



Vespa crabro germana Christ, 1791 (Hymenoptera: Vespidae)'in Yuva Materyalinin Kimyasal Bileşenleri, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri

Ömer ERTÜRK^{1,a,*} Atilla ŞİMŞEK^{2,b}

¹Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Türkiye

²Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ordu, Türkiye.

*Sorumlu yazar e-mail: oseerturk@hotmail.com

doi: 10.17097/ataunizfd.593016

Geliş Tarihi (Received): 17.07.2019 Kabul Tarihi (Accepted): 05.12.2019 Yayın Tarihi (Published): 25.01.2020

ÖZ: Sosyal eşekarısı, yuvalarını doğada çeşitli organik ve inorganik malzemeler kullanarak oluşturur. Bu çalışmada, *Vespa crabro germana* Christ, 1791 yuvasına ait etanol ekstresinin toplam fenolik madde (TFM) içeriği, ferrik iyon indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ve DPPH radikal süpürme etkisine dayalı antioksidan potansiyeli, biyokimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak 8 bakteri ve 2 mantar türüne karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite belirlenmiştir. İncelenen yuva numunesinin etanol ekstresi, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* ve *Candida albicans*'a karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Öte yandan, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Aspergillus niger* ve *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı minimum aktivite elde edilmiştir. Örnek ekstraktının TFM içeriği Folin-Ciocalteu testi kullanılarak analiz edilmiş ve 0.56 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g numune olarak hesaplanmıştır. Ekstrenin FRAP değeri ve DPPH radikal süpürme aktivitesi sırasıyla 1.94 mg trolox eşdeğeri (TE)/numune ve 0.88 mg TE/g numune olarak tespit edilmiştir. Numunenin GC-MS analizi katı faz mikroekstraksiyon (SPME) tekniğine göre yapılmış ve 44 bileşik tanımlanmıştır. Biyoaktif potansiyeli olan bu bileşiklerin varlığı, araştırılan numune ekstraktına, antifungal, antibakteriyel, antiviral ajanlar vb. gibi farmasötik anlamda katma değer sağlar. Başka bir ifadeyle, yuva numunesinin antioksidan ve antimikrobiyal potansiyeli, bu bileşiklerin varlığına atfedilebilir. Bu nedenle sosyal eşekarısı tarafından yavru yetiştiriciliği için kullanılan yuvaların yapısında kullanılan malzemeler biyolojik aktiviteler açısından önem arz eder.

Anahtar Kelimeler: *Vespa crabro germana*, FRAP, Antibakteriyel, Antifungal

Chemical Components, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Nest Materials *Vespa crabro germana* Christ, 1791 (Hymenoptera: Vespidae)

ABSTRACT: Social wasps build their nests in nature by using various organic and inorganic materials. In this study, the total phenolic content, antioxidant potentials based on ferric reducing antioxidant power (FRAP) and DPPH radical scavenging activity, biochemical composition and antimicrobial activity of the ethanol extract of *Vespa crabro germana* Christ, 1791 nest were investigated. Antibacterial and antifungal activity was determined by disc diffusion method against 8 bacteria and 2 fungi species. The ethanol extract of the investigated nest sample showed maximum antimicrobial activities against *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* and *Candida albicans*. On the other hand, the minimum activities obtained against *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Aspergillus niger* and *Klebsiella pneumoniae*. Total phenolic content (TPC) of sample extract was analyzed using Folin-Ciocalteu assay and calculated as 0.56 mg gallic acid equivalent/g sample. FRAP value and DPPH radical scavenging activity of the extract value were determined as 1.94 mg trolox equivalent/g sample and 0.88 mg trolox equivalent/g sample, respectively. GC-MS analysis of the sample was according to solid phase microextraction (SPME) technique and 44 compounds were identified. The presence of these compounds with bioactive potential, add value to investigated sample extract with a pharmaceutical meaning as antifungal, antibacterial, antiviral agents and so on. In other words, the antioxidative and antimicrobial potential of the nest sample could be attributed to presence of these compounds. For this reason, the materials used in the structure of the nests used for breeding by the social wasp are important for the biological activities.

Keywords: *Vespa crabro germana*, FRAP, Antibacterial, Antifungal

GİRİŞ

Sosyal eşekarısı yuvaları yavru yetiştiriciliği için bir yuva ve yuvalanma faaliyetlerinin merkezi olarak hizmet eder (Jeanne, 1977; Starr, 1991). Yaban arıları genel olarak buldukları çevrenin ekolojik şartlarının en iyi şekilde değerlendirerek

bitkisel otsu ve odunsu lifleri, küçük bitkisel çipsleri, bitki kollarını, çamuru toplarlar ve çeşitli mimari tasarımlarla yuva oluşturmak için çiğnerler ve ağız salgısı ile karıştırırlar böylece kendilerine özgü şekli vererek yuvalarını oluştururlar (Jeanne, 1977;

