×10^2 kob/g ile arı zehri 1'de gerçekleşirken arı zehri 5'te ise 1×10^2 kob/g mikrobiyal gelişme gözlemlendi. Arı zehri 2, arı zehri 3, arı zehri 4 ve arı zehri 6'da herhangi bir gelişme gerçekleşmedi.



Şekil 4.10. Arı zehirlerinde *Candida albicans* sayımı sonuçları.

Arı zehirlerinde yapılan toplam küf ve maya sayımı analizinde Şekil 4.11'de görülen sonuçlar elde edildi. Arı zehri 1 ve arı zehri 4 ile yapılan ekim sonucunda herhangi bir küf ve maya gelişimi gözlemlenmedi. Arı zehri 2'de 2×10^2 kob/g küf gelişirken aynı zamanda 5×10^2 kob/g maya gelişmesi tespit edildi, arı zehri 3'te ise toplam küf 1×10^2 kob/g ve

toplam maya 2×10^2 kob/g olarak sayıldı. Arı zehri 5 ile yapılan sayım sonucunda küf ve maya için sırasıyla 1×10^2 kob/g ve 4×10^2 kob/g sonuçlarına varıldı. 7×10^2 kob/g küf ve 6×10^2 kob/g maya gelişmesi gösteren arı zehri 6'da en çok küf ve maya gelişmesi tespit edildi.



Şekil 4.11. Arı zehirlerinde toplam küf ve maya sayımı sonuçları.

Altı arı zehri için gerçekleştirilen toplam aerobik mezofilik bakteri, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve toplam küf ve maya sayımı sonuçları Çizelge 4.11'da gösterildiği şekildedir. Arı zehirlerinde gerçekleştirilen kimyasal analizler sonucunda arı zehri 1, arı zehri 3 ve arı zehri 4 krem üretimi için uygun bulundu. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda arı zehri 1'de aerobik mezofilik bakteri, *E. coli* ve *Candida albicans*; arı zehri 3'te ise *E.coli*, küf ve maya gelişimi gözlemlendiği için krem üretimi için uygun bulunmadı. Arı zehri 4'te ise mikrobiyolojik analizler sonucunda herhangi bir mikrobiyal gelişme gözlenmedi, bu sebeple krem formülasyonlarında arı zehri 4'ün kullanılmasına karar verildi.

Çizelge 4.11. Arı zehirlerinde mikrobiyolojik analiz sonuçları.

Numune	Toplam Aerobik Mezofilik (kob/g)	<i>E.coli</i> (kob/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (kob/g)	<i>Candida albicans</i> (kob/g)	Toplam Küf (kob/g)	Toplam Maya (kob/g)
Arı Zehri 1	1×10^2	2×10^2	0	2×10^2	0	0
Arı Zehri 2	0	2×10^2	0	0	2×10^2	5×10^2
Arı Zehri 3	0	2×10^2	0	0	1×10^2	2×10^2
Arı Zehri 4	0	0	0	0	0	0
Arı Zehri 5	5×10^2	2×10^2	0	1×10^2	1×10^2	4×10^2
Arı Zehri 6	0	3×10^2	0	0	7×10^2	6×10^2

4.4. KREM FORMÜLASYONU

Arı zehirlerinde yapılan fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler değerlendirilerek krem üretimi için en uygun zehir olan “Arı Zehri 4” seçildi. Yüz, el, ayak ve vücut kremi formülasyonları Faz A, Faz B ve Faz C olarak üç fazdan oluşmaktadır. Eklem kremi ise Faz A ve Faz B olmak üzere iki faz içermektedir. Faz A’da çözücü madde, nemlendirici, viskozite kontrolü ve etken maddeler bulunmaktadır. B fazında emülsifiyer, yumuşatıcı, cilt bakımı sağlayıcılar ve vitaminler bulunmaktadır. Faz C ise koruyucu madde ve parfüm içermektedir. Krem formülasyonlarında etken madde olarak arı zehri ve yardımcı etken maddeler olarak arı sütü ve bal kullanıldı. Çözücü madde olarak bütün formülasyonlarda deiyonize su kullanılırken nemlendirici olarak da gliserin tercih edildi. Tüm formülasyonlarda etken madde olarak arı zehri %0,1 ve yardımcı etken maddeler olarak arı sütü %1 ve bal %0,45 oranlarında, koruyucu olarak ise propolis %0,3 oranında ve parfüm olarak %1 oranında yasemin yağı kullanıldı. Kremler için duyusal kontrolde uygun çıkan ve 10 gönüllü üzerinde yapılan testlerden en çok puan alan ve karşılaştırma testi sonucuna göre uygun çıkan formülasyonlar seçildi. Çizelge 4.12’deki gönüllüler üzerinde yapılan test sonuçlarına göre 9 farklı yüz kremi formülasyonu sürülebilme, kıvam ve koku gibi çeşitli parametrelere göre değerlendirildi. Gönüllü testi sonucunda bu formülasyonlar arasından 72 puan ile en yüksek puanı alarak yüz kremi prototipi için 1. Formülasyon seçildi.

Çizelge 4.12. Yüz krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.

Parametre	Ortalama Sonuçlar								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Sürülebilme	8	6	5	7	5	9	8	6	6
Kıvam	6	7	4	5	8	6	7	7	5
Görünüş	9	9	8	9	9	9	9	8	9
Kaşıntı (0 var, 10 yok)	10	10	9	10	9	9	10	8	10
Kızarıklık (0 var, 10 yok)	10	10	10	10	10	9	10	10	10
Sıkılaştırıcı Etki	9	6	7	8	9	7	6	6	7
Koku	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pürüzlülük (0 var, 10 yok)	10	9	9	8	8	9	10	10	9
Toplam	72	67	62	67	68	68	70	65	66

Seçilen yüz kremi formülasyonunda nemlendirici olarak gliserin %2, emülsifiyer olarak stearyl alkol %3 ve akoline GC %3 oranında bulunmaktadır. Viskozite kontrolü için keçiboynuzu zankı, yumuşatıcı olarak ise Lipex Shealight (%7) ve jojoba yağı (%2) kullanıldı. Formülasyonda etken madde olarak ek olarak E vitamini ilave edildi. Yüz kremi yumuşak bir formdadır ve kullanılan bileşenlerin oranları izelge 4.13’de görüldüğü şekildedir.

Çizelge 4.13. Yüz kremi için son formülasyon (1. Formülasyon).

Hammadde Ticari İsmi	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI)	Fonksiyon	% (Yüzde)
FAZ A			
Deiyonize Su	Aqua	zc Madde (Solvent)	79,40
Keçiboynuzu Zankı	Ceratonia Siliqua Gum	Viskozite Kontrolü	0,25
Gliserin	Glycerin	Nemlendirici	2,00
Arı Sütü	Royal Jelly Extract	Etken Madde (Aktif)	1,00
Bal	Honey	Etken Madde (Aktif)	0,45
Arı Zehri	Bee Venom	Etken Madde (Aktif)	0,10
FAZ B			
Stearil Alkol	Cetearyl Alcohol	Emülsifiyer	3,00
Akoline GC	Hydrogenated Vegetable Glycerides Citrate	Yumuşatıcı Emülsifiyer Cilt Bakımı Dengeleyici	3,00
Lipex Shealight	Shea Butter Ethyl Esters	Yumuşatıcı Cilt Bakımı	7,00
Jojoba Yağı	Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil	Yumuşatıcı	2,00
E Vitamini	Tocopherol	Etken Madde (Aktif)	0,50
FAZ C			
Propolis Ekstraktı	Propolis Extract	Koruyucu	0,30
Yasemin Yağı	Jasminum Officinale (Jasmine) Oil	Parfüm	1,00
Toplam:			100,00

Vücut kremi için deneme formülasyonları arasından yapılan gönüllü testleri sonucunda izelge 4.14’de görüleceği üzere en yüksek puanı alan ve duyuşal testten de başarılı olan 2. Formülasyon seçildi.

Çizelge 4.14. Vücut krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.

Parametre	Ortalama Sonuçlar								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Sürülebilme	9	9	8	8	7	9	8	8	8
Kıvam	10	10	9	9	8	10	9	9	9
Görünüş	9	10	9	9	10	10	10	9	10
Kaşıntı (0 var, 10 yok)	10	10	10	10	10	10	9	10	9
Kızarıklık (0 var, 10 yok)	8	9	9	9	8	8	10	9	8
Sıkılaştırıcı Etki	9	10	8	9	10	9	9	8	10
Koku	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pürüzlülük (0 var, 10 yok)	10	10	9	9	8	10	9	9	9
Toplam	75	78	72	73	71	76	74	72	73

Vücut kremi formülasyonunda nemlendirici olarak gliserin %2, emülsifiyer olarak stearil alkol %3 ve akoline GC %5 oranında kullanıldı. Viskozite kontrolü için keçiyoynuzu zamkı, yumuşatıcı olarak ise Lipex Shealight (%5) ve jojoba yağı (%2) kullanıldı. Formülasyonda etken maddelere ek olarak E vitamini ilave edildi ve yumuşak bir formülasyon elde edildi. Vücut kremi için seçilen formülasyon ve bileşen oranları Çizelge 4.15’de verildiği gibidir.

Çizelge 4.15. Vücut kremi için son formülasyon (2. Formülasyon).

Ham madde Ticari İsmi	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI)	Fonksiyon	% (Yüzde)
FAZ A			
Deiyonize Su	Aqua	Çözücü Madde (Solvent)	77,40
Keçiyoynuzu Zamkı	Ceratonia Siliqua Gum	Viskozite Kontrolü	0,25
Gliserin	Glycerin	Nemlendirici	2,00
Arı Sütü	Royal Jelly Extract	Etken Madde (Aktif)	1,00
Bal	Honey	Etken Madde (Aktif)	0,45
Arı Zehri	Bee Venom	Etken Madde (Aktif)	0,10

Çizelge 4.15. (devam) Vücut kremi için son formülasyon (2. Formülasyon).

FAZ B			
Stearil Alkol	Cetearyl Alcohol	Emülsifiyer	3,00
Akoline GC	Hydrogenated Vegetable Glycerides Citrate	Yumuşatıcı Emülsifiyer Cilt Bakımı Dengeleyici	5,00
Lipex Shealight	Shea Butter Ethyl Esters	Yumuşatıcı Cilt Bakımı	5,00
Jojoba Yağı	Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil	Yumuşatıcı	4,00
E Vitamini	Tocopherol	Etken Madde (Aktif)	0,50
FAZ C			
Propolis Ekstraktı	Propolis Extract	Koruyucu	0,30
Yasemin Yağı	Jasminum Officinale (Jasmine) Oil	Parfüm	1,00
Toplam:			100,00

Ayak kremi için yapılan gönüllü ve duyuşal testler sonucunda en yüksek puanı alan 1. Formülasyonun kullanılmasına karar verildi (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Ayak krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.

Parametre	Ortalama Sonuçlar								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Sürülebilme	10	9	10	7	8	8	7	9	8
Kıvam	10	9	10	9	7	8	9	8	9
Görünüş	10	9	10	8	6	7	9	8	7
Kaşıntı (0 var, 10 yok)	10	10	9	10	9	10	10	9	10
Kızarıklık (0 var, 10 yok)	10	10	9	10	10	9	9	9	10
Sıkılaştırıcı Etki	6	3	2	5	3	3	3	4	5
Koku	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pürüzlülük (0 var, 10 yok)	10	10	8	8	9	10	8	8	9
Toplam	76	70	68	67	62	65	65	65	68

Ayak kremi için seçilen formülasyonda nemlendirici olarak gliserin %3, emülsifiyer olarak %8 oranında bentonit kullanıldı. Viskozite kontrolü için NaCl, yumuşatıcı olarak ise jojoba (%4) ve shea yağları (%12) içermektedir. Orta kıvamda bir formülasyon oluşturuldu ve ayak formülasyon bileşen oranları Çizelge 4.17'deki gibidir.

Çizelge 4.17. Ayak kremi için son formülasyon (1. Formülasyon).

Hammadde Ticari İsmi	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI)	Fonksiyon	% (Yüzde)
FAZ A			
Deiyonize Su	Aqua	Çözücü Madde (Solvent)	69,60
Gliserin	Glycerin	Nemlendirici	3,00
NaCl	Sodium Chloride	Viskozite Kontrolü	0,50
Arı Sütü	Royal Jelly Extract	Etken Madde (Aktif)	1,00
Bal	Honey	Etken Madde (Aktif)	1,00
Arı Zehri	Bee Venom	Etken Madde (Aktif)	0,10
FAZ B			
Bentonit	Bentonite	Emülsifiyer	8,00
Jojoba Yağı	Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil	Yumuşatıcı	4,00
Shea Yağı	Butyrospermum Parkii (Shea Butter)	Yumuşatıcı Cilt Bakımı	12,00
FAZ C			
%15 Propolis	Propolis Extract	Koruyucu	0,30
Yasemin Yağı	Jasminum Officinale (Jasmine) Oil	Parfüm	0,50
Toplam:			100,00

Çizelge 4.18'de verilmiş el kremi için yapılmış olan gönüllü testleri sonucuna göre diğerlerine oranla 77 puan alarak en yüksek puanı alan 3. Formülasyon krem yapımı seçildi.

Çizelge 4.18. El krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.

Parametre	Ortalama Sonuçlar								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Sürülebilme	9	9	9	8	10	9	9	8	9
Kıvam	8	7	9	8	9	9	10	7	9
Görünüş	9	8	9	8	7	9	10	8	9
Kaşıntı (0 var, 10 yok)	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Kızarıklık (0 var, 10 yok)	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Sıkılaştırıcı Etki	9	9	10	8	10	9	8	10	8
Koku	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pürüzlülük	10	10	10	10	9	10	9	9	9
Toplam	75	73	77	72	75	76	76	72	74

El kremi için seçilen formülasyonda nemlendirici olarak gliserin %3, emülsifiyer olarak %7 oranında bentonit kullanıldı. Viskozite kontrolü için NaCl kullanılırken, yumuşatıcı olarak ise jojoba (%5) ve shea yağları (%12) içermektedir. El kremi de ayak kremi gibi orta kıvamlı bir formülasyona sahiptir ve el formülasyon bileşen oranları Çizelge 4.19’da görüldüğü şekilde oluşturuldu.

Çizelge 4.19. El kremi için son formülasyon (3. Formülsyon).

Ham madde Ticari İsmi	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI)	Fonksiyon	% (Yüzde)
FAZ A			
Deiyonize Su	Aqua	Çözücü Madde (Solvent)	69,60
Gliserin	Glycerin	Nemlendirici	3,00
Arı Sütü	Royal Jelly Extract	Etken Madde (Aktif)	1,00
NaCl	Sodium Chloride	Viskozite Kontrolü	0,50
Bal	Honey	Etken Madde (Aktif)	1,00
Arı Zehri	Bee Venom	Etken Madde (Aktif)	0,10
FAZ B			
Bentonit	Bentonite	Emülsifiyer	7,00
Jojoba Yağı	Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil	Yumuşatıcı	5,00
Shea Yağı	Butyrospermum Parkii (Shea Butter)	Yumuşatıcı Cilt Bakımı	12,00

Çizelge 4.19. (devam) El kremi için son formülasyon (3. Formülasyon).

FAZ C			
%15 Propolis	Propolis Extract	Koruyucu	0,30
Yasemin Yağı	Jasminum Officinale (Jasmine) Oil	Parfüm	0,50
Toplam:			100,00

Eklem kremi için gerçekleştirilen gönüllü testi sonuçlarına göre, Çizelge 4.20, en yüksek puanı alan 1. Formülasyon seçilerek eklem kremi prototip üretimine geçildi.

Çizelge 4.20. Eklem krem formülasyonları gönüllü testi sonuçları.

Parametre	Ortalama Sonuçlar								
	1. Formül	2. Formül	3. Formül	4. Formül	5. Formül	6. Formül	7. Formül	8. Formül	9. Formül
Sürülebilme	10	10	8	7	8	9	9	8	7
Kıvam	7	5	8	4	7	6	4	5	5
Görünüş	8	8	9	5	6	5	6	7	7
Kaşıntı (0 var, 10 yok)	10	10	10	9	8	9	8	10	10
Kızarıklık (0 var, 10 yok)	10	9	10	10	9	7	8	9	10
Sıkılaştırıcı Etki	6	4	4	5	3	4	3	3	3
Koku	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pürüzlülük (0 var, 10 yok)	10	9	9	8	9	7	9	8	8
Toplam	71	65	68	58	60	57	57	60	60

Eklem kremi için seçilen formülasyonda viskozite kontrolü için %14 oranında bal mumu, yumuşatıcı olarak ise shea yağı (%20) ve zeytinyağı (%58,5) içermektedir. Krem formülasyonları içerisinde en yoğun kıvama sahip olan eklem kreminin içerik bilgileri Çizelge 4.21’de görüldüğü şekildedir.

Çizelge 4.21. Eklem kremi için son formülasyon (1. Formülasyon).

Hammadde Ticari İsmi	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI)	Fonksiyon	% (Yüzde)
FAZ A			
Bal Mumu	Beeswax	Viskozite Kontrolü	14,10
Shea Yağı	Butyrospermum Parkii (Shea Butter)	Yumuşatıcı Cilt Bakımı	20,00

Çizelge 4.21. (devem) Eklem kremi için son formülasyon (1. Formülasyon).

Arı Sütü	Royal Jelly Extract	Etken Madde (Aktif)	1,00
Zeytin Yağı	Olea Europaea (Olive) Oil	Yumuşatıcı	58,50
Bal	Honey	Etken Madde (Aktif)	5,00
Arı Zehri	Bee Venom	Etken Madde (Aktif)	0,10
FAZ B			
Propolis Ekstraktı	Propolis Extract	Koruyucu	0,50
Yasemin Yağı	Jasminum Officinale (Jasmine) Oil	Parfüm	1,00
Toplam:			100,00

Gönüllü testleri sonucunda seçilen krem formülasyonları için aynı formülasyonda yeni kremler hazırlanarak arasındaki farklılıklar incelendi. Bir aylık kullanılan ve yeni üretilmiş formülasyonlar duyuşal karşılaştırıldığında bir aylık kullanımdan sonra herhangi bir değişim gözlenmedi. Böylece gönüllü testi sonucunda seçilen formülasyonların kullanımına karar verildi. Karar verilen formülasyonlar ile arı zehrinin antiinflatuar ve ağrı kesici etkilerinden yararlanılarak ayrıca balm kıvamından dolayı yüzeyde uzun süre kalıcı bir bariyer oluşturma özelliğinden de yararlanılarak el, ayak, yüz, vücut ve eklem kremleri oluşturmak üzere prototip ürünler geliştirilmeye başlandı.

Arı zehri kremlerinin içeriklerinin karşılaştırılması için arı ürünleri içerikli kremler incelendi. Yapılan bir çalışma kapsamında kozmetik formülasyonda emülsiyon bazına bal ve arı ürünleri katılarak formülasyonlar hazırlanmıştır. Emülsiyon bazı su, parafin, sıvı parafin, stearil alkol, laureth 4, sodyum hidroksit, karbomer, metil paraben ve propil parabenden oluşmaktadır. Bunlara ek olarak %5 ve %10 olarak çiçek ve orman balı, %2 ve %10 oranında gliserin-su-mel özü ve su-mel özü, %1 ve %3 oranında balmumu, %0,5 oranında arı sütü ve %1 oranında propolis eklenmiştir [161]. Öncelikle mevcut formülasyonda parafin, paraben ve karbomer gibi insan sağlığı için zararlı olabilecek bileşenler bulunmaktadır. Arı zehirli kremlerin içeriğinde bu tarz bileşenlere yer verilmediği gibi bütün krem formülasyonlarında tamamen doğal bileşenler kullanıldı. Ayrıca çalışma kapsamında emülsiyon bazına bal, balmumu, arı sütü ve propolis ayrı ayrı eklenmiştir. Arı zehirli kremlerde eklem kremi dışında bal, arı sütü ve propolis beraber kullanılırken eklem kreminde bal, arı sütü, propolis ve balmumu bir arada kullanılmıştır. Böylece tek başına etken madde görevi gören ve her birinin ayrı olarak cilt üzerindeki

etkilerinin kanıtlanmış olduğu arı ürünlerinin bir arada kullanılmasıyla sinerjik bir etki oluşturuldu. Çalışma kapsamında balın gliserinle beraber kullanılması nemlendirici özelliğin %60 oranında arttırmasını sağlamıştır [161]. Arı zehirli kremlerin bal içeriğinin mevcut formülasyondan daha düşük olmasına karşın kullanılan gliserinin oranının daha yüksek olması sebebiyle nemlendirici özelliğin yüksek olması muhtemeldir. Ayrıca çalışma ile daha yüksek konsantrasyonlarda arı ürünü içeren formülasyonların nemlendirme özelliğinin daha fazla olduğu; düşük konsantrasyonlu olanların ise dört saat maruziyet sonrasında tercih edilebilir olduğu görülmüştür [161]. Arı zehirli kremlerin içeriğinde daha düşük oranda bal ve propolis bulunurken balmumu ve arı sütü içeriği bakımından yüksek konsantrasyona sahiptir. Ek olarak arı zehri içermesi ile de kremlerin nemlendirici özelliğinin yüksek olduğu sonucuna varılabilir.

Başka bir çalışmada ise içeriğinde propolis bulunan krem, krem-jel ve jel formülasyonları geliştirilmiştir. Çalışma kapsamında iki farklı krem formülasyonu çalışılmış olup birinci formülasyonu %10 kendini emülsifiye edici mum, %1 izodesil oleat, %1 izopropil palmitat, %2 Macadamia yağı, %5 propilen glikol, %3 gliserol, %0,5 fenoksietanol ve parabenler ve %77,5 suya %2,5 oranında propolis ilavesiyle elde edilmiştir. İkinci formülasyon ise %8 kendini emülsifiye edici mum, %1,5 izodesil oleat, %1,5 izopropil palmitat, %5 propilen glikol, %3 gliserol, %0,5 fenoksietanol ve parabenler ve %80,5 suya %2,5 oranında propolis eklenerek oluşturulmuştur [162]. Propolis içerikli krem formülasyonlarında kullanılan fenoksietanol kremde koruyucu özellik göstermesi için kullanılmaktadır. Bu bileşen sentetik bir koruyucu olurken arı zehirli kremlerde fenoksietanol ve paraben gibi sentetik bileşenler kullanılmadı, koruyucu etkinlik arı zehri ve propolis tarafından doğal bileşenler ile sağlandı. Arı zehirli kremlere oranla propolis oranı yüksek bir krem formülasyonu geliştirilmiştir. Bu sebeple çalışma kapsamında kremin sağlamış olduğu antioksidan aktivite ve deriye nüfuz oranı propolis tarafından daha az sağlanmış olsa da arı zehri, bal ve arı sütü ile bu etkilere katkı sağlandı. Propolisli krem formülasyonu içerisinde cildin ihtiyaç duyduğu besin ve nemi sağlaması için gerekli bileşenler bulunmazken arı zehri kremlerin içeriğine çeşitli vitamin ve yağlar eklenerek cildin beslenmesine yardımcı oldu. Ayrıca propolise ilave olarak arı zehri, bal ve arı sütü ile kremlerin etkinliği arttırılarak çok yönlü bir kullanım alanı sağlandı.

