



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**FARKLI PROPOLİS EKSTRAKTLARINDA
STABİLİTE VE RAF ÖMRÜNÜN
BELİRLENMESİ**

Aysun GÜNAYDIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Oktay YILDIZ

TRABZON-2025

BEYAN

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

28.01.2025
Aysun GÜNAYDIN

TEŞEKKÜR

Çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde her türlü desteğini esirgemeyen, tecrübelerini paylaşıp yol gösteren değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Oktay YILDIZ'a,

Laboratuvar uygulamalarındaki yardımları için Öğr. Gör. Dr. Atiye DEĞİRMENCİ, Öğr. Gör. Gülsüm Merve BOYRACI, Arş. Gör. Zeynep Berin ÇELEBİ ile Yüksek Lisans Öğrencisi Hatice TURAN ve İrem ÇETECİ'ye

Tez çalışmama FBA-2021-9326 kodlu "Farklı Çözücü ve Ekstraksiyon Şartlarının Propolis Özütlerinin Biyolojik Aktivitesine Etkisi" adlı proje ile destek olan Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Yüksek lisans sürecim boyunca yanımda olup manevi desteklerini her zaman hissettiğim değerli arkadaşlarım Merve DEMİRCİ, İrem USLU TÜZÜN ve Bülent BEDER'e,

Her koşulda manevi desteklerini esirgemeyen sevgili anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Aysun GÜNAYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER.....vi

TABLOLAR DİZİNİ.....viii

KISALTMALAR, SİMGELER VE FORMÜLLER DİZİNİ.....ix

ÖZETxi

ABSTRACTxii

1. GİRİŞ ve AMAÇ..... 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Propolisin Tanımı 3

2.2. Propolisin Tarihi 4

2.3. Propolisin Hasadı..... 5

2.4. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri..... 6

2.5. Propolisin Biyolojik Aktivitesi..... 7

2.6. Propolisin Kullanım Alanları 12

2.7. Propolisin Ekstraksiyonu..... 14

2.8. Çözücüler..... 17

2.8.1. Saf Su..... 17

2.8.2. Etanol..... 18

2.8.3. Polietilen Glikol..... 19

2.8.4. Monopropilen Glikol 19

2.8.5. Gliserol 20

3. GEREÇ ve YÖNTEM 21

3.1. Kullanılan Çözücüler..... 21

3.2. Kullanılan Cihazlar..... 21

3.3. Propolis Temini ve Ekstraktların Hazırlanması..... 21

3.4. Analiz Metotları..... 22

3.4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini 22

3.4.2. FRAP (Fe (III) İndirgeme Antioksidan Kapasite) Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini.....	23
3.4.3. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi	23
3.4.4. Toplam Flavonoid Tayini	23
3.4.5. RP-HPLC-PDA ile Fenolik Bileşiklerin Tayini	24
3.4.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	24
3.4.7. Stabilité Çalışmaları	25
3.5. İstatistiksel Analizler	25
4. BULGULAR	27
4.1. Propolis Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde İçerikleri.....	27
4.2. Propolis Ekstraktlarının Toplam Antioksidan Aktivite Verileri	28
4.3. Propolis Ekstraktlarının Toplam Flavonoid Madde Verileri.....	30
4.4. Propolis Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde Profili	31
4.5. Propolis Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivite Verileri	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	39
6. KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ	69

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliğine (2024) göre propoliste bulunabilecek fenolik bileşikler	10
Tablo 2. Kullanılan cihazlar ve marka/model bilgileri	21
Tablo 3. Hazırlanan propolis ekstraktları.....	22
Tablo 4. Propolis ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri	27
Tablo 5. Propolis ekstraktlarının FRAP metodu ile belirlenen antioksidan aktivite verileri	28
Tablo 6. Propolis ekstraktlarının DPPH• metodu ile belirlenen antioksidan aktivite verileri	30
Tablo 7. Propolis ekstraktlarının toplam flavonoid madde verileri	31
Tablo 8. 36 saatlik saf su ekstraktının toplam fenolik madde profili.....	32
Tablo 9. 36 saatlik etanol ekstraktının toplam fenolik madde profili	33
Tablo 10. 36 saatlik PEG ekstraktının toplam fenolik madde profili	34
Tablo 11. 36 saatlik MPG ekstraktının toplam fenolik madde profili	35
Tablo 12. 36 saatlik gliserol ekstraktının toplam fenolik madde profili.....	36
Tablo 13. Propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	38

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ATP	Adenozin trifosfat
β	Beta
CAPE	Kafeik asit fenetil ester
CO₂	Karbondioksit
COVID	Koronavirüs hastalığı
dk	Dakika
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH•	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
kg	Kilogram
L	Litre
LOD	Gözlemlenebilme limiti
mg	Miligram
MIC	Minimal inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
MPG	Monopropilen glikol
MΩ	Megaohm
nm	Nanometre
PEG	Polietilen glikol
ppb	Milyarda bir birim
RNA	Ribonükleik asit
RP-HPLC-PDA	Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi fotodiyot dizisi dedektörü
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SC₅₀	Radikali yarıya indiren numune konsantrasyonu

TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazin
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
vb	Ve benzeri

Simgeler

&	Ve
°C	Santigrat derece

Formüller

AlCl₃	Alüminyum klorür
C₂H₆O	Etanol
C₂H₆O₂	Etilen glikol
C₂H₈O₂	Propilen glikol
C₃H₈O₃	Gliserol
Fe	Demir
H₂O	Su
HCl	Hidroklorik asit
Na₂CO₃	Sodyum karbonat

ÖZET

Farklı Propolis Ekstraktlarında Stabilite ve Raf Ömrünün Belirlenmesi

Arılardan gelen doğal ürünlere olan talebin artması ve biyoteknolojik faaliyetler, bunların gıdaların korunmasında ve insanların sağlığı üzerindeki yararlı etkilerinde yaygın olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bir arı ürünü olan propolis, arıların kovanlarını korumak için kullandığı malzemedir. Bitki reçineleri, arı mumları ve polenlerden oluşan tutkal benzeri bir maddedir. Propolis günümüzde yaygın şekilde etil alkol, su, propilen glikol, gliserol, zeytinyağı gibi çözücülerde çözündürülerek kullanılır ve biyolojik aktiviteleri her çözücünde farklıdır. Bu tez çalışmasında apiterapi uygulamalarında sıklıkla başvurulmuş bu ekstraktların üretimini takiben biyolojik aktif özelliklerinin tespit edilerek, raf ömrü çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır. Saf su, etil alkol, monopropilen glikol (MPG), polietilen glikol (PEG) ve gliserol ekstraktlarının biyolojik aktiviteleri antioksidan potansiyellerinin belirlenmesi (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikali (DPPH•); demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP) metotları) ile değerlendirilmiştir. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*) ve gram-negatif (*Escherichia coli*) bakteri ve maya (*Candida albicans*) suşlarına karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile ortaya konulmuştur. Toplam fenolik madde ve flavonoid içerikleri tespit edilmiştir. Fenolik madde profili ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi fotodiyot dizisi dedektörü (RP-HPLC-PDA) ile belirlenmiştir. Başlangıç değerleri tespit edildikten sonra ekstraktlara hızlandırılmış stabilite testi uygulanarak testler tekrarlanmıştır. İlk değerler ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerler karşılaştırılmıştır. Yapılan karşılaştırma sonucunda genel olarak fenolik madde içeriğinde, antioksidan kapasitesinde ve flavonoid miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$). Antimikrobiyal aktivite açısından raf ömrü sonunda etanol ekstraktının gram pozitif, gram negatif ve maya suşlarının tümüne karşı etkili olduğu görülmüştür. Raf ömrü uzunluğu ve kalitesi açısından etanol ekstraktının avantajlı olabileceği, bunun yanında polietilen glikol ekstraktlarının da değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan aktivite, Propolis ekstraktı, Stabilite

ABSTRACT

Determination of Stability and Shelf Life in Different Propolis Extracts

The increasing demand for natural products and biotechnological activities from bees facilitate their widespread use in food preservation and beneficial effects on humans. Propolis, a bee product, is the material used by bees to protect their hives. It is a glue-like substance composed of plant resins, bee waxes and pollens. Nowadays propolis is widely used by dissolving it in solvents such as ethyl alcohol, water, propylene glycol, glycerol, olive oil, and its biological activities differ in each solvent. This thesis study aimed determine the biological active properties of these extracts, which are frequently used in apitherapy applications, and to carry out shelf life studies. The biological activities of the pure water, ethyl alcohol, monopropylene glycol (MPG), polyethylene glycol (PEG) and glycerol extracts were evaluated by determining their antioxidant potential (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•); iron reducing antioxidant potency (FRAP) method). The antimicrobial activity of the extracts were demonstrated by agar well diffusion method against gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*) and gram-negative (*Escherichia coli*) bacteria and yeast (*Candida albicans*) strains. The total phenolic substance and flavonoid contents were determined, and the phenolic substance profile was determined by reversed-phase high performance liquid chromatography photodiode array detector (RP-HPLC-PDA). After the initial values were determined, the tests were repeated by applying accelerated stabilization test to the extracts. The initial values were compared with the values after accelerated stability. As a result of the comparison, it was observed that there was a statistically significant decrease in the phenolic substance content, antioxidant capacity and flavonoid amount in general ($p \leq 0.05$). In terms of antimicrobial activity, at the end of the shelf life ethanol extract was found to be effective against all gram-positive, gram-negative and yeast strains. It was concluded that ethanol extract may be advantageous in terms of shelf life length and quality, while polyethylene glycol extracts can also be evaluated.

Keywords: Antioxidant activity, Propolis extract, Stability

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bal arıları büyük kolonilerde yaşamaktadırlar. Arı kovanında 60 000'e yakın arı bulunur. Kovanlar nemli ve sıcak ortamlardır ve içlerinde bal, polen gibi organik maddeler bulunur. Bu faktörler mikroorganizmaların büyümesi için ideal koşulları sağlar. Bu mikroorganizmalara patojen mikroorganizmalar da dahildir. Bu durum hastalık oluşumuna sebep olarak arıların varlığını tehdit edebilir. Propolis bu mikroorganizmalara karşı arıların kendilerini savunmasını sağlar (1).

Propolis, bal arılarınca çeşitli bitki kaynaklarından toplanıp salgılanan balmumu ile karıştırılarak oluşturulan reçinemi bir maddedir. Arıların kovanlarının yapımında, bakımında ve korunmasında kullandıkları çok işlevli bir maddedir (2).

Propolisin kovandan toplanabilmesi için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Propolisi kovandan kazımak için kovan aleti veya bıçak kullanılabilir. Özel tuzaklar kullanılarak propolis toplanabilir. Bu tuzaklar kovan duvarlarındaki çatlaklara benzeyen küçük deliklere sahip özel plakalardır. Arılar plakalarda bulunan delikleri kapatmaya çalışır ve tuzağı propolis ile doldururlar. Plakalar buzdolabında veya derin dondurucuda birkaç saat soğutulduktan sonra propolis tuzaklardan çıkarılır. Çünkü soğuduktan sonra propolis kırılğan hale gelir ve esnetilerek tuzaktan çıkarılabilir (3).

Propolis, antimikrobiyal ve antiviral özelliğinden dolayı kovandaki arılar tarafından kullanıldığı gibi propolisin bu özelliklerinden insanlar da faydalanabilmektedir. İyileştirici gücü sayesinde propolis, insanlarda birçok sağlık sorununun tedavisinde ve önlenmesinde kullanılır. Propolis ham olarak veya ekstrakte edilmiş halde kullanılabilir (4). Bununla birlikte ticari propolis bazlı ürünlerin çoğunda ekstraksiyon adımı gereklidir. Ekstraksiyon adımı inert maddelerin çıkarılmasına, biyoaktif kısmın çözündürülmesi ve korunmasına, böylece farmasötik, gıda ve kozmetik ürünlere dahil olmasına olanak tanır (5).

Propolis ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan çözücüler metanol, etanol, su, kloroform, eter, diklorometan ve asetondur (6). Farklı çözücüler, her bir ekstrakta belirli özellikler ve potansiyel olarak spesifik uygulamalar kazandıran farklı bileşikler ekstrakte eder (5).

Piyasada satışta bulunan propolis sıvı ekstraktları incelendiğinde 12-36 ay gibi uzun raf ömürleri ile satıldığı görülmektedir. Oysa bu ekstraktların biyoaktif özelliklerinin bu süre içerisindeki değişimi ve stabilitesi bilinmemektedir.

Bu tez çalışmamızda 45 °C’de 12 ve 36 saat süre ile saf su, etanol, monopropilen glikol, polietilen glikol ve gliserol çözücülerini ile hazırlanan propolis ekstraktlarının biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi ve zamanla bu özelliklerdeki değişimlerin ortaya çıkarılarak ürünlere ait raf ömrünün belirlenmesi; sonuçların Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliğine (2024) göre tartışılması amaçlanmıştır. Literatürde ve apiterapik ürünlere ait regülasyonlarda bu konuda bir verinin olmaması tüketici açısından olumsuzluk arz etmekte, bu konuda bilimsel bir çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Propolisin Tanımı

Propolis bal arıları (örn. *Apis mellifera* L.) ve iğnesiz arılar (örn. *Tetragonisca angustula* Illiger) dâhil olmak üzere arılar tarafından üretilen, doğal, reçineli ve lipofilik bir karışımdır (7, 8). Arılar kavak, kozalaklı ağaçlar, huş ağacı, kızılağaç, söğüt, palmiye, kestane, okaliptüs, akasya, klusia gibi ağaçların farklı türleri de dahil olmak üzere farklı ağaçların kabuk ve yaprak tomurcuklarındaki çatlaklardan reçine toplar (8). Bitki parçaları, tomurcuklar, bitki veya böceklerin salgıları toplanır (7). Bu salgıların bal arıları tarafından çiğnenmesi ve daha sonra polen ve arı tükürüğü (β -glukozidaz dahil çeşitli enzimler içerir) ile karıştırılması, son olarak bal mumunun da eklenmesiyle ham propolis oluşur (9). Bal arıları alt çeneleriyle bitkilerin koruyucu reçinesi olan propolisi toplar. Ağızlarında yumuşatıp çeşitli enzimler katarak kovan için pelet haline getirirler. Peletleri ön ayaklarını kullanarak taşırlar ve arka ayakları üzerinde bir polen sepetine yerleştirirler. Arılar propolisi kovanın çerçeve kenarları, dip tahtası ve giriş deliğinin arkası gibi kısımlarında biriktirir (10).

Propolis, Türk Standartları Enstitüsü tarafından “İşçi arıların, kovan içerisindeki besinleri, yavru arıları ve kendilerini çeşitli patojen mikroorganizmalardan (virüs, bakteri, fungus) korumak amacıyla bitkilerin yaprak, gövde, tomurcuk vb. kısımlarından topladığı reçinemsî maddeleri ve bitki nektarlarını, başlarında yer alan salgı bezlerinden salgılanan enzimler ile biyokimyasal değişikliğe uğratarak oluşturdukları, ‘arı tutkalı’ olarak da adlandırılan ürün” olarak tanımlanmıştır (11).

Propolis arının kovanını savunmak kullanmış olduğu maddelerin karışımıdır. Bu koruma kovanın duvarlarındaki boşlukları doldurma, soğuk havalarda kovana girişi azaltma, çürümeyi engellemek için mumyalama amaçlıdır. Bu nedenle propolis aynı zamanda arı tutkalı olarak da bilinir (12). Propolis arı kovanının iç yüzeyinin pürüzsüzleştirilmesi ve iç sıcaklığının (35 °C) korunması, yırtıcı hayvan istilasına karşı korunma amaçlı da kullanılır (13). Arı kovanının iç sıcaklığı ve nemi bakteriler, virüsler ve funguslar için ideal bir ortam oluşturmaya, kovanda 50 000-80 000 arası ergin arı ve aynı miktarda yumurta ile larva bulunmasına rağmen mikroorganizmalar üreme imkanı bulamamaktadır. Bu durum propolisin antimikrobiyal özelliği sayısında mümkün olmaktadır (14). Propolisler hücre çeperini sertleştirir ve aseptik bir iç ortamın korunmasına katkıda bulunur (13). Böylece kolonilerini hastalıklara ve

mikroorganizmalara karşı korunmuş olurlar (14, 15). Propolis istilacı böceklerin ölümlerini mumyalamak için de kullanılır. Böylece ölü böceklerin çürümeleri önlenir ve çürümelerinden kaynaklı mantar ve bakteri kontaminasyonu da önlenmiş olur (15).



Resim 1. Öğütülmüş propolis

Propolis toplayıcılarına göre sınıflandırılabilir. Bunlardan birincisi bal arıları tarafından toplanan “normal” propolis, ikincisi ise iğnesiz arılar tarafından toplanan sözde jeopropolistir (8). Jeopropolis kendine özgü bir propolis türüdür. Bitki reçineleri, mumlar ve toprak atıklarının harmanlanmasıyla formüle edilmiştir. Bal arılarının ürettiği propolisten farklı olarak jeopropolis yapısına toprak katılır. Jeopropolis, *A. mellifera* propolisine göre daha az reçineli madde ve bitki trikomu, ancak daha fazla mineral ve toprak içerir. Jeopropolis, bitki reçinelerini mumlar ve toprakla birleştirerek kovandaki propolisle aynı işlevi görür (16).

2.2. Propolisin Tarihi

“Propolis” terimi Antik Yunanistan’daki yazarlar tarafından kullanılmış olup; “pro” ve “polis” kelimelerinin birleşiminden oluşmuştur. “Pro” kelimesi “önünde” anlamında, “polis” kelimesi ise “şehir, topluluk” anlamında olup, birleştirilmesiyle “şehir veya kovan için veya savunmasında kullanılan madde” anlamında kullanılmıştır (17).

Arıların evcilleştirilmesinin uzun tarihinin sonucu arı ürünlerinden yararlanmaya kadar uzanmıştır ve arı ürünü olan propolisin birçok olumlu özelliği onun birçok alanda

kullanımına olanak sağlamıştır. Propolis bal kadar eskidir ve insanoğlu tarafından asırlardır kullanılmaktadır (18). M.Ö. 300'den beri insanoğlu tarafından hem doğu hem de batıda geleneksel bir halk ilacı olarak kullanılmıştır (19-21). Tıbbi amaçlı kullanımı ilk kez Antik Yunan ve Roma'da görülmüştür (22). Propolisin Eski Mısırlılar, Persler ve Romalılar tarafından birçok rahatsızlığı hafifletmek için; aynı zamanda mumyalama maddesi olarak da kullanıldığını gösteren kayıtlar bulunmaktadır (18).

2.3. Propolisin Hasadı

İşçi arılar bitkilerden ve ağaçlardan reçine toplarlar. Bu reçineler bitkiler tarafından tomurcuklanma sırasında salgılanır ve böcekleri, mantarları ve hastalıkları uzak tutma amaçlıdır. Arılar reçineleri polen sepetleri üzerinde kovana getirirler. Propolisi oluşturmak için arı tükürüğü, bal mumu, bal vb. reçinelerle karıştırılır. Bu reçineler kullanılmak üzere arı kovanına geri götürülür (23).

Hem yabani hem de evcilleştirilmiş arılar propolisi ağaç oyuklarında veya ticari kovanlarda delikleri ve çatlakları kapatmak, yırtıcılara karşı savunmayı kolaylaştırmak için kovan girişini daraltmak, petek için pürüzsüz bir yüzey oluşturmak vb. amaçlarla kullanırlar. Propolis kontrolsüz hava akımını önlemesi, neme karşı su geçirmez duvar görevi görmesi, kovan içindeki nemin sabit kalmasını sağlaması, kovan içi sıcaklığın dengelenmesi, istilacılara, parazitlere ve yırtıcı hayvanlara karşı koruma oluşturması nedeniyle arılar için fiziksel, kimyasal ve biyolojik koruyucu görevi görür. Antiseptik özelliğiyle ağaç oyuklarında ve kovanlarda patojen mikroorganizmaların büyümesini önler ve inhibe eder (24).

Propolisin toplanması için çeşitli sistemler geliştirilmiştir. Bunun yollarından biri, bir ağ veya PVC'den yapılmış, çeşitli delikleri veya 2-3 mm genişliğinde yarıkları olan özel bir propolis levhası kullanmaktır. Propolis levhası kovanın üst kısmına çerçevelerin üzerine veya diğer çerçevelerin arasına çerçeve formunda asılarak yerleştirilir. Hasattan sonra propolis tuzağı serin bir yere, dondurucuya veya soğuk suya konur. Soğuduğunda, arıcı propolisi plakadan küçük parçalar halinde kırabilir ve istenirse levhayı veya ağı yeniden kullanabilir. Daha kolay ve yaygın bir yöntem ise kovandan çıkarılan eski çerçevelerdeki propolisin kazınmasıdır, ancak bu kalitesini bozabilir (25). Ayrıca kazıma yöntemiyle elde edilen propolis, ağ hasat yöntemiyle elde edilen propolise göre 4 kat daha fazla kurşun içerebilmektedir. Bu nedenle arıcıların daha kaliteli ve güvenli ürün elde edebilmeleri için ağ hasat yöntemini kullanmaları önerilmektedir (23).

Propolis balmumu parçaları, boya parçacıkları, çiviler ve yabancı maddeler içerebildiğinden temizlenmesi gerekmektedir. Sert olması ve yapışkan olmaması için soğutulmalıdır. Propolis için en iyi sonuçlar, önce dondurularak soğutulmuş propolisin kaba bir karışım haline gelinceye kadar dairesel bir rendeden geçirilmesi ve ardından öğütülmesiyle elde edilir. Koagülasyonu önlemek için az miktarda (%10) polen, şeker, manyok veya başka bir türde un, dekstrin-maltoz veya magnezyum stearat kullanılabilir (25).

2.4. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Propolis 25 °C ile 45 °C sıcaklıkları arasında yumuşak, esnek ve çok yapışkan bir maddedir (26). 45 °C üzerinde propolis daha yapışkan ve ağdalı hale gelir (26, 27). Yapışkan formu, arı kovanı çevresinde yetişen farklı bitki türlerinin tomurcuk ve çiçeklerinden toplanan sıvıların propolis üretiminde kullanılmasından kaynaklanmaktadır (9). Genellikle 60 °C ile 70 °C arasında sıvı hale geçer. Bazı örneklerde ise erime noktası 100 °C'ye kadar çıkabilmektedir (26). Propolis 15 °C'den az sıcaklıklarda sert ve kırılgan bir haldedir (26, 27). Soğuduktan sonra yüksek sıcaklıklarda bile kırılganlığını korur.

