



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVANSAL ÜRETİM VE TEKNOLOJİLERİ ANABİLİM DALI

FARKLI ÇÖZÜCÜLERDE EKSTRAKTE EDİLEN PROPOLİSİN ANTIOKSİDAN
AKTİVİTESİ VE TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

FARHAT KHALILY

Eylül 2019

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVANSAL ÜRETİM VE TEKNOLOJİLERİ ANABİLİM DALI

FARKLI ÇÖZÜCÜLERDE EKSTRAKTE EDİLEN PROPOLİSİN ANTIOKSİDAN
AKTİVİTESİ VE TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

FARHAT KHALİLY

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. ETHEM AKYOL

Eylül 2019

Farhat KHALİLY tarafından **Prof. Dr. Ethem AKYOL** danışmanlığında hazırlanan “**Farklı Çözücülerde Ekstrakte Edilen Propolisin Antioksidan Aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi**”adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Hayvansal Üretim ve Teknolojileri** Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ethem AKYOL, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi ALAEDDİN YÖRÜK, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi

Üye: Dr. Öğr. Üyesi İLKNUR UÇAK, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

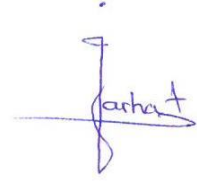
...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Farhat KHALİLY

A handwritten signature in blue ink, consisting of a vertical line with a horizontal crossbar and a small loop at the end, followed by the name 'Farhat' written in a cursive style.

ÖZET

FARKLI ÇÖZÜCÜLERDE EKSTRAKTE EDİLEN PROPOLİSİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ VE TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

KHALİLY, Farhat

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hayvansal Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Ethem AKYOL

Eylül 2019, 53 sayfa

Bu çalışma su, zeytinyağı ve alkol (metanol, etanol) kullanılarak ekstrakte edilen propolisin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde değeri belirlenerek en uygun çözücünün belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Propolis örnekleri Kovanlardan toplanan propolis örnekleri farklı konsantrasyonlarda (%90, %70 ve %50) metanol ve etanol ile saf su ve zeytinyağı kullanılarak ekstrakte edilmiştir. En yüksek ortalama antioksidan aktivite değeri %90 konsantrasyonunda 1/20 lik metanol grubunda gözlemlenmiş, en düşük antioksidan aktivite değeri ise 1/5 oranında su ile ekstrakte edilen grupta bulunmuştur. En yüksek ortalama toplam fenolik madde değeri %90 konsantrasyonunda 1/20 metanol ile ekstrakte edilmiş grupta bulunurken, en düşük ortalama toplam fenolik 1/5 oranındaki su grubunda gözlemlenmiştir. En iyi propolis çözücüsünün %90 lık metanol olduğu gözlenmiştir. Konsantrasyon ve metanol oranı artıkça propolisteki çözünme oranının ve buna bağlı olarakta antioksidan aktivitenin ve toplam fenolik madde değerinin arttığı görülmüştür. Ham propolisin çözülmesinde su ve yağ yerine alkol kullanılması gerektiği, mümkünse yüksek konsantrasyonda alkolle çözümenin yapıldıktan sonra alkolün evapore edilerek tekrar geri alınması ile iyi bir propolis ekstraksiyon işleminin yapılabileceği önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, etanol, metanol, yağ, su, propolis

SUMMARY

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT OF PROPOLIS EXTRACTED IN DIFFERENT SOLVENTS

KHALILY, Farhat

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Animal Production and Technologies

Supervisor

:Prof. Dr. Ethem AKYOL

September 2019, 53 pages

This study was carried out to determine the most suitable solvent by determining the antioxidant activity and total phenolic value of propolis extracted using water, olive oil and alcohol (methanol, ethanol). Propolis samples were extracted with different concentrations (90%, 70% and 50%) of methanol, ethanol, water and olive oil (1/5, 1/10, 1/20 g / mL). When the results obtained were examined, the highest mean antioxidant activity value was observed as in 90% concentration methanol group and the lowest antioxidant activity value was observed as in the group extracted with water in 1/5 ratio. The highest mean total phenolic content was found to be in the group extracted with 1/20 methanol at a concentration of 90%, while the lowest mean total phenolic matter value was observed as in the water group of 1/5 ratio. These results showed that methanol was the best propolis solvent among the solvents used in this study and that the best solubility in the methanol group was in the 90% group. It has been seen that as concentration and solvent ratio increased, dissolution rate, antioxidant activity and total phenolic value of propolis increased. It can be suggested that alcohol should be used instead of water and oil to dissolve the crude propolis, and if possible, a good propolis extraction can be performed by evaporating the alcohol after dissolving with high concentration of alcohol.

Keywords: Antioxidant activity, total phenolic substance, ethanol, methanol, oil, water, propolis

ÖN SÖZ

Tez konunun belirlenmesinde, yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında her türlü desteği ile bana yardımcı olup bilgi, yardım ve sabrını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ethem AKYOL'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tezimin laboratuvar çalışmaları kısmında benden yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi İlknur UÇAK'a ve Dr. Öğr. Üyesi Ayşe ÖZBEY'e, sevgili kardeşim Ziraat Yüksek Mühendisi Rowida KHALİLY'e, bu süreçte maddi manevi desteklerini esirgemeyen, bu günlere gelmemi sağlayan ve her zaman yanımda olan sevgili aileme, gerek öğrenci bursu vererek gerekse çalışmalarımı yürüttüğüm laboratuvar imkânlarını sağlayan Ayhan Şahenk Vakfına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR	xii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	4
2.1 Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	4
2.2 Toplam Fenolik Madde	5
2.3 Antioksidan Aktivitesi	6
2.4 Etanol ve Metanol Özellikleri	9
2.5 Zeytinyağı ve Özellikleri	9
2.6 Su ve Özellikleri	11
2.7 Propolisin Farklı Çözücülerde Ekstraksiyonları	11
2.8.1 Propolis ile ilgili yapılan çalışmalar	13
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT	16
3.1 Materyal	16
3.2 Metot	16
3.2.1 Propolisin metanol ve etanol ile ekstraksiyonu	16
3.2.2 Propolisin zeytinyağı ile ekstraksiyonu	17
3.2.3 Propolisin su ile ekstraksiyonu	18
3.2.4 Propoliste antioksidan aktivite tayini	19
3.2.5 Propoliste toplam fenolik madde tayini	22
3.2.6 İstatistiksel analiz	25
BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIŞMA	26
4.1 Antioksidan Aktivite Değerleri	27
4.1.1 Metanol ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayini	27

4.1.2 Etanol ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayini	29
4.1.3 Zeytinyağı ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayin	31
4.1.4 Su ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayini	32
4.2 Toplam Fenolik Madde Tayini	34
4.2.1 Metanol ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini	35
4.2.2 Etanol ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini	36
4.2.3 Zeytinyağı ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini	39
4.2.4 Su ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini	40
BÖLÜM V SONUÇLAR VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43
ÖZ GEÇMİŞ	53



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Propolis ekstraksiyonu için kullanılan çözücüler ve elde edilen bileşenler	12
Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) metanol, etanol, zeytinyağı ve su ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesi	26
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) metanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesi.....	27
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda etanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesi	29
Çizelge 4.4. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) zeytinyağı ile ekstrakte edilmiş Ham propolisin antioksidan aktivitesi	31
Çizelge 4.5. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) su ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesri.....	32
Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 mL) metanol, etanol, zeytinyağı ve su ile ekstrakte edilmiş ham propoliste bulunan toplam fenolik madde	34
Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) metanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde (mg GAE/g) miktarları	35
Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) etanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde içeriği.....	37
Çizelge 4.9. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) zeytinyağı ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde miktarı.....	39
Çizelge 4.10. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) su ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde içeriği.....	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fenolik halka	6
Şekil 2.2. Antioksidan ve serbest radikal.....	8
Şekil 3.1. Metanol trolox standart grafiği	21
Şekil 3.2. Etanol trolox standart grafiği.....	21
Şekil 3.3. Su trolox standart grafiği	21
Şekil 3.4. %50 etanol gallik asit standart grafiği	23
Şekil 3.5. %70 etanol gallik asit standart grafiği	23
Şekil 3.6. %90 etanol gallik asit standart grafiği	24
Şekil 3.7. %50 metanol gallik asit standart grafiği	24
Şekil 3.8. %70 metanol gallik asit standart grafiği	24
Şekil 3.9. %90 metanol gallik asit standart grafiği	25
Şekil 3.10. %100 su gallik asit standart grafiği	25
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyon ve oranlarda metanol ile çözülen propolisin antioksidan aktivite değerleri.....	27
Şekil 4.2. Farklı konsantrasyon ve oranlarda etanol ile çözülen propolisin antioksidant aktivite değerleri	29
Şekil 4.3. Zeytinyağı ile çözülen propolisin antioksidant aktivite değerleri	32
Şekil 4.4. Su ile çözülen propolisin antioksidant aktivite değerleri.....	33
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyon ve oranlarda metanol ile çözülen propolis toplam fenolik madde tayini	35
Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonve oranlarda etanol ile çözülen propolis toplam fenolik madde tayini.....	37
Şekil 4.7. Zeytinyağı ile çözülen propolisin toplam fenolik madde tayini	39
Şekil 4.8. Su ile çözülen propolisin toplam fenolik madde tayini	40