Krem formülasyonlarının değerlendirilmesi için literatürdeki diğer arı zehri içeren formüller incelendiğinde yapılan bir çalışmada arı zehri serumu ile yaşlanmaya karşı bir etki sağlanmaya çalışılmıştır. Kırıksıklık karşıtı olan serumun içeriğinde %90 oranında su,

%6 bütlen glikol, %3 alkol, %0,3 polietilen glikol, %0,1 metil paraben, %0,08 sodyum sitrat, %0,055 koku, %0,05 etilendiamintetraasetik asit, %0,03 allantoin, %0,02 sitrik asit ve %0,006 arı zehri bulunmaktadır [65]. Serum formülasyonuna en yakın kıvamda yumuşak formdaki yüz ve vücut kremleri geliştirildi. Yumuşak formülasyonların içeriğinde %0,25 keçiyoynuzu zımkı, %2 gliserin, %3 stearyl alkol, %0,5 E vitamini, %1 koku, %0,3 propolis, %1 arı sütü, %0,45 bal ve %0,1 arı zehri kullanıldı. Yüz kremi için ayrıca %79,4 su, %3 akoline, %7 shea ve %2 jojoba yağı kullanılırken; vücut kremi için ise %77,4 su, %5 akoline, %5 shea ve %4 jojoba yağı kullanıldı. Serum ve yumuşak krem formülasyonları karşılaştırıldığında serumun içeriğinde polietilen glikol, metil paraben ve etilendiamintetraasetik asit gibi zararlı kimyasallar bulunmaktadır. Bu tür bileşenler ciltte zaman içinde hasara yol açarken aynı zamanda kanser riski taşımaktadırlar. Arı zehri kremlerinin içeriğinde bu tür bileşenler bulunmadığı gibi tamamen doğal bileşenler ile üretildi. Ayrıca serumun içeriğinde cilt için faydalı gliserin, E vitamini, shea ve jojoba yağı gibi cildin doğal yollardan beslenmesini sağlayacak etkenler kullanılmamıştır. Arı zehri kremlerinde zehrin etkisinin yanı sıra bu tür bileşenlerle cildin ihtiyaç duyduğu nem, besin ve bakım sağlandı. Arı zehri içerikli krem formülasyonunda daha yüksek bir etki için arı zehrine ek olarak propolis, arı sütü ve bal kullanıldı. Ek olarak arı zehri oranı serumda %0,006 iken kremlerde %0,1 oranında kullanıldı. Böylece kremlerin serumdan daha etkili olabileceği sonucuna varılabilir. %0,006'lık oran ile arı zehirli serumun kırıxıklıklar üzerindeki etkisinin kanıtlanması ile %0,1'lik kremin de kırıxıklıklar için etkili olabileceği ve yardımcı etken maddeler ile sadece kırıxıklıkla kalmayıp başka sorunlar karşısında da etkili olacağı söylenebilir. Aynı krem formülasyonu ile yapılan başka bir çalışmada serumun akne oluşumuna sebep olan mikroorganizma üzerinde inhibe edici bir özelliği olduğu doğrulanmıştır [163]. Bu çalışma baz alındığında içeriğindeki yüksek arı zehri ile vücut ve yüz kremlerinin de akne gelişimini önlediği sonucuna varılabilir.

Arı zehri içerikle krem patentleri incelendiğinde RU2163118C1 numaralı patentin %11,45 - %14,8 balmumu propolis, %0,5 dimetil sülfoksit, %5,25 - %5,5 yaban turpu tentürü, %3,8 propolis ekstrakt (Pegus), %0,002 - %4,17 arı tentürü veya arı zehri, %73,75 - %74,3 bitkisel yağlar ve %1,08 - %1,1 oranında kafur yağı bulunduran bir masaj kremi olduğu görüldü [164]. Patent içeriğinde bulunan dimetil sülfoksit (dimexide), analjezik ve antiseptik etkilere sahip olan bir ilaçtır. Bu sayede arı zehriyle beraber romatoid artrit ve osteoartroz durumunda masaj için kullanılmıştır. Buna karşın arı zehirli

krem kompozisyonu içerisinde hiçbir ilaç ve kimyasal kullanılmayarak bu etki başta arı zehri olmak üzere çeşitli arı ürünlerinin bir arada kullanılması ile sağlandı ve krem içerikleri tamamen doğal bileşenlerle hazırlandı. Patent içeriğinde olmayan ve arı zehirli krem formülleri kapsamında kullanılan etken maddelerden arı sütü ve bal ile anti inflamatuvar etki arttırılırken yara ve egzama gibi çeşitli cilt sorunlarına da etki sağlandı. Ayrıca arı zehirli krem kapsamındaki çeşitli yağlar, gliserin ve E vitamini ile cildin doğal bir şekilde nemlendirilmesi ve beslenmesi sağlandı.

İncelenen US20120128784A1 numaralı başka bir paten kapsamında sivilceye sebep olan bakteriye karşı antibakteriyel aktivite gösteren ve akne oluşumunu önlemek ve tedavi etmek için bir formülasyon geliştirilmiştir. Arı zehri içerikli krem formülasyonlarında arı zehri, sitosterol, polygliserin 2-oleate, seramit, stearat, kolesterol, disetil fosfat, gliserin, ayçiçeği yağı, korboksivinil polimer, ksantan gum, trietanolamin, parfüm ve su bulunmaktadır. Patent kapsamında nemlendirici olarak trietanolamin kullanılmıştır [165]. Kremlerde nemlendirici özelliği için kullanılan bu bileşiğin kanserojen etkisi olduğu bilinmektedir. Öte yandan arı zehirli kremlerde bu tür kanserojenlere yer verilmeyerek nemlendirme etkisi gliserin ve doğal yağlar ile sağlandı. Ayrıca patent kapsamında olmayıp arı zehri kremlerde bulunan etken maddelerden propolis, arı sütü ve bal ile diğer cilt sorunlarına çözüm sağlanırken çeşitli yağ, E vitamini ve balmumu ile arı zehrinin etkilerine ek olarak cildin ihtiyaç duyduğu bileşenler sağlandı.

Yapılan RU2180836C1 numaralı başka bir çalışmada içeriğinde arı zehri, propolis, bal ve balmumu bulunan bir anti sklerotik krem formülasyonu geliştirilmiştir. Patent içeriğinde %0,0001-0,0002 oranında arı zehri, %5-6 propolis mumu ve %3,5 propolis ekstraktı, %20-24 bal, %0,4 polen ekstraktı, %8 balmumu, %12 lanolin, %45-50 yağ fazı ve geri kalanı su olacak şekilde bir formülasyon geliştirilmiştir. Bu krem formülasyonu kardiyovasküler, omurga, beyin, işitsel hastalıklar ve yüz sinirlerini önlemek için geliştirilmiştir. Geliştirilen kremlerin biyolojik olarak içeriğindeki aktif bileşenleri sebebiyle beyindeki metabolik süreçlere, anti sklerotik, analjezik ve anti inflammatuar düzensizliklere karşı olumlu yönde etki ettiği belirtilmiştir [166]. Patent kapsamında geliştirilen bu kremin içeriğindeki etken maddelere bakıldığında arı zehri içeriğinin arı zehirli kreme oranla oldukça düşük olduğu görüldü. Buna karşın propolis, bal ve balmumu içeriği daha fazladır. Bu sebeple kremin arı zehrinin etkilerinden daha çok yardımcı etken maddelerin etkilerinin olduğu, böylece zehir etkisi olarak arı zehirli kremlerden daha az etki edeceği söylenebilir. Bunun yanı sıra arı zehirli kremden farklı

olarak patent formülasyonu içerisinde arı sütü kullanılmamıştır. Arı sütü kullanımı ile kreme kollajen üretimi desteği ve kırışıklık önleyici özellikler kazandırıldı. Ayrıca arı zehirli krem içeriğine eklenen vitamin ve gliserin ile cildin ihtiyaç duyduğu nem, beslenme ve yumuşama sağlanmış oldu.

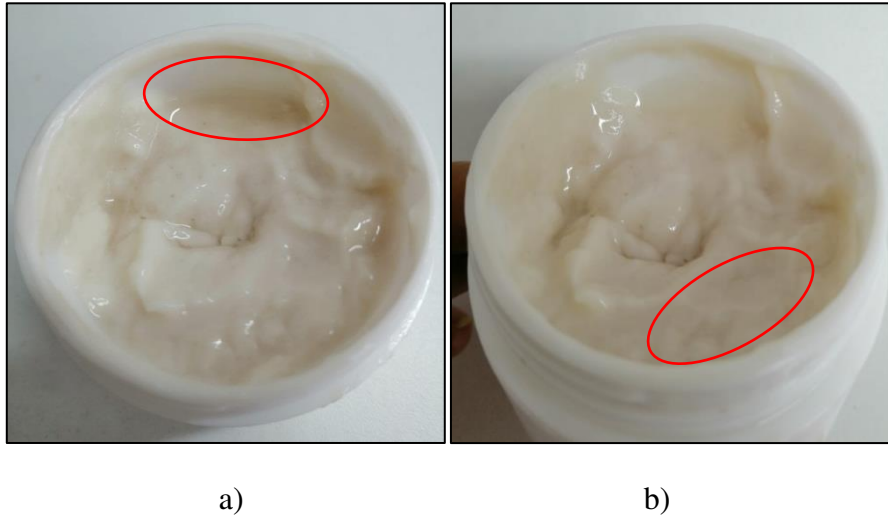
KR20120038699A numaralı patentte akne tedavisi için kullanılabilecek arı zehirli kozmetik bir formülasyon geliştirilmiştir. Bu formülasyonda %0,001-0,05'e seyreltilmiş ağırlık olarak %0,00001-0,01 arı zehri bulunmaktadır. Buna ek olarak içerisine aynı zamanda arı sütü, çay ağacı özü ve çay ağacı yağı ilave edilebilen formülasyon nanoemülsiyon teknolojisi kullanılarak oluşturulmuştur. Akne tedavisi için leke serumu arı zehri, arı sütü ve çay ağacına ek olarak %7 gliserin, %5 cyclomethicone, %4 dipropilen glikol, %0,6 poliakrilamid, %0,3 izoparafın, %0,12 laureth 7, %0,5 betaine, %0,4 karbomer, %0,4 trietanolamin, %0,2 pantenol, %0,2 metilparaben, %0,15 fenoksietanol, %0,1 biberiye ekstraktı, %0,1 EDTA, %0,1 allantoin ve geri kalanı su olacak şekilde geliştirilmiştir. Bu formülasyonun stabilizasyon testinde 40°C, -2°C ve -10°C'de 2 ay boyunca stabilite kaldığı gözlenmiştir. Formülasyonun etkinliğinin anlaşılması için antiinflammutar etki, akne tedavisi ve önleme etkisi üzerine klinik çalışma yürütülmüştür. Bu çalışma sonucunda serumun akne tedavisi ve önleyici aktivitesinin yüksek bir etkiye sahip olduğu doğrulanmıştır. Aynı zamanda çalışma ile yetişkin sivilcelerin yanı sıra ergenlik dönemi sivilceleri üzerinde de etkili olduğu söylenmiştir [167]. Bu çalışma ile formülasyondaki arı zehri oranından yüksek miktarda zehir kullanılarak geliştirilen arı zehirli kremlerin akne tedavisi amacıyla da kullanılabileceği görülmektedir. Ayrıca içerisindeki bal, balmumu ve propolis gibi yardımcı etken maddeler ile de kreme serumdan farklı birçok özellik kazandırılmıştır. Ayrıca serumun içerisinde birçok cilt için zararlı kimyasal kullanılırken kremlerde bu tür bileşenlerin hiçbirine yer verilmeyerek tamamen doğal formülasyonlar geliştirildi.

Arı zehri içerikli deri için topikal bir formülasyon geliştirilen EP3036011B1 numaralı patent kapsamında kraliçe arının arı zehri kullanılmıştır. Geliştirilen formülasyon krem, jel, sıvı, yağ veya macun kıvamında kullanılabilmektedir. Geliştirilebilecek formülasyonlarda %0,11-%50 aralığında arı zehri kullanımı olabileceği gibi içerisinde propolis, bal, bal mumu, arı poleni ve arı sütü kullanılabileceği belirtilmiştir. Koruyucu olarak metilkloroizotiyazolinon içermektedir ve bu bileşen alerjik bir etki oluşturabilmektedir. Arı zehri kremlerinde herhangi bir koruyucu ilavesi olmadı yalnızca arı zehri ve propolisin koruyucu etkilerinden yararlanıldı. Kraliçe arı zehrinin normal arı

zehirlerinden en önemli farkı içeriğinde kortizol bulunmasının yanı sıra mellitin içeriğinin çok daha yüksek olmasıdır. İçeriğindeki ekstra bileşenler ve etken maddelerin fazlalığı sebebiyle ciltte daha etkili sonuçlar vermektedir. Bu sebeple arı zehri içerikli kremlere oranla etkisinin daha yüksek olması muhtemeldir. Fakat aynı zamanda kraliçe arının arı zehri normal zehre göre daha etkili ve felç etme özelliği daha yüksektir. Arı zehirli kremlerde patentte kullanıldığı şekilde kraliçe arının zehri yerine normal zehir kullanılarak bu etkinin oluşmasından kaçınıldı. Normal arı zehri kullanılarak patentte belirtildiği gibi cilt yaşlanması, elastoz, sarkma ve kırışıklıklara karşı etkili bir ürün geliştirildiği söylenebilir [168].

4.5. KREM YAPISI İÇİN PROTOTİP GELİŞTİRME

Krem formülleri için yapılan ön denemelerde Şekil 4.12’de görüldüğü üzere bazı ayrışma problemleri ile karşılaşıldı. Şekil 4.12 (a)’da görüldüğü üzere kremlerde faz ayrışması ve (b)’de ise kremlerde oluşan topaklanma olduğu gözlemlendi. Farklı formülasyon çalışmaları yapılarak stabil görüldüğüne karar verilen formülasyonlar üzerinden yeni formülasyon denemeleri geliştirildi.



Şekil 4.12. a) Faz ayrımı problemi b) opaklanma problemi.

Ayrışma sorunu sonrasında yapılan çalışmalarda her krem tipi için 9 farklı formülasyon denemesi gerçekleştirildi. Denemelerde hazırlanan kremler Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



a)

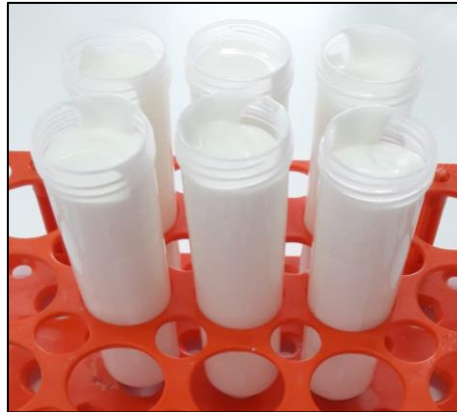
b)



c)

Şekil 4.13. a) Yumuşak yoğunlukta b) Orta yoğunlukta c) Sert yoğunlukta formülasyon denemesi.

Geliştirilen formülasyonlardan hazırlanan kremlerde yapılan gönüllü testleri sonuçlarına göre ve duyuşal testlere göre son formülasyonlara karar verildi. Gönüllü testi ile seçilmiş yüz formülasyonlarından hazırlanan yüz kremi Şekil 4.14’de gösterilmiştir.



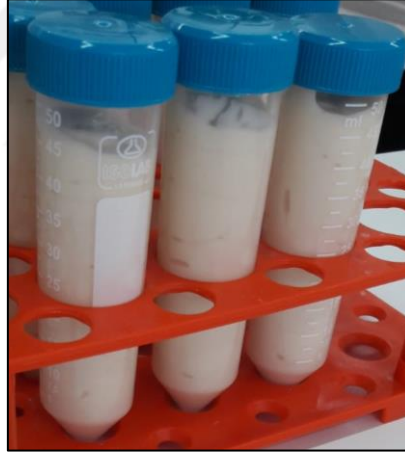
Şekil 4.14. Son formülasyon ile hazırlanan yüz kremi (1. Formülasyon).

Gönüllü testi ile seçilmiş vücut formülasyonlarından hazırlanan vücut kremi Şekil 4.15’te gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Son formülasyon ile hazırlanan vücut kremi (2. Formülasyon).

Gönüllü testi ile seçilmiş ayak formülasyonlarından hazırlanan ayak kremi Şekil 4.16’da gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Son formülasyon ile hazırlanan ayak kremi (1. Formülasyon).

Gönüllü testi ile seçilmiş el formülasyonlarından hazırlanan el kremi Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. Son formülasyon ile hazırlanan el kremi (3. Formülasyon).

Gönüllü testi ile seçilmiş eklem formülasyonlarından hazırlanan eklem kremi Şekil 4.18’de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Son formülasyon ile hazırlanan eklem kremi (1. Formülasyon).

4.6. KREMDE FİZİKSEL ANALİZLER

4.6.1. Stabilite Testi

Seçilen krem formülasyonlarından yapılan prototip denemelerine görünüm, yoğunluk, viskozite, pH, koruyucu etkinlik ve mikrobiyolojik analizleri içeren stabilite testi uygulandı. Stabilite testi sonuçlarına göre uygun çıkan prototiplere daha sonra alerjen, dermatolojik ve sitotoksikite testleri uygulandı.

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kozmetik Ürünlerin Stabilesine ve Açıldıktan Sonra Kullanım Süresine İlişkin Kılavuz’a göre stabilite testi kozmetik ürünün tanım, miktar tayini, kalite ve saflık açısından belirlenmiş spesifikasyonlarını muhafaza etme

kapasitesini; hızlandırılmış stabilite testi ise kozmetik ürünün kimyasal ve fiziksel bozunmasını hızlandırmak amacıyla normal saklama koşullarına göre zorlanmış koşullarda yapılan stabilite/dayanıklılık çalışmaları olarak belirtilmiştir [169].

Kılavuza göre kozmetik ürünleri için yapılan stabilite testlerinde belirleyici unsurlar ürünün bileşimi, formülasyonu, ambalajı, kullanım şekli gibi ürüne özel kriterlerdir. Bu sebeple stabilite testi için doğru bir değerlendirmenin yapılabilmesi veya beyanların verilebilmesi için ürünün özelliklerine göre test yöntemleri belirlenmeli şeklinde belirtilmiştir [169].

Stabilite testlerinde kremler oda sıcaklığı, 40°C, %75 bağıl nem ve ışık altında 3 ay süre ile izlenilmesi prosedürüne göre zorlama testine tabi tutuldu. Bu test Arrhenius stabilite koşulları baz alınarak hesaplandı. Kozmetik analizleri etken madde yerine fiziksel parametreler, pH, viskozite, yoğunluk, renk, görünüş ve koku gibi zorlama testleri ile test edildi. 3 aylık bu zorlama koşullarını geçen kremlerin yaklaşık 2 yıl üzerinde raf ömrü olmaktadır. Açık kapak stabilitesi ürünlerin kullanımı ile birlikte yine benzer koşullarda kullanılıp, kontrolleri yapıldı. Testler 3 ay boyunca paralel olarak bu şekilde devam ettirildi. Kremlerin içerisinde bulunan arı zehri ve propolis ile mikrobiyolojik gelişmeler önlendi.

4.6.1.1. *El kremi stabilite testi*

Oluşturulan el kremi prototipine ilk olarak oda sıcaklığında stabilite testi uygulandı. Stabilite testi kapsamında kremin yapıldığı gün ve yapıldıktan 15, 30, 60 ve 90 gün sonunda görünüm, yoğunluk, viskozite, pH ve koruyucu etkinlik özellikleri kontrol edildi. Test sonuçlarının Çizelge 4.22’de görüldüğü üzere 90 gün sonunda kremin ilk görünümünü koruduğu belirlendi. Yoğunluk 1,103 – 1,117 aralığında ve pH 6,0 – 6,5 aralığında bulunarak zaman içinde değişiklik gösterdi fakat uygun değerler dışına çıkmadığı gözlenmiştir. Viskozite değerleri 46,1 – 60,5 aralığında çıkarak uygun bulundu ayrıca mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulundu. Test sonucuna göre el kreminin oda sıcaklığında 90 gün boyunca herhangi bir değişme olmadan kalabileceğini gösterdi.

Çizelge 4.22. Oda sıcaklığı koşullarında el kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	1,105	1,117	1,105	1,114	1,103	Uygun
Viskozite	46,1	56,5	54,8	48,9	60,5	Uygun
pH	6,1	6,0	6,2	6,1	6,5	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	Uygun	-	-	Uygun	-	Uygun

Oda sıcaklığında yapılan stabilite testinin yanında +40°C’de stabilite testi de yapıldı. 15. günden itibaren kontrol edilen bu test oda sıcaklığında yapılan ile aynı şekilde yapıldı. Test sonucunda uygulanan sıcaklıkta da kremin görünümünde herhangi bir değişiklik bulunmadı. Yoğunluğun zamanla değiştiği ve 1,065 – 1,150 aralığında değiştiği gözlemlendi ve uygun bulundu. Viskozite değerleri 27,5 – 35,0 ve pH değerleri ise 6,1 – 7,1 aralığında çıkarak uygun bulundu. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulundu. Test sonucuna göre el kreminin +40°C’de 90 gün boyunca özelliklerinde uygunsuzluk bulunmadığı gözlemlendi (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. +40°C sıcaklık koşullarında el kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	-	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	-	1,150	1,124	1,065	1,103	Uygun
Viskozite	-	35,0	31,2	27,5	31,7	Uygun
pH	-	6,1	6,2	7,1	6,8	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	-	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	-	-	-	Uygun	-	Uygun

El kreminin mikrobiyolojik stabilitesi incelendiğinde aerobik mezofilik koloni, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aerus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* ve toplam küf-maya sayımı yapıldı. Aerobik mezofilik koloni ve toplam küf-maya sayımı 1000 kob/ml'nin altında çıkması gerekmektedir ve sayım sonucunda 10'dan az sayılarak uygun çıktı. Hazırlanan krem formülleri içerisinde *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aerus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* tespit edilmedi ve uygun olarak değerlendirildi (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. El kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.