Bagriacik, 2011). Yaban arıları, olumsuz hava şartlarından, yağmurdan ve aşırı sıcaktan korumak için yapmış oldukları salgılar ile yuvalarının yüzeyini genelde kaplarlar. Son zamanlarda, yapılan bazı çalışmalarda, önemli olan iki Japon *Polistes* eşekarısı, *P. chinensis* ve *P. riparius* için, yavru çıkış öncesi yuvalarının yapımı ve bakımında büyük miktarda salgının kullanıldığı bildirilmiştir (Yamane et al., 1998). Yaban arıların kendilerine özgü olan oral sekresyonların kimyasal özellikleri, *Polistina*, *Protopolybia*, *Ropalidia* ve *Polist* alt familyalarının bazı cinslerinde incelenmiştir (Schremmer et al., 1985; Jeanne, 1986). Oral sekresyon, bugüne kadar analiz edilen çoğu yaban arısı cinsinde proteinden oluştuğu için (Jeanne, 1996), salgı üretim işinin çok uğraş gerekirken bir iş olduğu varsayılmaktadır (Maschwitz et al., 1990). Yuvalardaki proteinlerin amino asit kompozisyonu *Dolichovespula maculata* (McGovern et al., 1988) ve *Ropalidia opifex*'te (Maschwitz et al., 1990) incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, göstermiştir ki mevcut proteinler genel olarak alanin, glisin ve serini amino asitlerinin bu türlerin yuvalarında ana bileşen olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *Vespidae* ailesindeki sosyal gelişim için de önemli olan amino asit bileşimi gibi oral salgılamamanın kimyasal yapısının gelişimini önermişlerdir. *Vespidae*'nın arı yuvaları içeriğinin etkileri hakkında çok az yayınlanmış veri bulunmaktadır. Sadece *Vespa crabro germana*'nın arı yuvaları içeriği üzerine yapılan birkaç antimikrobiyal aktivite çalışması önemli sonuçlar vermiştir. Ek olarak, yuvaların kendi türlerine ait bireyler üzerindeki antimikrobiyal aktivite dereceleri bilinmemektedir. Birçok sosyal böcek kolonilerindeki enfeksiyonları önleyen savunma sistemleri geliştirmiştir. Örneğin, arı propolisi ve arı sütü antimikrobiyal özellikler gösterir ve termitlerin fekal peletleri mantar patojenlerinin gelişimini engeller (Rosengaus et al., 1998; Anderson et al., 2011). Karıncalar ile ilgili olarak, çoğu tür, salgıları bireyler ve yuva boyunca yayılan, geniş bir antimikrobiyal etki spektrumuna sahip olan göğüs kafesinde metapleural bezlere sahiptir. Bu aktivite, peptit prekürsörlerin sınırlı hidrolizi yoluyla parazitoid soyunun hayatta kalmasını ve gelişmesini sağlamak için konağın şartlandırılmasında rol oynayabilen antibakteriyel peptitlerin veya diğer peptitlerin işlenmesinde faaliyette bulunabilir (Blum et al., 1958). *Vespa crabro* da dahil olmak üzere bal arıları, yaban arıları ve eşek arılarının zehirleri, antimikrobiyal peptitlere sahiptir; bununla birlikte, doğal işlevleri daha fazla açıklığa kavuşturulmalıdır (Banks and Shipolini, 1986; Monteiro et al., 2009; Anderson et al., 2011). Penisilin keşfi ile birlikte antimikrobiyal araştırmalar hız kazanmış ve mikroorganizmalardan streptomisin, aureomisin, kloromisetin gibi sayısız antibiyotikler keşfedilmiştir.

Klinik olarak kullanılan mikroorganizma kaynaklı bu antibiyotikler genellikle toprak mikroorganizmalarından ve funguslardan üretilmektedir. Biyoaktif mikrobiyal ürünlerin araştırılması yıldan yıla süreklilik arz etmektedir ve bitki temelli antimikrobiyal bileşenler (fitokimyasallar), nicelik olarak gösterdikleri terapötik potansiyel ile zengin bir alternatif sunmaktadırlar (Shinji M. 1993). Yaban arı yuvaları büyük bir oranla bitkisel materyal içerir. Bu amaçla, bu çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesinden elde edilen arı yuva örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri, antioksidan potansiyelleri, biyokimyasal bileşimi, antimikrobiyal aktiviteleri ve bazı fiziksel özellikleri ve temel bileşimi incelenmiştir. Bir çok bitkisel materyalin bir arada bulunması ve ayrıca yaban arısının kendine özgü salgısının insan patojeni olan bakterilere ve funguslara üzerin etki eden her hangi bir etken madde olabilir mi düşüncesi ve böylece her gün giderek artan kimyasal antibiyotiklere alternatif doğal antibiyotiklerin bulunması önem arz etmektedir. Bu çalışmanın esas hedefi doğal ürünlerin değerlendirilmesidir.

MATERYAL VE METOT

Yuva toplama ve Özütlerin çıkarma

Vespa crabro germana Christ, 1791, Türkiye'de bu türün de bulunduğu (Vespinae) üzerine yapılan sistematik bazı çalışmalar mevcuttur (Yıldırım ve Özbek, 1992). Çalışma için örnekler Temmuz-Ağustos 2015 döneminde Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki Trabzon ilinden (39° 43'E, 41° 00', Türkiye) toplanmıştır. Larva, pupa ve yumurta yuvadan çıkarılmış, gözlem için petekten (taraktan) küçük parçalar kesilmiştir. Yuvalar, Ordu Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Entomoloji Laboratuvarında muhafaza edilmiştir. Yuva örnekleri oda sıcaklığında % 95 etanol ile ekstrakte edildikten sonra ekstreler bir gün 4°C'de tutulmuş ve 0.45 mikron membran filtreden süzümüştür. Elde edilen filtratlar, analiz edilinceye kadar -20°C'de saklanmıştır. Yuva numunesi % 70 etanol ile seyreltilmiştir (Ertürk ve ark., 2009).

