



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TÜRK PROPOLİSİNİN BORİK ASİTTEKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN İNCELENMESİ

Merve AKINCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Orhan DEĞER

TRABZON-2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

21/12/2022
Merve AKINCI

İthaf

Yüksek lisans tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan sevgili aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hoşgörüsünü eksik etmeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Orhan DEĞER'e,

Yüksek lisans eğitimimde emekleri geçen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN, Prof. Dr. Birgül KURAL, Prof. Dr. Ahmet ALVER, Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE, Dr. Öğr. Üyesi Fulya BALABAN YÜCESAN, Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin YAMAN'a

Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyesi Doç Dr. Selim DEMİR'e,

Anabilim Dalımızdaki desteklerini esirgemeyen başta Arş. Gör. Ertuğrul YİĞİT olmak üzere tüm araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma,

Ayrıca, her zaman ve her koşulda yanımda olan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Merve AKINCI

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Propolis	4
2.1.1. Propolisin Özellikleri ve İçeriği	5
2.1.1.1. Polifenoller	7
2.1.1.2. Flavonoidler	8
2.1.2. Propolisin Kökeni ve Bitki Kaynağı	12
2.1.3. Propolisin Antioksidan Aktivitesi	13
2.1.4. Propolisin Kullanım Alanları	14
2.1.5. Propolisin Ekstraksiyonu	14
2.2. Bor	15
2.2.1. Borun Kimyasal Özellikleri	19
2.2.2. Borun Canlılardaki Rolü	19
2.2.3. Borun Antioksidan Aktivitesi	23
2.2.4. Borun Kullanım Alanları	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Gereç	27
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	27

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar	28
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Propolis Ekstraktının Hazırlanması	28
3.2.2. Toplam Polifenol İçerik Tayini	29
3.2.3. Toplam Flavonoid İçerik Tayini	30
3.2.4. Demir İndirgeyici Güç Tayini	33
3.3. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	36
4.1. Toplam Polifenol İçerik Tayini Sonuçları	36
4.2. Toplam Flavonoid İçerik Tayini Sonuçları	36
4.3. Demir İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları	37
4.4. Korelasyon Analizi	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	38
6. KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	50

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Propoliste bulunan flavonoid çeşitleri	10
Tablo 2. Propolis içeriğinin iklim tipine, coğrafi kökenine ve bitki kaynağına bağlı değişimi	13
Tablo 3. Birtakım rafine borat ürünleri isim ve formülleri	16
Tablo 4. Kullanılan cihazlar ve üretim yerleri	27
Tablo 5. Kimyasalların isimleri, üretici firmaları ve ürün kodları	28
Tablo 6. Propolisin borik asitli ekstraktında toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi	30
Tablo 7. Propolisin borik asitli ekstraktında toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi	32
Tablo 8. Propolisin borik asitli ekstraktında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini	34
Tablo 9. Propolisin %1,5'luk ve %4,5'luk borik asit ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik tayini sonuçları	37
Tablo 10. Propolisin %1,5'luk ve %4,5'luk borik asit ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik tayini sonuçları	36
Tablo 11. Propolisin %1,5'luk ve %4,5'luk borik asit ekstraktlarındaki demir indirgeyici güç tayini sonuçları	37
Tablo 12. Korelasyon tablosu	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Propolisin içeriğinde mevcut olan bazı flavonoidler ve polifenoller	6
Şekil 2.	Propolisin kokusunu oluşturan bazı maddelerin kimyasal yapıları	7
Şekil 3.	Flavonoidlerin basit iskeleti	8
Şekil 4.	Flavonoidlerin sınıflandırılması	9
Şekil 5.	Propoliste bulunan bazı önemli flavonoidlerin kimyasal yapıları	11
Şekil 6.	Boromycin genel yapısı	17
Şekil 7.	Toplam polifenol içerik tayini için gallik asit standart grafiği	30
Şekil 8.	Toplam flavonoid içerik tayini için kuersetin standart grafiği	32
Şekil 9.	Demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troloks standart grafiği	34

RESİMLER DİZİNİ

Resim No

Sayfa

Resim 1. Ham propolis örneği

4



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AAS	Atomik absorpsiyon spektrometrisi
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AES	Atomik emisyon spektrometrisi
APX	Askorbat peroksidaz
ATP	Adenozin trifosfat
B	Bor
B₁	Tiamin
B₂	Riboflavin
B₆	Piridoksin
BNCT	Bor nötron yakalama terapisi
Ca	Kalsiyum
CAPE	Kafeik asit fenilesteri
CAT	Katalaz
CE	Kapiller elektroforez
Cu	Bakır
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
Fe	Demir
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
GA	Gallik asit
Hg	Cıva
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
I	İyot
ICP-MS	İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometrisi
K	Kuersetin

Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
Na	Sodyum
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
T	Troloks
TCA	Trikloro asetik asit
TIMS	Termal iyonizasyon kütle spektrometrisi
TLC	İnce tabaka kromatografisi
Zn	Çinko
Simgeler	
G	Gram
μ	Mikro
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Nm	Nanometre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
Formüller	
AlCl₃	Alüminyum (III) klorür
Al(NO₃)₃.9H₂O	Alüminyum nitrat nonahidrat
BBr₃	Bor tribromid
BCl₃	Bor triklorür

B(OH)₃	Borik asit
Ca[B₃O₄(OH)₃].H₂O	Kolemanit
CH₃COOH	Asetik asit
C₂H₂OH	Etanol
FeCl₃	Demir (III) klorür
H₃P[W₃O₁₀]₄	Fosfotungustik asit
KCH₃COO	Potasyum asetat
Na₂[B₄O₅(OH)₄].3H₂O	Boraks Pentahidrat
Na₂[B₄O₅(OH)₄].8H₂O	Boraks (Tinkal)
Na₂B₄O₇	Susuz boraks
NaCa[B₅O₅(OH)₆].5H₂O	Üleksit
Na₂CO₃	Sodyum karbonat

ÖZET

Türk Propolisinin Borik Asitteki Çözünürlüğünün İncelenmesi

Propolis bal arıları tarafından bitki kaynaklarından toplanan koyu renkli, reçineli doğal bir üründür. Propolisin biyolojik aktivitesinde polifenoller, flavonoidler gibi yapılar rol alır. Flavonoidler aynı zamanda antioksidan aktivite gösterir ve radikal temizleme yetenekleri vardır.

Bor, tarihi çok eskilere dayanan bir eser elementtir. Suda çözünür bir bileşik olan borun, vücutta kullanılmayan kısmı idrarla atılmaktadır. Borun antioksidan aktivitesi, reaktif oksijen türlerinin temizlenme mekanizması, mineral metabolizması ve flavonoid sentez metabolizması gibi biyokimyasal açıdan önemli süreçlerdeki rolüne bağlanmıştır. Bu çalışmada; Türk propolisinin borik asit ile ekstraktı hazırlanıp toplam polifenol ve flavonoid içerik, demir indirgeyici güç tayinleri yapılarak, Türk propolisinin borik asit ile çözünürlüğünün ne derece etkilendiğine ve antioksidan aktivitenin başlıca sorumlu bileşikleri olarak kabul edilen polifenol, flavonoidlerin miktarına ve antioksidan kapasiteye bakılmıştır. Propolisin çözünürlüğünün borik asitin miktarına bağlı olup olmadığını anlamak için iki farklı konsantrasyonda çözelti ile çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda borik asitin kendi başına antioksidan kapasitesi olmadığı, borik asitin miktarı ile propolisin çözünürlüğünün arttığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Antioksidanlar, Borik asit, Flavonoid, Polifenoller, Propolis

ABSTRACT

Investigation of Solubility of Turkish Propolis in Boric Acid

Propolis is a dark colored, resinous, natural product collected by honey bees from plant sources. The biological activity of propolis includes structures such as polyphenols and flavonoids. Flavonoids also show antioxidant activity and have radical scavenging abilities.

Boron is a trace element that dates back to ancient times. The unused portion of boron, which is a water-soluble compound, is excreted in the urine. The antioxidant activity of boron has been attributed to its role in biochemically important processes such as the scavenging mechanism of reactive oxygen species, mineral metabolism and flavonoid synthesis metabolism. In this study; The boric acid extract of Turkish propolis was prepared, the total polyphenol and flavonoid content, iron reducing power were determined, and the amount and antioxidant capacity of polyphenols and flavonoids, which are considered to be the main responsible compounds of antioxidant activity, were measured to determine how much the solubility of Turkish propolis was affected by boric acid. In order to understand whether the solubility of propolis depends on the amount of boric acid, two different concentrations of solution were studied. As a result of the studies, it was concluded that boric acid does not have an antioxidant capacity on its own, and the solubility of propolis increases with the amount of boric acid.

Keywords: Antioxidants, Boric acid, Flavonoid, Polyphenols, Propolis

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Apiterapi, hastalığın tedavisinde veya hastalık oluşumunun önüne geçilmesi için arı ürünlerinin kullanılmasıdır. Arı ürünleri ile tedavi anlamına gelmektedir. Çok eskilere dayanan geleneksel bir tedavi yöntemi olarak bilinmektedir (1).

Propolis, bal arıları tarafından çeşitli bitkilerden toplanan, arıların kovan yapım ve onarımında kullandıkları, arı tutkalı ve/veya arı propolisi isimlendirmesiyle de bilinen kahverengimsi çok amaçlı, doğal bir üründür (1, 2). Propolis, arılar tarafından kovanlarını dış etkenlere karşı korumak, peteklerindeki açıklıkları kapatmak, kovanın iç duvarlarını düzeltmek amacıyla işlenmekte ve kullanılmaktadır (3). Propolisin kimyası, karmaşıktır. Zengin içerikli ve multifonksiyonel bir madde olduğu için halk hekimliğinde uzun zamandır bilinmekte ve kullanılmaktadır. Esas olarak kavak ve kozalaklı tomurcuklardan toplanmaktadır (1).

Propolisin içeriği toplandığı iklim, bölge, zaman ve bitki çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yaygın olarak, ham propolisin içeriği %50'si reçine, %30'u balmumu, %10'u uçucu yağlar, %5'i polen ve %5'i diğer organik maddelerdir. Propolis içerisinde polifenoller, terpenler, flavonoidler, amino asitler, fenolik aldehytler, kumarinler ve benzerlerini kapsayan 300'ü aşkın bileşen bulundurmaktadır (3).

Bal arıları tarafından toplanan propolisin antioksidan, antifungal, antiviral, immunomodülatör, antimikrobiyal ve antitümör gibi daha birçok özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (4). Bu çeşitli biyolojik özelliklerinden dolayı halk hekimliği, apiterapi, ilaç ve takviyelerinde, kozmetik ve tıp gibi alanlarda yaygın kullanıma sahiptir (1).

Propolisin içeriğinde mevcut olan bileşiklerin belirlenmesi için araştırmalarda çoğu zaman gaz kromatografisi (GC), ince tabaka kromatografisi (TLC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), kapiller elektroforez (CE), spektrofotometre gibi farklı teknikler kullanılmaktadır (5). Propolis ham şekilde kullanılamadığı için çözücü yardımıyla ekstraksiyon gerçekleştirildikten sonra elde edilen ekstrakt şeklinde kullanılabilir. Yapılan araştırmalarda propolisi çözmek için çeşitli çözücülerden yararlanılmıştır. Bunlardan birkaçı su, etanol, metanol, eter ve asetonur (2).

Bor, periyodik tablonun 13. grubunda bulunur. Bir metaloiddir. Atom numarası 5, atom kütlesi 10.811 g/mol, sembolü B'dir. Çeşitli izotopları vardır. Doğal olarak 19.78% ¹⁰B izotop ve 80.22% ¹¹B izotop şeklinde oluşur (6).

Bor biyokimyası esasen, borik asitin biyokimyasıdır. Borik asitin davranışı Lewis asitine benzer ve bir bazdan (H_2O) bir elektron çiftine sahip olarak tetrakovalent bileşikler ($B(OH)_4$) meydana getirir. Bor I. Dünya Savaşı ve II. Dünya Savaşı sırasında gıda koruyucu olarak kullanılmasının yanı sıra, eski Mısırlıların tıp ve mumyalama uygulamaları için bor bileşiklerini kullandıklarına inanılmaktadır (7). Borik asit pestisit, antiseptik ve gıda koruyucu gibi çeşitli şekillerde kullanılmıştır. Suda çözünbilme özelliğinin olması, birçok fonksiyonu yerine getirmesine yardımcı olmaktadır (8).

Doğada daima oksijene bağlanmış formda bulunur ve geniş bir dağılıma sahip bir elementtir (7). Borun sodyum ve oksijen elementleri ile yaptığı organoboron kompleksleri, organizmada fizyolojik önem taşıyan bor formlarıdır. Organizmanın birçok biyokimyasal sürecinde rol alan borun %96'sını yüksüz borik asit oluştururken, küçük bir kısmını ise borat anyonu oluşturmaktadır. Borat anyonu ve borik asit, içerisinde beş karbonlu şeker ihtiva eden riboz, apioz, polisakkaritler ve cis- hidroksil grubuna sahip pirimidin, piridoksin, riboflavin gibi biyomoleküllerle geri dönüşümlü etkileşimler gerçekleştirir (6).

Gerektiğinden az bor alınması durumunda sebze, meyve ve kuruyemiş içeren bir diyetle normal seviyeye getirilmesi desteklenmelidir. Yapılan deneysel araştırmalar neticesinde insan sağlığı için borun faydalı, hatta gerekli bir biyoaktif element olduğu gösterilmiştir. Borun artritin hafifletilmesi veya riskinin minimuma indirilmesi, kemik büyümesi, merkezi sinir sistemi fonksiyonu, kanser riskinin azaltılması, bağışıklık cevabı ve oksidatif stres modülasyonunun düzenlenmesi gibi birçok biyokimyasal süreçte aktif rol aldığı bilinmektedir (7).

Bor, bitkilerdeki hücre duvarının kararlılığında fonksiyon gösterir (9). Bitkiler ile doğrudan etkileşim içinde olduğundan dolayı, borun etkisinin ilk olarak bitkilerde ortaya çıkabildiği söylenmektedir. Bitkiler boru topraktan kökler yardımıyla alır ve borik asit şeklinde emerler. Bitkilerin nükleik asit, karbonhidrat ve protein metabolizması, kalsiyum, magnezyum, trikarboksilik asit, glukoz, aminoasit, hormon ve reaktif oksijen türlerini içeren metabolizmalarda, hücre duvarı sentezi, hücre duvarı yapısı, fenol metabolizması, membran bütünlüğü ve fonksiyonu gibi önemli biyokimyasal süreçlerde görev alır (6).

Bor eksikliğinden dolayı bitki ve mahsullerinin verimliliğinin azalması, meristemin ölümü, hücre büyümesinin inhibisyonu etkilenirken, bor toksisitesine bağlı ROS'a karşı savunma sistemi etkilenebilmektedir (10).

Boratlar kapsüllerde gıda takviyesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır ve kullanılmaya devam etmektedir. Bor çiçeklenme, tohum oluşumu, tozlaşma ve meyve kalitesi gibi süreçlerde fonksiyon gören bir madde olduğu için, yeterince alınması meyve tutumu ve üreme faaliyetlerinin fazla olmasına da yardımcı olmaktadır. Ayrıca polen tüpü oluşumu, polenin canlılığının sağlanması ve çimlenmesinde bordan yararlanılmaktadır. Yeterince bor alınmadığında çiçek zayıf olmaktadır ve meyve tutum oranı düşeceği için verim etkilenmektedir (11).

