



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TÜRK PROPOLİSİNİN ÇEŞİTLİ SİRKELERDE ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN İNCELENMESİ

Berra KARTAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Orhan DEĞER

TRABZON-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TÜRK PROPOLİSİNİN ÇEŞİTLİ SİRKELERDE ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN İNCELENMESİ

Berra KARTAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Orhan DEĞER

TRABZON-2019

ONAY

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Berra KARTAL'ın hazırladığı "Türk Propolisinin Çeşitli Sirkelerde Çözünürlüğünün İncelenmesi" başlıklı çalışma Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16/10/2019

Prof. Dr. Orhan DEĞER
(Danışman)

Doç. Dr. Selim DEMİR

Doç. Dr. İbrahim TURAN



Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne .../.../.... tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../..... tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak 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 kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 16/10/2019

Berra KARTAL

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez çalışmam süresince her aşamada göstermiş olduğu hoşgörü, sabır ve desteğinden dolayı değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER'e,

Yüksek Lisans eğitimimde emekleri geçen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof Dr. S. Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Birgül KURAL, Prof. Dr. Ahmet ALVER, ve Dr. Öğretim Üyesi Fulya BALABAN YÜCESAN'a,

Anabilim Dalımızdaki tüm araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü ailesine,

Son olarak da beni bugünlere getiren, hayatım boyunca destekleri ve sevgileri ile hep yanımda olduklarını hissettiğim aileme ve sevgili eşime en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Berra KARTAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Propolis	3
2.1.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri	4
2.1.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri	5
2.1.2.1. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)	7
2.1.2.2. Flavonoidler	9
2.1.3. Propolisin İçerisinde Bulunan Bileşenlerin Biyolojik Aktivitesi	12
2.1.4. Propolisin Antioksidan Aktivitesi	14
2.1.5. Propolisin Farklı Çözücülerle Ekstraksiyonu	15
2.2. Sirke	16
2.2.1. Üzüm Meyvesi	17
2.2.2. Elma Meyvesi	17
2.2.3. Nar Meyvesi	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	18
3.1. Gereçler	18
3.1.1. Araştırmanın Özellikleri	18
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Aletleri	18
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	19

3.2. Yöntemler	19
3.2.1. Propolis Örneğinin ve Sirkenin Temini	19
3.2.2. Propolis Ekstraktlarının Hazırlanması	20
3.2.3. Sirke Örneklerinin Hazırlanması	20
3.2.3.1. Elma Sirkesinin Hazırlanması	20
3.2.3.2. Üzüm Sirkesinin Hazırlanması	21
3.2.3.3. Nar Sirkesinin Hazırlanması	21
3.2.4. Ekstraktlardaki Toplam Polifenol İçerik Tayini	22
3.2.5. Ekstraktlardaki Toplam Flavonoid İçerik Tayini	23
3.2.6. Ekstraktlardaki Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç Tayini	25
3.2.7. İstatistiksel Yöntemler	28
4. BULGULAR	29
4.1. Ekstraktlarda Toplam Polifenol İçerik Tayini Sonuçları	29
4.2. Ekstraktlarda Toplam Flavonoid İçerik Tayini Sonuçları	31
4.3. Ekstraktlarda Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları	33
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	35
6. KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	49

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Propolis yapısında bulunan ana bileşenler	6
Tablo 2.	Farklı coğrafyadan toplanan propolis örneklerinin bitkisel kaynakları ve bileşenleri	7
Tablo 3.	Flavonoid türleri ve bulundukları besin kaynağı	11
Tablo 4.	Propolisin kimyasal bileşenleri ve biyolojik etkileri	13
Tablo 5.	Çalışmada kullanılan cihazlar ve laboratuvar aletlerinin üretici firmaları	18
Tablo 6.	Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, üretici firma ve ürün kodları	19
Tablo 7.	Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi	22
Tablo 8.	Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi	24
Tablo 9.	Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç belirlenmesi	27
Tablo 10.	Toplam polifenol içeriğinin ikili karşılaştırılmalarındaki istatistiksel değerler	30
Tablo 11.	Toplam flavonoid içeriğinin ikili karşılaştırılmalarındaki istatistiksel değerler	32
Tablo 12.	Demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücünün ikili karşılaştırılmalarındaki istatistiksel değerler	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Propolisin biyolojik özellikleri	4
Şekil 2.	CAPE'nin kimyasal yapısı	8
Şekil 3.	Flavonoidlerin genel yapısı	9
Şekil 4.	Propoliste bulunan bazı flavonoidlerin kimyasal yapısı	10
Şekil 5.	Flavonoidlerin metalleri şelatlama bölgeleri	11
Şekil 6.	Toplam polifenol içerik tayini için gallik asit standart grafiği	23
Şekil 7.	Toplam flavonoid içerik tayini için kuersetin standart grafiği	25
Şekil 8.	Demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troloks standart grafiği	28
Şekil 9.	Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik miktarları	29
Şekil 10.	Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik miktarları	31
Şekil 11.	Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç miktarları	33

RESİMLER DİZİNİ

Resim No	Sayfa
Resim 1. Topak halindeki propolis örneği	5
Resim 2. Hazırlanan organik sirke çeşitleri	21



SİMGELER, KISALTMA ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

TÜS	Ticari üzüm sirkesi
TES	Ticari elma sirkesi
TNS	Ticari nar sirkesi
OÜS	Organik üzüm sirkesi
OES	Organik elma sirkesi
ONS	Organik nar sirkesi
BS	Beyaz sirke
AA	Asetik asit
Mg	Magnezyum
Ca	Kalsiyum
K	Potasyum
Na	Sodyum
Cu	Bakır
Zn	Çinko
Mn	Mangan
Fe	Demir
CAPE	Kafeik asit fenetil esterleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
RNT	Reaktif nitrojen türleri
DMSO	Dimetil sülfoksit

Formüller

AlCl_3	Alüminyum klorür
$\text{Al}(\text{NO}_3)_3$	Alüminyum nitrat
$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	Alüminyum nitrat nonahidrat
CH_3OH	Metanol (Metil alkol)
FeCl_3	Demir (III) klorür
$\text{H}_3\text{P}[\text{W}_3\text{O}_{10}]_4$	Fosfotungustik asit
KCH_3COO	Potasyum asetat
$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	Potasyum hekzasiyanoferrat (III)
Na_2CO_3	Sodyum karbonat
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Disodyum hidrojen fosfat dihidrat
TCA	Trikloroasetik asit

ÖZET

Türk Propolisinin Çeşitli Sirkelerde Çözünürlüğünün İncelenmesi

Propolis, bal arıları tarafından ağaç ve bitkilerden toplanılarak oluşturulan, doğal, son derece kompleks içeriğe sahip reçinemsî bir arı ürünüdür. Flavonoidler ve fenolik bileşikler propolisin biyolojik aktivitesinden sorumlu olan ana bileşenlerdir ve toplanılan bölgeye göre çeşitlilik göstermektedir. Sirke, üzüm, elma gibi şekerli meyvelerin öncelikle alkolik fermantasyonla etanole, daha sonra etanolün asetik asit bakterileri tarafından asetik asite yükseltgenmesiyle oluşan çözeltidir. Propolis ham halde kullanamadığından dolayı, çeşitli ekstraksiyon işlemlerinden geçirildikten sonra kullanılmalıdır. Farklı çözücüler farklı bileşenleri ekstrakte edeceği için propolis ekstraksiyon yöntemi, propolisin aktivitesini etkilemektedir. Propolisi ekstrakte etmek için su, metanol, etanol, kloroform, diklorometan, eter ve aseton gibi çeşitli çözücüler kullanılmaktadır. Bu çalışmada Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan propolisin, organik üzüm, elma, nar sirkesi ve ticari üzüm, elma, nar ayrıca beyaz sirke ile ekstraktları hazırlanılarak toplam polifenol, flavonoid içerik ve demir indirgeyici güç tayinleri yapılarak propolisin hangi sirke içerisinde en iyi çözüldüğünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın sonucunda, propolisin en iyi antioksidan etkiyi organik üzüm sirke çözücüsünde gösterdiği, bunu sırasıyla beyaz sirke, ticari üzüm sirkesi, ticari elma sirkesi, organik nar sirkesi, ticari nar sirkesi ve organik elma sirkesinde çözücüsünde olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Asetik asit, Antioksidan, Polifenol, Propolis

ABSTRACT

Investigation of the Solubility of Turkish Propolis in Various Types of Vinegar

Propolis is a natural, highly complex resinous bee product produced by honey bees collected from trees and plants. The main constituents responsible for its biological activity are flavonoids and phenolic compounds and vary according to the collected region. Vinegar is a solution obtained by oxidation of sugary fruits such as grapes, apples to alcoholic fermentation in the first stage, then acetic acid. Propolis is not used in its raw form. Therefore, propolis should be used after various extraction. The propolis extraction method affects the activity of propolis because various solvents will extract different components. Various solvents such as water, methanol, ethanol, chloroform, dichloromethane, ether and acetone are used to extract the propolis. The purpose of this study is to extract propolis which is collected from various regions of Turkey by apple, grape and pomegranate vinegars produced naturally and the same types of vinegar bought commercially. Thus, the solubility of polyphenols and flavonoids responsible for antioxidant activity, concentration of total polyphenols, flavonoid and iron reducing power in extracts by vinegars propolis will be examined and then compared.

As a result of the study, the best antioxidant property of propolis is found best in that of dissolved in organic grape vinegar, It was concluded that it was soluble in white vinegar, commercial grape vinegar, commercial apple vinegar, organic pomegranate vinegar, commercial pomegranate vinegar and lastly organic apple vinegar, respectively.

Keywords: Acetic acid, Antioxidant, Polyphenol, Propolis

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bal arıları tarafından ağaç, bitki ve bunların salgılarından toplanarak oluşturulan propolis son derece kompleks içeriğe sahip reçinemsî bir arı ürünüdür. Arılar doğadan topladıkları bu maddeleri kendi enzimlerinde harmanlayıp daha sonra balmumu ile karıştırırlar (1, 2). Bal arıları propolisi, kovandaki çatlakları kapatmada, kovanı dış istilacılardan, zorlu hava koşullarından ve kendilerini enfeksiyonlardan korumak için kullanırlar (3, 4). Propolis fiziksel olarak düşük sıcaklıklarda kırılğan ve serttir, artan sıcaklıkla yumuşak ve yapışkan bir hal alır (5). Propolis yapısı genellikle %50 reçine ve bitkisel balsam, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik bileşenlerden oluşur. Geleneksel olarak yüzyıllardır kullanılan propolis antioksidan, antikanser, anti-inflamatuar, antifungal, antibakteriyel, antimutajenik gibi önemli biyolojik etkilerinden dolayı bir çok araştırmacının ilgisini çekmeyi başarmıştır (6).

Propolis yapısında pinosembrin, akasetin, krisin, rutin, kateşin, naringenin, galangin, luteolin, kaempferol, apigenin, mirisetin, kuersetin gibi flavonoidleri; kafeik asit ve sinamik asit başta olmak üzere çeşitli fenolik asitleri içermektedir. Ayrıca propolis B1, B2, B6, C, E gibi vitaminleri içermekle birlikte, magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), potasyum (K), sodyum (Na), bakır (Cu), çinko (Zn), mangan (Mn) ve demir (Fe) gibi mineralleri bulundurmasından dolayı oldukça önemlidir (7).

Propolisin yapısı bitki kaynağı, iklim gibi çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir ayrıca önemli bitkisel kaynaklarını, kavak, kızılâğaç, huş ağacı, kestane, dişbudak, çam ve söğüt türleri oluşturmaktadır (8). Propolisin kimyasal yapısı, toplanılan bölgenin karakteristik çevresel faktörlerine bağlı olarak değişkenlik göstermesinden dolayı sabit bir formülü yoktur (9).

Fenolik bileşikler, bitkilerde koku, renk ve tat gibi önemli özellikler katmakla birlikte oksidatif stres ile ilişkili hastalıkların etkilerini azaltıcı etki gösterdiği bilinmektedir (10). Flavonoidler, kanser gibi önemli hastalığın etkilerini azaltıcı yönde etki etmesinden dolayı canlılar için ayrı bir önem arz etmektedir (11).

Propolis ham halde kullanılamadığından çeşitli ekstraksiyon işlemlerinden geçirildikten sonra kullanılmalıdır. Yapılan çalışmalarda propolisin biyolojik aktivitesi, değişen konsantrasyonlardaki çözücülere bağlı olduğu belirtilmiştir. Yaygın olarak kullanılan çözücüler etanol, metanol ve sudur (12). Propolisin etanollü ekstraktı yaygın olarak bilinmektedir fakat alkollü ekstraktların canlılar için zararlı olması ve sınırlı dozda

kullanılmasından dolayı farklı çözücü arayışına girilmiş ve bunun sonucunda, propolisin yağlı ekstraktının alternatif olacağı belirtilmiştir (13).

Sirke, elma, üzüm, nar gibi meyvelerin ilk aşamada alkolik fermentasyonla etanole daha sonraasetik asit bakterileri tarafından etanolünasetik asite yükseltgenmesidir (14). Sirke içeriği, %80`inin sudan ve %20`sinin ise organik asitler, alkoller, polifenoller, amino asitlerden oluştuğu bilinmektedir (15).

Bu çalışmadaki amacımız, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan propolisi; doğal olarak ürettiğimiz elma, üzüm ve nar sirkesi ile ticari olarak satın alınan elma, üzüm, nar ve beyaz sirke çözücülerinde ekstrakte etmek, ekstraktlarda çeşitli antioksidan parametreleri tayin etmek ve bunları birbiri arasında kıyaslamaktır.