Test Edilen Mikroorganizmalar ve Kültür Ortamı

ATCC'den (American Type Culture Collection) bakteri ve mantar türleri elde edilmiştir. Yuva malzemesinin antimikrobiyal aktivitesi, on bakteri (dört gram-pozitif: *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Micrococcus luteus* (B1018), *Bacillus subtilis* (B209), altı gram-negatif: *Proteus vulgaris* (B123), *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Streptomyces murinus* ISP 5091, *Yersina enterocolitica* ATCC®27729, ve iki mantar (*Candida albicans* ATCC®10231, *Aspergillus niger* ATCC 9642, türleri kullanılarak çalışılmıştır. Mueller

Hinton Agar (MHA, Merck) veya Mueller Hinton Broth (MHB, Merck) ve Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Difco) veya Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Oxoid), sırasıyla bakteri ve mantar hücrelerini büyütme için kullanılmıştır.

Antibakteriyel ve Antifungal Deneyler

Antibakteriyel ve antifungal aktivite tayini için difüzyon disk plakaları yöntemi kullanılmıştır. (Ronald,1990) Bu amaç için, ilk olarak bakteri suşları 37 °C'de 24 saat boyunca MHB besiyerinde, mantar suşları ise 27°C'de 48 saat boyunca SDB besiyerinde büyütülmüştür. Bir gecelik kültürler, sıvı besiyeri ile seyreltilmiş ve nihai bakteri ve mantar hücre konsantrasyonları, sırasıyla A_{600} nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek 10^8 ve 10^7 hücre/mL'ye ayarlanmıştır. Her 15 cm petri plağı içerisine 20 mL MHA ve SDA besiyeri döküldükten sonra katılaşması sağlanmıştır. Yuva ekstrakt numunesi, 0,5, 1, 1,5, 2 ve 2.5 g/mL konsantrasyonlarında test edilmiştir. Test edilecek mikroorganizma suşlarının seyreltilmiş her bir süspanسیونundan 30 µl alınarak petri kaplarındaki agar üzerine aktarılmış ve özenle yayılmıştır. Daha sonra steril kağıt diskler (Oxoid, CT09988, 6 mm çaplı) agar üzerine yerleştirilmiş ve disklere her yuva numunesinden 30 µl yüklenmiştir. Antibakteriyel ve antifungal aktiviteler için sırasıyla 37 °C'de 24 saat ve 27 °C'de 48 saat inkübasyondan sonra inhibisyon çapları belirlenmiştir. Tüm testler üç tekrür olarak gerçekleştirilmiştir.

GC-MS analizi

Numunelerin GC-MS analizi, bir kolon (Teknokroma TRB 5-MS, 30 m × 0.250 mm id; film kalınlığı 0.25 µm) ile donatılmış GC-MS (Shimadzu 2010 Serisi GC-Shimadzu QP 2010 Plus Serisi MS) kullanılarak katı faz mikroekstraksiyon (SPME) tekniğine göre gerçekleştirilmiştir. GC-MS koşulları aşağıdaki gibi ayarlanmıştır. Fırın sıcaklığı 50 °C ve başlangıçta 1 dakika tutulduktan sonra son sıcaklık dakikada 3 °C yükseltilerek 250 °C'ye çıkarılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dak akış hızında helyum kullanılmış, elektron iyonizasyon detektörünün voltajı 70 eV ve detektör sıcaklığı 250 °C'ye ayarlanmıştır. Fiber tarafından adsorbe edilen bileşikler, splitless modda GC-MS'e enjekte edilen enjeksiyon portundan desorbe edilmiştir. Bileşikler, Wiley kütüphanesindeki spektrumlarla karşılaştırılarak tanımlanmıştır.

Antioksidan aktivite

Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi

Ekstraktların toplam fenolik içerikleri, Folin-Ciocalteu reaktifini içeren yöntem kullanılarak belirlenmiştir (Singleton and Rossi, 1965). Toplam fenolik bileşiklerin miktarı, numune materyalinin

günlük hazırlanan standart gallik asit eğrisi yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru ağırlık olarak ifade edilmiştir.

FRAP Yöntemi Kullanılarak Antioksidan Aktivite Tayini

Numunenin ferrik indirgeyici antioksidan gücünü (FRAP) belirlemek amacıyla deney tüpünde 1.25 mL'lik bir hacim elde edebilmek için 0.2 M fosfat tamponuna (pH 6.6) 120 uL numune eklenmiştir. Daha sonra eşit hacimde % 1'lik potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$) çözeltisinden ilave edilen tüpler vorteks yardımıyla karıştırılarak 50 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tüplere % 10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisinden 1.25 mL ve % 0.1 $FeCl_3$ çözeltisinden 0.25 mL aktarılmıştır. Elde edilen çözeltinin absorbansları, 700 nm'de UV-VIS spektrofometrede ölçülmüştür (Benzie and Strain, 1996).

DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitenin Ölçümü

Numunelerin DPPH radikal giderici aktivitesi tayini Silva et al., (2006)'ya göre gerçekleştirilmiştir. Numunelerden bir kısım alınarak metanol ile hazırlanan DPPH çözeltisi ile karıştırılmış ve 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından çözelti absorbansları 517 nm'de tespit edilmiştir. Troloks pozitif kontrol olarak kullanılmış ve sonuçlar TE/g numune olarak hesaplanmıştır (Akyüz ve ark., 2014).