Borik asitin miktar ve konsantrasyonunun saptanması için çeşitli çalışmalarda gaz kromatografi- kütle spektrometrisi (GC-MS), atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS), indüktif eşleşmeli plazma atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES), indüktif eşleşmeli plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS) ve termal iyonizasyon kütle spektrometrisi (TIMS) gibi farklı analitik yöntemler kullanılmaktadır (12,13).

Bu çalışmada temel amaç, değeri günden güne artan propolisin borik asit ile çözünürlüğünün ne derece etkilendiğinin ve antioksidan aktivitesinden sorumlu bileşikler olan polifenol ve flavonoidlerin miktarının ve antioksidan kapasitenin belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Propolis

Propolis veya arı tutkalı bal arıları tarafından bitkilerin çiçek, tomurcuk, gövde ve yaprak gibi kısımlarından toplanan reçineli, doğal bir maddedir (14).



Resim 1. Ham propolis örneği (Silva-Carvalho'dan, 16).

Propolis isminin kökeni, Yunancadır. Pro- ‘giriş’ ve –polis ‘şehir ya da topluluk’ anlamlarına gelen kelimeler harmanlanarak şehrin veya kovanın savunması şeklinde kullanılmıştır (3). Bal arıları kendi tükürük bileşimleri ile bitkilerden oluşturdukları reçineyi birleştirir ve balmumu ile karıştırarak propolisi meydana getirirler (15). Elde ettikleri bu arı ürününü, kovanlarını yabancıların girişine kapatmak, kovanda mevcut olan boşlukları doldurmak, kovana onarmak ve çeşitli hava olaylarından kovanın etkilenmesini önlemek için kullanırlar. Propolisin yapışkan bir yapıda olması, bu işlemler için uygun ortam sağlar (3).

Bal arıları propolisi, çeşitli bitki türlerinden toplar. Propolis arılar tarafından kullanılan çok yönlü bir ürün olmasının yanı sıra zengin içeriği ve antioksidan, antibakteriyal gibi özellikleri sayesinde gıda, ilaç sanayi ve kozmetik alanında kullanılmaktadır. Diş macunu, ağız gargarası, boğaz spreyi, kremler ve tabletler gibi farklı alanlarda üretimi yapılmaktadır (3).

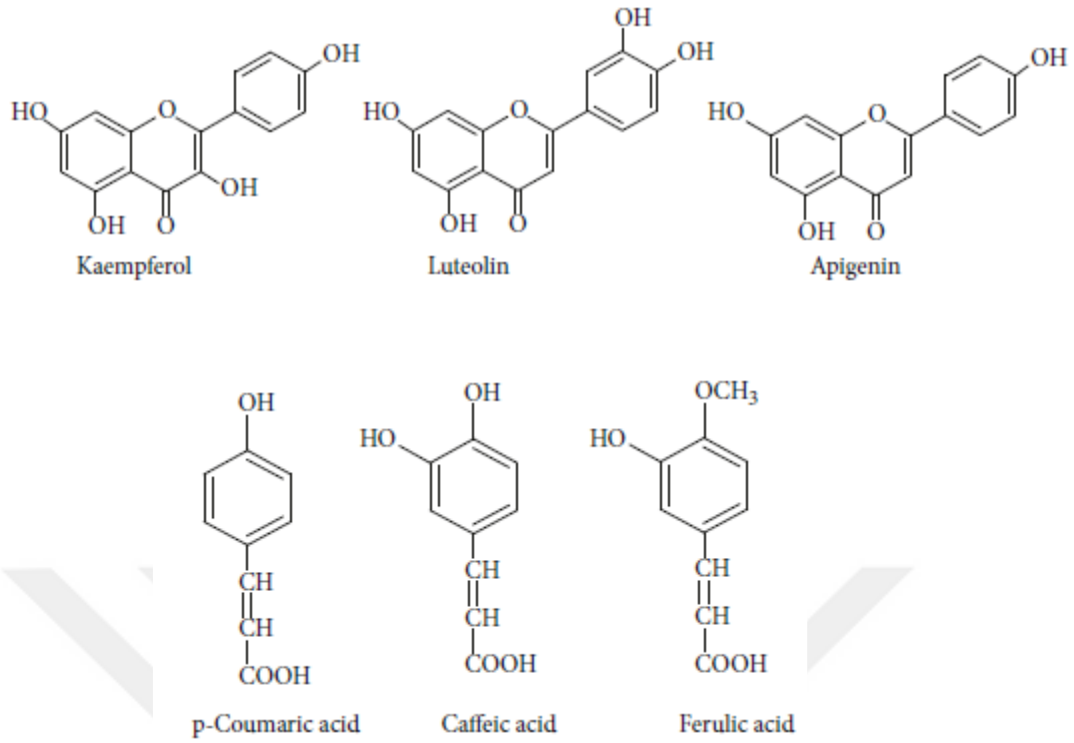
2.1.1. Propolisin Özellikleri ve İçeriği

Propolis kahverengi, yeşil ve kırmızı gibi değişebilen renkleri ile kendine has aromatik kokuya sahip bir maddedir. Soğuk ortamda sert ve kırılğan yapıdayken, sıcak ortamda yumuşak, esnek ve yapışkandır (16).

Propolis örneklerinin kimyasal olarak birbirinden farklı oluşu, toplandığı bitkinin kökenine bağlıdır. Toplandığı yer, zaman, iklim gibi etkenler çeşitliliğinde rol oynar (5). Propolisin içeriği, arılar tarafından toplanan bitkinin türüne göre değişiklik göstermekle beraber genel olarak %50 reçine (polifenoller ve flavonoidleri içeren) ve %30 mum, %10 uçucu yağlar, %5 polen ve %5 diğer maddelerden oluşmaktadır (2).

Propolis içerisinde çok sayıda yağ asidi ve magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), iyot (I), potasyum (K), sodyum (Na), bakır (Cu), çinko (Zn), mangan (Mn), demir (Fe) gibi elementler içermekle birlikte tiamin (B₁ vitamini), riboflavin (B₂ vitamini), piridoksin (B₆ vitamini), C, E ve D gibi vitaminleri de barındırır (16).

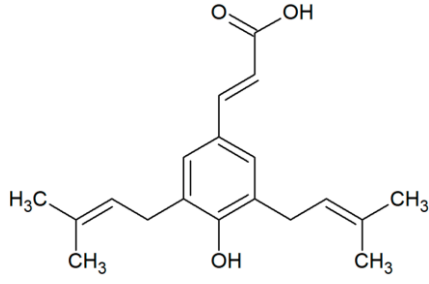
Propolis polifenoller başta olmak üzere esterler, terpenler, steroidler, aromatik aldehitler ve alkoller gibi 300'den fazla kimyasal bileşene sahiptir. Bu bileşiklerin yanısıra biyokimyasal önemi büyük olan birtakım enzimler de propoliste bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak, süksinat dehidrogenaz, glukoz-6- fosfataz, adenosin trifosfataz, asit fosfataz verilebilir (17). Luteolin, apigenin, galangin, pinocembrin, quercetin, naringenin gibi flavonoidlerin yanında sinamik asit ve kafeik asit gibi polifenoller de bulunmaktadır (1).



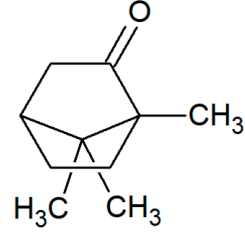
Şekil 1. Propolisin içeriğinde mevcut olan bazı flavonoidler ve polifenoller (Kocot'dan, 18)

Yapışkan özelliğinden dolayı propolis, insan derisinin yağları ve proteinleri ile güçlü etkileşim gösterir (19). Yapışkan bir madde olan propolisin arı tutkalı olarak da bilinmesinin nedeni, kovana yaklaşan istilacıları mumyalayabilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır (20). Propolisin karmaşık yapısı ve çeşitli bioaktivitesi bulunmasının yanında antioksidan ve anti-inflamatuar etkisi sağlığa en çok yarar sağlayan özellikleridir (15).

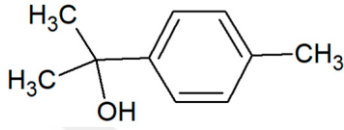
Yağ asitleri, çeşitli amino asitler, alkoller, vitamin ve mineraller, diterpenler, flavonoidler, fenolik asit ve esterleri, lignanlar önemli propolis bileşenlerindendir (15). Propolisin bileşimi toplandığı bitkinin salgılarıyla doğrudan ilişkilidir ve aynı zamanda bitki kaynağına da bağlıdır (20). Antioksidan, antibakteriyel, anti-anjiyojenik, anti-inflamatuar ve anti-ülser gibi biyokimyasal işlevlerde bulunan ikincil metabolitlerin çeşitli türlerini de içerisinde bulundurmaktadır (21).



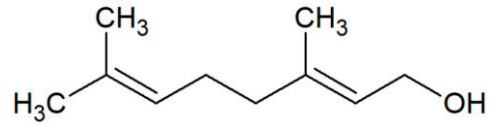
artepilin C



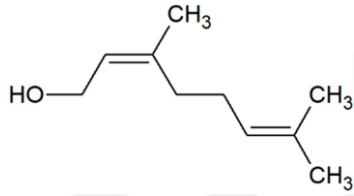
camphor



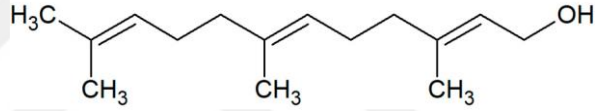
terpineol



geraniol



nerol



farnesol

Şekil 2. Propolisin kokusunu oluşturan bazı maddelerin kimyasal yapıları (Przybyłek'den, 20)

2.1.1.1. Polifenoller

Polifenoller aromatik halkaya sahip, karboksilik ve fenol grupları ihtiva eden bioaktif bileşiklerdir (18). Genel itibariyle meyvelerde bulunmakta olup, renk ve tattan sorumlulardır (22). Propoliste kabul görmüş en aktif bileşenler polifenoller ve terpenoidlerdir (15). Propolisin bileşimindeki fenolik asitler ve esterleri, flavononlar ve flavonlar gibi bileşikler enfeksiyonlara karşı antibakteriyal ve antifungal özellik göstermesine yardımcı olmaktadır (19).

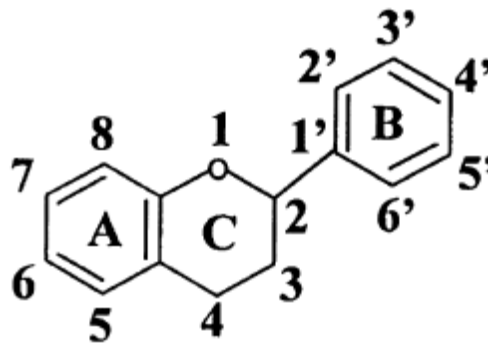
Antioksidan ve antiviral kapasite, antibakteriyal ve kardioprotektif etkilerden sorumlu bileşikler olarak bilinen polifenoller, birçok formda bulunmaktadır. Düşük füzyonlu sıvılar ve katılar, en basit fenoller olarak tanımlanmıştır ve hidrojen köprüleri onların kaynama noktalarının yüksek olmasına sebep olur. Bunların dışındaki fenoller çoğunlukla çözünmezdir ve oksitlendiğinde renk alabilme özellikleri vardır. Normal koşullar altında renksizlerdir (22). Polifenollerin çoğu flavonoidler şeklinde olup, bioaktivite oranları arıların propolisi topladığı mevsime, bitki kaynağına ve toplandığı coğrafi bölgedeki çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir (15, 22).

Genel olarak fenolik yapıda olan bileşikler, serbest radikal süpürücü etki göstermesinden dolayı antioksidan olarak anılmakta ve oksidatif strese karşı fonksiyon göstermektedir (18). Propolisin anti-inflamatuar özelliği, flavonoidler, fenolik asitler ve esterleri, amino asitler, steroidler, terpenoidler ve en çok araştırmalarda kullanılan bileşik olan kafeik asit fenetil ester (CAPE) gibi bileşiklere atfedilmiştir (15).

2.1.1.2. Flavonoidler

Flavonoidler polifenolik yapıda, değişik formları bulunan, ekstrakte edilebilen, bitkinin farklı kısımlarında bulunan ve düşük molekül ağırlıklı fenolik bileşik veya sekonder metabolitler sınıfında yer alan doğal ürünlerdir. Yaygın olarak meyvelerde, sebzelerde, tahıllarda, çayda, bitkilerde, ağaç kabuğunda, köklerde ve çiçeklerde bulunmaktadır (23).

Flavonoidler, polifenolik bileşiklerin sınıflandırılmasında en etkili gruptur ve izoflavonlar, flavonlar, flavononlar ve flavoneller gibi alt sınıflara ayrılmaktadır (24). Flavonoidlerin basit iskeleti Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Flavonoidlerin basit iskeleti (Heim'den, 25).

Propolisin anti-inflamatuar aktivitesinde galangin ve kuersetin başta olmak üzere flavonoidlerin büyük bir payının olduğu düşünülmektedir. Bazı flavonoidler makrofajların aktivitesine müdahale edebilmektedir. Flavonoidler de polifenoller, CAPE gibi biyolojik aktif bir bileşiktir. Propolis, kafeik asit, kuersetin, hesperidin ve diğer flavonoidlerin DNA sentezine etki edebildiği gösterilmiştir (24).

Flavonoidler çokça hidroksil grubu ihtiva ettiği için kolaylıkla oksitlenirler (22). Flavonoidler, bir karbohidrat grubunun glikozidik bağ yardımıyla bağlandığı aglikonlar gibi davrandıkları için genellikle glikozitler şeklinde bulunur. Flavonoidlerin antiradikal aktivitesi, yapısında bulundurduğu fenol gruplarından kaynaklanmaktadır (18).

Class	General structure	Flavonoid	Substitution Pattern	Dietary Sources	TEAC (mM)
Flavanol		(+)-catechin	3,5,7,3',4'-OH	Tea (camellia sinensis) ⁶	2.4
		(-)-epicatechin	3,5,7,3',4'-OH	Tea ⁶	2.5
		Epigallocatechin gallate	3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate	Tea ⁶	4.75
Flavone		chrysin	5,7-OH	Fruit skins	1.43
		apigenin	5,7,4'-OH	Parsley, celery	1.45
		rutin	5,7,3',4'-OH, 3-rutinoside	Red wine ⁵ , buckwheat ⁷	2.4
		luteolin	5,7,3',4'-OH	citrus, tomato skin ⁸	2.1
		luteolin glucosides	5,7,3'-OH, 4'-glucose 5,4'-OH, 4',7'-glucose	Red pepper ¹¹	1.74 0.79
Flavonol		kaempferol	3,5,7,4'-OH	Leek, broccoli, endives	1.34
		quercetin	3,5,7,3',4'-OH	grapefruit, black tea Onion, lettuce, broccoli tomato, tea, red wine berries, olive oil, appleskin	4.7
		myricetin tamarixetin	3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3'-OH,4'-OMe	Cranberry grapes, red wine	3.1
Flavanone (dihydroflavon)		naringin	5,4'-OH,7-rhamnoglucose	Citrus, grapefruit	0.24
		naringenin	5,7,4'-OH	Citrus fruits	1.53
		taxifolin	3,5,7,3',4'-OH	Citrus fruits	1.9
		eriodictyol	5,7,3',4'-OH	Lemons ^{6,4}	1.8
		hesperidin	3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoside	Oranges ⁹	1.08
Isoflavone		genistin	5,4'-OH, 7-glucose	Soybean ¹⁰	1.24
		genistein	5,7,4'-OH	Soybean ¹⁰	2.9
		daidzin	4'-OH, 7-glucose	Soybean ¹⁰	1.15
		daidzein	7,4'-OH	Soybean ¹⁰	1.25
Anthocyanidin		apigenidin	5,7,4'-OH	Colored fruits	2.35
		cyanidin	3,5,7,4'-OH,3,5-OMe	Cherry, raspberry, strawberry	4.42

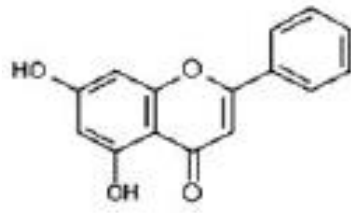
Şekil 4. Flavonoidlerin sınıflandırılması (Heim'den, 25).