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 3.1. Ham propolis.....	16
Fotoğraf 3.2. Ham propolis (a), öğütülme işlemi (b) ve öğütülmüş hali (c).....	17
Fotoğraf 3.3. Manyetik karıştırıcıda karıştırma işlemi (a), ekstraktın filtre kağıdı ile süzülmesi (b) ve karışımdaki etanolün evaporatör ile buharlaştırılması (c)	17
Fotoğraf 3.4. Propolis örneklerinin vortekslenmesi (a), çalkalayıcı su banyosunda 24 saat boyunca çalkalanması (b), propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (c) ve propolis ekstraktlarının filtre kağıdı ile süzülmesi (d).....	18
Fotoğraf 3.5. Hazırlanan su ekstraktların vortekslenmesi (a), manyetik karıştırıcıda çözdürülmesi (b), propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (c) ve propolis ekstraktlarının filtre kağıdı ile süzülmesi (d).....	19
Fotoğraf 3.6. Propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (a) seyreltilmiş propolis ekstrakt örnekleri (b) ve spektrofotometrede okumaya hazır propolis örnekleri (c).....	20
Fotoğraf 3.7. Propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (a) seyreltilmiş propolis örnekleri (b) ve spektrofotometrede okumaya hazır propolis örnekleri (c).....	22

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

Açıklama

kg	Kilogram
ppm	Milyonda bir
g	Gram
mg	Miligram
0C	Santigrat derece
L	Litre

Kısaltmalar

Açıklama

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
TEAC	Trolox Eşdeğeri Antioksidant Kapasitesi

BÖLÜM I

GİRİŞ

Tarihin derinliklerinden günümüze ulaşan bal arısı, gerek yaşamı ve gerekse oluşturduğu değerli ürünler ile insanların ilgisini çekmiştir (Kumova, 2002). İnsanların dengeli ve sağlıklı beslenmesinde önemli bir yeri olan balın yanında; polen, arı sütü, propolis ve arı zehri gibi arı ürünleri günümüzde tıp alanında birçok hastalığın iyileştirilmesinde alternatif ürün olarak kullanılmaktadır.

Propolis sağlık sektöründe kullanılan en önemli arı ürünlerinden birisidir. Yıllar boyunca propolis, insanlar tarafından değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera* L.) ağaç kabuklarından, bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından toplayarak arka bacaklarındaki polen sepetçiklerinde biriktirdiği reçinemsî maddeleri ve bitki öz sularını, baş kısımlarında bulunan salgı bezlerinden salgılanan birtakım enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak balmumu ile karıştırarak kovan içerisinde oluşturdukları reçinemsî yapışkan, keskin ve güzel kokulu organik bir üründür (Atik ve Gümüş 2017).

Kovan içerisinde kapalı bir ortamda 50.000-80.000 ergin arı ile bir o kadar da yavru (yumurta, larva, pupa) bulunmasına, kovan içi sıcaklığın (24°C) ve rutubetin (%40-%65) de virüsler, bakteriler ve funguslar için çok ideal bir ortam oluşturmasına karşın yavru ve erişkin arılar propolis etkisi ile hastalıklara karşı kendilerini korumuşlar ve milyonlarca yıldan beri yaşamlarını sürdürmüşlerdir. Kovan içerisine giren taşıyamayacakları kadar büyük canlıları sokarak öldürdükten sonra propolis ile kaplayarak bir enfeksiyon kaynağı oluşturmasını önlerler (Bozkurt, 2010). Arıların propolisi kullanım alanlarından bazıları; kovanda oluşan delik ve çatlakların kapatılması, peteklerin tamir edilmesi ve birbirlerine yapıştırılmasında, düşmanlara karşı savunmayı kolaylaştırmak ve soğukla mücadele için kovan girişini daraltmak amacıyla kullanılıyor (Borba vd, 2017).

Propolis bu etkilerini içerisinde bulundurduğu fenolik bileşikler ve yapışkanlığı sayesinde gerçekleştirir. Özellikle fenolik bileşikler sayesinde kovana bakteri, mantar ve virüs gibi patojenlerin oluşturacağı enfeksiyonlara karşı korur. Ayrıca propolis kovan

içerisine giren ve ölen fakat arılar tarafından dışarıya atılamayan canlıların üzerlerini kapatarak kokuşmasını önlemekte mumya olarak kullanılmaktadır.

Propolis ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilmiş ve doğal antibiyotik olarak kullanılmıştır (Kuropatnicki vd, 2013).

Propolis elde edildiği bitki kaynağına göre değişmekle birlikte ortalama %50 reçineli bileşik ve balsam, %30 bal mumu, %10 aromatik yağlar ve %5 arı poleni içermektedir (Yücel vd, 2014). Kalan %5'lik kısmında ise flavonoidler aminoasitler ve vitaminler bulunmaktadır. Propolis içeriği; toplanılan bitki kaynağına, arı türü, arı ırkı ve ekolojik koşullara bağlı olarak değişim göstermektedir. Propolis 10°C'nin altında sert ve kırılğan, 15–25°C arasında mum kıvamında elastik bir yapı göstermektedir. 30-40 °C'de yapışkan bir hal almaktadır. 80°C 'de ise kısmen erimektedir (Karlıdağ ve Genç, 2007).

Propolis, insan sağlığı açısından çok önemli bir üründür. Propolisin çok eski yıllardan beri geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Propolis, antioksidan, antimikrobiyal, antitümöral ve antienflamatuar etkinliğe sahip olduğu için bazı hastalıklara karşı koruyucu olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Ramos vd, 2007; Doğan vd, 2012). Örneğin kanser hücrelerine etkisi üzerine, diş hastalıklarına, nörolojik hastalıklara, sindirim sistemi hastalıklarına, solunum sistemi hastalıklarına, dolaşım sistemi, kalp hastalığına, üroloji ve jinekolojide kullanımı üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Polat ve Koçan, 2006; Yücel vd, 2014). Eski yunan yazıtları bu maddeyi iltihaplanan yaralar ve çürükler için kür olarak tanımlarken, Roma'da yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın yapımında hekimler tarafından kullanılmıştır (Park vd, 1997).

Propolisin ham halde kullanımı zordur, bu nedenle çözücülerle yapılan ekstraksiyon ile saflaştırılmalıdır. Ham propolis ahşap, balmumu, polen hatta ölü arılar gibi yabancı maddeler içerir, bu nedenle ekstraktları hazırlamadan önce elimine etmek ve saflaştırmak için propolis örneğinin makroskobik olarak incelenmesi gerekir. Test işleminde kritik bir adım, çalışmada kullanılacak propolis örneklerinin ekstraksiyonudur. Propolis suda çok az çözünür, genellikle alkolde (etanol, metanol) ve çok az miktarda hidrokarbonlarda çözünür. Eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen %95' lik alkolde büyük ölçüde çözünmektedir (Kafadar, 2009). İlaç

ve kozmetik sanayinde propolis etanol, gliserin, propilen glikol ve yağ gibi çözücüler ile hazırlanarak kullanılır (Tosi vd, 1996).

Propolisin yağ ekstraktlarının kimyasal kompozisyonu ve biyolojik aktivitesi ile ilgili veriler azdır (Carvalho vd, 2011). Ekstraksiyon sürecinde inert maddeler uzaklaştırılmalı, yararlı etkileri propolisin diğer bileşenlerinden çok daha fazla olan polifenolik kısımlar ise korunmalıdır.

Bu tez çalışmasında ham olarak kullanım imkanı pek olmayan propolisin su, yağ ve alkol gibi çözücülerde optimum ekstraksiyon koşullarının tespit edilmesi, antioksidan aktivite değerlerinin ve toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.



BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Propolis geçmiş dönemlerden beri çeşitli amaçlarda, özellikle tıpta kullanılmaktadır. İlk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (Kumova, 2002). Yunan dilinde propolis yapıştırıcı ve arı kovanının çimentosu anlamına gelir. Propolisin bir diğer adı da arı tutkalıdır (Shakespeare, 2012).