İstatistiksel Analiz

Çizelgelerde gösterilen değerler, üç paralel ölçümün ortalama ± standart sapmaları şeklinde verilmiştir. Değerler basit uyumu göstermiştir. SC50 değerleri doğrusal regresyon analizinden hesaplanmıştır (MsExcel 2003). Veriler SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçların istatistiksel analizi Mann-Whitney U-testi ve Pearson korelasyon analizi ile yapılmış, $p < 0.05$ seviyesindeki farklar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Alkol ile seyreltilmiş yuva materyalinin beş fraksiyonunun antibakteriyel aktivitesi, 8 bakteri ve 2 mantar türüne karşı agar disk difüzyon yöntemi ile in vitro olarak test edilmiştir. Çizelge 1, incelenen eşek arı yuvasının etanol ekstraktlarının mikrobiyal gelişme inhibisyonunu özetlemektedir. Beş seyreltilmiş yuva etanol ekstresi antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermiştir. Öte yandan, hemen hemen tüm yuva etanol ekstraktları, bu çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilemiştir.

Çizelge 1: *Vespa crabro germana*'nın Yuva Ekstraktlarının İnhibisyon Zonları Açısından Antimikrobiyal Aktivitesi (mm)

Yuva ekstraktları mg/ml	Y.e.	A. n.	S. m.	K. p.	S. a.	M. l.	C. a.	B. s.	P. v.	P. a.
5 µl (0.5 mg)	17.00±0.00	16.33±0.57	10.33±0.57	10.33±0.57	17.33±0.57	27.00±0.00	25.00±0.00	22.33±0.57	27.00±0.00	13.00±0.00
10 µl (1mg)	19.33±0.57	19.33±0.57	17.00±0.00	11.33±0.57	21.00±0.00	27.33±0.57	25.00±0.00	25.33±0.57	30.00±0.00	12.33±0.57
15 µl (1.5mg)	22.00±0.00	21.33±0.57	30.33±0.57	22.33±0.57	21.00±0.00	28.00±0.00	30.33±0.57	30.33±0.57	30.33±0.57	14.33±0.57
20 µl (2 mg)	23.33±0.57	21.00±0.00	30.00±0.00	23.00±0.00	23.33±0.57	29.33±0.57	30.33±0.57	30.33±0.57	34.00±0.00	12.33±0.57
25 µl (2.5 mg)	23.33±0.57	21.33±0.57	30.33±0.57	23.33±0.57	27.00±0.00	33.33±0.57	32.33±0.57	34.33±0.57	34.33±0.57	12.33±0.57
Alkol	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
Ampisilin	15.33±0.57	NT	11.33±0.57	13.33±0.57	15.00±0.00	6.00±0.00	NT	36.33±0.57	28.33±0.57	27.33±0.57
Sefazolin	15.33±0.57	NT	6.00±0.00	11.00±0.00	1633±0.57	35.33±0.57	NT	38.33±0.57	6.00±0.00	24.33±0.57
Nistatin	NT	14.00±0.00	NT	NT	NT	NT	15.33±0.57	NT	NT	NT

Mikroorganizmalar: NT: **Tespit edilemedi** –; **İnhibisyon yok** **Y.e.:** *Yersinia enterocolitica* **A.n.:** *Aspergillus niger*, **S.m:** *Streptomyces murinus*, **K.p.:** *Klebsiella pneumoniae*, **S.a.:** *Staphylococcus aureus*, **P.a.:** *Pseudomonas aeruginosa*, **M.l.:** *Micrococcus luteus*, **C.a.:** *Candida albicans*, **B.s.:** *Bacillus subtilis*, **P.v.:** *Proteus vulgaris*,

Maksimum antibakteriyel ve antifungal aktiviteyi, seyreltilmiş 25 µl (2.5 mg) yuva ekstraktları göstermiştir. Bunu sırasıyla 20 µl (2 mg) ve 15 µl (1.5 mg) konsantrasyondaki ekstrale takip etmiştir. İncelenen seyreltilmiş 25 µl (2.5 mg) yuva etanol ekstraleleri, Gram-negatif *Proteus vulgaris*, Gram-pozitif *Bacillus subtilis* bakterilerine ve *Candida albicans* mantarına karşı maksimum antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermiştir. Seyreltilmiş beş yuva etanol ekstralelerinin minimum antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri, Gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa*, Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* ve mantar olarak *Aspergillus niger*'e karşı belirlenmiştir. Arı yuvalarının ekstraktlarının bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri, Ertürk ve ark. (2003) tarafından bildirilen sonuçlara benzer şekilde mantarlara karşı olanlardan daha etkili bulunmuştur. Aktif seyreltilmiş yuva ekstralelerinin önemli antibakteriyel etkinliği, standart antimikrobikler, Ampisilin (30 µg/disk), Sefazolin (30 µg/disk) ve Nistatin (30 µg/disk) ile karşılaştırılabilir. Sosyal böcekler, kalabalık yaşam koşulları ve yakından ilişkili yuva arkadaşlarının belirli patojenlere karşı benzer zafiyetleri paylaşma potansiyeli nedeniyle özellikle parazitler ve patojenlerden kaynaklanan yüksek risklerle karşı karşıyadır (Schmid-hempel, 1998). Bu risklerini azaltmak için farklı yöntemler kullanırlar. Hayvanlar alemindeki birçok tür, parazitlerin ve patojenlerin etkilerini azaltmak için bitki tarafından üretilen reçineleri kullanabilir. İyi tanımlanmış bir örnek olarak, İsviçreli bir ahşap karınca olan *Formica para lugubris*, iğne yapraklı ağaçlardan elde edilen reçine globüllerini yuva malzemesiyle karıştırır ve bu reçine yuvadaki toplam mikroorganizma sayısını azaltır (Christe et al., 2003). Reçinelerin antibakteriyel özellikleri iyi bilinmesine rağmen, doğal düşmanların kovucu maddeleri olarak, faydalı olan yuva malzemeleri ve onu oluşturan salgı maddesinin seçimi ve kimyası çalışılmamıştır (Lokvam and Braddock, 1999; Langenheim, 2003). Sonuç olarak, balmumu yuva ekstraleleri, en yaygın bakteriyel hastalıklardan sorumlu bir bakteri paneline karşı geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir. Bu sosyal eşek arılarının yuva yapımında kullandığı bitki kökenli ve kendilerine ait olan salgıdan oluşan yuvanın özütleri klinik olarak etkili yeni antibakteriyel ve antifungal bileşikler araştırılmasında bir yeni kaynak oluşturabilir.