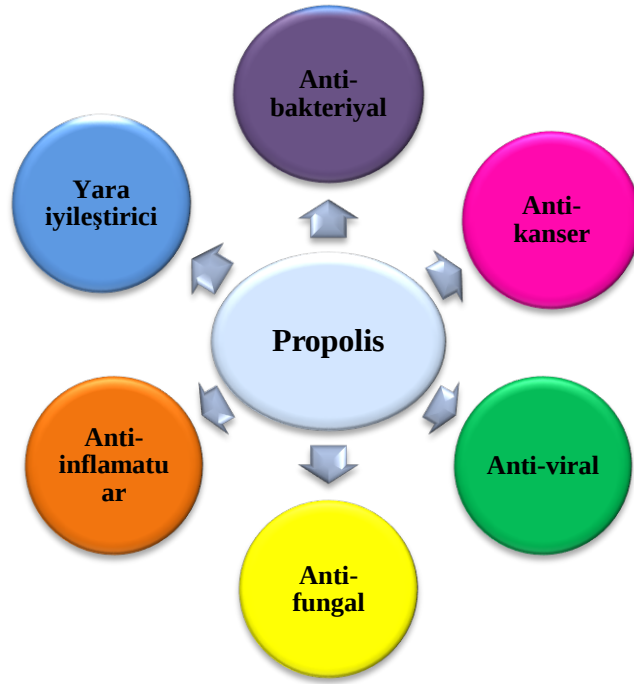
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Propolis

Yüzyıllardır kullanılan ve doğal bir ürün olan propolis; bal arılarının (*Apis mellifera*) ağaç, bitki ve bitki salgılarından toplayarak oluşturduğu, kimyasal yapısı toplanan bölgeye göre çeşitlilik gösteren kompleks, reçinemsî bir arı ürünüdür (1). Propolis sözcük olarak eski Yunan’ da pro- ‘giriş’ ve –polis ‘şehir’ kelimelerinin bir araya getirilmesiyle oluşturulmuş ve ‘şehrin ya da kovanın savunması’ anlamında kullanılmıştır (16). Propolis eski çağlardan beri farklı uygarlıklar tarafından farklı amaçlar kullanılmıştır. Yunanlılar tarafından ilk kez keşfedilen propolis, doğal antibiyotik olarak kullanılırken, Mısırlılar ölülerini mumyalayarak, uzun süre bozulmadan muhafaza etmişlerdir. Halk arasında soğuk algınlığı, yara ve ülser gibi hastalıkların tedavisinde propolisi sıkça kullanmışlardır (17).

Günümüzde ise reçinemsî bir arı ürünü olan propolisin sitotoksik, antibakteriyel, nöroprotektif, antiviral, antikanser, anti-inflamatuar, antioksidan, antifungal gibi önemli biyolojik etkilerinden dolayı giderek önemi artmakla birlikte dünya çapında tamamlayıcı tıpta kullanımı yaygınlaşmaktadır. Propolisin yapısındaki farklı birleşenlerin karakteristik biyolojik etkisi birçok araştırmacının ilgisini çekmeyi başarmıştır (5, 18). Propolisin biyolojik özellikleri Şekil 1’de gösterilmiştir.

Arılar, çeşitli bitkilerden topladıkları reçinenin bir kısmını kendi tükürüklerinde bulunan α -glukozidaz enzimlerinde sindirirler ve son ürünü oluşturmak için balmumu ile karıştırırlar ve oluşturdukları bu materyali farklı amaçlar için kullanırlar (17, 20). Bal arıları propolisi, petek yapımında ayrıca kovan içindeki delikleri ve çatlakları kapatarak, kovana ve ortamda bulunan arıları; mikroorganizma, olumsuz hava koşulları ve dışarıdan gelen istilacılara karşı korurlar (21). Bal arıları kovanda bir ölü ile karşılaştıkları zaman ölünün zamanla oluşturacağı zararlı mikroorganizma ve enfeksiyonlara karşı ortamda bulunan diğer arı ve larvaları korumak için ölüyü mumyalar ve bu şekilde bozulmadan uzun süre muhafaza ederler (3, 22).



şekil 1. Propolisin biyolojik özellikleri (Khurshid'den, 19)

Propolis önemli farmakolojik etkilerinden dolayı yeni ilaçların tasarlanmasında araştırmacılara ilham vermektedir. Propolis günümüzde ticari olarak; kapsül, tablet, diş macunu, yüz kremi, losyon, sabun, gargara ve pastil olarak piyasada bulunmaktadır (23, 24).

2.1.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri

Propolis doğal, hoş bir kokusu vardır. Rengi, kimyasal içeriğine bağlı olarak sarı, yeşil, kırmızı ve koyu kahverengiye kadar değişebilen geniş bir renk skalasına sahiptir. Propolisin sahip olduğu bu karakteristik özellikler propolisin bitki kaynağı, iklim ve depolanma süresi gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (20). Propolis 10°C'nin altında sert ve kırılıgandır. 60-69°C'de erime noktasına sahip olup daha yüksek sıcaklıklarda ise yumuşak ve yapışkan hal almaktadır (17).

Yüksek sıcaklıklarda propolis yapışkan bir hal almasından dolayı işlenmesi güçleşir ve insan derisindeki yağ ve proteinlerle kolay etkileştiğinden deriden uzaklaştırılması zordur. Propolisin uzun süre saklanabilmesi ve kolay işlenebilmesi için derin dondurucuda dondurularak muhafaza edilmelidir (17). Topak halindeki propolis örneği Resim 1'de gösterilmiştir.



Resim 1. Topak halindeki propolis örneği (25)

Propolis yapısından dolayı ham halde direkt kullanılamadığından çeşitli çözücülerde çözüldükten sonra kullanılması gerekir. Böylece inert maddeler uzaklaştırılarak polifenolik kısımlar korunur (26).

2.1.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri

Propolisin kimyasal yapısı, toplanılan bölgenin bitki türü, mevsim, iklim, rakım gibi karakteristik çevresel faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (27).

Ham propolis bileşiminin, sıklıkla %50 reçine ve bitkisel balsamdan (biyolojik olarak aktif bileşikler), %35 mumlardan (çoğunlukla balmumu ve bazı bitkisel tozlardan) %5-10 esansiyel ve aromatik yağlar %5 polen ve diğer organik maddelerden oluştuğu bilinmektedir (28-30). Propolisin yapısında, polifenoller (fenolik asitler) ve bunların esterleri, alkoller, fenolik aldehytler, kumarinler, ketonlar, steroidler, amino asit ve inorganik bileşikler gibi 300'den fazla farklı bileşen bulunmaktadır (6). Tablo 1'de propoliste bulunan ana bileşenler ve bu bileşenlerin miktarları gösterilmiştir.

Tablo 1. Propolis yapısında bulunan ana bileşenler (Cuesta'dan, 31)

Bileşenler	Ana maddeler	Miktar
Reçine	Flavonoidler Fenolik asitler ve esterler Terpenler Kumarinler	% 45-55
Mum ve yağ asitleri	Doymamış yağ asitleri	%25-35
Esansiyel yağlar	Uçucu bileşenler	%5-10
Polen	Serbest amino asitler Proteinler, Vitaminler (A, B, C, E, vs)	%5
Diğer maddeler	Kinonlar Steroidler Şekerler Laktonlar Ketonlar Eser elementler (Fe, Zn, Al, Cu, Mn, Cu, Ag, Ca, Co, vs)	%5

Propolisin çeşitli ekstraktlarında; pinosembrin, akasetin, mirisetin, krisin, rutin, naringenin, galangin, luteolin, kaemferol, kateşin, apigenin ve kuarsetin yanında ayrıca, sinnamik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitler tespit edilmiştir (32).

Propolis yapısında Mg, Ca, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementleri ve daha düşük miktarda B1, B2, B6, C ve E gibi önemli vitaminleri ayrıca; alanin, serin, lösin, lizin, histidin, arjinin ve glutamik asit gibi amino asitleri kapsamaktadır (33).

Farklı coğrafik bölgelerde bulunan propolisin farklı kimyasal bileşimi olmasından dolayı biyolojik aktivitesi de buna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Aynı ülkenin farklı bölgelerinde bulunan propolisin kimyasal yapısı birbirinden farklıdır ve bundan dolayı sabit bir kimyasal formülü yoktur (9). Propolisin en önemli bitkisel kaynağını; kavak, huş, kızılâğaç, dişbudak, kestane, söğüt ve çam ağaçları oluşturur (8). Tablo 2’de farklı coğrafyadan toplanan propolis örneklerinin bitkisel kaynakları ve bileşenleri verilmiştir.

Tablo 2. Farklı coğrafyadan toplanan propolis örneklerinin bitkisel kaynakları ve bileşenleri (Daugšch' dan, 34; Çakıroğlu' dan, 35)

Propolis türü	Coğrafi Bölge	Bitkisel Kaynak	Ana Bileşen
Kavak	Avrupa, Kuzey Amerika, Asya, Yeni Zelanda, Çin	<i>Populus Aigeiros, P. nigra L.</i>	Flavonlar ve flavanonlar (pinobanksin, pinobanksin-3-O-asetat, krisin, galangin), sinamik asit (kafeik asit) ve esterleri
Yeşil Brezilya	Brezilya	<i>Baccharis dracunculifolia DC</i>	p-kumarik asitler, diterpenik asitler
Huş Ağacı	Rusya	<i>Betula verrucosa Ehrh.</i>	Flavonlar ve flavonoller: akasetin, apigenin, ermanin, kaempferid
Kırmızı Propolis	Küba, Brezilya, Meksika	<i>D. ecastophyllum ve Dalbergia</i>	İzoflavonlar
Akdeniz	Sicilya, Yunanistan, Girit,	<i>Cupressaceae</i>	Diterpenler
Clusia	Venezuela, Küba	<i>Clusia</i>	Poliprenillenmiş benzofenonlar
Pasifik	Pasifik bölgesi (Okinawa, Tayvan, Endonezya)	<i>Macaranga tanarius</i>	Flavanon
Türk	Türkiye'nin çeşitli bölgeleri	-	Kafeik asit fenetil esteri, krisin, pinosembrin, galangin

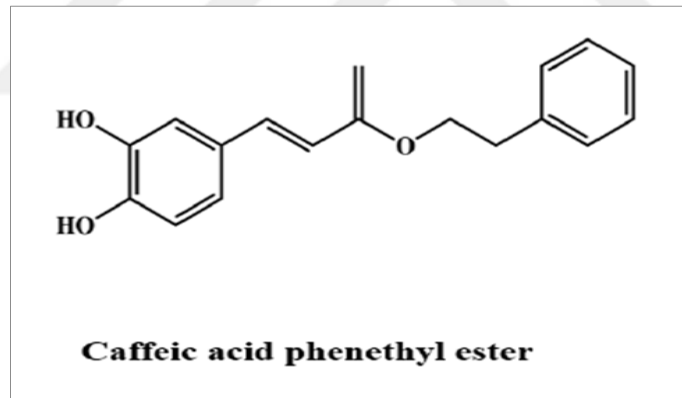
Propolisin karakteristik yapısındaki bileşenlerin tayin edilmesi için farklı ayırma ve saflaştırma yöntemleri kullanılmıştır. Bunlar; yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, kütle spektroskopisi, gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi gibi yöntemleri kapsar (36, 37).

2.1.2.1. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)

Fenolik bileşikler birçok bitkide koku, renk ve tattan sorumlu bileşenler olup ürünlerin kalitesini etkileyen aynı zamanda oksidatif stres ile ilişkili hastalıkların önlenmesinde rol oynayan önemli bileşenlerdir (10). Polifenoller, benzen halkası, buna bağlı karboksil ve en az iki ve ya daha fazla hidroksil gruplarından oluşan bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, yapısında bulunan hidroksil grupları sayısı, konumu ve bunların sterik etkisiyle ilişkilidir (38).

Fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere ikiye ayrılırlar (39). Önemli fenolik bileşikler; ferulik asit, vanilin, benzilalkol, benzoik asit, kafeik asit, sinnamik alkol ve sinnamik asittir (40). Propolisin biyolojik aktivitesinden sorumlu başlıca bileşenler fenolik yapısında bulunan flavonoidlerdir (6). Fenolik bileşikler koruyucu etkilerini, ekzojenik olan antioksidanlar (tokoferol ve askorbik asit) gibi oksidasyon reaksiyonlarını katalizleyen metalleri şelatlayarak gösterirler (40). Fenolik bileşiklerin başka bir fonksiyonu, pro-oksidatif α -tokoferol radikallerini stabilize etmektir. *In vitro* ve *in vivo* yapılan çalışmalarda propolisin yapısındaki yüksek miktarda bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinden dolayı kalp, kanser gibi önemli hastalıkların ilerlemesini önleyerek koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (41).

Önemli bir fenolik bileşen olan kafeik asit fenetil esteri (CAPE) bileşiği ile ilgili geniş ölçüde araştırmalar yapılmış ve antioksidan, immünomodilatör, anti-inflamatuar, antiviral, antimetastatik gibi önemli biyolojik etkileri olduğu belirtilmiştir (42). CAPE'nin kimyasal yapısı Şekil 2'de gösterilmiştir.

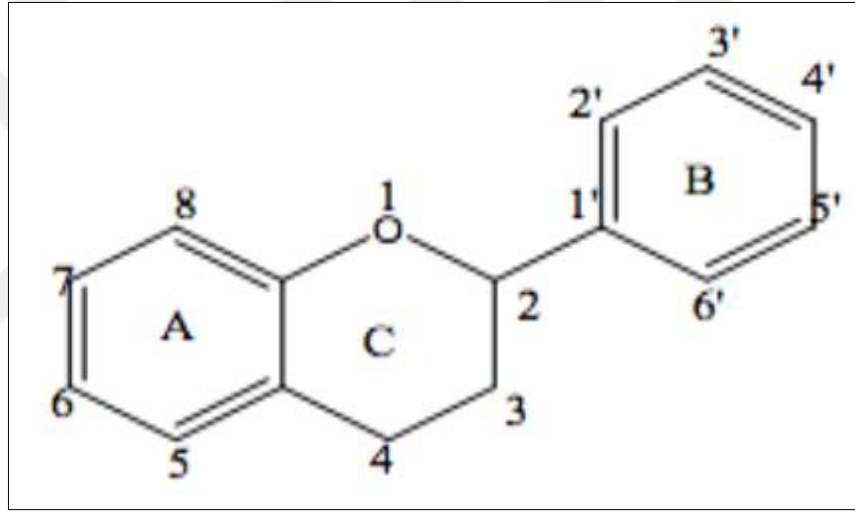


Şekil 2. CAPE'nin kimyasal yapısı (Huang'dan, 43)

Ayrıca CAPE bileşiği, oksidatif strese bağlı oluşan kanser hastalığının tedavisi için uygulanacak ilaçların tasarlanmasında önemli bir farmakolojik bileşen olması sebebiyle araştırmacıların ilgisini çekmeyi başarmıştır (42).