Propolis, bal arıları tarafından çeşitli bitkisel kaynaklardan toplanan çeşitli renk ve kıvamlarda reçinemi bir maddedir. Propolis toplanması sırasında, arılar bal mumu ve toplanan propolis ile tükürüklerinde bulunan 13-glikozidaz enzimini karıştırır, flavonoidler glikozitlerini flavonoid aglikonlara hidrolize eder (Park vd, 1997). Daha sonra, toplanan materyal enzimatik ve tükürük salgıları ile güçlendirilir (Shakespeare, 2012).

Propolisin yapısında 180 farklı bileşik tanımlanmıştır. Propolis elde edildiği bitki kaynağına göre değişmekle birlikte ortalama olarak %50 reçineli bileşik ve balsam, %30 bal mumu, %10 aromatik yağlar ve %5 arı poleni içermektedir. Kalan %5'lik kısmında ise flavonoidler aminoasitler ve vitaminler bulunmaktadır. Propolis genelde suda az oranda erirken, %95'lik alkolde büyük oranda erime özelliği göstermektedir (Moreno vd., 2000).

Propolisin eter, kloroform, aseton ve diğer bir takım organik çözücülerle kısmen eridiği bildirilmiştir (Altay, 2016). Propolis içerisindeki farmakolojik olarak etkili en önemli bileşikler flavonoid grubu (flavonlar, flavanoller ve flavanonlar) ile çeşitli fenolik ve aromatik gruplarıdır. Yapısında galangin, kamferol, quersetin, pinosembrin, pinosambrin ve pinobanksin başta olmak üzere 38 flavonoid bulunmaktadır. Fenolikler arasında sinamik alkol, sinamik asit, benzil alkol, benzoik asit, kafeik asit ve fenilik asit bulunmaktadır. Propolis içeriğinde çok sayıda bileşen bulunması nedeniyle oluşan bileşik etki, her bir bileşenin tek başına oluşturduğu etkilerin toplamından daha yüksek olarak bulunmaktadır (Yücel vd, 2014).

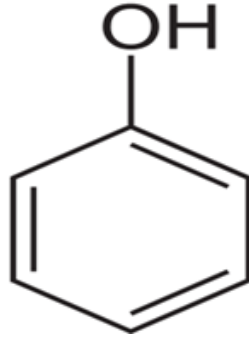
2.2 Toplam Fenolik Madde

Fenolik maddeler bitkisel kaynaklı besinlerin lezzetine özellikle ağızda buruk bir tat bırakmakla birlikte rengine etki eden, meyve ve sebzelerde genellikle çok az miktarlarda bulunan önemli bir maddedir. Fenolik maddeler aromatik halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren bileşiklerdir (Shahidi ve Naczki, 1995). Bu bakımdan en basit fenolik maddenin bir tane hidroksil grubu içeren benzen yani fenol olduğu ve diğer fenolik maddelerin bundan türediği bilinmektedir (Cemeroğlu vd., 1998).

Propolis, içeriğinde bulunan aktif bileşiklerin çeşitliliği ve miktarına bağlı olarak birçok biyolojik aktivite kazanır. Fenolik bileşikler de propolis içinde ve propolise biyolojik etkinlik kazandıran en önemli madde grubudur. Fenolik bileşikler, bitkileri bakteri, mantar ve zararlı böcek gibi patojenler ile UV ışınlarına karşı koruyan sekonder metabolitlerdir (Shohaib vd., 2011; Harborne ve Williams, 2000).

Fenolik bileşikler oluşturduğu çeşitli renkler ile polinatör böcekleri bitkilere çekerek tozlaşmanın sağlanmasına yardımcı olmaktadır. Bu etkilerin yanında fenolik bileşikler bitkilerde fotosentez, enerji transferi, bitki büyüme hormonunun aktive edilmesi ve düzenlenmesi, yapı ve cinsiyetin belirlenmesi gibi birçok fonksiyonlar sahiptir (Shohaib vd., 2011).

Fenolik bileşikler bitkiler için karakteristiktir ve genellikle bitkilerde hidroksi, metoksi, ester, metil ester veya glukozit formlarında bulunmaktadır (Iwashina, 2000). Fenolik bileşikler bir benzen (aromatik halka) halkasına bir hidroksil (OH) grubunun bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir (Şekil-1) (Vermerris ve Nicholson, 2007; Giada Mdlr, 2013). Bir veya daha fazla benzen halkasına OH gruplarının bağlanması durumunda polifenoller oluşur (Vermerris ve Nicholson, 2007; Giada Mdlr, 2013). Benzen halkasına bağlanan OH diğer fonksiyonel yapılar birçok fenolik bileşiğin oluşmasına neden olmaktadır (Vermerris ve Nicholson, 2007).



Şekil 2.1. Fenolik halka (Vermerris, 2007)

Fenolik maddeler günümüzde esansiyel olmayan aynı zamanda besin değeri de olmayan bileşikler olarak bulunmaktadır. Ancak insan sağlığı üzerine etkileri bulunduğu da bilinmektedir (Acar ve Gökmen, 1998). Yapılan farklı çalışmalarda, fenolik bileşiklerin; antialerjik, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral ve antitrombotik özellikleri ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser, osteoporoz, diyabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu etkileri bildirilmiştir. 2000’li yılların başına kadar sekiz binden fazla fenolik bileşik tanımlanmıştır ve bu sayı her geçen gün artmaktadır. Bazı bitki fenolikleri son zamanlarda antioksidan olarak kabul edilmekle birlikte ticari olarak üretilmektedir (Kolaç vd, 2017).

Fenolik bileşiklerden olan polifenoller, lipid ve reaktif oksijen türleri (ROS) bağlarını kıran radikalleri (ROO-) aynı metal iyonlarının yaptığı şelatlar gibi bağlarla bağlanarak süpürebilen antioksidanlar olduğu bilinmektedir (Pellegrini vd., 2009; Stahl vd, 2002). Bitkisel kaynaklı birçok gıda, en güçlü antioksidan olan fenolik fitokimyasalları içerdiği gibi oksidatif zararlara karşı da vücut savunmasına katkıda bulunmaktadır. Bu bileşikler gıdaları bozulmalara karşı koruduğu gibi tüketilmeleri sonucu da vücudumuza antioksidan madde sağlamaktadırlar (Anıl, 2006; Kim DO vd, 2004; Cemeli vd, 2009; Fernandez vd, 2008).

2.3 Antioksidan Aktivitesi

Son yıllarda en fazla çalışılan konulardan olan serbest radikaller ve antioksidanlar gün geçtikçe daha çok önem kazanmaktadır. Antioksidanlar; serbest radikallerin oluşumunu önleyen, oluşmuş serbest radikallerin zararını en aza indirmeye çalışan bileşikler olarak bilinmektedir. Antioksidanlar oksidasyonla mücadele ettikleri için bu

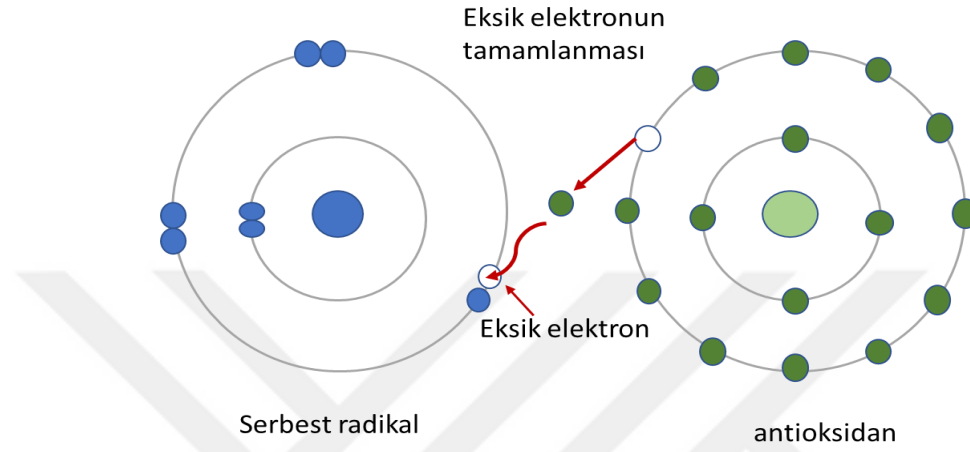
ismi almışlar. Bunlar, vücut kimyasallarını, serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek oksidasyon sürecini engelleyen maddeler olarak bildirilmektedir. Antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonunu durdurmak için kendilerini istikrarsızlaştırmadan elektron vererek serbest radikalın açığını kapatır (Szalay, 2016) (Şekil 2.2).