Analiz	Metot	Sonuç	Birim	Limit	Değerlendirme
Aerobik Mezofilik Koloni Sayımı	TS EN ISO 21149	<10	Kob/ml	<1000	Uygun
<i>P. aeruginosa</i> Aranması	TS EN ISO 22717	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>S. aureus</i> Aranması	TS EN ISO 22718	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>E. coli</i> Aranması	TS EN ISO 21150	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>C. albicans</i> Aranması	TS EN ISO 18416	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
Toplam Küf-Maya Sayımı	TS EN ISO 16212	<10	Kob/ml	<1000	Uygun

Yapılan stabilite testleri sonucunda el kremi için seçilen formülasyonun oda sıcaklığı ve +40°C'de 90 güne kadar özelliklerini koruduğu gözlemlendi. Bu test ile el kreminin açıldıktan sonra 12 ay boyunca kullanılabileceği sonucuna varıldı. Kremin yapısında herhangi bir değişiklik bulunmadığı için alerjen, dermatolojik ve sitotoksikite testlerinin uygulanmasına karar verildi.

4.6.1.2. Ayak kremi stabilite testi

Ayak kremi için geliştirilen prototipe oda sıcaklığında stabilite testi uygulandı ve günlere göre özelliklerindeki değişimler incelendi. Test sonucunda ayak kreminin görünümünü 90 gün boyunca koruduğu gözlemlendi. Yoğunluk 1,097 – 1,124 aralığında ve pH 6,0 – 6,5 aralığında bulundu. Yoğunluk ve pH test süresi boyunca zaman içinde değişiklikler gösterdi ama uygun değerler içerisinde kaldı. Viskozite değerleri 46,3 – 60,8 aralığında çıkarak uygun bulundu. Mikrobiyolojik durum ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun olarak bulundu. Oda sıcaklığı koşullarındaki stabilite testi ile ayak kremi

formülasyonundaki günlere bağlı değişimin uygun koşullarda değiştiği sonucuna varıldı (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Oda sıcaklığı koşullarında ayak kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	1,108	1,124	1,097	1,121	1,116	Uygun
Viskozite	46,3	56,4	54,2	48,5	60,8	Uygun
pH	6,0	6,1	6,1	6,3	6,5	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	Uygun	-	-	Uygun	-	Uygun

+40°C’de yapılan stabilite testine göre ayak kreminin 90 gün boyunca homojenliğini ve rengini koruduğu görüldü. Yoğunluk günlere göre değişerek 2,071 – 1,155, pH ise 6,0 – 7,2 arasında bulunarak uygun olarak kabul edildi. Viskozite değerleri 27,3 – 35,4 aralığında çıkarak uygun bulundu. +40°C’de de zaman içinde değişiklikler gözlemlendi fakat uygun değerler aralığında kaldığı görüldü. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulunarak test sonucuna göre ayak kreminin +40°C’de 90 gün boyunca stabilitesinde uygun olmayacak bir değişiklik olmadığı gözlemlendi (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. (+40)°C sıcaklık koşullarında ayak kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	-	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	-	1,155	1,127	1,071	1,097	Uygun
Viskozite	-	35,4	31,1	27,3	31,8	Uygun
pH	-	6,0	6,1	7,2	6,8	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	-	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	-	-	-	Uygun	-	Uygun

Ayak kremi mikrobiyolojik kalite sonuçları bütün analiz parametreleri için limit değerlerin altında sayılarak uygun olarak bulundu (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Ayak kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.

Analiz	Metot	Sonuç	Birim	Limit	Değerlendirme
Aerobik Mezofilik Koloni Sayımı	TS EN ISO 21149	<10	Kob/ml	<1000	Uygun
<i>P. aeruginosa</i> Aranması	TS EN ISO 22717	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>S. aureus</i> Aranması	TS EN ISO 22718	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>E. coli</i> Aranması	TS EN ISO 21150	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>C. albicans</i> Aranması	TS EN ISO 18416	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
Toplam Küf-Maya Sayımı	TS EN ISO 16212	<10	Kob/ml	<1000	Uygun

Ayak kreminde gerçekleştirilen stabilite testlerine göre prototip kremin oda sıcaklığı ve +40°C’de 90 güne kadar stabilitesini koruduğu gözlemlendi. Bu test ile ayak kreminin açıldıktan sonra 12 ay boyunca kullanılabileceği sonucuna varıldı.

4.6.1.3. Yüz kremi stabilite testi

Yüz kremi prototipinde gerçekleştirilen oda sıcaklığındaki stabilite testinde 90 gün içerisinde görünümde herhangi bir değişiklik gözlenmedi bu da yüz kreminin görünüm olarak stabil olduğunu gösterdi. Yoğunluk zamanla 1,139 – 1,185; pH 6,5 – 7,5 ve viskozite değerleri 11,7 – 22,3 aralığında çıkarak uygun bulundu. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun çıktı. Bu test sonucunda yüz kreminin 90 gün boyunca oda sıcaklığında stabilitesini koruduğu sonucuna varıldı (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28. Oda sıcaklığı koşullarında yüz kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	1,185	1,139	1,167	1,170	1,165	Uygun
Viskozite	11,7	18,0	14,5	13,9	22,3	Uygun

Çizelge 4.28. (devam) Oda sıcaklığı koşullarında yüz kremi stabilite testi sonuçları.

pH	6,5	7,2	7,5	7,1	7,5	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	Uygun	-	-	-	-	Uygun

+40°C’de yapılan stabilite testi sonucunda yüz kreminde 90 gün boyunca görünümde herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Yoğunluk 1,138 – 1,161; pH 6,8 – 7,7 ve viskozite değerleri 16,5 – 22,3 aralığında çıkarak uygun bulundu. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulunarak test sonucuna göre yüz kreminin +40°C’de 90 gün boyunca stabilitesinin korunduğu gözlemlendi (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. (+40)°C sıcaklık koşullarında yüz kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	-	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	-	1,138	1,161	1,147	1,149	Uygun
Viskozite	-	19,3	16,5	19,7	22,3	Uygun
pH	-	7,7	7,6	7,1	6,8	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	-	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	-	-	-	Uygun	-	Uygun

Yüz kremi mikrobiyolojik kalite sonuçları bütün analiz parametreleri için limit değerlerin altında sayılarak uygun olarak bulundu (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. Yüz kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.

Analiz	Metot	Sonuç	Birim	Limit	Değerlendirme
Aerobik Mezofilik Koloni Sayımı	TS EN ISO 21149	<10	Kob/ml	<1000	Uygun
<i>P. aeruginosa</i> Aranması	TS EN ISO 22717	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>S. aureus</i> Aranması	TS EN ISO 22718	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>E. coli</i> Aranması	TS EN ISO 21150	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>C. albicans</i> Aranması	TS EN ISO 18416	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
Toplam Küf-Maya Sayımı	TS EN ISO 16212	<10	Kob/ml	<1000	Uygun

Yüz kremi prototipinde oda sıcaklığı ve +40°C’de gerçekleştirilen stabilite testlerinde formülasyonun 90 gün sonunda stabilitesini koruduğu gözlemlendi. Bu test ile yüz kreminin açıldıktan sonra 12 ay boyunca kullanılabileceği sonucuna varıldı.

4.6.1.4. Vücut kremi stabilite testi

Vücut kremi için hazırlanan prototip kremin oda sıcaklığı stabilite testinde 90 güne kadar görünümünün korunduğu gözlemlendi. Yoğunluk olarak 90 gün içerisinde 1,143 – 1,179 arasında, pH olarak 6,4 – 7,6 arasında değişiklikler oldu. Viskozite değerleri 12,0 – 22,1 aralığında çıkarak uygun bulundu ve bu değerlerin hepsi olması gereken değerler arasında olduğu için uygun olarak kabul edildi. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulundu. Stabilite testi ile vücut kreminin oda sıcaklığında 90 gün boyunca stabil kaldığı sonucuna ulaşıldı (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. Oda sıcaklığı koşullarında vücut kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	1,179	1,143	1,165	1,168	1,169	Uygun
Viskozite	12,0	18,4	14,7	14,3	22,1	Uygun

Çizelge 4.31. (devam) Oda sıcaklığı koşullarında vücut kremi stabilite testi sonuçları.

pH	6,4	7,1	7,6	7,0	7,6	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	Uygun	-	-	-	-	Uygun

+40°C’de yapılan stabilite testi ile vücut kreminin görüntüsünün 90 gün boyunca stabil kaldığı görüldü. Yoğunluk 1,141 – 1,161 ve pH 6,7 – 7,8 arasında değişim göstererek uygun değerler arasında çıktılar. Viskozite değerleri 16,9 – 21,8 aralığında çıkarak uygun bulundu. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulundu. Test sonucuna göre vücut kremi +40°C’de 90 gün boyunca stabilitesinin korumaktadır (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. (+40)°C sıcaklık koşullarında vücut kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	-	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Homojen Bej Rengi	Uygun
Yoğunluk	-	1,141	1,161	1,153	1,155	Uygun
Viskozite	-	19,2	16,9	19,4	21,8	Uygun
pH	-	7,6	7,8	7,0	6,7	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	-	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	-	-	-	Uygun	-	Uygun

Vücut kremi mikrobiyolojik kalite sonuçları bütün analiz parametreleri için limit değerlerin altında sayılarak uygun olarak bulundu (Çizelge 4.33)

Çizelge 4.33. Vücut kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.

Analiz	Metot	Sonuç	Birim	Limit	Değerlendirme
Aerobik Mezofilik Koloni Sayımı	TS EN ISO 21149	<10	Kob/ml	<1000	Uygun
<i>P. aeruginosa</i> Aranması	TS EN ISO 22717	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>S. aerus</i> Aranması	TS EN ISO 22718	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun

Çizelge 4.33. (devam) Vücut kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.

<i>E. coli</i> Aranması	TS EN ISO 21150	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>C. albicans</i> Aranması	TS EN ISO 18416	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
Toplam Küf-Maya Sayımı	TS EN ISO 16212	<10	Kob/ml	<1000	Uygun

Vücut kremi için yapılan stabilite testleri sonucunda oda sıcaklığı ve +40°C’de 90 güne kadar özelliklerini koruyarak uygun formülde kaldığı gözlemlendi. Bu test ile vücut kreminin açıldıktan sonra 12 ay boyunca kullanılabileceği sonucuna varıldı.

4.6.1.5. Eklem kremi stabilite testi

Eklem kremi prototipinde yapılan oda sıcaklığındaki stabilite testinde görünümünün 90 gün boyunca korunduğu gözlemlendi. Yapılan test sonucunda yoğunluk 1,162 – 1,178 arasında, pH ise 6,4 – 7,3 aralığında değişim göstererek uygun bulundu. Eklem kreminin viskozitesi yoğun olduğu için ölçülemedi. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulundu. Stabilite testi ile eklem kreminin oda sıcaklığında 90 gün boyunca stabil kaldığı sonucuna ulaşıldı (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. Oda sıcaklığı koşullarında eklem kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	Homojen Açık Sarı Renk	Homojen Açık Sarı Renk	Homojen Açık Sarı Renk	Homojen Açık Sarı Renk	Homojen Açık Sarı Renk	Uygun
Yoğunluk	1,178	1,171	1,175	1,162	1,168	Uygun
Viskozite	-	-	-	-	-	Uygun
pH	6,9	7,3	6,4	6,7	7,1	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	Uygun	-	-	-	-	Uygun

+40°C’de yapılan stabilite testi eklem kremi 90 gün boyunca görüntüsünü korumuştur. Stabilite çalışması sırasında yoğunluk 1,157 – 1,164 aralığında, pH ise 6,8 – 7,4 aralığında çıkarak stabilitesi uygun bulundu. Eklem kreminin viskozitesi yoğun olduğu için ölçülemedi. Mikrobiyolojik ve koruyucu etkinlik sonuçları da uygun bulundu. Test sonucuna göre eklem kremi +40°C’de 90 gün boyunca stabilitesini koruduğu gözlemlendi (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. (+40)°C sıcaklık koşullarında eklem kremi stabilite testi sonuçları.

Kontrol Parametreleri	0. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	Değerlendirme
Görünüm	-	Homojen Açık Sarı Renk	Homojen Açık Sarı Renk	Homojen Açık Sarı Renk	Homojen Açık Sarı Renk	Uygun
Yoğunluk	-	1,164	1,162	1,157	1,159	Uygun
Viskozite	-	-	-	-	-	Uygun
pH	-	7,4	7,2	6,8	7,1	Uygun
Mikrobiyolojik Durum	-	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Koruyucu Etkinlik	-	-	-	Uygun	-	Uygun

Eklem kremi mikrobiyolojik kalite sonuçları bütün analiz parametreleri için limit değerlerin altında sayılarak uygun olarak bulundu (Çizelge 4.36).

Çizelge 4.36. Eklem kremi mikrobiyolojik kalite testi sonuçları.

Analiz	Metot	Sonuç	Birim	Limit	Değerlendirme
Aerobik Mezofilik Koloni Sayımı	TS EN ISO 21149	<10	Kob/ml	<1000	Uygun
<i>P. aeruginosa</i> Aranması	TS EN ISO 22717	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>S. aureus</i> Aranması	TS EN ISO 22718	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>E. coli</i> Aranması	TS EN ISO 21150	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
<i>C. albicans</i> Aranması	TS EN ISO 18416	Tespit Edilmedi	Kob/ml	0	Uygun
Toplam Küf-Maya Sayımı	TS EN ISO 16212	<10	Kob/ml	<1000	Uygun

Eklem kreminde yapılan stabilite testleri sonucunda prototip kremin oda sıcaklığı ve +40°C’de 90 güne kadar özelliklerini koruduğu gözlemlendi.

Stabilite testlerine göre arı zehri kremlerinin 90 gün sonra dahi uygunluğunu koruduğu gözlemlendi. Ayrıca yapılan mikrobiyolojik incelemeler sonucunda mikrobiyal gelişmelerin limit değerlerin altında çıktığı görüldü. Bunların sebebi olarak arı zehri ve propolisin antibakteriyel özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan stabilite testleri ve mikrobiyolojik testler sonucunda bütün kremlerin açıldıktan sonra 12 ay boyunca kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Stabilite testleri sonucunda kremlerin yapısında uzun süre boyunca değişiklik olmadığı ve açıldıktan sonra dahi uzun süre kullanılabileceği görüldü. İçerisinde hiçbir koruyucu katkı koyulmamasına rağmen koruyucu eklenen kremler kadar stabilitesini koruması kullanılan arı zehri ve propolis ile sağlandı. Arı zehri ve propolisin antimikrobiyal ve antifungal gibi özellikleri ile kremlerde çeşitli mikroorganizmaların gelişimlerini önleyerek kremlerin yapısının korunması sağlanmış oldu.

Arı zehrinin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi için yapılan çeşitli çalışmalarda zehrin bakteriler, virüsler ve mantarlara karşı etkisi incelenmiştir. Zehrin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı inhibe edici özelliği birçok çalışma ile bilinmektedir [170]. Arı zehri örneklerindeki düşük mikrobiyal yük ve kremlerin stabilite testlerindeki koruma arı zehrinin antimikrobiyal etkisiyle ilişkilendirilebilir. Arı zehrinin *S. aureus*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli O157: H7* olan altı gram pozitif ve gram negatif bakteriye karşı antibakteriyel aktivitesini değerlendirmek için disk difüzyon yönteminin kullanıldığı bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia mallei* ve *Burkholderia pseudomallei*, antimikrobiyal aktivite, pozitif kontroller olarak üç arı zehri konsantrasyonu (25, 35 ve 45 µg) ve standart antibiyotik (gentamisin) diskleri kullanılarak test edilmiştir. Arı zehrinin, her üç konsantrasyonda da *E. coli*, *S. aureus* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Arı zehrinin besiyerinde *E. coli*'ye karşı diğer iki bakteri suşuna göre daha yüksek bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır [171]. Arı zehrinin antifungal etkisinin incelendiği bir başka çalışmada zehir insanlarda çeşitli deri hastalıklarına yol açabilecek olan *Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum*'a karşı incelenmiştir. Zehirler disk diffüzyon yönteminden daha güvenilir sonuçlar verdiği için modifiye edilmiş sıvı dilüsyon yöntemi ile test edilmiştir. Çalışmada 0,63 ppm arı zehrinin *T. Mentagrophytes* büyümesini %92 oranında ve *T. rubrum* büyümesini ise %26 oranında inhibe ettiği görülmüştür [172]. Çevre koşulları ve arı zehrinin doğası göz önüne alındığında, mikrobiyal yükün oldukça yüksek olması beklenir; bununla birlikte çoğu

örnek için mikrobiyal yük neredeyse yoktur. Bu da arı zehrinin kendi içinde bir antimikrobiyal koruma sistemi oluşturduğunu göstermektedir. Böylece arı zehrinin kremleri mikrobiyal gelişmelerden koruyarak bozulmalara karşı önleyici bir etki sağlandı.

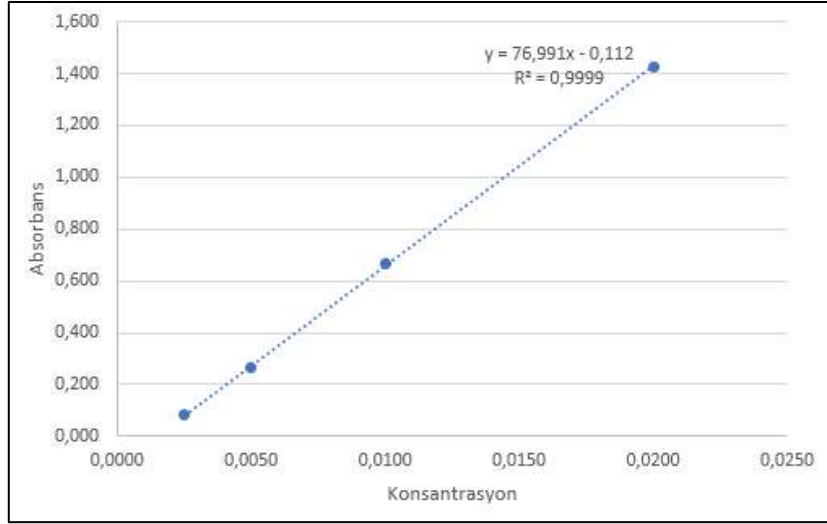
Propolisin antimikrobiyal özelliği birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. Çeşitli ülkelerden temin edilen propolislerin antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde inhibe edici bir etki sağladığı görülmüştür. Birçok ülkenin propolisinin karşılaştırıldığı bu çalışmada gram pozitif (*S. aureus*) ve gram negatif (*E. coli*) bakterileri üzerinde en yüksek inhibasyon Türkiye’den elde edilen propolis ile sağlandığı sonucuna varılmıştır [173]. Çalışmalarla propolisin 12 ay ve hatta daha uzun sürelerde saklandığında dahi aktivitesini kaybetmediği belirtilmiştir [174]. Bu sebeple eklendiği ürünlerin stabilitesini koruyarak raf ömrünü uzattığı bilinmektedir [175]. Propolisin az miktarda kullanıldığında bile koruyucu etki gösterdiği için kremlerde koruyucu özelliğinden yararlanıldı. Propolisin koruyucu etkisine bakıldığı bir çalışmada propolis ve lavanta yağı bir arada kullanılmıştır. Lavanta yağı üzerine %2 ve %3 oranında propolis eklenerek gerçekleştirilen bu çalışmada propolisin yağ üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda yağın duyuşal özellikleri, bütünlüğü ve işlevini etkilemeden yağ üzerinde koruyucu bir özellik gösterdiğini ve çeşitli bozulmalara karşı koruduğu için %1 propolis kullanılmasına karar verilmiştir [176]. Propolis ile geliştirilen bir krem formülasyonundaki antimikrobiyal aktivitenin test edildiği başka bir çalışmada agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Testler ile antimikrobiyal aktivite *M. luteus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve *S. aureus*’a karşı incelenmiştir. Çalışma kapsamında propolisin test edilen bütün mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkisinin yanı sıra propolisli kremin de aynı aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Propolisli kremin en yüksek antimikrobiyal etkisinin *S. Epidermidis*’e karşı sağladığı bildirilmiştir [177]. Propolis ve lizozimin yarı katı emülsiyonlardaki (o/w) nemlendirici ve antimikrobiyal etkisinin incelendiği bir çalışmada antimikrobiyal etki kuyucuk tekniği kullanılarak katı büyüme ortamında gerçekleştirilmiştir. %0,25 ile %4 propolis ekstraktı ile yapılan çalışmada propolisin tek başına *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* üzerinde inhibe edici olmasına rağmen kremde kullanıldığında bu etkinin ortadan kalktığı görülmüştür. Bunun sebebinin ise *P. Aeruginosa*’ın hücre duvarındaki polisakkarit tabakası olmasıyken *K. Pneumoniae*’nın direnci arttıran kapsül oluşturulmasıdır. Bunun aksine propolisin tek başına *S. aureus*, *E. coli* ve *Bacillus cereus* gibi spor bakterilerine olan aktivitesi propolis içerikli kremlerde de sağlanmıştır [178].

Propolis içerikli stabil topikal bir formülasyon çalışmasında formülasyonlar %2,5 propolis içermek üzere krem, krem-jel ve jel formlarında denenmiştir. Bütün formülasyonlarda kısa süreli stabilite yapılırken uygun çıkan formülasyonlarda uzun süreli stabilite testi uygulanmıştır. Stabilite testleri $25\pm2^{\circ}\text{C}$ /ortam nemi ve $40\pm2^{\circ}\text{C}/\%70\pm5$ bağıl nem değerinde yapılmıştır ve kısa süreli testler 30 gün boyunca, uzun süreli testler ise bir yıl boyunca yapılmıştır. Aynı zamanda fiziksel ve fonksiyonel stabilite analizleri de gerçekleştirilmiştir. Kısa süreli stabilite testlerinde pH'lara bakıldığında krem ve krem-jel formülasyonlarının stabilitesinin korunduğu görülmüştür. Fiziksel ve fonksiyonel özelliklerin değerlendirildiği uzun süreli testte ise propolisli kremin stabilitesini koruduğu gözlenmiştir [162]. Böylece propolisin krem formülasyonlarında antimikrobiyal özellik gösterdiği doğrulanmıştır. Bu sebeple de kremlerin stabilite testlerinde herhangi bir bozulma olmadan bir yıla kadar kullanılabileceği doğrulanmış olmaktadır.