Flavonoidler, hemen hemen bütün bitkilerde bulunmaktadır. Antioksidan özelliğe sahip olan flavonoidlerin sentezi, fenilpropanoid yolağı üzerinden gerçekleşmektedir. Flavonoidlerin biyoyararlanımı, mekanizması ve biyolojik aktivitesi üç etkene bağlıdır. Bunlardan ilki, hidroksil gruplarının konumu, ikincisi toplam sayısı ve üçüncüsü nükleer yapılarına göre fonksiyon gösteren grupların yer değiştirmesidir. Birçok flavonoid serbest radikalleri temizleyici olarak işlev görürken, bazı flavonoidler antikanser, hepatoprotektif, anti-inflamatuar aktivite gösterme ve koroner kalp rahatsızlıklarını önleme gibi faaliyetlerde bulunur (26).

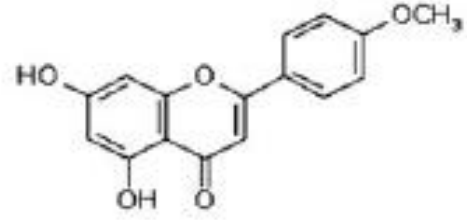
Tablo 1. Propoliste bulunan flavonoid çeşitleri (Kumar'dan, 26).

Flavonoid Çeşidi	Bileşik
Flavonoller	Kuersetin, kaempferol, galangin
Flavononlar	Hesperidin, naringin
Flavonlar	Apigenin, krisin, luteolin
İzoflavonlar	Genistin, daidzin

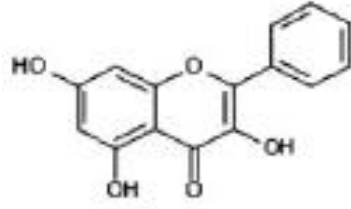
Flavonoidlerin yapılarına bağlı olarak bioaktivitesi değişmekle birlikte, güçlü antioksidanlar olarak bilinmektedir (27). Flavonoidler oksidatif stres, inflamasyon, hücrenin hayatta kalmasında rol oynama, fosfataz ve kinazlar gibi önemli yolak enzimlerini inhibe edebilme gibi birçok fonksiyonu gerçekleştiren, insan diyetinde önemli yer kaplayan bileşenlerdir (26, 27). Flavonoidler, bitkilerin büyüme ve gelişiminde düzenleyici rol oynarken, bitkinin oksidatif stresle başa çıkmasına da yardımcı olmaktadır (26).



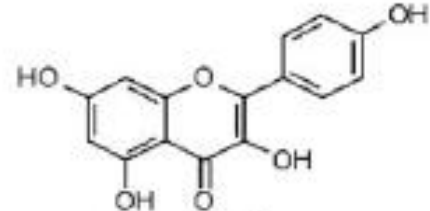
Apigenin



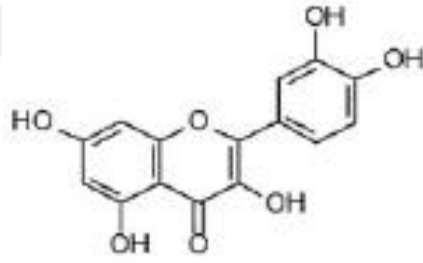
Acacetin



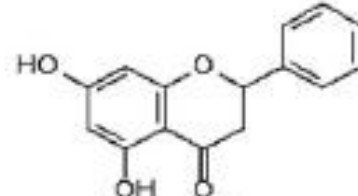
Galangin



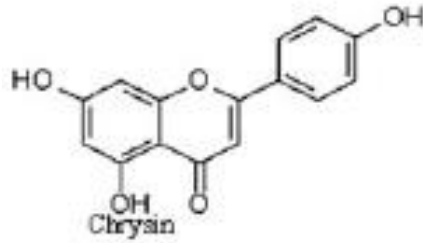
Kaempferol



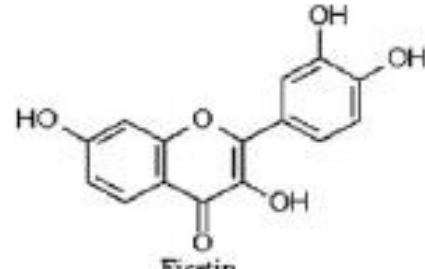
Quercetin



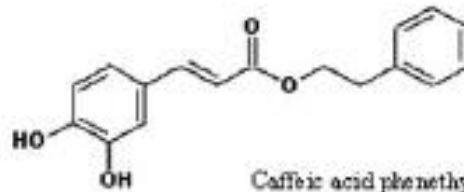
Pinocembrin



Chrysin



Fisetin



Caffeic acid phenethyl ester

Şekil 5. Propoliste bulunan bazı önemli flavonoidlerin kimyasal yapıları (Viuda-Martos'dan, 22).

2.1.2. Propolisin Kökeni ve Bitki Kaynağı

Propolis isminin kökeni, Yunanca'dan gelmektedir (20). Propolisin keşfi MÖ 300'e kadar dayanmaktadır. Çok eski zamanlardan beri yerel bir ilaç olarak kullanılmasının yanısıra dünyaca bilinen ve kullanılan doğal bir arı ürünüdür (19).

Arılar, propolis üretmek için bitkilerin salgılarından yararlanır. Tropikal bölgedeki Xanthorrhoea (Avusturalya), Acacia (Kuzey afrika), Plumeria (Hawaii), Clusia (Orta amerika), Baccaris, Araucaria ve Okaliptüs (Brezilya), Kuzey Avrupa'da Huş ağacı (Betula spp), Orta Avrupa'da kızılâğaç propolis kaynaklarına örnektir. Bunlara ek olarak, kavak (populus spp), söğüt (salix), meşe tomurcukları ve iğne yapraklı ağaç tomurcukları (ladin, köknar, çam) da arılar tarafından propolis kaynağı olarak kullanılmaktadır.

Brezilya, botanik kökenleri tanınmış birçok propolis çeşidine sahip olmasının yanı sıra, propolisin de içinde bulunduğu arı ürünleri ile ilgili çalışmalarda en ön sırada bulunmaktadır. Bulgaristan, Macaristan, Arnavutluk, İngiltere, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Moğalistan, Batı Asya ve Kuzey Afrika'da reçine kaynağı olarak kullanılan kavak türleri bulunmaktadır. Polonya propolisinde flavonoid oranı %6,2 ile %18,8 arasında değişirken, en çok bulunan flavonoid türleri pinocembrin (ortalama %4,7), galangin (ortalama %2,2), krizin (ortalama %2,1)'dir. Arılar propolis kaynağı olarak söğüt (salix spp), meşe tomurcukları (Quercus spp), dişbudak (Fraxinus spp), kestane ağacı (Aesculus), ladin (Picea), köknar (Abies spp), çam (Pinus spp) gibi iğne yapraklı ağaçların kabuklarını kullanmışlardır.

Propolisin toplandığı bölge her ne kadar farklı olursa olsun, bileşimindeki bioaktif maddelerin aktivitesi benzerdir (20). Bileşimindeki biyoaktif maddeler bitki kaynağına, toplandığı bölgenin coğrafik özelliklerine ve toplanma zamanına göre farklılık arz etmektedir (15). Propolisin içeriğini, arı kovanının propolis üretmek için kullandığı bitki kaynağına olan yakınlığı etkilemektedir (21).

Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalıların hastalıkların tedavisinde propolisi kullandığı bilinmektedir. Eski mısırlılar aynı zamanda ölülerini mumyalamak için propolisten yararlanmışlardır. Propolis bal arıları tarafından Kuzey Yarım Küre'nin ılıman bölgesinde ilkbahar sonu, sonbaharın başları ve yaz aylarında olmak üzere üç zaman diliminde toplanmaktadır. Brezilya'da ise mevsimsel değişiklik göstermekle birlikte tüm yıl propolis toplanabilmektedir (19).

Tablo 2. Propolis içeriğinin iklim tipine, coğrafik kökenine ve bitki kaynağına bağlı değişimi (Silva-Carvalho'dan, 16).

İklim Tipi	Coğrafik Köken	Bitki Kaynağı	Propolis İçeriği
Ilıman İklim	Avrupa, Kuzey Amerika, Yeni Zelanda, Batı Asya	Çeşitli kavak ağaçları (<i>Populus</i> spp.) yaygın olarak bulunur.	Çokça fenolik bileşik, flavonoidler, aromatik asitler ile bunların esterleri vardır.
Tropikal İklim	Avusturalya, Güney Amerika, Venezuela, Brezilya	Kavak ağacı bulunmaz. <i>Clusia minor</i> , <i>Clusia major</i> , <i>Baccharis dracunculifolia</i> ve çeşitli bitki kaynakları vardır.	Çokça di- ve tri-terpenler içermektedir. Prenillenmiş p-kumarik asit, prenillenmiş sinnamik asit ve az miktarda flavonoid ve fenolik asit içerir.

2.1.3. Propolisin Antioksidan Aktivitesi

Antioksidanlar lipit, protein ve DNA'ya zarar veren serbest radikallerin ve reaktif oksidanların yol açtığı hasarı azaltmaya çalışmasının yanısıra, hücrelerin oksidatif hasardan korunmasında da görev alır (28). Propolis, yapısında çok çeşitli fitokimyasal bileşik bulundurmasından dolayı bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde rol alır ve aynı zamanda antioksidan olarak işlev görmektedir (15). *In vitro* ve *in vivo* yapılan çalışmalarda propolisin uyarıcı etkisi ile makrofajları aktive edebildiği bildirilmiştir (19).

Propolisin doğrudan mikroorganizmaya bağlanarak ya da bağışıklık sistemini uyarıp doğal savunma sistemlerini aktive ederek dolaylı bir şekilde antibakteriyel aktivitesini gösterdiği düşünülmektedir (20). Oksidatif hasarla ilişkilendirilen kanser, şeker hastalığı (diabetes mellitus), mitokondiyal disfonksiyon gibi birçok hastalıkta azaltıcı, önleyici olarak etki gösteren önemli rolleri bulunmaktadır (28).

Propolisin yapısındaki biyofenoller antioksidan savunmasını yaparken, yayılma reaksiyonlarına müdahalede bulunabilmekte ve başlatma reaksiyonlarında yer alan

enzimatik reaksiyonları inhibe edebilmektedir. Propolisin kardiovasküler hastalıklar, kanser, metabolik hastalıklardan diyabet gibi belirli başlı hastalıkların önlenmesine katkı sağlaması, onun en önemli özelliklerinden birinin antioksidan aktivite olduğunu göstermektedir. Propolis, toksinlerin etki mekanizmasında rol oynayan serbest radikaller ve oksidatif ajanlara karşı koruyucu etki göstermektedir. Bu radikaller karbohidratlar, proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin mekanizmalarına dahil olarak oksidatif hasara neden olabilir, hücreyi değiştirebilir ve hatta apoptoza neden olabilmektedir (22).

Organizma oksidatif stres durumlarında kendi antioksidan sistemlerini devreye sokar. Bu sistemde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerin yanı sıra polifenoller ve askorbik asit, tokoferol gibi düşük molekül ağırlıklı vitaminler bulunmaktadır. Propolisin CAPE ve bazı flavonoidlerin yardımıyla DNA sentezini baskıladığı, sinamik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitlerin hidrojen peroksit oluşumunu inhibe edebildiği bilinmektedir (19).

2.1.4. Propolisin Kullanım Alanları

Propolisin günümüze kadar yapılan çalışmalarında, bioaktivitesinin nasıl işlediği ve sağlığa ne gibi katkıları olduğu incelenmiştir. Propolisin hastalıklarda tedavi edici ajan olarak kullanılabilir olması ve koruma özelliğinin bulunması, geçmiş birkaç yılda dikkatleri üzerine çekmiştir. Propolisin farklı kombinasyonları, farklı alanlarda yer almaya devam etmektedir (15).

Propolis arılar tarafından kullanılan çok yönlü, zengin içerikli bir ürün olmasının dışında antioksidan, antibakteriyal gibi özellikleri sayesinde gıda, farmasötik ve kozmetik alanında kullanılmaktadır. Diş macunu, ağız gargarası, boğaz spreyi, kişisel bakım kremi, pastil gibi birçok farklı alanı kapsayan çeşitli ürünlerin içerisinde bulunmaktadır (3). Propolisli ürünler çok çeşitli alanlarda satışa sunulmaktadır (19). Özellikle ağız sağlığının iyileştirilmesi ve yara için geliştirilen kombinasyonlarına ilgi artmaktadır (15).

2.1.5. Propolisin Ekstraksiyonu

Ham haldeki propolis doğrudan analiz veya tedavi için kullanıma uygun değildir. Etanol, metanol, su, heksan, aseton, diklorometan ve kloroform gibi çözücülerle ekstraksiyonu gerçekleştirilmelidir. Farklı çözücü, farklı çözünmeyi sağladığı için kullanılan çözüciye göre propolisin biyoaktivitesi değişmektedir (20).

Propolisin bilinen ve en yaygın kullanılan ekstraktları etanol, metanol ve sudur. Propolisin karmaşık ve çok çeşitli yapısı tıbbi uygulamalarda ve standartizasyonunda problem oluşturmaktadır (19). Propolis ekstraksiyonunda yapılan çeşitli çalışmalarda sulu, etanollü, metanollü, eter ve yağ ekstraktları en çok bilinenlerdir. Bu ekstraktlarda en çok tercih edilen, basit ve etkili bir seçenek olan etanol ile ekstraksiyondur. Kozmetik ve ilaç sanayinde kullanımında birtakım olumsuzluklar yaşanmaktadır (29).

Propolisin etanol içeren ekstraktlarının gram pozitif bakteriler başta olmak üzere birçok bakteri türüne karşı etkisi olduğu bilinmektedir. Propolisin sahip olduğu aktif bileşikler etanolde kolaylıkla çözünürken yağ, su ve ilaç üretiminde kullanılan çeşitli çözücülerde çok az miktarda çözünürdür. Propolis su ve yağda çok az çözünme gerçekleştirdiği için bununla ilgili yapılan çalışmalar sınırlı şekilde kalmıştır. Etanollü olmayan propolis ekstraktları etanollü propolis ekstraktlarına kıyasla ve sulu propolis ekstraktı etanollü propolis ekstraktına kıyasla daha yüksek antioksidan seviyelere sahip olduğu gösterilmekte ve bunun yanında sulu propolis ekstraktı etanollü propolis ekstraktına kıyasla ROS oluşumunu baskılamada daha iyi olduğu kanıtlarla desteklenmiştir (29).

Propolisin sulu çözeltisi ile ilgili çok bilgi bulunmamasının yanı sıra propolisteki aktif bileşikler suda az çözünür ve bu ekstrakte elde edilen aktif bileşik miktarı etanollü propolis ekstraktından daha düşüktür. Aktif bileşiklerin daha iyi çözünmesi için ek bir çözücü bulunarak sulu propolis ekstraktının etkinliği artırılabilir (29).

2.2. Bor

Yüzyıllardan beri bilinen bor bileşiklerinin element olarak ilk keşfini, 1808 yılında Sir Humphry Davy ve Gay Lussac gerçekleştirmiştir. Bor doğada element halde bulunmazken, doğal olarak kayalarda, toprakta ve suda yer edinir. Kaya, toprak ve suda bulunmasıyla karasal bir dağılım göstermektedir (30).