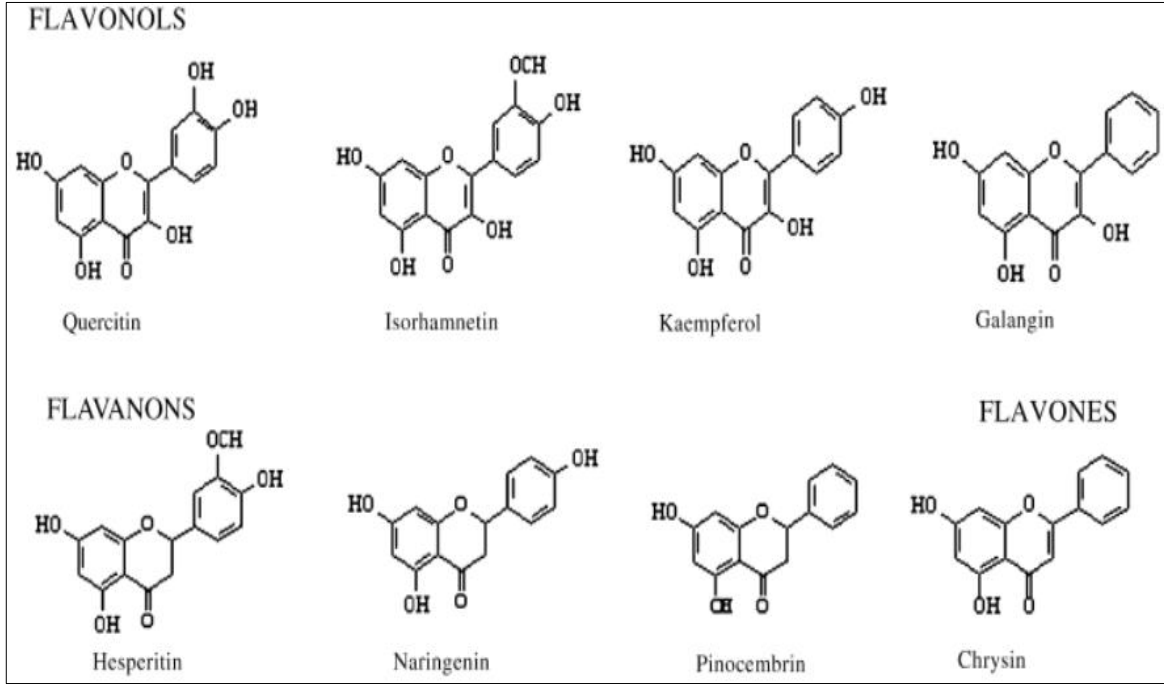
2.1.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler, çeşitli meyve ve sebzelerin yapısında bulunan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (44, 45). Flavonoidlerin, 15 karbon atomu içeren 2-fenil benzopiran (difenilpropan) yapısı (C₆-C₃-C₆) ile gösterilir ve bu yapıları sebebiyle polifenolik bileşikler olarak adlandırılırlar (46). Fenil benzopiran yapısı A, B, C halkalarından meydana gelmiştir. A halkası glukoz metabolizması sonucu oluşan asetil koenzim A'nın kondenzasyonu ile B ve C halkaları ise glukoz metabolizması sonucu oluşan sinamik asit gibi fenil propanoid bileşiklerinden oluşmuştur (47). Flavonoidlerin genel yapısı Şekil 3' de gösterilmiştir.



Şekil 3. Flavonoidlerin genel yapısı (Kumazawa'dan, 48)

Fenil benzopiran yapısının farklı karbon atomlarına bağlanan hidroksil (-OH) grupları çeşitli yapılardaki flavonoidleri meydana getirmiştir (49). Kimyasal yapılarına göre propolis içerisinde bulunan flavonoidler altı gruba ayrılırlar. Bunlar; flavanonlar, flavanoller, flavonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler ve kateşinlerdir (11). Şekil 4'de propolis içerisinde bulunan bazı flavonoidlerin kimyasal yapıları gösterilmiştir.



Şekil 4. Propoliste bulunan bazı flavonoidlerin kimyasal yapısı (Nolkemper'den, 50)

Flavonoidler antioksidan ve serbest radikalleri yakalama gibi önemli özelliğe sahiptir (51). Bu spesifik etkilerini yapılarında bulunan;

- B halkasındaki o-dihidroksi (kateşol) grubu, reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türlerini (RNT) temizleme özelliğine sahiptir.
- C-2 ve C-3 karbon arasındaki çift bağ ve C halkasında 4-okso grubunun varlığı, elektron delokalizasyonu için gereklidir.
- C-3 ve C-5 atomları yanındaki hidroksil grupları yüksek serbest radikal temizleme ve metal şelatlama için gereklidir.

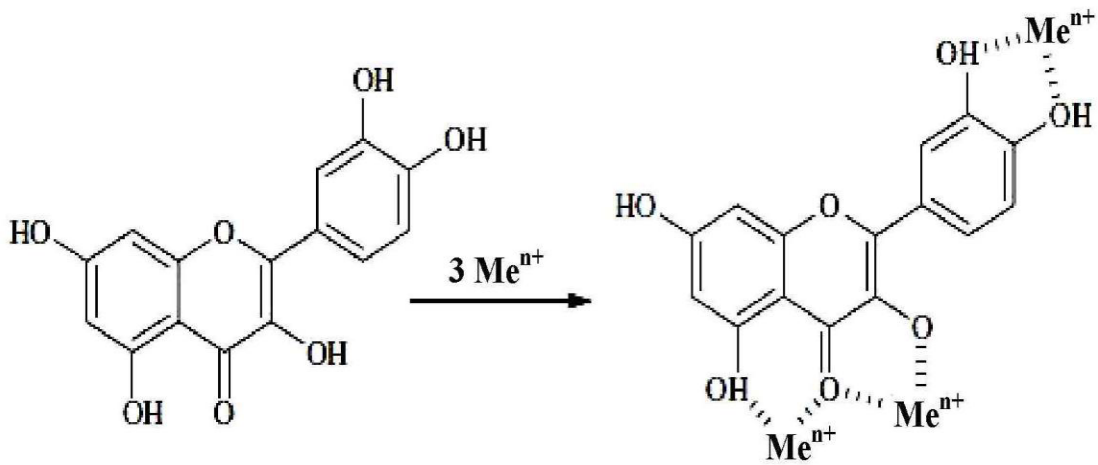
Bu üç grubun varlığı flavonoidlerin güçlü antioksidan aktivite göstermesini sağlar. Bu yapısal özelliği en iyi propolisin bileşiminde bulunan kuersetin bileşiğinde görebiliriz (52, 53).

Antioksidanlar aktivitelerini, ROT oluşumunu engelleyerek veya etkilerini azaltarak gösterirler. Eksojen kaynaklı antioksidanlar, yediğimiz gıdaların birçoğunda bulunmaktadır (53). Tablo 3'de gıdalarda bulunan flavonoid bileşikleri gösterilmiştir.

Tablo 3. Flavonoid türleri ve bulundukları besin kaynağı (Hollman'dan, 54; Ren'den, 55)

Flavonoidlerin sınıflandırılması	Besin kaynağı	Bileşik
Flavonlar	Kekik, maydanoz	Luteolin, apigenin, krisin
Flavonol	Lahana, brokoli Elma, meyveler, çay, kırmızı Şarap, kiraz, soğan	Kuersetin, kaemferol, rutin mirisetin
Izoflavonlar	Bakliyat, soya fasulyeleri	Genistein, formanantin, daidzein
Antosiyanidin	Kiraz, üzüm	
Kateşinler	Elma, çay	Kateşin, gallokateşin

Flavonoidlerin biyolojik etkileri oldukça geniştir. Antioksidan, anti-inflamatuvar, antimutajenik ve antikanserojen etki göstermektedirler ayrıca ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz ve fosfoinositid 3-kinaz gibi çeşitli enzimler için de güçlü birer inhibitör oldukları bilinmektedir (56). Flavonoidlerin yapısındaki hidrojenlerin ayrılmasıyla oluşan flavonoid radikalleri ortamda bulunan oksidasyon reaksiyonlarını katalizleyen özellikle demir ve bakır gibi metalleri şelatlayarak kararlı hale geçmesiyle etkilerini gösterirler (57). Şekil 5'de flavonoidlerin metalleri şelatlaması gösterilmiştir.

**Şekil 5.** Flavonoidlerin metalleri şelatlama bölgeleri (Kurek-Gorecka'dan, 58)

Yapılan araştırmaya göre flavonoid yapısında olan krisin'in kanser hücrelerinin büyümesini önlediği belirtilmiştir (59). Flavanoidlerle ilgili yapılan çalışmada; hücresel yaşlanma, ateroskleroz, iskemik yaralanma, kardiyovasküler hastalıklar, vazodilatasyon, inflamasyon, kanser, diyabet, Parkinson ve Alzheimer gibi önemli hastalıkları tedavi edici etkisi olduğu belirtilmiştir (60, 61).

2.1.3. Propolisin İçerisinde Bulunan Bileşenlerin Biyolojik Aktivitesi

Yüzyıllardır doğadan toplanan propolisin halk arasında, sağlığı arttırıcı biyolojik etkileri bilinmekte olup yaygın olarak kullanılmıştır (62). Propolis bileşenlerinin kimyasal yapısını, toplanılan bölgenin karakteristik çevresel faktörler (toprak yapısı, iklim, toplanılan mevsim) belirlerken buna bağlı olarak biyolojik aktivitesi de değişmektedir (63). Flavonoidler ve fenolik bileşikler propolisin biyolojik aktivitesinden sorumlu ana bileşenlerdendir (64). Flavonoidlerin canlılardaki biyokimyasal etkisi, serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri azaltma veya ortadan kaldırmasıyla ilişkilendirilir (65).

Yapılan araştırmalarda propolisin biyolojik etkileri araştırılmış; antiviral, antibakteriyel, antiparazit, anti-alerjik, antifungal, anti-ülser, radyasyon koruyucu, antitümör, antimutajenik, anti-inflamatuar, karaciğer koruyucu, bağışıklık sistemi düzenleyici, kas gevşetici, kıkırdak ve kemik dokularını iyileştirici, antiosteoporotik gibi sağlık açısından önemli biyolojik etkileri olduğu belirtilmiştir (66). Propolisin yapısındaki etken bileşenler biyokimyasal olarak; ağır metal iyonlarını bağlama, biyolojik polimerleri bağlama, elektron taşınımını hızlandırma ve serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri, önleyerek veya tamamen ortadan kaldırarak gösterirler (17). Propolisin etki mekanizmasının önemli özelliklerinden biri de, vücudun ihtiyacı olan bakterilere zarar vermeden enfeksiyonlara karşı, virüslerin ve zararlı bakterilerin saldırılarını önleyerek koruyucu etki göstermeleridir (67). Propolisin kimyasal bileşenleri ve bunların biyolojik etkileri Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Propolisin kimyasal bileşenleri ve biyolojik etkileri (Viuda-Martos'dan, 7)

Biyoaktif Bileşen	Biyolojik Aktivite
<i>Fenolik bileşenler</i>	
2,2-dimetil-8-prenilchroman	Antimikrobiyal
4-hidroksi-3, 5-diprenil sinamik asit	Antikanser
3-prenil sinamik asit alil esteri	Antimikrobiyal
Kaempferide	Antitümör, antikanser
Benzofuran	Antifungal
<i>Terpenoidler</i>	
İzokupressik asit,	Antifungal
13C-symphyoreticolic asit,	Antitümör
Uzun zincirli yağ asitlerinin esterleri	Antioksidan, antitümör
Farnesol, seskiterpenoid	Antifungal
<i>Flavanoidler</i>	
Apigenin	Anti-inflamatuvar
Akasetin	Anti alerjik, antikanser
Kuersetin	Antikanser, antialerjik
Galangin	Antikanser, antioksidan
Pinosembrin	Antimikrobiyal, antikanser
Krisin	Anti-inflamatuvar, antikanser
Fisetin	Antibakteriyel, antialerji
Kafeik asit fenetil esteri	Antitümör, antikanser
10-hidroksi-2-dekenoik asit	Antibiyotik, antitümör
Pinobanksin	Antioksidan
Hesperetin	Anti-enflamatuvar
Naringenin	Nöroprotektif
Genistein	Antikanser
<i>Fenolik asitler</i>	
p-kumarik asit	Antigenotoksik
Gallik asit	Antianeksiolitik
Ellagik asit	Kemopreventif, antiproliferatif
Ferulik asit	Nöroprotektif, antioksidan

Yapılan araştırmalarda propolisin bileşenlerinin biyolojik etkilerine bakılarak insan vucudunda gastrointestinal, jinekoloji, onkoloji, dermatoloji, gastroenteroloji, akciğer gibi önemli hastalıkları iyileştirici etkisi olduğu belirtilmiştir (7).

Propolis, günümüzde giderek etkisini kaybeden antibiyotiklerin yerini alabileceği düşünölen, doğal bağışıklığı arttıran bir üründür. Propolisin %70'lik alkolde ekstrakte edilmesiyle oluşan ekstraktın antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında bu ilaçların etkisini arttırdığı belirtilmiştir (67). Sağlık problemlerinin çözölmesinde farmakolojik etkisinin bilinmesinden dolayı tıbbın alternatifi değil destekleyicisi niteliğine sahiptir (68).

2.1.4. Propolisin Antioksidan Aktivitesi

Biyolojik sistemlerde oksijenin büyük kısmı indirgenir. İndirgenmiş bu oksijen türlerine ROT denir. Yüksek düzeyde aktif olan bu moleköller toksik maddeler oluşturmaktadır. ROT hava kirliliği, sigara dumanı, kimyasal toksinler gibi etkilerden kaynaklı olabilirler. ROT varlığı biyolojik sistemlerde önemli hasarlara yol açar. Oluşan aktif oksijen grupları inhibe edilmediği taktirde lipidlerin, DNA, proteinlerin ve karbohidrat yapılarının bozulmasıyla birlikte, hücre yapısı ve fonksiyonunda bozulmasına neden olur (69). ROT'ların neden olduğu oksidatif stresin azaltılması veya tamamen ortadan kaldırılması gerekir (70).

Antioksidanlar, ROT'un oluşturduğu zararlı etkileri yavaşlatarak veya tamamen ortadan kaldırarak hücreleri oksidatif hasardan koruyan moleköllerdir (71). Propolisin bileşiminde bulunan amino asitler, fenolik asitler, flavonoidler, terpenler, steroidler, aldehitler ve ketonlar hücrelerin antioksidanları olup serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkilerden hücreleri korurlar (72, 73).

Polen ve arı sütü ile karşılaştırıldığında propolisin daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (74). Ayrıca propolisin yapısında bulunan, kuersetin, kafeik asit, rutin, pinosembrib, apigenin, krisin, galangin ve kaempferol gibi polifenolik yapıdaki bileşenler de güçlü antioksidanlardır (75).

Oksidatif strese karşı antioksidan sistemler etkilerini göstermediği durumlarda serbest radikallerin miktarında artış gözlenmesi sağlık açısından önemli sorunlara yol açabilmektedir. Serbest radikallerin artışı gastrointestinal hastalıklardan infertiliteye, kardiyovasköler hastalıklardan solunum ve boşaltım sisteminde bozukluklara kadar birçok rahatsızlığı arttırabilir. Serbest radikal seviyeleriyle doğrudan ilişkili olan bu hastalıkların

önlenebilmesi için oksidan maddeler ile birlikte antioksidan maddelerin dengede olması gerekmektedir (76).