Arılar yuvasının kimyasal tutarlılığı/uyumu/kıvamı, toplandığı bölgenin florasına büyük ölçüde bağlıdır. Kıta Avrupası yuvalarının aksine, farklı arı yuvaları, coğrafi konumu sonucunda gelişen ülkenin eşsiz florası nedeniyle farklı bir botanik kökene sahiptir. Ülke florası, yüksek oranda endemik bitki içeren, genel olarak bilinen bir biyolojik çeşitliliği sunar (Spradbery, 1973).

Örnek ekstraktının TFM içeriği, Folin-Ciocalteu testi kullanılarak 0.56 mg GAE/g numune olarak hesaplanmıştır. TFM içeriği, antioksidan özellikler için diğer özel yöntemlerden daha genel bir fikir vermektedir. FRAP kapasitesi, Benzie and Strain, (1996) yöntemine göre belirlenmiş ve troloks da standart bir antioksidan bileşik olarak aynı koşullar altında test edilmiştir. Ekstrenin FRAP değeri, 1.94 mg TE/g numune olarak tespit edilmiştir. Ve son olarak, DPPH radikal süpürme aktivite, Silva et al., (2006) tarafından verilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Ekstrenin DPPH radikal süpürme aktivitesi 0.88 mg TE/g numune olarak saptanmıştır. Tüm analizler üç kez gerçekleştirilmiş ve ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Analizi gerçekleştirilen bu tekniklere göre, numune ekstresi antioksidan kapasite bakımından hemen hemen yüksek değerler göstermiştir. Elde edilen TFM değeri, DPPH ve FRAP testi sonuçları ile karşılaştırılabilir (Çizelge 2). Çünkü birçok antioksidan bileşik TFM'nin belirlenmesinden sorumludur, fakat aynı zamanda bazı bileşikler daha yüksek değer ve özelliklerin tespitini önleyebilir (sterik engelleme, pro-oksidan bileşikler vs). GC-MS sonuçları bu fikri açıklamak için bir kanıt olarak verilmiştir (Çizelge 3).

TFM'nin yanı sıra, FRAP tekniği ferrik iyon indirgeme ölçümlerine dayanan çok yaygın olarak kullanılan bir testtir. Bu değerler daha yüksekse, güçlü bir antioksidan kaynağı olarak tahmin edilebilir. Ekstre için belirlenen 1.94 mg TE/g numune FRAP analizi için bir değer olarak bulunmuştur (Çizelge 2). Ayrıca, troloks standardını kullanan başka bir analiz DPPH radikal süpürücü aktivite tayini yöntemidir. DPPH ticari bir radikaldır ve genel yapısını stabilize etmek için serbest antioksidan bileşiklerle reaksiyona girer. Troloks eşdeğerine göre, 0.88 mg TE /g örnek azımsanmayacak bir sonuçtur (Çizelge 2).

Çizelge 2. Yuva numunelerinin toplam fenolik madde (TFM) içeriği ve antioksidan aktivite değerleri

	TFM (mg GAE/g örnek)	FRAP (mg TE/ g örnek)	DPPH (mg TE/ g örnek)
Numune	0.56±0.02	1.94±0.28	0.88±0.09

Ekstrenin Kimyasal Bileşimi

Gaz kromatografi analizinin sonucunda 44 bileşik tanımlanmış ve piklerin görüntüleri, Wiley kütüphanesi verileri ile karşılaştırılmıştır. Alıkonma süreleri (RT), moleküler formül, moleküler ağırlık (MW) ve konsantrasyon (% pik alanı) Çizelge 3'te sunulmuştur. Ayrıntılı değerlendirme sonucunda, 25.239 ve 45.860 alıkonma süreleri ile iki pik noktası dikkat çekmiştir (Şekil 1). Bu iki pik noktasının sırasıyla 1,2-Benzendikarboksilik asit, dietil ester ve 9-Tricosene bileşiklerine ait olduğu kütle spektrofotometre analiziyle belirlenmiştir. Bunların dışında, diğer belirgin pik noktaları, 30.008, 33.500, 37.242, 41.025, 41.367, 46.692, 48.567, 53.458 alıkonma süreleri ile 1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy) tetrasiloxane, Eicosamethylcyclodecasiloxane, Tetracosamethylcyclododecasiloxane, Octadecamethylcyclononasiloxane, Hexacosane, 1H-Purin-6-amine amine 'ye aittir (Şekil 1). Çizelge 3'te görülebileceği gibi, çoğu organosilikon bileşikleridir. Biyoaktif potansiyeli olan bu bileşiklerin varlığı, araştırılan numune ekstraktına, antifungal, antibakteriyel, antiviral ajanlar vb. gibi farmasötik anlamda katma değer sağlar. Başka bir ifadeyle, yuva numunesinin antioksidan ve antimikrobiyal potansiyeli, bu bileşiklerin varlığına atfedilebilir.