Sodyum ve oksijen elementleri ile kompleks oluşturarak organizma için fizyolojik önem arz eden bor formu olan, organobor bileşiklerini meydana getirir. Organizmada bor yaklaşık olarak, %96 olarak yüksüz borik asit ve küçük bir miktar borat anyonu olarak yer almaktadır. Riboflavin, adenosin monofosfat, piridoksin, askorbik asit, pirimidin nükleotitleri gibi cis-hidroksil grupları ihtiva eden ve apioz, riboz, polisakkaritler ile beş karbonlu şeker molekülü gibi biyolojik moleküllerle tersinir etkileşmeler kurması her ikisinde de ortaktır.

Borik asit ve bor sodyum tuzları (boraks, disodyum tetraborat) genellikle en çok tercih edilen çeşitlerdir (6). Günümüzde birçok sektörde yer almış borat-mineral konsantreleri, boraks, borik asit içeren ürünler, farklı amaçlar için bulunmakta ve kullanılmaktadır.

Borun organizmada hidroksillenmiş türlerle etkileşebileceği, kompleksler meydana getirebileceği, çeşitli enzim ve koenzimleri uyarabileceği veya onların inhibisyonuna neden olabileceği bildirilmiştir (30).

Dünya bor yatakları sıralamasında Türkiye ve ABD ilk sırada, Arjantin, Şili, Rusya, Çin, Peru, Mısır, Irak, Libya, Fas ve Suriye bor yataklarına sahip diğer ülkelerdir (6). Batı Amerika Birleşik devletlerinin bazı bölgelerinde ve Akdeniz'den Kazakistan'a kadar ulaşan diğer bölgelerin bor konsantrasyonları yüksek olmakla birlikte, yaygın olarak dünya topraklarında <10 ppm bor bulunsun da, ortalama miktar 10 ila 20 ppm arasındadır. 4000 yıl önceye kadar uzanan bir tarihte, Babillilerin altın işlemekte kullanmak amacıyla Uzak Doğu'dan boraks temin ettikleri bilinmektedir. Borun mumyalamada ve tıbbi uygulamalarda kullanımının eski Mısırlılar'dan gelen bir geçmişi olduğu zaman zaman düşünülmektedir.

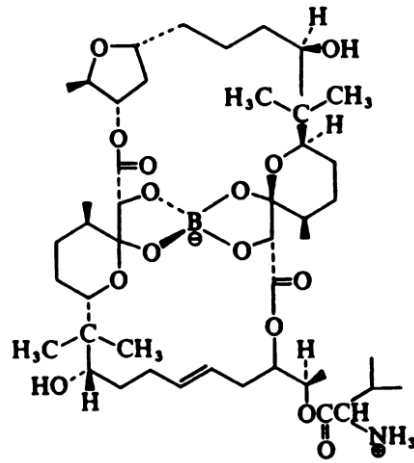
Türkiye'de 1865 yılında kalsiyum borat madenciliği ile borat endüstrisi açılmıştır ve Avrupa'daki borik asit üreten ülkelere uzun zamandır koleanit sağlamaktadır (30).

Tablo 3. Birtakım rafine borat ürünleri isim ve formülleri (Woods'dan, 30)

İsim	Formül
Boraks Pentahidrat	$\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
Boraks (Tinkal)	$\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$
Koleanit	$\text{Ca}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$
Üleksit	$\text{NaCa}[\text{B}_5\text{O}_5(\text{OH})_6] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Borik Asit	$\text{B}(\text{OH})_3$
Susuz Boraks	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$

Kolemanit, üleksit ve tinkal gibi boratlar genellikle Ca ve/veya Na minerallerine sahiptir ve bor çoğunlukla doğada bu mineralleri içerir (31). Deniz suyunda bor konsantrasyonu 0,5 ila 9,6 arası değişirken, ortalama olarak bor konsantrasyonu 4,6'dır (30).

Bor içerdiği bilinen ilk doğal bileşik ve antibiyotik olarak sınıflandırılan aynı zamanda gram pozitif bakterilere etki gösteren, *Streptomyces antibioticus*'tan üretilen bileşik Boromycin'dir (6). Boromycin'in genel yapısı Şekil 6'da gösterilmiştir. Borun biyokimyasal mekanizmalardaki işlevleri henüz tam anlamıyla açıklanamamış olsa da, metabolik aktiviteleri destekleyici tavır sergilediği bilinmektedir (32).



Şekil 6. Boromycin genel yapısı (Woods'dan, 30)

Borun *in vitro* olarak birtakım serin proteaz ve oksidoredüktaz enzimlerinin inhibisyonunda rol oynadığı, diadenozin polifosfatlara sıkı bir şekilde bağlandığı söylenmektedir (33). Borik asit ve boratlar gibi bor formları, inorganik B bileşikleri olarak bilinmektedir (34). Toprak uygulamalarında kullanıldığı bilinen en yaygın bor formları boraks, sodyum borat ve sodyum tetraborattır (35). Gıdaları koruyucu, yumuşatıcı, pH ayarlayıcı, emülgatör, tampon amaçlı kullanılmasının yanında viskozite artırıcı ve nötrleştirici olarak da bor kullanılmıştır (36).

Mikroelement bor, kalsiyum ile fosfat mineralleri ve D vitamini metabolizmasında çeşitli etkileri bulunmasının yanında aldehit dehidrogenaz, ksantin oksidaz, sitokrom b5

redüktaz gibi enzimler ile insülin, testesteron, östrojen, T₃ ile T₄ hormonlarını etkilediği ve trigliserit, glukoz ve reaktif oksijen türlerinin de mekanizmalarına etki ettiği gösterilmiştir (37).

Borik asit ve bazı inorganik boratlar genel olarak takviye edici bor amacıyla kullanılsa da, son zamanlara bakıldığında antioksidan, anti-tümör ve anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu görülen kalsiyumfruktoborat gibi çeşitli bor bileşikleri yine takviye edici olarak ilaç sektöründe oluşturulmaya başlanmıştır (38). Borun gıdalarda bulunduğu formu, borat ve borik asittir. İnsan bağırsağından kolay bir şekilde emilerek idrar ile birlikte atılımı gerçekleşir. Borun hayvan ile insan plesantasını geçebileceği bildirilmiştir (39).

Bor 1920'lerde bitkilerin büyüme ve gelişiminde gerekli olduğu kabul gören bir element olmuştur (7). Bitkilerin hücre duvarı yapısında gösterdiği fonksiyondan dolayı, kaynağı bitkisel olan gıdaların vazgeçilmez bileşeni olarak bilinmektedir. Geçen 50 yıldır et ve süt ürünleri gibi gıdalarda tadını daha da lezzetli hale getirmek ve koruyuculuğunu artırmak amacıyla borat eklendiği söylenmektedir (40).

Bor ve diğer birçok eser elementin yoksunluğu ya da fazlalığının o bölgedeki beslenme alışkanlığı ile ilgili ortaya çıkabileceği ve insan vücudundaki seviyelerinin oksidatif stres süreci, hastalıkla ilişkisi ve metabolik değişiklikleri saptamada yol gösterebileceği düşünülmektedir (41). Bor alımı kişiden kişiye değişiklik göstermektedir ve cinsiyet, yaş gibi parametrelere bağlı olarak miktarı değişebilmektedir (42).

Tetrahedral veya trigonal düzlemsel olarak çeşitli elementlerle bağ yapar ve tetrahedral olduğunda dört oksijenle bağ yapmış olan borat anyonu oluşurken, trigonal-düzlemsel yapıda olduğunda üç oksijen atomu ile bağ yapmış olan, ortoborik asit ortaya çıkar (43).

Tayini zorlu bir işlemdir (44). Bor çeşitleri elektrokimyasal açıdan bakıldığında aktif değildir ve bu sebepten voltaj ile akım tarafından ne indirgenir ne de yükseltgenir. Dolayısıyla voltametri tekniği ile direkt bir biçimde tayini gerçekleştirilemez, ajan eklenerek tayin yapılabilir (45). Bor konsantrasyonunu tayin etmek için TIMS, ICP-AES, ICP-MS, Azometin-H yöntemi, GC-MS gibi çeşitli spektrometrik ve kolorimetrik yöntem ile ölçüm yapılabilir (46,47,48).

2.2.1. Borun Kimyasal Özellikleri

Bor periyodik tabloda B simgesi ile gösterilen, metaloid bir madde olarak bilinen, atom numarası 5 ve atom kütlesi 10. 811 g/mol olan, 3A grubuna ait bir elementtir. Borik asit pK_a değeri 9,25 olarak hesaplanmış, zayıf bir lewis asidi olarak bilinmekte ve ligandları ile kovalent etkileştiği zaman pK_a değeri aşağıya inmektedir (6).

Bor metal ve ametallerin özelliklerine orta derecede sahiptir ve yarı iletken element sınıfına aittir (32). Doğada element halde bulunmayan borun, en kararlı olanları ^{10}B ve ^{11}B 'dir ve çeşitli izotopları mevcuttur. Borun düşük konsantrasyonları biyolojik sistemler açısından çeşitli fizyolojik etkiler doğururken, yüksek konsantrasyonları olumsuz sonuçlar doğurmakla beraber toksisiteye neden olmaktadır.

Bitki, hayvan ve insan dokularında oluşabilen organobor bileşikleri, B-O veya B-N bağları ihtiva eden ortoboratlar şeklinde veya daha farklı türde de gerçekleşen çeşitleri bulunmaktadır (6).

2.2.2. Borun Canlılardaki Rolü

Bor, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından insan ve hayvanların metabolizmaları için muhtemelen gerekli bir mikroelement olarak tanımlanmaktadır. Boratlar hayvanlarda NAD^+ 'ya bağlanmasının yanı sıra onların fonksiyonlarını da etkilemektedir (6). Aynı zamanda nöronal yanıtta rol alan ADP ve vücut dokularındaki enzim substratı olan S-adenosilmetionin (SAM-e) ile etkileşebilmektedir (49).

Bor canlılarda sağlıklı kemik gelişiminin sağlanması, hücre duvarının korunması, karbohidrat metabolizması, enerji tüketimi ve birtakım enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde ve embriyonik gelişimde rol oynamaktadır (6). Aynı zamanda steroid hormonları etkileyerek konsantrasyonlarında rol oynadığı bildirilmiştir (43). Yapılan bir çalışmada eksikliğine bağlı olarak kurbağa, zebra balığı, farelerde üreme ve gelişmenin etkilendiği bildirilmiştir (6).

İnsan kanında %98,4 borik asit ve %1,6 borat anyonu olarak iki şekli ile bulunur (43). Vücudumuzdaki mevcut formu borik asittir. Vücut dokularında ve sıvılarında görülmektedir. Gastrointestinal sistem tarafından bütünüyle emilmektedir (6,43). Az bir kısmı safra, ter ve nefes ile atılır (43). İnsan günlük bor düzeyi 1-13 mg olarak söylenmektedir (50).

Hormon taşınması, bazı enzimlerin uyarılması veya inhibe edilmesi yoluyla membran metabolizması işlevlerini etkileyerek flavonoid sentezi veya şeker transportunda görev üstlenirler (50). Artrit semptomlarını hafifletme yeteneği, kemik büyümesi ve gelişimine etki ederek kemik sağlığına katkıda bulunma, kanser riskini azaltma, inflamatuvar yanıtta ve oksidatif strese rol alma, Ca, P, Mg, glukoz, amino asit, trigliserit, proteinler, ROS ve hatta steroid hormonların biyokimyasal süreçlerinde yer alır (7, 50). Ayrıca merkezi sinir sistemine olumlu katkıları bulunduğu gösterilmiştir (51).

Kemik metabolizmasında önemli mikroelementlerden olan D vitamini, Mg, Ca gibi başlıca elementlerle beraber rol alır. Bu elementlerle birlikte hareket ederek kemik gelişimi ve iyileştirilmesi üzerinde etkiler sergiler (49). Borun bütün bu süreçlerde rolünün olması, çok çeşitli biyokimyasal bakımdan önemli moleküllerle polisakkarit, riboflavin, dehidroaskorbik asit gibi reaksiyona girebilmesi ve kompleks yapabilme yeteneğinin olmasının payı vardır (43). Bor, cis-hidroksil grupları içeren moleküllerle boroester kompleksi meydana getirebilmektedir (51). Şeker alkol sınıfına ait mannitol ve sorbitol gibi bileşiklerle güçlü ortaya çıkan kompleksler yapabildiği söylenmektedir (52).

Yara onarımında, Ca ve Mg emiliminde, beynin elektriksel aktivitesinde ve antikansorejenik etki göstermede farklı yetenekleri bulunmaktadır (53). İnsanların tükettiği sebze, meyve, kuruyemiş ve daha birçok gıdanın içerisinde bor büyük bir yer kaplamaktadır (6). Tavuk ve sıçanlarda yapılan bir çalışmada borun yüksek seviyeleri göz önüne alındığında, bağışıklık sistemi organlarına etki ettiği bildirilmiştir (6). Memelilerde deride düşük toksisite gösterirken soluma yoluyla alındığında orta seviyede toksisite ortaya çıkardığı gösterilmiştir (54). Hayvan ve hücre kültürü ile yapılan araştırmalarda borun, artiritik durumlarda meydana gelen inflamatuvar stresi inhibe edebildiği, inflamatuvar yanıtta sitokinlerin üretimine etki edebildiği bildirilmiştir (7).

İmmun sistemde çok yararlı rolleri bulunan borun lökositlerdeki reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltabileceği öngörüsü, pentoz fosfat yolu bileşiği 6-fosfoglukonatın bor ile kompleks yaparak 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimini inhibe etmesi ve inhibitör etki yapmasıyla bağdaştırılmıştır. Dolayısıyla bor, bağışıklık ve antioksidan savunmanın iyileştirilmesinde yardımcı olmaktadır (6, 49).

Karbohidratlar, vitaminler, nükleotitler hatta amino ve hidroksi asitler ile borun etkileşebildiği ve Lewis asidi şeklinde hareket ederek kompleks ortaya çıkardığı

bildirilmiştir. Borik asit için bazı serin proteazların, üreaz ve histon deasetilaz gibi enzimleri etkileyebilen inhibitör olarak bahsedilmektedir (54).

Borik asitin çok fazla alımı bulantı, kusma, dışkıda renk değişimi, huzursuzluk, yorgunluk gibi toksik etkilere sebep olmaktadır. Buna ek olarak eksikliğinde ise büyümede bozukluk, idrara kalsiyum geçişinin artması ve aynı zamanda vitamin metabolizmasının etkilenerek vitamin metabolizmasında bozukluk meydana gelebileceği bildirilmiştir. Borun ne ölçüde alındığında uygun olacağına dair kesin bir değerlendirme ölçütü bulunmamaktadır (43).

Bitkilerin büyüme sergilemesi ve gelişiminin tamamlanması için birtakım makro ve mikro denilen elementler gereklidir. Bor da bu elementler arasında yerini almakla birlikte, çeşitli bitki türlerinde olan mevcudiyeti kanıtlanmış olan bir gerçektir. Borun miktarı bitkinin türüne bağlı olarak değişirken, aynı miktardaki bor ele alındığında bir bitkiye yeterli gelirken diğerine toksik olabilmektedir. Örneğin, monokotiledonlu bitkiler daha az pektin bulundurdıkları için dikotiledonlu bitkilere göre daha az bor ihtiyacına sahip ve bora toleransı düşük olmaktadır. Bor bitkilerde kökler tarafından, hücre duvarını geçebilen, yüksüz borik asit formunda alınan, cis-diol grupları içeren bileşiklerle etkileşim göstererek kompleksler yapabilen, hücre yapısının korunması ve zar işleyişinde önemli faaliyetler gösteren bir element olarak bilinir. Bitkilerdeki asıl görevi, hücre duvarı sentezi, yapısı ve bütünlüğünün devamlılığını sağlamak ve onu korumaktır (50).