Antioksidanlar, oksidanların neden olduğu zararları önlemek için dört şekilde etki ederler (77). Bunlar;

- 1. Süpürücü (scavenging) etki:** Antioksidanlar oksidanları daha etkisiz yeni moleküllere çevirir.
- 2. Bastırıcı (quencher) etki:** Flavonoidlerin yaptığı bu etki çoğunlukla, oksidanlara H^+ aktararak aktivitelerini azaltır veya tamamen ortadan kaldırır.
- 3. Onarıcı (repair) etki:** Oksidatif hasar görmüş moleküllerin hasarlarını onarır.
- 4. Zincir kırıcı (Chain breaking) etki:** Hemoglobin, vitamin ve mineraller oksidanları kendilerine bağlayarak inaktif hale getirirler.

Propolis, DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna ve proteinlerin çapraz bağlanmasına neden olan ROT'ları ortamdan uzaklaştırarak hücreleri korur (78).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri, enzimatik ve enzimatik olmayan yolla sinerjik olarak gösterirler (79). Propolisin, yapısında bulunan moleküllerin konfigürasyonu ve hidroksil grupların sayısına bağlı olarak antioksidan aktivitesi de değişmektedir (80).

2.1.5. Propolisin Farklı Çözücülerle Ekstraksiyonu

Propolis fiziksel özelliklerinden dolayı ham halde kullanılamaz. Ham propolis ekstraksiyon işlemi yapılmadan önce içerisindeki istenmeyen yabancı maddelerin uzaklaştırılması gerekir (81). Propolisin ekstrakte edilmesinde kullanılacak çözücü, biyoaktif bileşenlerin saf olarak elde edilmesi ve inert maddelerin uzaklaştırılması için oldukça önemlidir (82).

Propolisin çözünürlüğünü artırmak için küçük parçalara ayrılmalı veya toz haline getirilmelidir (83). Propolisi ekstrakte etmek için su, metanol, etanol, kloroform, diklorometan, eter ve aseton gibi çeşitli çözücüler kullanılmaktadır (82).

Propolisin, su ve hidrokarbon çözücülerde az çözündüğü, metanol ve etanol gibi alkollerde iyi çözündüğü ayrıca eter ve kloroformda tamamen çözündüğü bilinmektedir (26). Biyolojik ölçümler için yaygın olarak kullanılan ve iyi bilinen çözücüler, su ve değişen konsantrasyonlardaki etanol, metanoldür (12). Farklı çözücüler, farklı bileşenleri

ekstrakte edeceği için propolisin aktivitesi de bu bileşenlere bağı olarak değişiklik gösterecektir (12).

Propolisin içerisindeki bileşenlerin çoğu lipofilik yapılıdır. Bu bileşikleri etanol kullanarak ekstrakte etmek daha kolay olduğu için yaygın olarak etanollü ekstraktlar kullanılmaktadır fakat alkollü ekstraktların sağlık açısından zararlı olması özellikle (çocuklar ve hamileler) ve sınırlı dozda kullanılmasından dolayı bu tüketimi azaltmak için farklı ekstraksiyon yöntemlerine başvurulmuştur. Bunun sonucu olarak gıda olarak kullanılan bitkisel yağların, propolis çözünürlüğü için alternatif bir çözücü olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (13, 84).

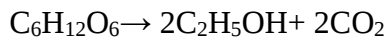
2.2. Sirke

Kullanımı yaklaşık 10.000 yıl öncesine dayanan sirke, birçok uygarlık tarafından farklı amaçlar için kullanılmıştır. Babiller 6. yüzyıla kadar meyve ve malt gibi çeşitli sirke türlerini üretip, ilaç olarak kullanırken, Çin’de enfeksiyonları önlemek için ayrıca Amerika’da yüksek ateş, karın ağrısı, ödem gibi hafif şiddetli hastalıkların tedavisinde sirkeyi kullanmışlardır (85, 86).

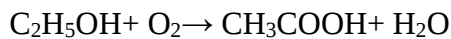
Günümüzde ise sirke, sadece salatalarda ve yemeklerde değil aynı zamanda mayonez, salça, salamura ve turşu gibi gıda maddelerinin yapımında da kullanılmaktadır (85).

Sirke, fermente olabilen şekerlerin başlangıçta etanole dönüşmesi ve daha sonra oluşan etanolün asetik asit bakterileri tarafından asetik asite yükseltgenmesidir (87, 88). Sirke oluşum reaksiyonlar aşağıda gösterilmiştir (14).

Sirke eldesi:



İkinci aşamada üretilen bu alkol *Acetobacter* ve *Gluconobacter* gibi sirke (asetik asit) bakterileri tarafından aerobik şartlarda asetik aside okside edilmektedir.



Sirke üretimi için genellikle malt, arpa, buğday, elma, üzüm, dut, yaban mersini, bal, erik, armut, nar gibi bitki, meyve ve hayvansal kaynaklı ürünler kullanılmaktadır (89). Sirke kimyasal bileşiminde alkoller, organik asitler, amino asitler, fenolik bileşikler bulunmaktadır (15).

Yapılan çalışmalarda sirkenin antioksidatif, antimikrobiyal, antiyabetik ve antitümör gibi biyolojik etkileri olduğu belirtilmiştir ayrıca kan glukoz ve insülin seviyesini azaltıcı, kan basıncını düzenleyici, kardiyovasküler hastalıkları ve karaciğer yağlanmasını önleyici etkileri bulunmaktadır (85, 90-92).

2.2.1. Üzüm Meyvesi

Üzümde bulunan resveratrol sayesinde koroner kalp hastalıkları riskini azaltarak kanser hücre oluşumunu engelleyen güçlü bir antioksidandır. Özellikle üzüm çekirdeği ekstrelerinin ticari olarak satışına yönelik olarak üzüm meyvesine olan talep her geçen gün artmaktadır (93).

2.2.2. Elma Meyvesi

Elmada bulunan antosiyanin, kateşin, kuersetin ve klorojenik asit gibi önemli antioksidanlar bakımından oldukça zengindir. Elma en çok tüketilen meyvelerden olup, kanser, kalp, lipid oksidasyonu, bağışıklık sistemi hasarı, astım ve diyabet gibi hastalıkların riskini azaltan önemli bileşenleri içermektedir (94).

2.2.3. Nar Meyvesi

Narda bulunan elajitanenler, punikalagin, antosiyaninler, kateşinler gibi önemli antioksidanlar bakımından oldukça zengindir. Yapılan çalışmalarda kanser dahil olmak üzere oksidatif ve inflamatuvar bozukluklara karşı geniş koruyucu etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (95).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırma Özellikleri

Çalışmaya 02.10.2018 tarihinde başlandı ve 31.08.2019 tarihinde bitirildi. Araştırmanın bütün basamakları Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında deneysel olarak yapıldı ve kullanılan sirkeler dışında araştırmada kullanılan tüm cihaz ve malzemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarından temin edildi.

3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Laboratuvar Aletleri

Çalışmada kullanılan cihaz ve aletler Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Çalışmada kullanılan cihazlar ve laboratuvar aletlerinin üretici firmaları.

Kullanılan Cihazlar	Üretici Firma
Buzdolabı (+4 °C)	Profilo BD4305ANFE
Çalkalayıcı	Nüve, SL 350
Etüv	Gallenkamp
İnkübatör	Shel Lab Shaking Incubator, Heraeus
Hassas Terazı	Mettler Toledo, AB204-S
Karıştırıcı	Ika Vortex Genius 3
Mikropleyt Okuyucu	Molecular Devices Versamax
Manyetik Karıştırıcı	Ikamag RH
Otomatik Pipet 0.5-10 µL	Eppendorf
Otomatik Pipet 100-1000 µL	Socorex
Otomatik Pipet 10-100 µL	Socorex
Otomatik Pipet 1-5 mL	Eppendorf
Otomatik Pipet 20-200 µL	Eppendorf
Soğutmalı santrifüj	Beckman Coulter Allega 64R
Santrifüj	Eppendorf 5810
pH metre	Hanna Instruments HI 2211
Saf su cihazı	GFL 2004

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, üretici firma ve ürün kodları

Kimyasal Maddeler	Üretici firma ve ürün kodu
Potasyum hekzasiyanoferrat (III)	Lancaster, 13746-66-2
Sodyum karbonat	Lancaster, 13098
Demir (III) klorür	Sigma, F7134
Gallik asit	Sigma, G7384
Folin& Ciocalteu’s fenol reaktifi, 2N	Sigma- Aldrich, F9252
Kuersetin dihidrat	Fluka, 83370
Aluminyum nitrat nonahidrat	Fluka, 06274
Troloks ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2 -carboxylic acid	Fluka, 56510
Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat	Merck, 1305445
Potasyum asetat	Merck, 32043020
Disodyum hidrojen fosfat dihidrat	Merck, 16290176
Trikloroasetik asit	ABCR, AB119247

3.2. Yöntemler

3.2.1. Propolis Örneğinin ve Sirkelerin Temini

Propolis numuneleri Türkiye’nin çeşitli yörelerinden toplanarak temin edildi. Propolisler kullanılıncaya kadar -20°C’de muhafaza edildi.

Sirke olarak piyasada satılan üzüm (Kemal Kükrer, Eskişehir), elma (Kemal Kükrer, Eskişehir), nar (Yedier, Niğde) ve beyaz sirke (Tarpak, İzmir) örnekleri Trabzon ilinde bulunan bir aktardan temin edildi.

3.2.2. Propolis Ekstraktlarının Hazırlanması

Derin dondurucuda -20°C’de dondurulan doğal propolis rendelenerek küçük parçalar haline ayrıldı. Sirke örnekleri filtrasyon işleminden geçirildi. Rendelenen propolis blendırda toz haline getirildi ve toz haline getirilen propolis hassas terazide 2’şer g tartılıp 50 mL’lik yedi ayrı falkon tüpüne aktarıldı. Her bir falkon tüpe 40’ar mL organik üzüm, elma, nar, ticari üzüm, elma, nar ve beyaz sirke ayrıca %5’lik asetik asit (ticari sirkelerde genellikle %5 asetik asit içeriği bulunduğu) ilave edilerek sekiz ayrı çözücü ile muamele edilen propolis örnekleri vortekslendi ve ardından çözünmesi için çalkalayıcı inkübatöre konularak 60°C’de 150 rpm’de 24 saat boyunca sürekli çalkalanarak inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra propolis ekstraktları 3000 rpm’de 10 dakika soğutmalı santrifüjde santrifüjlendi ve süzgeç kağıdında süzildükten sonra ekstraktlar kullanılmaya hazır hale getirildi. Böylece 50 mg/mL’lik organik üzüm, elma, nar, ticari üzüm, elma, nar ve beyaz sirke ayrıca %5’lik asetik asitli stok propolis ekstraktları hazırlanmış oldu ve gerekli denemelerde kullanılmak üzere buzdolabında +4°C’de karanlıkta saklandı.

3.2.3. Sirke Örneklerinin Hazırlanması

3.2.3.1. Elma Sirkesinin Hazırlanması

- 1.5 kg elma
- 2 yemek kaşığı bal
- 3 litre su
- 1 çay bardağı nohut
- ½ çay bardağı bulgur

Elmalar bol suda yıkandı ve dilimler halinde cam kavanoza aktarıldı, bal, nohut ve bulgur eklenerek kavanoz yüzeyine kadar su ile dolduruldu. Kavanozun ağzı temiz bir tülbentle kapatılarak 20 gün boyunca hergün birer kez karıştırılarak serin ve güneş almayan bir ortamda muhafaza edildi. 20 günün sonunda bir buçuk ay kendi haline bırakıldı ve yüzeyde oluşan sirke anası ayrı bir kaba aktarıldı. Oluşan sirke, meyvelerden ve diğer eklenen maddelerden temiz bir tülbent yardımıyla süzülerek ayrıldı (96).

3.2.3.2. Üzüm Sirkesinin Hazırlanması

- 1.5 kg üzüm
- 2.5 litre su
- ½ çay bardağı nohut
- 2 yemek kaşığı bal
- 1 yemek kaşığı tuz

Üzümler bol suda yıkandı ve tanelenip cam kavanoza aktarıldı, kavanoz su ile dolduruldu. Kavanozun ağzı kapatılarak serin ve ıstık almayan ortamda 20 gün boyunca bekletildi. 20 gün sonunda nohut, bal ve tuz eklenerek kavanozun ağzı tülbetle kapatıldı ve yaklaşık bir buçuk ay sonunda kavanoz da oluşan sirke anası ayrı bir kaba aktarıldı. Oluşan sirke, meyvelerden ve diğerk eklenen maddelerden tülbent yardımıyla süzöldü (96).

3.2.3.3. Nar Sirkesinin Hazırlanışı

- 1.5 kg nar
- 2.5 litre su
- 2 yemek kaşığı bal
- ½ çay bardağı nohut
- 1 yemek kaşığı tuz

Narlar bol suda yıkandı ve tanelenip cam kavanoza aktarıldı, kavanoz su ile dolduruldu. Kavanozun ağzı kapatılarak serin ve ıstık almayan ortamda 20 gün boyunca bekletildi. 20 gün sonunda bal, nohut ve tuz eklenerek kavanozun ağzı tülbentle kapatıldı ve yaklaşık bir buçuk ay sonunda kavanoz yüzeyinde oluşan sirke anası ayrı bir kaba aktarıldı. Oluşan sirke, meyvelerden ve diğerk eklenen maddelerden tülbent yardımıyla süzöldü (96). Hazırlanan organik sirke örnekleri Resim 2’de gösterilmiştir.



Resim 2. Hazırlanan organik sirke çeşitleri

3.2.4. Ekstraktlarda Toplam Polifenol İçerik Tayini

Ekstraktların toplam polifenol içeriği, modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlendi. Metod, fosfotungstik asitin ($H_3P[W_3O_{10}]_4$) bazik çözeltide fosfotungstik mavisine indirgenmesi esasına dayanır. Oluşan fosfotungstik mavisinin absorbansı, aromatik fenolik gupların sayısı ile orantılıdır ve toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi amacıyla standart olarak gallik asit kullanılır (97).

Kullanılan zeltilerin Hazırlanışı

- **%20’lik Na_2CO_3 zeltisinin Hazırlanışı:** 10 g Na_2CO_3 tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 50 mL’ye tamamlandı.
- **1:10 Folin-Ciocalteu Reaktifi:** 1 mL 2 N Folin-Ciocalteu reaktifi, 9 mL saf su eklenerek 1:10 oranında seyreltildi. Tayin ncesi hazırlandı ve taze olarak kullanıldı.
- **Standartlar:** 0.01 g gallik asit 1 mL saf su ile zlerek 10 000 $\mu g/mL$ ’lik gallik asit standardı elde edildi. Bundan 1000 $\mu g/mL$ ’lik standart saf su ile çözülmüş 500, 250, 125, 67.5, 33.7, 16.8, 8.4, 4.2, 2.1 $\mu g/mL$ ’lik gallik asit standartları meydana getirildi.

Deneyin Yapılışı

Ekstraktlar ve krleri 1:25 oranında saf su ile seyreltildi.