Tamil Muthu ve Selveraj, (2015) tarafından yapılan çalışmada % 12.28 pik alanıyla tanımlanan 1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl) methyl]- (CAS)'ın çeşitli bitki kısımlarında ve mayada bir hücre bölünmesi ve büyüme düzenleyici faktör

olduğu bildirilmiştir. Bu bileşiğin, antimikrobiyal ve antifungal aktivite gösterdiği ve çeşitli enzimlerin güçlü bir mekanizmaya dayalı inhibitörü olduğu vurgulanmıştır. Türevlerinin ayrıca, antitüberküler, antiinflamatuvar, antitümör, antiparkinson, antelmintik, antihipertansif, antihiperlipidemik, antiülser, kemoprotektif ve seçici CCR3 reseptör antagonist aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca, tanımlanan bileşiklerden biri olan trikosanın, antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik ve antikanser aktivitesine de sahip olduğu bilinmektedir (Subbaiyan et al., 2014).

Arı yuvasının göstermiş olduğu antimikrobiyal özellik içermiş olduğu, bazı bileşiklerden dolayıdır. Bunlardan bazıları örneğin, Hexacosane'den kaynaklı olabilir. Rukaiyat et al. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, *Sansevieria liberica* bitkisinden izole edilen Hexacosane'nin antimikrobiyal etkisi, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Mithecithin staphaureus* ve *Proteus vulgaris*'e karşı sırasıyla 29, 27, 26 ve 25 cm zon inhibisyonu ile orta derecede yüksek aktivite göstermiştir. Hem metil austratin hem de eşdeğer asidinin mantarlara ve Gram-pozitif bakterilere karşı aktif olduğu, metil esterinin de Gram-negatif bakterilere karşı aktif olduğu gösterilmiştir (Smania et.al., 2007) Muhtemelen, karboksil grubunun metilasyonu nedeniyle lipofilikliğin artması, bu maddenin, lipoproteinler, lipopolisakaritler ve fosfolipitler tarafından oluşturulduktan sonra Gram-negatif hücrenin dış membranı boyunca taşınmasını kolaylaştırdığı belirtilmiştir (Elza de et al., 2007).

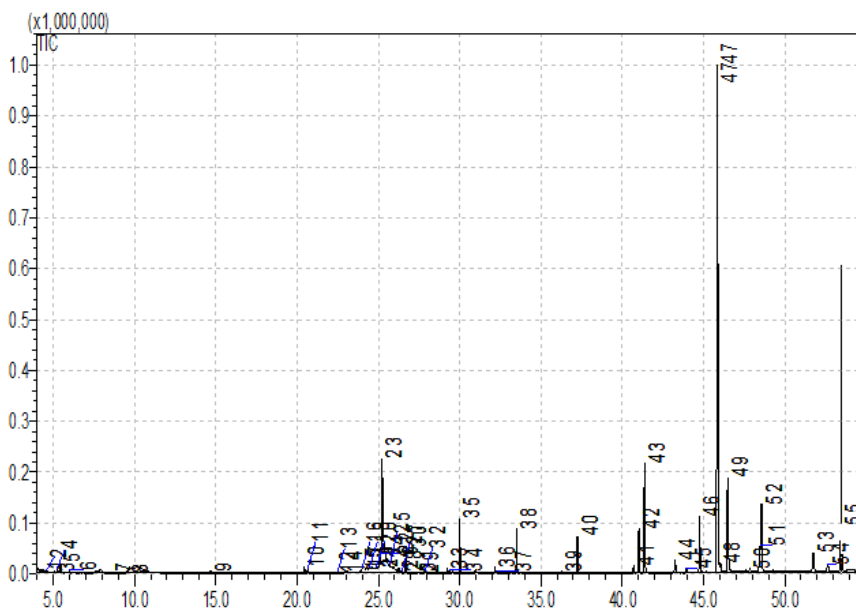
Çizelge 3. *Vespa crabro germana* yuva ekstralarının GC-MS tarafından tespit edilen bileşiklerinin özellikleri