Bir bitkinin duvarındaki mevcut olan toplam bor seviyesi o bitkinin cinsine, organa ve bor kaynağının ne olduğuna göre değişkenlik gösterir. Bitki topraklarında farklı seviyelerde bulunsun da ortalama pH değerleri (5,5-7,5) arasındadır (55). Borun mevcut oluşu, miktarı verim ve kaliteyi etkileyen bir durumdur (56). Toksik seviyeye ulaşan toprağın kurtarılması, borun eksik olduğu topraklara göre daha zordur (52). Bor toksisitesi altında bulunan bitkilerde hücre duvarı gelişiminde bozukluk, ATP, NADH veya NADPH'nin riboz kısımlarına bağlanma neticesinde, metabolik bozulmanın görülmesi ve hücre bölünmesi ve aynı zamanda gelişiminde bozukluk, yapraklarda bor birikimi sonucu ozmotik dengesizlik gibi durumlarla karşılaşılabilir (52).

Bir bitkinin gerekli görülen optimum bir bor seviyesi ve aynı zamanda toksisite mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bir bitki için yeterli gelen bor miktarı diğer bitki için az gelebilme veya toksik sonuçlar doğurabilmektedir (57).

Borun topraktan direkt veya iyon halinde alınamaması onu diğer elementlerden ayıran bir noktadır. Borik asit suda çözünen bir bileşiktir. Bundan dolayı eksikliği genellikle nemli alanlarda rastlanmaktadır (50). B-O bağını koparmaya yetecek enerji fazladır. Bitki veya hayvanların borik asiti metabolize edebildiğine dair verinin olmayışı buna bağlanmıştır (54).

Warrington'un 1923 yılında *Vicia faba* (tarla fasülyesi) üzerinde yapmış olduğu rapora göre bor içermeyen ortamda büyümenin azaldığı, bor takviyesinin ise büyümeyi desteklediği bildirilmiştir. Bu elde edilen verilerden sonra borun çeşitli organizmalar üzerinde etkisi olduğu kabul gören bir element olmuştur. Bitkiler için esansiyel bir element olmasının yanında nükleik asit, fenol, karbonhidrat ve protein metabolizması, bitkilerin hücre duvar yapıları ve sentezi, zar bütünlüğünün ve fonksiyonlarının korunması gibi biyolojik önemli birçok süreçte kendini göstermektedir (6). Bor pasif difüzyonla taşınmasının yanı sıra, kısmen protein kanalları, aquaporinler veya Hg'ye duyarlı diğer kanallar aracılığıyla da alınabildiği iddia edilmiştir (50). Borun bitkideki en temel görevi, bitki hücre duvarında önemli bir polisakkarit olan pektinler için çapraz bağ oluşturmaktır (6). Bitkilerdeki pektin üretimine katkı sağlamaktadır (58).

Bitkilerde karmaşık yapı ve hücre duvarının önemli bir yapı malzemesi olan polisakkarit yapıda bulunan pektinlerin çapraz bağlarını oluşturarak, hücre duvarının kararlılığında ve yaprak uzamasının normal seyrinde olmasını sağlamada görev alır. Bu çapraz bağlanmayı cis-diol bağları ile borat esterlerine kovalent bağ ile bağlanmasıyla yapmaktadır (6). Bor eksikliği sonucu plazma zarının geçirgenliğinde bozulmalar gözlenmekte, hücre duvarı oluşumunda farklılaşma ve hücre iskeletinin polimerizasyonunda değişiklikler meydana gelmekte ve yaprak, kök, çiçek ve meyve gelişiminde baskılanma, fotosentezde değişme gibi durumlar ortaya çıkabilmektedir (6,50). Kök gelişimi bitkide sürgün gelişimi ile karşılaştırıldığında, bor eksikliğinden daha çok etkilenir. Bitkinin üreme zamanında bora olan ihtiyacı genelde daha fazla olmaktadır (50).

Bor bitkiler için esansiyel olmasına karşın eksikliğinde şeker, karbonhidrat, RNA ve fenol metabolizması etkilenmekte, hücre duvarı yapısında da olumsuz sonuçlar meydana gelmektedir (6).

2004 yılında *Nicotiana tabacum* (tütün) BY-2 hücreleri ile yapılan bir araştırmada bor eksikliği sonucu glutatyon S-transferaz ve glukozil transferaz ekspresyonu azalırken,

2009 yılında yine aynı hücre ile çalışılmış diğer bir çalışmada ise oksidatif hasar meydana geldiği ve hücre ölümü ile doğrudan bağlantılı olduğu bildirilmiştir (6).

Boratlar çözünürlüğü yüksek maddeler olup, bitki çeşidine göre gerekli bor miktarı farklıdır ve yoğunlukları bitki ve hayvan dokularında değişiklik arz etmektedir. Bitki dokularında hayvan dokularına kıyasla daha fazla yoğun olduğu bildirilmiştir (43). Bitkide hidroksil içeren önemli metabolitler ile zayıf kompleksler yapabildiği yaygın olarak bilinen işlevlerindendir. Borun genellikle iki hidroksil grubu içeren bileşiklerle kompleks oluşturması ile sınırlı oluşu, onun diğerlerine göre reaktif olmadığını öne sürmektedir (52). Bor, diğer yararlı besin maddelerinin bitkinin kendi bünyesine katılmasında hatta konsantrasyonlarında aracı bir rol üstlendiği bildirilmiştir (44, 56).

Günümüze kadar süregelen zamanda bitkilerin boru farklı yollarla aldığı bilinmektedir (56). Bitkilerin boru absorbe etmesi üç şekildedir: İlki lipit çift tabakasında pasif difüzyon, ikincisi protein kanalları aracılı kolaylaştırılmış difüzyon, üçüncüsü ise aktif emilimdir (56,58). Bor seviyesi fazla iken pasif difüzyona başvurulurken, bor seviyesi düşük olduğunda aktif taşımaya başvurulmaktadır. Bu sistem ile büyüyen kısımlara destek sağlanır. Bor eksikliği yaşayan bitkide iyon transferini yapan vasküler dokular güçsüzleşir ve bor fotosenteze bu açıdan etki edebilmektedir (56).

Boru her bitki aynı miktarda alamamaktadır. Burada söz konusu durum, membran geçirgenliğinin farklı oluşu, boru yer değiştirebilme becerisi ve boru ne derece düzenleyebildiğine göre değişmesinden kaynaklanmaktadır (44). Borun toksisitesi ile eksik oluşu karşılaştırıldığında, borun eksikliğinin gözlemlendiği durumlar daha çok görülmektedir (43).

Bor kök sistemini önemli ölçüde etkiler. Aynı zamanda ATPaz iyon akışını da değiştirebilmektedir (56). Hücre duvarının esnekliği ve büyümesine yardımcı olmakla birlikte plazma zarını koruyucu görev üstlenmektedir (58).

2.2.3. Borun Antioksidan Aktivitesi

Bor mikroelementi fenol metabolizması, lignin ve flavonoid sentezi gibi metabolizmalarda, enzim uyarımı ve inhibe/veya stabilize etme gibi fonksiyonları ile bulunabilmektedir (50). Borun, oksidatif stresin azaltılması, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve antioksidan enzimlerin artırılmasına katkı sağladığı bilinmektedir (49).

Bor toksisitesi reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesini tetikleyici rol üstlenebilmektedir. Oksidatif stres oluştuğunda bitki, membran hasarını önlemek için SOD, CAT veya askorbat peroksidaz (APX) ve enzimatik olmayan antioksidanlar gibi kendi antioksidan enzimlerinden yararlanır (57). Fenolik bileşiklerin konsantrasyonunda ve fenolik metabolizmasında rol oynar. Eksikliği söz konusu olduğunda, bu metabolizma bozularak fenoliklerin birikmesi ile sonuçlanır. Bor aynı zamanda askorbat/glutasyon döngüsü üzerinde de faaliyet göstermektedir (55). Eksikliğinde askorbat ve glutasyon metabolizması bozularak, reaktif oksijen türleri meydana gelebilmektedir. Fenol birikiminin giderimi, B-şeker cis-diol kompleksi meydana gelmesi ile giderilirken, bitkiler bu birleşimi gerçekleştiremezler. Glikoliz yolunun fosfata kayması sonucu fenolik üretimi ve birikimi gözlenir (56). Bor, meydana gelen reaktif oksijen türlerinin metabolizmasını etkileyebilen ve inflamatuvar yanıtta rolü olan bir mikroelementtir (7). Antioksidan enzimlere etki ederek, onların miktarını artırır (53). Borun nitrojen metabolizmasında özellikle nitrat redüktaz enziminin çalışmasını etkileyerek nitrat seviyelerine etki edebildiği söylenmektedir (56).

Piridin veya flavin nükleotitleri NAD⁺, NADP veya FAD ihtiyacı olan serin proteazlar veya oksidoredüktazların bulunduğu belli yollarda NAD veya FAD yerine geri dönüştürülebilir şekilde inhibe edebildiği söylenmektedir. Yani bor, enzimatik reaksiyonların regülasyon sürecinde rol oynayabilmektedir. NADPH seviyesini etkileyerek oksidatif hasarı azaltabildiği bildirilmiştir (43).

Reaktif oksijen türleri, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali gibi serbest radikaller ile hidrojen peroksit ve singlet oksijen gibi radikal olmayan türevlerden oluşan iki çeşitten oluşmaktadır (59).

Çevrenin de katkıları göz önünde bulundurulursa bor ve bazı elementlerin toksik seviyeleri sonucu süperoksit radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksitin içinde bulunduğu reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkması kaçınılmazdır. SOD, katalaz gibi antioksidanlar bunu ortadan kaldırmak için savaşmaktadır (60). ROS, normal şartlarda enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar vasıtasıyla fizyolojik olarak uygun bir seviyede tutulmaya çalışılsa da ROS'un üretimindeki artış kuraklık, UV, tuzluluk bu dengeyi bozabilmektedir. Yapılan birçok çalışma neticesinde, B konsantrasyonlarındaki artış, oksidatif strese sebebiyet verebileceğini göstermektedir (59).

Reaktif oksijen türleri çok yüksek oksitleme yeteneği olan, lipid ve proteinlere saldırarak onlarda hasar oluşturan bileşiklerdir. Hücreyi apoptoza kadar sürükleyebilmektedirler (60). Bor toksik bir seviyede olduğunda lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksit birikimi tetiklenir ve oksidatif hasar ortaya çıkar. Bu hasarı düzeltmek için antioksidan enzimlerden yararlanılmaktadır. Bor stresinin artması sonucu antioksidanlardan SOD, CAT, APX aktivitelerinin artışı gözlenmektedir (61).

SOD antioksidanı süperoksit radikalının oksijene ve hidrojen peroksite dönüştürür. Katalaz antioksidanı, hidrojen peroksitin indirgenmesinde veya parçalanmasında görev alır. ROS'a karşı savunmada yaşlı yapraklardan genç yapraklara kıyasla borun daha az düzeyde bulunması, apikalden yaprağa doğru miktarının azalması ve bitkide terleme akışı ile taşıyıcı olması etkileyen etkenler arasındadır (60).

2.2.4. Borun Kullanım Alanları

Borik asitin de içerisinde bulunduğu 200'ü aşan mineral bulunmaktadır. Fakat ticarete bunlardan sayılı mineral yer edinir (62). Birçok sektörde yer almış olan borik asit ve bor sodyum tuzları (boraks, disodyum tetraborat) yaygın bir şekilde antiseptik, gübre, böcek öldürücü ve herbisit, bakterisit olarak kullanılmasının yanında sabun ve deterjan gibi temizlik ürünlerinde ve aynı zamanda gıda koruyucu olarak da kullanılmaktadır (6). En çok tercih edilen mineraller boraks (bir sodyum borat), üleksit (bir sodyum-kalsiyum borat) ve kolemanit (bir kalsiyum borat) şeklinde gösterilmektedir. Boratların kullanımının bilindiği ilk tarih MS sekizinci yüzyıl olmakla beraber, Arap kökene sahip altın ve gümüşçüler tarafından Mısırlıların mumyalama işleminde ve antik Romalıların ise cam üretiminde boratlardan yararlandığı tahmin edilmektedir (62).

Kuzey ve Güney Amerika' da 19. yüzyıl ortalarında borat yatakları bulunmuş ve bu gelişme ardından sabun, deterjan gibi ürünlerde sıklıkla kullanılan madde haline gelmiştir. Borun ticari üretimi üleksit, boraks (tinkal), doğal borik asit, kolemanit ve kernit adlı mineral çeşitlerinden yapılmaktadır. En büyük kaynak payına sahip ülkeler ABD ve Türkiye'dedir (50). Kaliforniya ve Türkiye başta olmak üzere Arjantin, Bolivya, Şili, Peru, Çin de bu mineralleri sağlayan ülkelerdir (62).

Elektronik, roket yakıtları gibi havacılık alanında bor bileşiğinin kullanımı sonucu ekosisteme gübre, herbisit, atık su olarak geri dönmektedir. Ekosisteme verilen borun büyük kısmı sulama suyu yoluyla gerçekleşmektedir (50).

Endüstriyel alanlarda da kullanımı geniş bir yer kaplamaktadır (6). Cam, seramik, deterjan, sabun, gübre endüstrisinde ve ticari uygulamalarında rol alan bir elementtir ve şampuan, ruj, cilt kremleri gibi kişisel bakımı kapsayan ürünlerde bor ile karşılaşılabilir (43). Bor birçok sanayi, ticari, endüstri alanında bulunmasının yanında, silikon yapımında en fazla tercih edilen maddedir (63). Direkt şekilde bor ile bağ yapmış oksijeni olmayan bor bileşiklerinin ticari olarak kullanımı azdır. En önemli olanları BCl_3 (bor triklorür) ve BBr_3 (bor tribromid)' dir. Bunlar tek bor sayılı halojenürlerdir. Bor, reaktif olan oksijen, kükürt, azot veya fosfor tarafından lewis bazları ile etkileşime girebilen halojenürlerine aynı zamanda etkili lewis asitleri denilmektedir (62).

Borun bitkisel ürünlerde görülmesi hayvansal ürünlere kıyasla daha fazla olabilmektedir (42). Gübre, pH, sıcaklık ve toprağın çeşidi borun toprakta bulunma miktarı üzerinde etki gösterir. Yaklaşık 1.8 ile 5.3 milyar kg borun her sene ekosisteme karıştığı söylenmektedir (43).

Borik asitin biyolojik zarlardan geçebilmesi onu etkisiz olarak tanımlamasa da tampon ve koruyucu olarak çokça kullanımı mevcuttur. Birlikte kullanıldığı bileşenler genellikle gliserol, mannitol ve/veya diğer 1,2-dioller ile poliollerdir. Tamponlamada mannitol ile etki gösterebildiği söylenmektedir (64).

Anti-fungal, anti-bakteriyel özelliklerinden dolayı borik asit çeşitli kozmetik temizleme amaçlı tercih edilmekte ve ayrıca farmasotik alanında da kullanımı mevcuttur. Bor katkılı ilaçlar tedavilerde sıklıkla tercih edilmektedir. Birtakım kanserler başta olmak üzere çeşitli tedavilerde izotopları sayesinde nötron yakalama amaçlı kullanılabilir (64). BNCT için borik asitin biyolojik yarı ömrünün kısa oluşu, kolay çözünebilmesi, plazma dolaşımı ve hatta yumuşak doku biriktirme yeteneği gibi özellikleri sayesinde uygun bulunmaktadır (54).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazların ve malzemelerin listesi üretici firmaları ile birlikte Tablo 4’te verildi.