Propolis kendine has otsu aromatik bir kokuya sahiptir. Elde edildiği kaynağa ve depolama süresine göre yeşil, sarı, kahverengi ve kırmızı dahil değişik renklerden oluşmakla birlikte şeffaf propolis de rapor edilmiştir (8, 27). Propolisin fizyokimyasal özellikleri (yoğunluk, renk ve koku) yanı sıra kimyasal profili ve biyoaktivitesi; bitki kaynağı, iklim, hasat zamanındaki hava koşulları, bazen de hasat zamanı olmak üzere çok sayıda faktöre bağlıdır (9). Bu doğal değişkenlik propolisin standardizasyonu ve kalite kontrolü açısından çeşitli zorluklar ortaya çıkarmaktadır (28). Arılar propolisi bölgede bulunan bitkilerden toplamaktadır ve topladıkları bölge bitki örtüsü açısından ne kadar zenginse propolisin kimyasal bileşimi de o kadar karmaşılaşır (8).

Propolisin standardizasyonunun olmaması, arıların uygun reçine bulamadıklarında zift, boya gibi maddeleri toplayıp propolis içeriğine katması; ayrıca propolisin toplandığı mevsime, bölgeye, yükseltiye, bitki örtüsüne göre özelliğinin değişmesi gibi sebeplerden dolayı patent sorunu yaşanmaktadır. Aynı zamanda ülkemizde arıcılığın eğitimsiz kişiler tarafından yapılması ve propolise yeteri kadar önem verilmemesi de üretim kalitesini etkilemektedir (14).

Ham propolis genellikle %50 bitki reçinesi, %30 balmumu, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polenler ve %5 diğer organik maddelerden oluşur (29). Genel olarak

organik bileşenler karboksilik asitler (%20), terpenoidler (%15), steroidler (%12), hidrokarbonlar (%10), şekerler (%6), alkaloidler (%6), flavonoidler (%4), fenoller (%3), vitaminler (%2), amino asitler (%2), ketonlar (%2), proteinler (%1) ve diğer bileşiklerden (%14) oluşur. Flavonoid ve fenolik bileşikler, bitki sekonder metabolitlerinin önemli bir sınıfıdır. Flavonoidler arasında kuercetin ve krisin farklı arı türlerinin propolisinde en çok bulunanlardır. Bu flavonoidler bitki reçinesindeki aktif bileşiklerdir. Antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuvar aktiviteler gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptirler. Flavonoidlere benzer şekilde fenolik bileşiklerin de antioksidan, antibakteriyel, antikanser, antiinflamatuvar, antitümör, plazmodisidal ve anti-HIV aktiviteler gibi biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır (30). Propolisin bakteri üremesini ve protein sentezini inhibe etmesi, bakteri hücre duvarını parçalaması antibakteriyel özellikleri ile açıklanmaktadır (31).

Propolislerin kavaklar, kozalaklı ağaçlar, huş ağacı, çam ağacı, kızılğaç, söğüt, palmye, *Baccharis dracunculifolia* ve *Dalbergia ecastaphyllum* bitkilerinin reçinelerinden toplandığı rapor edilmiştir (29). Literatür verilerine göre propoliste polifenoller, terpenoidler, steroidler, flavonoidler, fenolik asit esterleri, aldehytler, kumarinler, şekerler, aminoasitler ve diğerlerine ait 300'den fazla bileşenin mevcut olduğu bildirilmiş olsa da, bu sayı 800'ün üzerine çıkmıştır (28, 32). Propoliste ayrıca Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementler ile B₁, B₂, B₆, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır (14). Yapılan bir çalışmada eser element profillerinin, propolisin lokasyonuna göre tanımlanmasında faydalı olabileceğini göstermektedir (29). Propolis süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenosin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler de içermektedir (14).

2.5. Propolisin Biyolojik Aktivitesi

Propolisin biyolojik aktivitesi bitki kaynaklı maddelere dayanır. En yaygın propolis türleri: kavak türü propolis olarak adlandırılan Avrupa propolisi, çoğunlukla *Baccharis dracunculifolia*'nın yaprak reçinesinden elde edilen yeşil Brezilya propolisi ve *Clusia rosea*'nın çiçek reçinesinden elde edilen kırmızı Küba propolisidir (33). Avrupa ve Kuzey Amerika'nın ılıman bölgeleri ile Çin ve Yeni Zelanda'nın tropik olmayan bölgelerinde bulunan kavak propolis flavonlar, flavononlar, sinamik asit ve esterleri bakımından zengindir. Brezilya'da bulunan yeşil propolis prenile fenilpropanoidler, kafeoilkinik asitler ve diterpenler bakımından zengindir. Brezilya, Küba ve Meksika'da bulunan kırmızı propolis ise izoflavonoidler, neoflavonoidler, pterokarpanlar ve lignanlarca zengindir. Bu

propolis türlerine ek olarak Rusya’da bulunan ve ana bileşenleri flavonlar ve flavonoller olan huş propolisi; Akdenize kıyısı olan ülkelerde bulunan ve antrakınon ile diterpenlerin ana bileşen olarak bulunduğu Akdeniz propolisi; c-fenil flavononlarca zengin, Pasifik bölgesinde bulunan Pasifik propolisi de bulunmaktadır (34).

Birçok çalışmada propolisin antibakteriyel (35-37), antifungal (38, 39), antiviral (40, 41) ve antiinflamatuvar (42-45) özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bu özellikleri sağlayan ana bileşiğin ise flavonoidler olduğu gösterilmiştir (46). Flavonoidler, propoliste bulunan fenolik bileşiklerin baskın sınıfını oluşturur ve genellikle materyalin biyoaktivitesiyle bağlantılıdır (16). Bitkilerde renk, tat ve farmakolojik aktivitelerden sorumlu biyoaktif ikincil metabolitler olarak sentezlenen hidrosillenmiş fenolik maddelerdir. Değişken fenolik yapılara sahip bir grup doğal bileşiktir (47). Sekonder metabolitler olduğundan insanlar tarafından sentezlenemez. Propolise rengini veren pigmentler flavonoidlerdir. Propolisin biyolojik olarak en aktif bileşeni flavonoidlerdir. Flavonoidler vücutta çok iyi bir şekilde metabolize olurlar (48). Flavonoidlerin konsantrasyonları, yapısal karmaşıklığı ve fizikokimyasal özellikleri, kaynağa ve matrise bağlı olarak değişir. Kimyasal olarak bir heterosiklik piran halkası ile bağlı iki aromatik halka oluşturan 15 karbonlu bir fenilpropanoid zinciri olan (C3-C5-C6) temel flavan iskeletine sahiptir. Flavonoidlerin en bilinen özellikleri antioksidan kapasiteleridir ve antioksidan aktivitesi nükleer yapı ile ilgili fonksiyonel grupların düzenlenmesine bağlıdır. Hidroksil gruplarının konfigürasyonu, ikamesi ve toplam sayısı antioksidan aktivite mekanizmalarını etkiler. Antioksidan etki mekanizmaları da enzimleri inhibe ederek veya serbest radikal oluşumunda rol oynayan eser elementlerin şelatlanması yoluyla reaktif oksijen türlerinin oluşumunu baskılayarak ve temizleyerek antioksidan savunmasının korunmasını sağlar. Flavonoidlerin güçlü antibakteriyel etkiye de sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Hidrojen bağı ve hidrofobik etkiler gibi spesifik olmayan kuvvetler ve kovalent bağı oluşumu yoluyla kompleks oluşturduğundan antimikrobiyal etki biçimlerinin mikrobiyal adezinleri, enzimleri, hücre taşıma proteinlerini inaktive etme yeteneğiyle ilgili olabileceği değerlendirilmektedir (47).

Propolisin kalitesini değerlendirmek için flavonoid miktarı önemli bir kriterdir. Kimyasal yapısına göre propolisteki flavonoidler; flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanonoller, kalkonlar, dihidrokalkonlar, izoflavonlar, izodihidroflavonlar, flavanlar, izoflavanlar ve neoflavonoidler olarak sınıflandırılır (29). Flavonoidler aglikonlar,

glikozitler ve metillenmiş türevler olarak ortaya çıkar (47). Genellikle glikozit formunda bulunur. Bu formda bir karbonhidrat grubuyla glikozidik bağ ile bağlanan aglikonlar temel flavonoid yapısını oluşturur. Flavonoidlerin antiradikal aktivitesi moleküllerinde fenol gruplarının bulunması ile ilişkilidir. Çünkü temizleme sırasında oluşan radikaller rezonansla stabilize edilir (32). Flavonoidler zayıf hidrofobik asitlerdir. Lipofiliklerine bağlı olarak hücrel ve mitokondriyal zarı geçme ve protonofor görevi görme potansiyeline sahiptir (47). Propolisteki galangin, krizin, asasetin, kaempferol, isorhamnetin, kuersetin, pinobanksin, pinostrobin, pinocembrin, ramnetin, naringenin ve ramnosit önemli flavonoidlerdir (48).

Yapılan bir çalışmada propolisin yapısında bulunan polar gruplar arttıkça antibakteriyel etkinin azaldığı; kafeik asit türevi, dihidro flavon ve kafeik asitten farklı bir fenilpropanoid arttığında ise antibakteriyel etkinin arttığı bildirilmiştir (46).

Terpenler, çeşitli hayvan ve bitkilerde bulunabilen doğal olarak oluşan bileşiklerdir. Son derece uçucu bir yapıya sahip olduklarından kolayca buharlaşarak zararlılara karşı caydırıcı bir etki gösteren belirgin bir koku ve tat ortaya çıkarırlar (16). Propolisin kendine has kokusundan sorumludurlar. Propolisin farmakolojik etkilerine katkıda bulunurlar. Birinci sınıf propolisi kalitesiz veya sahte propolisten ayırmada rol oynarlar. Antimikrobiyal, antioksidan gibi biyolojik aktiviteleri mevcuttur (29). Propoliste farklı tipteki terpenoidlerin varlığının propolisin coğrafi kökenine bağlı olarak değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir (8). Çeşitli terpen türleri arasında, seskiterpenler propoliste keşfedilen en yaygın terpen bileşiği sınıfıdır. Terpenler de fenoller gibi çoğu propoliste bol miktarda bulunmasına rağmen bunların konsantrasyonları, oranları ve çeşitleri; botanik kaynaklar, coğrafi köken, ekstraksiyon metodolojileri, iklim ve arı türleri gibi hem dışsal hem de içsel faktörlerdeki farklılıklar nedeniyle propolisler arasında sıklıkla değişiklik gösterir (16).

Propolisin yapısında bulunan şekerin kaynağının nektar ve bal olduğu düşünülmektedir. Bazıları ise propolisteki hidrolize flavonoid glikozitlerden geldiğini öne sürmektedir. Ayrıca çok sayıda şeker, şeker alkolü ve asit içeren bitki salgıları potansiyel propolis şekeri kaynakları arasında listelenmiştir. Mısır propolisi, Brezilya propolisi ve Anadolu propolisi gibi birçok propolis türünde propolisin bir diğer temel bileşeni olan hidrokarbonlardan alkanlar, alkenler, alkadienler, monoesterler, diesterler, aromatik esterler, yağ asitleri ve steroidler tespit edilmiştir (29).

Fenolik asitler karboksilik ve fenol gruplarına sahip bileşiklerdir (32). Fenolik bileşiklerin en önemlileri benzil alkol, benzoik asit, ferulik asit, isoferulik asit, isovanilin, kumarik asit, kafeik asit, sinnamik asit, sinnamil alkol ve vanilindir. Polifenollerin antioksidan, antibakteriyel, antienflamatuar, antikanserojen ve onarıcı aktiviteleri bulunmaktadır. Polifenolik bileşik miktarı ile antioksidan aktivite orantılıdır. Kafeik asit ve türevleri, ferulik asit gibi hidrosinamik asitler ile protokateşik asit, gallik asit gibi hidrobenzoik asitler emülsiyon ve lipid sisteminde güçlü antioksidan etkiye sahip maddelerdir. Kafeik asit fenil ester (CAPE), C ve E vitaminlerinden daha güçlü antioksidan özellik göstermektedir (48).

Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliğine (2024) göre propolis aşağıda bulunan Tablo 1’de verilen bileşiklerden en az 5 tanesini içermelidir. Bu 5 bileşikten her biri; ham propoliste en az 2 000 mg/kg, propolisin toz veya konsantre formlarında en az 4 000 mg/kg, propolisin sıvı formlarında ise en az 500 mg/L olarak bulunması gerekmektedir (49).

Tablo 1. Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliğine (2024) göre propoliste bulunabilecek fenolik bileşikler

-
- Kumarik asit (o-,m-,p-kumarik asit toplamı)
 - Pinobanksin
 - Galangin
 - Sinnamik asit ve 3-4 dimetoksi sinnamik asit toplamı
 - Krisin
 - Pinosembrin
 - Kafeik asit
 - Kafeik asit fenetil ester
 - Kamferol
 - Ferulik asit (izo- ve trans-ferulik asit toplamı)
 - Kuersetin
 - Naringenin
 - Rutin
 - Apigenin
 - Protokateşik asit
 - Artepillin C
-

Antioksidanlar, oksidasyonu engelleyen veya oluşumunu geciktiren bileşiklerdir. Propolis sahip olduğu yüksek polifenol ve flavonoidlerden dolayı güçlü antioksidan etkiye sahiptir. Propolisin antioksidan özellikleri DPPH•, ABTS+, FRAP ve ORAC yöntemleri kullanılarak araştırılmış ve kanıtlanmıştır (32). Aynı zamanda yüksek polen içeriğine sahip

propolislerin yüksek antioksidan özelliğe de sahip olduğu görülmüştür. Propolis içeriğindeki bileşenler serbest radikalleri temizleyerek ve metal iyonlarını şelatlayarak antioksidan etki gösterirler (50). Propolisin antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri, lipid oksidasyonunu geciktirme ve dolayısıyla gıdaların raf ömrünü artırma potansiyeli nedeniyle gıda endüstrisi için önem arz etmektedir (51).

Propolisin kimyasal bileşimi arı türlerine, botanik kökenine, ekstraksiyon yöntemine göre değişir. Bal arıları propolis üretmek için bitkilerin çeşitli bölgelerinden salgılar kullanır. Dolayısıyla bitki kökenindeki farklılıklardan dolayı, propolisin kimyasal çeşitliliği ve karmaşık yapısı propolisin üretildiği alanın eko-florasıyla doğrudan ilgilidir. Propolisin kalitesi ise arıcılık uygulamaları, ürünün işlenmesi ve depolama koşulları gibi birçok faktöre bağlıdır (52). Farklı arı ırklarının propolis toplama amacıyla farklı bitki kaynaklarını tercih edip etmediğinin araştırıldığı bir çalışmada 4 farklı bal arısı izole edilerek aynı arılığa yerleştirilmiş, propolisleri toplanarak alkolik ekstraktları kimyasal olarak analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda propolislerin kuersetin ve ferulik asit bakımından önemli düzeyde farklılık gösterdiği görülmüştür. Farklı arı ırklarının farklı bitki kaynaklarına yöneldiği, dolayısıyla arı ırkına göre propolis içeriğinin değişebileceği gösterilmiştir (53).

Propolisin en belirgin biyofonksiyonel özelliklerinden biri bakterisidal gücüdür. Propolis doğada biyosit görevi görerek, zararlıların ve patojenlerin arılarının kovanlarına girmesini engeller. Farklı coğrafi ve botanik kökenlerden elde edilen propolisin kimyasal bileşimindeki büyük farklılıklara rağmen farklı propolislerle yapılan antimikrobiyal analizler, antibakteriyel potansiyelinin nispeten benzer kaldığını göstermiştir (16).

Propolisin antibakteriyel aktivitesi iki şekilde ele alınmalıdır. İlki mikroorganizma üzerindeki doğrudan etkisi; ikincisi bağışıklık sisteminin uyarılmasıyla organizmanın doğal savunmasının aktif hale getirilmesidir. Propolisin mekanizmalarının analiz edilmesiyle mikroorganizmanın hücre zarının geçirgenliği, zar potansiyelinin bozulması ve adenosin trifosfat (ATP) üretiminin yanı sıra bakteriyel hareketliliğin azalması üzerindeki etkisini anlamaya olanak sağlar (12).

Propolisin ve bileşenlerinin bakteri, virüs, mantar ve protozoalara karşı antimikrobiyal etkisi çalışmalarla kanıtlanmıştır (51). Fenoller, flavonoidler ve terpenler gibi hidrofobik bileşiklerin, gözlemlenen antimikrobiyal aktivitelerden sorumlu başlıca biyoaktif bileşikler olduğu bildirilmiştir (16). Propolis higroskopik özelliği ve yüksek

ozmotik basıncın etkisiyle bakteri hücrelerinden su çeker. Böylece bakterilerin ölmelerine neden olarak mikrobiyal büyümeyi engeller. Propolisin pH'ının asiditesi patojen mikroorganizmaların inhibe edilmesini sağlar (54). Propolisin *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *B. catarrhalis* ve *B. cereus*'un büyümesini tamamen inhibe ettiği gözlemlenmiştir. *P. aeruginosa* ve *E. coli*'nin büyümesini ise kısmen inhibe etmiştir. Kok ve gram-pozitif bakteriler üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Gram-negatif bakterilere karşı ise sınırlı aktivite göstermiştir. *C. albicans* ve *T. mentagrophytes* gibi mantar türlerine karşı etkili olduğu rapor edilmiştir (48).

600 farklı bakteri suşu ile yapılan bir çalışmada propolisin gram negatif bakterilerle karşılaştırıldığında gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum gram negatif bakterilerinin dış zarının türlere özgü yapısı ve propolisin aktif bileşenlerini parçalayan hidrolitik enzimlerin üretimi ile açıklanmaktadır (12). Başka bir mekanizma ise, hücre içi inhibisyon homeostazının pH'ı üzerindeki stres ile kritik metabolik yolların bozulmasıyla ilişkili olarak bakteriyel hücre zarı hasarına neden olarak ATPaz üretimini, hücre bölünmesini ve biyofilm gelişimini inhibe eden sinnamik asittir. Bununla birlikte propolisin biyolojik aktivitelerinin çoğu flavonoid bileşiklerine atfedilir. Flavonoidlerin fonksiyonlarını bozmak için çeşitli bakteri yapılarını hedef aldığına inanılmaktadır. Flavonoidlerin B halkası nükleik asit sentezini engeller (51). Dünyanın değişik bölgelerinden alınan propolislerin antimikrobiyal aktivitesi karşılaştırıldığında hem gram negatif hem gram pozitifte en yüksek aktivitenin Orta Doğu bölgesinde görüldüğü, en düşük aktivitenin ise Almanya, İrlanda ve Kore'den alınan propolislerde görüldüğü sonucuna varılmıştır. Bunun nedeni propolisin aktivitesinin kimyasal bileşimine bağlı olmasıdır ve bu her ülkede farklılık gösterir (12).

2.6. Propolisin Kullanım Alanları

Propolis ve ekstraktları anti inflamatuvar, antiseptik, antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antimikotik, antiülser, antikanser ve immünomodülatör özelliğinden dolayı çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılır (13). Propolis hakkındaki araştırmalar anestezi, yaşlanma karşıtı, antikanserojenik, antidiyabetik, antihipertansif, antiprotozoal, antiviral, yara iyileştirici, sitotoksik ve hepatoprotektif gibi çok çeşitli biyolojik etkilerini de ortaya koymuştur (55). Farklı çalışmalar propolisin organizmanın bağışıklık sistemini güçlendirmedeki rolünü de ortaya koymuştur (56).

Propolis diş hekimliği alanında da diş hassasiyetini azaltmada, diş çürüklerinin ve diş eti hastalıklarının önlenmesinde, plak oluşumunu azaltmada kullanılır. Diş macununun içeriğine eklenerek ağız mikrobiyotasını düzeltmeye yardımcı olur. (57). Propolisli ağız bakım sularının alternatif olarak kullanılabileceği ve diş eti altı irritasyonu için kullanıldığında mikrobiyolojik ve klinik parametrelerde konvansiyonel tedaviye göre daha iyi iyileşme elde edildiği gösterilmiştir (58).

Propolisin anestezik özelliğinden dolayı erken semptomatik rahatlama sağladığından tekrarlayan vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde kullanılabilmektedir. Ayrıca kırmızı propolisin kandida türlerine karşı mantar önleyici özelliğinin olduğu gösterilmiştir (59).

Propolis antiviral özelliği sayesinde bitkiler, hayvanlar ve insanlarda virüslerin neden olduğu enfeksiyonların gelişmesinde engelleyici etkide bulunur. Aralarında herpes simplex virüs (tip 1 ve 2), adenovirus tip 2, kabarcıklı ağız iltihabı virüsü ve poliovirus (tip 2)'nin de bulunduğu çeşitli DNA ve RNA virüslerine karşı laboratuvar ortamında etkili olduğu bildirilmiştir (60).

COVID-19 tedavisi gören hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada gıda takviyesi olarak propolis verilen hastalarda pozitif etki görüldüğü bildirilmiştir. Propolis verilen hasta grubunun biyokimyasal parametrelerinde hızlı bir iyileşme ve hastanede kalış sürelerinin azaldığını gözlemlenmiştir (61).

İnsan tüketimi için üretilen gıdalar üzerinde yapılan çalışmaların yanı sıra hayvan yemlerinde propolisin katkısı üzerine yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada propolis katkılı yemlerin yem verimliliğini artırdığı, tavuk ve ördeklerde büyümeyi hızlandığı ve vücut ağırlığını olumlu etkilediği bildirilmiştir (62).

Propolis, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri bir arada içeren, toksisitesi düşük doğal bir madde olduğundan koruyucu katkı maddesi olarak besinlere eklenebilmektedir. Böylece ürünün stabilitesinin korunması, oluşabilecek patojenlerin önlenmesi, saprofit mikrobiyotanın azaltılması ve raf ömrünün uzatılması gibi etkiler gösterebilmektedir (63).

Propolis günümüzde kozmetolojide, gıda endüstrisinde, içeceklerde ve besin takviyelerinde ve fonksiyonel gıdalarda bir bileşen olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (64). Gıda ve içeceklerde doğal koruyucu olarak ve biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak

yer almaktadır. Raf ömrünü ve tüketicinin sağlığını iyileştirici özelliğinden dolayı doğal bir ürün olarak popülerlik kazanmaktadır. Ticari olarak kapsül, tablet, sulu veya etanol ekstraktı, ham propolis gibi farklı formlarda satışa sunulmaktadır (65).

2.7. Propolisin Ekstraksiyonu

Propolisin arı kovanının steril olması ve sağlığındaki fonksiyonu düşünüldüğünde, propolisteki biyoaktiflerin koruyucu özellikleri insan sağlığına dikkat çekici faydalar sağlamaktadır. Son yıllarda bildirilen faydaları nedeniyle dikkatleri üzerine çekmiştir, bu da propolisi potansiyel bir koruyucu ve tedavi edici ajan haline getirmiştir. Fakat büyük moleküler ağırlığa sahip bir kompleks içinde lipitler, balmumu ve reçinelerden oluştuğundan bu durum zayıf biyoyararlanım ve emilime neden olur (66). Propolisin ticari kullanımı genellikle sıvı ekstraktlardan hazırlanır. İşlenmemiş propolis parçalar halinde kullanılabilir, dondurulabilir veya kırılıp ince toz haline getirilebilir. Saf propolis çiğnenebilir fakat küçük miktarlarda tüketilmelidir. Aksi takdirde mide rahatsızlıklarına neden olabilir (26). Ayrıca propolis içerdiği bazı inert maddelerden dolayı doğal haliyle tüketilmemektedir. Bunun yerine genellikle inert malzemenin uzaklaştırılması ve polifenolik içeriğin zenginleştirilmesi için çözücüler ile saflaştırılır (28). Ham propolis genellikle bir çözücü ile işlenir ve sonucunda ortaya çıkan ekstrakt kullanılır (26).