Bileşik Adı	Molekül Formülü	Alınma Süresi (dk)	Molekül Ağırlığı	Pik Alanı (%)
<i>(i) Hydrocarbons</i>				
2-Methylheptadecane	C ₁₈ H ₃₈	20.662	254.49432	0.23
n-Hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	46.499	366.707	6.31
n-Hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	41.373	366.707	7.08
n-Pentatriacontane	C ₃₅ H ₇₂	43.259	492.94618	0.92
n-Tricosane	C ₂₃ H ₄₈	48.471	324.63	1.68
n-Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	52.658	268.518	0.69
2,3,3,4-Tetramethylpentane	C ₉ H ₂₀	24.017	128.255	0.30
Cyclopentane, 1,1,3-trimethyl-	C ₈ H ₁₆	46.034	112.2126	0.25
cis - 2 - nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	25.100	266.50502	0.88
6(E),9(Z),13(E)-pendedtriene	C ₁₅ H ₂₆	26.253	206	0.09
(Z)-9-Tricosen	C ₂₃ H ₄₆	45.860	322.62	35.87
cis - 2 - nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	51.758	266.50502	1.65
1,1-Dioctyloxyoctane	C ₂₄ H ₅₀ O ₂	14.687	370.381	0.08
<i>(ii) Ketones</i>				
4-Triphenyl-2H-quinolin-6-one - 1-oxide	C ₂₇ H ₁₉ NO ₂	4.375	389.445	0.05
Methanone, 1-(2-hydroxyphenyl)-1-(3,5,5-trimethyl-2-pyrazolin-1-yl)-	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂	25.500	232.27834	0.71
exen-2-one, 3-(2-propenyl)-	C ₉ H ₁₄ O	25.692	138.21	0.29
H)-Pyridinone	C ₅ H ₅ NO	24.151	95.10	0.92
<i>Alcohols</i>				
(1RS,2RS,4SR,5SR)-6-Oxabicyclo[3.1.0]hexane-2,4-diol	C ₅ H ₈ O ₃	4.600	116.115	0.04
Aminomethyl)-2-cyclopentenyl]methanol	C ₇ H ₁₃ NO	9.475	127.184	0.14
eptadecanol	C ₁₇ H ₃₆ O	20.456	256.4671	0.41
ropyn-1-ol	C ₃ H ₄ O	22.775	56.06	0.09
zyl alcohol	C ₇ H ₈ O	24.466	108.14	0.71
Non-2-en-4-yn-1-ol	C ₉ H ₁₄ O	26.617	138.21	0.04
odecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	40.715	186.334	0.53
<i>ester</i>				
utyl Phosphate	C ₈ H ₁₉ O ₄ P	24.872	210.207822	0.25
Benzenedicarboxylic acid, diethyl ester	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	25.239	222.24	13.21
adecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	27.883	270.4507	0.42
icosanoic acid, methyl ester	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	32.188	340.5836	0.55
ahexacontanoic acid, methyl ester	C ₇₀ H ₁₄₀ O ₂	36.302	1013.859	0.19
<i>Ether</i>				
utoxy-1-butanol	C ₈ H ₁₈ O ₂	47.852	146.227	0.07
<i>Aldehyde</i>				
4-Pentenal	C ₅ H ₈ O	29.367	84.116	0.15
4-Pentenal	C ₅ H ₈ O	43.959	84.116	0.23
Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	8.622	142.23862	0.08
<i>(vi) Alkaloid</i>				
1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl)methyl]-	C ₁₂ H ₁₀ FN ₅	44.770	243	3.20
1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl)methyl]-	C ₁₂ H ₁₀ FN ₅	48.572	243	5.04
1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl)methyl]-	C ₁₂ H ₁₀ FN ₅	53.468	243	4.04
<i>(vii) Aromatic</i>				
Benzene, 1,3-dimethyl-	C ₈ H ₁₀	5.259	106.1650	0.13
Benzene, 1,3-dimethyl-	C ₈ H ₁₀	5.440	106.1650	0.56
Benzene, 1,3-dimethyl-	C ₈ H ₁₀	6.003	106.1650	0.14
(tert-Butylsulfanyl)benzene	C ₁₀ H ₁₃ S	22.375	165.19	0.04
9-Amino-7-methyl-1,2,3,4-tetrahydroacridine	C ₁₄ H ₁₆ N ₂	22.458	212.29	0.04
3-(Benzyloxycarbonyl)-1-(p-toluenesulfonyl)-5,6-dihydro-2(1H)-2-pyridone	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅ S	29.234	385	0.23
<i>(viii) Cyclic compounds</i>				
3-Diaziridinamine, N,N,1,2,3-pentafluoro-	CF ₅ N ₃	23.983	149.02	0.09
4,7-Epoxytricyclo[4.1.0.0(3,5)]heptane	C ₇ H ₈ O	24.742	108.138	0.14

Çizelge 3'ün devamı

(ix) Organosilicon compounds

1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	C ₁₆ H ₄₈ O ₆ Si ₇	30.015	533.14722	2.35
Eicosamethylcyclodecasiloxane	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ Si ₁₀	33.510	741.5394	2.12
Tetracosamethylcyclododecasiloxane	C ₂₄ H ₇₂ O	37.247	889.847	2.06
Octadecamethylcyclononasiloxane	C ₁₈ H ₅₄ O	41.029	667.385	2.62
Hexadecamethyl-cyclooctasiloxane	C ₁₆ H ₄₈ O ₈ Si ₈	26.706	593.2315	1.41

Şekil 1. *Vespa crabro germana* yuva ekstraktlarının gaz kromatografi analizi ile tespit edilen pikleri**KAYNAKLAR**

- Akyüz, E., Şahin, H., Islamoğlu, F., Kolaylı, S., Sandra, P., 2014. Evaluation of phenolic compounds in *Tilia rubra* subsp. *caucasica* by HPLC-UV and HPLC-UV-MS/MS. *International Journal of Food Properties.*, 17 (2): 331-343.
- Anderson, K.E., Sheehan, T.H., Eckholm, B.J., Mott, B.M., DeGrandi-Hoffman, G. 2011. An emerging paradigm of colony health: microbial balance of the honey bee and hive (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux.*, 58 (4): 431.
- Bagriacik, N., 2011. Determination of some structural features of the nest paper of *Vespa orientalis* Linnaeus, 1771 and *Vespa crabro* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Vespinae) in Turkey. *Archives of Biological Sciences.*, 63 (2): 449-455.
- Banks, B.E., Shipolini, R.A., 1986. Chemistry and pharmacology of honey-bee venom. *Venoms of the Hymenoptera: Biochemical, pharmacological and behavioural aspects.*, 330-416.
- Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry.*, 239 (1): 70-76.
- Blum, M.S., Walker, J.R., Callahan, P.S., & Novak, A.F., 1958. Chemical, insecticidal, and antibiotic properties of fire ant venom. *Science.*, 128 (3319): 306-307.
- Christe, P., Oppliger, A., Bancalà, F., Castella, G., Chapuisat, M., 2003. Evidence for collective medication in ants. *Ecology Letters.*, 6 (1): 19-22.
- Ertürk, Ö., Katı, H., Yaylı, N., Demirbağ, Z., 2003. Antimicrobial activity of *Viscum album* L. subsp. *abietis* (Wiesb). *Turkish Journal of Biology.*, 27 (4): 255-258.
- Ertürk, Ö., Karakaş, F.P., Pehlivan, D., Nas, N., 2009. The antibacterial and antifungal effects of *Rhododendron* derived mad honey and extracts of four *Rhododendron* species. *Turkish Journal of Biology.*, 33 (2): 151-158.