Reaktif olan oksijen çeşitlerinin meydana gelmesini ve bunlar tarafından oluşan oksidatif hasarı engellemek için vücutta çok sayıda savunma mekanizmaları gelişmektedir. Bunlar antioksidanlar olarak bilinmektedir (Akkuş, 1995). Canlı organizmada meydana gelen oksidatif stresi önleyen, enzimler ve endojen maddeler bulunmuştur. Eğer oksidanlar belirli bir seviyenin üzerine çıkar ya da antioksidanlar yetersiz kalırsa bu denge bozulması ile oksidan olan moleküller canlı organizmada temel yapı elemanları olarak bilinen; başta proteinleri, lipidleri, karbonhidratları, nükleik asitleri ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere sebep olmaktadır. Meydana gelen bu zararlı etkilerin bütünü oksidatif stres olarak isimlendirilmiştir. Bundan dolayı vücuda dışarıdan koruyucu, engelleyici, iyileştirici özelliklere sahip antioksidanların yeterli miktarda alınması gerekir (Valko vd., 2007). Antioksidanlar oksidanları dört ana yolla nötralize eder (Uğuzlar, 2009). Bunlar;

- Antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerinin ya elektronları tutarlar ya da onları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürürler. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu şekilde etki eder.
- Serbest radikallerden kaynaklanan hasar antioksidan moleküller tarafından onarılır.
- Antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerine hidrojen vererek onların inaktivasyonunu sağlar. Vitaminler ve flavanoidler bu şekilde hareket eder.
- Antioksidan molekülleri serbest oksijen radikallerini bağlayarak peroksidasyon zincirini durdurarak zincir kırıcı etki gösterir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (Eymir, 2017).

Antioksidanlar, gıda maddelerini ve bu gıdaları tüketen canlıları nitrojen türü ve reaktif oksijen gibi serbest radikal moleküllerin oksidatif zararlarına karşı koruyan kimyasallardır. Antioksidan maddelerin en önemli kaynağı bitkisel gıdalar olduğundan

dolayı diyetle alınan antioksidanlar genellikle fitokimyasal antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Gıdalardaki doğal antioksidan bileşenler; indirgen ajan, serbest radikal bağlayıcı, singlet oksijen tutucu mekanizmalardan bir veya birkaçı ile antioksidan etkilerini göstermektedirler (Lee vd, 2004). Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek tümör gelişimini önlemektedirler (Başer, 2002).



Şekil 2.2. Antioksidan ve serbest radikal

Propolis bu gün geniş ölçüde kullanılması ile kanser, diyabet, kalp hastalıkları ve yangı gibi hastalıklara engel olması ve sağlığın korunmasına önemli katkısı bulunduğu bildirilmektedir (Burdock, 1998; Banskota vd; 2002). Propoliste bulunan flavonoidler propolisin en önemli bileşenlerinden biridir. Propolis içinde bulunan bu bileşenlerin antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antikanser dâhil çoğu biyolojik ve farmakolojik aktiviteler için kullanılmaktadır (Tatlı Seven, 2012).

Propolis içerisinde fazla miktarda bulunan flavanoidler, önemli antioksidanlardır. Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemektedirler. Bundan dolayı lipidleri korurlar ve C vitamini gibi diğer bileşiklerin oksitlenmesini ve yıkılmasını engellemektedirler (Russo vd; 2004). Antioksidanlar kanda serbest radikallere karşı bir savunma faktörü olarak önemli katkı sağlamaktadırlar. Katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz ve nonenzimatik antioksidanlardan redükte glutatyon gibi enzimler oksidasyona karşı çıkan temel maddelerdir. Eğer serbest radikal üretimine karşı enzimatik kapasite yetersiz kalırsa vitaminler gibi ikinci kademe savunma etkenleri buna karşı koymaktadırlar (Tatlı Seven, 2008; Seven, 2009). Vitamin C ve E gibi antioksidanlar serbest radikallerin oksidan etkilerini durdurmaktadırlar (Halliwell

ve Gutteridge,1984; Seven, 2009). Propoliste 300'den fazla değişik madde vardır. Bundan dolayı günümüzde propolisin oksidatif stresle olan ilişkisinde önemini daha da artırmaktadır (Tatlı seven, 2012).

Propolis, antibakteriyel (Ghisalberti, 1979; Menezes vd, 1997) antiviral, antioksidan (İsla vd, 2001) gibi biyolojik özelliklere sahiptir. Propolis, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan, antiinflamatuvar, özelliği nedeniyle yara iyileştirmede, doku yenilemede ve anestezi özelliği ile birlikte birçok biyolojik aktivitenin gerçekleşmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Eroğlu vd, 2004). Propolisin antioksidan özelliği, serbest radikalleri tutmak ya da daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürmek sureti ile serbest radikalle etkileşime girip oksidan maddelerin aktivitelerini azaltmaktadır. Böylelikle serbest radikaller etkilerini kendilerine bağlamak sureti ile reaksiyonun zincirini kırmak ya da onarım yapmak sureti ile göstermektedirler (Özalpan, 2001).

2.4 Etanol ve Metanol Özellikleri

Formülü C₂H₆O olan etanol; Kaynama noktası 78.4 °C ve Yoğunluğu 0.789 gram/santimetre küptür. Vücutta metabolize olabilen tek alkol türüdür. %90'ı karaciğerde yıkılır, %5-8 solunum, idrar ve ter ile atılır. Saf hali sıvıdır. Berrak, renksizdir. Karakteristik bir kokuya sahiptir. "Bitkisel alkol" olarak da bilinir. Alkollü içeceklerde kullanılan tek alkol türüdür. Ayrıca bir kısım vitamin şuruplarında çözücü olarak kullanılmaktadır. (Anonim-3, 2019).

Metanol Alkol ailesinin en küçük üyesidir. CH₃OH. metil alkol de denir. Saf olması durumunda hafif alkolik kokuya sahiptir. Metil Alkol (Metanol) kaynama noktası 65.4 °C dir. Metil Alkol (Metanol) erime noktası -98 ° C dir. Metil Alkol (Metanol) yoğunluğu 0.791 g/mL'tir (Anonim-4, 2019).

2.5 Zeytinyağı ve Özellikleri

Zeytinyağı, zeytin ağacının meyvesi olan zeytin tanesinin normal iriliğini aldığı ve yağ oluşumunun en yüksek seviyeye ulaştığı dönemde hasat edilerek çeşitli fiziksel işlemler uygulanarak elde edilmektedir (Bakırhoğlu, 2006).

Zeytinyağı yüksek tekli doymamış yağ asidine (oleik asit) sahip olması ve antioksidanlarca (E-vitamini ve fenolik bileşenler) zengin olması sebebiyle diğer yağlara nazaran her zaman özel bir öneme sahip olmuştur (Tunalıoğlu vd., 2003).

Zeytinyağının bileşiminde, birçok fonsiyonel gruplara sahip bileşikler bulunmaktadır. Bu gruplardan fenolik bileşikler zeytinyağında minör bileşikler olup, doğal zeytinyağının kalitesini tayin ederken göz önünde bulundurulması gereken önemli faktörlerdendir. Çünkü bu bileşikler yağın oksidatif bozulması ve tadın parametreleri için kısmen sorumludurlar. Fenolik bileşikler ve miktarı, zeytin çeşidine, meyve olgunluğuna, zeytinin depolanma koşullarına, yağ elde etme sistemleri ve yağın depolama koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir (Skevin vd., 2003).

Polifenoller, zeytinyağının lezzeti ile bağlantılı bileşenlerin önemli bir sınıfını oluşturmaktadır. Fenolik bileşiklerin zeytinyağındaki miktarı, 300 mg/ kg'ı aştığı zaman acı bir tada sebep olduğu ifade edilmiştir (Kahkönen vd., 1999). Fenol içeriğine bağlı olarak zeytinyağının acılığının şiddeti daha yüksek veya daha düşük olabilir (Skevin vd., 2003).

Zeytinyağının kimyasal yapısının, bir yıldan diğerine ve birçok analitik parametrenin üretim alanları arasında değiştiğini saptamışlardır (Bakırlıoğlu, 2006). Zeytinyağı, farmasötik ve kozmetik preparatların üretiminde, yardımcı bir ürün olarak kullanılmaktadır (Paiva vd., 2003).

Doğal zeytinyağını diğer bitkisel yağlardan ayıran en önemli özelliği, karakteristik rengi, tadı ve aroması yanında minimum işlem ile elde edilmesidir. Günümüzde tüketicilerin doğal ürünlere yönelmiş olduğu göz önünde bulundurulursa, doğal zeytinyağının mükemmel organoleptik ve besinsel kalitesi ile gittikçe artan bir düzeyde tercih edildiği bilinmektedir (Anonim-1, 2010).

Zeytinyağı, vücut için önemli bir gereksinim olan fakat vücut tarafından sentezlenemeyen temel yağ asitleri ile sadece yağda eriyebilen bazı temel vitaminlerin (A, D, E, K) kaynağı olduğu bildirilmiştir. Kalp ve damar hastalıklarında temel risk faktörü olan ve damar tıkanıklığına yol açan LDL-kolesterolü azaltırken, yararlı ve

koruyucu konumdaki HDL-kolesterol miktarını değiştirmez. Bu özelliğinden dolayı, kalp sağlığı açısından oldukça önemli olmak ile birlikte kan damarlarındaki pıhtılaşma riskini de azalttığı belirtilmiştir (Anonim-2, 2019).