Ham propolisin ekstraksiyona hazırlanması için öncelikle içinde bulunabilecek odun parçaları, ölü arılar gibi maddelerin uzaklaştırılması gerekmektedir. Daha sonra çözücü ile temasın yüzeyini artırmak ve aktif bileşenlerin çözünmesini sağlamak için küçük parçalara ayrılmalı veya ince toz haline getirilmelidir (4). Propolisteki hassas biyoaktif bileşiklerin benzersiz yapısal özelliklerini ve biyoterapötik işlevlerini korumak için, ekstraksiyon işleminin ılımlı sulu koşullar altında gerçekleştirilmesi gerekir. Ancak suyun ekstraksiyonda kullanılması çok daha düşük ekstraksiyon verimliliği ile ilişkili olduğundan, arı propolisi için geleneksel su bazlı ekstraksiyon stratejileri benimsenmemektedir. Biyoaktif bileşiklerin lipofilik yapısı, ekstraksiyon etkinliğini daha da engelleyerek sulu ortamda çözünmesini önlemektedir. Bunun yerine organik çözücülerle maserasyon propolisin ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır (16).

Maserasyon yöntemi ekstraksiyon için en sık kullanılan geleneksel yöntemlerden biridir. Ses dalgalarının belirli bir frekansta gönderilmesi ile biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu hedefleyen ultra ses destekli ekstraksiyon; mikrodalga enerjisini

kullanarak çözücünün ısıtılması ile bileşenlerin ekstrakte edildiği mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri de bulunmaktadır. Çözücü olarak güvenli ve düşük maliyetli olan, çevre dostu ve yeşil çözücülerin kullanıldığı sanayi uygulamalarında tercih edilen süper kritik CO₂ ekstraksiyonu da propolis ekstraksiyonunda kullanılan diğer bir yöntemdir (34). Ultrason destekli çalkalamalı ekstraksiyonun kullanımının, geleneksel çalkalamalı ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha üstün sonuçlar verdiği bulunmuştur. Geleneksel maserasyon ekstraksiyonu ve Soxhlet ekstraksiyondan, ultrason ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ve yüksek basınç yöntemleri gibi ileri metodolojiler araştırılmaktadır (16).

Ekstraksiyon yöntemi, elde edilen bileşen türleri ve ekstraksiyon ürünleri açısından kritik bir rol oynar. Etanol, etil eter, metanol ve kloroform gibi organik çözücüler en sık kullanılanlarıdır (67). Yüksek biyolojik aktiviteye sahip etanolik propolis ekstraktlarına ek olarak su ve zeytinyağı başta olmak üzere bitkisel yağ, uçucu yağ, çoklu alkoller gibi çözücüler de propolis ekstraksiyonunda kullanılmaktadır (68). Propolis polar ve polar olmayan bileşiklerin bir karışımı olduğundan en uygun ekstraksiyon hidroalkolik çözeltilerde gerçekleşmektedir. Bazı bileşiklerin lipofilik özelliğinden ve sudaki düşük çözünürlüğünden dolayı ticari propolisler genellikle etanol veya glikol bazlıdır (8). Verimli ekstraksiyon kabiliyetine rağmen etanolün yoğun aroması ve sık alkol tüketimiyle ilişkili sağlık etkileri gibi olumsuzlukları bulunmaktadır. Alternatif olarak memeli hücreleriyle mükemmel biyoyumumluluğu nedeniyle ticari propolisin hazırlanmasında ana ekstraksiyon çözücüsü olarak propilen glikol de tercih edilir. Propilen glikol genel olarak biyomedikal uygulamalar için güvenli ve kabul görmüş bir madde olarak sayılsa da, bu tür sentetik kimyasal reaktiflerin ürünlere dahil edilmesi genellikle halk tarafından dirençle karşılanmaktadır. Sağlık bilincinin ve doğal ürünlere olan ilginin artmasıyla birlikte, bu tür kimyasal reaktiflerin doğal yeşil çözücülerle değiştirilmesine yönelik talep de artmaktadır (16).

Ekstraksiyon yöntemi ve çözücü çeşidi kadar kullanılan propolisin kaynağı da büyük önem arz etmektedir. Elde edildiği bölgenin florasına göre polifenolik maddelerin konsantrasyonu değiştiğinden antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri değişiklik göstermektedir. Bu konuda yapılan, Türkiye'nin on farklı bölgesinden toplanan propolis örneklerinde fenolik bileşen ve biyolojik aktivite özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada oda sıcaklığında 24 saat ekstraksiyon sonucu hazırlanan metanolik

ekstraktlarının antioksidan aktivitesi incelenmiş ve değerlerin 182.12 ile 325.47 μM Trolox/g aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde içeriklerinin 115.49 ile 210.33 mg GAE/g aralığında olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde ise Ereğli propolisin diğer propolislerden daha yüksek etki gösterdiği görülmüştür (69).

Ham propolisten propolis ekstraktı hazırlama üzerine patentli bir buluş çalışmasında biyoaktif potansiyeli yüksek sulu propolis ekstraktı hazırlanması amacıyla dört aşamadan oluşan bir ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Bu aşamalar ana hatlarıyla mum giderimi (dewax) işlemi, ekstraksiyon işlemi, filtrasyon ve evaporasyon işlemlerinden oluşmaktadır. Yıkanan ham propolis elek üzerine serilerek rulo haline getirildikten sonra bir kap içine yerleştirilir. Üzerine rulo seviyesinde su doldurularak sabit sıcaklıkta ısıtılır ve soğutulur. Soğutma sonrası su yüzeyinde oluşan mum ve diğer reçineler uzaklaştırılır. Rulo açılarak propolis aynı suya boşaltılıp sabit sıcaklıkta ekstraksiyona tabi tutulur. Ekstraksiyon sırasında ortam önce asitlendirilir, sonra bazik ortama dönüştürülerek çözeltinin ilk baştaki pH değerine geri getirilmesi sağlanır. Daha sonra çözelti süzülerek ekstrakt elde edilir ve evaporasyon işlemi ile ekstraktın konstre hale gelmesi sağlanır (70).

Bir başka patentli buluş çalışmasında propolis ekstraktının aktif madde içeriğinin düşük olması ve endüstriyel seri üretim için uygun olmaması gibi problemlere ilişkin yeni bir ekstraksiyon hazırlama yöntemi sağlanması amaçlanmıştır. Bu yöntemde öncelikle ham propolis parçalanır. Ham propolis etanol oranı %70'in üzerinde olan etanol-su karışımında ekstrakte edilir. Elde edilen ekstrakt konsantre hale getirilir. Dondurulduktan sonra etanol konsantrasyonu %70'in üzerinde olan etanol-su çözeltisi içinde dağıtılır, filtrelendir ve elde edilen süzüntü konsantre edilir. Konsantre propolis solüsyonu ile silika jel karıştırılarak solüsyondaki aktiflerin silika jel tozuna absorbe olması sağlanır ve silika jel absorpsiyon tozu kurutulur. Kurutulan toz önce petrol eterinde; sonra aseton ve petrol eterinin 2:1'den düşük hacim oranına göre karıştırılmasıyla oluşan bir çözücüde, son olarak aseton ve petrol eterinin (2-4):1 hacim oranına göre karıştırılmasıyla hazırlanan çözücüde ekstrakte edilerek son ekstrakt toplanıp konsantre edilir. Propolis ekstraktının renginin giderilmesi, filtrelenmesi ve konsantre edilmesiyle rafine propolis ekstraktı elde edilir (71).

2.8. Çözücüler

2.8.1. Saf Su

Su yaşam için gerekli olan, hidrojen ve oksijenden oluşan, berrak ve toksik olmayan bir maddedir. Molekül formülü H_2O şeklindedir (72). Su molekülü kovalent bağlarla bağlanan bir oksijen ve iki hidrojen atomu içerir. Oda sıcaklığında sıvıdır (73). Kaynama noktası $100\text{ }^{\circ}C$, erime noktası $0\text{ }^{\circ}C$ 'dir (74).

Su, evrensel çözücü olarak bilinir. Çünkü diğer çözücülere göre suda daha fazla madde, değişik derecelerde çözünür. Bunun nedeni su molekülünün benzersiz polaritesi ve hidrojen bağlarıdır. Bu sayede nötr organik moleküllerle reaksiyona girebilir ve diğer moleküllerle hidrojen bağı kurabilir. Bu özelliği nedeniyle laboratuvarlarda su kalitesi çok önemlidir çünkü suya ihtiyaç duyulan her yerde suyun reaktivitesi dikkate alınmalıdır (75).

Su, laboratuvar ortamında kullanıma uygun hale getirmek ve safsızlıkları gidermek için mekanik olarak filtrelendiğinde veya işlendiğinde saf su elde edilir. Yüksek saflıkta su kullanımı doğruluk ve hassasiyeti etkileyebilecek kirletici maddeleri ortadan kaldırarak tekrarlanabilir deney ve işlemlerden güvenilir sonuçlar elde etmek için gereklidir. Ayrıca hassas laboratuvar ekipmanlarının ve analitik cihazların güvenli ve etkili performansının sağlanmasında da gereklidir.

Saf su, kullanılacağı uygulamaya bağlı olarak Tip I, Tip II ve Tip III olmak üzere kendi saflık özelliklerine sahip olan 3 gruba ayrılır.

Tip I su, suyun en saf halidir. Genellikle “ultra saf su” olarak anılır. Kritik uygulamalarda, hassas prosedürlerde, analitik laboratuvarlarda kullanılır. Gaz kromatografisi, akış sitometrisi, moleküler biyoloji, sıvı kromatografisi, polimeraz zincir reaksiyonu, atomik absorpsiyon spektroskopisi ve toplam organik karbon analizinin yanı sıra hücre ve doku kültürü prosedürlerinde kullanılır. Moleküler biyolojide numune seyreltme ve reaktif hazırlamada kullanılabilir. Kontaminasyona duyarlı prosedürler için idealdir. Kolaylıkla kontamine olabileceğinden tanklarda, plastik şişelerde vb. saklanmamalıdır, çünkü saklandığı konteynerden veya çevresindeki atmosferden organik kirlenmeye maruz kalabilir. Ultra saf su elde etmek için, genellikle ultra saf su sistemleri kullanılarak su saflaştırma işlemine tabi tutulur. Tip I saf suya ulaşmak için suyun direncinin $18\text{ M}\Omega\text{-cm}$ 'den büyük, iletkenliğin 0.056 QS/cm 'den küçük ve toplan organik

karbon içeriği 50 ppb'den az olmalıdır. Çalışmamızda çözücü olarak tip I saf su kullanılmıştır.

Tip II saf su laboratuvar kalitesinde su olarak bilinir. Saflık düzeyi yüksektir. Tampon preparatları, numune seyreltme, mikrobiyolojik analiz, pH çözeltisi hazırlama ve elektrokimya gibi standart uygulamalar, testler ve prosedürler için kullanılır. Tip II suda direnç 1 MΩ-cm'den büyük, iletkenlik 1 QS/cm'den küçük, toplam organik bileşik içeriği 50 ppb'den az olmalıdır.

Tip III su birincil dereceli su olarak kabul edilir ve diğer tiplerle karşılaştırıldığında en düşük saflık seviyesine sahiptir. Bu nedenle genel ve kritik olmayan işler için veya tip I ve tip II su için ilk aşama olarak kullanılır. Temel laboratuvar uygulamaları; cam eşyalar, ısıtma banyoları vb. bilimsel ekipmanların temizliği için uygundur. Otoklavlarda besleme suyu olarak ve tip I su üretiminde kullanılabilir. Tip III su için direnç 4 MΩ-cm'den büyük, iletkenlik 0.25 QS/cm'den küçük, toplam organik bileşik içeriği 200 ppb'den az olmalıdır (76).

2.8.2. Etanol

Etanol primer bir alkoldür. Etanın hidrojenlerinden birinin hidroksil grubuyla değiştirilmesiyle oluşur (77). Molekül formülü C₂H₆O şeklindedir (78). Kaynama noktası 78.5 °C, erime noktası -114.1 °C'dir (54). Molekül ağırlığı 46.07 g/mol'dür (77). Berrak ve renksiz bir sıvıdır. Karakteristik şarapsı kokusu ve keskin bir tadı vardır (79). Buharı havadan daha ağırdır. Son derece yanıcıdır. Suda her oranda çözünür (79).

Propolis ekstraktlarının hazırlanmasında en çok kullanılan çözücülerden biri etanoldür. En çok çalışmanın etanol ekstraktları üzerinde yapıldığı görülmüştür (80). Polifenoller genellikle polaritesi sudan daha az olan organik çözücülerde daha fazla çözünürler. Yapılan bir çalışmada, kullanılan çözücülerden polaritesi en yüksek ve en düşük olanlarda fenolik asit ve flavonollerin içeriğinin düşük olduğu görülmüştür (81). Etanolün polaritesi propolis ekstraksiyonu için uygun aralıktadır (68).

Çok etkili bir çözücü olmasıyla birlikte nispeten agresif olduğundan hamile ve emziren kadınlar, çocuklar, bazı hastalar ve veteriner uygulamaları için uygun değildir. Bununla birlikte ekstraktlardaki yüksek balmumu içeriği nedeniyle farmasötik, kozmetik, veterinerlik ve ağırlıklı olarak su içeren diğer ürünlerin üretimi için uygun değildir (80).

Antiseptik ilaç, polar çözücü, merkezi sinir sistemi depresanı, teratojenik ajan, dezenfektan, diüretik, insan metaboliti olma rolü vardır (77, 82). Gastrointestinal sistemden hızla emilir ve vücuda dağıtılır. Bakterisidal aktiviteye sahiptir. Topikal dezenfektan olarak kullanılır. Farmasötik preparatlarda çözücü ve koruyucu olarak kullanılır (77). Belirli karbonhidratların fermentasyonu ile hazırlanan uçucu bir sıvıdır. Alkollü içecekler ile bazı ilaçlarda, gargaralarda, ev ürünlerinde ve uçucu yağlarda (bitkilerden alınan kokulu sıvı) bulunan kimyasal bir maddedir (82).

2.8.3. Polietilen Glikol

Etilen glikol, suyu absorbe eden sentetik bir sıvı maddedir (83). Kokusuzdur, tatlı bir tadı vardır. Berrak ve renksiz bir sıvıdır (84). Viskoz yapıdadır. Glikol ailesinin en basit organik kimyasal grubuna aittir. Bir hidrokarbon zincirinde bitişik pozisyonlarda iki hidroksil grubu ile karakterizedir (85). Molekül formülü $C_2H_6O_2$ şeklindedir. Kaynama noktası $197.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, erime noktası $-12.69\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir (86). Molekül ağırlığı 62.07 g/mol 'dür. Yanıcı bir maddedir (84). Araba, uçak ve tekneler için antifriz ve buz çözücü solüsyonların yapımında kullanılır. Ayrıca hidrolik fren sıvılarında ve mürekkeplerde da kullanılır (83). Nispeten uçucu olmayan bir sıvıdır. Suyla tamamen karışabilir (85).

Polietilen glikoller (PEG) kurucu monomer veya ana moleküle (etilen glikol, etilen oksit, oksietilen) göre etilen glikol birimlerinin tekrarlayan polieter bileşiklerinden oluşur (87). Çeşitli türevlere ve işlevlere sahip olabilen, yoğunlaştırılmış etilen oksit ve su ürünleridir (88). Çoğu geniş veya dar olarak tanımlanmış moleküler ağırlık aralıklarında farklı oligomer boyutlarının karışımları şeklinde ticari olarak temin edilebilir. Kozmetikte yüzey aktif maddeleri, temizleme ajanları, emülgatörler, cilt yumuşatıcı ve nemlendirici olarak kullanılmaktadır. İlaç endüstrisinde kapsül, tablet ve hap bağlayıcılar, fitiller ve sıvı reçetelerdeki ilaçlar için merhem bazı veya aracı olarak kullanılırlar. Sabun, deterjan, ahşap koruma, baskı ve kimyasal karışımlarda uygulamaları vardır. Tekstil, kauçuk, kâğıt, deri, plastik, reçine, seramik, metal, cam ve petrol endüstrilerinde kullanılır (87).

2.8.4. Monopropilen Glikol

Propilen glikol, suyu absorbe eden sentetik bir sıvıdır (89). Doğada oluşmaz (90). Molekül formülü $C_3H_8O_2$ şeklindedir. Molekül ağırlığı 76.09 g/mol 'dür (89). Kalın yapılı, kokusuz ve renksiz bir sıvıdır (91). Kaynama noktası $188.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, erime noktası $-59\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir (92). Propilenin klorlu su ile muamele edilerek klorohidrin oluşturulması, oluşan klorohidrinin ise sodyum karbonat çözeltisi ile muamele edilmesiyle glikole

dönüştürülmesiyle elde edilir. Ayrıca gliserolün sodyum hidroksit ile ısıtılmasıyla da hazırlanır (90).

ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından propilen glikolün gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetiklerde kullanımı güvenli kabul edilmektedir. Çözücü, hümektan, antifriz özelliği ve düşük toksisite seviyesi ticari ve endüstriyel ürünlerde yaygın bir şekilde kullanılmasına yol açmıştır (93).

Propilen glikol polyester bileşikleri yapmak kullanılır. Buz çözücü çözeltiler için baz olarak kullanılır. Kimya, gıda ve ilaç endüstrilerinde sızıntının gıdayla temasa yol açabileceği durumlarda antifriz olarak kullanılır. Bazı ilaç, kozmetik veya gıda ürünlerinde fazla suyu absorbe etmek ve nemi korumak için kullanılır. Gıda boyaları ve gıda aromaları ile boya ve plastik endüstrisinde kullanılan bir çözücüdür. Yangınla mücadele eğitimlerinde ve tiyatro prodüksiyonlarında kullanılan yapay duman veya sisi oluşturmak için kullanılır (94).

2.8.5. Gliserol

Gliserol 1, 2 ve 3 pozisyonlarında hidroksi grupları ile ikame edilen propan yapısına sahip bir trioldür (95). Renksiz ila kahverengi renkli bir sıvıdır. Higroskopiktir. Suda çözünür (96). Molekül formülü $C_3H_8O_3$ şeklindedir. Kaynama noktası 290 °C, erime noktası 18 °C'dir (97). Molekül ağırlığı 92.09 g/mol'dür (95).

Gliserol mikrobiyal fermentasyondan, sentetiklerden, petrokimyasal hammaddelerden, sabun üretiminin sabunlaşma reaksiyonundan, biyodizel üretiminde transesterifikasyon reaksiyonundan elde edilebilir (98).

Gliserol çözücü, hümektan, akışkanlaştırıcı, yumuşatıcı, tatlandırıcı olarak kullanılırlar. Nitrogliserol, kozmetik, likör, şekerleme, karartma, baskı ve fotokopi mürekkepleri, yağlayıcı madde, elastik yapıştırıcılar, kurşun oksit çimentolarının imalatında yer alırlar. Kumaşları esnek tutmak için, pamuk üzerindeki baskıyı korumak için; arabalarda ön camın donmasını önlemek için, antifriz olarak gaz sayaçlarında ve hidrolik krikolarda, amortisör sıvılarında kullanılır. Gliserol sabun, deterjan ve glikol esterleri gibi ürünlerin imalatı için endüstriyel uygulamalarda ara ürün olarak kullanılır. İlaç, tütün, yiyecek ve içecekler gibi tüketici ürünlerinde bulunduğu gibi boya, reçine ve kâğıt gibi çok sayıda başka üründe de bulunur (95).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Çözücüler

Propolis ekstraksiyonunda ultra saf su sisteminden elde edilen saf su, %75 etanol (Smyras, İzmir/Türkiye, CAS-No:64-17-5), %50 polietilen glikol (PEG) (Tekkim, Bursa/Türkiye, CAS-No:25322-68-3), %50 monopropilen glikol (MPG) (Tekkim, Bursa/Türkiye, CAS-No: 57-55-6) ve %50 gliserol (Tekkim, Bursa/Türkiye, CAS-No.56-81-5) çözücü olarak kullanılmıştır. Kullanılan çözücüler gıda saflığındadır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlara ait marka/model bilgileri tabloda belirtilmiştir.

Tablo 2. Kullanılan cihazlar ve marka/model bilgileri

Cihaz	Marka/Model	Üretildiği Ülke
Isıtıcıli manyetik karıştırıcı	Heidolph MR 3001	Almanya
Vorteks karıştırıcı	Weightlab Instruments WN-2800	Türkiye
Vorteks karıştırıcı	Starlab N2400-6010	Çin
Çalkalamalı inkübatör	Mikrotest MCI-55	Türkiye
Hassas terazi	Ohaus PA214C	Amerika Birleşik Devletleri
Hassas terazi	Precisa 321LX 320A	İsviçre
UV-Visible spektrofotometre	Thermo Fisher Scientific Evolution 201	Çin
Buharlaştırıcı	IKA RV 05 Basic	Almanya
HPLC dedektörü	Shimadzu LC 20AT	Japonya
Ultra saf su sistemi	Merck Direct-Q 3 UV	Almanya

3.3. Propolis Temini ve Ekstraktların Hazırlanması

Araştırmamızda Trabzon, Giresun, Gümüşhane illerinden toplanan 40-50 parti propolis örnekleri bölge farklılığının etkisini ortadan kaldırıp homojen bir örnek profili oluşturmak adına harmanlanıp öğütülerek küçük parçalar haline getirilmiştir. Öğütülen propolisin saf su, %75 etanol, %50 PEG, %50 MPG ve %50 gliserol çözücüleri kullanılarak ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraktlar her bir çözücü için 30 g propolisin 45 °C’de 12 ve 36 saat süre ile inkübasyonu şeklinde hazırlanmıştır.

Saf su, %75 etanol (100 mL’de 75 mL etanol+25 mL saf su), %50 PEG (100 mL’de 50 mL PEG+50 mL saf su), % 50 MPG (100 mL’de 50 mL MPG+50 mL saf su) ve %50

gliserol (100 mL’de 50 ml gliserol+50 mL saf su) ekstraktları hazırlanırken 30 g’lık propolis örnekleri çözücü ile 100 mL’ye tamamlanmıştır. Çalkalamalı inkübatörde 130 rpm devirde ilgili süre ve sıcaklıkta karıştırmaya bırakılmıştır. Süre sonunda süzdürülerek elde edilen ekstrakt cam şişeye konularak buzdolabı koşullarında (+4 °C) saklanmıştır.