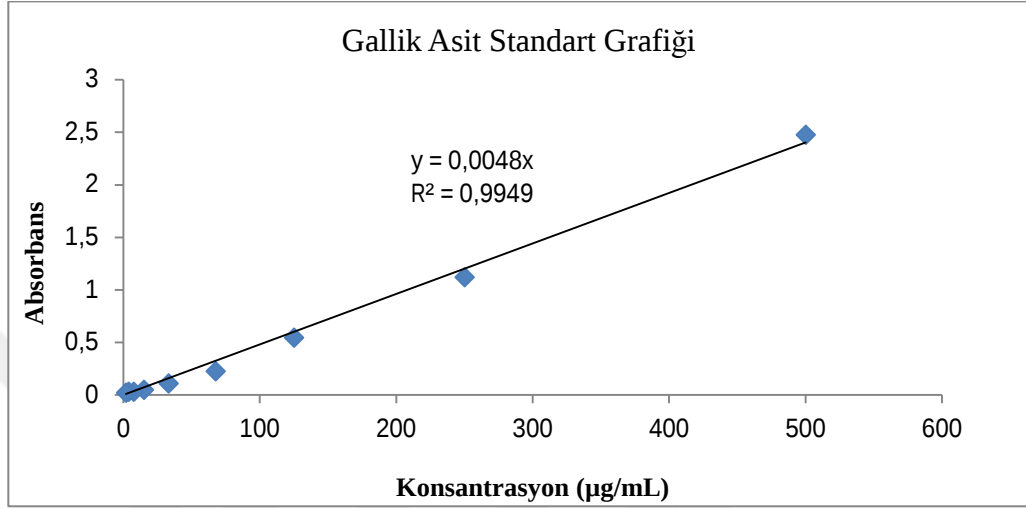
Tablo 7’deki pipetlemeler 96 kuyucuklu mikroyette yapıldı

Tablo 7. Propolisisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi

Reaktifler	Kr(μL)	Numune(μL)	Standart(μL)
TS/TES/TNS/OS/OES/ONS/ BS/%5’lik AA	24	-	-
Ekstrakt	-	24	-
Standart	-	-	24
1:10 Folin-Ciocalteu reaktif	125	125	125
%20’lik Na_2CO_3	24	24	24
Oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika inkübe edildi.			
700 nm’de mikroyet okuyucuda absorbans ölçüldü.			

* TNS: Ticari nar sirkesi, TS: Ticari zm sirkesi, TES: Ticari elma sirkesi, ONS: Organik nar sirkesi, OS: Organik zm sirkesi, OES: Organik elma sirkesi, BS: Beyaz sirke, AA: Asetik asit

Sonuçlar gallik asit standart gafiğinden yararlanılarak µg/mL olarak hesaplandı. mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı (n=3).



Şekil 6. Toplam polifenol içerik tayini için gallik asit standart gafiği

Net absorbans = Ortalama absorbans – K r absorbansı

Toplam polifenol miktarı (mg GAE/g propolis):

$$\frac{\text{Net absorbans}}{\text{Standart gafiğindeki x'in katsayısı}} \times \frac{\text{Dilisyon katsayısı (25)}}{50}$$

Çalışmamızda standart gafiğindeki x'in katsayısı Şekil 6'ya göre 0.0048 olarak bulundu. Denklemden bulunan 50 rakamı 50 mg/mL'lik propolis ekstraktlarından dolaydır.

3.2.5. Ekstraktlarda Toplam Flavonoid İçerik Tayini

Ekstraktların toplam flavonoid içeriği, alüminyum klorür (AlCl₃) kolorimetrik metodu ile belirlenmiştir. Metodun prensibi, AlCl₃' n flavonlar ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil grupları ile asitte kararlı kompleksler oluşturması esasına dayanmaktadır. Buna ek olarak, AlCl₃, flavonoidlerin A- veya B- halkalarının orto-dihidroksil grupları ile kompleks oluşturur (98). Bu metoda göre standart olarak kuersetin kullanılır (99).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

- **%80’lik Etanol Çözeltisinin Hazırlanışı:** 80 mL’lik saf etanolün hacmi saf su ile 100 mL’ye tamamlandı.
- **%10’luk $Al(NO_3)_3$ Çözeltisinin Hazırlanışı:** 2.5 g $Al(NO_3)_3$ tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 25 mL’ye tamamlandı.
- **1 M KCH_3COO Çözeltisinin Hazırlanışı:** 2.454 g KCH_3COO tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 25 mL’ye tamamlandı.
- **Standartların Hazırlanışı:** 0.01 g kuersetin 802 μ L saf etanol ile çözülerek hacmi saf su ile 1000 μ L’ye tamamlandı. 10 000 μ g/mL’lik kuersetin standardı elde edildi. Hazırlanan 10 000 μ g/mL’lik kuersetin standardından, 1000 μ g/mL’lik standart hazırlanarak %80’lik etanol ile çözülmüş 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8, 3.9, 1.9, 0.9 μ g/mL’lik kuersetin standartları meydana getirildi.

Deneyin Yapılışı

Ekstraktlar ve körler 1:10 oranında saf su ile seyreltildi.

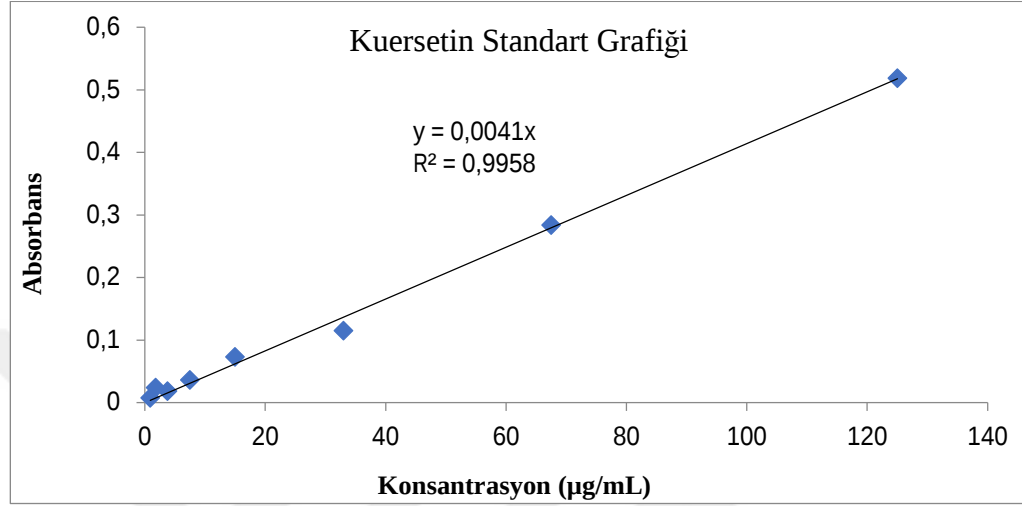
Tablo 8’deki pipetlemeler 96 kuyucuklu mikroyuvarlakta yapıldı.

Tablo 8. Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi

Reaktifler	Kör(μ L)	Numune(μ L)	Standart(μ L)
TÜS/TES/TNS/OÜS/ OES/ONS/BS/%5’lik AA	20	-	-
Ekstrakt	-	20	-
Standart	-	-	20
%80’lik Etanol	172	172	172
%10’luk $Al(NO_3)_3$	4	4	4
1 M KCH_3COO	4	4	4
Oda sıcaklığında, karanlıkta 40 dakika inkübe edildi.			
415 nm’de mikroyuvarlak okuyucuda absorbans ölçüldü			

*TNS: Ticari nar sirkesi, TÜS: Ticari üzüm sirkesi, TES: Ticari elma sirkesi, ONS: Organik nar sirkesi, OÜS: Organik üzüm sirkesi, OES: Organik elma sirkesi, BS: Beyaz sirke, AA: Asetik asit

Sonuçlar kuersetin standart gafiğinden yararlanılarak µg/mL olarak hesaplandı. mg kuersetin eşdeğeri (KE)/g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı (n=3).



Şekil 7. Toplam flavonoid içerik tayini için kuersetin standart gafiği

Net absorbans = Ortalama absorbans – Kör absorbansı

Toplam flavonoid miktarı (mg KE/g propolis):

$$\frac{\text{Net absorbans}}{\text{Standart gafiğindeki x'inkatsayısı}} \times \frac{\text{Dilisyon katsayısı (10)}}{50}$$

Çalışmamızda standart gafiğindeki x'in katsayısı Şekil 7'ye göre 0.0041 olarak bulundu. Denklemden bulunan 50 rakamı 50 mg/mL'lik propolis ekstraktından dolayı yazılmıştır.

3.2.6. Ekstraktlarda Demir (Fe⁺³) İndirgeyici Güç Tayini

Antioksidanlar gibi indirgen maddelerin varlığı Fe⁺³-ferrisiyanür kompleksinin Fe⁺²'ye indirgenmesine neden olmaktadır. Bu metodda, test edilen örneğin indirgenme gücüne bağlı olarak test çözeltisinin rengi sarıdan yeşile döner. Oluşan yeşil renk 700 nm'de maksimum absorbans verir ve artan absorbans artan indirgenme kuvvetini gösterir (100). Bu metoda göre standart antioksidan bileşik olarak troloks kullanılır (101).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

- **0.2 M pH: 6.6 Fosfat Tamponu Hazırlanışı:** 2.137 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1.121 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak karıştırıldı. Saf su eklenerek 90 mL'ye kadar çözüldü. Daha sonra pH: 6.6'ya ayarlanarak hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **%1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Çözeltisinin Hazırlanışı:** 1 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 100 mL'ye tamamlandı.
- **%10'luk TCA Çözeltisinin Hazırlanışı:** 5 g TCA tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 50 mL'ye tamamlandı.
- **%0.1'lik FeCl_3 Çözeltisinin Hazırlanışı:** 0.1 g FeCl_3 tartıldı, saf su ile çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.
- **Standartların Hazırlanışı:** 0.001 g troloks 1 mL saf etanol ile çözülerek 1000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik troloks standardı elde edildi. Hazırlanan 1000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik standarttan saf etanol ile çözülmüş 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8, 3.9, 1.9 ve 0.9 $\mu\text{g/mL}$ 'lik troloks standartları hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Ekstraktlar ve körler 1:50 oranda saf su ile seyreltildi.

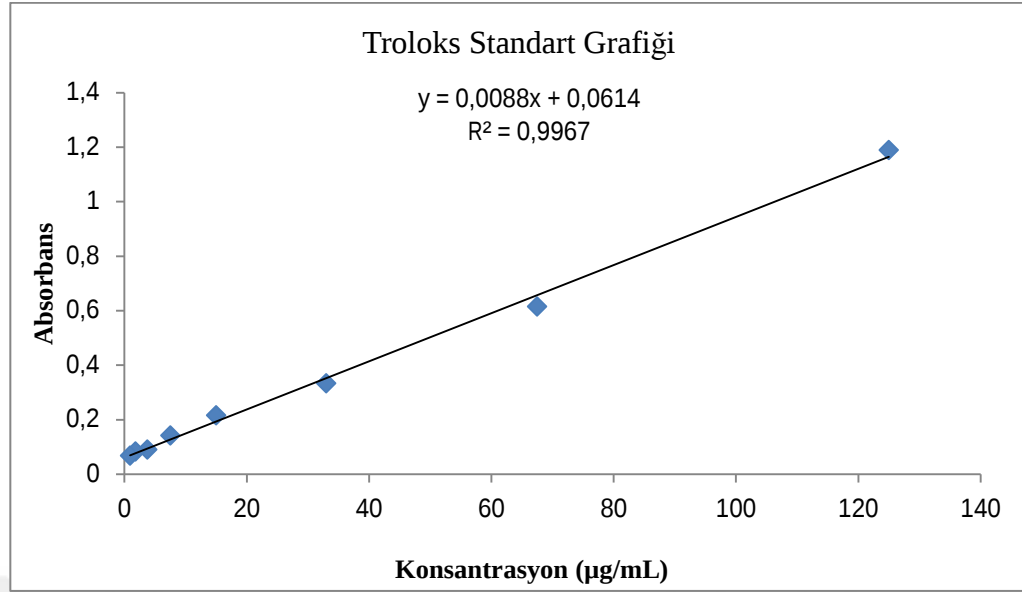
Deney modifiye edilerek spektrofotometrik küvetler yerine Tablo 9'da ki pipetlemelerin ilk altı aşaması 1.5 mL'lik ependorflarda, sonraki aşamalar ise 96 kuyucuklu mikropleytlerde yapıldı.

Tablo 9. Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücün belirlenmesi

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

* TNS: Ticari nar sirkesi, TÜS: Ticari üzüm sirkesi, TES: Ticari elma sirkesi, ONS: Organik nar sirkesi, OÜS: Organik üzüm sirkesi, OES: Organik elma sirkesi, BS: Beyaz sirke, AA: Asetik asit

Sonuçlar troloks standart gafiğinden yararlanılarak $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı. mg troloks eşdeğeri (TE)/g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı ($n=3$).



Şekil 8. Demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troluks standart gafiği

Net absorbans = Ortalama absorbans – Kör absorbansı

Ekstraktlardaki Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç (mg TE/g propolis):

$$\frac{\text{Net absorbans}}{\text{Standart gafiğindeki x'in katsayısı}} \times \frac{\text{Dilisyon katsayısı (50)}}{50}$$

Çalışmamızda standart gafiğindeki x'in katsayısı Şekil 8'e göre 0.0088 olarak bulundu. Denklemden bulunan 50 rakamı 50 mg/mL'lik propolis ekstraktından dolayıdır.

3.2.7. İstatistiksel Yöntemler

Veriler SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences) bilgisayar paket programına aktararak, istatistiksel olarak değerlendirildi. Normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma uyan ikiden fazla bağımsız grupların değerlendirmesinde One Way ANOVA ve post-hoc Tukey testleri, normal dağılıma uymayan ikiden fazla parametrenin değerlendirilmesinde ise Kruskal-Wallis testi uygulandı ve ikili Mann Whitney-U testine göre değerlendirildi. Elde edilen değerler, aritmetik ortalama±standart sapma ($\bar{x} \pm S.D$) olarak ifade edildi $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

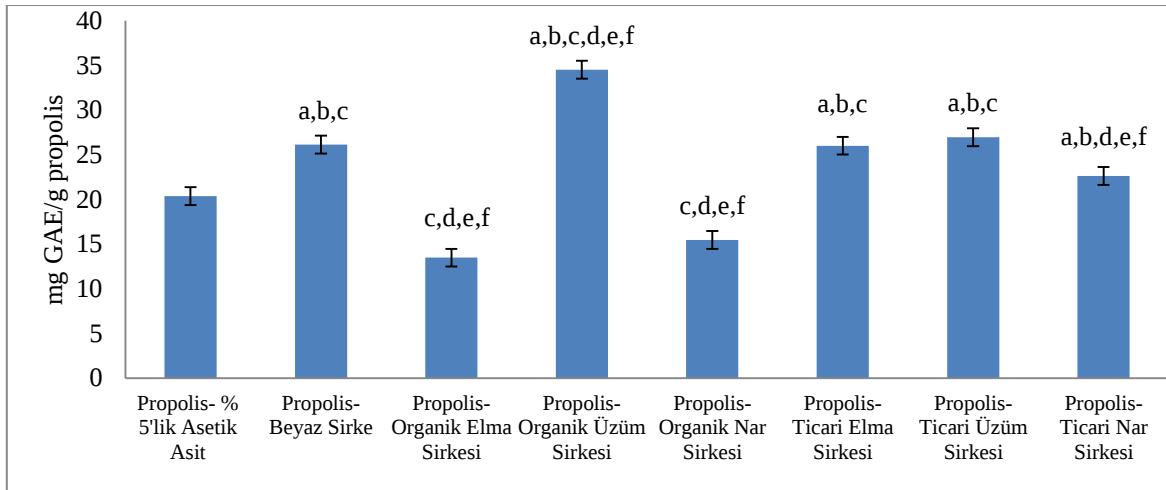
4. BULGULAR

4.1. Ekstraktlardaki Toplam Polifenol İçerik Tayini Sonuçları

Propolisin sirkeli ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik sonuçları Şekil 9’da verilmiştir.