Ülser ve gastrit gibi mide hastalıklarına, midedeki asitlik seviyesini düşürdüğü için iyi gelir. Safra taşı oluşma riskini azaltmak ile birlikte taşların erimesine yardımcı olmaktadır. Ayrıca bağırsak hareketlerini düzenleyici bir etkisi de vardır. Diğer yağlara kıyasla en dengeli kimyasal kompozisyona sahip olduğundan dolayı kemik gelişimine yardımcı olmaktadır. Zeytinyağı %75–%80 civarlarında oleik asit gliserinleri taşır. Oleik asit, insan sütündeki en önemli yağ asididir ve bebeğin sinir dokularının gelişiminde temel bir işleve sahiptir. Doku yaşlanmasını önler ve yaşlanmanın, beyinin işletim sistemindeki yıpranmalara karşı yardımcıdır. İçerdiği tokoferol-E vitamini sebebiyle de yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır (Anonim-3, 2019).

2.6 Su ve Özellikleri

Su, yapısı itibariyle renksiz, tatsız ve kokusuz bir maddedir. Su, sıcaklık ve soğukluk şartlarına göre fiziksel ve kimyasal değişiklikler geçirebilir. Donma noktası 0 derece, kaynama noktası ise 100 derecedir. Su en iyi çözücülerden biridir. Hatta birçok maddeyi uzun yada kısa süre içerisinde çözebildiği için “evrensel çözücü” ünvanına da sahiptir. Neden böylesine kuvvetli bir çözücü olduğunun cevabı ise su molekülünün geometrik yapısında gizlidir. Su polar bir moleküldür. Yani su molekülü toplamda her ne kadar nötr bir yapıya sahipse de, elektronlar oksijen ve hidrojenler arasında eşit olarak zaman geçirmediği (dengeli bir biçimde dağılmadığı) için oksijen ve hidrojen atomları kısmi olarak yüklü gibi davranırlar. (Anonim-5, 2019).

2.7 Propolisin Farklı Çözücülerde Ekstraksiyonları

Propolisin bileşimi esas olarak bitkiden toplandığı yere, ikincil olarak da ekstraksiyon için kullanılan yöntemle bağlıdır (Marcucci, 1995). Bu nedenle çözücü dikkatle seçilmiş olmalıdır (Cowan, 1999). Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan başlıca çözücüler ve elde edilen bileşenleri Çizelge 2.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Propolis ekstraksiyonu için kullanılan çözücüler ve elde edilen bileşenler (Cowan, 1999)

Su	Metanol	Etanol	Kloroform	Dikloroman	Eter	Aseton
Antosiyenle	Antosiyenle	Taninler	Terpenoier	Terpenoidlr	Alkoloidlr	Flavolar
Nişastalar	Terpenoier	polifenoller	Flavonoier	Taninler	Terpenoier	
Terpenler	Saponinler	Polyacetnes		Polifenoller	Kumarier	
Saponinler	Taninler	Flavonollar		Polyacetnes	Yağasitlei	
Terponler	Xantline	Terponoidlr		Flavonollar		
Polipeptier	Totarol	Steroller		Steroller		
Lektinler	Quassinds	Alkoloidler		Alkoloidler		
	Laktonlar					
	Flavonlar					
	Phenones					
	Polifenollr					
	Polipepler					
	Lektinler					

(Koyu renkle yazılan bileşikler yaygın olarak yalnızca tek bir çözücü içinde elde edilmiştir.)

Ham propolis ahşap, balmumu, polen hatta ölü arılar gibi yabancı maddeler içerir, bu nedenle ekstraktları hazırlamadan önce elimine etmek ve saflaştırmak için propolis örneğinin, makroskobik olarak incelenmesi gerekmektedir. Test işleminde kritik bir adım, çalışmada kullanılacak propolis örneklerinin ekstraksiyonudur. Ekstraksiyon için kullanılan çözücüler genellikle metanol ve etanol gibi alkollerin olduğu bilinmektedir (Sforcin ve Bankova., 2011).

Propolisin sulu ekstraktı, sıvı etanol ekstraktı ya da yarı katı ekstraktı dâhil olmak üzere çeşitli formları kullanılabilir. Propolis çok farklı kimyasal bileşimlere sahip olsa da antifungal, antibakteriyel ve diğer çeşitli aktivitelerinin benzer olması şaşırtıcı bir gerçektir. Propolisi ekstrakte etmek için, parafin, balmumu, hayvansal yağ ve katı maddeler ile iyi karışabilir olması gibi olumlu özellikleri nedeniyle zeytinyağı propolis için alternatif bir çözücü olarak kullanılmaktadır. Yağ propolisten gelen biyoaktif bileşenleri ekstrakte edebilme yeteneğine sahiptir. Zeytin yağı, kozmetik ve farmasötik preparatların üretiminde hem yardımcı madde hem de aktif madde olarak kullanılmaktadır (Ramanauskiene vd., 2011).

Çeşitli çalışmalarla propolisin etanolik özütünün; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, antioksidan, lokal-anestetik ve immüno-stimülant özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Tosi vd., 1996).

2.8.1 Propolis ile ilgili yapılan çalışmalar

Khalily (2019), Yaptığı bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş propolisin antioksidan aktivite değerini 569.68 μmol trolox/g propolis olarak bulurken toplam fenolik madde içeriğini 593.31 mg GAE/g propolis olarak bildirmiştir.

Trabzon yöresi propolislerin yüksek performanslı sıvı kromatografi ile fenolik bileşiklerinin belirlenmesi ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi üzerinde yapılan bir çalışmada 17 farklı fenolik standart madde kullanılmış, 5 g propolis numunesi 35 mL metanolle muamele edilmiş, 6 saat boyunca 60°C'de bekledikten sonra toplam polifenolik madde ve antioksidan aktivite tayini analizleri yapılmış. Sonuç olarak toplam polifenolik madde içeriği 25.40 mg GAE/g propolis olarak bulunmuştur. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayinindeki troloks standardına göre antioksidan madde değeri 3.92 mmol TEA/g propolis olarak bulunmuştur (Bekar, 2011).

Escriche ve Juan-Borras (2018), yaptıkları bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş propolisin toplam fenolik madde içeriğini 286 mg GAE/g propolis olarak bulurken, en önemli fenolik maddelerin kaemferol, p-kumarik asit, m-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, rutin, kuarsetin, apigenin ve pinosembrin olduğunu bildirmişlerdir.

Isla (2001), yaptığı bir çalışmada Arjantin propolislerini %80 etanol ile çözdüklerinde 13 propolis numunesinin oda sıcaklığında 24 saat karıştırılarak etanolik ekstraktlarını hazırlanmışlar ve en yüksek toplam flavanoid madde değerini 62.0 mg/g propolis ve en düşük toplam flavanoid madde değerini 13.3 mg/g propolis olarak bildirmiştir.

Saroğlu (2018), yaptığı çalışmada en yüksek toplam fenolik madde içeriğini 11564±178 mg GAE/ 100 g propolis olarak bulurken, en düşük toplam fenolik madde içeriğini 7206±120,8 mg GAE/ 100 gram propolis olarak bulduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı maksimum antioksidan aktivite DPPH analiziyle 470 μmol /gTrolox olarak bildirirken CUPRAC analiziyle 890 μmol /gTrolox olarak bildirmiştir.

Kızıldaş (2018), yapılan bir çalışmada farklı kovanların (Ahşap, strafor ve plastik) propolis üretimine ve içeriğine (toplam fenolik bileşim) etkisi incelemiş, sonuç olarak plastik kovanlar için 413.274 ± 212.910 mg/g olarak en yüksek değeri bildirilmiştir.

Mohammadzadeh vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada İran'ın farklı bölgelerinden gelen etanolik propolis örneklerinin antioksidan aktivite değeri frap tahlili ile ölçülmüş ve sonuçları 100, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında trolox ile karşılaştırmış ve propolis etanolik ekstraktların frap değerlerini 31.5 ± 14.6 ila 1650 ± 72 $\mu\text{mol trolox}$ olarak gözlemiştir.

Sorucu (2015) tarafından yapılmış bir çalışmada marmara bölgesindeki propolislerde biyolojik etkisi olan fenolik madde ve miktarları mevsim farkına bağlı olarak belirlenmiştir. %70'lik etil alkol/su ile ekstraksiyonu yaparak galik asit standartını göre elde edilen sonuçlar sırası ile bahar, yaz, son bahar mevsimde 0.0560 mg GAE/g, 0.1174 mg GAE/g, 0.11789 mg GAE/g olarak bulunmuştur.