Literatürde görüldüğü üzere krem içeriğinde kullanılan bileşenlerin diğer formülasyonlarda da stabilitesini koruması arı zehirli kremlerde yapılan stabilite çalışmalarını doğrular niteliktedir. Kremlerin açıldıktan sonra bir yıla kadar kullanılabilesinin sebebi olarak arı zehri ve propolisin antimikrobiyal özellikleri ile sağlandığı düşünülmektedir. Bu özellik ile kremlerdeki mikroorganizmaların gelişiminin önlenildiği ve böylece kremlerin fiziksel ve fonksiyonel özelliklerini koruması sağlanmaktadır.

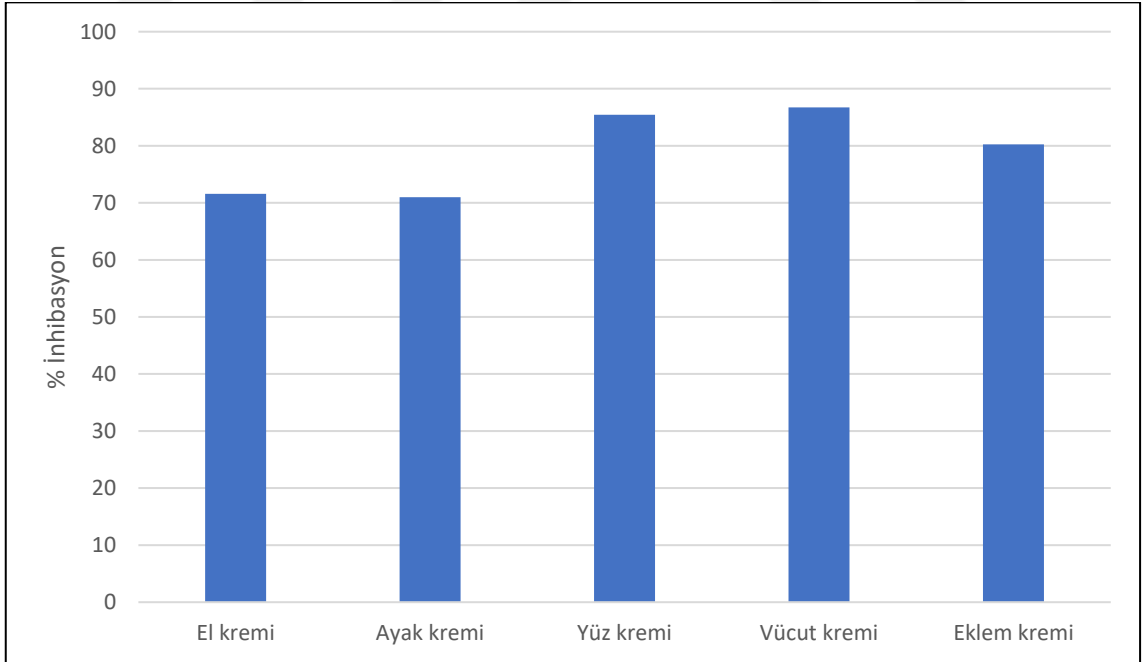
4.6.2. Antioksidan Etki Tayini

Antioksidan etkinliklerinin indirgeme potansiyalleri serbest radikal giderici potansiyalleri ile ifade edilir [179]. Absorbanstaki düşüş ve antioksidan arasında doğru bir orantı bulunmaktadır, absorbanstaki düşüş arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır. Kremlerin farklı konsantrasyonlarda DPPH serbest radikal giderim aktivitesi incelendi ve Şekil 4.19'da görüldüğü üzere artan konsantrasyonlarda absorbanstaki düşüş de arttığı görüldü.



Şekil 4.19. Antioksidan etki tayini konsantrasyon-absorbans eğrisi.

Kremlerin absorbans eğrilerinden yararlanılarak inhibasyon değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.20). Antioksidan etki testi sonuçlarına göre oluşturulan grafik doğrultusunda el kreminin antioksidan kapasitesi %71,59 ve ayak kreminin %70,98 olarak bulundu. Yüz kremi %85,44 ve vücut kremi %86,72 antioksidan etkiye sahipken eklem kremi ise %80,23 antioksidan kapasiteye sahip olduğu görüldü.



Şekil 4.20. Kremlerin antioksidan etkileri (% İnhibasyon).

Arı zehirlerinin antioksidan, antiinflammatuar ve sitotoksik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada Kuzeydoğu Portekiz'deki arı zehirleri incelenmiştir. Çalışma kapsamındaki

tüm örneklerin antioksidan ve antiinflammatuar özellikler gösterdiği bulunmuştur [159]. Yüksek antioksidan içeriğe sahip olduğu bilinen propolis üzerine yapılan başka bir çalışmada ise antioksidan aktivitesi ile flavonoidlerin polifenolik moleküler yapısı, propolisin cilde topikal olarak uygulanmasının yararlı ışık koruyucu özelliklere sahip olabileceğini desteklemektedir [180]. Balın antioksidan özelliği incelendiğinde ise multifloral, ayçiçeği, badem, kestane ve okaliptüs ballarının 194,9 ile 1636,3 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg arasında fenolik içeriğe sahip olduğu ve 61 ile 940 mg GAE/kg arasında toplam antiradikal aktivite sergilediği bildirilmiştir [181]. Başka bir çalışmada, multifloral balın flavonoid içeriği 1,23 ile 2,93 mg kateşin eşdeğeri (CE)/100 g arasında bulunmuştur [182]. Bu nedenle krem formülasyonundaki antioksidanların kaynakları arasında arı zehri, bal ve propolis bulunduğu düşünülmektedir.

Kremlerdeki yüksek antioksidanlık arı zehri, propolis, bal ve arı sütünün beraber kullanılması ile sağlandı. Propolis ve antioksidan özelliği bilinen lavanta yağının güneş kremlerine eklenerek in vitro olarak antioksidan etkinin araştırıldığı bir çalışmada yağın tek ve %1 oranında propolis eklendikten sonraki antioksidan etkileri incelenmiştir. FRAP, ABTS ve DPPH yöntemleri ile incelenen antioksidan aktiviteler FRAP yöntemine göre lavanta yağı için 752,1 $\mu\text{mol/L}$ askorbik asit, propolis için 65,6 $\mu\text{mol/L}$ askorbik asit, olarak bulunurken propolis ve lavanta yağının beraber kullanımında bu sayı 1086,2 $\mu\text{mol/L}$ askorbik asit'e yükselmiştir. ABTS yönteminde lavanta, propolis ve ikisinin karışımında sırasıyla 803, 89,7 ve 7236,4 $\mu\text{mol/L}$ askorbik asit olarak; DPPH analizinde ise IC₅₀ değerleri sırasıyla 0,242, 0,42 ve 0,03 μL olarak tayin edilmiştir. Çalışmada propolisin yağ ile sinerjik bir etki oluşturabileceği sonucuna varılmıştır [176].

Yapılan başka bir çalışmada %2,5 propolis içerikli krem, krem-jel ve jel oluşturularak stabil bir topikal formülasyon denemesi gerçekleştirilmiştir. Formülasyonların fonksiyonel stabilitelerini incelemek adına denemeler üzerinde antioksidan testi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen antioksidan testleri ile ksantin/luminol/XOD sistemi kullanılarak kemilüminesans inhibisyonunun ölçülerek belirlenmiştir. Çalışma kapsamında antioksidan aktivite %22,8 ile %42,05 inhibasyona sahip bulunmuştur [162]. Bu çalışma ile antioksidan özelliğe sahip propolisin kremlerde antioksidan özelliği çeşitli şekillerde arttırılabileceği düşünülebilir. Propolisin antioksidan etkiye sahip bir bileşen olan arı zehri ve arı sütü ile beraber kullanımında sinerjik etki ile antioksidan özellik arttırılmış olabilir.

Bitkisel yağ içeren o/w güneş koruyucu bir kremin formülasyonu ve antioksidan aktivitesinin *in vitro* değerlendirmesinin yapıldığı bir çalışmada, kremin antioksidan aktivitesi %87,51 olarak bulunmuştur [183]. Vişne çekirdeği yağı ile çalışılan başka bir çalışmada krem formülasyonunun antioksidan özellikleri incelendiğinde antioksidan etkinin %48 ve %55 olarak bulunmuştur [112]. Bu bağlamda, bu çalışma ile formüle edilen krem prototiplerinin %70-80 aralığındaki değerler ile önemli bir antioksidan aktivite sergilediği sonucuna varıldı.

4.6.3. Alerjen Testi

Kremlerde alerjen testi LC-MSMS analiz yöntemine göre gerçekleştirildi. LC-MSMS analizi kapsamında kremlerde Tree Moss (Atranol-Chloratranol) ve Oak Moss (Atranol-Chloratranol) alerjenleri kontrol edildi. LC-MSMS metodu ile gerçekleştirilen alerjen testi sonuçlarına göre hiçbir kremde ölçüm limiti olan %0,0001'in üzerinde alerjen bileşen tespit edilmedi.

Propolisin yapısında 26'dan fazla alerjik bileşen bulunmaktadır. Aşırı duyarlı kişilerde alerjik reaksiyonlara sebep olabilirken propolis alerjisi genellikle nadir rastlanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre 1989-2006 yılları arasında propolisle temastan sonra yan etki oluşumu hakkında 26 tane bildiri yapılmıştır fakat bunlardan yalnızca 6 tanesi kesin olarak kabul edilmiştir. Ayrıca arı zehrinin yapısında bulunan fosfolipaz A2, melittin, hyaluronidaz gibi bileşenler alerjik etki göstermektedir. Fakat arı zehrinin toksik etki oluşturmaları için vücuda yüksek oranlarda alınması gerekmektedir. Arı zehrinin vücuda yüksek dozda alınmaması ve oluşturduğu tahriş ve alerjen potansiyelinin ihmal edilebilir düzeyde olması sebebiyle kozmetik ürünlerde uzun süreli kullanımlar için güvenli kabul edilebilmektedir [184, 65]. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda test edilen bütün arı zehirli kremlerin alerjen olmadığı sonucuna varıldı.

4.6.4. Dermatolojik Test

Arı zehirli kremlerin dermatolojik testleri için yaşları 23-53 arasında değişen 15 normal cilt gönüllü üzerinde patch testleri gerçekleştirildi (Ek 4). Çizelge 4.37'de görüldüğü üzere farklı cilt tiplerine sahip gönüllüler üzerinde uygulanan Patch testlerinden 48 ve 72 saat sonra yapılan değerlendirmeler sonucunda bütün gönüllüler kremlerin ciltte herhangi bir reaksiyona sebep olmadığı anlaşılmıştır.

Çizelge 4.37. Dermatolojik test sonuçları.

Gönüllü Özellikleri				El kremi		Ayak kremi		Yüz kremi		Vücut kremi		Eklem kremi	
No	Cinsiyet	Yaş	Cilt Özellikleri	48 saat	72 saat	48 saat	72 saat	48 saat	72 saat	48 saat	72 saat	48 saat	72 saat
1	Kadın	53	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Erkek	49	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Kadın	39	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Kadın	35	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Erkek	34	Yağlı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Kadın	59	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Kadın	34	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Kadın	36	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Kadın	24	Yağlı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Kadın	20	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Kadın	34	Yağlı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Kadın	23	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Erkek	27	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Kadın	25	Yağlı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Kadın	54	Karma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- ciltte bir reaksiyon olmadığını ifade etmektedir

Dermatolojik testlerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda test edilen bütün arı zehirli kremlerin herhangi bir iritasyon ve alerjiye sebep olmayarak dermatolojik olarak uygun oldukları sonucuna varıldı.

Arı zehrinin cilt üzerinde oluşturabileceği hassasiyet üzerine yapılan bir araştırmada domuzlar üzerinde deri tahrişi çalışmaları yapılmıştır. Çalışma kapsamında arı zehri liyofilize edilerek kullanılmıştır. Deri tahrişi çalışmasında pozitif kontrol grubu %80 etanol ve asetona maruz bırakılırken arı zehri uygulanan gruba ise 10 mg/ml olacak şekilde yama uygulaması yapılmıştır. İndüksiyon bir hafta aralıklar üç kez olmak üzere sol ve sağ taraflarda tekrarlanmıştır. Arı zehri uygulanan grupta ödem ile değerlendirilen ortalama cilt reaksiyonu ve hassasiyet oranı %0 bulunarak pozitif kontrol grubuna oranla önemli derecede düşük bulunarak zayıf hassaslaştırma oranını temsil etmektedir. Çalışma sonucunda arı zehrinin kozmetik ürünlerde topikal olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır [48]. Bu çalışma arı zehrinin dermatolojik olarak uygunluğunu ve kremlerde

kullanılabilecek bir bileşen olduğunu doğrulamaktadır. Aynı zamanda arı zehrinin hayvanlarda cilt duyarlılığını uyarmadığı, cilt tarafından iyi tolere edildiği ve dermal bir tahriş tehdit oluşturmaması da arı zehri içerikli kremlerin insanlar üzerinde dermatolojik uygunluğunu doğrular niteliktedir.

Arı zehrinin cilt üzerindeki tahrişinin incelendiği başka bir çalışmada ise tavşanların deri ve göz mukoza membranlarına arı zehri uygulaması yapılmıştır. Tavşanlarda oluşturulan deri tahrişi testi için altı denek üzerinde sol tarafa damıtılmış su ile negatif kontrol olarak kullanılırken sağ taraf gazlı bez ile 0,5 ml arı zehrine maruz bırakılarak pozitif kontrol oluşturulmuştur. Uygulamanın birinci ve üçüncü günlerinde cilt durumları eritem, eskar ve ödem açısından değerlendirilmiştir. Göz tahrişi için ise dokuz denek oküler tahrişe maruz bırakılmıştır. Deneklerin sol gözü kontrol olarak 0,1 ml steril su ile yıkanırken sağ gözleri ise 0,1 ml arı zehri ile yıkanmıştır. Çalışma sonucunda arı zehri uygulanan tavşanlarda üç gün sonunda herhangi bir tahriş gözlenmemiştir [49]. Bu çalışma ile arı zehrinin ciltte herhangi bir iritasyona sebep olmayarak arı zehri içerikli kremlerin dermatolojik test sonuçlarını desteklemektedir.

Arı zehri ve propolisin lokalize plak psoriasis hastalığı üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada arı zehirli ve propolisli kremin hastalar üzerindeki yan etkilerine bakılmıştır. Çalışma sürecinde toplam 48 hastanın 6 tanesinde genel kaşıntı yaşanmıştır. Fakat bu kaşıntı çalışmadan ayrılacak kadar ağır geçmediği ve birkaç hafta içerisinde kendiliğinden geçtiği belirtilmiştir. Yapılan rutin kontrollerde hiçbir hastada arı zehri ve propolisli kremin sistemik bir yan etkisinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır [52]. Atopik dermatit hastalığı üzerine yapılan başka bir çalışmada 136 denek üzerinde arı zehri içeren bir yumuşatıcı ile arı zehri içermeyen yumuşatıcı 4 hafta süre ile denenmiştir. Arı zehri içeren ve içermeyen yumuşatıcıların etkileri karşılaştırıldığı zaman her iki grupta da iritasyon, kaşıntı, kızarıklık ürtiker ve hastalığın alevlenmesi gibi yan etkiler görülmüştür. Bu yan etkilerin hafif şiddetli olduğu ve tedavi gerektirmeden günlük aktiviteleri aksatmadığı gözlenmiştir [185]. Bu çalışmalar kapsamında arı zehrinin cilt üzerinde bazı etkilere sebep olabileceği görüldü. Fakat arı zehri içermeyen kremlerde de bu tarz yan etkiler görüldüğü için arı zehri ve propolisin bu tarz etkilere sebebiyet vermediği söylenebilir. Sonuç olarak arı zehirli kremlerin dermatolojik olarak uygun olduğu söylenebilir.

Yaşlanma sonucu ortaya çıkan kırışıklık için arı zehirli serum geliştirilen bir çalışma incelendiğinde içerisinde %0,006 oranında arı zehri kullanıldığı görülmüştür. Geliştirilen

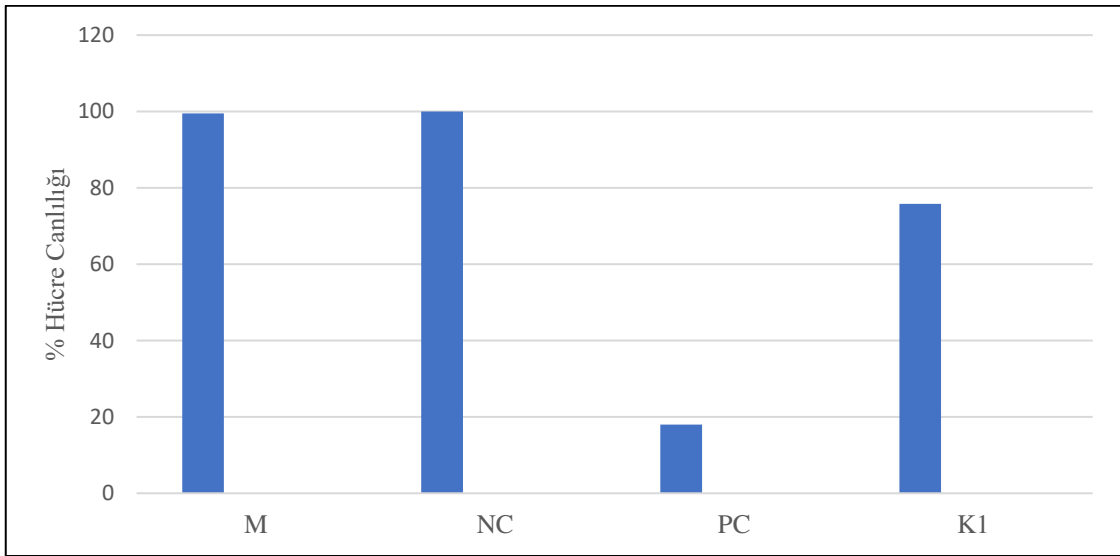
serumun içeriğinde arı zehrinin yanı sıra su, bütülen glikol, alkol, PEG, metilparaben, sodyum sitrat, koku, EDTA, allantoin ve sitrik asit bulunmaktadır. Çalışma sonucunda toplam kırıxıklık ve ortalama kırıxıklık derinliğinin azaltıldığı sonucuna varılmıştır [65]. Aynı içeriğe sahip serumun akne üzerine etkileri mikroskobik olarak ve 12 denekte randomize çift-kör çalışma yapılarak incelenmiştir. Arı zehirli serumun zehri içermeyen kontrol grubuna oranla lezyon sayısı ve ciltteki mikroorganizma konsantrasyonu açısından önemli derecede etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda arı zehirli uygulamaların akne için kullanılabileceği öngörölmüştür [163]. Geliştirdiğimiz yüz kremi formölasyonu kapsamında arı zehri jelde bulunan kimyasal ve koruyucuların hiçbiri bulunmayarak doğal bileşenlerle koruma sağlandı. Ayrıca %0,006 oranında zehir içeren jele oranla formölasyonlarımızda %0,1'lik zehir kullanılarak krem formölasyonları hazırlandı. Bu şekilde jelde sağlanan kırıxıklık önleyici ve akneye karşı sağlanan aktivitenin kremlerde de olacağı ve yüksek dozda zehir içeriği ile daha etkili olabileceği sonucuna varılabilir.

Arı ürünlerinin beraber kullanılarak krem yapımını inceleyen bir çalışmada arı ürünlerinin çeşitli konsantrasyonlardaki etkisi geliştirilen 12 formölasyon için 24 gönöüllüde ön kolun volar kısmına uygulanarak test edilmiştir. Çalışma kapsamında formölasyonlar nemlendirme etkisi, bariyer özellikleri, organoleptik özellikler, renk ve yayılabilirlik ve epidermal su kaybını azaltma yeteneği gibi parametreler kullanılarak değerlendirilmiştir. Formölasyonlarda emölسیون bazı olarak su, parafin, stearil alkol, laureth 4, sodyum hidroksit, karbomer, metilparaben ve propilparaben kullanılmıştır. Arı ürünleri olarak %5-10 bal, %1-3 balmumu, %0,5 arı sütü ve %1 propolis kullanılmıştır. Fakat çalışma kapsamında sitotoksik etki, hassas ciltte dermatolojik analiz, antioksidan özelliklerin değerlendirilmesi, alerjen ve stabilite analizleri incelenmemiştir. Çalışma sonucunda özellikle bal olmak üzere arı ürünleri içeren kremin ciltte tahriş içermeyen çok iyi bir nemlendirme sağladığı sonucuna varılmıştır. Bal, balmumu, arı sütü ve propolis içeyikli formölasyonların cilde uygulanması ile cilt pH'ında herhangi bozulma olmadığı ve tedavi edilen ciltte tahriş edici bir reaksiyon gelişmediği görölmüştür [161]. Böylece arı zehrinin yanı sıra diğer arı ürünlerini de içeren kremlerin cilt üzerinde bir reaksiyona sebebiyet vermemesi desteklenir niteliktedir. Tez kapsamında bunlara ilaveten arı zehri de bulundurarak içerisinde kimyasalları içermeyen vücut kremi geliştirilerek bu çalışma ile nemlendirme özelliğinin bulunduğu sonucuna varılabilir.

4.6.5. Sitotoksisite Testi

Sitotoksisite testi için hücre kültürlerinin krem örneklerine maruz bırakılarak negatif kontrole göre hücre ölümüne sebep olma potansiyeli kantitatif olarak incelendi. M (medium), NC (negatif kontrol), PC (pozitif kontrol) ve K1 (arı zehirli krem numunesi) kontrol gruplarının hücre canlılıkları % olarak gösterildi. Negatif kontrol grubunda zon oluşum derecesi 0 ve pozitif kontrol grubunda zon derecesi 4 olarak bulundu.