Propolisin çeşitli sirkelerden elde edilen ekstraktlarının toplam polifenol içerik değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak değerlendirilmesi için ilk olarak Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılıma uyduğu yani parametrik olduğu tespit edildi ardından One Way ANOVA testi uygulandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). İstatistiksel olarak birbiri arasında ikili karşılaştırılmasında post-hoc Tukey testi uygulandı. İstatistiksel olarak elde edilen verilerin sonuçları Tablo 10’da gösterilmiştir

Propolisin organik üzüm sirkesiyle hazırlanan ekstraktındaki toplam polifenol içeriği (34.51 ± 0.58 mg GAE/g propolis), organik nar sirkeli (15.47 ± 0.75 mg GAE/g propolis), organik elma sirkeli (13.47 ± 0.35 mg GAE/g propolis), ticari nar sirkeli (22.61 ± 0.08 mg GAE/g propolis), ticari üzüm sirkeli (26.96 ± 1.41 mg GAE /g propolis), ticari elma sirkeli (26 ± 0.74 mg GAE/g propolis), beyaz sirkeli (26.12 ± 0.76 mg GAE/g propolis) ve %5’lik asetik asitli (20.35 ± 1.4 mg GAE/g propolis) ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriğinden daha fazla bulundu.



Şekil 9. Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik (Ortalama $\pm$ SD mg GAE/g propolis) miktarları

a:propolis-organik elma sirkesi, b:propolis-organik nar sirkesi, c:propolis-ticari nar sirkesi, d:propolis-ticari elma sirkesi, e:propolis-beyaz sirke, f:propolis-ticari üzüm sirkesi ($p<0.05$)

Tablo 10. Toplam polifenol içeriğinin ikili karşılaştırılmalarındaki istatistiksel değerler

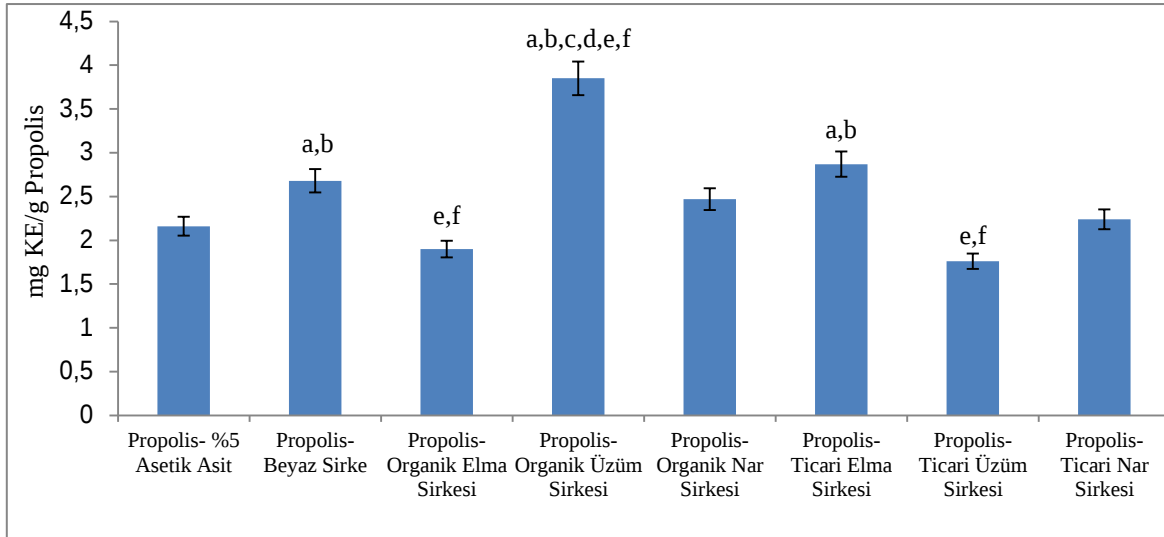
	Propolis- %5'lik Asetik Asit	Propolis- Beyaz Sirkesi	Propolis- Organik Elma Sirkesi	Propolis- Ticari Elma Sirkesi	Propolis- Organik Üzüm Sirkesi	Propolis- Organik Nar Sirkesi	Propolis- Ticari Üzüm Sirkesi	Propolis- Ticari Nar Sirkesi
Propolis- %5'lik Asetik Asit	X							
Propolis- Beyaz Sirkesi	(<0.001)	x						
Propolis- Organik Elma Sirkesi	(<0.001)	(<0.001)	x					
Propolis- Ticari Elma Sirkesi	(<0.001)	(1,000)	(<0.001)	x				
Propolis- Organik Üzüm Sirkesi	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	x			
Propolis- Organik Nar Sirkesi	(<0.001)	(<0.001)	(0.162)	(<0.001)	(<0.001)	x		
Propolis- Ticari Üzüm Sirkesi	(<0.001)	(0.924)	(<0.001)	(0.869)	(<0.001)	(<0.001)	x	
Propolis- Ticari Nar Sirkesi	(0.085)	(0.003)	(<0.001)	(0.004)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	x

4.2. Ekstraktlardaki Toplam Flavonoid İçerik Tayini Sonuçları

Propolisin sirkeli ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik sonuçları Şekil 10'da verilmiştir.

Propolisin çeşitli sirkelerden elde edilen ekstraktlarının toplam flavonoid içerik değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak değerlendirilmesi için öncelikle Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı ve değerlerin normal dağılıma uyduğu yani parametrik olduğu tespit edildi ardından One Way ANOVA testi uygulandı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). İstatistiksel olarak birbiri arasında ikili karşılaştırılmasında post-hoc Tukey testi uygulandı. İstatistiksel olarak elde edilen verilerin sonuçları Tablo 11'de gösterilmiştir.

Propolisin organik üzüm sirkesiyle hazırlanan ekstraktındaki toplam flavonoid içeriği (3.8 ± 0.31 mg KE/g propolis) organik nar sirkeli (2.47 ± 0.49 mg KE/g propolis), organik elma sirkeli (1.9 ± 0.17 mg KE/g propolis), ticari nar sirkeli (2.24 ± 0.21 mg KE/g propolis), ticari üzüm sirkeli (1.76 ± 0.25 mg KE/g propolis), ticari elma sirkeli (2.87 ± 0.17 mg KE/g propolis), beyaz sirkeli (2.68 ± 0.2 mg KE/g propolis) ve %5'lik asetik asit (2.16 ± 0.11 mg KE/g propolis) ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriğinden daha fazla bulundu.



Şekil 10. Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik (Ortalama $\pm$ SD mg KE/g propolis miktarları)

a:propolis-ticari üzüm sirkesi, b:propolis-organik elma sirkesi, c:propolis-ticari nar sirkesi, d:propolis-organik nar sirkesi, e:propolis-beyaz sirkesi, f:propolis-ticari elma sirkesi ($p<0.05$)

Tablo 11. Toplam flavonoid içeriğinin ikili karşılaştırılmalarındaki istatistiksel değerler

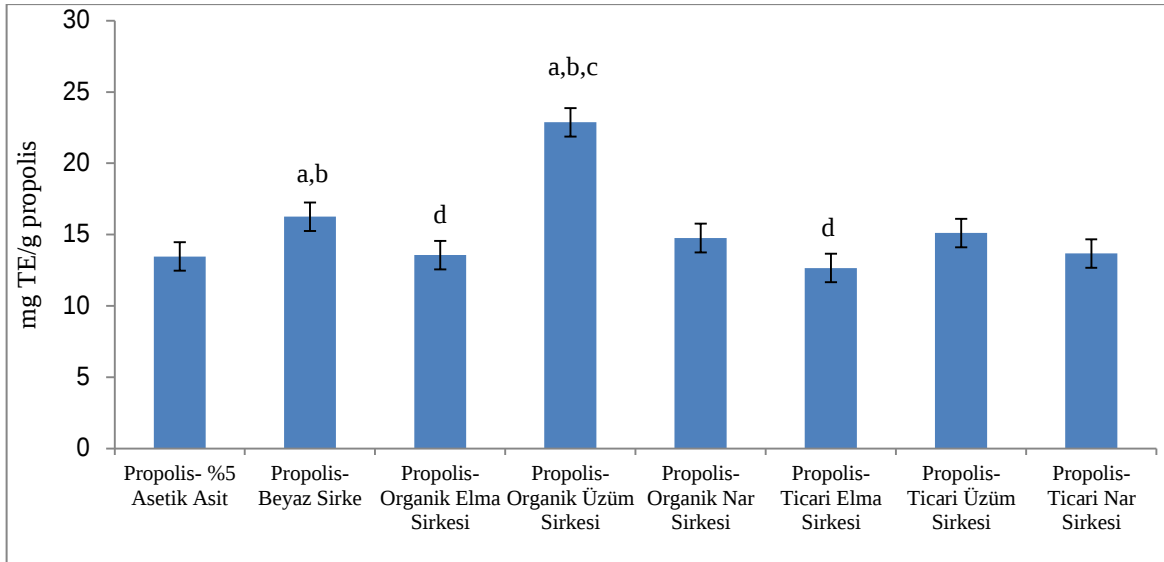
	Propolis- %5'lik Asetik Asit	Propolis- Beyaz Sirke	Propolis- Organik Elma Sirkesi	Propolis- Ticari Elma Sirkesi	Propolis- Organik Üzüm Sirkesi	Propolis- Organik Nar Sirkesi	Propolis- Ticari Üzüm Sirkesi	Propolis- Ticari Nar Sirkesi
Propolis- %5'lik Asetik Asit	X							
Propolis- Beyaz Sirke	(0.251)	x						
Propolis- Organik Elma Sirkesi	(0.907)	(0.028)	x					
Propolis- Ticari Elma Sirkesi	(0.049)	(0.976)	(0.004)	x				
Propolis- Organik Üzüm Sirkesi	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(0.004)	x			
Propolis- Organik Nar Sirkesi	(0.776)	(0.969)	(0.168)	(0.550)	(<0.001)	x		
Propolis- Ticari Üzüm Sirkesi	(0.890)	(0.025)	(1.000)	(0.004)	(<0.001)	(0.155)	x	
Propolis- Ticari Nar Sirkesi	(1.000)	(0.451)	(0.707)	(0.106)	(<0.001)	(0.944)	(0.680)	x

4.3. Ekstraktlardaki Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları

Propolisin sirkeli ekstraktlarındaki demir indirgeyici güç sonuçları Şekil 11’de verilmiştir.

Propolisin çeşitli sirkelerden elde edilen ekstraktlarının demir indirgeyici güç değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak değerlendirilmesi için öncelikle Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı ve değerlerin normal dağılıma uymadığı yani parametrik olmadığı tespit edildi ardından ise Kruskal-Wallis testi uygulandı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.014$). İstatistiksel olarak birbiri arasında ikili karşılaştırılmasında Mann Whitney-U testi uygulandı. İstatistiksel olarak elde edilen verilerin sonuçları Tablo 12’de gösterilmiştir.

Propolisin organik üzüm sirkesiyle hazırlanan ekstraktındaki demir indirgeyici gücü (22.88 ± 1.33 mg TE/g propolis) organik nar sirkeli (14.76 ± 0.62 mg TE/g propolis), organik elma sirkeli (13.56 ± 1.24 mg TE/g propolis), ticari nar sirkeli (13.68 ± 1.07 mg TE/g propolis), ticari üzüm sirkeli (15.11 ± 0.36 mg TE/g propolis), ticari elma sirkeli (12.66 ± 1.44 mg TE/g propolis), beyaz sirkeli (16.26 ± 1.05 mg TE/g propolis) ve %5’lik asetik asit (13.47 ± 0.46 mg TE/g propolis) ekstraktlarındaki demir indirgeyici gücünden daha fazla bulundu.



Şekil 11. Propolisin çeşitli sirke ekstraktlarındaki demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç (Ortalama $\pm$ SD mg TE/g propolis) miktarları

a:propolis-ticari elma sirkesi, b:propolis-organik elma sirkesi, c:propolis-ticari nar sirkesi, d:propolis-beyaz sirke ($p<0.05$)

Tablo 12. Demir (Fe⁺³) indirgeyici gücün ikili karşılaştırılmalarındaki istatistiksel değerler

	Propolis- %5'lik Asetik Asit	Propolis- %5'lik Asetik Asit	Propolis- Beyaz Sirke	Propolis- Organik Elma Sirkesi	Propolis- Ticari Elma Sirkesi	Propolis- Organik Üzüm Sirkesi	Propolis- Organik Nar Sirkesi	Propolis- Ticari Üzüm Sirkesi	Propolis- Ticari Nar Sirkesi
Propolis- %5'lik Asetik Asit	X								
Propolis- Beyaz Sirke	(0.035)		x						
Propolis- Organik Elma Sirkesi	(0.977)		(0.033)	x					
Propolis- Ticari Elma Sirkesi	(0.751)		(0.015)	(0.773)	x				
Propolis- Organik Üzüm Sirkesi	(0.006)		(0.525)	(0.006)	(0.002)	x			
Propolis- Organik Nar Sirkesi	(0.260)		(0.326)	(0.248)	(0.149)	(0.106)	x		
Propolis- Ticari Üzüm Sirkesi	(0.133)		(0.544)	(0.126)	(0.069)	(0.214)	(0.707)	x	
Propolis- Ticari Nar Sirkesi	(0.795)		(0.065)	(0.773)	(0.564)	(0.013)	(0.386)	(0.214)	x

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Propolis bal arıları tarafından ağaç ve bitkilerin salgılarından toplanarak oluşturulan, kimyasal yapısı toplanılan bölgenin karakteristik çevresel faktörelere bağlı olarak çeşitlilik gösteren, reçinemsî bir arı ürünüdür (1). Propolis ilk kez Yunanlılar tarafından antibiyotik olarak kullanılırken, Mısırlılar propolisin antiseptik özelliğinden dolayı, ölümlerini mumyalayarak uzun süre bozulmadan muhafaza etmiş, İnkalar ise ateş düşürücü olarak kullanmışlardır. Yüzyıllardır propolisin halk arasında popülerliği devam etmekte olup, birçok sağlık sorununun tedavisinde kullanılmıştır. Günümüzde ise takviye edici bir doğal ürün olarak piyasada kapsül, tablet, ağız gargarası vemerhem gibi çeşitli formlar halinde yaygın olarak bulunmaktadır (17, 18, 24).