Nagai vd (2003) yaptığı çalışmada Brezilya propolisinde su ekstraktının hazırlanması ve antioksidan özellikleri bir lipit peroksidasyon model sistemi kullanarak ölçmüştür. Aktivitenin çok güçlü olduğunu ve 1 ve 5 mg/mL'de 5 mm askorbik asidinkinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Propolisin su ekstraktının süperoksit anyon radikaline karşı temizleme aktivitesi yüksek olduğunu ve 50 ve 100 mg/mL'de ekstraktlar süperoksit üretimini tamamen inhibe etmiştir. Ekstraktlar, 50 ve 100 mg/mL'de hidroksil radikalini tamamen inhibe ettiğini bildirmiştir. Bu, propolisin sulu ekstraktının kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi çeşitli hastalıkları olan hastalar için bir ilaç olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Karakaş (2012), değişik bölgelerden toplanan Türk propolisinin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytinyağı ile ekstraktlarını hazırlamıştır. Daha sonra toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici güç tayinlerini yaparak, propolisin hangi yağ çeşidinde en iyi şekilde çözündüğü belirlemiştir. Çalışma sonucunda propolisin en iyi zeytinyağı içinde çözündüğü, daha sonra sırasıyla mısır yağı, fındık yağı ve ayçiçek yağında çözündüğü belirlenmiştir. Propolisin zeytinyağlı ekstraktında toplam polifenol içeriği 63.52 ± 3.46 mg GAE/ g propolis olarak bildirilmiştir.

Moreira (2008), Portekiz'den iki farklı bölgeden (Bornes ve Fundao) elde edilen propolisin antioksidan ve toplam fenol değerlerini belirlemek için yaptığı çalışmada DPPH yönteme göre antioksidan aktivitesi Bornes bölgesinde 0.006 ± 0.003 (mg/mL) ve Fundao bölgesinde 0.052 ± 0.003 (mg/mL) olarak bulmuş ve toplam fenolik madde içeriğini Bornes bölgesinde 329.00 ± 0.01 (mg/mL) ve Fundao bölgesinde 151.00 ± 0.01 (mg/mL) olarak belirlemiştir.

Yavuz (2011), Türkiye'nin Van, Erzurum, Gümüşhane, Ordu, Rize ve Muğla şehirlerinden toplanan propolis örneklerini %95'lik etil alkolde iki gün süre ile bekletmiş ve CUPRAC metoduna göre analiz ederek toplam antioksidan aktivitelerini belirlenmiştir. Test sonuçlarına göre, en yüksek toplam antioksidan aktivite Erzurum ($3950 \mu\text{mol/g}$ propolis) ve Gümüşhane ($4150 \mu\text{mol/g}$ propolis) illerinden elde edilen propolis numunelerinde gözlemlendiğini bildirmiştir.

Andrade vd. (2017), yaptığı bir çalışmada Brezilyanın kuzeydoğu bölgesinden kahverengi, yeşil ve kırmızı propolisin %70 etanolik ekstraktının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesini değerlendirilmiştir. Sonuç olarak en düşük toplam fenolik madde değeri kahverengi propoliste 55.74 mg GAE/ propolis olarak bulunurken en yüksek değeri kırmızı propoliste 91.32 mg GAE/ propolis olarak bulmuştur. En yüksek antioksidan aktivitesi kırmızı propoliste $2913.55 \mu\text{mol Trolox/g}$ propolis olarak, en düşük değer ise kahverengi propoliste $1868.45 \mu\text{mol Trolox/g}$ propolis olarak elde edilmiştir.

Jansen-Alves vd. (2019), yaptığı bir çalışmada propolis potansiyel bir doğal koruyucu olarak kullanılmak üzere antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini göstermiştir. %80 etanol ile çözülmüş propolisin FRAP metodu ($815.75 \mu\text{mol trolox /g}$) ve DPPH metodu ($51.12 \mu\text{mol trolox /g}$) ile yüksek antioksidan kapasite bildirmiştir.

Kalogeropoulos vd. (2009), yaptıkları bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş Yunanistan propolisin DPPH yönetimi göre toplam antioksidan aktivite değerini ($1110 \mu\text{mol trolox/g}$) bildirmiştir.

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan propolis örnekleri Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi Hayvansal Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan arı kolonilerinden uygun koşullarda toplanarak temin edilmiştir. Propolis örneklerinin ekstraksiyonu için kullanılan etanol ve metanol ilaç firmalarından saf olarak alınmış ve daha sonra değişik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan zeytinyağ ise yağ fabrikasından rafine edilmemiş yağ olarak temin edilmiş ve kullanılmıştır.



Fotoğraf 3.1. Ham propolis

3.2 Metot

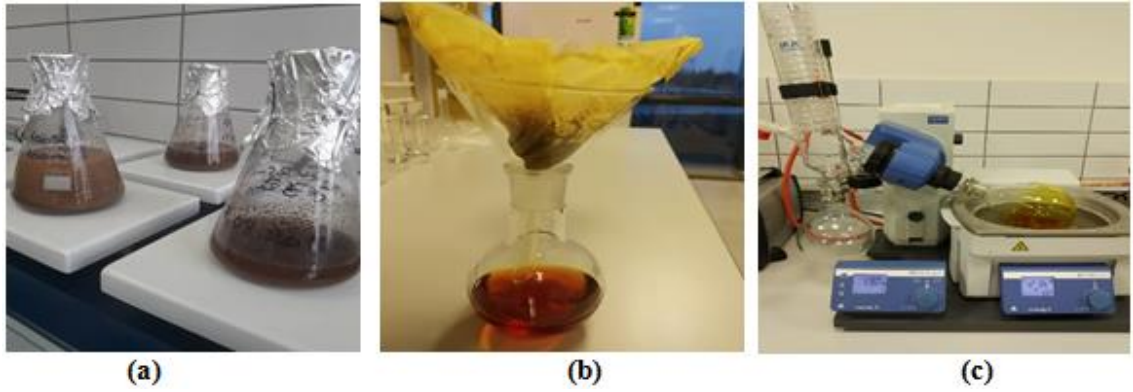
3.2.1 Propolisin metanol ve etanol ile ekstraksiyonu

Kolonilerden toplanan ham propolis küçük parçalara ayrılarak -20°C ' de derin dondurucuda en az bir gün bekledikten sonra blender kullanılarak homojen bir şekilde toz hale gelmesi sağlanmıştır. Her ekstraksiyon grubu için blenderda öğütülerek toz hale

getirilmiş propolisten 1 g alınmış ve %50 etanol (5,10, 20 mL), %70 etanol (5, 10, 20 mL), %90 etanol (5, 10, 20 mL), %50 metanol (5, 10, 20 mL), %70 metanol (5, 10, 20 mL) ve %90 metanol (5,10, 20 mL) ile çözülmüştür. Tüm çözeltiler ışıktan korunmuş ve 3 saat boyunca 50°C' de 260 rpm manyetik karıştırıcıda ağzı kapalı cam balonlarda karıştırılarak çözdürüldükten sonra 5 gün karınlıkta bekletilmiştir. 5 gün sonra propolis ekstraktları filtre kâğıdı ile süzülerek rotary evaporatöre aktarılmış ve ekstraktlarda bulunan etanol 45°C'de uçurularak propolis ekstraktları elde edilmiştir. Analiz edilinceye kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.



Fotoğraf 3.2. Ham propolis (a), Öğütülme işlemi (b) ve öğütülmüş hali (c)

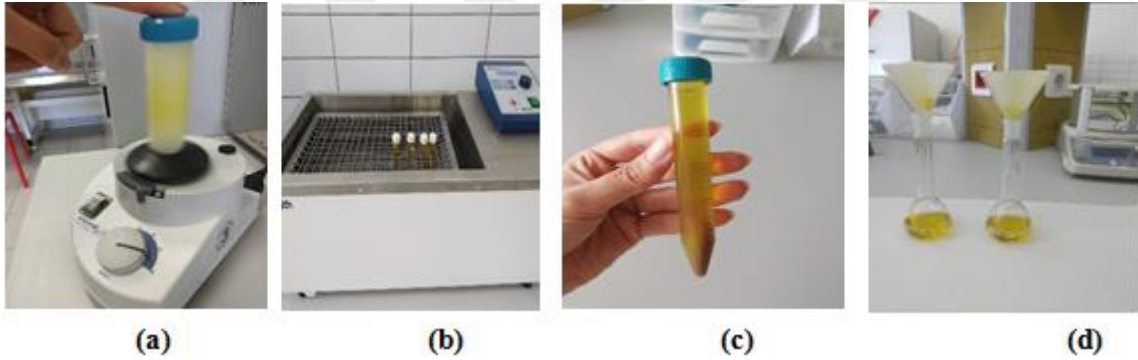


Fotoğraf 3.3. Manyetik karıştırıcıda karıştırma işlemi (a), ekstraktın filtre kağıdı ile süzülmesi (b) ve karışımdaki etanolün evaporatör ile buharlaştırılması (c)