Tablo 4. Kullanılan cihazlar ve üretim yerleri

Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	Üretici Firma/Üretim Yeri
Buzdolabı (+4 °C)	Profilo,Türkiye
Cam şişe (25 ve 50 mL)	Wheaton, ABD
Cam vial (2 mL)	Agilent Technologies,Polonya
Çalkalayıcı inkübatör	Shellab/Sheldon S14, ABD
Çeşitli cam malzemeler	Isolab, Almanya
Çeşitli hacimlerde (0.1-1000 µL) pipet uçları	Eppendorf, Hindistan
Derin dondurucu (-20 °C)	Bosch, Türkiye
Hassas analitik terazi	Mettler Toledo AB204-S,İsviçre
Kapaklı tüp (1.5 mL)	Lp Italiana SPA,İtalya
Manyetik karıştırıcı	Termal,Türkiye
Mavi vidalı kapak	Agilent Technologies,USA
Mikropleyt okuyucu	Versa max, Molecular devices,ABD
Otomatik pipetler	Socorex,İsviçre
pH-metre	Hanna Instruments,HI 2211,Romanya
Pleyt (96 kuyucuklu)	Greiner bio one,Almanya
Saf su arıtma cihazı	Kros,Birleşik krallık
Santrifüj	Eppendorf,Centrifuge 5810,Almanya
Soğutmalı santrifüj	Beckman-Coulter,ABD
Sonikatör	Sonics,ABD
Vorteks	IKA Vortex,Genius 3,Almanya

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasalların isimleri, üretici firmaları ve ürün kodları Tablo 5’te birlikte verildi.

Tablo 5. Kimyasalların isimleri, üretici firmaları ve ürün kodları

Kullanılan Kimyasallar	Üretici Firma ve Ürün Kodu
Alüminyum nitrat nonahidrat ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	Fluka, 06274
Borik asit içeren takviye edici gıda (61,5 mg/1,5 ml)	Miafert İlaç San.Tic Ltd.Şti.
Demir (III) klorür (FeCl_3)	Sigma, F7134
Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	Sigma, 34870
Folin-Ciocalteu reaktifi	Merck, HC140610
Gallik asit	Sigma, G7384
Kuersetin	Sigma, Q4951
Potasyum asetat (KCH_3COO)	Merck, K32043020
Potasyum hekzasiyanoferrat (III) ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)	Lancaster, 13746-66-2
Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Merck, K1305445
Sodyum karbonat (Na_2CO_3)	Lancaster, 13098
Trikloro asetik asit (TCA)	Merck, K41041807
(±)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit (Troloks)	Aldrich, 238813

3.2. Yöntem

Propolis ekstraktının hazırlanması ve borik asit içeren deneyler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Propolis Ekstraktının Hazırlanması

Buzdolabında -20°C ’de dondurulan propolis rendelenerek küçük parçalara ayrıldı ve yeniden -20°C ’de donduruldu. Rendelenmiş olan propolis blender yardımı ile toz haline getirildikten sonra, hassas terazide 0,5’er g tartılıp 10 ml’lik iki ayrı falkon tüpüne

aktarıldı. Temin ettiğimiz borik asitin kullanım talimatına uygun olarak belirlediğimiz konsantrasyonları elde etmek için bir falkon tüpüne orijinal borik asitten 0,15 ml ilave edilirken diğerine 0,45 ml ilave edildikten sonra son hacim su ile 10 ml'ye tamamlandı. Propolis örnekleri vortekslendi ve çalkalayıcı inkübatörde 60°C'de 150 rpm'de sürekli çalkalanarak 24 saat inkübasyona bırakıldı. 24 saatlik inkübasyon sonunda propolis ekstraktları 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı ve süzgeç kağıdı yardımıyla süpernatantların süzülme işlemi gerçekleştirildi. Böylece 50 mg/ml'lik borik asitli propolis ekstraktları hazırlanmış oldu ve gerekli analizlerde kullanılabilmesi için +4°C'de, karanlıkta saklandı.

3.2.2. Toplam Polifenol İçerik Tayini

Toplam polifenol içerik tayini için, modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu yönteminden yararlanıldı ve spektrofotometrik olarak belirlendi. Folin-Ciocalteu yönteminin prensibi, fosfotungstik asidin ($H_3P[W_3O_{10}]_4$) bazik çözeltide fosfotungstik mavisine indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Meydana gelen fosfotungstik mavisinin absorbansı, fenolik grupların sayısı ile orantılıdır ve toplam polifenol içerik tayini amacıyla standart olarak gallik asit kullanılmaktadır (65).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

%20'lik Na_2CO_3 Çözeltisi: Na_2CO_3 'ten 10 g tartılıp, bir miktar saf su ile çözülmesi sağlandıktan sonra hacmi 50 mL' ye tamamlandı.

1:10 Folin-Ciocalteu Reaktif: 1 ml 2 N Folin-Ciocalteu reaktifinin üzerine 9 mL saf su konularak elde edilen çözeltiye daha sonrasında 1:10 oranında seyreltme işlemi uygulandı. Taze olarak kullanılması için tayinden önce hazırlandı.

Standartlar: 0,01 g gallik asit tartıldıktan sonra üzerine 1 mL saf su konularak çözündürme işlemi gerçekleştirildi. Böylelikle 10 000 $\mu g/mL$ ' lik gallik asit standardı oluşturulmuş oldu. Bundan 1000 $\mu g/mL$ 'lik standart hazırlanarak saf su ile çözülmüş 500, 250, 120, 80 ve 60 $\mu g/mL$ 'lik gallik asit standartları seri dilüsyon ile elde edildi.

Deneyin Yapılışı

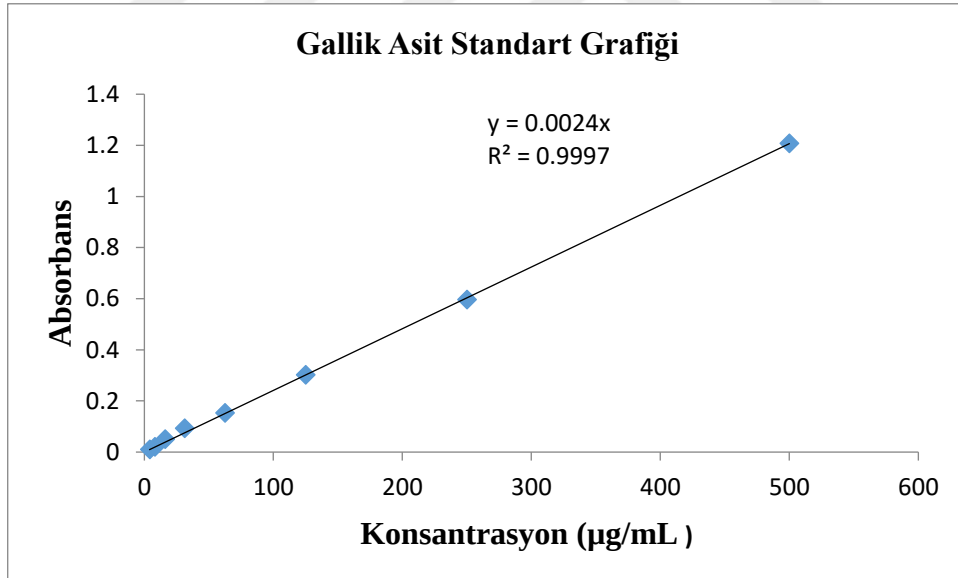
Standartlar 1:50 oranında saf su ile seyreltilti. Tablo 6'daki pipetlemeler 96 kuyucuklu mikroplyette yapıldı. Sonuçlar gallik asit standart grafiğinden elde edilen verilere bakılarak $\mu g/mL$ olarak hesaplandı.. Mevcut her örnek için ölçümler üç kez tekrarlandı (n=3)

Tablo 6. Propolisin borik asitli ekstraktında toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi

	Kör	Numune	Standart
Borik Asit	12.5 µl	-	-
Ekstrakt	-	12.5 µl	-
Standart	-	-	12.5 µl
1:10 Folin-Ciocalteu Reaktifi	62.5 µl	62.5 µl	62.5 µl
%20'lik Na ₂ CO ₃	125 µl	125 µl	125 µl

Oda sıcaklığında, karanlık ortamda 30 dakika inkübe edildi.

700 nm'de mikropleyt okuyucuda absorbans ölçüldü.



Şekil 7. Toplam polifenol içerik tayini için kullanılan gallik asit standart grafiği

3.2.3. Toplam Flavonoid İçerik Tayini

Toplam flavonoid içeriği, alüminyum klorür kolorimetrik metodundan yararlanılarak belirlenmiştir. Metodun prensibi, AlCl₃'ün flavon ve flavonollerin C4 keto grubu ve C3 veya C5 hidroksil grupları ile asitte kararlı kompleksler oluşturmalarına

dayanmaktadır. Bunun yanında, $AlCl_3$, flavonoidlerin A- veya B- halkalarının *orto*-dihidroksil grupları ile de kompleks oluşturur (66). Bu metoda göre standart olarak kuersetin kullanılmaktadır (67).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

%80'lik Etanol Çözeltisi: 80 mL'lik saf etanolün hacmi saf su kullanılarak 100 mL'ye tamamlandı.

%10'luk $Al(NO_3)_3$ Çözeltisi: 2,5 g $Al(NO_3)_3$ tartıldı, bir miktar saf su ile çözüldükten sonra hacmi 25 mL'ye tamamlandı.

1 M KCH_3COO Çözeltisi: 2.454 g KCH_3COO tartıldı, bir miktar saf su ile çözülüp hacmi 25 mL'ye tamamlandı.

Standartlar: 0.01 g kuersetin 802 μ l saf etanol ile çözülerek hacmi saf su ile 1000 μ l'ye tamamlandı. Daha sonra 10 000 μ g/mL'lik kuersetin standardı elde edilmiş oldu. Bundan 1000 μ g/mL'lik standart hazırlanarak %80'lik etanol ile çözülmüş 30, 15, 8, 4, 2 ve 1 μ g/mL'lik kuersetin standartları seri dilüsyon ile meydana getirildi.

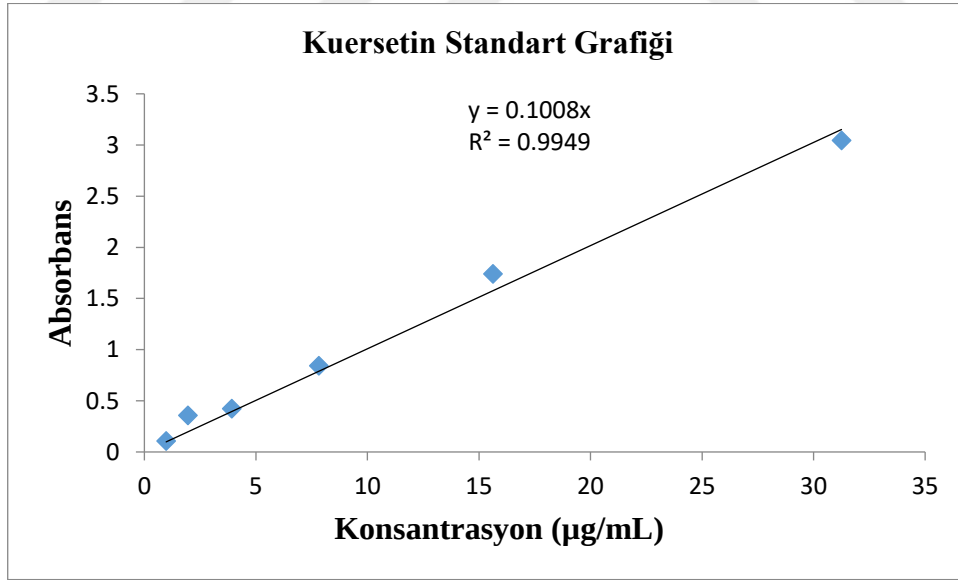
Denevin Yapılışı

Standartlar için 1:20 oranında saf su ile seyreltme işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 7'deki pipetlemeler 96 kuyucuklu mikroplyette yapıldı. Sonuçlar kuersetin standart grafiğinden elde edilen verilerden yararlanılarak μ g/mL olarak hesaplandı. Mevcut olan her örnek için ölçümler üç kez tekrarlandı (n=3).

Tablo 7. Propolisin borik asitli ekstraktında toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi

	Kör	Numune	Standart
Borik Asit/ %80'lik Etanol	20 µl	-	-
Ekstrakt	-	20 µl	-
Standart	-	-	20 µl
%80'lik Etanol	172 µl	172 µl	172 µl
%10'luk Al(NO ₃) ₃	4 µl	4 µl	4 µl
1 M KCH ₃ COO	4 µl	4 µl	4 µl
Oda sıcaklığında, karanlıkta 40 dakika inkübe edildi.			
415 nm'de mikroyok okuyucuda absorbanans ölçüldü.			



Şekil 8. Toplam flavonoid içerik tayini için kuersetin standart grafiği

3.2.4. Demir (Fe⁺³) İndirgeyici Güç Tayini

Antioksidanlar indirgenme yeteneğine sahiptir. Bu özelliği taşıyan maddelerin mevcudiyetinde, Fe⁺³-ferrisiyanür kompleksinin Fe⁺²'ye indirgenmesi gerçekleşmektedir. Bu metodda, analizi gerçekleştirilen örneğin indirgenme gücüne bağlı olarak analizi yapılan çözeltinin rengi sarıdan yeşile döner. Ortaya çıkan yeşil rengin maksimum absorbands gösterdiği nm, 700 nm'dir ve artan absorbands, artan indirgenme kuvvetini gösterir (68). Bu metodda standart olarak kullanılan antioksidan bileşik troloktur. (69).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

0.2 M pH:6.6 Fosfat Tamponu : 2.137 g NaH₂PO₄.2H₂O ve 1.121 g Na₂HPO₄.2H₂O tartıldıktan sonra karıştırıldı. Karışıma bir miktar saf su eklenerek 90 ml'ye kadar çözüldü. Daha sonra pH'sı 6.6' ya ayarlanarak hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

%1'lik K₃Fe(CN)₆ Çözeltisi : 1 g K₃Fe(CN)₆ tartıldı, bir miktar saf su ile çözüldükten sonra hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

%10'luk TCA Çözeltisi : 5 g TCA tartıldı, bir miktar saf su ile çözüldükten sonra hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

% 0.1'lik FeCl₃ Çözeltisi : 0.1 g FeCl₃ tartıldı, bir miktar saf su ile çözüldükten sonra hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

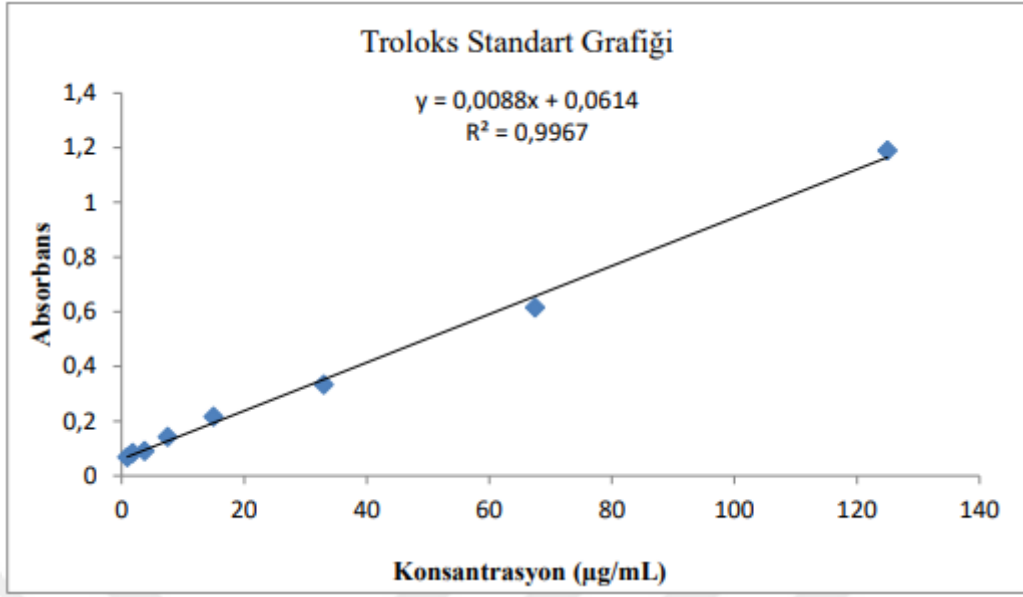
Standartlar : 0.001 g troloks tartıldıktan sonra, 1 mL saf etanol ile çözdürüldü ve çözülme işleminden sonra 1000 µg/mL 'lik troloks standardı elde edildi. 1000 µg/ml'lik standarttan saf etanol ile çözülmüş 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.813, 3.906, 1.953 ve 0.977 µg/mL'lik troloks standartları hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Standartlar 1:100 oranında saf su kullanılarak seyreltme işlemi gerçekleştirildi. Deney modifiye edilerek spektrofotometrik küvetler yerine Tablo 8' deki pipetlemelerin ilk altı aşaması 1,5 mL' lik ependorflarda gerçekleştirilirken, sonraki aşamalar 96 kuyucuklu mikroplyette yapıldı. Sonuçlar için troloks standart grafiğindeki veriler kullanılarak µg/mL olarak hesaplandı. Mevcut her örnek için ölçümler üç kez tekrarlandı (n=3).