- Jeanne, R.L., 1977. Ultimate factors in social wasp nesting behavior. Proceedings of the International Congress of the International Union for the Study of Social Insects., 164-168.
- Jeanne, R.L., 1986. The organization of work in *Polybia occidentalis*: costs and benefits of specialization in a social wasp. Behavioral Ecology and Sociobiology., 19 (5): 333-341.
- Jeanne, R.L., 1996. The evolution of exocrine gland function in wasps. Natural History and Evolution of Paper Wasps., 145-160.
- Langenheim, J.H., 2003. Plant Resins: Chemistry, Evolution, Ecology, and Ethnobotany (No. 620.1924 1275p). Portland, OR: Timber Press.
- Lokvam, J., Braddock, J.F., 1999. Anti-bacterial function in the sexually dimorphic pollinator rewards of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). Oecologia., 119 (4): 534-540.
- Maschwitz, U., Dorow, W.H.O., Botz, T., 1990. Chemical composition of the nest walls, and nesting behaviour, of *Ropalidia* (Icarialia) *opifex* van der Vecht, 1962 (Hymenoptera: Vespidae), a Southeast Asian social wasp with translucent nests. Journal of Natural History., 24 (5): 1311-1319.
- McGovern, J.N., Jeanne, R.L., Effland, M.J., 1988. The nature of wasp nest paper. Tappi Journal., 71: 133-139.
- Monteiro, M.C., Romão, P.R., Soare, A.M., 2009. Pharmacological perspectives of wasp venom. Protein and peptide letters., 16 (8): 944-952.
- Ronald, M.A., 1990. Microbiologia. Compania editorial continental SA de CV, Mexico, DF, 505.
- Rosengaus, R.B., Guldin, M.R., Traniello, J.F., 1998. Inhibitory effect of termite fecal pellets on fungal spore germination. Journal of Chemical Ecology., 24 (10): 1697-1706.
- Rukaiyat, M., Garba, S., Labaran, S., 2015. Antimicrobial activities of hexacosane isolated from *Sanseveria liberica* (Gerome and Labroy) plant. Advancement in Medicinal Plant Research 3 (3): 120-125.
- Schmid-Hempel, P., 1998. Parasites in social insects. Princeton University Press. 409 sayfa
- Schremmer, F., Marz, L., Simonsberger, P., 1985. Chitin im Speichel der Papierwespen (soziale Faltenwespen, Vespidae): Biologie, Chemismus, Feinstruktur. Mikroskopie., 42 (1-2): 52-56.
- Silva, T.M.S., Camara, C.A., da Silva Lins, A.C., Barbosa-Filho, J.M., da Silva, E.M.S., Freitas, B.M., dos Santos, F.D.A.R., 2006. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. Journal of Food Composition and Analysis., 19(6-7): 507-511.
- Shinji, M., 1993. Research on Antibiotic Screening in Japan Over The Last Decade: A Producing Microorganism Approach. Actinomycetol.. 7:100-106.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.
- Smania, E.F.A., Monoache, F.D., Yunes, R.A., Pauler, R., Junior, A.S., 2007. Antimicrobial activity of methyl australate from *Ganoderma australe*. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 17 (1): 14-16.
- Spradbery, J.P., 1973. Wasps. An account of the biology and natural history of social and solitary wasps, with particular reference to those of the British Isles.
- Starr, C.K., 1991. The nest as the locus of social life. The Social Biology of Wasps, 520-539.
- Subbaiyan, B., Samydarai, P., Karthik Prabu, M., Thangapandian, V., 2014. Gas chromatography and mass spectrum analysis of *Catharanthus pusillus* (Murray) g. Don (Apocyanaceae). International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences (IRJPAS), 4 (2): 4.
- Tamil Muthu, P., Selvaraj, D., 2015. Analysis of Bioactive Constituents from the Flesh of *Turbo brunneus* (Roding, 1798) by GCMS. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies., 3 (1): 257-259.
- Yamane, S., Kudô, K., Tajima, T., Nihon'yanagi, K., Shinoda, M., Saito, K., Yamamoto, H., 1998. Comparison of investment in nest construction by the foundresses of consubgeneric Polistes wasps, *P. (polistes) riparius* and *P. chinensis* (Hymenoptera: Vespidae). Journal of Ethology., 16 (2): 97-104.
- Yıldırım, E., Özbek, H., 1992. Türkiye Vespinae (Hymenoptera: Vespoidea: Vespidae) türleri üzerinde sistematik ve faunistik çalışmalar. Türkiye Entomoloji Dergisi, 16 (4): 227-242.