Tablo 3. Hazırlanan propolis ekstraktları

Örnek adı	Çözücü	Derece (°C)	Zaman (saat)	Miktar (g)
PS ₁	Saf su	45	12	30
PS ₂	Saf su	45	36	30
PE ₁	Etanol	45	12	30
PE ₂	Etanol	45	36	30
PP ₁	PEG	45	12	30
PP ₂	PEG	45	36	30
PM ₁	MPG	45	12	30
PM ₂	MPG	45	36	30
PG ₁	Gliserol	45	12	30
PG ₂	Gliserol	45	36	30

3.4. Analiz Metotları

3.4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayininin esası fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır (99). Bu yöntem genel karşılaştırmalı sonuçlar verir, ancak farklı bileşik veya fenolik sınıflarının belirlenmesi spesifik değildir (100). Reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayracın oluşturduğu mavi rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle, analizi yapılan örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarı hesaplanmaktadır. Oluşan kompleksin absorbanşı fenolik maddelerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olup, 760 nm’de absorbanş vermektedir.

Yapılan çalışmada, standart grafiğin hazırlanmasında fenolik bir madde olan gallik asit standardı kullanılmıştır (99). Gallik asitin (1 mg/mL) farklı konsantrasyonları (0.5; 0.25; 0.125; 0.0625; 0.03125 ve 0.015625 mg/mL) hazırlanıp, absorbanş değerleri belirlendikten sonra kalibrasyon eğri çizilmiştir.

Örnekten 20 µL alınıp 400 µL 0.2 N Folin Reaktifi, 680 µL saf su, 400 µL %10’luk Na₂CO₃ eklenerek tüpler vortekslelendikten sonra 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda 760 nm’de köre karşı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Her örnekten 3 tüp hazırlanmıştır.

Çizilen kalibrasyon eğrisine göre numunelerin toplam fenolik madde miktarı bulunup, seyreltme faktörleri de dikkate alınarak propolis örneklerinin mg GAE (Gallik asit eşdeğeri)/mL cinsinden fenolik madde içeriği tespit edilmiştir.

3.4.2. FRAP (Fe (III) İndirgeme Antioksidan Kapasite) Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

Bu yöntemde Fe (III)-TPTZ (2,4,6- tripiridil s-triazin) kompleksinin sulu çözeltiye antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu mavi renkli Fe (II) formuna indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Bu kompleks koyu mavi renklidir ve absorpsiyon maksimumu 593 nm'dir (101).

Deney sonuçları standart antioksidan Trolox®'un konsantrasyonları ile (1000 µM, 500 µM, 250 µM, 125 µM, 62.5 µM) karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Antioksidan aktivite tayini için asetat tamponu, 40 mM HCl, 10 mM TPTZ, 20 mM FeCl₃6H₂O ve FRAP reaktifi hazırlanmıştır.

Örnekten 50 µL alınarak 1.5 mL FRAP reaktifi eklenip vortekslendikten sonra 37 °C'de 4 dakika süre ile inkübe edilmiştir. Her örnekten 3 tüp hazırlanmıştır. Çözeltinin absorbansı 593 nm'de köre karşı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

3.4.3. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi

Bu metot DPPH• radikalinin antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonuna bağlı olarak süpürülmesi temeline dayanır (101). Metanolik DPPH• çözeltisinin koyu menekşe rengi açılır ve absorbanstaki azalma spektrofotometrik olarak 517 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar süpürme hızı (%)=[1-(A/A₀)]×100 'ya göre hesaplanarak verilmiştir (A: numunenin absorbansı; A₀= kör çözeltinin absorbansı) (102).

750 µL örneğe 100 µM'lık DPPH• çözeltisinden 750 µL eklenerek vortekslenip oda sıcaklığında 40 dakika bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı 517 nm'de köre karşı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

3.4.4. Toplam Flavonoid Tayini

Flavonoidler, önemli antioksidan ve şelatlayıcı özelliklere sahip bitki fenoliklerinin bir sınıfıdır (103). Fenolik bileşiklerden flavonollerin tayini Fukumoto ve Mazza (2000)'ya göre yapılmıştır (104).

60 µL örnek alınarak 540 µL metanol ve 600 µL %2'lik AlCl₃ eklenip vorteksenerek oda sıcaklığında 30 dakika süre ile inkübe edilmiştir. Her örnekten 3 tüp hazırlanmıştır. Çözeltinin absorbansı 415 nm'de köre karşı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standart olarak 1 mg/mL kuersetin kullanılmıştır.

3.4.5. RP-HPLC-PDA ile Fenolik Bileşiklerin Tayini

Propolis ekstraktları evaporatörde uçurulduktan sonra pH'sı 2'ye ayarlı suda çözülerek dietileter ve etil asetat ekstraksiyonu uygulanmış ve organik çözücüler uçurulmuştur. Kalıntı uygun miktarda metanol ile çözülerek RP-HPLC-PDA ile analiz edilmiştir.

RP-HPLC-PDA analizleri için 26 adet fenolik standart; gallik asit, protokatekuik asit, klorojenik asit, kateşin hidrat, *p*-OH benzoik asit, epikateşin, kafeik asit, vanilik asit, şiringik asit, *p*-kumarik asit, rutin, ellagik asit, ferulik asit, mirisetin, daidzein, luteolin, kuersetin, *t*-sinnamik asit, naringenin, apigenin, hesperetin, ramnetin, krisin, pinosembrin, CAPE ve galangin kullanılmıştır. Protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, vanilik asit, rutin, ellagik asit, daidzein standartlarının kalibrasyonu için 250 nm; gallik asit, kateşin hidrat, epikateşin, şiringik asit, *t*-sinnamik asit, naringenin, hesperetin, krisin, pinosembrin standartlarının kalibrasyonu için 280 nm; klorojenik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, apigenin, CAPE standartlarının kalibrasyonu için 320 nm; mirisetin, luteolin, kuersetin, ramnetin, galangin standartlarının kalibrasyonu için 360 nm dalga boyu kullanılmıştır. Her bir standardın konsantrasyonuna karşı, oluşan pik alanları iç standardın pik alanına bölünerek oluşan oran kullanılarak kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir.

RP-HPLC-PDA analizlerinde 200-800 nm dalga boyu aralığında eş zamanlı analiz yapabilen Shimadzu LC 20AT HPLC cihazı kullanılmıştır. Analizler ters faz C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm; GL Sciences) kolonda ve asetonitril, su ve asetik asitle gradient program uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL'ye, akış hızı 1 mL/dk'ya ve kolon sıcaklığı kolon fırınında 30 °C'ye ayarlanmıştır (105).

3.4.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Propolis ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi gram-pozitif (*S. aureus*, *S. epidermidis* ve *B. cereus*), gram-negatif (*E. coli*) bakteri ve maya (*C. albicans*) suşlarına karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile belirlenmiştir (106). *C. albicans* için potato dekstroza agar (PDA) ve bakteriler için Mueller-Hilton Agar besiyeri kullanılmıştır. 10⁷

kob/mL mikroorganizma içeren süspansiyonlar steril pamuklu çubukla besiyerinin yüzeyine homojen şekilde yayılmıştır. Petrilere 6.82 mm çaplı kuyucuklar açılmış ve kuyucuklar 50 µL propolis ekstraktları ile doldurulmuştur. Kuyucuklar etrafındaki inhibisyon zonu bakteriler için 37 °C ve maya için 25 °C'de 24 saat inkübasyon süresi sonunda ölçülmüştür.

3.4.7. Stabilité Çalışmaları

Farklı çözücülerle hazırlanan propolis ekstraktlarının 0.gün analizleri yapıldıktan sonra hızlandırılmış raf ömrü çalışması yapılmıştır. Bunun için Q₁₀ kuralından faydalanılmıştır. Q₁₀ bir reaksiyonun sıcaklık duyarlılığı olarak tanımlanmaktadır. 10°C'lik sıcaklık artışında reaksiyonun hızının artışı veya raf ömründeki azalmayı açıklar. Birçok gıda için kalite ve besin kayıplarını öngörmede kullanılmaktadır.

Sıcaklık ve süre arasındaki ilişkiyi belirlemek için “Eşitlik 1” denklemi kullanılmıştır (107).

$$t_2 = t_1 \times Q_{10}^{\frac{T_1 - T_2}{10}} \quad (\text{Eşitlik 1})$$

“Eşitlik 1” denkleminde t₁ değeri normal sıcaklıkta hedef raf ömrünü, t₂ değeri yüksek sıcaklıkta bekletilmesi gereken süreyi, T₁ normal sıcaklığı, T₂ ise test sıcaklığını ifade etmektedir. Yüksek sıcaklıkta bekletilmesi gereken süre olan t₂ değerini bulabilmek için; ticari propolis ekstraktlarının raf ömrü 25 °C'de 3 yıl olarak alındığından t₁ değeri 3 ve T₁ değeri 25 olarak alınmıştır. Gıdalar üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle Q₁₀ değeri 3 olarak alındığından çalışmamızda da aynı değer kullanılmıştır (108, 109). T₂ değeri ise 65 olarak belirlenmiştir. Yapılan hesaplama sonucunda hızlandırılmış raf ömrü çalışması için ekstraktlar 13.5 gün boyunca 65°C sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Analizler tekrarlanarak başlangıç değerleri ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerler karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda her bir örneğin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite değerleri kendi arasında karşılaştırılmıştır.

3.5. İstatistiksel Analizler

Tez çalışması kapsamında elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS Version 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin istatistiksel farklılığının ortaya konulmasında One-way

ANOVA ve bağımlı örneklem t-testi kullanılmıştır. Yapılan istatistiksel analizde $p \leq 0.05$ değeri anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Propolis Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Toplam fenolik madde tayini sonucu elde edilen veriler Tablo 4'te gösterilmiştir. Fenolik madde içeriğinin başlangıç değerleri incelendiğinde ekstraktların tümünde 12 saatlik ekstraksiyonlar ile 36 saatlik ekstraksiyonlar arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0.05$). 36 saatlik ekstraktların 12 saatlik ekstraktlara kıyasla daha yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Çözücüler arasında en düşük değerlerin saf su ve gliserol ekstraktlarında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek fenolik madde içeriği ise etanol ve PEG ekstraktlarında gözlemlenmiştir.

Hızlandırılmış stabilite sonrası değerler incelendiğinde saf su, etanol, PEG ve MPG çözücülerinin 12 ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0.05$). 36 saatlik ekstraktların 12 saatlik ekstraktlara kıyasla daha yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Çözücüler arasında en düşük değerlerin saf su ve gliserol ekstraktlarında, en yüksek değerlerin ise etanol ve PEG ekstraktlarında olduğu görülmüştür.

Başlangıç değerleri ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerler karşılaştırıldığında PS₂ ve PG₂ örneklerinde anlamlı farklılık olmadığı, ancak diğer örneklerin tümünde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0.05$). Toplam fenolik madde miktarının hızlandırılmış stabilite sonrasında başlangıç değerlerine kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir.

Tablo 4. Propolis ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri

Örnek adı	Çözücü	Zaman (saat)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/mL)	
			Başlangıç Değeri	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer
PS ₁	Saf su	12	0.67±0.01 ^{aA}	0.37±0.01 ^{aB}
PS ₂		36	1.21±0.01 ^{abA}	0.86±0.03 ^{abA}
PE ₁	Etanol	12	23.13±1.03 ^{hA}	13.74±0.32 ^{hB}
PE ₂		36	27.40±0.17 ^{iA}	23.62±0.16 ^{iB}
PP ₁	PEG	12	15.77±0.25 ^{fA}	9.90±0.82 ^{fB}
PP ₂		36	17.29±0.00 ^{gA}	12.57±0.00 ^{gB}
PM ₁	MPG	12	5.78±0.08 ^{dA}	2.1±0.16 ^{dB}
PM ₂		36	7.39±0.12 ^{eA}	4.22±0.04 ^{eB}

Tablo 4. (Devam)

PG ₁	Gliserol	12	1.51±0.02 ^{ba}	1.23±0.01 ^{bcB}
PG ₂		36	2.53±0.17 ^{ca}	1.8±0.01 ^{bcA}

^{a-i} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

^{A-B} Aynı satırdaki farklı büyük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

4.2. Propolis Ekstraktlarının Toplam Antioksidan Aktivite Verileri

Propolis ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin tespitinde demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalının süpürme aktivitesi metotları kullanılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 5 ve Tablo 6'da gösterilmiştir.

Propolis ekstraktlarının FRAP metodu ile belirlenen antioksidan aktivite verileri incelendiğinde başlangıç değerleri açısından çözücülerin 12 saatlik ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). 36 saatlik ekstraksiyonların daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Çözücüler açısından karşılaştırıldığında en yüksek değer sırasıyla etanol, PEG ve MPG ekstraktlarında tespit edilmiştir. En düşük değer ise saf su ekstraktlarında görülmüştür.

Hızlandırılmış stabilite sonrası değerler incelendiğinde yine çözücülerin 12 saatlik ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında anlamlı fark olduğu, 36 saatlik ekstraksiyonların daha yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). En yüksek değer etanol ekstraktında, daha sonra sırasıyla PEG ve MPG olduğu görülmüştür. En düşük değer ise saf su ekstraktlarında olduğu görülmüştür.

Başlangıç değerleri ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerler karşılaştırıldığında ekstraktların tümünde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık meydana geldiği, hızlandırılmış stabilite sonrası antioksidan gücünün azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0.05$).

Tablo 5. Propolis ekstraktlarının FRAP metodu ile belirlenen antioksidan aktivite verileri

Örnek adı	Çözücü	Zaman (saat)	FRAP (mM Troloks/mL)	
			Başlangıç Değeri	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer
PS ₁	Saf su	12	589.29±0.89 ^{aA}	441.43±1.18 ^{aB}

Tablo 5. (Devam)

PS ₂		36	727.41±3.56 ^{bA}	520.93±1.18 ^{bB}
PE ₁	Etanol	12	13 286.97±71.35 ^{iA}	7 824.48±5.91 ^{iB}
PE ₂		36	15 633.07±35.67 ^{jA}	8 150.85±17.75 ^{kB}
PP ₁	PEG	12	6 601.86±0.00 ^{gA}	5 276.3±23.66 ^{gB}
PP ₂		36	7 333.44±35.67 ^{hA}	5 962.51±23.66 ^{hB}
PM ₁	MPG	12	2 987.48±0.00 ^{eA}	2 338.97±8.87 ^{eB}
PM ₂		36	5 419.98±17.83 ^{fA}	2 654.88±5.91 ^{fB}
PG ₁	Gliserol	12	1 143.72±0.00 ^{cA}	770.73±0.00 ^{cB}
PG ₂		36	1 391.26±2.22 ^{dA}	1 113.00±1.18 ^{dB}

^{a-k} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

^{A-B} Aynı satırdaki farklı büyük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

DPPH• metodu ile elde edilen veriler incelendiğinde başlangıç değerleri arasında en düşük değerin etanol ekstraktında ve daha sonra PEG ve MPG ekstraktında olduğu görülmüştür. Etanol ve PEG ekstraktlarının 12 ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p > 0.05$). Saf su, MPG ve gliserol ekstraktlarının ise 12 ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında anlamlı farklılık olduğu, 36 saatlik ekstraksiyonlarının daha düşük değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). En yüksek değer ise saf su ve gliserol ekstraktlarında görülmüştür.

Hızlandırılmış stabilite sonrası değerler incelendiğinde ise yine en düşük değerin etanol ve daha sonra PEG ekstraktında olduğu görülmüştür. En yüksek değerlerin ise saf su ve gliserol ekstraktlarında olduğu tespit edilmiştir. Etanol, PEG ve MPG ekstraktının hızlandırılmış stabilite sonrası değerlerinde 12 ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Saf su ve gliserol ekstraktlarında ise 36 saatlik ekstraksiyonlarının daha düşük değere sahip olduğu görülmüştür.

Örneklerin başlangıç değerleri ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerleri karşılaştırıldığında; saf su, MPG ve gliserol ekstraktlarında başlangıç değerleri ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu ve hızlandırılmış stabilite sonrası değerlerin daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). Etanol ve PEG ekstraktlarının 12 ve 36 saatlik ekstraksiyonlarının başlangıç değerleri ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$).

Tablo 6. Propolis ekstraktlarının DPPH• metodu ile belirlenen antioksidan aktivite verileri

Örnek adı	Çözücü	Zaman (saat)	Başlangıç Değeri	DPPH• SC ₅₀ (mg/mL)
				Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer
PS ₁	Saf su	12	1.75±0.00 ^{gA}	2.73±0.00 ^{fB}
PS ₂		36	1.33±0.04 ^{fA}	1.90±0.07 ^{dB}
PE ₁	Etanol	12	0.07±0.00 ^{aA}	0.08±0.00 ^{aA}
PE ₂		36	0.06±0.00 ^{aA}	0.08±0.00 ^{aA}
PP ₁	PEG	12	0.11±0.00 ^{bA}	0.13±0.00 ^{aA}
PP ₂		36	0.09±0.00 ^{abA}	0.09±0.00 ^{aA}
PM ₁	MPG	12	0.24±0.00 ^{cA}	0.31±0.00 ^{bB}
PM ₂		36	0.12±0.00 ^{bA}	0.30±0.00 ^{bB}
PG ₁	Gliserol	12	0.93±0.00 ^{eA}	2.30±0.07 ^{eB}
PG ₂		36	0.31±0.01 ^{dA}	1.24±0.01 ^{cB}

^{a-g} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

^{A-B} Aynı satırdaki farklı büyük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

4.3. Propolis Ekstraktlarının Toplam Flavonoid Madde Verileri

Toplam flavonoid madde miktarı tayini ile elde edilen veriler Tablo 7’de gösterilmiştir. Veriler incelendiğinde başlangıç değerleri açısından saf su çözücülü örnekler hariç diğer örneklerin tümünde 12 saatlik ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p \leq 0.05$). 36 saatlik ekstraksiyonların daha yüksek değere sahip olduğu görülmüştür. Çözücüler açısından değerlendirildiğinde en yüksek değer etanol ekstraktlarında, daha sonra ise PEG ekstraktında olduğu tespit edilmiştir. En düşük değer ise saf su ve gliserol ekstraktlarında olduğu tespit edilmiştir.

Hızlandırılmış stabilite sonrası değerler incelendiğinde yine saf su çözücülü örnekler hariç diğer örneklerde 12 saatlik ve 36 saatlik ekstraksiyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ve 36 saatlik ekstraksiyonların daha yüksek değere sahip olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$). Çözücüler açısından değerlendirildiğinde en yüksek değerlerin etanol ekstraktlarında, en düşük değer ise saf su ekstraktlarında olduğu tespit edilmiştir.

Başlangıç değerleri ile hızlandırılmış stabilite sonrası değerleri karşılaştırıldığında saf su, PEG, MPG ve gliserol ekstraktlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu, hızlandırılmış stabilite sonrası değerlerde azalma meydana geldiği gözlenmiştir ($p \leq 0.05$).

Tablo 7. Propolis ekstraktlarının toplam flavonoid madde verileri

Örnek adı	Çözücü	Zaman (saat)	Toplam Flavonoid Miktarı (mg KE/mL)	
			Başlangıç Değeri	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer
PS ₁	Saf su	12	0.20±0.00 ^{aA}	0.13±0.00 ^{aB}
PS ₂		36	0.24±0.00 ^{aA}	0.18±0.00 ^{aB}
PE ₁	Etanol	12	5.44±0.04 ^{hA}	5.36±0.05 ^{hA}
PE ₂		36	7.13±0.13 ^{iA}	6.33±0.01 ^{iA}
PP ₁	PEG	12	4.57±0.11 ^{fA}	2.56±0.07 ^{fB}
PP ₂		36	5.12±0.00 ^{gA}	3.52±0.03 ^{gB}
PM ₁	MPG	12	1.78±0.00 ^{dA}	0.93±0.00 ^{dB}
PM ₂		36	2.07±0.00 ^{cA}	1.04±0.00 ^{cB}
PG ₁	Gliserol	12	0.39±0.00 ^{bA}	0.33±0.00 ^{bB}
PG ₂		36	0.63±0.00 ^{cA}	0.52±0.00 ^{cB}

^{a-i} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

^{A-B} Aynı satırdaki farklı büyük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p \leq 0.05$).

4.4. Propolis Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde Profili

Propolis ekstraktları arasında antioksidan aktivitesi daha yüksek olan 36 saatlik inkübasyona tabi tutulmuş ekstraktlarının başlangıçta ve hızlandırılmış stabilite sonrasında tespit edilen fenoliklerin miktarları Tablo 8, 9, 10, 11 ve 12’de gösterilmiştir.

Tablo 8’de gösterilen 36 saatlik saf su ekstraktı olan PS₂ örneğine ait değerler incelendiğinde başlangıçta ve hızlandırılmış stabilite sonrasında gallik asit, klorojenik asit, kateşin hidrat, epikateşin, vanilik asit, şiringik asit, rutin, mirisetin, daidzein, luteolin, naringenin, apigenin, hesperetin, ramnetin tespit edilememiştir. Başlangıçta tespit edilen ellagik asit ve kuersetinin hızlandırılmış stabilite sonrası tespit edilememiştir. Protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, ferulik asit ve galangin değerlerinde artış gözlemlenirken; kafeik asit, *p*- kumarik asit, *t*-sinnamik asit, krisin, pinosembrin ve CAPE değerlerinde azalma gözlemlenmiştir. 36 saatlik saf su ekstraktının fenolik maddeler içinden sırasıyla en fazla *p*-kumarik asit, *t*-sinnamik asit ve ferulik asit içerdiği tespit edilmiştir. Ellegik asit, protokatekuik asit ve kuersetinin ise saf su ekstraktının başlangıç değeri için en az değerlere sahip fenolik maddeler olduğu gözlemlenmiştir. Hızlandırılmış stabilite sonrası değerler incelendiğinde kafeik asit ve CAPE miktarının en düşük değerler olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 8. 36 saatlik saf su ekstraktının toplam fenolik madde profili

Standart Madde	PS ₂	
	Başlangıç Değeri (µg/mL)	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer (µg/mL)
Gallik Asit	<LOD	<LOD
Protokatekuik Asit	3.85	6.29
Klorojenik Asit	<LOD	<LOD
Kateşin Hidrat	<LOD	<LOD
<i>p</i> -OH Benzoik Asit	7.13	8.32
Epikateşin	<LOD	<LOD
Kafeik Asit	7.30	3.55
Vanilik Asit	<LOD	<LOD
Şiringik Asit	<LOD	<LOD
<i>p</i> -Kumarik Asit	79.37	59.69
Rutin	<LOD	<LOD
Ellagik Asit	0.80	<LOD
Ferulik Asit	23.79	24.85
Mirisetin	<LOD	<LOD
Daidzein	<LOD	<LOD
Luteolin	<LOD	<LOD
Kuersetin	3.01	<LOD
<i>t</i> -Sinnamik Asit	42.25	31.35
Naringenin	<LOD	<LOD
Apigenin	<LOD	<LOD
Hesperetin	<LOD	<LOD
Ramnetin	<LOD	<LOD
Krisin	9.59	7.20
Pinosembrin	19.51	9.93
CAPE	5.26	3.32
Galangin	7.31	7.33

<LOD: Standart gözlenebilme limitinin altındadır.