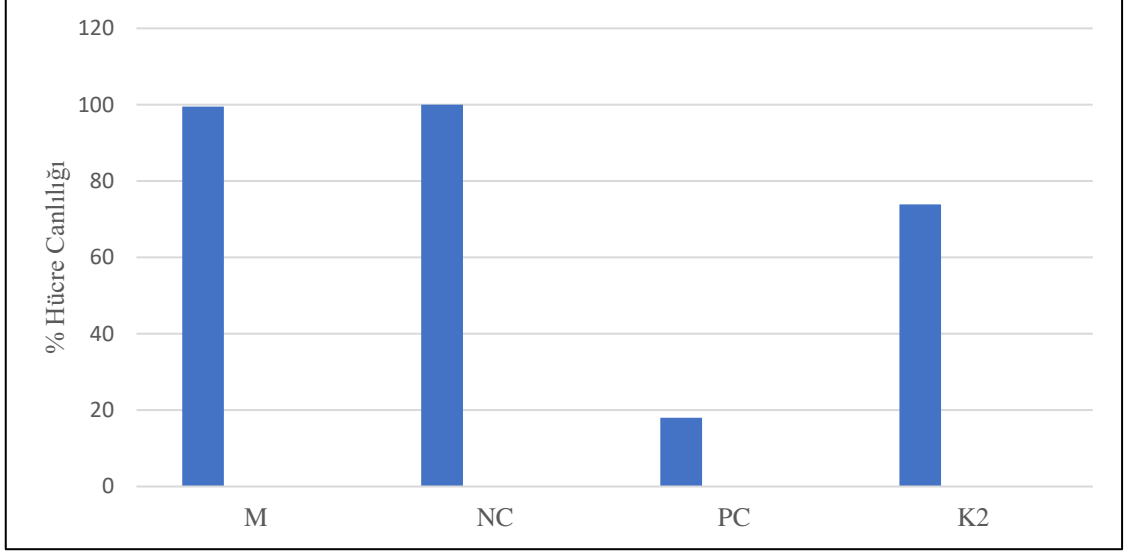
Arı zehirli el kreminde numune canlılığı negatif kontrole oranla %75,79 olarak bulundu (Şekil 4.21). Arı zehirli el kreminin direkt uygulandığı kuyucuklarda zon oluşumu derecesi 1 olarak gözlemlendi.



M: Medyum kontrol, NC: Negatif kontrol (PBS), PC: Pozitif kontrol (SDS), K1: Arı zehirli el kremi

Şekil 4.21. Arı zehirli el kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı.

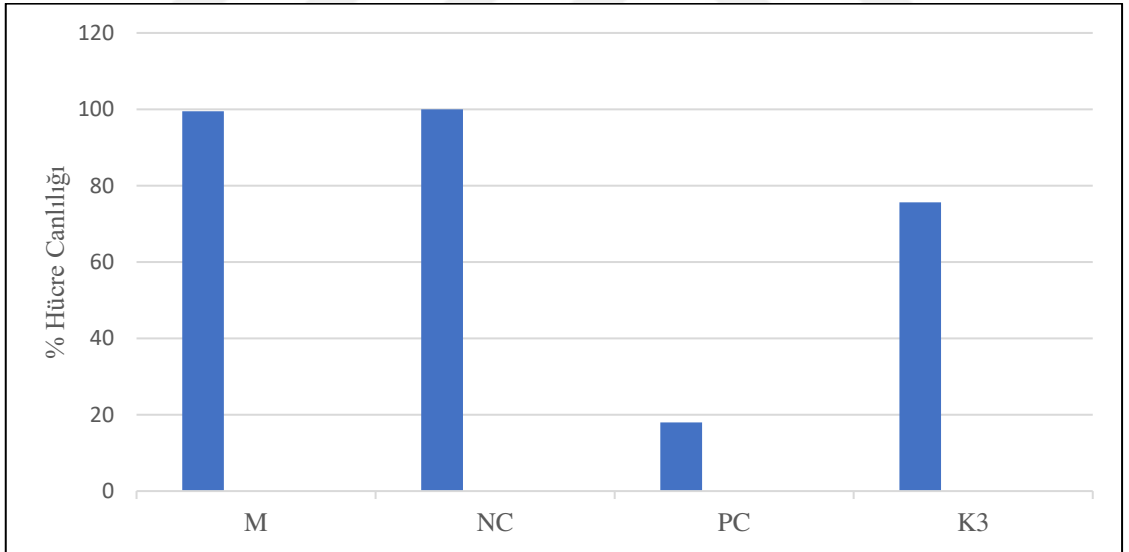
Arı zehirli ayak kreminde yapılan sitotoksisite analizi sonucunda hücre canlılığı %73,78 olarak bulundu (Şekil 4.22). Arı zehirli ayak kreminin direkt uygulandığı kuyucuklarda zon oluşumu derecesi 1 olarak gözlemlendi.



M: Medyum kontrol, NC: Negatif kontrol (PBS), PC: Pozitif kontrol (SDS), K2: Arı zehirli ayak kremi

Şekil 4.22. Arı zehirli ayak kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı.

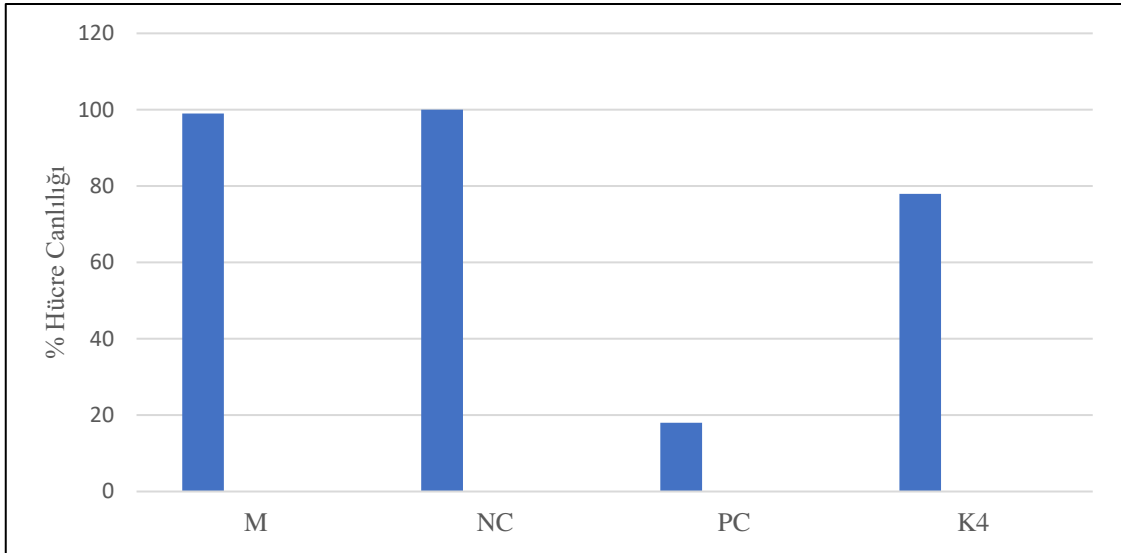
Arı zehirli yüz kreminde yapılan sitotoksisite analizi sonucunda hücre canlılığı %75,62 olarak bulundu (Şekil 4.23). Arı zehirli yüz kreminin direkt uygulandığı kuyucuklarda zon oluşumu derecesi 1 olarak gözlemlendi.



M: Medyum kontrol, NC: Negatif kontrol (PBS), PC: Pozitif kontrol (SDS), K3: Arı zehirli yüz kremi

Şekil 4.23. Arı zehirli yüz kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı.

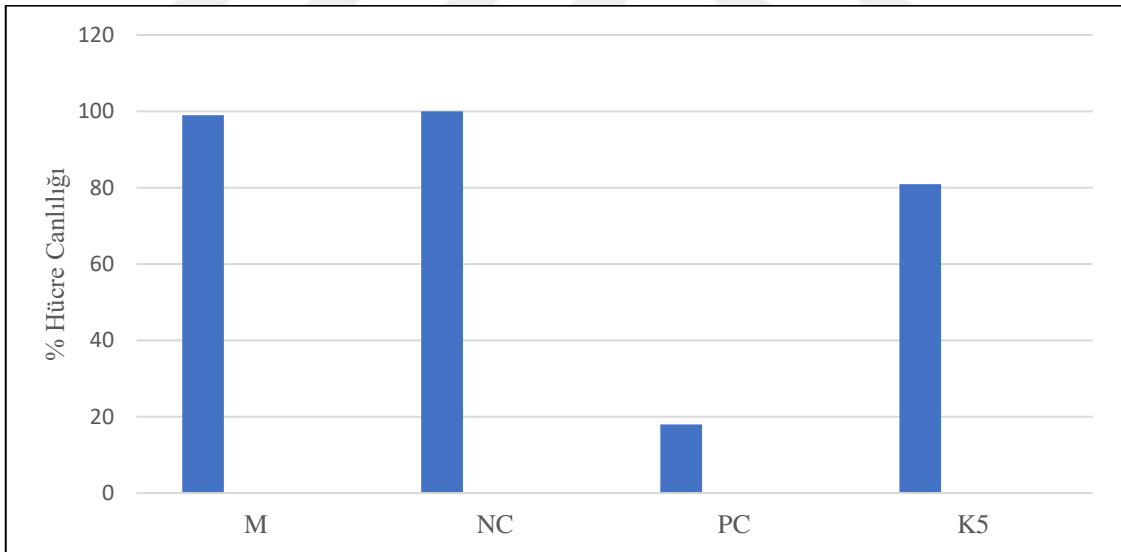
Arı zehirli vücut kreminde yapılan sitotoksisite analizi sonucunda hücre canlılığı %77,95 olarak bulundu (Şekil 4.24). Arı zehirli vücut kreminin direkt uygulandığı kuyucuklarda zon oluşumu derecesi 1 olarak gözlemlendi.



M: Medyum kontrol, NC: Negatif kontrol (PBS), PC: Pozitif kontrol (SDS), K4: Arı zehirli vücut kremi

Şekil 4.24. Arı zehirli vücut kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı.

Arı zehirli eklem kreminde yapılan sitotoksikite analizi sonucunda hücre canlılığı %80,93 olarak bulundu (Şekil 4.25). Arı zehirli eklem kreminin direkt uygulandığı kuyucuklarda zon oluşumu derecesi 1 olarak gözlemlendi.



M: Medyum kontrol, NC: Negatif kontrol (PBS), PC: Pozitif kontrol (SDS), K5: Arı zehirli eklem kremi

Şekil 4.25. Arı zehirli eklem kreminde negatif ve pozitif kontrole oranla % canlılığı.

Numunelerin nicel değerlendirilmesinde hücre canlılığı negatif kontrole kıyasla %70'in üzerinde tespit edildiği için krem örneklerinin sitotoksik olmadığı belirlendi. Nitel değerlendirmelerde 2'den daha büyük derecelendirme değeri sitotoksik etki olarak kabul edilmektedir. Numuneler direkt uygulandığında nitel değerlendirme sonucunda zon oluşum derecesi 1 olarak gözlemlendi.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda test edilen bütün arı zehirli kremlerin sitotoksik olmadığı sonucuna varıldı (Ek 5).

Arı zehri ile yapılan bir çalışmada içeriğinde %0,06 oranında zehir bulunan bir jel geliştirilerek arı zehrinin fototoksitesini ve fotosensitivitesini belirlenip topikal dermatolojik kullanımının cilde zararı araştırılmıştır. Domuzlar üzerinde gerçekleştirilen testler sonucunda arı zehirli jel tarafından hiçbir deri fototoksitesi indüklenmemiştir. Ayrıca cildin ışığa duyarlı hale getirme çalışması sonucunda da herhangi bir cilt reaksiyonu gelişmemiştir. Çalışma sonucunda arı zehirli jelin insanlarda güvenle kullanılabileceği düşünülmektedir [186]. Bu çalışma sitotoksikite testlerimizin sonuçlarını destekler niteliktedir ve arı zehirli kremlerin sitotoksik bir etkiye sahip olmadığını göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez kapsamında içindeki arı zehri ile hücrelerin kendilerini yenilemesini ve ağrı hissini azaltmasını sağlayan farklı yoğunluklarda yüz, vücut, ayak, el ve eklem kremleri geliştirilmiştir. Yapılan çalışma kapsamında ilk olarak anlaşmalı arıcılardan 6 farklı arı zehri temin edildi. Arı zehirlerinin temini gerçekleştirildikten sonra fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirildi. Fiziksel analizler sonucunda bütün arı zehirleri uygun olarak bulunurken yapılan kimyasal analizler sonucunda melittin için 1, 3 ve 4 numaralı; apamin için 5 numaralı ve fosfolipaz A2 için 1, 4 ve 6 numaralı arı zehri örnekleri uygun değerler aralığında bulundu. Zehirlerin şeker içerikleri incelendiğinde glikoz, fruktoz ve sakkaroz değerleri açısından 1,3 ve 4 numaralı zehirlerin yakın değerlere sahip olduğu görülürken arı zehri 5'in en yüksek glikoz ve fruktoz içeriğine sahip olduğu bulundu. Kimyasal analizler sonucunda arı zehri 1, arı zehri 3 ve arı zehri 4'ün krem üretimi için uygun olduğu sonucuna varıldı. Mikrobiyolojik analizler sonucunda ise arı zehri 1'de gelişme gözlemlendiği için krem formülasyonlarında arı zehri 4'ün kullanılmasına karar verildi. Seçilen arı zehri ile 3 farklı yoğunluk ve 3 farklı arı zehri konsantrasyonunda 5 çeşit olmak üzere toplamda 45 ürün prototip olarak üretildi. 10 farklı gönüllü üzerinde beğeni testi yapıldı. Gönüllüler üzerinde yapılan denemeler ve 1 ay sonunda ürünlerde gözlenen duysal değişiklikler göz önünde bulundurularak son krem formüllerine karar verildi. Yapılan testler sonucunda yüz ve vücut kremleri için yumuşak, el ve ayak kremleri için orta ve eklem kremi için sert yoğunluklu formülasyonlar tercih edildi. Seçilen formülasyonlar ile yüz, vücut, ayak, el ve eklem olmak üzere 5 krem için prototip krem üretimi gerçekleştirildi. Geliştirilen prototip krem üzerinde stabilite testi yapılarak uygun çıkanlar için antioksidan etki, alerjen, sitotoksosite ve dermatolojik teste tabi tutuldu.

Geliştirilen tüm formülasyonların stabilite testi uygun bulundu ve test sonucuna göre kremin kapağı açıldıktan 12 aya kadar kullanılabileceği sonucuna varıldı. Antioksidan etki analizi sonucunda el kremi için %71,94, ayak kremi için %70,98, yüz kremi için %85,44, vücut kremi için %86,72 ve eklem kremi için %80,23 antioksidan etkiye sahip olduğu bulundu. Literatürdeki benzer ürünlerle antioksidan özellikleri karşılaştırıldığında üretilen kremlerin antioksidan etkisinin yüksek olduğu sonucuna varıldı [112, 183].

Kremlerde yapılan alerjen testlerine göre arı zehri kremlerinde alerjen bileşenlerin olmadığı sonucuna varıldı. Dermatolojik test kapsamında gerçekleştirilen patch testi sonucuna göre kremlerin ciltte herhangi bir reaksiyona, irritasyon ve alerjiniteye sebep olmadığı sonucuna varılarak dermatolojik olarak uygunluğu doğrulandı. Sitotoksisite analizi sonucunda kremlerin sitotoksik olmadığı sonucuna varıldı.

Sonuç olarak ülkemizde üretilen arı ürünlerinin gıda alanına ek olarak kozmetik sektöründe de değerlendirilebileceği böylece katma değerinin de daha da arttırılacağı yapılan çalışma ile gösterildi. Bal, arı sütü ve propolise ek olarak birçok özelliği ile önemli ve doğal bir bileşen olan arı zehrinin etkilerinden yararlanmak adına bu çalışma kapsamında yüz, vücut, el, ayak ve eklem kremleri geliştirildi. Bilinen birçok etkisi ile arı zehrinin, hazırlanan krem formülasyonlarında yapılan çeşitli analizler ile krem formülasyonlarına olan uygunluğu incelendi. Piyasada bulunan arı zehri içeren kremler genellikle yüz kremi olarak satılmaktadır ve içeriğinde propolis, arı sütü ve bal gibi yardımcı bileşenler bulunmamaktadır. Ayrıca piyasada bulunan arı zehri içerikli ürünlerde arı zehri içeriği tam olarak belirtilmemektedir. Bu nedenle, teze konu olan arı zehirli kremin piyasadaki kremlerle arı zehri içeriği açısından karşılaştırma yapılarak değerlendirilmesi mümkün olmamaktadır. Arı zehri kremlerde arı zehri içeriğinin bir belirteci olarak melittinin saptanması ve miktarının belirlenmesi için literatürde geliştirilen bir yöntem mevcuttur [187]. Bu sayede arı zehri içerikli kremlerin arı zehri oranları melittin içerikleri ile karşılaştırılabilir.

Geliştirilen kremlerin dermatolojik olarak herhangi bir irritasyon ve alerjiye neden olmaması ve yüksek antioksidan etkiye sahip olması, kozmetik sektöründeki benzer ürünlerle karşılaştırıldığında önemli bir avantaj olarak değerlendirilebilmektedir. Özellikle hassas ciltli tüketici grubu açısından ilgi odağı olacağı öngörülmektedir. Ürünün ticarileştirilmesinde yaşlanma karşıtı, UV koruma, akne tedavilerindeki etkisinin araştırılması için analizlere devam edilmesi ve ürünün beyan üzerindeki etkinliğinin incelenmesi geliştirilen kremin özelliklerini daha iyi tanımlanmasına yardımcı olacaktır. Etkinlik düşük bulunduğu takdirde formülasyonlardaki arı zehri içeriği arttırılmalı ve bunu takip eden analizler tekrarlanarak etkinlik değerlendirilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- [1] TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, "Arı ürünleri ve kullanım alanları," *Türkiye II. Teknik Arıcılık Kongresi*, Ankara, Türkiye, 1995, ss. 185-195.
- [2] İ. Tekeoğlu, S. Kaleli ve M. Akdoğan, "Apiterapi ve arı zehiri akupunktur," *Ankara Akupunktur ve Tamamlayıcı Tıp Dergisi*, c., 4, s., 2, ss., 30-36, 2016.
- [3] A. Korkmaz ve V. Korkmaz, *Arı Zehiri Üretimi ve Apiterapi*, 1. baskı, Samsun, Türkiye: Samsun İli Arı Yetiştiricileri Birliği, 2015, s. 1.
- [4] P. Ö. Süzer, *Farmakoloji Ders Kitabı*, 3. baskı, İstanbul, Türkiye: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 2008, ss. 1-43.
- [5] C. A. Dinarello, "Anti-inflammatory agents: present and future," *Cell*, c., 140, s., 6, ss., 935–950, 2010, doi: 10.1016/j.cell.2010.02.043.
- [6] S. Bogdanov, "Bee venom : composition , health , medicine : a review," *Bee Product Science*, ss. 1–24, 2017.
- [7] E. Derebaşı ve E. Canbakal, "Arı zehrinin kimyasal yapısı ve tıbbi çalışmalarda kullanımı," *Arıcılık Araştırma Dergisi*, c. 1, s. 2, ss. 32-34.
- [8] E. Karaaslan ve E. Derebaşı. (2020 28 Ocak). *Arı zehrinin kimyasal yapısı ve insan sağlığı üzerine etkileri* [Online]. Erişim: <https://slideplayer.biz.tr/slide/2721038/>.
- [9] L. Altıntaş ve N. Bektaş, "Apiterapi: 1. arı zehri," *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c., 19, s., 1, ss., 82–95, 2019.
- [10] R. Wehbe, J. Frangieh, M. Rima, D. El Obeid, J. M. Sabatier, and Z. Fajloun, "Bee venom: Overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests," *Molecules*, c., 24, s., 16, ss., 1–13, 2019, doi: 10.3390/molecules24162997.
- [11] A. K. Sığ, M. Güney, Ö. Öz Sığ ve H. Şan, "Arı zehri: Tıbbi bakış," *Turkish Journal Clinics and Laboratory*, c., 10, s., 3, ss., 414–421, 2019, doi: 10.18663/tjcl.451586.
- [12] M. Lee, T. Sun, W. Hung, ve H. W. Huang, "Process of inducing pores in membranes by melittin," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, c., 110, s., 35, ss., 14243–14248, 2013, doi: 10.1073/pnas.1307010110.
- [13] M. Abdu ve A. M. Ali, "Studies on bee venom and its medical uses," *International Journal of Advancements in Research & Technology*, c., 1, s., 2, ss., 1–15, 2012.
- [14] A. Hegazi, A. M. Abdou, S. I. Moez ve F. A. Allah, "Evaluation of the Antibacterial Activity of Bee Venom from Different Sources," *World Applied Sciences Journal*, c., 30, s., 3, ss., 266–270, 2014.
- [15] C. Wang, T. Chen, N. Zhang, M. Yang, B. Li, X. Lü, X. Cao, ve C. Ling, "Melittin, a major component of bee venom , sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (trail) -induced apoptosis by activating CAMKII-TAK1-JNK / p38 and inhibiting IκBα kinase-NFκB," *Journal of Biological Chemistry*, c., 284, s., 6, ss., 3804–3813, 2009.

- [16] A. F. Ağan ve M. Kekeçoğlu, “Melittin ve kanser tedavisi: nanoteknolojik bakış açısı,” *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c., 20, s., 2, ss., 221-231, 2020.
- [17] J. L. Hood, A. P. Jallouk, N. Campbell, L. Ratner, ve S. A. Wickline, “Cytolytic nanoparticles attenuate HIV-1 infectivity,” *Antiviral Therapy*, c., 18, s., 1, ss., 95–103.
- [18] G. Lee ve H. Bae, “Anti-inflammatory applications of melittin, a major component of bee venom: Detailed mechanism of action and adverse effects,” *Molecules*, c., 21, s., 5, ss., 1-10.
- [19] S. J. Kim, J. H. Park, K. H. Kim, W. R. Lee, S. C. Pak, S. M. Han, ve K. K. Park, “The protective effect of apamin on LPS/fat-induced atherosclerotic mice,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, c., 2012, 2012 doi: 10.1155/2012/305454.
- [20] M. Moreno ve E. Giralt, “Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan,” *Toxins*, c., 7, s., 4, ss., 1126–1150, 2015, doi: 10.3390/toxins7041126.
- [21] B. E. C. Banks, E. Dempsey, A. Vernon, A. Warner, ve J. Yamey, “Anti-inflammatory activity of bee venom peptide 401 (mast cell degranulating peptide) and compound 48 / 80 results from mast cell degranulation in vivo,” *British Journal of Pharmacology*, c., 99, s., 2, ss., 350–354, 1990.
- [22] J. Jeong, M. Moon, B. Bae, Y. Lee, J. Seol, ve S. Park, “Bee venom phospholipase A2 prevents prion peptide induced-cell death in neuronal cells,” *International Journal of Molecular Medicine*, c., 28, s., 5, ss., 867–873, 2011, doi: 10.3892/ijmm.2011.730.
- [23] H. M. Doery ve J. E. Pearson, “Phospholipase B in snake venoms and bee venom,” *Biochemical Journal*, c., 92, s., 3, ss., 599-602, 1964.
- [24] L. I. Butenko, S. A. Kuleshova, J. V. Podgornaya, L. P. Myikots, ve A. B. Dmitriev, "Physico-chemical studies of apitoxin and products on its basis," *Pharmacy & Pharmacology*, c., 6, s., 4, ss., 351-366 ,2018.
- [25] M. Hossen, U. M. Shapla, S. H. Gan, ve M. Khalil, “Impact of bee venom enzymes on diseases and immune responses,” *Molecules*, c., 22, s., 1, ss., 25, 2017. doi: 10.3390/molecules22010025.
- [26] The American Apitherapy Society Inc. (2020, 13 Mayıs). *What is apitherapy* [Online]. Erişim: <https://apitherapy.org/what-is-apitherapy/>.
- [27] D. Onbaşı, G. Y. Çelik, S. Kahraman ve M. Kanbur, “Apiterapi ve insan sağlığı üzerine etkileri,” *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, c. 16, s. 1, ss. 49-56, 2019. doi: 10.32707/ercivet.538001.
- [28] S. Wongsiri, “Special article a brief introduction to apitherapy health care,” *Journal of Thai Traditional and Alternative Medicine*, c.,6, s., 3, ss., 303-312, 2008.
- [29] R. Marz, C. Mollay, ve G. Kreil, “Queen bee venom contains much less phospholipase than worker bee venom,” *Insect Biochemistry*, c., 11, s., 6, ss., 685–690, 1981.
- [30] S. Shulman, C. Langlois, ve C. E. Arbesman, “The allergic response to stinging insects,” *Journal of Allergy*, c., 35, s., 5, ss., 446-463, 1964.