3.2.2 Propolisin zeytinyağı ile ekstraksiyonu

Küçük parçalara ayrılarak -20 °C' de derin dondurucuda en az bir gün bekledikten sonra blenderde rendelenerek homojen bir şekilde toz hale gelmesi sağlanmış ve tekrar -20°C'

de dondurucuya koyulmuştur. Rendelenen propolis blenderda toz haline getirilmiş ve toz haline getirilen propolis hassas terazide 1 g tartılıp 50 mL' lik bir falkon tüpüne aktarılmıştır. Falkon tüplerden birinci gruba 5 mL, 2. gruba 10 mL ve 3 gruba 20 mL saf haldeki zeytinyağı ilave edilerek propolis örnekleri vortekslenmiş ve ardından çözünmesi için çalkalayıcı su banyosuna konularak 60°C' de 150 rpm' de 24 saat boyunca sürekli çalkalanmıştır. 24 saatlik inkübasyondan sonra propolis ekstraktları 5 gün karanlık bir ortamda bekledikten sonra 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiş ve filtre kağıdı kullanılarak süzölmüştür. Böylece 25 mg/mL' lik zeytinyağı ve metanollü stok propolis ekstraktları hazırlanmıştır. Hazırlanan yağlı ekstraktların faz ayrımı için dört falkon tüpü alınmış ve öncelikle tüplerde 5 mL zeytinyağı propolis ekstraktları konulmuştur. Daha sonra falkon tüpüne 5 mL metanol eklenmiş ve 20 dakika vortekslenmiştir. Ardından 2500 rpm de 10 dk santrifüj edilerek üstteki süpernatant kısımları alınmış, yağ fazı böylece ayrılmıştır. Çalışmada bu süpernatant kısımları kullanılmıştır. Çalışma boyunca propolis ekstraktları buzdolabında +4°C' de ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Karakaş, 2012).

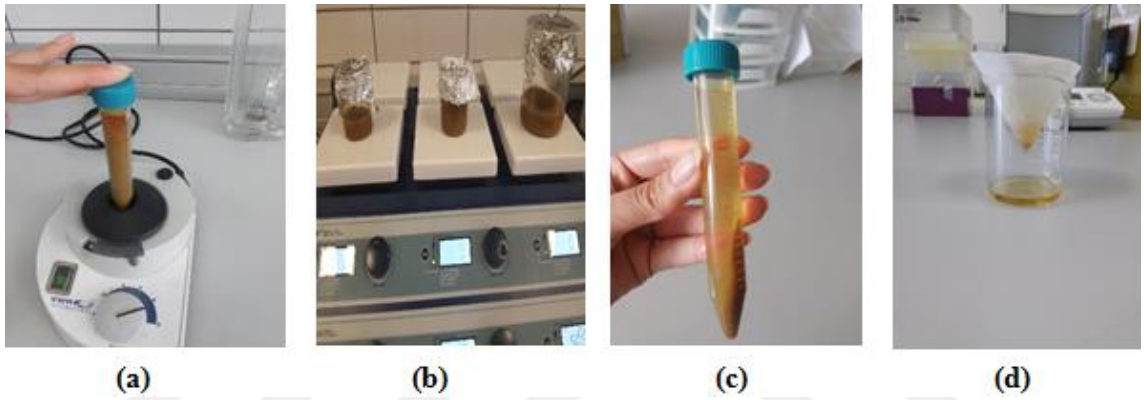


Fotoğraf 3.4. Propolis örneklerinin vortekslenmesi (a), çalkalayıcı su banyosunda 24 saat boyunca çalkalanması (b), propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (c) ve propolis ekstraktlarının filtre kağıdı ile süzölmesi (d)

3.2.3 Propolisin su ile ekstraksiyonu

Derin dondurucuda (-20°C' de) dondurulan doğal propolis rendelenmiş ve tekrar -20°C' de dondurulmuştur. Rendelenen propolis blenderda toz haline getirilmiş ve toz haline getirilen propolis hassas terazide 1 g tartılıp 50 mL' lik bir falkon tüpüne aktarılmıştır. Daha sonra falkon tüplerden birinci gruba 5 mL, 2. gruba 10 mL ve 3 gruba 20 mL saf su ilave edilerek propolis örnekleri vortekslenmiştir. Ardından

çözünmesi için çalkalayıcı su banyosuna konularak 3 saat boyunca 50°C’ de 260 rpm manyetik karıştırıcıda ağzı kapalı cam balonlarda karıştırılarak çözdürülmüş ve sonra 5 gün karınlık bir ortamda bekletilmiştir. Sonra propolis ekstraktları 4000 rpm’ de 10 dakika santrifüj edilmiş ve filtre kağıdı kullanılarak süzölmüştür. Hazırlanan su ekstraktlarının faz ayrımı için, dört falkon tüp alınmış ve öncelikle tüplere 5 mL propolis ekstraktları konulmuştur. Daha sonra falkon tüpüne 5 mL metanol eklenmiş ve 20 dakika vortekslenmiştir. Ardından 2500 rpm de 10 dk santrifüj edilerek üstteki süpernatant kısımları alınmış böylece su fazı ayrılmıştır. Çalışmada bu süpernatant kısımları kullanılmıştır (Nagai vd., 2003).



Fotoğraf 3.5. Hazırlanan su ekstraktların vortekslenmesi (a), manyetik karıştırıcıda çözdürölmesi (b), propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (c) ve propolis ekstraktlarının filtre kağıdı ile süzölmesi (d)

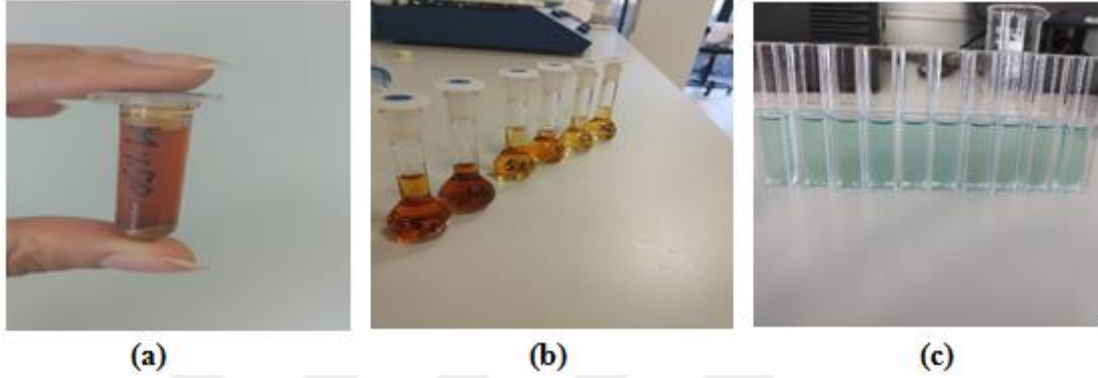
3.2.4 Propoliste antioksidan aktivite tayini

İçerisinde 2.45 mm potasyum persölfat bulunan 7 mm ABTS çözeltilisi hazırlanarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 12-16 saat bekletilmesi ile radikal çözeltilisinin (ABTS+•) oluşması sağlanmıştıır. Propolis ekstraktının antioksidan aktivitesinin trolox karşılığı olarak belirlenmesi amacıyla ekstrakta ve troloxa ait bir seri konsantrasyonları hazırlanmıştır. 1 mL ABTS+• üzerine 10 µl örnek eklenmiş ve 6 dakika boyunca absorbanstaki azalma gözlenmiştir. Konsantrasyonlara karşılık yüzde inhibisyonun çizildiği grafiklerden eğim hesaplanmıştır. Propolis ekstraktaına ait eğimin trolox konsantrasyonlarına ait eğime oranlaması sonucu incelenen antioksidan maddenin 1 mm trolox karşılığı olarak gösterdiği antioksidan aktivite belirlenmiştir (Re vd., 1999). Her konsantrasyon için okumalar üçer paralelli yürütölmüş ve tüm spektrofotometrik

okumalar mikro küvetler kullanılarak 30°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir (Re vd., 1999).