Tablo 9’da gösterilen PE₂ örneğine ait değerler incelendiğinde başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrasında gallik asit, protokatekuik asit, klorojenik asit, kateşin hidrat, epikateşin, vanilik asit, şiringik asit, rutin, ellagik asit, mirisetin, daidzein, luteolin, naringenin, hesperetin ve ramnetin tespit edilememiştir. Başlangıçta tespit edilen *p*-OH benzoik asit ve kuersetin hızlandırılmış stabilite sonrası tespit edilememiştir. Kafeik asit, ferulik asit ve apigenin miktarında azalma gözlemlenirken; *p*-kumarik asit, *t*-sinnamik asit, krisin, pinosembrin, CAPE ve galangin miktarında artış gözlemlenmiştir. Başlangıç ve

hızlandırılmış stabilite sonrası miktarı en fazla olan fenolik maddeler krisin, pinosembrin ve galangindir.

Tablo 9. 36 saatlik etanol ekstraktının toplam fenolik madde profili

Standart Madde	PE ₂	
	Başlangıç Değeri (µg/mL)	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer (µg/mL)
Gallik Asit	<LOD	<LOD
Protokatekuik Asit	<LOD	<LOD
Klorojenik Asit	<LOD	<LOD
Kateşin Hidrat	<LOD	<LOD
<i>p</i> -OH Benzoik Asit	5.49	<LOD
Epikateşin	<LOD	<LOD
Kafeik Asit	294.35	212.06
Vanilik Asit	<LOD	<LOD
Şiringik Asit	<LOD	<LOD
<i>p</i> -Kumarik Asit	175.81	181.34
Rutin	<LOD	<LOD
Ellagik Asit	<LOD	<LOD
Ferulik Asit	205.79	90.93
Mirisetin	<LOD	<LOD
Daidzein	<LOD	<LOD
Luteolin	<LOD	<LOD
Kuersetin	54.30	<LOD
<i>t</i> -Sinnamik Asit	219.99	255.35
Naringenin	<LOD	<LOD
Apigenin	83.43	69.17
Hesperetin	<LOD	<LOD
Ramnetin	<LOD	<LOD
Krisin	1 267.65	1 331.91
Pinosembrin	1 725.43	1 892.78
CAPE	692.11	705.86
Galangin	1 159.15	1 372.10

<LOD: Standart gözlenebilme limitinin altındadır.

PP₂ örneğine ait Tablo 10'da gösterilen değerler incelendiğinde, PP₂ örneğinin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrasında gallik asit, protokatekuik asit, klorojenik asit, kateşin hidrat, *p*-OH benzoik asit, epikateşin, vanilik asit, şiringik asit, rutin, ellagik asit, mirisetin, daidzein, luteolin, naringenin, hesperetin ve ramnetin değerlerinin

gözlemlenebilir limitin altında olduğu görülmüştür. Hızlandırılmış stabilite sonrası kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, kuersetin, apigenin, krisin, pinosembrin değerlerinde azalma gözlenirken; *t*-sinnamik asit, CAPE ve galangin miktarında artış gözlenmiştir. Başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrası fenolik maddeler içerisinde en fazla miktara sahip olanların pinosembrin, galangin ve krisin; en az miktara sahip olanların ise kuersetin ve apigenin olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 10. 36 saatlik PEG ekstraktının toplam fenolik madde profili

Standart Madde	PP ₂	
	Başlangıç Değeri (µg/mL)	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer (µg/mL)
Gallik Asit	<LOD	<LOD
Protokatekuik Asit	<LOD	<LOD
Klorojenik Asit	<LOD	<LOD
Kateşin Hidrat	<LOD	<LOD
<i>p</i> -OH Benzoik Asit	<LOD	<LOD
Epikateşin	<LOD	<LOD
Kafeik Asit	358.86	303.37
Vanilik Asit	<LOD	<LOD
Şiringik Asit	<LOD	<LOD
<i>p</i> -Kumarik Asit	174.22	173.42
Rutin	<LOD	<LOD
Ellagik Asit	<LOD	<LOD
Ferulik Asit	260.47	175.96
Mirisetin	<LOD	<LOD
Daidzein	<LOD	<LOD
Luteolin	<LOD	<LOD
Kuersetin	68.38	55.23
<i>t</i> -Sinnamik Asit	189.91	193.22
Naringenin	<LOD	<LOD
Apigenin	86.21	58.82
Hesperetin	<LOD	<LOD
Ramnetin	<LOD	<LOD
Krisin	563.48	521.55
Pinosembrin	750.02	618.44
CAPE	320.06	470.63
Galangin	565.05	735.80

<LOD: Standart gözlenebilir limitinin altındadır.

PM₂ örneğine ait Tablo 11’de gösterilen değerler incelendiğinde, PM₂ örneğinin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrasında gallik asit, klorojenik asit, kateşin hidrat, *p*-OH benzoik asit, epikateşin, vanilik asit, şiringik asit, rutin, ellagik asit, mirisetin, daidzein, luteolin, naringenin, hesperetin değerlerinin gözlemlenebilir limitin altında olduğu görülmüştür. Başlangıçta tespit edilen ramnetin, hızlandırılmış stabilite sonrası tespit edilememiştir. Hızlandırılmış stabilite sonrası ferulik asit ve kuersetin değerlerinde azalma gözlenirken, protokatekuik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit, *t*-sinnamik asit, apigenin, krisin, pinosembrin, CAPE ve galangin değerlerinde artış gözlenmiştir. Başlangıç değerleri arasında en düşük değerlerin protokatekuik asit ve kafeik asitte, en yüksek değerlerin ise ferulik asit ve pinosembrinde olduğu tespit edilmiştir. Hızlandırılmış stabilite sonrası değerler incelendiğinde en düşük değerlerin protokatekuik asit ve kafeik asitte, en yüksek değerlerin ise pinosembrin ve galanginde olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 11. 36 saatlik MPG ekstraktının toplam fenolik madde profili

Standart Madde	PM ₂	
	Başlangıç Değeri (µg/mL)	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer (µg/mL)
Gallik Asit	<LOD	<LOD
Protokatekuik Asit	2.73	10.91
Klorojenik Asit	<LOD	<LOD
Kateşin Hidrat	<LOD	<LOD
<i>p</i> -OH Benzoik Asit	<LOD	<LOD
Epikateşin	<LOD	<LOD
Kafeik Asit	5.88	6.50
Vanilik Asit	<LOD	<LOD
Şiringik Asit	<LOD	<LOD
<i>p</i> -Kumarik Asit	123.39	157.01
Rutin	<LOD	<LOD
Ellagik Asit	<LOD	<LOD
Ferulik Asit	194.05	178.03
Mirisetin	<LOD	<LOD
Daidzein	<LOD	<LOD
Luteolin	<LOD	<LOD
Kuersetin	33.84	23.03
<i>t</i> -Sinnamik Asit	112.29	158.65
Naringenin	<LOD	<LOD
Apigenin	28.10	52.92
Hesperetin	<LOD	<LOD
Ramnetin	45.09	<LOD

Tablo 11. (Devam)

Krisin	92.82	199.96
Pinosembrin	178.39	324.36
CAPE	75.77	143.58
Galangin	101.56	295.05

<LOD: Standart gözlemlenebilir limitinin altındadır.

Tablo 12’de gösterilen PG₂ örneğine ait değerler incelendiğinde PG₂ örneğinin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrasında gallik asit, klorojenik asit, kateşin hidrat, epikateşin, vanilik asit, şiringik asit, rutin, ellagik asit, mirisetin, daidzein, luteolin, naringenin, hesperetin ve ramnetin değerlerinin gözlemlenebilir limitin altında olduğu görülmüştür. Hızlandırılmış stabilite sonrası kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, kuersetin, *t*-sinnamik asit, apigenin, krisin, pinosembrin ve CAPE değerlerinde azalma gözlenirken; protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit ve galangin değerlerinde artış gözlenmiştir. Başlangıç ve hızlandırılmış stabilite değerleri arasında en düşük değerin protokatekuik asit ve *p*-OH benzoik asitte, en yüksek değerin ise ferulik asitte olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 12. 36 saatlik gliserol ekstraktının toplam fenolik madde profili

Standart Madde	PG ₂	
	Başlangıç Değeri (µg/mL)	Hızlandırılmış Stabilite Sonrası Değer (µg/mL)
Gallik Asit	<LOD	<LOD
Protokatekuik Asit	2.15	4.14
Klorojenik Asit	<LOD	<LOD
Kateşin Hidrat	<LOD	<LOD
<i>p</i> -OH Benzoik Asit	3.63	5.33
Epikateşin	<LOD	<LOD
Kafeik Asit	162.81	116.83
Vanilik Asit	<LOD	<LOD
Şiringik Asit	<LOD	<LOD
<i>p</i> -Kumarik Asit	83.54	78.31
Rutin	<LOD	<LOD
Ellagik Asit	<LOD	<LOD
Ferulik Asit	117.85	75.01
Mirisetin	<LOD	<LOD
Daidzein	<LOD	<LOD

Tablo 12. (Devam)

Luteolin	<LOD	<LOD
Kuersetin	15.07	8.29
<i>t</i> -Sinnamik Asit	52.09	51.85
Naringenin	<LOD	<LOD
Apigenin	9.77	8.07
Hesperetin	<LOD	<LOD
Ramnetin	<LOD	<LOD
Krisin	24.70	20.28
Pinosembrin	52.07	45.42
CAPE	16.90	14.22
Galangin	26.39	51.28

<LOD: Standart gözlenebilme limitinin altındadır.

PS₂, PE₂, PP₂, PM₂ ve PG₂ örnekleri karşılaştırıldığında; örneklerin hiçbirinde başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrasında gallik asit, klorojenik asit, kateşin hidrat, epikateşin, vanilik asit, şiringik asit, rutin, mirisetin, daidzein, luteolin, naringenin ve hesperetin tespit edilmemiştir. Ellagik asit sadece PS₂ örneğinin başlangıç değerinde düşük miktarda tespit edilmiştir. Ramnetin ise sadece PM₂ örneğinin başlangıç değerinde tespit edilmiştir. Kafeik asit, kuersetin ve ferulik asitin en çok PP₂ örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Krisin, pinosembrin, CAPE, galangin ve *t*-sinnamik asitin en çok PE₂ örneğinde olduğu tespit edilmiştir.

4.5. Propolis Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivite Verileri

Antioksidan aktivitesi yüksek olan 36 saatlik inkübasyona tabi tutulmuş propolis ekstraktlarının hızlandırılmış stabilite sonrası antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesinde *B. cereus*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *C. albicans* mikroorganizmaları kullanılmış olup inhibisyon zonu alanları mm cinsinden Tablo 13'te gösterilmiştir.

Propolis ekstraktlarının tümünün *B. cereus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* mikroorganizmalarına karşı inhibisyon sergilediği tespit edilmiştir. *E. coli*'ye karşı sadece etanol ekstraktı inhibisyon göstermiştir. *C. albicans*'a karşı inhibisyon gösteren ekstraktlar saf su, MPG, etanol ve gliserol ekstraktlarıdır.

Farklı çözücülü propolis ekstraktlarının *B. cereus* mikroorganizmasına olan inhibisyonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). En çok etkin

olan örneğin PEG ekstraktı olduğu, en az etkin olan örneğin ise saf su ekstraktı olduğu görülmüştür. *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı etanol ve PEG ekstraktları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). *S. aureus*'a karşı inhibisyonunda en etkin örneğin MPG ekstraktı, en az etkin olanın ise saf su ekstraktı olduğu görülmüştür. *S. epidermidis*'e karşı en etkili ekstraktların etanol ve PEG ekstraktları olduğu görülmektedir. En az etkin olan örneğin ise saf su örneği olduğu tespit edilmiştir. *C. albicans* inhibisyonunda saf su, etanol ve MPG ekstraktlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). *C. albicans*'a karşı en etkin örneğin ise gliserol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 13. Propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları

Örnek Adı	İnhibisyon Zonu (mm)				
	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. albicans</i>
PS ₂	10.33±0.58 ^a	-	10.33±0.58 ^a	15.33±0.58 ^a	25.33±0.58 ^a
PE ₂	16.50±0.50 ^c	10.50±0.50	21.50±0.50 ^c	23.50±0.50 ^d	25.33±0.58 ^a
PP ₂	19.00±1.00 ^e	-	20.33±0.58 ^c	22.67±1.15 ^d	-
PM ₂	17.67±0.58 ^d	-	23.00±1.00 ^d	19.33±1.04 ^c	25.00±0.50 ^a
PG ₂	14.83±0.29 ^b	-	17.67±0.58 ^b	17.67±0.58 ^b	36.00±1.00 ^b

^{a-c} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler anlamlı farklılığı göstermektedir ($p\leq 0.05$).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Propolis ekstraktlarının en önemli özelliği yapısında bulunan polifenollerdir. Toplam fenolik madde içeriği propolis için en önemli belirleyicidir ve yüksek polifenol değeri yüksek biyolojik aktiviteyi gösterir.

Bakkaloğlu ve ark. aynı propolis örnekleri kullanılarak farklı çözücülerle yapmış oldukları çalışmada Türk propolisinin DMSO'lu ekstraktındaki toplam polifenol içeriği 141.17 mg GA/g, etanollü ekstraktında 122.67 mg GA/g, asetonlu ekstraktında 100.00 mg GA/g, gliserollü ekstraktında 88.00 mg GA/g ve sulu ekstraktında 19.67 mg GA/g olmak üzere farklı sonuçlar elde edilmiştir (110). Çalışma incelendiğinde propolis ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerin propolisin toplam fenolik bileşen içeriğinde farklılıklara neden olduğu anlaşılmaktadır. Kullanılan çözücüler içerisinde etanolün propolis ekstraksiyonundaki etkinliğinin yüksek olduğu görülmektedir. Araştırmamızda da hem başlangıç hem de hızlandırılmış stabilite sonrası en yüksek polifenol içeriğinin etanol ekstraktında gözlemlendiği, gliserol ekstraktının da su ekstraktından daha fazla polifenol içeriğine sahip olduğu gözlemlendiğinden yapılan çalışma ile bulgularımızın uyumlu olduğu değerlendirilmektedir.

Sun ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, %25, %50, %75 ve %100'lük etanol-su ve sadece su kullanılarak hazırlanan propolis ekstraktlarının toplam polifenol ve toplam flavonoid maddelerinin karşılaştırılmıştır. Toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği en fazla olduğu propolis ekstraktının %75'lik etanol-su ekstraktı olduğu belirlenmiştir. Propolisin %75'lik etanol-su ekstraktının toplam polifenol içeriği 164.20 mg GAE/g, toplam flavonoid içeriği ise 282.83 mg RE/g olarak tespit edilmiştir. Su kullanılarak hazırlanan propolis ekstraktında ise toplam polifenol içeriği 6.68 mg GAE/g, toplam flavonoid içeriği ise 4.07 mg RE/g olarak belirlenmiştir. En düşük değerler su ekstraktında gözlemlenmiştir. Araştırmamızdaki su ekstraktı ile %75'lik etanol ekstraktı karşılaştırıldığında etanol ekstraktının toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriğinin daha fazla olduğu görüldüğünden ilgili çalışma ile uyumlu olduğu değerlendirilmektedir. Aynı çalışmada su ekstraktında pinobanksin, pinosembrin ve kaempferol gibi birçok flavonoid düşük düzeyde tespit edilmiştir. Kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve 3,4 dimetoksisinnamik asit ise su ekstraktının ana bileşeni olarak tespit edilmiştir. Propolisin %75'lik etanol-su ekstraktı için ise kafeik asit, benzil kafeat, fenetil kafeat, 5-metoksi pinobanksin, pinobanksin, pinosembrin, pinobanksin-3-O-asetat, krisin ve galanginin

karakteristik bileşikler olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak %75'lik etanol-su ekstraktının sadece polar bileşikler değil, aynı zamanda zayıf polar ve apolar bileşikler de dahil olmak üzere zengin çeşitlilikte fenolikler içerdiği belirlenmiştir. Bunun nedeninin sulu çözücülerin güçlü polariteye sahip bazı biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun olduğu; etanol ve etanol-su çözücülerinin ise daha geniş polarite aralığındaki biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonuna uygun olduğundan kaynaklandığı değerlendirilmektedir (111). Araştırmamızda kullanılan %75'lik etanol ekstraktında da pinosembrin, krisin ve galangin yüksek oranda tespit edilmiştir. Saf su ekstraktında ise en yüksek değerde olan fenoliklerin *p*-kumarik asit ve *t*-sinnamik asit olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın tez çalışmamız ile uyumlu olduğu değerlendirilmektedir.

Kolaylı ve ark. yapmış olduğu, ticari propolis ekstraktları ile 10 g propolisin %70'lik etanolde ekstrakte edilerek taze hazırlanmış ekstraktın toplam fenolik, toplam flavonoid ile toplam antioksidan kapasite değerlerinin karşılaştırıldığı çalışmada; su, zeytinyağı, glikol, etanol ve taze hazırlanmış etanol ekstraktları arasında en yüksek toplam fenolik madde değerinin etanol ekstraktlarında olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada su ve zeytinyağının en düşük aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (112). Tablo 4'te gösterilen toplam fenolik madde içeriğine bakıldığında en yüksek değerin hem başlangıç hem de hızlandırılmış stabilite testi sonrası etanol ekstraktlarında olduğu, en düşük değerin ise saf su ekstraktında olduğu görülmektedir. Tablo 7'de gösterilen toplam flavonoid miktarına bakıldığında yine başlangıç ve hızlandırılmış stabilite testi sonrası değerlerin en yüksek etanol ekstraktlarında, en düşük değerin ise saf su ekstraktlarında olduğu görülmektedir. Bahse konu çalışmada su, zeytinyağı, glikol, etanol ve taze hazırlanmış etanol ekstraktları arasında en yüksek toplam flavonoid değerinin etanol ekstraktlarında tespit edildiği, en düşük değerin ise su ekstraktında tespit edildiği görülmüştür. Yapılan çalışma ile bulgularımızın uyumlu olduğu görülmektedir.

Sağdıç ve ark. çalışmasında ülkemizde marketlerde satılan ticari propolis örnekleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada yerli ve yabancı markalardan toplam 14 farklı ticari propolis örneği temin edilerek toplam fenolik ve flavonoid miktarları ile fenolik bileşiklerin kompozisyonları belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları incelendiğinde en yüksek içeriğin özel metot kullanılarak su ile ekstrakte edildiği beyan edilen örneklerde (127 318 mg GAE/L, 124 137 mg GAE/L) görüldüğü tespit edilmiştir. Bunları sırasıyla suda çözünür örnek (116 360 mg GAE/L) ve etanolde ekstrakte edilmiş

yeşil propolis örneği (107 339 mg GAE/L) takip etmektedir. En düşük içerik ise su bazlı örnekler (2 431 mg GAE/L, 4 610 mg GAE/L) ile su ve gliserol bazlı (2 575 mg GAE/L) örnekte tespit edilmiştir. Toplam flavonid miktarları incelendiğinde, en yüksek miktarın su bazlı tek kullanımlık saşe üründe (40 516 mg/L) görüldüğü, bunu sırasıyla suda çözünür örnek (39 437 mg/L) ve su bazlı tek kullanımlık saşe ürün (35 292 mg/L) takip ettiği görülmüştür. Organik su bazlı olduğu beyan edilen propolis örneklerinde flavonoid madde belirlenememiştir. Araştırmamızda ise toplam fenolik madde miktarı açısından en yüksek içeriğin hem başlangıçta hem stabilite sonrasında etanol ekstraktlarında olduğu tespit edilmiştir. Gliserol-su ekstraktının toplam fenolik madde miktarı ise saf sudan daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı ile paralel olarak toplam flavonoid miktarları da en yüksek etanol, sonra sırasıyla gliserol-su ve saf su ekstraktlarında belirlenmiştir. Yapılan çalışma ile tez çalışmamızdaki sonuçların uyumlu olmadığı görülmektedir. Yapılan çalışmada kullanılan propolis miktarının ve ekstraksiyon yönteminin bu sonuçta etkili olduğu değerlendirilmektedir. Aynı çalışmada; su ve etanol ile ekstrakte edildiği beyan edilen örneğin yüksek oranda galangin, pinocembrin, CAPE, krisin, pinobanksin, kafeik asit, 3,4 dimetoksi sinamik asit ve transsinamik asit içerdiği belirlenmiştir. Su ve glikol ile ekstrakte edildiği beyan edilen örneğin yüksek miktarda galangin, pinocembrin, krisin, pinobanksin, CAPE, 3,4 dimetoksi sinamik asit, kafeik asit, apigenin içerdiği belirlenmiştir. Suda ekstrakte edildiği beyan edilen örneğin yüksek oranda kafeik asit içerdiği tespit edilirken; apigenin, genistein, hesperetin, isorhamnetin, naringenin, pinobanksin, pinocembrin, kuersetin, taxifolin; 3,4 dimetoksi benzaldehid, ellagik asit, gallik asit gibi fenolik maddeler tespit edilememiştir (113). Araştırmamızda etanol ekstraktında krisin, pinocembrin, CAPE ve galangin; PEG ekstraktında galangin, pinocembrin, krisin ve CAPE; saf su ekstraktında ise *p*-kumarik asit en yüksek miktarda görülen fenolik maddelerdir. Yapılan çalışma ile tez çalışmamız arasındaki farkların propolis kaynağı, miktarı ve ekstraksiyon yönteminden kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir.

Kubiliene ve ark. yaptığı bir çalışmada Litvanya’da toplanan propolisler su, sulu PEG 400, zeytinyağı ve etanol çözücülerıyla ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Propolisler su ile oda sıcaklığında 5 saat, sulu PEG 400 ile 70 °C’de 15 dakika, zeytinyağı ile oda sıcaklığında 5 saat, etanol ile oda sıcaklığında 5 saat ekstraksiyon sonucu toplam fenolik bileşik içeriği sırasıyla 1.6, 10.7, 0.5, 12.7 mg GAE/mL olarak ölçülmüştür. Bu durumda en düşük fenolik içeriğinin zeytinyağı ve su ekstraktında olduğu görülmüştür.