- [31] H. K. Hsianci ve W. B. Elliott, "Short communication differences in honey bee (*apis mellifera*) venom obtained by venom sac extraction and electrical milking," *Toxicon*, c., 13, s., 2, ss., 145–148, 1975.
- [32] G. Roney, "Venom collection from honey bees," *Science*, c., 142, s., 3589, ss., 228-230, 1963.
- [33] K. M. Mohanny, "The efficacy of a new modified apparatus for collecting bee venom in relation to some biological aspects of honeybee colonies," *Journal of American Science*, c., 9, s., 10, ss., 1-7, 2013.
- [34] T. C. Kalkınma Bakanlığı. (2020, Mayıs 20). *Üretici rehberi-arıcılık* [Online]. Erişim: <http://www.kop.gov.tr/upload/dokumanlar/218.pdf>.
- [35] FAO. (2020, 20 Mayıs). *Apitherapy* [Online]. Erişim: <http://www.fao.org/3/i0842e/i0842e14.pdf>
- [36] E. S. Chung, H. Kim, G. Lee, S. Park, H. Kim ve H. Bae, "Neuro-protective effects of bee venom by suppression of neuroinflammatory responses in a mouse model of Parkinson's disease: Role of regulatory T cells," *Brain, Behavior, and Immunity*, c., 26, s., 8, ss., 1322-1330, 2012, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.08.013>.
- [37] M. Carpena, B. N. Estevez, A. S. Lopez ve J. S. Gandara, "Bee venom: an updating review of its bioactive molecules and its health applications," *Nutrients*, c., 12, s., 11, ss., 3360, 2020, doi: 10.3390/nu12113360.
- [38] S. Bogdanov, "Functional and biological properties of the bee products : a review," *Bee Product Science*, ss., 1–12, 2011.
- [39] M. C. Kiernan, S. Vucic, B. C. Cheah, M. R. Turner, A. Einsen, O. Hardiman, J. M. Burrell, ve M. C. Zoing, "Amyotrophic lateral sclerosis," *Lancet*, c., 377, s., 9769, ss., 942–955, 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(10)61156-7.
- [40] E. J. Yang, J. H. Jiang, S. M. Lee, S. C. Yang, H. S. Hwang, M. S. Lee, ve S. M. Choi, "Bee venom attenuates neuroinflammatory events and extends survival in amyotrophic lateral sclerosis models," *Journal of Neuroinflammation*, c., 7, s., 69, ss., 1–12, 2010.
- [41] B. S. Connolly, ve A. E. Lang, "Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review." *Jama*, c., 311, s., 16, ss., 1670-1683, 2014. doi: 10.1001/jama.2014.3654.
- [42] A. R. Doo, S. T. Kim, S. N. Kim, W. Moon, C. S. Yin, Y. Chae, H. K. Park, H. Lee, ve H. J. Park, "Neuroprotective effects of bee venom pharmaceutical acupuncture in acute 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced mouse model of Parkinson's disease." *Neurological research*, c., 32, no 1, ss., 88-91, 2010.
- [43] K. Ts, M. Ambaga, ve C. Ch, "Effect of honey bee venom (*apis mellifera*) on hyperglycemia and hyperlipidemia in alloxan induced diabetic rabbits," *Diabetes & metabolism*, c., 6, s., 3, ss., 3–6, 2015, doi: 10.4172/2155-6156.1000507.
- [44] S. M. Han, K. G. Lee, J. H. Yeo, ve S. C. Pak, "Dermal and ocular irritation studies of honeybee (*apis mellifera* l .) venom," *The American Journal of Chinese Medicine*, c., 40, s., 4, ss., 795–800, 2012, doi: 10.1142/S0192415X12500590.
- [45] H. Nazik, M. Turhan, T. T. Koca, M. K. Mülayim, P. Öztürk ve S. Nazik, "Arıcılarda arı ürünlerine maruziyet ile allerji , inflamasyon ve enfeksiyon ilişkili

- durumların araştırılması,” *KSÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, c., 13, s., 2, ss., 34–37, 2018.
- [46] T. C. Sağlık Bakanlığı. (2020, 4 Haziran). *Apiterapi Uygulaması Hakkında Bilgilendirme* [Online]. Erişim: <https://getatportal.saglik.gov.tr/TR,24674/apiterapi-uygulamasi-hakkinda-bilgilendirme.html>.
- [47] H. Kim, S. Y. Park ve G. Lee, “Potantial therapeutic applications of bee venom on skin disease and its mechanisms: a literature review,” *Toxins*, c., 11, s., 7, ss., 374, 2019, doi: <https://doi.org/10.3390/toxins11070374>.
- [48] E. Birben ve C. Saçkesen, “Allerjik enflamasyon,” *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, c., 57, s., 1 ss., 35–49, 2014.
- [49] S. M. Han, G. G. Lee, ve K. K. Park, “Skin sensitization study of bee venom (apis mellifera l .) in guinea pigs,” *Official Journal of Korean Society of Toxicology*, c., 28, s., 1, ss., 1–4, 2012.
- [50] Deri ve Zührevi Hastalıklar Derneği. (2020, 9 Haziran). *Sedef hastalığı ve tedavisi* [Online]. Erişim: <http://turkderm.org.tr/menu/79/sedef-hastaligi-ve-tedavisi>.
- [51] D. M. Ashcroft, A. L. W. Po, ve C. E. M. Griffiths, “Therapeutic strategies for psoriasis,” *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, c., 25, s., 1, ss., 1–10, 2000.
- [52] A. G. Hegazi, F. A. A. Raboh, N. E. Ramzy, D. M. Shaaban, ve D. Y. Khader, “Bee venom and propolis as new treatment modality in patients with localized plaque psoriasis,” *International Research Journal of Medicine and Medical Science*, c., 1, s., 1, ss., 27–33, 2013.
- [53] S. Han, K. Lee, J. Yeo, W. Kim, ve K. Park, “Biological effects of treatment of an animal skin wound with honeybee (Apis melifera . L) venom,” *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, c., 64, s., 3, ss., e67–e72, 2011, doi: 10.1016/j.bjps.2010.08.022.
- [54] L. F. Eichenfield, C. N. Ellis, A. J. Mancini, A. S. Paller, ve E. L. Simpson, “Atopic dermatitis : Epidemiology and pathogenesis update,” In *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, c., 31, s., 3, ss., S3–S5, 2012, doi: 10.1016/j.sder.2012.07.002.
- [55] D. M. Paton, “Compound 48 / 80 : a potent hitamine liberator,” *British Journal of Pharmacology*, c., 6, s., 3, ss., 499–508, 1951.
- [56] K. Kim, W. Lee, H. An, J. Kim, H. Chung, S. Han, M. Lee, K. Lee, S. C. Pak, ve K. Pak, “Bee venom ameliorates compound 48 / 80-induced atopic dermatitis-related symptoms,” *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, c., 6, s., 12, ss., 2896–2903, 2013.
- [57] T. N. Mak, N. Fischer, B. Laube, V. Brinkmann, M. M. E. Metruccio, K. S. Sfanos, H. Mollenkopf, T. F. Meyer, ve H. Brüggemann, “Propionibacterium acnes host cell tropism contributes to vimentin-mediated invasion and induction of inflammation,” *Cellular Microbiology*, c., 14, s., 11, ss., 1720–1733, 2012, doi: 10.1111/j.1462-5822.2012.01833.x.
- [58] A. L. Perry ve P. A. Lambert, “Propionibacterium acnes,” *Letters in Applied Microbiology*, c., 42, s., 3, ss., 185–188, 2006, doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01866.x.

- [59] H. An, W. Lee, K. Kim, J. Kim, S. Lee, S. Han, K. Lee, C. Lee, ve K. Park, "Inhibitory effects of bee venom on *Propionibacterium acnes* - induced inflammatory skin disease in an animal model," *International Journal of Molecular Medicine*, c., 34, s., 5, ss., 1341–1348, 2014, doi: 10.3892/ijmm.2014.1933.
- [60] S. Jeon, N. H. Kim, B. S. Koo, H. J. Lee, ve A. Y. Lee, "Bee venom stimulates human melanocyte proliferation, melanogenesis, dendricity and migration," *Experimental and Molecular Medicine*, c., 39, s., 5, ss., 603–613, 2007, doi: 10.1038/emmm.2007.66.
- [61] Y. G. Kim, M. Sumiyoshi, M. Sakanaka, ve Y. Kimura, "Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng on ultraviolet B-induced skin aging in hairless mice," *European Journal of Pharmacology*, c., 602, s., 1, ss., 148–156, 2009, doi: 10.1016/j.ejphar.2008.11.021.
- [62] S. K. Katiyar, B. M. Bergamo, P. K. Vyalil, ve C. A. Elmets, "Green tea polyphenols: DNA photodamage and photoimmunology," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, c., 65, s., 2-3, ss., 109-114, 2001, doi: [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(01\)00248-2](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(01)00248-2).
- [63] S. Han, K. Lee, J. Yeo, H. Kweon, S. Woo, M. Lee, H. Baek, ve K. Park, "Inhibitory effect of bee venom against ultraviolet B induced MMP-11 and MMP-3 in human dermal fibroblasts Inhibitory effect of bee venom against ultraviolet B induced MMP-1 and MMP-3 in human dermal fibroblasts," *Journal of Apicultural Research*, c., 46, s., 2, ss., 94-98, 2007, doi: 10.1080/00218839.2007.11101374.
- [64] C. S. Choi, J. K. Park, C. G. An, E. H. Lee, ve K. J. Ahn, "Multiple benefits of bee venom in aged skin manifestations," *Kor J Aesthet Cosmetol*, c., 13, s., 5, ss., 679–688, 2015.
- [65] S. M. Han, I. P. Hong, S. O. Woo, S. N. Chan, K. K. Park, Y. M. Nicholls, ve S. C. Pak, "The beneficial effects of honeybee-venom serum on facial wrinkles in humans," *Clinical Interventions in Aging*, c., 10, ss., 1587–1592, 2015, doi: 10.2147/CIA.S84940.
- [66] H. Hu, D. Chen, Y. Li, ve X. Zhang, "Effect of polypeptides in bee venom on growth inhibition and apoptosis induction of the human hepatoma cell line SMMC-7721 in-vitro and Balb/c nude mice in-vivo," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, c., 58, s., 1, ss., 83–89, 2006, doi: 10.1211/jpp.58.1.0010.
- [67] M. Jang, M. Shin, S. Lim, S. Han, H. Park, I. Shin, J. Lee, K. Kim, E. Kim, ve C. Kim, "Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299," *Journal of Pharmacological Science*, c., 91, s., 2, ss., 95–104, 2003, doi: 10.1254/jphs.91.95.
- [68] D. Moon, S. Park, M. Heo, K. Kim, C. Park, W. S. Ko, Y. H. Choi, ve G. Kim, "Key regulators in bee venom-induced apoptosis are Bcl-2 and caspase-3 in human leukemic U937 cells through downregulation of ERK and Akt," *International Immunopharmacology*, c., 6, s., 12, ss., 1796–1807, 2006, doi: 10.1016/j.intimp.2006.07.027.
- [69] S. Ip, S. Liao, S. Lin, J. Lin, J. Yang, M. Lin, G. Chen, H. Lu, M. Lin, S. Han, ve J. Chung, "The role of mitochondria in bee venom-induced apoptosis in human breast cancer MCF7 cells," *In Vivo (Brooklyn)*, c., 22, s., 2, ss., 237–246, 2008.

- [70] N. Oršolić, L. Šver, S. Verstovšek, S. Terzić, ve I. Bašić, "Inhibition of mammary carcinoma cell proliferation in vitro and tumor growth in vivo by bee venom," *Toxicon*, c., 41, s., 7, ss., 861–870, 2003, doi: 10.1016/S0041-0101(03)00045-X.
- [71] M. Abdel-Rahman, A. S. Elebiary, S. S. Hafez, H. E. Mohammed, ve A. E. Abdel Moneim, "Therapeutic activity of BEE-stings therapy in rheumatoid arthritis causes inflammation and oxidative stress in female patients," *International Journal of Research In Ayurveda and Pharmacy*, c., 4, s., 3, 2013, doi: 10.7897/2277-4343.04303.
- [72] N. H. Özdağ, S. Mollahaliloğlu, D. Öztaş, ve G. B. Güzeldemirci, "Ağrı tedavisinde akupunkturun yeri," *Ankara Medical Journal*, c., 15, s., 4, ss., 249–253, 2015, doi: 10.17098/amj.43740.
- [73] M. T. Cabioğlu, "Akupunktur ile ağrı kontrolü ve nörotransmitterler," *Genel Tıp Dergisi*, c., 18, s., 2, ss., 93–98, 2008.
- [74] M. S. Lee, M. H. Pittler, B. Shin, J. C. Kong, ve E. Ernst, "Bee venom acupuncture for musculoskeletal pain: a review," *The Journal of Pain*, c., 9, s., 4, ss., 289–297, 2008, doi: 10.1016/j.jpain.2007.11.012.
- [75] Y. Kwon, J. Lee, H. Lee, H. Han, W. Mar, S. Kang, A. J. Beitz, ve J. Lee., "Bee venom injection into an acupuncture point reduces arthritis associated edema and nociceptive responses," *Pain*, c., 90, s., 3, ss., 271–280, 2001.
- [76] J. Lee, H. Park, Y. Chae, ve S. Lim, "An overview of bee venom acupuncture in the treatment of arthritis," *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, c., 2, s., 1, ss., 79–84, 2005, doi: 10.1093/ecam/neh070.
- [77] Y. Kwon, J. Kim, J. Yoon, J. Lee, H. Han, W. Mar, A. J. Beitz, ve J. Lee, "The analgesic efficacy of bee venom acupuncture for knee osteoarthritis: a comparative study with needle acupuncture," *The American Journal of Chinese Medicine*, c., 29, s., 2, ss., 187–199, 2001.
- [78] K. G. Lok ve K. H. Kyun, "An experimental study with bee venom therapy on anti-inflammatory and analgesic effects," *Journal of Acupuncture Research*, c., 15, s., 2, ss., 97–103, 1998.
- [79] S. Yoon, D. Roh, Y. Kwon, H. Kim, H. Seo, H. Han, H. Lee, A. J. Beitz, ve J. Lee, "Acupoint stimulation with diluted bee venom (apipuncture) potentiates the analgesic effect of intrathecal clonidine in the rodent formalin test and in a neuropathic pain model," *The Journal of Pain*, c., 10, s., 3, ss., 253–263, 2009, doi: 10.1016/j.jpain.2008.09.002.
- [80] D. Li, Y. Lee, W. Kim, K. Lee, H. Bae, ve S. K. Kim, "Analgesic effects of bee venom derived phospholipase A2 in a mouse model of oxaliplatin-induced neuropathic pain," *Toxins*, c., 7, s., 7, ss., 2422–2434, 2015, doi: 10.3390/toxins7072422.
- [81] A. Nitecka-Buchta, P. Buchta, E. Tabenska-Bosakowska, K. Walczynska, ve S. Baron, "Myorelaxant effect of bee venom topical skin application in patients with RDC / TMD Ia and RDC / TMD Ib : a randomized , double blinded study," *Biomed Research International*, c., 2014, ss., 9–12, 2014.
- [82] İ. Kelle, "Ağrı tedavisinde alternatif ilaçlar," *Dicle Tıp Dergisi*, c., 33, s., 3, ss., 192–200, 2006.
- [83] C. I. Pavel, L. A. Marghitaş, O. Bobiş, D. S. Dezmirean, A. Şapcaliu, I. Radoi, ve

- M. N. Madaş, "Biological activities of royal jelly - review," *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, c., 44, s., 2, ss., 108–118, 2011.
- [84] M. K. Mannoor, I. Shimabukuro, M. Tsukamotoa, H. Watanabe, K. Yamaguchi, ve Y. Sato, "Honeybee royal jelly inhibits autoimmunity in SLE-prone NZB × NZW F1 mice," *Lupus*, c., 18, s., 1, ss., 44–52, 2009, doi: 10.1177/0961203308094765.
- [85] M. F. Ramadan ve A. Al-Ghamdi, "Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review," *Journal of Functional Foods*, c., 4, s., 1, ss., 39–52, 2012, doi: 10.1016/j.jff.2011.12.007.
- [86] J. Kocot, M. Kielczykowska, D. Luchowska-Kocot, J. Kurzepa ve I. Musik, "Antioxidant potential of propolis, bee pollen and royal jelly: Possible medical application," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, doi: s <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>.
- [87] H. M. Park, E. Hwang, K. G. Lee, S. Han, Y. Cho, ve S. Y. Kim, "Royal jelly protects against ultraviolet b-induced photoaging in human skin fibroblasts via enhancing collagen production," *Journal of Medicinal Food*, c., 14, s., 9, ss., 899–906, 2011, doi: 10.1089/jmf.2010.1363.
- [88] H. M. Park, M. H. Cho, Y. Cho, ve S. Y. Kim, "Royal jelly increases collagen production in rat skin after ovariectomy," *Journal of Medicinal Food*, c., 15, s., 6, ss., 568–575, 2012, doi: 10.1089/jmf.2011.1888.
- [89] S. K. Miyata, I. Okamoto, S. Ushio, K. Iwaki, M. Ikeda, ve M. Kurimoto, "Identification of a collagen production-promoting factor from an extract of royal jelly and its possible mechanism," *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, c., 68, s., 4, ss., 767–773, 2004.
- [90] G. A. Burdock, "Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis)," *Food and Chemical Toxicology*, c., 36, s., 4, ss., 347–363, 1998, doi: 10.1016/S0278-6915(97)00145-2.
- [91] M. C. Marcucci, "Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity," *Apidologie*, c., 26, s., 2, ss., 83–99, 1995, doi: 10.1051/apido:19950202.
- [92] A. H. Banskota, Y. Tezuka, ve S. Kadota, "Recent progress in pharmacological research of propolis," *Phytherapy Research*, c., 15, s., 7, ss., 561–571, 2001, doi: 10.1002/ptr.1029.
- [93] S. R. Gregory, N. Piccolo, M. T. Piccolo, M. S. Piccolo, ve J. P. Heggers, "Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: A naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns," *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, c., 8, s., 1, ss., 77–83, 2002, doi: 10.1089/107555302753507203.
- [94] A. M. Abu-Seida, "Effect of propolis on experimental cutaneous wound healing in dogs," *Veterinary Medicine International*, c., 2015, s., 2015, doi: 10.1155/2015/672643.
- [95] M. Žilius, K. Ramanauskiene, and V. Briedis, "Release of propolis phenolic acids from semisolid formulations and their penetration into the human skin in vitro," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, c., 2013, s., 2013, doi: 10.1155/2013/958717.

- [96] F. H. Silver, J. W. Freeman, ve D. Devore, "Viscoelastic properties of human skin and processed dermis," *Skin Research and Technology*, c., 7, s., 1, ss., 18–23, 2001, doi: 10.1034/j.1600-0846.2001.007001018.x.
- [97] G. K. Menon, "New insights into skin structure: Scratching the surface," *Advanced Drug Delivery Reviews*, c., 54, s., 1, ss., S3-S17, 2002, doi: 10.1016/S0169-409X(02)00121-7.
- [98] K. W. Ng ve W. M. Lau, "Skin deep: The basics of human skin structure and drug penetration," in *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement*, Berlin, Germany: Springer, 2015, ss., 3–11, doi: 10.1007/978-3-662-45013-0_1.
- [99] J. A. Bouwstra ve P. L. Honeywell-Nguyen, "Skin structure and mode of action of vesicles," *Advanced Drug Delivery Reviews*, c., 54, s., 1, ss., 41–55, 2002, doi: 10.1016/S0169-409X(02)00114-X.
- [100] S. H. Lee, S. K. Jeong, ve S. K. Ahn, "An update of the defensive barrier function of skin," *Yonsei Medical Journal*, c., 47, s., 3, ss., 293–306, 2006, doi: 10.3349/ymj.2006.47.3.293.
- [101] B. Bozkurt ve M. Altuntaş, "Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları," *Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi*, c., 11, s., 1, ss., 18-22, 2019.
- [102] E. Fuchs, "Scratching the surface of skin development," *Nature*, c., 445, s., 7130, ss., 834-842, 2007, doi: 10.1038/nature05659.
- [103] Kozmetik yönetmeliği, *T. C. Resmi Gazete*, Sayı: 25823, 23 Mayıs 2005.
- [104] T. Çomoğlu, "Kozmetikler," *Marmara Pharmaceutical Journal*, c., 16, ss., 1–8, 2012, doi: 10.12991/201216414.
- [105] Türk Eczacıları Birliği. (2020, 3 Haziran). *Kozmetik Ürünlerin Tanımı* [Online]. Erişim: http://e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/tebakademi/ilac_disi/2.pdf.
- [106] M. Daye ve İ. Mevlitoğlu, "Nemlendiriciler," *Selçuk Üniversitesi Tıp Dergisi*, c., 27, s., 2, ss., 124–127, 2011.
- [107] F. Şenses, "El kremi üretiminde kullanılan yüzey aktif maddelerin kremin fizikokimyasal özellikleri üzerine etkileri," Yüksek lisans tezi, Fizikokimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2006.
- [108] Anonim. (2020, 10 Haziran). *Kozmetik preparatlarda kullanılan maddeler* [Online]. Erişim: https://cosming.com/Makaleler/Detay/kozmetik_preparatlarda_kullanilan_maddeler/127/_tr.
- [109] B. Sağlam, "Bitkisel ürünlerin kremlere katılması ve nemlendirici özelliklerinin incelenmesi," Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye, 2010.
- [110] F. Şenses, "El kremi üretiminde kullanılan yüzey aktif maddelerin kremin fizikokimyasal özellikleri üzerine etkileri," Yüksek lisans tezi, Kimya Bölümü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2006.
- [111] D. Danyıldız, "Kozmetik ve esans hammaddeleri," *4. Kozmetik Kimyası Üretimi, Standardizasyonu Kongresi*, Antalya, Türkiye, 2014, ss. 14–16.