Uzmanlar tarafından yapılan analizler sonucunda, farklı coğrafyalardan toplanan propolis örneklerinin kimyasal yapısını, toplanılan bölgenin bitki örtüsü, iklim, arı ırkı, rakım gibi parametrelere bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir. Özellikle toplanılan bölgenin bitki çeşitliliğine bağlı olarak fenolik aldehitler, polifenoller, terpenler, steroidler, mumlar ve amino asitleri kapsayan 300'den fazla farklı kimyasal bileşen içerdiği tespit edilmiştir (20, 32).

Propolisin başlıca biyolojik aktivitesinden sorumlu yapılar, flavonoidler ve fenolik bileşiklerdir. Flavonoidler ayrıca antioksidan aktiviteden sorumlu yapılar olmakla birlikte bu bileşenlerin gösterdiği antioksidan aktivite radikal temizleme kapasitesine dayanmaktadır (6).

Propolisin sağlık açısından faydalı özellikleri, eski çağlardan beri kabul görmüş ve her geçen yıl propolisin önemini arttırmaya devam etmiştir. Antiviral, antibakteriyel, anti-inflamatuar, antifungal, antikanser ve antioksidan gibi çeşitli biyolojik aktivitelerini içeren geniş bir kullanım alanına sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (2,19).

Günümüzde hastalıkların artması ve vücudun ilaçlara karşı direnç kazanmasıyla, toplum doğal ve dengeli beslenme konusunda kendini bilinçlendirmektedir. Bu sebeple insan sağlığı üzerinde birçok yararlı etkisi bulunan doğal besinlere verilen önem gittikçe artmaktadır. Son zamanlarda propolis hastalıkları iyileştirici, önleyici ayrıca bazı ilaçlarla birlikte kullanımında ilaçların etkilerini arttırıcı özellikleri olması sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır. (18, 67).

Propolis yapısının toplanılan bölgeye göre çeşitlilik göstermesinden dolayı sabit bir formülünün olmayışı, standardizasyonunda ve medikal uygulamalarında problem oluşturmakla birlikte yapılacak olan yeni çalışmalara da ilham vermektedir (12, 18).

Miquel ve ark. (23) yaptıkları bir çalışmada propolisin üç tip çözücünde (hidroalkolik, metanolik ve sulu) hidro alkolik ekstraktlarda; flavanonlar, dihidroflavonollar, flavonollar, ve toplam fenollerin daha yüksek miktarda olduğu metanolik ekstraktlarda; flavonlar ve flavonolların ve ayrıca sulu ekstraktlarının; fenolik bileşikler ektrakte etmek için metanol ve su- etanol ekstraktlarından daha az etkili olduğu yapılan çalışmada belirtilmiştir. Hidroalkolik ekstraktlar dihidroflavonollar, flavanonlar ve toplam fenollerin anlamlı olarak daha yüksek miktarlarda olduğu gösterilmiştir. Sadece flavonlar ve flavonolların içeriği metanolik ekstraktlarda daha fazla olduğu belirtilmiştir.

Kolankaya ve ark. (8) yaptıkları çalışmada Türk propolisinin %95'lik etanolü ekstraktını hazırlayarak GC-MS ile yaptıkları analiz sonucunda flavanoid içeriğinin % 31.8'lik flavonoid kısmının galangin, kaempferol, kuersetin, apigenin, pinobanksin, pinosembirin, pinostrobin ve % 2.69'luk kısmın diğer flavonoidler olduğunu belirtmiştir.

Propolis ham halde kullanılamaz. Bundan dolayı çeşitli çözücülerde ektrakte edildikten sonra kullanılmalıdır (102). Farklı çözücüler farklı biyoaktif bileşenleri ektrakte edeceği için kullanılan metodlar, propolis aktivitesini doğrudan etkilemektedir. Biyolojik ölçümler için kullanılan çözücüler daha çok farklı konsantrasyonlarda bulunan metanol, etanol ve sudur (12).

Propolis suda ve hidrokarbon çözücülerde çok az oranda çözünmektedir. Eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde ise kısmen çözündüğü genellikle alkolde (etanol, metanol) çözünmekte olup ayrıca %95'lik alkolde iyi oranda çözündüğü belirtilmiştir (60).

Çakıroğlu (35) çalışmasında çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünü incelemiş ve sonuç olarak propolisin su, etanol, DMSO, gliserol ve aseton olarak belirlenen beş çözücü ile ektrakte edilmesinden sonra toplam polifenol ve flavonoid içerik ve antioksidan yöntemlerinde en iyi DMSO'da, daha sonra sırasıyla etanol, aseton ve gliserolde, en az oranda ise suda çözündüğü sonucuna varmış ve yapılan HPLC analizleriyle de bu sonuçları desteklemiştir. Yine aynı çalışmada liyofilize edilerek hazırlanan ekstraktlar kullanılmış ve normal ekstraktlarla arasında miktar bakımından çok fazla farklılık gözlenmediğini, liyofilize edilerek hazırlanan ekstraktlarda da en iyi

çözünmenin DMSO’da, daha sonra etanolde ve son olarak da suda gerçekleştiği belirlenmiştir. Dolayısıyla propolisi bu üç çözücünde normal şekilde çözmek ile liyofilize ettikten sonra çözmek arasında çok büyük fark olmadığı sonucuna varmıştır.

Propolisin alkollü ekstraktı şeker hastaları, karaciğer rahatsızlığı olan kişilerde, canlılarda özellikle (hamileler, çocuklar) alkol kullanımının zararlı olması ve sınırlı dozda kullanılmasından dolayı tercih edilmemesinden kaynaklı yeni ekstrakt metodları arayışına girilmiştir ve bunun sonucunda, insan sağlığı için zararlı olmayan su ve gliserol gibi çözücülerde yapılan ekstraksiyon işleminin daha sağlıklı olabileceği sonucuna varılmıştır. Su ile ekstrakte edilen propolis örneği canlılar için zararlı olmaması, diğer çözücülerin saf halde kullanılmasının sağlığa zararlı olması sebebiyle canlı sistemlerde yürütülen araştırmaların su ile yapılan çözücülerde olmasının daha yararlı olacağı kanaatine varılmıştır (35).

Karakaş (103) yaptığı çalışmada Türk propolisinin çeşitli çözücülerde çözünürlüğünü incelemek için propolisi ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı olarak belirlediği dört çözücünde ekstrakte etmiş ve bu ekstraktların toplam polifenol, flavonoid içerik ve antioksidan aktivitelerine bakmıştır. Propolisin en iyi zeytin yağında, daha sonra sırasıyla mısır yağı ve fındık yağında, en az ise ayçiçek yağında çözündüğünü göstermiştir. Güzel (104) tarafından yapılan bir çalışmada yağ ekstraktlarında bulunan toplam polifenol miktarlarını ölçmüş ve bunun sonucunda en fazla polifenol içeriğinin saf zeytin yağında olduğu, daha sonra sırasıyla sızma zeytin yağı, riviera zeytin yağı, mısır yağı, ayçiçek yağı, fındık yağı, pamuk yağı ve en az oranda soya yağında olduğunu belirtmiştir.

Çeşitli sirke çeşitlerinde hazırlanan propolis ekstraktlarının sulu ekstraktından daha iyi sonuç vermesi halinde günlük (salata, sos) kullanımına kolaylık sağlayan fonksiyonel bir gıda takviyesi olarak güvenli bir şekilde kullanımını sağlayabiliriz.

Sirke fermente olabilen şekerlerin öncelikle etanole, daha sonra oluşan etanolün asetik asit bakterileri tarafından asetik asite yükseltgenmesidir (85). Sirke, yüzyıllardır halk arasında sağlığa yararlı olması sebebiyle yaygın olarak kullanılmıştır. Yapılan araştırmalarda, sirkenin yapısında bulunan biyoaktif bileşenler yardımıyla antioksidatif, antimikrobiyal, antitümör gibi önemli biyolojik etkilerinin olduğu belirtilmiştir (85-87).

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin organik üzüm, elma, nar ve ticari üzüm, elma, nar ayrıca beyaz sirkeyle hazırlanan ekstraktlarında toplam polifenol, flavonoid ve demir indirgeyici güç tayinleri yapıldı. Yapılan çalışmada propolisin üzüm sirkeli ekstraktındaki toplam polifenol, flavonoid içeriği ve demir indirgeyici gücün propolisin organik elma, nar ve ticari üzüm, elma, nar ayrıca beyaz sirkeli ekstraktındaki toplam polifenol, flavonoid içerik ve demir indirgeyici gücünden daha yüksek bulunmuştur. Propolisin çeşitli sirkelerde hazırlanan ekstraktlarının toplam polifenol, flavonoid ve demir indirgeyici güç içerikleri istatistiksel olarak analiz edildiğinde aralarında anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

Literatürde propolisin çeşitli sirkelerde çözünürlüğünün incelenmesi konusunda herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar direkt olarak bir literatür ile karşılaştırılmadı.

Propolisin organik üzüm ve ticari üzüm, elma, nar ve beyaz sirkeli ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriği Çakıroğlu (35) tarafından yapılan çalışmada kullanılan propolisin sulu ekstraktlarından daha yüksek etanol, DMSO, gliserol ve aseton ile yapılan ekstraktlarından ise daha düşük bulunmuştur. Propolisin organik üzüm, elma, nar ve ticari üzüm, elma, nar ve beyaz sirkeyle yapılan ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriği kıyaslandığında propolisin sulu ekstraktından yüksek bulunmuş fakat etanol, DMSO, gliserol ve asetonla yapılan ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriğinden daha düşük bulunmuştur. Propolisin organik üzüm, elma, nar ve ticari, üzüm, elma, nar ve beyaz sirkeli ekstraktlarının demir indirgeyici güç bakımından kıyaslandığında propolisin su, etanol, DMSO, gliserol ve asetonla hazırlanan ekstraktlarından daha düşük bulunmuştur.

Propolisin organik üzüm, elma, nar ve ticari üzüm, elma, nar ve beyaz sirkeli ekstraktlarındaki toplam polifenol, flavonoid ve demir indirgeyici güç bakımından Karakaş (103) tarafından yapılan çalışmada kullanılan propolisin zeytin yağı, mısır yağı, fındık yağı ve ayçiçek yağı ekstraktlarındaki toplam polifenol, flavonoid ve demir indirgeyici güç bakımından kıyaslandığında daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda kullanılan propolisin çeşitli sirkelerdeki ekstraktlarının toplam polifenol, flavonoid ve demir indirgeyici güç tayin sonuçları Çakıroğlu'nun çalışmasında kullanılan propolisin etanol, aseton, DMSO ve gliserollü ekstraktlarına göre daha düşük bulunmasına rağmen çeşitli sirkede hazırlanan propolis ekstraktının canlılar açısından zararlı olmaması fakat diğer örneklerin saf halde kullanılmasının insan sağlığı açısından

zararlı olması sebebiyle sağlık için propolisin sirkeli ekstraktlarının kullanımının daha doğru olacağı kanaatindeyiz.

Çalışmamızda kullanılan propolisin çeşitli sirkelerdeki ekstraktlarının toplam polifenol, flavonoid içerik ve demir indirgeyici g tayin sonuçları Karakaş'ın çalışmasında kullanılan propolisin zeytin yağlı, mısır yağlı, fındık yağlı ve ayçiçek yağlı ekstraktlarındakinden daha düşük bulunmasına rağmen propolisin yağlı ekstraktlarını spektrofotometrik olarak direkt llemediğimiz için standardizasyonunu zorlaştırmaktadır bundan dolayı propolisin sirkeli ekstraktlarının kullanımını kolaylaştırmaktadır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında propolis organik üzüm, elma, nar ve ticari üzüm, elma, nar ve beyaz sirke olarak belirlenen yedi çözücü ile ekstrakte edildi daha sonra toplam polifenol, flavonoid ve demir indirgeyici güç olarak belirlenen yöntemler sonucunda en iyi antioksidan özelliğin organik üzüm sirkesi çözücüsünde olduğu kanaatine varılmıştır. Daha sonra sırasıyla, beyaz sirke, ticari üzüm sirkesi, ticari elma sirkesi, organik nar sirkesi, ticari nar sirkesi, organik elma sirke çözücüsünde olduğu anlaşılmıştır.

Propolisin organik üzüm sirkesi çözücüsündeki antioksidan özelliği, diğer çeşitli sirkedeki çözücüsünden daha iyi olma sebebi üzüm meyvesi içeriğinde bulunan zengin polifenol ve flavonoid içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Farklı hammaddeler ve bunların yetiştiği evre koşulları (iklim, toprak yapısı) gibi veya değişik üretim yöntemleri kullanılarak üretilmiş olan sirkeler içerikleri bakımından farklılık gösterir bundan dolayı sirkenin kimyasal bileşimi farklıdır ve bu farklılık çözünürlüğü etkilediği düşünülmektedir (105). Ayrıca organik üzüm sirkesi üretim sürecince diğer hammaddelere göre yüksek şeker oranına sahip olması, buna bağlı yüksek miktarda alkol oluşmasına ve bunun sonucunda yüksek miktar asetik asit oluşmasına bunun da propolisin çözünürlüğüne katkı sağladığı düşünülmektedir (106).

6. KAYNAKLAR

1. Zhou J, Xue X, Li Y, Zhang j, Chen F, Wu L, Chen L, Zhao J (2009). Multiresidue determination of tetracycline antibiotics in propolis by using HPLC-UV detection with ultrasonic-assisted extraction and two-step solid phase extraction. *Food Chem* 115(3): 1074-1080.
2. Castaldo S, Capasso F (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73(1): 1–6.
3. Bankova VS, De Castro SL, Marcucci, MC (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3-15.
4. Piette PG, Gardana C, Piette AM (2002). Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia* 73(1): 7-20.
5. Marcucci MC, Ferreres F, Garcia-Viguera C, Bankova VS, De Castro SL, Dantas AP, Valente PH, Paulino N (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol* 74(2): 105-112.
6. Kanbur M, Erarslan G, Silici S (2009). Antioksidan effect of propolis against exposure to propetamphos in rast. *Ecotoxicol Environ Saf* 72(3): 909-915.
7. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez JA (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci* 73(9): 117-124.
8. Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K, Salih B (2002). Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chem* 78(2): 213-217.
9. Liberio SA, Pereira AL, Araujo MJ, Dutra RP, Nascimento FR, Monteiro-Neto V, Ribeiro MN, Goncalves AG, Guerra RN (2009). The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *J Ethnopharmacol* 125(1): 1-9.
10. Chirinos R, Betalleluz-Pallardel I, Huaman A, Arbizu C, Pedreschi R, Campos D (2009). HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chem* 113(4): 1243-1251.
11. Merken HM, Beecher G (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: A review. *J Agric Food Chem* 48(3): 577–599.
12. Sforcin JM (2007). Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol* 113(1): 1-14.