Araştırmamızda en düşük fenolik madde içeriğinin saf su ekstraktlarında olduğu tespit edildiğinden sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir. Çalışmada su ekstraktının *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Aktif bileşik konsantrasyonunun az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. PEG 400 ekstraktının *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı mm cinsinden bastırılmış mikrobiyal büyüme bölgesinin yarıçapı sırasıyla 16.2, 16.0, 18.3, 19.4, 16.9 ve 19.0 şeklinde tespit edilmiştir. Etanol ekstraktı ise sırasıyla 15.8, 14.8, 15.2, 15.4, 17.2, 16.9 mm şeklinde tespit edilmiştir (100). Araştırmamızda ise PEG ekstraktının *B. cereus*'a karşı etanol ekstraktına göre daha etkili olduğu; *S. aureus*'a karşı etkilerinde ise istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir. PEG ekstraktı *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken etanol ekstraktının gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızdaki saf su ekstraktının *B. cereus*, *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği fakat *E. coli*'ye karşı aktivite göstermediği görülmüştür. Bu açıdan yapılan çalışma ile tez çalışmamızdaki verilerin kısmen uyumsuz olduğu görülmüştür.

Freitas ve ark. Portekiz'de hasat edilen propolisler üzerinde yaptığı çalışmada saf etanol, %70 etanol, bal brendisi, bal şarabı, propilen glikol ve su çözücülerini kullanarak; 60 mL çözücüde 9 g propolis 24 saat boyunca 24 °C'de karanlıkta ekstrakte edilmiştir. DPPH• serbest radikal süpürme aktivitesi saf etanol, %70 etanol, propilen glikol ve su ekstraktları için sırasıyla 10.78 µg/mL, 9.91 µg/mL, 8.17 µg/mL, 4.54 µg/mL şeklinde belirlenmiştir. Saf etanol ve %70 etanol benzer ve propilen glikole kıyasla daha düşük anti-radikal aktivite göstermiştir. Toplam fenolik içeriği saf etanol, %70 etanol, propilen glikol ve su ekstraktları için sırasıyla 224.60 mg GAE/g, 255.30 mg GAE/g, 207.49 mg GAE/g, 1 261.11 mg GAE/g şeklinde tespit edilmiştir. Toplam flavonoid içeriği ise sırasıyla 44.74 mg QE/g, 48.76 mg QE/g, 34.53 mg QE/g ve 7.40 mg QE/g şeklindedir. Toplam flavonoid içeriğinin etanollü ekstraktlarda su ekstraktından fazla olmasıyla birlikte, su ekstraktının toplam fenolik içeriği etanol ekstraktlarından 5 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Araştırmamızda DPPH• serbest radikal süpürme aktivitesi incelendiğinde en yüksek aktivitenin %75 etanol ekstraktında, daha sonra sırasıyla %50 PEG ve %50 MPG ekstraktlarında görüldüğü tespit edilmiştir. Toplam fenolik içeriği ise yine en yüksek %75 etanol ekstraktında, en düşük ise saf su ekstraktında görüldüğü tespit edilmiştir. Benzer şekilde toplam flavonoid içeriğinin en yüksek olduğu ekstraktın %75 etanol, en düşük

olduğu ekstraktın ise saf su ekstraktı olduğu görülmüştür. Toplam flavonoid içeriği açısından araştırmamız ile bahse konu çalışma sonuçlarının benzer olduğu anlaşılmakla birlikte DPPH• serbest radikal süpürme aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriği açısından benzerlik göstermemektedir. Aynı çalışmada; su ekstraktının test edilen suşlar içerisinde en az aktif olan ve en yüksek MIC değeri ($MIC \geq 1\ 000\ \mu g/mL$) gösteren ekstrakt olduğu tespit edilmiştir. Saf etanol, %70 etanol ve propilen glikol ekstraktlarının *E. coli* ($MIC \geq 1\ 000\ \mu g/mL$) ve *B. cereus*'a ($MIC = 50\ \mu g/mL$) karşı aynı aktiviteyi gösterdiği görülmüştür. *C. albicans*'a karşı ise saf etanol, %70 etanol ve su ekstraktları benzer aktivite ($MIC \geq 1\ 000\ \mu g/mL$) göstermiştir (5). Araştırmamızda *B. cereus*'a karşı %50 MPG ve %75 etanol ekstraktlarının benzer aktivite gösterdiği, saf su ekstraktının ise daha düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *E. coli*'ye karşı sadece etanol ekstraktı aktivite göstermiştir. *C. albicans*'a karşı ise %50 MPG, %75 etanol ve saf su ekstraktları benzer aktivite göstermiştir. Yapılan çalışma ile tez çalışmamızın sonuçlarının benzerlik gösterdiği değerlendirilmektedir.

Düzce ilinde bulunan arıcılardan temin edilen propolis örnekleriyle Dönmez ve ark. yaptığı bir çalışmada %70 etanol, saf su, %50 PEG 400 çözücülerinin oda sıcaklığında 1 hafta süreyle ekstraksiyonu ile ekstraktlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlardaki toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri değerlendirildiğinde en yüksek değer etanollü ekstraktlarda ve en düşük değer ise sulu ekstraktlarda olduğu görülmüştür. Araştırmamızdaki etanol, su ve PEG çözücülerile hazırlanan ekstraktların toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri karşılaştırıldığında en yüksek içeriğin etanol, en düşük içeriğin ise saf su ekstraktında görüldüğü tespit edildiğinden yapılan çalışma tez çalışmamız ile uyumludur. Aynı çalışmada, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri değerlendirildiğinde en yüksek değer etanollü ekstraktlarda ve en düşük değer ise sulu ekstraktlarda olduğu görülmüştür. Bu sonuçlarla paralel olarak toplam fenolik madde profili incelendiğinde ekstraksiyonda kullanılan çözücünün türüne bağlı olarak ekstrakte edilen maddelerin türü farklılık göstermekle birlikte en çok içeriğin yine etanol ekstraktında, en düşük içeriğin ise su ekstraktında görüldüğü tespit edilmiştir. Etanol ekstraktında kumarin, kuersetin, robinin, ellagik asit, fisetin, kaempferol 3-glukozid, *trans*-ferulik asit, sinamik asit ve kafeik asit; PEG 400 ekstraktında kuersetin, robinin, ellagik asit, *trans*-ferulik asit, sinamik asit ve kafeik asit; su ekstraktında ise kuersetin, robinin ve ellagik asit tespit edilmiştir (114). Araştırmamızda elde edilen verilerle karşılaştırıldığında paralellik gösteren veriler olduğu gibi farklılık gösteren verilerin de mevcut olduğu

görülmüştür. Örneğin çalışmamızdaki sadece saf su ekstraktında ellagik asit tespit edilmişken yapılan çalışmada tüm ekstraktlarda tespit edildiği görülmüştür. Bu durumun hem propolis kaynağındaki hem de ekstraksiyon yöntemindeki farklılıktan kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir.

Šuran ve ark. Hırvatistan'dan toplanan propolisler ile oda sıcaklığında maserasyon yöntemiyle 72 saat süreyle PEG 400 ve %96 etanol çözücüsü ile hazırlanan ekstraktlarla yaptığı bir çalışmada etanol ekstraktının ekstraksiyon verimi %25.2, PEG 400 ekstraktının ekstraksiyon verimi %21.5 olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı PEG 400 ekstraktında 16.78 mg GAE/mL, etanol ekstraktında 15.92 mg GAE /mL olarak tespit edilmiştir. DPPH• analizi sonucunda EC₅₀ değeri PEG 400 ekstraktı için 11.71 µg/mL, etanol ekstraktı için 13.5 µg/mL olarak bulunmuştur. FRAP analizinde ise PEG 400 ekstraktı için 41.03 Fe⁺² µmol/mg, etanol ekstraktı için 40.37 03 Fe⁺² µmol/mg değerleri elde edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi açısından PEG 400 ve %96 etanol ekstraktları arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir (80). Araştırmamızda %75 etanol ve %50 PEG kullanılarak hazırlanan ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı ve FRAP analizleri sonucunda elde edilen veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Hazırlanan %75 etanol ekstraktlarının fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu bağlamda tez çalışmamız ile bahse konu çalışmanın uyumlu olmadığı görülmüştür. Ekstraksiyon yöntemi, propolis kaynağı ve kullanılan çözücü oranının bu sonuçta etkili olabileceği değerlendirilmektedir.

Kolaylı ve ark. tarafından ultrasonik maserasyon yöntemiyle hazırlanan saf su, %98 metanol, %98 etanol, %98 izopropanol ve %98 n-bütanol ve %70 etanolik propolis ekstraktları ile yapılan bir çalışmada etanol ve metanol ekstraktlarının en yüksek fenolik madde içeriğe sahip olduğu, en düşük içeriğe sahip olan ekstraktın su ekstraktı olduğu tespit edilmiştir. Sudaki toplam fenolik madde miktarı 3.43 mg GAE/g iken %70 etanoldeki değerinin 147.98 mg GAE/g olduğu görülmüştür. Toplam flavonoid içeriğine bakıldığında yine en düşük miktarın suda, en yüksek miktarın ise %70 etanol ekstraktında olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan kapasite tayininde FRAP ve DPPH• radikal süpürme aktivite testi kullanılmış olup, en yüksek FRAP değeri yine %70 etanol ekstraktında, en düşük değer ise su ekstraktında tespit edilmiştir. En düşük DPPH• radikal temizleme aktivitesi değeri FRAP değerlerine benzer şekilde etanolik ekstraktlarda görülürken, en

yüksek değer su ve izopropanol ekstraktlarında görülmüştür (115). Çalışmada elde edilen sonuçlar ile tez çalışmamızda elde edilen sonuçlar paralellik göstermektedir.

Ören ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada Siirt ilinden toplanan propolislerden çözücü olarak saf etanol, su ve etanol-suyun değişik oranlarda karışımı (%80, %60, %40, %20) kullanılarak ekstraktlar hazırlanmıştır. Yapılan çalışmada en yüksek ekstraksiyon veriminin etanolde elde edildiği ve çözücüdeki su miktarı arttıkça verimin azaldığı görülmüştür. DPPH• analizinde en yüksek değerlerin saf etanol (35.72 µg/mL) ve %20 etanol (35.23 µg/mL) ekstraktlarında olduğu tespit edilmiştir. En düşük değerin ise %60 etanol ekstraktında (13.86 µg/mL) olduğu tespit edilmiştir. Propolisin %80, %40 etanol ve su ekstraktı için değerlerin sırasıyla 25.96, 16.09 ve 29.72 µg/mL olduğu tespit edilmiştir. Araştırmamızda kullanılan su ve %75 etanol ekstraktının DPPH• değerlerine bakıldığında su ekstraktının 1.33-1.75 mg/mL, etanol ekstraktının ise 0.06-0.07 mg/mL değerlerinde olduğu görülmektedir. Etanol ekstraktının radikal süpürme aktivitesinin su ekstraktından daha güçlü olduğu ve çalışmamızın literatür ile uyumlu olduğu anlaşılmaktadır. Aynı çalışmada fenolik içerikler de incelenmiştir. Kafeik asit hariç, ekstraktlardaki su miktarı arttıkça fenolik bileşik oranlarının azaldığı gözlenmiştir. Saf etanol ekstraktında tespit edilen başlıca fenolik bileşikler kafeik asit, kaempferol, genistein, apigenin, pinosembrin, CAPE, krisin ve galangindir. Propolisin %80 etanol ekstraktında kafeik asit, genistein, apigenin, pinosembrin, CAPE, krisin, galangin; %60 etanol ve su ekstraktlarında kafeik asit, %40 etanol ekstraktında kafeik asit, pinosembrin, krisin, %20 etanol ekstraktında ise kafeik asit, pinosembrin ve CAPE tespit edilen başlıca fenolik bileşiklerdir. Ekstraktlar arasında en çok görülen fenoliklerin kafeik asit, pinosembrin, krisin, CAPE ve galangin olduğu görülmüştür. En yüksek çözünürlük ve en yüksek fenolik madde içeriği saf etanolde gözlenmiştir (116). Çalışmamızda %75 etanol ekstraktında tespit edilen başlıca fenolik bileşikler krisin, pinosembrin, CAPE ve galangin; saf su ekstraktında tespit edilen başlıca fenolikler ise *p*-kumarik asit ve *t*-sinnamik asit iken düşük miktarda kafeik asit saptanmıştır. Çalışmamızla karşılaştırıldığında en fazla görülen fenolik bileşikler arasında ortak bileşikler olduğu görülmektedir. Aradaki farklılıklar ise propolis kaynağı ve ekstraksiyon yöntemi ile açıklanabileceği değerlendirilmektedir.

Artvin ili Hatila Vadisi ve Maçahel bölgesinden toplanan propolislerle 60 °C ve 24 saat süre ile hazırlanan saf su, etanol, %70 etanol, propilen glikol, %70 propilen glikol ekstraktları üzerinde yapılan bir çalışmada toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir (Fe⁺³) indirgeyici antioksidan gücü karşılaştırılmıştır. Toplam polifenol

içerikleri incelendiğinde Hatila propolisi, Maçahel propolisi ve iki propolisin karıştırılmasıyla elde edilen propolisin su ekstraktının 6.59-10.07 mg GA/g değerleri aralığında, etanol ekstraktının 21.11-76.04 mg GA/g, propilen glikol ekstraktının 29.41-74.06 mg GA/g, %70 etanol ekstraktının 24.24-94.04 mg GA/g, %70 propilen glikol ekstraktının ise 27.01-99.12 mg GA/g aralığında tespit edildiği görülmüştür. Araştırmamızdaki toplam polifenol içeriği değerleriyle kıyaslandığında %75 etanol ekstraktının %75 MPG ekstraktından daha fazla polifenol içerdiği görülmektedir. Aynı çalışmada toplam flavonoid içeriklerinin karşılaştırılmasında farklı propolislerin su ekstraktı değerlerinin 0.43-0.67 mg Q/g, etanol ekstraktının 6.52-15.51 mg Q/g, propilen glikol ekstraktının 7.98-17.59 mg Q/g, %70 etanol ekstraktının 5.38-25.93 mg Q/g, %70 propilen glikol ekstraktının ise 4.52-16.81 mg Q/g arasında değiştiği tespit edilmiştir. Araştırmamızda elde edilen flavonoid değerleriyle karşılaştırıldığında araştırmamıza benzer şekilde %75 etanol ekstraktının %75 MPG ekstraktına göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Demir (Fe^{+3}) indirgeyici antioksidan gücü değerlerine bakıldığında Artvin ilinde yapılan çalışmada su ekstraktının değerlerinin 11.10-17.82 mg T/g, etanol ekstraktının 20.12-141.74 mg T/g, propilen glikol ekstraktının 33.43-174.76 mg T/g, %70 etanol ekstraktının 25.97-125.21 mg T/g, %70 propilen glikol ekstraktının ise 33.36-170.48 mg T/g arasında tespit edildiği görülmüştür (117). Araştırmamızda ise etanol ekstraktlarına ait değerlerin MPG ve saf su ekstraktlarına kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. Artvin ilinde yapılan çalışmada il içinde farklı bölgelerden alınan propolislerin değerlerinde farklılık olduğu görülmektedir. Çalışmamızda Gümüşhane, Trabzon ve Giresun bölgelerinden alınan örnekler kullanılmıştır. Propolis kaynağındaki farklılık, propolis ekstraktlarının hazırlandığı sıcaklık ve süre ile çözücülerin oranları arasındaki farklılıklardan dolayı tez çalışmamız ile Artvin ilinde yapılan çalışma sonucu elde edilen değerler arasında fark olabileceği değerlendirilmektedir.

Keskin ve ark. Bilecik yöresinden değişik bölgelerden toplanan propolislerle hazırlanan %70'lik etanolik propolis ekstraktları üzerinde yaptıkları bir çalışmada; toplam fenolik içeriği 11.48-75.77 mg GAE/mL değerleri arasında, toplam flavonoidler ise 2.66 ve 16.47 mg QE/mL değerleri arasında tespit edilmiştir. (118). Elde edilen sonuçların çalışmamızla benzerlik gösterdiği değerlendirilmekle beraber Türkiye'nin farklı bölgelerinden alınan propolis örneklerinin toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin geniş bir aralıkta farklılık gösterdiği açıktır.

Endonezya propolisi üzerinde %70 etanol, su, zeytinyağı, saf Hindistan cevizi yağı ve propilen glikol kullanılarak 40 °C'de 7 gün boyunca ekstrakte edilerek hazırlanan ekstraktlar üzerinde Pujirahayu ve ark. yaptığı çalışmada, flavonoid içeriği en fazla olan ekstraktın propilen glikol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir. İkinci sırada ise etanol ekstraktı bulunmaktadır. En düşük olanın ise zeytinyağı ekstraktı, ikinci sırada su ekstraktı olduğu belirlenmiştir. Etanol ekstraktının propilen glikol ekstraktından daha düşük değerde olmasının nedeninin etanolün daha az polar olan grupta yer alması gösterilmektedir (119). Yaptığımız çalışmada ise flavonoid içeriği en çok etanol ekstraktında tespit edilmiştir. Monopropilen glikol ekstraktının içeriği ise etanol ekstraktından daha az bulunmuştur. Çalışmamızda kullanılan monopropilen glikolün %50 oranında olmasının bu durumda etkili olduğu değerlendirilmektedir. Çalışmamızda en az değer ise saf su ekstraktında tespit edildiğinden elde edilen veriler literatür ile kısmen uyumludur.

Yine Endonezya propolisi üzerinde Pangestive ark. yaptığı bir çalışmada çözücü olarak saf su kullanılmış olup 10 g propolis 100 mL saf suda ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon 10, 20 ve 30 dakika boyunca düşük (oda sıcaklığından 27-30 °C'ye), orta (40-43 °C) ve yüksek derecelerde (60-63 °C) gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda en yüksek toplam fenolik içeriğin 30 dakika boyunca yüksek derecede ekstrakte edilen ekstraktta (2.21 mg GAE/mL), en düşük olanın ise 10 dakika boyunda düşük sıcaklıkta ekstrakte edilen ekstratta (1.6 mg GAE/mL) olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon süresi arttıkça toplam fenolik içeriğin de arttığı gözlemlenmiştir. DPPH• metodu sonuçlarına bakıldığında ise en düşük değer 20 dakika orta derecede hazırlanan ekstraktta görüldüğü (1.47 µg/mL) tespit edilmiştir. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstraksiyon yapılması ve ikisi arasındaki etkileşim IC₅₀ değerini etkilememekle birlikte, daha uzun bir ekstraksiyon süresiyle daha yüksek bir sıcaklıkta ekstraksiyonun IC₅₀ değerini artırabileceği görülmüştür. Toplam flavonoid içeriğine bakıldığında ise sıcaklığın önemli bir etken olduğu tespit edilmiştir. En yüksek değer (0.31 mg GAE/mL) 30 dakika yüksek sıcaklıkta hazırlanan ekstraktta görüldüğü, en düşük değer ise düşük sıcaklıklarda görüldüğü (0.08-0.18 mg GAE/mL) tespit edilmiştir. Ayrıca ekstraksiyon süresi arttıkça toplam flavonoid içeriğin de arttığı görülmüştür (120). Araştırmamızda kullanılan saf su ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri incelendiğinde ekstraksiyon süresi arttıkça fenolik madde içeriğinin artmış olduğu tespit edilmiştir. DPPH• metodu sonuçlarına bakıldığında ekstraksiyon süresinin artışıyla IC₅₀ değerinin düştüğü gözlemlenmiştir. Toplam flavonoid içeriğinin ise ekstraksiyon süresinin artışıyla

arttığı fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadığı tespit edilmiştir. Literatür çalışması ile tez çalışmamız arasında benzerlik olduğu değerlendirilmektedir.

Woźniak ve ark. Polonya'nın 15 farklı bölgesinden toplanan ham propolis örnekleri ile yaptıkları bir çalışmada, 15 g öğütülmüş propolis 150 mL'lik %70 etanol çözücüsünde oda sıcaklığında 5 gün süreyle çalkalanarak ekstrakte edilmiştir. Toplam fenolik içeriği, en yüksek olan bölgede 219.41 mg GAE/g, en düşük olan bölgede ise 116.6 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Toplam flavonoid içeriği ise en yüksek olan bölgede 106.07 mg QE/g, en düşük olan bölgede ise 30.41 mg QE/g olarak tespit edilmiştir. Araştırmamızda ise %75'lik etanol ekstraktının toplam fenolik içeriği 23.13 ve 27.40 mg GAE/mL olarak tespit edilmiştir. Toplam flavonoid içeriği ise 5.44 ve 7.13 mg KE/mL şeklinde tespit edilmiştir. Polonya'da yapılan çalışmada elde edilen değerlerin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumun hem propolis kaynağı hem de ekstraksiyon yöntemi ile alakalı olabileceği değerlendirilmektedir. Aynı çalışmada, tüm ekstraktlara karşı en hassas bakteri türünün *B. cereus* olduğu tespit edilmiştir. Tüm propolis ekstraktları *E. coli*'ye karşı düşük aktivite gösterirken, *S. aureus*'a karşı etkisiz kalmıştır. *C. albicans*'a karşı propolis ekstraktlarından dört tanesinin yüksek aktivite (18 ve 15 mm) gösterdiği, dört tanesinin ise hiç aktivite göstermediği, geri kalanların ise düşük ve orta seviyede aktivite gösterdiği belirlenmiştir (121). Araştırmamızda etanol ekstraktının *B. cereus*'a karşı yüksek aktivite, *E. coli*'ye karşı düşük aktivite, *S. aureus*'a karşı yüksek aktivite ve *C. albicans*'a karşı yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmamız ile Polonya'da yürütülen çalışmanın kısmen uyumlu olduğu görülmektedir. Çalışmamızdaki etanol ekstraktı *S. aureus*'a karşı yüksek aktivite gösterirken Polonya propolis ekstraktının aktivite göstermediği tespit edilmiştir.