- [112] Ö. Oğuz, "Vişne çekirdeği yağı içeren kremlerin deri üzerine etkilerinin incelenmesi," Yüksek lisans tezi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Mersin Üniversitesi, Mersin, Türkiye, 2019.
- [113] C. Wibowo ve K. M. Ng, "Product-oriented process synthesis and development: Creams and pastes," *AIChE Journal*, c., 47, s., 12, ss., 2746–2767, 2001, doi: 10.1002/aic.690471214.
- [114] Lin, T. J., "Low- energy emulsification I: principles and application," *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, c., 29, ss., 117–125, 1978.
- [115] T. C. Sağlık Bakanlığı. (2020, 19 Haziran). *Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kontrolüne ilişkin kılavuz sürüm 1.0* [Online]. Erişim: <https://www.titck.gov.tr/mevzuat/kozmetik-urunlerin-mikrobiyolojik-kontrolune-iliskin-kilavuz-surum-1-0-27122018172953>.
- [116] T.C. Sağlık Bakanlığı. (2020, 19 Haziran). *Kozmetik laboratuvarları* [Online]. Erişim: <https://www.titck.gov.tr/faaliyetalanlari/laboratuvar/kozmetik-laboratuvarlari>.
- [117] S. Çabuk ve H. Doğan Südaş, "Çevreci bir bakış açısıyla kadın tüketicilerin kozmetik ürün tüketim davranışlarının incelenmesi" *Çağ Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, c., 10, s., 1, ss., 115–131, 2013.
- [118] Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği Türkiye Kozmetik ve Temizlik Ürünleri Sanayii Meclisi, "Türkiye kozmetik ve temizlik sanayii ürünleri sektör raporu," TOBB, Türkiye, Rap. 2008/70, 2008.
- [119] Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları yönetmeliği, *T. C. Resmi Gazete*, Sayı: 29158, 27 Ekim 2014.
- [120] European Commission. (2020, 25 Haziran). *Cosmetic ingredient: Bee venom* [Online]. Erişim: https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/cosing_en.
- [121] Sağlık beyanı ile satışa sunulan ürünlerin sağlık beyanları hakkında yönetmelik, *T. C. Resmi Gazete*, Sayı: 28670, 07 Haziran 2013.
- [122] E. Zengin ve İ. Karaca, "Böceklerin ilaç olarak kullanılması," *ADÜ Ziraat Dergisi*, c., 14, s., 1, ss., 71-78, 2017, doi: 10.25308/aduziraat.294924.
- [123] Ö. Çölkesen, "Apiterapi nedir," *Dozaj*, c., 14, s., 4, ss., 7-11.
- [124] H. Chen, H. Sun, S. Zhang, J. Pan, B. Cai, ve X. Sun, "Bee venom composition with effects of protecting and beautifying lip," U. S. Patent 10085935 B2, Haziran 26, 2014.
- [125] A. Kazancı, "Yaşlanmayla deride meydana gelen değişimlerin incelenmesi," Yüksek lisans tezi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye, 2012.
- [126] D. J. Son, J. W. Lee, Y. H. Lee, H. S. Song, C. K. Lee, ve J. T. Hong, "Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds," *Pharmacology & Therapeutics*, c., 115, s., 2, ss., 246–270, 2007, doi: 10.1016/j.pharmthera.2007.04.004.
- [127] Y. B. Kwon, H. J. Lee, H. J. Han, W. C. Mar, S. K. Kang, O. B. Yoon, A. J. Beitz, ve J. H. Lee, "The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats," *Life Sciences*, c., 71, s., 2, ss., 191–204, 2002.

- [128] M. Lodén ve C. Wessman, "The influence of a cream containing 20% glycerin and its vehicle on skin barrier properties," *International Journal of Cosmetic Science*, c., 23, s., 2, ss., 115–119, 2001, doi: 10.1046/j.1467-2494.2001.00060.x.
- [129] P. McLoone, M. Warnock, ve L. Fyfe, "Honey: A realistic antimicrobial for disorders of the skin," *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, c., 49, s., 2, ss., 161–167, 2016, doi: 10.1016/j.jmii.2015.01.009.
- [130] P. McLoone, M. Warnock, ve L. Fyfe, "Honey: an immunomodulatory agent for disorders of the skin," *Food and Agricultural Immunology*, c., 27, s., 3, ss., 338–349, 2016, doi: 10.1080/09540105.2015.1104653.
- [131] F. Garcia-Ochoa ve J. Casas, "Viscosity of locust bean gum solutions," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, c., 59, s., 1, ss., 97–100, 1992, doi: 10.1002/jsfa.2740590114.
- [132] S. Smaoui, H. B. Hlima, I. B. Chobba, ve A. Kadri, "Development and stability studies of sunscreen cream formulations containing three photo-protective filters," *Arabian Journal of Chemistry*, c., 10, ss., S1216–S1222, 2017, doi: 10.1016/j.arabjc.2013.02.020.
- [133] G. K. Sandha ve V. K. Swami, "Jojoba oil as an organic, shelf stable standard oil-phase base for cosmetic industry," *Rasayan Journal of Chemistry*, c., 2, s., 2, ss., 300–306, 2009.
- [134] J. J. Thiele ve S. Ekanayake-Mudiyanselage, "Vitamin E in human skin: Organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology," *Molecular Aspects of Medicine*, c., 28, s., 5–6, ss., 646–667, 2007, doi: 10.1016/j.mam.2007.06.001.
- [135] F. Nachbar ve H. C. Korting, "The role of vitamin E in normal and damaged skin," *J. Mol. Med.*, c., 73, s., 1, ss., 7–17, 1995, doi: 10.1007/BF00203614.
- [136] T. Hongratanaworakit, "Stimulating effect of aromatherapy massage with jasmine oil," *Natural Product Communications*, c., 5, s., 1, ss., 157–162, 2014.
- [137] A. G. Lynch ve D. M. Mulvihill, "Effect of sodium caseinate on the stability of cream liqueurs," *International Journal of Dairy Technology*, c., 50, s., 1, ss., 1–7, 1997, doi: 10.1111/j.1471-0307.1997.tb01727.x.
- [138] R. J. Stacey, "The composition of some Roman medicines: Evidence for Pliny's Punic wax?," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, c., 401, s., 6, ss., 1749–1759, 2011, doi: 10.1007/s00216-011-5160-7.
- [139] F. Visioli, G. Bellomo, ve C. Galli, "Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, c., 247, s., 1, ss., 60–64, 1998, doi: 10.1006/bbrc.1998.8735.
- [140] M. A. Ruiz, J. L. Arias, ve V. Gallardo, "Skin creams made with olive oil," in *Olives and Olive Oil in Health And Disease Prevention*, Academic Press, 2010, ss., 1133–1141.
- [141] AAK. (2020, 26 Haziran). *Emulsifiers that taste good-Akoline* [Online]. Erişim: <https://pdfs.semanticscholar.org/3242/a40518cdeb6e3b3beed676ce4020f32bc8fb3.pdf>.
- [142] G. M. Eccleston, "The structure and rheology of pharmaceutical and cosmetic creams. Cetrimide creams; The influence of alcohol chain length and homolog

- composition,” *Journal of Colloid and Interface Science*, c., 57, s., 1, ss., 66–74, 1976, doi: 10.1016/0021-9797(76)90176-4.
- [143] J. Alexander, “Bentonite,” *Industrial and Engineering Chemistry*, c., 16, s., 11, ss., 1140–1142, 1924.
- [144] R. Krell, *Value-added products from beekeeping*. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1996, ss., 1-409
- [145] AOAC. (2021, 20 Ocak). *AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals* [Online]. Erişim: https://members.aoac.org/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf.
- [146] Türk Akreditasyon Kurumu. (2021, 20 Ocak). *Metodun geçerli kılınması ve doğrulanması için bilgilendirme kılavuzu* [Online] Erişim: https://secure.turkak.org.tr/TURKAKSITE/docs/bilgilendirme_kilavuzlari/METODUN_GE%C3%87ERL%C4%B0_KILINMASI_VE_DOGRULANMASI_ICIN_BILGILENDIRME_KILAVUZU_20052019_1625.pdf.
- [147] O. Tokur ve A. Aksoy, “In vitro sitotoksikite testleri,” *Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, c., 6, s., 1, ss., 112–118, 2017.
- [148] OECD, “In vitro skin irritation,” *Reconstructed Human Epidermis Test Method*, Paris, Fransa: OECD Publishing, 2010, doi: 10.1787/9789264203884-en
- [149] B. Ertürk, “Deltametrin ve thiakloprid karışımının insan akciğer hücrelerindeki sitotoksitesi ve dna çift zincir kırıkları üzerindeki etkileri,” Doktora tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ordu Üniversitesi, Ordu, Türkiye, 2019.
- [150] A. L. Rusanov, N. G. Luzgina ve A. V. Lisitsa, “Sodium dodecyl sulfate cytotoxicity towards HaCaT keratinocytes: comparative analysis of methods for evaluation of cell viability,” *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, c., 163, s., 2, ss., 284-288, 2017, doi: 10.1007/s10517-017-3785-z
- [151] Arıcılık- Bal arısı zehri, *T. C. Resmi Gazete*, Sayı: 13126, Ocak 2005.
- [152] S. Bogdanov, “Bee venom: Production composition quality,” *The Bee Venom Book*, Switzerland, 2016, ss., 1-8.
- [153] D. E. A. Komi, F. Shafaghat ve R. D. Zwiener, “Immunology of bee venom,” *Clinical Reviews in Allergy&Immunology*, c., 54, s., 3, ss., 386-396, 2018.
- [154] Z. Wang, Y. Qu, S. Dong, P. Wen, J. Li, K. Tan ve R. Menzel, “Honey bees modulate their olfactory learning in the presence of hornet predators and alarm component,” *PLoS One*, c., 11, s., 2, ss., 1-12, 2016.
- [155] T. Samancı ve M. Kekeçoğlu, “Comparison of commercial and Anatolian bee venom in terms of chemical composition,” *Uludağ Arıcılık Dergisi*, c., 19, s., 1, ss., 61-68, 2019.
- [156] M. J. Schumacher, J. O. Schmidt, N. B. Egen ve K. A. Dillon, “Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honeybees (*Apis mellifera*),” *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, c., 90, s., 1, ss., 59-65, 1992. Doi: 10.1016/S0091-6749(06)80011-4
- [157] R. E. Ionete, O. R. Dinca, R. Tamaian ve E. I. Geana, “Exploring *Apis mellifera* venom compounds using highly efficient methods,” *Progress of Cryogenics and*

Isotopes Separation, c., 16, s., 2, ss., 89-100, 2013.

- [158] R. S. F. Junior, J. M. Sciani, R. Marques-Porto, A. L. Junior, R. D. O. Orsi, B. Barraviera ve D. C. Pimenta, "Africanized honey bee (*Apis mellifera*) venom profiling: Seasonal variation of melittin and phospholipase A2 levels," *Toxicon*, c., 56, s., 3, ss., 355-362, 2010. Doi: 10.1016/j.toxicon.2010.03.023
- [159] F. Sobral, A. Sampaio, S. Falcão, M. J. R. Queiroz, R. C. Calhelha, M. Vilas-Boas ve I. C. Ferreira, "Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal," *Food and Chemical Toxicology*, c., 94, ss., 172-177, 2016. Doi: 10.1016/j.fct.2016.06.008
- [160] R. M. M. Abreu, R. Moraes ve O. Malaspina, "Histological aspects and protein content of *Apis mellifera* L. worker venom glands: the effect of electrical shocks in summer and winter," *Journal of Venomous Animals and Toxins*, c., 6, s., 1, ss., 87-98, 2000. Doi: 10.1590/S0104-79302000000100006
- [161] J. Pavlačková, P. Egner, R. Slavík, P. Mokrejš & R. Gál, "Hydration and barrier potential of cosmetic matrices with bee products," *Molecules*, c., 25, s., 11, p. 2510, 2020. doi:10.3390/molecules25112510
- [162] F. Marquele-Oliveira, Y. M. Fonseca, O. De Freitas ve M. J. V. Fonseca, "Development of topical functionalized formulations added with propolis extract: stability, cutaneous absorption and in vivo studies," *International Journal of Pharmaceutics*, c., 342, s., 1-2, ss., 40-48, 2007. Doi:10.1016/j.ijpharm.2007.04.026
- [163] S. M. Han, K. G. Lee ve S. C. Pak, "Effects of cosmetics containing purified honeybee (*Apis mellifera* L.) venom on acne vulgaris," *Journal of Integrative Medicine*, c., 11, s., 5, ss., 320-326, 2013. Doi: 10.3736/jintegrmed2013043
- [164] Р.Г. Хисматуллин, "Massage cream," Russia. RU2163118C1, Kasım. 02, 1999.
- [165] S. M. Han, K. G. Lee, J. H. Yeo, Y. G. Lee ve C. S. Han, "Composition containing bee venom as an active ingredient for preventing and treating acne," United States. US20120128784A1, Temmuz 28, 2009.
- [166] Р.Г. Хисматуллин, "Antisclerotic cream," Russia. RU2180836C1, Ocak. 12, 2001.
- [167] E. J. Jeong ve J. O. Jeong, "A cosmetic composition containing bee venom," South Korea. KR20120038699A, Ekim 10, 2010.
- [168] D. Mitchell, "Composition for skin comprising queen bee venom," European Patent Office. EP3036011B1, Ocak 02, 2019.
- [169] T.C. Sağlık Bakanlığı. (2021, 4 Ocak). *Kozmetik ürünlerin stabilitesine ve açıldıktan sonra kullanım süresine ilişkin kılavuz sürüm 1.0* [Online]. Erişim: <https://titck.gov.tr/storage/legislation/QGN1s2o8.pdf>
- [170] H. El-Seedi, A. El-Wahed, N. Yosri, S. G. Musharraf, L. Chen, M. Moustafa, X. Zou, S. Al-Mousawi, Z. Guo, A. Khatib ve S. Khalifa, "Antimicrobial properties of *Apis mellifera*'s bee venom," *Toxins*, c., 12, s., 7, ss., 451, 2020. Doi:10.3390/toxins12070451.
- [171] H. Zolfagharian, M. Mohajeri ve M. Babaie, "Bee venom (*Apis mellifera*) an effective potential alternative to gentamicin for specific bacteria strains: Bee venom an effective potential for bacteria," *Journal of Pharmacopuncture*, c., 19,

- s., 3, ss., 225, 2016. Doi: <https://dx.doi.org/10.3831%2FKPI.2016.19.023>
- [172] A. R. Yu, J. J. Kim, G. S. Park, S. M. Oh, C. S. Han ve M. Y. Lee, "The antifungal activity of bee venom against dermatophytes," *Journal of Applied Biological Chemistry*, c., 55, s., 1, ss., 7-11, 2012. Doi: 10.3839/jabc.2011.052
- [173] I. Przybyłek ve T. M. Karpiński, "Antibacterial properties of propolis," *Molecules*, c., 24, s., 11, 2047, 2019. doi:10.3390/molecules24112047
- [174] S. Jain, R. Rai, V. Sharma ve M. Batra, "Propolis in oral health: a natural remedy," *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, c., 2, s., 1, ss., 90-94, 2014.
- [175] M. Lotfy, "Biological activity of bee propolis in health and disease," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, c., 7, s., 1, ss., 22-31, 2006.
- [176] G. Angelo, C. Lorena, G. Marta ve C. Antonella, "Biochemical composition and antioxidant properties of *Lavandula angustifolia* Miller essential oil are shielded by propolis against UV radiations," *Photochemistry and Photobiology*, c., 90, s., 3, ss., 702-708, 2014. Doi: 10.1111/php.12229
- [177] P. Puttamayutanon, W. Trongarom, N. Janta, S. Ruengsiri, S. Kamjaisai ve P. Chantawannakul, "Antimicrobial activity of newly formulated propolis cream," *In Advanced Materials Research*, c., 506, ss., 545-547. 2012.
- [178] K. Ramanauskiene, A. M. Inkeniene, A. Savickas, R. Masteikova ve V. Brusokas, "Analysis of the antimicrobial activity of propolis and lysozyme in semisolid emulsion systems," *Acta Polonica Pharmaceutica*, c., 66, s., 6, ss., 681-688, 2009.
- [179] Y. Salık, "Alyssum Floribundum Boiss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisinden elde edilen ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması," Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dalı, Mersin Üniversitesi, Mersin, Türkiye, 2019.
- [180] N. Cole, P. W. Sou, A. Ngo, K. H. Tsang, J. A. Severino, S. J. Arun, C. C. Duke ve V. E. Reeve, "Topical 'Sydney' propolis protects against UV-radiation-induced inflammation, lipid peroxidation and immune suppression in mouse skin," *International Archives of Allergy and Immunology*, c., 152, s., 2, ss., 87-97, 2010. Doi: 10.1159/000265530
- [181] G. Beretta, R. Artali, E. Caneva, S. Orlandini, M. Centini ve R. M. Facino, "Quinoline alkaloids in honey: further analytical (HPLC-DAD-ESI-MS, multidimensional diffusion-ordered NMR spectroscopy), theoretical and chemometric studies," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, c., 50, s., 3, ss., 432-439, 2009. Doi: 10.1016/j.jpba.2009.05.029
- [182] L. Chen, A. Mehta, M. Berenbaum, A. R. Zangerl ve N. J. Engeseth, "Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c., 48, s., 10, ss., 4997-5000, 2000. Doi: 10.1021/jf000373j
- [183] A. K. Mishra, A. Mishra, ve P. Chattopadhyay, "Formulation and in-vitro evaluation of antioxidant activity of o/w sunscreen cream containing herbal oil as dispersed phase," *International Journal of Biomedical Research*, c., 1, s., 5, ss., 201-208, 2010.
- [184] A. Kurek-Górecka, M. Górecki, A. Rzepecka-Stojko, R. Balwierz, ve J. Stojko, "Bee products in dermatology and skin care," *Molecules*, c., 25, s., 3, ss., 556, 2020, doi: 10.3390/molecules25030556.

- [185] C. E. You, S. H. Moon, K. H. Lee, K. H. Kim, C. W. Park, S. J. Seo, ve S. H. Cho, "Effects of emollient containing bee venom on atopic dermatitis: A double-blind, randomized, base-controlled, multicenter study of 136 patients," *Annals of Dermatology*, c., 28, s., 5, ss., 593-599, 2016.
- [186] S. M. Han, I. P. Hong, S. O. Woo, S. G. Kim, H. R. Jang ve K. K. Park, "Evaluation of the skin phototoxicity and photosensitivity of honeybee venom," *Journal of Cosmetic Dermatology*, c., 16, s., 4, ss., e68-e75, 2017. doi: 10.1111/jocd.12350
- [187] J. Tusiimire, J. Wallace, M. Dufton, J. Parkinson, C. J. Clements, L. Young ve D. G. Watson, "An LCMS method for the assay of melittin in cosmetic formulations containing bee venom," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, c., 407, s., 13, ss., 3627-3635, 2015, doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8578-5>.



7. EKLER

7.1. EK 1: Sözleşmeli Arıcılık Üretim Sözleşmesi Taslağı

..... ÜRETİM SÖZLEŞMESİ

Madde 1 Taraflar

1.1. SBS Bilimsel Bio Çözümler San. ve Tic. A.Ş. (Kısaca SBS)

Adres: Yukarı Dudullu Mahallesi Necip Fazıl Bulvarı KEYAP Çarşısı D1 Blok No: 57
Ümraniye İstanbul

1.2. (Kısaca Arıcı)

Adresi:

.....

Madde 2 Konu

İşbu sözleşmenin konusu, taraflardan arıcının bu sözleşmesinin ilgili hükümleri çerçevesinde, yukarıda unvanı belirtilen SBS'nin talep ettiği şekilde xxxx üretmesi ve arıcının ürettiği bu ürünün SBS tarafından satın alınması ve söz konusu durumun taraflar üzerinde doğuracağı hak ve yükümlülüklerin düzenlenmesidir.

Madde 3 Tarafların Hak ve Yükümlülükleri

3.1. Arıcı'nın, xxxx üretimi yaparken üzerine düşen yükümlülükler şunlardır:

- Arıcı, SBS'nin belirlediği uzman kişilerin anlattığı ve gösterdiği şekilde **xxxx** üretimi yapacaktır. Arıcı, SBS uzmanının gösterdiği teknikle **xxxx** tuzağını kovanın **xxxx** kısmına yerleştirerek **xxxx** üretecektir. Üretilen **xxxx** kovanın farklı yerlerinden üretilmiş **xxxx** ve **xxxx** karıştırmamalıdır.
- Arıcı, SBS'nin belirlediği uzman kişilerin bilgisi dışında, herhangi bir sebeple zirai ilaç, antibiyotik vb. kimyasal maddeleri kullanmamalıdır.
- Arıcı, eğer kovanlarında herhangi bir ilaç kullanmak zorunda kalırsa SBS uzmanına haber verip, kullanmadan önce **xxxx** tuzaklarını kovandan çıkartmalıdır.
- Arıcı, **xxxx** üretirken temiz su kaynaklarının bulunduğu yerlerde, atık ve fabrikaların bulunmadığı, yoldan uzak alanlarda ve pestisit kullanılmayan alanlarda üretim yapmaya özen göstermelidir.
- Arıcı, sorumlu uzman kişinin belirlediği gün ve saatlerde teorik ve uygulamalı eğitimlere müsaitliği ölçüsünde katılmaya özen göstermelidir.
- Arıcı, ürettiği **xxxx** kendisi hasat etmemelidir. Hasat işlemi sadece SBS'nin belirlediği sorumlu uzmanlar tarafından yapılır.
- Arıcı SBS tarafından verilen **xxxx** tuzaklarını kullanmalıdır. Tuzaklar arıcıya tartılarak verilecek ve tartım miktarı kayıt altına alınacaktır. Tuzaklar dolduğu zaman arıcı SBS'nin uzmanına haber verecek ve uzman dolu tuzakları toplayıp arıcının yanında tartarak kayıt altına alacaktır. Bu çalışma şekli üretim sezonu bitene kadar devam edecektir.
- SBS her arıcının tuzağını ayrı ayrı muhafaza edecek ve tekrar arıcıya göndermeden önce amerikan yavru çürüklüğü hastalığının...vb. yayılmasını önlemek amacıyla dezenfekte edecektir.
- Arıcı, kovanlarını farklı bir alana götürürken, **xxxx** tuzaklarının toplanması için ve gittiği bölgeyi SBS uzmanlarına bildirmek amacıyla, SBS uzmanlarına haber vermelidir.
- Arıcı ürettiği **xxxx** tamamını SBS'ye Madde 4'de belirtilen şartlar dahilinde vermekle yükümlüdür.
- Arıcı, SBS'nin belirlediği uzman kişilerin istediği zaman, üretim yapılan arılığı ziyaret edip kontrol etmesine yardımcı ve destek olur. SBS **xxxx** üretirken arıcının yaptığı faaliyetleri her zaman inceleyebilir.