Tablo 8. Propolisin borik asitli ekstraktında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini

	Kör	Numune	Standart
Borik asit/ %80'lik Etanol	40 µl	-	-
Ekstrakt	-	40 µl	-
Standart	-	-	40 µl
0.2 M Fosfat Tamponu (pH:6.6)	100 µl	100 µl	100 µl
%1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	100 µl	100 µl	100 µl
50°C' de 20 dakika inkübe edildi ve soğutuldu.			
%10'luk TCA	100 µl	100 µl	100 µl
3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki fazlardan 100' er µl alınarak 96 kuyucuklu mikropleyte aktarıldı.			
Saf su	100 µl	100 µl	100 µl
%0.1' lik FeCl_3	20 µl	20 µl	20 µl
Oda sıcaklığında, karanlıkta 5 dakika inkübe edildi. 700 nm' de mikropleyt okuyucuda absorbans ölçüldü.			



Şekil 9. Demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troloks standart grafiği

3.3. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences) programına aktarılarak toplam polifenol içerik, toplam flavonoid içerik ve demir indirgeyici güç için istatistiksel değerlendirme yapıldı. Tüm çalışma parametrelerinin normal dağılıma uygunluğunu test etmek için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı ve hepsinde $p=0.2$ bulunduğu için gruplar arasındaki farkı bulmak amacıyla parametrik testlerden Student-t testi uygulandı. Elde edilen değerler $p<0.05$ olduğu için gruplar arasında anlamlı kabul edildi.

Bulunan frekanslar ile beklenen frekanslar arasında anlamlı fark olup olmadığını anlamak için korelasyon testlerinden Pearson (ki kare) testine başvuruldu.

4. BULGULAR

Tablo 9,10,11’de propolisin borik asitle ekstraksiyonundaki toplam polifenol içerik, toplam flavonoid içerik ve demir indirgeyici güç tayini sonuçları gösterilmiştir.

4.1. Toplam Polifenol İçerik Tayini Sonuçları

Propolisin %1,5’luk ve %4,5’luk borik asit ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik tayini sonuçları Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Propolisin %1,5’luk ve %4,5’luk borik asit ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik tayini sonuçları (Aritmetik ortalama±Standart sapma) (n=3)

Total Polifenol (mg gallik asit eş değeri/g propolis)	%1,5’luk Borik Asitli Propolis	%4,5’luk Borik asitli Propolis	P
	15,79± 0,446	18,09*± 0,634	0.000

*Student-t testine göre anlamlı fark bulunmuştur.

%1,5 ile %4,5’luk borik asit arasında total polifenol yönünden anlamlı farklılık bulunmuştur.

4.2. Toplam Flavonoid İçerik Tayini Sonuçları

Propolisin %1,5’luk ve %4,5’luk borik asit ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik tayini sonuçları Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10. Propolisin %1,5’luk ve %4,5’luk borik asit ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik tayini sonuçları (Aritmetik ortalama±Standart sapma) (n=3)

Total Flavonoid (mg kuersetin eş değeri/g propolis)	%1,5’luk Borik Asitli Propolis	%4,5’luk Borik asitli Propolis	p
	0,093± 0,004	0,162*± 0,013	0.003

*Student-t testine göre anlamlı fark bulunmuştur.

%1,5 ile %4,5'luk borik asit arasında total flavonoid yönünden anlamlı farklılık bulunmuştur.

4.3. Demir İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları

Propolisin %1,5'luk ve %4,5'luk borik asit ekstraktlarındaki demir indirgeyici güç tayini sonuçları Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Propolisin %1,5'luk ve %4,5'luk borik asit ekstraktlarındaki demir indirgeyici güç tayini sonuçları (Aritmetik ortalama±Standart sapma) (n=3)

Total Demir İndirgeyici Güç	%1,5'luk Borik Asitli Propolis	%4,5'luk Borik asitli Propolis	<i>p</i>
	0,9756± 0,078	1,2452*± 0,0536	0.001

*Student-t testine göre anlamlı fark bulunmuştur.

%1,5 ile %4,5'luk borik asit arasında total demir indirgeyici güç yönünden anlamlı farklılık bulunmuştur.

4.4. Korelasyon Analizi

Çalışma parametreleri arasındaki korelasyonlar Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12. Korelasyon tablosu

	<i>R</i>	<i>P</i>
Polifenol-Flavonoid	0.934	0.006
Polifenol-Demir İndirgeyici Güç	0.936	0.006
Demir İndirgeyici Güç-Flavonoid	0.933	0.007

Elde edilen verilerden yola çıkarak, istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Propolis, bal arılarının çeşitli bitki salgılarından, tomurcuklarından ve ağaç kabuklarından toplayarak, tükürük bileşimleriyle harmanlayıp oluşturduğu doğal bir üründür (4). Arılar tarafından oluşturulan bu madde kovanın deliklerini kapatmak, tırağın ince kenarlarını güçlendirmek ve dışarıdan gelen tehlikelere karşı kovan girişini engelleyerek, savunmayı kolaylaştırmak için kullanılır (5).

Uzun yıllar öncesine dayanan, halk hekimliğinde kullanılan bir maddedir (1). Yunanlılar, Mısırlılar, Romalılar hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde propolisten yararlandığı bilinmektedir (19).

Propolis, doğal antioksidanlar olarak adlandırılan ve sağlık açısından çok fonksiyonlu bir bileşen olmasından dolayı, çalışılan en gözde gruplar arasındadır (5). İçerisinde çeşitli aminoasitler, steroidler, polifenoller, diterpenler, flavonoidler, vitamin ve mineraller dahil 300'den fazla bileşeni barındırmaktadır (17).

Propolisin toplandığı coğrafyanın sahip olduğu özellikler ve bitki kaynağının ne olduğu, bileşenlerini ve biyolojik aktivitesini etkileyen unsurlardır (4). Farklı birçok biyolojik aktiviteye sahip olan propolis; antifungal, antiviral, antioksidan, antitümör etkiler göstermektedir (2). Propolisin bu çok fonksiyonlu yapısından ve biyolojik aktivitesinden sorumlu olan başlıca bileşikler; terpenler, polifenoller, aminoasitlerdir (2).

Propolisin sağlığa katkıları çok önceki zamanlara dayanmakta ve her geçen yıl önemi artmaktadır. İçeriğindeki zengin bileşenler sayesinde biyolojik aktivitesi hakkında bilgi sahibi olunmasıyla, hastalıkları iyileştirmede bazı ilaç ve takviyelerinde günümüzde kullanımına çokça rastlanmaktadır (15).

Demir (70) tarafından yapılmış olan bir çalışmada propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde H_2O_2 ile uyarılmış DNA hasarı üzerine etkisi araştırılmış ve Comet Assay yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada propolisin etanolik ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde H_2O_2 kaynaklı DNA hasarını engellediği bildirilmiştir.

Yiğit (71) tarafından propolis ekstraktının t-BHP ile uyarılmış oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi incelenmiş ve eritrosit paketlerinde sulu propolisin MDA seviyesi düşük bulunmuş ve propolisin lipit peroksidasyonunu önleyici etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Propolis ham şekilde kullanılmadığı için çözücü yardımıyla ekstrakte edildikten sonra kullanılmalıdır (20). Antioksidan kapasitenin başlıca bileşenlerinden olan fenolik bileşikler açısından zengin, arındırılmış propolis ekstraktı elde etmek için genellikle etanol tercih edilmektedir. Etanolun yanısıra su, aseton, kloroform, heksan gibi bileşikler ile yapılan çalışmalar da mevcuttur (5).

Çakıroğlu (72) çalışmasında Türk propolisini su, etanol, DMSO, gliserol, aseton gibi çözücüler ile ekstrakte ederek çözünürlüğünü incelemiş ve toplam polifenol, toplam flavonoid içerik ve antioksidan yöntemleri baza alındığında en iyi DMSO'da çözündüğü ve bunu takiben etanol, aseton ve gliserolde daha az ve en az olarak suda çözündüğü sonucuna varmıştır. Aynı çalışmada liyofilize ederek de çalışma yürütülmüş ve yine en iyi çözünme DMSO'da sonra etanolde ve daha sonra suda bulunmuştur. Aralarında farklılığın çok olmadığı gözlenmiştir.

Propolis içerisinde bulundurduğu polifenoller, terpenler, flavonoidler açısından zengin olduğu için antioksidan aktivite göstermektedir (1).

Kartal (73) çalışmasında propolisi organik üzüm, elma, nar ve ticari üzüm, elma, nar ve beyaz sirke olarak toplam yedi çözücücü ile ekstrakte etmiştir. Bunlar içerisinde en iyi antioksidan özelliği gösteren çözücünün organik üzüm sirkesi olduğu bulunmuştur. Bunu takiben beyaz sirke, ticari üzüm sirkesi, ticari elma sirkesi, organik nar sirkesi, ticari nar sirkesi, organik elma sirkesi çözücüleri yer almaktadır.

Karakaş (74) çalışmasında ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytinyağını çözücü olarak belirlemiş ve Türk propolisinin bu çözücülerdeki çözünürlüğüne bakmıştır. Bu çözücülerde ekstrakte ettikten sonra toplam polifenol, flavonoid içerik ve antioksidan aktivitesini belirlemiştir. En iyi zeytinyağında olmakla beraber zeytinyağını takiben mısır yağı, ardından fındık yağı ve en az ayçiçek yağı propolisin çözündüğünü belirtmiştir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda propolisi ekstrakte etmek için çok çeşitli çözücülerden yararlanılmıştır. Bu tez çalışmasında propolisin, canlıların biyokimyasal süreçlerinde çok önemli rolleri bulunan borik asit ile ekstraktının antioksidan aktivitesi ilk kez çeşitli yöntemlerle incelenecek. Aynı zamanda fonksiyonel ve birçok yararı bulunan bir gıda olarak propolis için daha ileri çalışmalara öncü olacağı kanaatindeyiz.

Propolisin %1,5'luk ve %4,5'luk borik asitli ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici güç bakımından, Çakıroğlu tarafından yapılan çalışmada (72) kullanılan propolisin DMSO'lu, etanollü, asetonlu, gliserollü ve sulu ekstraktlarıyla karşılaştırıldığında %1,5'luk borik asitli ekstraktlarındaki polifenol içerik tayini en yakın su ve liyofilize edilmiş propolis-su çözücüsünde bulunmuştur. %4,5'luk borik asitli ekstraktlarındaki polifenol içeriğinin ise çok yaklaşık değerde olduğu görülmüştür. %1,5'luk ve 4,5'luk borik asit ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriği sadece su kullanılarak elde edilen sonuçla yakın değerdedir. %1,5 ile %4,5'luk borik asit arasında total demir indirgeyici güç yönünden diğer ekstraktlarla karşılaştırıldığında daha az bulunmuştur.

Propolisin %1,5'luk ve %4,5'luk borik asitli ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici güç bakımından, Karakaş tarafından yapılan çalışmada (74) kullanılan propolisin zeytinyağı, fındık yağı, mısır yağı, ayçiçek yağı ekstraktlarıyla karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Propolisin yağlı ekstraktları istatistiksel olarak bakıldığında polifenol ve flavonoid içerikleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemekle birlikte demir indirgeyici güç tayini ise zeytinyağı ile ayçiçek yağı ve zeytinyağı ile fındık yağı ekstraktları arasında anlamlı fark gözlenmiştir.

Propolisin %1,5'luk borik asitli ekstraktındaki toplam polifenol içeriği Kartal (73) yapılan çalışmada kullanılan organik nar sirkeli ve organik elma sirkeli ekstraktlara göre yakın bulunduğu gözlenirken, %4,5'luk borik asitli ekstraktındaki toplam polifenol içeriği ticari nar sirkeli, ticari üzüm sirkeli, beyaz sirkeli ve asetik asitli ekstraktlara yakın değerlerde olduğu gözlenmiştir. Propolisin %1,5' luk ve %4,5' luk borik asitli ekstraktlarındaki flavonoid ve demir indirgeyici güç tayini sonuçları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

Bor, periyodik tabloda 3A grubunda yer alan metaloid olarak sınıflandırılan, atom numarası 5, atom kütlesi 10.811 g/mol olan bir biyoelementtir. Kimyasal sembolü B olarak gösterilir ve farklı izotopları vardır (6). Bor biyokimyası esasen borik asitin biyokimyası olarak adlandırılmaktadır. Bor ve bor içeren bileşikler uzun yıllardır bilinmektedir (7).

Borun bulunuşu sonucu yaşanan gelişmelerle birlikte bor elementinin kullanıldığı alanların sayısı da her geçen gün artmaya başlamıştır (62). Bor doğada element halde

bulunmazken, doğal olarak kayalarda, toprakta ve suda yer edinir (30). Borun alım miktarı yaşa, cinsiyete bağlı değişkenlik göstermektedir (42).

Borun organizmada az miktarda bile eksikliği veya fazlalığı bazı zararlar ortaya koymaktadır. İnsan kanında borik asit ve borat anyonu şeklinde bulunmaktadır. Vücuttaki mevcut formu borik asittir. Vücut dokularında ve sıvılarında görülmektedir ve gastrointestinal sistem tarafından tamamıyla emilmektedir (43). Hızlı bir şekilde emilir ve vücuttan idrar yoluyla atılır. Ortalama yarılanma ömrü 1 gündür. Plazmada mevcut olan bor miktarının kontrol altında tutulmasında, renal atılım görev üstlenmektedir.

Bor bileşiğinde bor-oksijen bağı kuvvetli bir bağ olduğundan, kırmak için gereken enerji çok yüksektir. Bu sebeple bor bileşiğinin metabolizma edilmeden vücuttan atıldığı ileri sürülmektedir (54).