Litvanya propolisinin %70 etanol ve %30 PEG 400 çözücülerini ile hazırlanan ekstraktlar üzerinde Liaudanskas ve ark. yaptığı çalışmada, propolis ekstraktlarının indirgeme aktivitesinin spektrofotometrik FRAP yöntemi uygulanarak değerlendirilmesi sonucunda, etanollü ekstrakttaki indirgeme aktivitesinin (21.3 $\mu\text{mol TE/g}$) PEG 400 ekstraktına göre (10.7 $\mu\text{mol TE/g}$) 2 kat daha güçlü olduğu ortaya çıkmıştır. Ekstraktların DPPH• yöntemi uygulanarak antiradikal aktivitesinin değerlendirilmesinde ise, etanol ekstraktının (1299.5 $\mu\text{mol TE/g}$) PEG 400'e kıyasla (107.1 $\mu\text{mol TE/g}$) 12 kata kadar daha güçlü serbest radikal temizleme aktivitesi ile karakterize edildiği ortaya koyulmuştur. Aynı zamanda antioksidan aktivitenin antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için kullanılan yöntemlere büyük ölçüde bağlı olduğu ve yönteme bağlı olarak büyük ölçüde

değişebileceği anlaşılmıştır. DPPH• serbest radikallerinin sadece organik çözücülerde çözünebildiği, bu nedenle hidrofilik antioksidanların antiradikal aktivitesinin bu yöntemle değerlendirilmesi sınırlı olduğundan; ekstraksiyonda etanol kullanıldığında lipofilik özelliklere sahip daha fazla fenolik bileşik ekstrakte edildiği ve böylece DPPH• yöntemine göre in vitro belirlenen etanol ekstraktı antiradikal aktivitesinin PEG 400 ekstraktına kıyasla önemli ölçüde daha güçlü olduğu anlaşılmıştır. Yaptığımız çalışmada da etanol ekstraktının FRAP yöntemine göre indirgeme aktivitesi PEG ekstraktından 2 kat daha güçlüdür. DPPH• yöntemine göre incelendiğinde yine etanol ekstraktının PEG ekstraktına kıyasla daha güçlü serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiği görüldüğünden çalışmamızın literatür ile uyumlu olduğu değerlendirilmektedir. Aynı çalışmada, etanol ve PEG 400 ekstraktında 5 fenolik asit (*p*-kumarik, kafeik, sinapik, klorojenik, rosmarinik asit) tespit edilmiştir. Tanımlanan fenolik asitlerin ve türevlerinin toplam içeriği PEG 400 ekstraktında 430.44 µg/mL ve etanol ekstraktında 326.87 µg/mL olarak bulunmuştur. Kafeik, sinapik ve klorojenik asit içeriğinin PEG 400 ekstraktında etanol ekstraktına göre 3-5 kat daha fazla olduğunu tespit edilmiştir. Rosmarinik ve *p*-kumarik asitin ise etanol ekstraktında daha fazla olduğu görülmüştür. PEG 400 ve etanol ekstraktında tanımlanan bileşiklerin en büyük grubunun flavonoidler, yani isorhamnetin, apigenin, kuersetin, hiperozid ve kaempferol olduğu ve bunların içeriği nin PEG 400 ekstraktında 2.02 ile 14.03 µg/mL arasında; etanol ekstraktında ise 6.04 ile 37.5 µg/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir. Etanol ekstraktındaki isorhamnetin, apigenin, kuersetin ve kaempferol içeriğinin PEG 400 ekstraktına göre yaklaşık 2-3 kat daha yüksek olduğu, buna karşın hiperozid içeriğinin benzer olduğu tespit edilmiştir. Etanol ekstraktında galangin ve isorhamnetin-3-O-rutinosid içeriği PEG ekstraktına göre sırasıyla 14 ve 16 kat daha yüksektir. Isorhamnetin-3-O-glukozit, kaempferol-3-O-glukozit, avicularin ve floridzin içeriğinin de etanolde PEG'e göre 2-5 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Orientin ve tilirozid sadece etanol ekstraktında tespit edilmiştir. Etanol ekstraktında belirlenen flavonoidlerin toplam içeriği (72.5 µg/mL), PEG ekstraktındakinden (30.9 µg/ml) 2-3 kat daha yüksektir (122). Çalışmamızda PEG ve etanol ekstraktında kafeik asit ve *p*-kumarik asit tespit edilmiş olup kafeik asitin PEG ekstraktında, *p*-kumarik asitin ise etanol ekstraktında daha fazla olduğu görülmüştür. Apigenin ve kuersetin içeriği ise PEG ekstraktında daha fazladır. Toplam flavonoid madde miktarı ise etanol ekstraktında daha yüksektir. Çalışmamızda tespit edilen sonuçlar ile literatür sonuçlarının uyumlu olduğu görülmüştür.

Bozkuş ve ark. yapılan bir çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden toplanarak oluşturulan propolis karışımı saf su, etanol, DMSO, gliserol ve aseton çözücülerini kullanarak (500 mg propolis+20 mL çözücü) 60 °C'de 24 saat inkübe edilerek propolis ekstraktları hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktların toplam polifenol ve flavonoid içeriği, demir (Fe^{+3}) indirgeyici antioksidan gücü ve toplam antioksidan durumu belirlenmiştir. Toplam polifenol içeriği DMSO ekstraktı için 141.2 mg GA/g, etanol ekstraktı için, 122.7 mg GA/g, aseton ekstraktı için 100 mg GA/g, gliserol ekstraktı için 88 mg GA/g, su ekstraktı için 19.7 mg GA/g olarak tespit edilmiştir. Toplam flavonoid içeriği DMSO, etanol, aseton, gliserol ve su ekstraktı için sırasıyla 55.3, 47.8, 47.3, 23.3, ve 1.3 mg Q/g şeklindedir. Demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücü ise DMSO, etanol, aseton, gliserol ve su ekstraktı için sırasıyla 273.8, 236.9, 221.3, 141.8, 26.2 mg Tro/g olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmada toplam polifenol ve toplam flavonoid içeriği ile demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücünün etanol, su ve gliserol ekstraktı arasından en yüksek etanolde görüldüğü tespit edilmiştir. İkinci sırada gliserol, son sırada ise su ekstraktı bulunmaktadır (123). Araştırmamızda da toplam polifenol ve toplam flavonoid içeriği ile demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücünü en yüksekten en düşüğe doğru sırasıyla etanol, gliserol su ekstraktlarında tespit edilmiştir. Çalışmamızda çözücü olarak %75 etanol ve %50 gliserol olarak kullanılmıştır. Ancak elde edilen sonuçlar yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir.

36 saat ekstraksiyon yapılan propolis ekstraktlarında tespit edilen toplam fenolik madde profili Tablo 8, 9, 10, 11 ve 12'de gösterilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliğine (2024) göre Tablo 1'de bulunan veriler ile çalışmamızda elde edilen veriler karşılaştırıldığında; farklı çözücülerdeki tüm ekstraktlarda *p*-kumarik asit, galangin, *t*-sinnamik asit, krisin, pinosembrin, kafeik asit, ferulik asit, kafeik asit fenetil ester (CAPE) bulunduğu görülmektedir (49). Bu bileşiklerin miktarına baktığımızda ise saf su, MPG ve gliserol ekstraktının başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrası değerlerinin 500 mg/L'den az olduğu tespit edilmiştir. Etanol ekstraktında krisin, pinosembrin, CAPE ve galangin içeriğinin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrası değerlerinin 500 mg/L'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. PEG ekstraktında ise krisin, pinosembrin ve galangin içeriğinin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite sonrası değerlerinin 500 mg/L'nin üzerinde olduğu görülmüştür. Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliğine (2024) göre propolisin Tablo 1'de gösterilen bileşiklerden en az 5 tanesinin içermesi ve bu bileşiklerin her birinin 500 mg/L'nin üzerinde olması gerekmektedir. Standart bileşiklerimiz arasında Arı Ürünleri

Tebliğinde bulunan pinobanksin, 3-4 dimetoksi sinnamik asit, kamferol, protokateşik asit, artepillin C bulunmadığından propolis ekstraktlarının bu bileşikleri içerip içermediği tespit edilememiştir. Bu nedenle propolis ekstraktları Arı Ürünleri Tebliğine uygunluğu açısından değerlendirildiğinde; etanol ve PEG ekstraktlarının uygun olabileceği değerlendirilmektedir.

Düzce Üniversitesi Arıcılık Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezi'ne ait arılıklardan toplanan propolisler ile %70 etanol, ultra saf su, DMSO, %8 L-lizin çözücülerini kullanılarak 4 saatlik inkübasyon ile hazırlanan ekstraktlar üzerinde Kekeçoğlu ve ark. yapılan çalışmada HPLC-DAD metoduyla hem flavonoidlerin hem de fenolik asitlerin miktarı araştırılmıştır. Su ve etanolün propolisin fenolik bileşiklerini ekstrakte etmede diğer çözücülere göre daha başarılı olduğu görülmüştür. Çalışmada genel olarak propolisin fenolik asitlerinin suda daha fazla çözündüğü, propolisin flavonoidlerinin ise etanolde daha çözünür olduğu sonucuna varılmıştır (124). Araştırmamızdaki veriler incelendiğinde kuersetin, apigenin, krisin, pinosembrin ve galangin flavonoidlerinin genel olarak etanolde daha iyi çözündüğü görülmektedir. Bu açıdan bahse konu çalışma ile tez çalışmamız uyumludur. Kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, *t*-sinnamik asit ve CAPE fenoliklerinin ise çalışmamızda etanol ekstraktında daha iyi çözündüğü görülmüştür. Bu açıdan ise bahse konu çalışma ile tez çalışmamızın sonuçları uyumlu değildir.

Ticari etanol ve su bazlı propolis ekstraktları formundaki propolis preparatlarının gıda kaynaklı enfeksiyonlara sebep olan çeşitli patojenik mikroorganizmalara karşı etkilerini belirlemek veya karşılaştırmak için kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır (125). Propolisin sahip olduğu antimikrobiyal etki; çözücü tipi, bitki çeşidi, coğrafi orijin ve propolisin içerdiği bileşiklere göre değişiklik göstermektedir (126).

Propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi hakkındaki çalışmaların genel olarak etanol ekstraktları üzerinde yapıldığı görülmüştür. Bayram ve ark. yaptığı bir çalışmada etanol ekstraktının *B. cereus*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği; gram pozitif bakterilerin (*B. cereus*, *S. aureus* ve *S. epidermidis*) büyümesini gram negatif bakterilere göre (*E. coli*) daha iyi inhibe ettiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada *C. albicansa* karşı antifungal etki gösterdiği de görülmüştür (127). Başka bir çalışmada Tayvan'dan toplanan propolislerin etanollü ekstraktlarının toplanan bölgeye, zamana ve konsantrasyona bağlı olarak *S. aureus*' a karşı farklı derecede antibakteriyel aktivite gösterdiği, bu ekstraktların en düşük

inhibe edici konsantrasyonunun <3.75 ile 60 µg/mL, en düşük bakterisidal konsantrasyonunun 7.5 ile 120 µg/mL arasında olduğu tespit edilmiştir (128).

Onaran ve ark. marketlerden temin edilen kullanıma hazır %30'luk su bazlı ve etanol bazlı propolis ekstraktları üzerinde yaptığı çalışmada, *E. Coli* inhibisyon zonunun hem su hem etanol ekstraktı için 6 mm olarak ölçüldüğü, ancak *E. Coli*'ye karşı istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon zonu oluşmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte etanol bazlı ekstraktın *S. aureus* ve *Bacillus* ailesine ait bakterilere karşı inhibisyon etkisinin su bazlı ekstrakta göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (125). Çalışmamızda *E. Coli*'ye karşı sadece etanol ekstraktının inhibisyon gösterdiği, saf su ekstraktının ise inhibisyon göstermediği tespit edilmiştir. *S. aureus* ve *B. cereus* inhibisyon zonları karşılaştırıldığında etanol ekstraktının inhibisyon zonunun saf su ekstraktına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımızın literatür verileriyle kısmen uyumlu olduğu görülmüştür.

Yapılan bir araştırmada Etiyopya propolisinin etanol ekstraktının *E. coli* inhibisyon zonunun Mısır ve Irak'ta rapor edilen seviyeden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada Etiyopya propolisinin etanol ekstraktının *S. aureus*'a karşı inhibisyon göstermediği; oysa Türkiye, Brezilya, Mısır ve İran propolisinin inhibisyon gösterdiği görülmüştür. Antimikrobiyal aktivitedeki bu değişiklik kimyasal bileşimdeki farklılık, bazı alifatik ve aromatik bileşiklerin varlığı, di ve triterpenler ve flavonoidlerden kaynaklanmaktadır (129).

Sorucu ve ark. yaptığı çalışmada Bursa ilinde toplanan propolisler ile %70 etanol ve su, önce shaker kullanılarak 1 saat karıştırıldıktan sonra 30 dakika ultrasonikasyon uygulanarak ekstraktlar hazırlanmıştır. Well difüzyon testi sonucunda her iki propolis ekstraktının da gram-pozitif suşlara ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ancak propolis ekstraktlarının gram-negatif bir suş olan *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etkisi görülmemiştir. Su ekstraktı *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı etanolik ekstrakta göre daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir (130). Araştırmamızda ise *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitenin etanolik ekstrakta daha yüksek olduğu ve etanolik ekstraktın *E. Coli*'ye karşı etki gösterdiği görülmüştür. Bahse konu çalışmada ekstraktlar 5 g propolis kullanılarak hazırlanmıştır. Ekstraksiyon yönteminin, kullanılan propolisin kaynağı ve miktarının farklılığın bu sonuçta etkili olduğu değerlendirilmektedir.

Propolis genellikle dayanıklı bir üründür. Dondurulup kurutulan propolis uzun süre antibakteriyel özelliklerini koruyabileceği bildirilmiş olup, sürenin miktarı konusunda yeterli veri bulunmamaktadır. Oda sıcaklığında beta glikosidaz enzim aktivitesinin düşmesi propolisin uzun süre beklediğini ya da uygun depolama şartlarında saklanmadığını göstermektedir. Fotooksidasyona duyarlı bileşikler nedeniyle karanlıkta depolanmalı, etanol özütleri kahverengi şişelerde olmalıdır. Propolisin etanol özütleri depolamadan 15 yıl sonra dahi antimikrobiyal aktivitesi devam ettirmiştir (31).

Mehmetoğlu ve ark. dondurmaya propolis ile zenginleştirerek fonksiyonel gıda özelliği kazandırmayı amaçladığı bir çalışmada, dondurma miksine % 0.0, % 0.1, % 0.2, % 0.3, % 0.4 ve % 0.5 oranlarında, Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü'nün aralıklarından toplanan propolis kullanılarak hazırlanan propolis tozunu içeren toplam 6 adet örnek gruplarından oluşan miks hazırlanmıştır. İki aylık depolama süresi sonunda dondurmanın fenolik madde miktarı değeri değişmezken, FRAP değeri bir miktar azalmıştır. Propolis ilavesinin dondurmanın fiziksel ve duyu özelliklerini olumsuz etkilemesiyle birlikte en düşük konsantrasyonlarda bile antioksidan aktiviteye önemli katkı sağladığı tespit edilmiştir (131).

Yağların oksidatif stabilitesini artırmak amacıyla yapılan bir çalışmada propolis ekstraktlarının zeytinyağı lipid oksidasyonu üzerindeki etkilerini, sentetik antioksidanlara kıyasla hızlandırılmış termal koşullar altında yapılan testlerle ortaya koymak amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda propolis ekstraktlı yağlar, daha düşük peroksit değeri ve kısmen azaltılmış tokoferol içeriği de dahil olmak üzere çok daha iyi kimyasal stabilite sergilemiştir. Elde edilen veriler, propolis ekstraktının zeytinyağının oksidasyonunu geciktirmede sentetik antioksidanlara kıyasla daha etkili olduğunu göstermiştir (132).

Güler ve ark. tavuk yumurtaları üzerinde yaptıkları çalışmada yumurtaların daha uzun süre tazeliğini korumada suda ekstrakte edilen propolisin etkisi araştırılmıştır. Yumurtalar propolisin sulu ekstraktı ile kaplanarak farklı 10 ve 20 gün süreyle oda (22 °C) ve buzdolabı (4°C) koşullarında depolanmıştır. Depolama sonucunda propolis ekstraktı ile kaplamanın yumurta ağırlık kaybını ve hava boşluğu yüksekliğini kaplanmamış olanlara göre en aza indirdiği tespit edilmiştir. Özgül ağırlığın, yumurta sarısı indeksinin arttığı ve mezofilik bakteri sayısının azaldığı gözlemlenmiştir. Propolis ekstraktı kabuğun üzerindeki porları kapladığından oda ve buzdolabı sıcaklığında depolanan yumurtaların raf ömrü ve iç kalitesinde olumlu etkileri olduğu tespit edilmiştir (133).

Balık yağındaki oksidasyonu önlemek amacıyla doğal antioksidan kullanımı konusunda yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (100, 500, 1 000 mg/kg) %70 etanolik propolis ekstraktı ve sentetik antioksidan olarak bütillendirilmiş hidroksitoluen (100 mg/kg) balık yağına eklenerek hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında lipid oksidasyon düzeyi belirlenmiştir. Örnekler 2 mL'lik ışık geçirmeyen koyu renkli eppendorf tüplere alınarak sıcaklığı 60°C'ye ayarlanmış inkübatörde 21 gün süre ile depolanmışlardır. Depolama sırasında meydana gelen oksidatif değişimler üç günlük periyotlarla analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda balık yağına propolis ekstraktı eklemenin lipid oksidasyonunu geciktirdiği, özellikle 500 ve 1 000 mg/kg konsantrasyonlarında daha etkili sonuç verdiği gözlemlenmiştir (109).

Kahta, Sivrice ve Ovacık bölgelerinden haziran ayında toplanan propolisler üzerine yapılan bir çalışmada, toplanan propolisler haziran ve şubat aylarında çalışılmak üzere ayrılmıştır. Öncelikle haziran ayında propolisler analiz edilmiştir. Sonra oda koşullarında (25 °C) serin ve karanlık yerde muhafaza edilen diğer grup propolisler şubat ayında analize tabi tutulmuştur. Propolis ekstraktları %80 etanol ile 4.5 g/mL oranında hazırlanmıştır. Depolama başlangıcında DPPH• düzeyleri Kahta, Sivrice ve Ovacık bölgeleri için sırasıyla 168.47, 130.88 ve 95.42 mg/L olarak tespit edilirken, depolama sonrasında sırasıyla 368.22, 259.79 ve 140.11 mg/L seviyelerinde olduğu belirlenmiştir. Uzun süre raf ömrünün bozulmalara yol açarak radikal süpürme aktivitesini azalttığı gözlemlenmiştir (134).

Propolislerde raf ömrü çalışmaları propolisin besinlerde koruyucu katkı maddesi olarak kullanımı üzerine yapılmıştır. Antibakteriyel, antioksidan ve antifungal özellikli doğal bir koruyucu etki göstermesi ile birlikte, besinlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinde oluşabilecek istenmeyen değişiklikleri önleyebilmekte veya geciktirebilmektedir. Propolisin besinlere eklenme; püskürtme veya daldırma yöntemi, besin kaplamalarında kullanımı şeklinde kullanımları mevcuttur. Besinlerde ürün stabilitesinin korunması, patojenlerin önlenmesi ve raf ömrünün uzatılması gibi etkiler gösterebilmektedir (135). Bununla birlikte literatürde propolis ekstraktlarının raf ömrü ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu açıdan tez çalışmamız özgünlük göstermektedir. Ticari propolis ekstraktlarının tüketiminin yaygınlaşmasıyla birlikte propolisin kalitesini ve biyoyararlılığını korumak amacıyla raf ömrü konusunda daha çok araştırma yapılmasına gerek duyulduğu değerlendirilmektedir.

Bu tez çalışmasında propolis ekstraktlarının çeşitli çözücülerde değişik derecelerde fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olduğu, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Propolis daha uzun süre ekstrakte edildiğinde çözünen fenolik ve flavonoid maddelerinin genellikle artış gösterdiği görülmüştür. Etanollü ekstraktların fenolik ve flavonoid içeriği ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivite açısından en güçlü ekstrakt olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun gıda endüstrisi, ilaç ve kozmetik endüstrisinde propolis ekstraktlarında kullanılan çözücünün seçiminin önemli olacağını göstermektedir. Piyasadaki propolis ekstraktlarının propolis oranı ve çözücü türü tüketiciler tarafından önemli görülmektedir. Etanol ekstraktlarından sonra fenolik ve flavonoid içeriği ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivite açısından en güçlü ekstraktın PEG ekstraktı olduğu tespit edilmiştir. Çeşitli nedenlerle etanol ekstraktlarının tercih edilmek istenmediği durumlarda PEG ekstraktının alternatif olabileceği değerlendirilmektedir. Yaptığımız raf ömrü çalışmasında görülmüştür ki 3 yıla denk gelen raf ömrü sonunda etanol ve PEG ekstraktlarının fenolik ve flavonoid içeriği ile antioksidan aktivitesi diğer çözücülere göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Çalışmamızda tespit edilen propolis ekstraktlarının farklı çözücülerdeki etkisinin ve 3 yıla denk gelen raf ömrü sonunda elde edilen verilerin sağlık ve beslenme alanlarına katkı sağlayacağı değerlendirilmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2021). Good Beekeeping Practices for Sustainable Apiculture, 130-131. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cb5353en>
2. Abd-El-Rhman AM (2009). Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 27(3), 454–459. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.06.015>
3. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020). Title: How to collect raw propolis from the hive [online]. Available from: <https://teca.apps.fao.org/en/technologies/8703> [Accessed 5 Mart 2024]
4. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020). Title: How to process raw propolis into propolis extracts [online]. Available from: <https://teca.apps.fao.org/en/technologies/8580> [Accessed 5 Mart 2024]
5. Freitas AS, Cunha A, Parpot P, Cardoso SM, Oliveira R, Almeida-Aguiar C (2022). Propolis Efficacy: The Quest for Eco-Friendly Solvents. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(21), 7531. <https://doi.org/10.3390/molecules27217531>
6. Asgharpour F, Moghadamnia AA, Kazemi S, Nouri HR, Motallebnejad M (2020). Applying GC-MS analysis to identify chemical composition of Iranian propolis prepared with different solvent and evaluation of its biological activity. *Caspian journal of internal medicine*, 11(2), 191–198. <https://doi.org/10.22088/cjim.11.2.191>
7. Wagh VD (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences*, 2013, 308249. <https://doi.org/10.1155/2013/308249>
8. Yılmaz YY (2023). Kimyasal içerik ve biyolojik aktivite açısından propolis. *Arı ve Arıcılık Teknolojileri Dergisi*, 2(1), 39-47.
9. Widelski, J, Okińczyc P, Suśniak K, Malm A, Paluch E, Sakipov A, Zhumashova G, Ibadullayeva G, Sakipova Z, Korona-Glowniak I (2023). Phytochemical profile and antimicrobial potential of propolis samples from Kazakhstan. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(7), 2984. <https://doi.org/10.3390/molecules28072984>
10. Halvacı E, Kozak T, Gül M, Kars H, vd. (2024). Journey to the sweet world of beekeeping: historical development, honey harvesting and overview of bee products. *Journal of Scientific Reports-B*(009), 39-58.

11. TSE 12910 Arıcılık-Arı Tutkalı (Propolis), (14 Nisan 2003). <https://intweb.tse.org.tr/standard/standard/Standard.aspx?053107106111065067115113049116090107100056052055108081090071086075069085047110067109075073081116103090081086073108065117084119102117080049106055054100083122117081090120069083101065078105117047>
12. Przybyłek I, Karpiński TM (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(11), 2047. <https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
13. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH (2017). Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1259510. <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
14. Doğan N, Hayoğlu İ (2014). Propolis ve kullanım alanları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 16(3), 39-48.
15. Bonamigo T, Campos JF, Oliveira AS, Torquato HFV, Balestieri JBP, Cardoso CAL, Paredes-Gamero EJ, de Picoli Souza K, Dos Santos EL (2017). Antioxidant and cytotoxic activity of propolis of *Plebeia droryana* and *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) from the Brazilian Cerrado biome. *PloS one*, 12(9), e0183983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183983>
16. Chuttong B, Lim K, Praphawilai P, Danmek K, Maitip J, Vit P, Wu MC, Ghosh S, Jung C, Burgett M, Hongsihsong S (2023). exploring the functional properties of propolis, geopropolis, and cerumen, with a special emphasis on their antimicrobial effects. *Foods* (Basel, Switzerland), 12(21), 3909. <https://doi.org/10.3390/foods12213909>
17. Bankova VS, de Castro SL, Marcucci MC (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3-15.
18. Martinotti S, Ranzato E (2015). Propolis: a new frontier for wound healing ?. *Burns & Trauma*, 3, 9. <https://doi.org/10.1186/s41038-015-0010-z>
19. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, Attaullah M, Khan H, Ali H, Bashir MA, Tahir M, Ansari MJ, Ghramh HA, Adgaba N, Dash CK (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695–1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
20. Kamburoğlu K, Özen T (2011). Analgesic effect of Anatolian propolis in mice. *Ağrı*, 23(2), 47–50.