13. Tosi B, Donini C, Romagnoli C, Bruni A (1996). Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother Res* 10(4): 335-336.
14. Kılıçoğlu S, Devrim H, Araz N (1969). *Gand Larousse Encyclopedique*. Meydan Larousse Sirke, 11th ed. Çeviren: Benk A, Meydan Gazetecilik ve Neşriyat, 383-384.
15. Casale M, Saiz Abajo MJ, González Sáiz JM, Pizarro C, Forina M (2006). Study of the aging and oxidation processes of vinegar samples from different origins during storage by near-infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* 557: 360-366.
16. Ahn MR, Kumazawa S, Hamasaka T, Bang KS, Nakayama T (2004). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *J Agric Food Chem* 52(24): 7286-7292.
17. Burdock GA (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 36(4): 347-363.
18. Sforcin JM, Bankova V (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol* 133(2): 253-260.
19. Khurshid Z, Naseem M, Zafar MS, Najeeb S, Zohaib S (2017). Propolis: A natural biomaterial for dental and oral health care. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect* 11(4): 265-274.
20. Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, Tezuka Y, Awale S, Midorikawa K, Matsushige K, Kadota S (2002). Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. *J Ethnopharmacol* 80(1): 67-73.
21. Sulaiman GM, Al Sammarrae KW, Ad'hiah AH, Zucchetti M, Frapolli R, Bello E, Erba E, D'Incalci M, Bagnati R (2011). Chemical characterization of Iraqi propolis samples and assessing their antioxidant potentials. *Food Chem Toxicol* 49(9): 2415-2421.
22. Tekeli A (2007). Etlik civciv rasyonlarında doğal büyüme uyarıcı olarak bitkisel ekstraktların ve propolisin kullanım olanakları. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Adana.
23. Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD (2010). Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. *Food Chem Toxicol* 48(12): 3418-3423.

24. Vatansever HS, Sorkun K, S. Gurkan ID, Kurt FO, Turkoz E, Gencay O, Salih B (2010). Propolis from Turkey induces apoptosis through activating caspases in human breast carcinoma cell lines. *Acta Histochem* 112(6): 546-556.
25. <http://trakyabal.net/ballar/7-propolis.html>. (Erişim Tarihi 10/03/2019).
26. olak M (2009). Arı poleni ve propolisin metastatik insan prostat kanseri hücre serilerinde voltaj kapılı sodyum kanalları ekspresyonu üzerine etkisi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı Trabzon.
27. Uzel A, Sorkun K, Onağ O, oğulu D, Gençay O, Salih B (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol Res* 160(2): 189-195.
28. Karaman   (2009). Propolisin kırık iyileşmesi ve oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Kayseri.
29. Xu Y, Luo L, Chen B, Fu Y (2009) Recent developments of chemical components in propolis. *Front Biol China* 4(4): 385-391.
30. Turkez H, Yousef MI, Geyikoglu F (2010). Propolis prevents aluminium-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food Chem Toxicol* 48(10): 2741-2746.
31. Cuesta A, Rodriguez A, Angeles Esteban M, Meseguer J (2005). In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol* 18(1): 71-80.
32. Volpi N (2004). Separation of flavonoids and phenolic acids from propolis by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis* 25 (12): 1872-1878.
33. Yousef MI, Kamel KI, Hassan MS, El-Morsy AM (2010). Protective role of propolis against reproductive toxicity of triphenyltin in male rabbits. *Food Chem Toxicol* 48(7): 1846–1852.
34. Dausch A, Moraes CS, Fort P, Park YK (2008). Brazilian red propolis-chemical composition and botanical origin. *Evid Based Complement Alternat Med* 5(4): 435-441
35. akıroğlu TN (2010). eşitli  z c lerde Türk Propolisinin  z n rl ğ n n  ncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.

36. Campo Fernandez M, Cuesta-Rubio O, Rosado Perez A (2008). GC-MS determination of isoflavonoids in seven red Cuban propolis samples. *J Agric Food Chem* 56(21): 9927–9932.
37. Maciejewicz W (2001). Isolation of flavonoid aglycones from propolis by a column chromatography method and their identification by GC-MS and TLC methods. *J Liq Chromatog Relat Technol* 24: 1171–1179.
38. Leja M, Mareczek G, Wyzgolik G, Klepacz-Baniak J, Czekońska K (2007). Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chem* 100(1): 237–240.
39. Demirkıran O (2005). *Hypericum montbretii* Spach bitkisindeki fenolik bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanması. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Edirne.
40. Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954–3962.
41. Buratti S, Benedetti S, Cosio MS (2007). Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta* 71: 1387-1392.
42. Wang T, Chen L, Wu W, Long Y, Wang R (2008). Potential cytoprotection: antioxidant defence by caffeic acid phenethyl ester against free radical-induced damage of lipids, DNA, and proteins. *Can J Physiol Pharmacol* 86(5): 279–287.
43. Huang S, Zhang C-P, Wang K, Li G, Hu Fu-Li (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules* 19(12): 19610-19632.
44. Lairon D, Amiot MJ (1999). Flavonoids in food and natural antioxidants in wine. *Curr Opin Lipidol* 10(1): 23-28.
45. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobliya DJ (2002). Flavonoids antioxidants: Chemistry, metabolism and structure activity relationships. *J Nutr Biochem* 13(10): 572-584.
46. Sandhar HK, Kumar B, Prasher S, Tiwari P, Salhan M, Sharma P (2011). A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Int Pharmaceutica Sci* 1: 25-34.
47. Formica JV, Regelson W (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* 33(12): 1061-1080.
48. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem* 84(3): 329–339.

49. Sorata Y, Takahama U, Kimura M (1984). Protective effect of quercetin and rutin on photosensitized lysis of hematoporphyrin. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 799(3): 313-317.
50. Nolkemper S, Reichling J, Sensch KH, Schnitzler P (2010). Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. *Phytomed* 17(2): 132-138.
51. Gulcin I (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Arch Toxicol* 86(3): 345-391.
52. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990). Flavonoid as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol* 186: 343-355.
53. Stavric B (1994). Role of chemopreventers in human diet. *Clin Biochem* 27(5): 319-332.
54. Hollman PC, Katan MB (1999). Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability. *Food Chem Toxicol* 37(9-10): 937-942.
55. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang (2003). Flavonoids: Promising anticancer agents. *Med Res Rev* 23(4): 519-534.
56. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR (2016). Flavonoids: an overview. *J Nurt Sci* 47(5): 1-15.
57. Nizamlioglu NM, Nas S (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemi. *Electronic Journal of Food Technologies* 5(1): 20-35.
58. Kurek-Gorecka A, Rzepecka-Stojko A, Gorecki M, Stojko M, Swierczek-Zieba G (2013). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* 19(1): 78-101.
59. Cogulu O, Biray C, Gunduz C, Karaca E, Aksoylar S, Sorkun K, Salih B, Ozkinay F (2009). Effects of Manisa propolis on telomerase activity in leukemia cells obtained from the bone marrow of leukemia patients. *Int J Food Sci Nutr* 60(7): 601-605.
60. Josipovic P, Orsolic N (2008). Cytotoxicity of polyphenolic/flavonoid compounds in a leukemia cell culture. *Arch Hig Rada Toksikol* 59(4): 299-308.
61. Kafadar İH (2009). Deneysel septik artrit modelinde eklem kıkırdağı hasarı üzerine intraartiküler uygulanan propolisin etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Kayseri*.
62. Miranda CL, Stevens JF, Ivanov V, McCall M, Frei B, Deinzer ML, Buhler DR (2000). Antioxidant and prooxidant actions of prenylated and nonprenylated chalcones and flavanones in vitro. *J Agric Food Chem* 48(9): 3876-3884.

63. Ghisalberti EL, Jefferies PR, Lanteri R, Matisons J (1978). Constituents of propolis. *Experientia* 34(2): 157-158.
64. Laskar RA, Sk I, Roy N, Begum NA (2010). Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents. *Food Chem* 122(1): 233–237.
65. Heo MY, Sohn SJ, Au WW (2001). Anti-genotoxicity of galangin as a cancer chemopreventive agent candidate. *Mutat Res* 488(2): 135-150.
66. Russo A, Longo R, Vanella A (2002). Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 73: 21-29.
67. Farooqui T, Farooqui A (2010). Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: A Critical Review. *Curr Nutr Food Sci* 6: 188-199.
68. Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G (2002). Önemli bir arı ürünü: propolis. *Uludag Bee Journal* 2(2): 10-23.
69. Singh S, Singh RP (2008). In vitro methods of assay of antioxidants: An Overview. *Food Rev Int* 24(4): 392-415.
70. Opara EC (2004). Role of oxidative stress in the etiology of type-2 diabetes and the effect of antioxidant supplementation on glycemic control. *J Investig Med* 52(1): 19–23.
71. Sies H (1991). Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin Wochenschr* 69(21-23): 965-968.
72. Nagai T, Sakai M, Inoue R, Inoue H, Suzuki N (2001). Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chem* 75(2): 237–40.
73. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A (2002). Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 73(1): 53–63.
74. Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complement Altern Med* 9: 4.
75. Campos M, Markham KR, Mitchell KA, Da Cunha AP (1997). An approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles. *Phytochem Anal* 8: 181–185.
76. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Afr J Biotechnol* 6(10): 1142-1145.

77. Yılmaz Z (2006). Öğrenme ve hafızanın şekillendiği beyin bölgelerinde alkolün oluşturduğu hasarlarda propolisin etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Malatya.
78. Meral R, Doğan IS, Kanberoğlu G (2012). Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2(2): 45-50.
79. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39(1): 44-84.
80. Thanonkaew A, Benjakul S, VisessanguanW, Decker EA (2007). Yellow discoloration of the liposome system of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) as influenced by lipid oxidation. *Food Chem* 102(1): 219–24.
81. Volpi N, Bergonzini G (2006). Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 42(3): 354-361.
82. Cowan MM (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 12: 564–582.
83. Park YK, Ikegaki M (1998). Evaluation of ethanolic extracts of propolis from Brazil and Korea by physicochemical and biological methods. *Korean J Apic* 13(1): 27-34.
84. Ramanauskiene K, Inkeniene AM (2011). Propolis oil extract: quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity. *Nat Prod Res* 25(15): 1463-1468.
85. Budak NH, Aykin E, Seydim AC, Geene AK, Guzel Seydim ZB (2014). Functional Properties of Vinegar. *J Food Sci* 79(5): 757–764.
86. Li S, Li P, Feng F, Luo LX (2015). Microbial diversity and their roles in the vinegar fermentation process. *Appl Microbiol Biotechnol* 99(12): 4997-5024.
87. Garcia I, Cantero- Moreno D, Jimenes-OT C, Baenaruno S, Jimenez- Hornero J, Santos-Duenos I, Bonillavenceslada J, Barja F (2007). Estimating the mean acetification rate via on-line monitored changes in ethanol during a semi-continuous vinegar production cycle. *J Food Eng* 80(2): 460-464.
88. Yetiman AE (2012). Sirke mikroflorasındaki asetik asit bakterilerinin moleküler teknikler ile tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri.
89. Ogawa N, Satsu H, Watanabe H, Fukaya M, Tsukamoto Y, Miyamoto Y (2000). Acetic Acid Suppresses the increase in disaccharidase activity that occurs during culture of Caco-2 cells. *J Nutr* 130(3): 507–513.

90. Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, Kitakoshi K, Nakai N, Tsukamoto Y (2001). Acetic Acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats. *J Nutr* 131(7): 1973–1977.
91. Kondo S, Tayama K, Tsukamoto Y, Ikeda K, Yanori Y (2001). Antihypertensive effects of acetic acid and vinegar on spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotech Biochem* 65(12): 2690–2694.
92. Ebihara K, Nakajima A (1988). Effect of acetic acid and vinegar on blood glucose and insulin responses to orally administered sucrose and starch. *Agic Biol Chem* 52(5): 1311-1312.
93. Dong Z (2003). Molecular mechanism of the chemopreventive effect of resveratrol. *Mutat Res* 523-524: 145-150.
94. Awad M, de Jager A, Vander Plas, L, Vander Krol A (2001). Flavonoid and chlorogenic acid changes in skin of Elstar and Jonagold apples during development and ripening. *Sci Hort* 90(1-2): 69-83.
95. Prakash CVS, I Prakash (2011). Bioactive chemical constituents from pomegranate (*Punica ganatum*) juice, seed and peel - a review. *Int J Res Chem Environ* 1(1): 1-18.
96. <https://yemek.com/sirke-nasil-yapilir/>. (Erişim Tarihi 10/03/2018).
97. Slinkard K, Singleton VL (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult* 28: 49-55
98. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71(1-2): 109-114.
99. 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 Chem* 101(1): 140-147.
100. Oyaizu M (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. *Jpn J Nutr* 44(6): 307-315.
101. Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamedi M, Amanzadeh Y, EbrahimiSES, Ostad SN (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chem* 103(3): 729-733.

102. Carvalho AA, Finger D, Machado CS, Schmidt EM, Costa PM, Alves APNN, Morais TMF, Queiroz MG, Quinaia SP, Rosa MR, Santos JMT, Pessoa C, Moraes MO, Costa-Lotufo LV, Sawaya ACHF, Eberlin MN, Torres YR (2011). In vivo antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. Food Chem 126(3): 1239-1245.
103. Karakaş S (2012). Türk propolisinin ticari bitkisel yağlarda çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
104. Güzel S (2005). Gıda olarak tüketilen çeşitli sıvı yağların toplam antioksidan aktivitelerinin ve toplam fenol içeriklerinin in vitro ölçülmesi. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
105. Tan SC (2005). Vinegar Fermentation. Master of Science (MS), Louisiana State University and agricultural and mechanical college, Nutrition and Food Sciences, Lafayette.
106. Budak NH (2010). Elma ve üzümünden üretilen sirkelerin bileşenleri ve fonksiyonel özellikleri üzerine araştırma. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İsparta.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı KARTAL, Berra
Uyruğu T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri 1992/TRABZON
E-Posta berrabbbb@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya ABD	2019
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya	2015

YABANCI DİL : İngilizce