Bor oksijen ve diğer elementlerle bileşik oluşturabilme yeteneğine sahiptir (49). Borun topraktan direkt veya iyon halinde alınamaması onu diğer elementlerden ayırır (50). Yapılan çalışmalarda borun kemik metabolizması, ROS, hormon taşınması, karbonhidrat metabolizması, enerji tüketimi, oksidatif stresin minimum düzeye indirgenmesi, antioksidan enzimlerin seviyesine etki etme, artrit semptomlarının azaltılmasına yardımcı olma ve daha birçok önemli rolleri üstlendiği belirtilmiştir (43, 49). Bazı enzimleri uyararak ve/veya bazılarını inhibe ederek membran metabolizmasını etkileyebildiği, immün sistemde ve yara onarımında etkisi bulunduğu, tümör nekroz faktör ve interferongamma düzeylerini artırmasıyla bağışıklıkta yer edindiği söylenmektedir (49, 50). Bor birçok süreçte rol almasına karşın mekanizması ile ilgili çok fazla veri yoktur (6). Eksikliği ve/veya toksisitesi ile ilgili çokça çalışma olmasına karşın borun tam anlamıyla mekanizması çözülememiştir (44).

Propolis ve borik asit kombinasyonu ile ratlarda oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarı üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada (75) tek başına propolis ve borik asit, propolis+borik asit grupları ile çalışılarak böbrek fonksiyonu, antioksidan savunma sistemi ve böbrek hasarına bakılmıştır. Tek başına propolis ve propolis+borik asit kombinasyonunun iyileştirme gösterdiği belirtilmiştir. Borik asitin propolis ile beraber antioksidan, anti-inflamatuar ve antiapoptotik ajan olarak görev alarak iskemi reperfüzyonda ortaya çıkan böbrek hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir.

Borun insan ve hayvanlara olumlu ve/veya olumsuz etkilerinin yanısıra bitkiler için muhtemelen gerekli bir element olduğu bildirilmiştir (50). Yapılan bir çalışmada borun

bitkide fazla olmasının, borun büyüme parametrelerine etki ederek üründen elde edilen verimin düşmesine neden olabileceği söylenmiştir ve aynı zamanda toksik bir seviyede olduğunda lipit peroksidasyonu ve hidrojen peroksit birikimini tetikleyebileceği, oksidatif hasar oluşturabileceği söylenmektedir (61).

Antioksidan savunma sisteminde borun, NADPH seviyesini etkileyerek oksidatif hasarı azaltabildiği bildirilmiştir (43). Antioksidan enzim seviyelerini artırarak savunma düzeyini artırıcı etki gösterdiğine dair bilgiler mevcuttur (49).

Bugüne kadar propolis üzerinde yapılan araştırmalarda elde edilmiş olan sonuçlar, propolisin etkinliği ve güvenilirliğini destekler niteliktedir. Hastalıklar üzerindeki etkisi ve sağlığa yaptığı katkılar göz önüne alınırsa, propolis ile ilgili yeni bakış açıları için çalışmalar sürdürülmeli ve daha ileriye taşınmalıdır (19).

Günümüze bakıldığında, Türkiye bor rezervinde ilk sırada yerini almaktadır. Onu takiben ABD gelmektedir (11). Çeşitli sektörlerde bor yer edinmekte, borat-mineral konsantreleri ve borik asit içerikli ürünler piyasada bulunmaktadır (30). Endüstriyel alanlarda, ticarete, sağlıkta ve daha birçok alanda bor kullanılmaktadır. Antiseptik amaçlı, zararlı böceklerin giderilmesi, gıdanın korunması, deterjan ve cam üretiminde tercih edilmektedir (6). Antifungal, antibakteriyel özellikleri sayesinde farmasotik alanında da bor katkılı ilaçlar tedavilerde kullanılmaktadır (64). Borun biyolojik sistemler üzerindeki etkinliği, mekanizması ve toksisitesini kavramak aynı zamanda geliştirmek için daha çok çalışılmalıdır (6).

Türk propolis örneğinin %1,5 ve %4,5'lik borik asit ile hazırlanan ekstraktlarında toplam polifenol, toplam flavonoid ve demir indirgeyici güç tayinleri yapıldı. Yapılan çalışmada propolisin %1,5'luk borik asit ile hazırlanan ekstraktındaki toplam polifenol, toplam flavonoid içerik ve demir indirgeyici gücün, propolisin %4,5'lik borik asit ile hazırlanan ekstraktındaki toplam polifenol, toplam flavonoid içerik ve demir indirgeyici gücünden daha düşük olduğu bulunmuştur.

Literatürde Türk propolisinin borik asit ile çözünürlüğünün incelendiği herhangi bir çalışma gözlenmediği için, çalışmamızda elde ettiğimiz veriler bir başka literatür ile karşılaştırma yapılamadı.

Sonuç olarak propolisin borik asit ile ekstrakte edilmesinden sonra borik asitin kendi başına antioksidan kapasitesi olmadığı, borik asit miktarının artışı ile doğru orantılı olarak propolisin çözünürlüğünün arttığı kanaatine varılmıştır.



6. KAYNAKLAR

1. Alp H (2018). Effects of propolis on immune system. *Anadolu Journal of AARI* 28(2): 99-104.
2. Burdock GA (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol* 36(4): 347-363.
3. Wagh VD (2013). Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv Pharmacol Sci* 2013: 308249.
4. Sforcin JM (2016). Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy Research* 30(6): 894-905.
5. Gómez-Caravaca AM, Gómez-Romero M, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharm Biomed Anal* 41(4): 1220-34.
6. Uluışık İ, Karakaya HÇ, Koç A (2018). The importance of boron in biological systems. *J of Trace Elem Med Biol* 45(2018):156-162.
7. Nielsen FH, Meacham SL (2011). Growing Evidence for Human Health Benefits of Boron. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine* 16(3):169-180.
8. See AS, Salleh AB, Bakar FA, Yusof NA, Abdulmir AS, Heng LY (2010). Risk and health effect of boric acid. *American Journal of Applied Sciences* 7 (5): 620-627.
9. Bolt HM, Duydu Y, Başaran N, Golka K (2017). Boron and its compounds current. *Arch Toxicol* 91:2719–2722.
10. Koshiba T, Kobayashi M, Matoh T (2009). Boron deficiency. *Plant Signaling & Behavior* 4:6, 557-558. [Epub ahead of print]
11. Khaliq H, Juming Z, Ke-Mei P (2018). The physiological role of boron on health. *Biol Trace Elem Res* 186(1):31-51.
12. Sah RN, Brown PH (1997). Boron determination- A review of analytical methods. *Microchemical Journal* 56(3): 285–304.
13. Sah RN, Brown PH (1997). Techniques for boron determination and their application to the analysis of plant and soil samples. *Plant and Soil* 193: 15-33.
14. Toreti VC, Sato HH, Pastore GM, Park YK (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013: 697390.

15. Braakhuis A (2019). Evidence on the health benefits of supplemental propolis. *Nutrients* 11(11): 2705.
16. Silva-Carvalho R, Baltazar F, Almeida-Aguiar C (2015). Propolis: A complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. *Evid Based Complement Alternat Med* 2015: 206439.
17. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH (2017). Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxid Med Cell Longev* 2017: 1259510.
18. Kocot J, Kiełczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I (2018). Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. *Oxid Med Cell Longev* 2018: 7074209.
19. Sforcin JM (2007). Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol* 113 (1): 1-14.
20. Przybyłek I, Karpiński TM (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules* 24 (11): 2047.
21. Al-Ani I, Zimmermann S, Reichling J, Wink M (2018). Antimicrobial activities of European propolis collected from various geographic origins alone and in combination with antibiotics. *Medicines (Basel)* 5(1): 2.
22. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci* 73(9) :R 117 -24.
23. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR (2016). Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci* 5: e47.
24. Araujo MAR, Libério SA, Guerra RNM, Ribeiro MNS, Nascimento FRF (2012). Mechanisms of action underlying the antiinflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review. *Rev Bras Farmacogn* 22(1): 208-219.
25. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 13(10) :572 -584.
26. Kumar S, Pandey AK (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *ScientificWorldJournal* 2013: 162750.
27. Diniz TC, Silva JC, de Lima-Saraiva SR, Ribeiro FP, Pacheco AG, de Freitas RM, Quintans-Júnior LJ, Quintans Jde S, Mendes RL, Almeida JR (2015). The role of flavonoids on oxidative stress in epilepsy. *Oxid Med Cell Longev* 2015: 171756.

28. Ali SS, Ahsan H, Zia MK, Siddiqui T, Khan FH (2020). Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *J Food Biochem* 44(3): e13145.
29. Kubilienė L, Laugaliene V, Pavilonis A, Maruska A (2015). Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of their composition and biological activities. *BMC Complement Altern Med* 15: 156.
30. Woods WG (1994). An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. *Environ Health Perspect* 102 Suppl 7 (Suppl 7): 5-11.
31. Güneş Y (2013). Inhibition of boric acid and sodium borate on the biological activity of microorganisms in an aerobic biofilter. *Environ Technol* 34(9-12): 1117-1121.
32. Bolaños L, Lukaszewski K, Bonilla I, Blevins D (2004). Why boron ?. *Plant Physiol Biochem* 42(11): 907-912.
33. Hunt CD (2003). Dietary boron: An overview of the evidence for its role in immune function. *J Trace Elem Exp Med* 16: 291-306.
34. Kot FS (2009). Boron sources, speciation and its potential impact on health. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 8: 3-28.
35. Ahmad W, Zia MH, Malhi SS, Niaz A, Saifullah (2012). Boron deficiency in soils and crops: A review. *Cropt Plant*. Pages: Sayfa: 77-114.
36. Siegel E, Wason S (1986). Boric acid toxicity. *Pediatric Clinics of North America* 33(2): 363–367.
37. Kucukkurt I, Akbel E, Karabag F, Ince S (2015). The effects of dietary boron compounds in supplemented diet on hormonal activity and some biochemical parameters in rats. *Toxicol Ind Health* 31(3): 255-260.
38. Miljkovic D, Scorei RI, Cimpoişu VM, Scorei ID (2009). Calcium fructoborate: plant-based dietary boron for human nutrition. *J Diet Suppl* 6(3): 211–226.
39. Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Boron (Sodium Borate and Boric Acid) (2004). *EFSA Journal* 2 (8): 80: 1-22.
40. Forrest HN (2008). Is boron nutritionally relevant? *Nutr Rev* 66(4): 183–191.
41. Dubey P, Thakur V, Chattopadhyay M (2020). Role of Minerals and Trace Elements in Diabetes and Insulin Resistance. *Nutrients* 12(6): 1864.
42. Curtiss DH (2012). Dietary boron: progress in establishing essential roles in human physiology. *J Trace Elem in Med Biol : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)* 26(2-3): 157–160.

43. Tara AD, Stella LV (2003). The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43(2): 219–231.
44. Mahmood MS (2010). Role of Boron in Plant Nutrition and Human Health. *American Journal of Plant Physiology* 5(5): 224-240.
45. Çetinkaya E, Dönmez KB, Deveci S, Doğu M (2014). Determination of plant available boron in agricultural soil by using voltammetric method. *Eurasian Journal of Soil Science (EJSS)* 3(3): 182-188.
46. Farhat A, Ahmad F, Arafat H (2013). Analytical techniques for boron quantification supporting desalination processes: A review. *Desalination* 310: 9-17.
47. Zeng LM, Wang HY, Guo YL (2010). Fast quantitative analysis of boric acid by gas chromatography-mass spectrometry coupled with a simple and selective derivatization reaction using triethanolamine. *J Am Soc Mass Spectrom* 21(3) 482–485.
48. Mohan TC, Jones AME (2018). Determination of Boron Content Using a Simple and Rapid Miniaturized Curcumin Assay. *Bio Protoc* 8(2): e2703.
49. Abdelnour SA, Abd El-Hack ME, Swelum AA, Perillo A, Losacco C (2018). The vital roles of boron in animal health and production: A comprehensive review. *J Trace Elem Med Biol* 50: 296–304.
50. Brdar-Jokanović M (2020). Boron Toxicity and Deficiency in Agricultural Plants. *Int J Mol Sci*.21(4): 1424.
51. Nielsen FH (2014). Update on human health effects of boron. *J Trace Elem Med* 28(4): 383–387.
52. Reid RJ, Hayes JE, Post A, Stangoulis JCR, Graham RD (2004). A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant, Cell and Environment* 27 (11) : 1405–1414.
53. Pizzorno L (2015). Nothing Boring About Boron. *Integr Med (Encinitas)* 14(4): 35-48.
54. Zümreoğlu-Karan B, Köse DA (2015). Boric acid: a simple molecule of physiologic, therapeutic and prebiotic significance. *Pure Appl. Chem* 87(2): 155–162.
55. Camacho-Cristóbal JJ, Rexach J, González-Fontes A (2008). Boron in plants: deficiency and toxicity. *J Integr Plant Biol* 50(10): 1247–1255.
56. Shireen F, Nawaz MA, Chen C, Zhang Q, Zheng Z, Sohail H, Sun J, Cao H, Huang Y, Bie Z (2018). Boron: Functions and Approaches to Enhance Its Availability in Plants for Sustainable Agriculture. *Int J Mol Sci* 19(7): 1856.
57. Cervilla LM, Blasco B, Ríos JJ, Romero L, Ruiz JM (2007). Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity. *Ann Bot* 100(4): 747-56.

58. Ghaffari Nejad SA, Etesami H (2019). The importance of boron in plant nutrition. *Metalloids in Plants* 433-449.
59. Çatav ŞS, Genç TO, Kesik Oktay M, Küçükakyüz K (2018). Effect of Boron Toxicity on Oxidative Stress and Genotoxicity in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Bull Environ Contam Toxicol* 100(4): 502–508.
60. Güneş A, Söylemezoğlu G, İnal A, Bağcı EG, Çoban S, Şahin O (2006). Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. *Scientia Horticulturae* 110(3): 279–284.
61. Aftab T, Khan MMA, Idrees M, Naeem M, Ram M (2010). Boron Induced Oxidative Stress, Antioxidant Defence Response and Changes in Artemisinin Content in *Artemisia annua* L. *Journal of Agronomy and Crop Science* 196(6): 423-430.
62. Briggs M (2001). Boron oxides, boric acid and borates. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.
63. Pitthan E, Moro MV, Corrêa SA, Primetzhofer D (2021). Assessing boron quantification and depth profiling of different boride materials using ion beams. *Surface and Coatings Technology* 417: 127188.
64. Lopalco A, Lopedota AA, Laquintana V, Denora N, Stella VJ (2020). Boric Acid, a Lewis Acid with Unique and Unusual Properties: Formulation Implications. *J Pharma Sci* 109(8): 2375-2386.
65. Horžić D, Komes D, Belščak A, Ganić KK, Iveković D, Karlović D (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chemistry* 115(2): 441–448.
66. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10(3): 178-182.
67. Lin JY, Tang CY (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry* 101(1): 140-147.
68. Moreira L, Dias LG, Pereira JA, Estevinho L (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food Chem Toxicol* 46 (11): 3482-3485.

69. Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamed M, Amanzadeh Y, Ebrahimi SES, Ostad SN (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chemistry* 103(3): 729–733.
70. Demir S (2010). Propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde H₂O₂ ile uyarılmış DNA hasarı (genotoksisite) üzerine etkisinin comet assay yöntemi ile araştırılması. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
71. Yiğit E (2017). Sulu Türk propolisi ekstraktının t-BHP ile uyarılmış oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
72. Çakıroğlu TN (2010). Çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
73. Kartal B (2019). Türk propolisinin çeşitli sirkelerde çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
74. Karakaş S (2012). Türk propolisinin ticari bitkisel yağlarda çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
75. Geyikoğlu F, Koç K, Çolak S, Erol HS, Cerig S, Yardımcı BK, Çakmak O, Dörtbudak MB, Eser G, Aysin F, Özek NS, Yıldırım S (2019). Propolis and Its Combination with Boric Acid Protect Against Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting Oxidative Stress, Inflammation, DNA Damage, and Apoptosis in Rats. *Biol Trace Elem Res* 192(2):214-221.