21. Skaba D, Morawiec T, Tanasiewicz M, Mertas A, Bobela E, Szliszka E, Skuchanowak M, Dawiec M, Yamamoto R, Ishiai S, Makita Y, Redzynia M, Janoszka B, Niedzielska I, Król W (2013). Influence of the toothpaste with brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2013, 215391. <https://doi.org/10.1155/2013/215391>
22. Machado B, Pulcino TN, Silva AL, Tadeu D, Melo RGS, Mendonça IG (2017). Propolis as an alternative in prevention and control of dental cavity. *Immunity*, 19, 24.
23. El-Sakhawy M (2023). Propolis harvesting and extraction. *Egypt. J. Chem.* Vol. 66, No. 1 pp. 313 – 321.
24. Stojanović S, Najman SJ, Bogdanova-Popov B, Najman SS (2020). Propolis: Chemical composition, biological and pharmacological activity: A review. *Acta Med. Median.*, 59, 108-113.
25. Gupta RK, Reybroeck W, De Waele M, Bouters A (2014). Bee Products: Production and Processing. Gupta RK (Ed.), *Beekeeping For Poverty Alleviation And Livelihood Security*, 622-625.
26. Krell R (1996). Value-Added products from beekeeping. Milan, FAO Publications; Sayfa: 168.
27. Forma E, Bryś M (2021). Anticancer activity of propolis and its compounds. *Nutrients*, 13(8), 2594. <https://doi.org/10.3390/nu13082594>
28. Kasote D, Bankova V, Viljoen AM (2022). Propolis: chemical diversity and challenges in quality control. *Phytochemistry Reviews: Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 21(6), 1887–1911. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09816-1>
29. Huang S, Zhang CP, Wang K, Li GQ, Hu FL (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules* (Basel, Switzerland), 19(12), 19610–19632. <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
30. Zullkiflee N, Taha H, Usman A (2022). Propolis: its role and efficacy in human health and diseases. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(18), 6120. <https://doi.org/10.3390/molecules27186120>
31. Ünal M, Öztürk O, Selcuk MY, Oruç MA (2020). Propolis- Literatür ne diyor? Propolis- What does the literature say?. *Bozok Tıp Dergisi*, 10(2), 215-223.
32. Kocot J, Kiełczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I (2018). Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal Jelly: possible medical

- application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 7074209. <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>
33. Bobiş O (2022). Plants: sources of diversity in propolis properties. *Plants* (Basel, Switzerland), 11(17), 2298. <https://doi.org/10.3390/plants11172298>
34. Özdal HR, Nakilcioğlu E, Ötleş S (2023). Propolisin biyoaktif bileşenleri üzerine ekstraksiyon yöntemlerinin ve ekstraksiyon değişkenlerinin etkileri. *Gıda*, 48(6), 1123-1131. <https://doi.org/10.15237/gida.GD23074>
35. Gaş E (2024). Kuşburnu sirkesi ve propolis ekstraktının gıda patojenleri üzerine antimikrobiyal etkisinin araştırılması ve sardalya (*sardina pilchardus*) balığında koruyuculuğunun incelenmesi, Yüksek lisans tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
36. Bayatbalay G, Karpuz E, Palabıyık İ (2021). propolis püskürtülmüş ambalaj filmlerin antibakteriyel aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 19(1), 21-27. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.927633>
37. Duran N, Duran G, Öztaş H, Özcan B (2010). adana propolis örneklerinin antibakteriyel ve antifungal etkisinin araştırılması. *The Medical Journal of Mustafa Kemal University*, 1(1), 7-14.
38. Ożarowski M, Karpiński TM, Alam R, Łochyńska M (2022). Antifungal properties of chemically defined propolis from various geographical regions. *Microorganisms*, 10(2), 364.
39. Alcivar-Saldaña JJ, Rodriguez-Monroy MA, Carrillo-Miranda L, Canales-Martinez MM (2024). Botanical origin and biological properties of honey and propolis from Cuautitlan, State of Mexico, Mexico. *Antioxidants*, 13(7).
40. Negri G, Duarte-Almeida JM, Figueiredo CA, Toledo-Piza ARD, Tonelli FCP, Barbosa TF, Mendonça RZ (2024). Antiviral activity of red propolis against herpes simplex virus-1. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60, e23746.
41. Mendonça RZ, Nascimento RM, Fernandes ACDO, Silva Jr PI (2024). Antiviral action of aqueous extracts of propolis from *Scaptotrigona aff. postica* (Hymenoptera; Apidae) against Zica, Chikungunya, and Mayaro virus. *Scientific Reports*, 14(1), 15289.
42. Zulhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christoper A, Chandrasekaran K, Irsyam I, Wathoni N (2022). Recent update on the anti-inflammatory activities of propolis. *Molecules*, 27(23), 8473.

43. Machado JL, Assunção AKM, da Silva MCP, Reis ASD, Costa GC, Arruda DDS, Nascimento FRFD (2012). Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(1), 157652.
44. Tiveron AP, Rosalen PL, Franchin M, Lacerda RCC, Bueno-Silva B, Benso B, Alencar SMD (2016). Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of South Brazilian organic propolis. *PLoS One*, 11(11), e0165588.
45. Campos JF, Santos UPD, Rocha PDS, Damião MJ, Balestieri JBP, Cardoso CAL, Santos ELD (2015). Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of propolis from the stingless bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jatai). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 296186.
46. İnşaatçı Ö, Turan N Y (2018). A new antibacterial agent: propolis. *SSRG International Journal of Polymer and Textile Engineering*, 5(3), 21-25.
47. Bestil D N, Uysal H (2023). Flavonoidler ve biyolojik aktiviteleri. *Antakya Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2(1), 49-55.
48. Yıldız BM, Ünal F (2022). Propolisin kimyasal bileşimi ve biyolojik etkileri. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 3(1), 14-32.
49. Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2024/6). T.C. Resmi Gazete, 32527, 25 Nisan 2024.
50. Araba S, Özparlak H (2022). Propolis. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 48(1), 1-9. <https://doi.org/10.35238/sufefd.1068425>
51. Almuhayawi M S (2020). Propolis as a novel antibacterial agent. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 27(11), 3079–3086. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.016>
52. Özenirler Ç, Zare G (2022). Evaluation of the polyphenol contents and antioxidant activity of propolis extracted with different techniques. *U. Bee. J.* 22(2):176-187.
53. Eroğlu N, Kambur M, Kekeçoğlu M. (2021). The investigation propolis foraging preference of different honey bee. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 31(1), 133-141. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.785911>
54. Bektaş Ö (2023). Çocuk diş hekimliği alanında propolis kullanımı. *Arel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 10-23.

55. Salatino A (2022). Perspectives for uses of propolis in therapy against infectious diseases. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(14), 4594. <https://doi.org/10.3390/molecules27144594>
56. Dezmirean DS, Paşca C, Moise AR, Bobiş O (2020). Plant sources responsible for the chemical composition and main bioactive properties of poplar-type propolis. *Plants* (Basel, Switzerland), 10(1), 22. <https://doi.org/10.3390/plants10010022>
57. S VK (2014). Propolis in dentistry and oral cancer management. *North American Journal of Medical Sciences*, 6(6), 250–259. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.134369>
58. Yılmaz E, Erdilek D (2023). Effectiveness of antimicrobial mouthwashes in caries biofilm. *Aurum Journal of Health Sciences*, 5(3), 135-148.
59. Akbulut N, Daşikan Z (2023). Vajinal enfeksiyonların kadınların günlük yaşamına etkisi ve alternatif tedavi yaklaşımları. *JGON*. 2023;20(4):2037-4.
60. Seylam Küşümler A, Çelebi A (2021). Propolis ve sağlık üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 19(1), 89-97. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.927709>
61. Değer Kulaksız B, Değer O, Atayoğlu AT, Sevil E, vd. (2023). The efficacy of propolis extracts as a food supplement in patients with COVID-19. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 40(3), 443-447.
62. Mehmetoğlu S, Tarakçı Z, Demirkol M, Çakıcı N, vd. (2017). Gıda katkı maddesi olarak propolis. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 9(1), 32-39.
63. Gümüş D, Kızıl M (2022). Propolisin besinlerde kullanımı ve koruyucu özellikleri. *Food and Health*, 8(1), 68-77.
64. Melliou E, Chinou I (2004). Chemical analysis and antimicrobial activity of Greek propolis. *Planta Medica*, 70(6), 515–519. <https://doi.org/10.1055/s-2004-827150>
65. Onur E, Nalbantsoy A, Kışla D (2018). İmmünoterapi ve propolisin kanser immünoterapisinde kullanım potansiyeli. *Food and Health*, 4(4), 231-246. <https://doi.org/10.3153/FH18023>
66. Braakhuis A (2019). Evidence on the health benefits of supplemental propolis. *Nutrients*, 11(11), 2705. <https://doi.org/10.3390/nu11112705>
67. Reis JHO, Machado BAS, Barreto GA, Anjos JPD, Fonseca LMDS, Santos AAB, Pessoa FLP, Druzian JI (2020). Supercritical extraction of red propolis: operational conditions and chemical characterization. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(20), 4816. <https://doi.org/10.3390/molecules25204816>

68. Yıldız O (2020). Tüketilebilir propolis ekstralarında kullanılan çözücülerin (menstrumların) değerlendirilmesi. *U.Arı.D*, 20(1): 24-37,
69. Aliyazıcıoğlu R, Sahin H, Erturk O, Ulusoy E, Kolaylı S (2013). Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. *International journal of food properties*, 16(2): 277-287. <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.551312>
70. Yıldız O, Kolaylı S (2015). Ham propolisten biyoaktif potansiyeli yüksek sulu propolis ekstraktı hazırlanma yöntemi. *Türkiye*, TR201504984A2.
71. Xie Y, Shao X, Zhang K, Guo Y (2019). Propolis extract and preparation method and application thereof. *Çin*, CN110638837B.
72. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 962, Water [online]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/962> [Accessed 30 Ocak 2024]
73. Drugbank Online. Water [online]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB09145> [Accessed 30 Ocak 2024]
74. CAMEO Chemicals. Chemical Datasheet, Water [online]. Available from: <https://cameochemicals.noaa.gov/chemical/30024> [Accessed 30 Ocak 2024]
75. National Institutes of Health (2013). Laboratory water, Its Importance and Application [online]. Available from: https://orf.od.nih.gov/TechnicalResources/Documents/DTR%20White%20Papers/Laboratory%20Water-Its%20Importance%20and%20Application-March-2013_508.pdf [Accessed 24 Ocak 2024].
76. Evoqua Water Technologies (2024). High Purity Water: A Technical Guide to Types I, II & III [online]. Available from: <https://www.evoqua.com/en/articles/high-purity-water-a-technical-guide-to-types-i-ii-iii> [Accessed 30 Ocak 2024]
77. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 702, Ethanol [online]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol> [Accessed 26 Ocak 2024]
78. Ethanol. CAS Common Chemistry. CAS, a division of the American Chemical Society, n.d. [online] Available from: https://commonchemistry.cas.org/detail?cas_rn=64-17-5 [Accessed 26 Ocak 2024]
79. CAMEO Chemicals. Chemical Datasheet, Ethanol [online]. Available from: <https://cameochemicals.noaa.gov/chemical/667> [Accessed 26 Ocak 2024]

80. Šuran J, Cepanec I, Mašek T, Starčević K, Tlak Gajger I, Vranješ M, Radić B, Radić S, Kosalec I, Vlainić J (2021). Nonaqueous polyethylene glycol as a safer alternative to ethanolic propolis extracts with comparable antioxidant and antimicrobial activity. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 10(6), 978. <https://doi.org/10.3390/antiox10060978>
81. Haminiuk CW, Plata-Oviedo MS, de Mattos G, Carpes ST, Branco IG (2014). Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2862–2866. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0759-z>
82. National Cancer Institute (2023). NCI Thesaurus [online]. Available from: https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C2190 [Accessed 26 Ocak 2024]
83. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxic Substances Portal, Ethylene Glycol [online]. Available from: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/substances/ToxSubstance.aspx?toxid=21> [Accessed 8 Şubat 2024]
84. CAMEO Chemicals. Chemical Datasheet, Ethylene Glycol [online]. Available from: <https://cameochemicals.noaa.gov/chemical/8660> [Accessed 8 Şubat 2024]
85. Internationally Peer Reviewed Chemical Safety Information (INCHEM), Ethylene Glycol: Human Health Aspects [online]. Available from: <https://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad45.htm> [Accessed 14 Şubat 2024]
86. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary, Ethylene Glycol [online]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethylene-Glycol> [Accessed 8 Şubat 2024]
87. Jang HJ, Shin CY, Kim KB (2015). Safety evaluation of polyethylene glycol (PEG) compounds for cosmetic use. *Toxicological Research*, 31(2), 105–136. <https://doi.org/10.5487/TR.2015.31.2.105>
88. Drugbank Online. Polyethylene Glycol 400 [online]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB11077> [Accessed 16 Şubat 2024]
89. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary, Propylene Glycol [online]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1030> [Accessed 22 Şubat 2024]

90. U.S. Food & Drug Administration. Code of Federal Regulation Title 21 [online]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=184.1666> [Accessed 05 Mart 2024]
91. CAMEO Chemicals. Chemical Datasheet, Propylene Glycol [online]. Available from: <https://cameochemicals.noaa.gov/chemical/9030> [Accessed 22 Şubat 2024]
92. Internationally Peer Reviewed Chemical Safety Information (INCHEM). Propylene Glycol [online]. Available from: <https://incchem.org/documents/icsc/icsc/eics0321.htm> [Accessed 22 Şubat 2024]
93. McMartin K (2014). Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). Academic Press, Sayfa: 1113-1116. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01029-0>
94. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxic Substances Portal, Propylene Glycol [online]. Available from: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/substances/ToxSubstance.aspx?toxid=240> [Accessed 22 Şubat 2024]
95. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary, Glycerin [online]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/753> [Accessed 23 Şubat 2024]
96. CAMEO Chemicals. Chemical Datasheet, Glycerine [online]. Available from: <https://cameochemicals.noaa.gov/chemical/8708> [Accessed 23 Şubat 2024]
97. International Labour Organization. International Chemical Safety Cards, Glycerol [online]. Available from: https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=en&p_card_id=0624&p_version=2 [Accessed 24 Şubat 2024]
98. Ondul E, Dizge N (2014). Glycerol: A major by-product in the biodiesel manufacturing process. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2), 75-79.
99. Slinkard K, Singleton VL (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
100. Kubiliene L, Laugaliene V, Pavilonis A, Maruska A, Majiene D, Barauskaite K, Kubilius R, Kasparaviciene G, Savickas A (2015). Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 156. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0677-5>

101. Büyüktuncel E (2014). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93-103. <https://doi.org/10.12991/mpj.22340>
102. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
103. Heim K E, Tagliaferro AR, Bobilya DJ (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572–584. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00208-5)
104. Fukumoto LR, Mazza G (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597–3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
105. Kara Y, Birinci C (2024). Usability of the phenolic profile analysis method developed in RP-HPLC-PDA in natural products. *Journal of Apitherapy and Nature*, 7(1), 14-27. <https://doi.org/10.35206/jan.1430767>
106. Stepanović S, Antić N, Dakić I, Svabić-Vlahović M (2003). In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research*, 158(4), 353–357. <https://doi.org/10.1078/0944-5013-00215>
107. Xiao M, Liu S, Jin H, Xiao M, Wang H, Zhang H, Dai Q (2022). Evaluating freshness loss of green tea with Q₁₀ method and weibull hazard analysis under accelerated shelf life testing. *Journal of Chemistry*, 2022, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2022/2955839>
108. Onyechi KK, Igwegbe CA (2019). Shelf life assessment of picralima nitida and glibenclamide using bio-based dose-response relationship method. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.9734/ajrimps/2019/v6i130094>
109. Reis FR, de Oliveira AC, Gadelha GGP, de Abreu MB, Soares HI (2017). Vacuum drying for extending litchi shelf-life: vitamin c, total phenolics, texture and shelf-life assessment. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 72(2), 120–125. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0602-9>
110. Bakkaloğlu Z, Arıcı M (2019). Farklı çözücülerle propolis ekstraksiyonunun toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(4), 538-545. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.667272>

111. Sun C, Wu Z, Wang Z, Zhang H (2015). Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of beijing propolis extracts. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM, 2015, 595393. <https://doi.org/10.1155/2015/595393>
112. Kolaylı S, Kara Y, Can Z (2020). Comparative study of some commercial propolis extract with new prepared ethanolic propolis extract. Bee Studies, 12(2), 27-30. <https://doi.org/10.51458/BSTD.2021.5>
113. Sağdıç O, Karasu S, Goktas H (2020). Piyasada satılan ticari propolis örneklerinin biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi(19), 19-31. <https://doi.org/10.31590/ejosat.734204>
114. Dönmez M, Karadeniz Ş, Yoldas T, Aydın G, et al. (2020). Comparison of chemical contents of extracts in different solvents of propolis samples produced in duzce province. International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research, 1(3), 137-146.
115. Kolaylı S, Birinci C (2024). A comparative study of solvent effect on propolis extraction by ultrasound-assisted extraction. Turkish Journal of Analytical Chemistry, 6(1), 11-17. <https://doi.org/10.51435/turkjac.1445121>
116. Ören E, Tuncay S, Toprak YE, Fırat M, Toptancı İ, Karasakal ÖF, Işık M, Karahan M (2024). Antioxidant, antidiabetic effects and polyphenolic contents of propolis from Siirt, Turkey. Food Science & Nutrition, 12(4), 2772–2782. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3958>
117. Bozkuş, TN (2024). determination of phenolic contents and antioxidant activities in different solvents of Hatila Valley and Macahel bee products in Artvin, Turkey. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 27(4), 949-957. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1331388>
118. Keskin M, Keskin Ş, Mayda N, Özkök A (2019). Determination of biochemical profile of Bilecik propolis. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 47(4), 403-409. <https://doi.org/10.15671/hjbc.593940>
119. Pujirahayu N, Ritonga H, Uslinawaty Z (2014). Properties and flavonoids content in propolis of some extraction method of raw propolis. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 6. 338-340.

120. Pangesti IF, Susilo A, Al Awwaly KU (2023). Ultrasonic-assisted extraction, analysis and identification of water extract of propolis. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 13(6), 433-442.
121. Woźniak M, Sip A, Mrówczyńska L, Broniarczyk J, Waśkiewicz A, Ratajczak I (2022). Biological activity and chemical composition of propolis from various regions of Poland. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(1), 141. <https://doi.org/10.3390/molecules28010141>
122. Liaudanskas M, Kubilienė L, Žvikas V, Trumbeckaitė S (2021). Comparison of ethanolic and aqueous-polyethylenglycolic propolis extracts: chemical composition and antioxidant properties. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2021, 5557667. <https://doi.org/10.1155/2021/5557667>
123. Bozkuş TN, Değer O (2022). Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of propolis in different solvents. *Food and Health*, 8(2), 111-117. <https://doi.org/10.3153/FH22011>
124. Kekeçoğlu M, Sorucu A (2022). Determination of the effect of green extraction solvents on the phenolic acids and flavonoids of propolis. *Journal of Research in Veterinary Medicine*, 41(1), 49-54. <https://doi.org/10.30782/jrv.m.937418>
125. Onaran Acar B, Gülendağ E. (2023). Comparison of antimicrobial activities of ethanol- and water-based propolis extracts on various foodborne pathogens by agar-well diffusion method. *Research in Agricultural Sciences*, 54(3), 130-136. <https://doi.org/10.5152/AUAF.2023.23148>
126. Mehmetoğlu S, Tarakçı Z, Demirkol M, Çakıcı N, vd. (2017). Gıda katkı maddesi olarak propolis. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 9(1), 32-39.
127. Bayram S, Bayram NE, Gerçek YC, Aydoğan MN, Cevahir Öz G (2017). Chemical analysis and antimicrobial effect of propolis from Hakkari province of Turkey against some pathogenic microorganisms. *Eur J Biol*. Aralık 2017; 76(2): 74-78. [doi:10.5152/EurJBiol.2017.1713](https://doi.org/10.5152/EurJBiol.2017.1713)
128. Lu LC, Chen YW, Chou CC (2005). Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 102(2), 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.017>
129. Afata TN, Nemo R, Ishete N, Tucho GT, Dekebo A (2022). Phytochemical investigation, physicochemical characterization, and antimicrobial activities of Ethiopian propolis. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(7), 103931.

130. Sorucu A, Ceylan Ö (2021). Determination of antimicrobial and anti-quorum sensing activities of water and ethanol extracts of propolis. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 68(4), 373-381. <https://doi.org/10.33988/auvfd.793632>
131. Mehmetoğlu S, Tarakçı Z (2023). Investigation of the physicochemical properties of propolis added ice creams during storage. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(2), 361-373. <https://doi.org/10.33462/jotaf.1115182>
132. Erdoğan Ü (2023). Propolis ekstraktı bitkisel yağların oksidatif stabilitesini iyileştirmek için doğal bir antioksidan olarak önerilebilir. Journal Of Faculty Of Pharmacy Of Ankara University, 47(1), 208-219. <https://doi.org/10.33483/Jfpau.1167078>
133. Güler G, Şen A, Korkmaz Turgud F, Tahtabiçen E, vd. (2022). Serbest gezen tavuklardan elde edilen yumurtaların propolis ekstraktı ile kaplanmasının raf ömrü ve kalite parametrelerine etkileri. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(1), 89-100. <https://doi.org/10.33462/jotaf.893121>
134. Alayunt NÖ (2019). Bölgesel farklılık ve depolama süresinin propolisin antioksidan özellikleri üzerine etkisi. Gıda, 44(6), 969-979. <https://doi.org/10.15237/gida.GD19063>
135. Gümüş D, Kızıl M (2022). Propolisin besinlerde kullanımı ve koruyucu özellikleri. Food and Health, 8(1), 68-77. <https://doi.org/10.3153/FH22007>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Aysun GÜNAYDIN
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi :
Telefon (İş) :
E-Posta :
Yazışma Adresi (İş) :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	-	-
Yüksek Lisans	-	-
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	2015
Lise	Trabzon Lisesi (Anadolu)	2010

YABANCI DİL

İngilizce