3.2. Arıcı, kendisine işinde kullanılmak üzere teslim edilen malzeme, araç ve gereçleri, amacı dışında kullanmamalıdır ve iş bitiminde SBS'ye teslim etmelidir. Arıcı, kendisine bu sözleşme kapsamında gerçekleştirilecek işlerde kullanılmak üzere teslim edilen malzeme, araç ve gereçleri sezon sonunda SBS'ye kötü niyetli olarak teslim etmez ise (zaiyat hariç) piyasadaki değeri üzerinden ücretini ödemeyi kabul eder.

3.3. SBS, Arıcı'nın Madde 3.1'de gösterilen hizmetlerine karşılık olarak arıcıya, madde 4'de belirtilen kilogram ücreti ödemekle yükümlüdür.

Madde 4 Ücret

4.1. SBS, bu sözleşmenin 3.1. maddesinde belirtilen koşullara uygun olarak **xxxx** üreten arıcıya, ürettiği toplam **xxxx** miktarı üzerinden, aşağıda belirtilen kg tutarı karşılığında Türk Lirası (TL.) olarak ödeme yapar.

- **xxxx** Ücreti 2021 yılı için: **xxx TL/kg**'dır. Arıcının kilogram başına alacağı **xxx TL.** aşağıda madde 5.1'de belirttiği banka hesabına yatırılır.
- Arıcı eğer her üretimde yeni **xxxx** tuzağı talep ediyorsa yukarıda belirlenen **xxxx** fiyatlarından **xxx TL.** düşülerek fiyat belirlenir ve alım yapılır. Bu durumda SBS her seferinde arıcıya yeni tuzak göndereceğini taahhüt eder.
- Sözleşmeye uygun üretim yapan ve ürün analiz sonuçlarında hiçbir problem tespit edilmeyen arıcılara, bir sonraki yıl başarı primi uygulanır. Başarı primi uygulaması aşağıdaki şekilde yapılır.

1. Her ilave yıl için, kg başına 1 TL başarı primi uygulanır.
2. Her yıl **xxxx** fiyatı SBS tarafından piyasa koşulları dikkate alınarak belirlenir. Belirlenen fiyat arıcıya yazılı olarak bildirilir ve arıcı ile karşılıklı mutabık kalınır. Başarı primi belirlenen fiyatın üzerine eklenir.
3. Başarı primi birikimlidir. ÖRNEK OLARAK; 2013 yılında ürünü X TL.'den satın alınan bir arıcının ürününde hiçbir problem tespit edilmez ise, o arıcının 2014 yılında ürettiği ürünün kg fiyatı X+1 TL olarak belirlenir. Eğer aynı arıcı problemsiz ürün vermeye devam ediyor ise 2015 yılındaki fiyatı X+2 TL., 2016 yılı fiyatı X+3 TL. olarak belirlenir ve bu tutar her ilave yıl için 1 TL. artarak devam eder.

4.2. SBS, **xxxx** ücretini yıllık olarak belirler. Her yeni üretim sezonunda piyasa koşullarını dikkate alarak bir önceki yıldan farklı bir fiyat belirleyebilir. Belirlediği fiyat bir önceki yıldan farklı ise, bunu arıcıya bildirir ve arıcı ile karşılıklı mutabakata varılır. Bu aşamada arıcı belirlenen fiyatı uygun görmez ise SBS'ye yazılı olarak bildirerek sözleşmeyi fesih etme hakkına sahiptir.

Madde 5 Ödeme Şekli ve Koşulu

5.1. SBS, arıcıdan aldığı **xxxx** analiz yaparak, üründe bir problem olup olmadığını tespit etme hakkına sahiptir. Üründe problem çıkmayan arıcının ödemesi aşağıda belirtilen koşullara uygun olarak gerçekleştirilir.

- 50 kg'a kadar teslim edilen **xxxx** için, ödemenin tamamı analiz sonrası "7" (yedi) iş günü içerisinde arıcının aşağıdaki hesap numarasına yatırılır.

- 50 kg-100 kg arası teslim edilen **xxxx** için, ödeme analiz sonrası, 3 taksit halinde gerçekleştirilir. İlk taksit kabulden sonra “7” (yedi) iş günü içerisinde arıcının hesabına yatırılır.
- 100 kg ve üzeri teslim edilen **xxxx** için, ödeme analiz sonrası, 6 taksit halinde gerçekleştirilir. İlk taksit kabulden sonra “7” (yedi) iş günü içerisinde arıcının hesabına yatırılır.

Arıcının Bilgileri:

Banka Adı:

Banka Şube Kodu:

IBAN NO:

Hesap Adı ve Numarası:

TC.Kimlik No:

Anne Adı:

Baba Adı:

Arıcı Kayıt No:

5.2. SBS, arıcıdan aldığı **xxxx** analiz yapma ve yaptırma hakkına sahiptir. SBS arıcıdan aldığı **xxxx** analiz sonucunda herhangi bir kalıntı veya kalite sorunu tespit ederse ürünü iade edip ödeme yapmama hakkına sahiptir. Ancak bu durumda Arıcıya ürünündeki sorunu analiz raporu ile ispat etmelidir. SBS’nin arıcıya ödeme süresi analiz bitiş tarihi ile başlar. Analiz süresi maksimum 30 iş günüdür.

Madde 6 Sözleşmenin Süresi

İşbu sözleşme, sözleşmenin imzalandığı tarihten itibaren bir yıl süre ile geçerlidir. Ancak, sözleşme bitiminden bir ay önce taraflardan biri sözleşmenin yenilenmeyeceğini diğer tarafa yazı ile bildirmediği takdirde, sözleşme aynı koşullarla bir yıl daha uzatılmış sayılır. Diğer yıllar için de aynı usul geçerlidir.

Madde 7 Sözleşmenin Feshi

Her iki tarafta sözleşmenin bitimine bir ay kala karşılıklı olarak yazılı bildirmek suretiyle sözleşmeyi fesih edebilir.

SBS, arıcının kötü niyetli uygulamasını tespit ederse (xxxx tuzaklarını başkasına satması veya ürettiği ürünü bu sözleşmeye aykırı olarak başka bir firmaya satması gibi) SBS arıcıya hiçbir tazminat ödemeksizin ve önceden bildirimde bulunmaksızın sözleşmeyi tek taraflı olarak fesih etme hakkına sahiptir.

SBS, arıcının bu sözleşmeye uygun şekilde ürettiği ürününün (analizleri uygun çıkan) bedelini, sözleşmenin 5.1. maddesine uygun şekilde zamanında ödemez ise, Arıcı sözleşmeyi tek taraflı olarak fesih edebilir.

Madde 8 Yaptırım

Arıcının haklı bir neden olmaksızın ve kötü niyetli olarak, sözleşmeyi süresinden önce sona erdirmesi, ürettiği ürünü başka bir kişiye ya da kuruluşa satması ya da bedelsiz vermesi, xxxx üretimini gerçekleştirmemesi durumlarında, SBS'nin bu sözleşmeden dolayı uğradığı zararı (o sezon üreteceği ürünün bedeli kadar) tazmin etmekle yükümlüdür.

Madde 9 Tebligat

Taraflar, yazılı olarak adres değişikliklerini bildirmediikleri sürece, işbu sözleşmede belirtilen adreslerin 7201 sayılı Tebligat Kanunu hükümlerine göre geçerli tebligat adresleri olduğunu, her türlü bildirim ve teslim için yukarıda gösterilen adreslerin kullanılacağını kabul, beyan ve ikrar ederler.

Madde 10 Uyuşmazlık ve Yetki

İşbu sözleşmenin uygulanmasından doğan uyuşmazlıklarda İstanbul Mahkeme ve İcra Daireleri yetkilidir.

Madde 11 Yürürlük

11 (onbir) maddeden ve 4 (dört) sayfadan oluşan işbu sözleşme/..../. tarihinde İstanbul'da iki nüsha olarak düzenlenmiş, taraflarca okunarak imza ve teati edilmiştir.

ARICI

SBS

.....

SBS Bilimsel Bio Çözümler San. ve Tic. A.Ş.

.....

.....

Adres: Yukarı Dudullu Mahallesi Necip
Fazıl Bulvarı KEYAP Çarşısı D1 Blok No: 57
Ümraniye/İstanbul

.....

İmza:.....

.....

7.2. EK 2: Arı Zehri Güvenlik Bilgi Formu Örneği



GÜVENLİK BİLGİ FORMU

A.B. (EC) 1907/2006# no' lu REACH tüzüğüne ve T.C. 27092 no' lu mevzuatına göre hazırlanmıştır.

Kapıno düzenleme olduğu 6.0
Yeni düzenleme tarihi 18.04.2019
Hazırlama Tarihi 18.12.2020

BÖLÜM 1: Maddenin/karışımın ve şirketin/dağıtıcının kimliği

- 1.1 Ürün adı**
Ürün ismi : Bee venom from *Apis mellifera* (honey bee)
- Ürün Numarası : V3375
Marka : Sigma
REACH No. : Ürün veya kullanımı alanı kayıttan muaf tutulduğundan dolayı, kayıt numarası bu ürün için uygun değildir.
- 1.2 Madde veya karışımın belirlenmiş kullanımları ve tavsiye edilmeyen kullanımları**
Belirlenmiş kullanımları : Laboratuar kimyasalları, Maddelerin imalatı
- 1.3 Güvenlik bilgi formu tedarikçisinin bilgileri**
Şirket : Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Eschenstrasse 5
D-82024 TAUFKIRCHEN
- Telefon : +49 (0)89 6513-1130
Faks : +49 (0)89 6513-1161
Elektronik posta adresi : technischerservice@merckgroup.com
- 1.4 Acil durum telefon numarası**
Acil telefon : 0800 181 7059 (CHEMTREC Deutschland)
+49 (0)696 43508409 (CHEMTREC weltweit)

BÖLÜM 2: Zararlılık tanımlanması

- 2.1 Madde veya karışımın sınıflandırılması**
(EC) No 1272/2008 Yönetmeliğine göre tehlikeli madde ya da karışım değildir.
- 2.2 Etiket unsurları**
(EC) No 1272/2008 Yönetmeliğine göre tehlikeli madde ya da karışım değildir.
- 2.3 Diğer zararlar** - yok

7.3. EK 3: Krem Değerlendirme Formu Örneği

KREM DEĞERLENDİRME FORMU

Ad Soyad:

Tarih /..... /2020

Telefon:

Bu krem değerlendirme formu en uygun krem formülasyonlarını tespit etmek için kullanılır ve 10 gönüllüye uygulanır. Kremleri bir ay boyunca talimatlara uygun şekilde kullanarak bir ay sonunda aşağıdaki parametrelere göre değerlendirmeniz gerekmektedir. Her bir parametre için 1-10 arası puan vermeniz beklenmektedir. (Kaşıntı, kızarıklık ve pürüzlülük için 0 var, 10 yok anlamına gelmektedir.)

		PARAMETRELER							
Krem Formülü		Sürülebilme	Kıvam	Görünüş	Kaşıntı	Kızarıklık	Sıkılaştırıcı Etki	Koku	Pürüzlülük
YUZ KREMI	1. Formül								
	2. Formül								
	3. Formül								
	4. Formül								
	5. Formül								
	6. Formül								
	7. Formül								
	8. Formül								
	9. Formül								
VUCUT KREMI	1. Formül								
	2. Formül								
	3. Formül								
	4. Formül								
	5. Formül								
	6. Formül								
	7. Formül								
	8. Formül								
	9. Formül								
AYAK KREMI	1. Formül								
	2. Formül								
	3. Formül								
	4. Formül								
	5. Formül								
	6. Formül								
	7. Formül								
	8. Formül								
	9. Formül								
EL KREMI	1. Formül								
	2. Formül								
	3. Formül								
	4. Formül								
	5. Formül								
	6. Formül								
	7. Formül								
	8. Formül								
	9. Formül								
EKLEME KREMI	1. Formül								
	2. Formül								
	3. Formül								
	4. Formül								
	5. Formül								
	6. Formül								
	7. Formül								
	8. Formül								
	9. Formül								

7.4. EK 4: Dermatolojik Test Sonucu Örneği



YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ AR-GE VE ANALİZ MERKEZİ YÜ-AGAM

YÜ-AGAM KOZMETİK VE BİYOSİDAL ANALİZ LABORATUVARI ANALİZ RAPORU

Rapor No : KBL20000767
Numuneyi Gönderen : SBS BİLİMSEL BİO ÇÖZÜMLER SAN. VE TİC. A.Ş.
Teklif No : KBL200912-01-DLR
Analizin Başlama ve Bitiş tarihi : 02/06/2020 / 18/06/2020
Numunenin Laboratuvara Geldiği Tarih : 02/06/2020
Numune Geliş Şekli / Sıcaklığı : Kargo / 24 °C
Numune Türü : Anı Zehri Propolis Anı Sıtlı El Kremi

Ambalaj : Falkon Tüp
Üretim ve SKT : /
Seri - Lot : -
Miktar : 300 gr
Üretici Firma /Marka : SBS BİLİMSEL BİO ÇÖZÜMLER SAN. VE TİC. A.Ş. / BEE'D Apicare

Sıra No	Analiz	Analiz Metodu	Ölçüm Limiti	Geri Kazanım	Analiz Sonuçları	Limit Değer	Değerlendirme
1	Dermatolojik Test (15 Gönüllü-Normal Cilt) (*)	Patch Test	-	-	İritasyon veya Alerjinite Tespit Edilemedi		

Sonuçlar,... esas alınarak değerlendirilmiştir.

Yapılan numune ve analiz sonuçları yukarıda belirtilen değerler ile ilgili aşağıdaki

- Not 1: Bu Analiz raporu sadece amaçla kullanılabılır.
Not 2: Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılabılır.
Not 3: Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir.
Not 4: İzin alınmadan raporlarımız çoğaltılamaz ve yayımlanamaz. İzinsiz raporlar geçerli değildir.
Not 5: (*) İlgili analizler laboratuvarımız TÜRKAK'tan akredite edilmiştir.
Not 6: (**) İlgili analizler laboratuvarımız T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan yetkilidir.
Not 7: (***) İlgili analizler laboratuvarımız T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan yetkilidir. TÜRKAK'tan akredite edilmiştir.
Not 8: Uygunluk boyutu, genişletilmiş belirlilik için %0,5 kapsama ulaşılmasına dayanmaktadır.
Not 9: Müşteri tarafından sağlanan, numune ile ilgili bilgi ve hizmetleri, analiz sonuçlarına eklenenden laboratuvarımız sorumlu değildir.
Not 10: Numune alma işlemi laboratuvarımız tarafından yapılmamış olup, sonuçlar numunenin teslim alındığı hali için geçerlidir.
Not 11: Bu rapora ait analiz sonuçları sadece belirtilen numune türü ve seri/lot numarası için geçerlidir.
Not 12: (*) İlgili analizler laboratuvarımız BS10205060367-14 rapor no'lu analiz sonuçları esas alınarak değerlendirilmiştir.

Evaluation scale		
Classification	Description	Interpretation
-	No skin changes	Negative
?	Faint, non-palpable erythema	Doubtful reaction
+	Palpable erythema	Weak reaction
++	Strong erythema, papules	Strong reaction
+++	Strong erythema, papules, vesicles or/and ulceration	Extreme reaction
IR	inflammation sharply limited to the exposed area, lack of infiltrate, small petechiae, pustules and efflorescences other than papules and vesicles	Irritant reaction, this kind of reactions may cause many problems upon interpretation

7. RESULTS

Volunteers characteristic				Results after 48h	Results after 72h
No.	Sex	Age	Skin parameters	Skin reaction	Skin reaction
1	W	53	C	-	-
2	M	49	C	-	-
3	W	39	C	-	-
4	W	35	C	-	-
5	M	34	O	-	-
6	W	59	C	-	-
7	W	34	C	-	-
8	W	36	C	-	-
9	W	24	O	-	-
10	W	20	C	-	-
11	W	34	O	-	-
12	W	23	C	-	-
13	M	27	C	-	-
14	W	25	O	-	-
15	W	53	C	-	-

Skin type: N – normal, D – dry, C - combination, O - oily

W – woman, M – man

RESULTS: In 15 subjects, the results of patch tests were **negative**, which means that the product does not cause irritation or allergy reaction in those subjects.

7.5. EK 5: Sitotoksosite Test Sonucu Örneği



YÜ-AGAM KOZMETİK VE BİYOSİDAL ANALİZ LABORATUVARI ANALİZ RAPORU

Rapor No : KBL20000768
Numuneyi Gönderen : SBS BİLİMSEL BİO ÇÖZÜMLER SAN. VE TİC. A.Ş.
Teklif No : KBL200912-01-DLR
Analizin Başlama ve Bitiş tarihi : 02/06/2020 / 10/07/2020
Numunenin Laboratuvara Geldiği Tarih : 02/06/2020
Numune Geliş Şekli / Sıcaklığı : Kargo / 24 °C
Numune Türü : Anı Zehni Propolis Anı Sütlü El Kremi

Ambalaj : Falkon Tüp
Üretim ve SKT :
Seri - Lot :
Miktar : 300 gr
Üretici Firma /Marka : SBS BİLİMSEL BİO ÇÖZÜMLER SAN. VE TİC. A.Ş. / BEE'Ö Apicars

Sıra No	Analiz	Analiz Metodu	Ölçüm Limiti	Geri Kazanım	Analiz Sonuçları	Limit Değer	Değerlendirme
1	Sitotoksosite (%)	TS EN ISO 10993-5	-	-	Sitotoksik olmadığı tespit edildi.		

Sonuçlar,... esas alınarak değerlendirilmiştir.

Not 1: Bu Analiz raporu niyetten amacıyla kullanılamaz.
Not 2: Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.
Not 3: Analiz sonuçları yuranda belirtilen numune için geçerlidir.
Not 4: Lohi akimiden toplananlar geliştirilmez ve yayınlanmaz. İmzasız raporlar geçerlidir.
Not 5: (*) İlgili analizde laboratuvarımız TÜRKAK'tan akredite edilmiştir.
Not 6: (*) İlgili analizde laboratuvarımız T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan yetkilidir. TÜRKAK'tan akredite edilmiştir.
Not 7: (*) İlgili analizde laboratuvarımız T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan yetkilidir. TÜRKAK'tan akredite edilmiştir.
Not 8: Uygunluk beyanı, geliştirilmiş belirsizlik için %65 kapama oranına dayanmaktadır.
Not 9: Müşteri tarafından sağlanan, numune ile ilgili bilgi ve fotoğrafları, analiz sonuçlarına eklenmeden laboratuvarımız sorumlu değildir.
Not 10: Numune alına işlem laboratuvarımız tarafından yapılmamış olup, sonuçlar numunenin teslim aldığı hali için geçerlidir.
Not 11: (*) İlgili analiz laboratuvarımız YÜ-AGAM, TOKSİSİTE/06/07/2020 rapor no'lu analiz sonuçları esas alınarak akredite edilmiştir.

Neşe GÜLDÜR ÇALIK
Biyolog
Mikrobiyoloji Laboratuvarı Birim Sorumlusu
17/07/2020

Tuğçe YURDAKUL
Gıda Mühendisi
Numune Kabul ve Rapor Düzenleme Birim Sorumlusu
17/07/2020

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Aslı Elif TANUĞUR SAMANCI

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Doktora	Biyoloji	Düzce Üniversitesi	2021
Y. Lisans	Gıda Müh.	İstanbul Teknik Üniversitesi	2006
Lisans	Gıda Müh.	İstanbul Teknik Üniversitesi	1996
Lise		Özel Doğuş Lisesi	1992

YAYINLAR

- [1] A. Özkök, M. Keskin, A. E. T. Samancı, E. Y. Önder, ve Ç. Takma, “Determination of antioxidant activity and phenolic compounds for basic standardization of Turkish propolis,” *Applied Biological Chemistry*, c., 64, s., 1, ss., 1-10, 2021.
- [2] M. Beykaya, A. E. T. Samancı, T. Samancı, E. Y. Önder, E. M. Uzun, ve F. Tosun, “Investigation of Nutritional and Antioxidant Properties of Anatolian Bee Bread,” *Journal of Apicultural Science*, 2021, DOI: 10.2478/JAS-2021-0017.
- [3] N. Ecem Bayram, N. Çebi, S. Çelik, Y. C. Gerçek, S. Bayram, A. E. Tanuğur Samancı, O. Sağdıç, ve A., Özkök, “Turkish royal jelly: amino acid, physicochemical, antioxidant, multi-elemental, antibacterial and fingerprint profiles by analytical techniques combined with chemometrics,” *Journal of Apicultural Research*, c., 60, s., 5, ss., 751-764, 2021.
- [4] A. Özkök, E. Akbay, A. E. T. Samancı, N. Mayda, ve M. Onur, “Evaluation of bioactive compounds and proliferation properties of different royal jelly samples,” *Progress in Nutrition*, c., 23, s., 1, ss., e2021029, 2020 DOI: 10.23751/pn.v23i1.9360
- [5] A. E. Tanuğur Samancı, ve M. Kekeçoğlu, “An evaluation of the chemical content

and microbiological contamination of Anatolian bee venom,” *PloS one*, c., 16, s., 7, ss., e0255161, 2021.

- [6] M. Kekeçoğlu, T., Çaprazlı, T. Samancı, A. E. Tanuğur Samancı, ve E. Yorulmaz Önder, “Determination and comparison of apitherapeutic value of Turkish and Chinese bee venom through chemical content analysis,” *5th International Eurasian Congress on Natural Nutrition, Healthy Life & Sport*, Ankara, Türkiye, 2019, sayfa, 1133-1139.