Örneğe ait eğim/trolox a ait eğim x seyreltme faktörü = TEAC değeri μm trolox

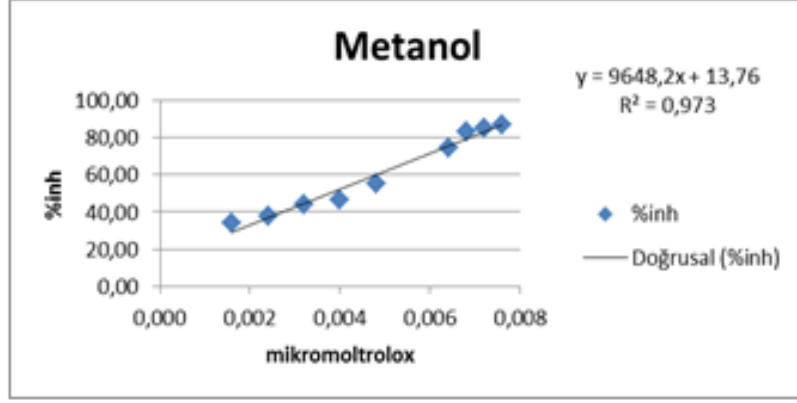
TEAC (Trolox Eşdeğeri Antioksidant Kapasitesi) (3.1)



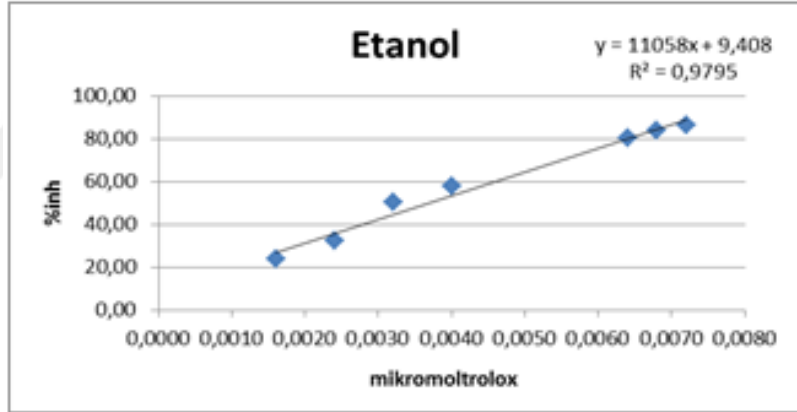
Fotoğraf 3.6. Propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (a) seyreltilmiş propolis ekstrakt örnekleri (b) ve spektrofotometrede okumaya hazır propolis örnekleri (c)

Standart grafiği elde etmek için, öncelikle %100 (metanol, etanol ve su) yardımıyla konsantrasyonu 2500 μm olan stok trolox standartı çözeltisi hazırlandı. Daha sonra içerisinde 2.45 mm potasyum persülfat bulunan 7 mm abts çözeltisi hazırlanarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 12-16 saat bekletilmesi ile radikal çözeltisinin (ABTS+•) oluşması sağlandı. Propolis ekstraktının antioksidan aktivitesinin trolox karşılığı olarak belirlenmesi amacıyla ekstrakta ve trolox a ait bir seri konsantrasyonları hazırlanmıştır. 1 mL ABTS+• üzerine 10 μl örnek eklenmiş ve 6 dakika boyunca absorbanstaki azalma gözlenmiştir. Konsantrasyonlara karşılık yüzde inhibisyonun çizildiği grafiklerden eğim hesaplanmıştır. Propolis ekstraktına ait eğimin trolox konsantrasyonlarına ait eğime oranlaması sonucu incelenen antioksidan maddenin 1 mm trolox karşılığı olarak gösterdiği antioksidan aktivite belirlenmiştir. Absorbans değerlerinin aritmetik ortalamaları alınarak standart grafiğimiz elde edilmiştir (Çizelge 3.1, 3.2, 3.3). Grafik üzerinde verilen formülden yararlanılarak propolis ekstraktındaki antioksidan aktivite içerik belirlenmiştir. Bu formüle 'y' numunenin absorbans değerini, 'x' ise numunenin konsantrasyonunu ifade etmektedir. Bu değerler formüle yerleştirildiğinde elde edilen sonuç, numunedeki toplam antioksidan aktivite içeriğini (μm trolox olarak)

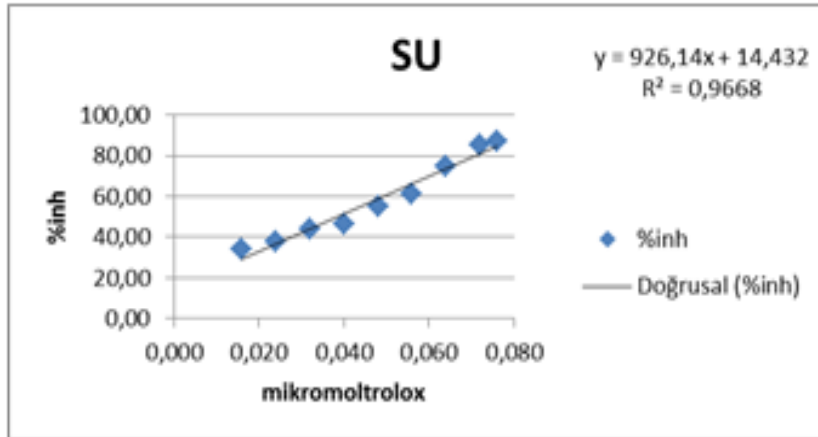
vermektedir. Örneklerin antioksidan kapasitesi trolox standardından elde edilen kalibrasyon grafikleri metanol ($R^2=0.973$), etanol ($R^2=0.979$),su ($R^2=0.966$) yardımıyla trolox eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Metanol trolox standart grafiği



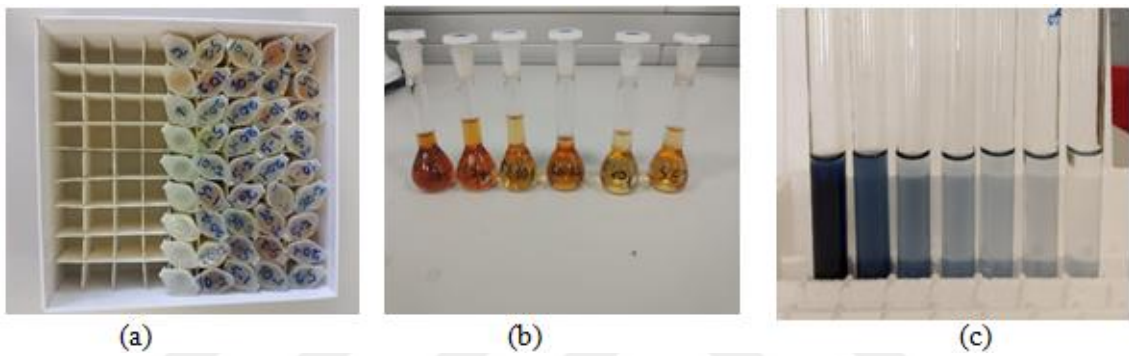
Şekil 3.2. Etanol trolox standart grafiği



Şekil 3.3. Su trolox standart grafiği

3.2.5 Propoliste toplam fenolik madde tayini

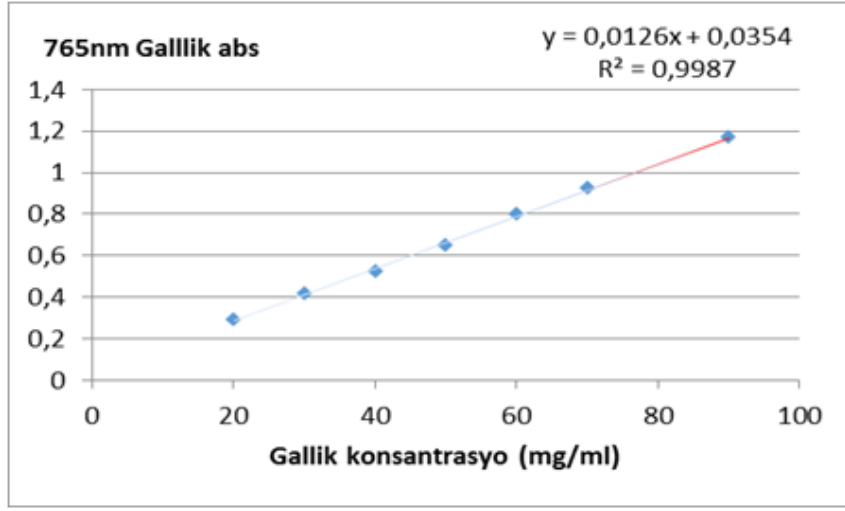
Folin ciocalteau ayırıcı kullanılarak gerçekleştirilmiş analizde ekstraktan seyreltilerek alınan 100 µl çözelti üzerine 900 µl saf su, 5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu reaktifi ve 4 mL doymuş sodyumkarbonat solüsyonu (7.5G/L) eklenmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat süreyle bekletilmiş olan karışım spektrofotometrede 765 nm’de köre karşı okunmuştur. Daha önceden belirlenmiş olan gallik asit kurvesi yardımıyla tespit edilecek sonuçlar mg Gallik Asit/G olarak değerlendirilmiştir (Spanos ve Wrolstad, 1990).



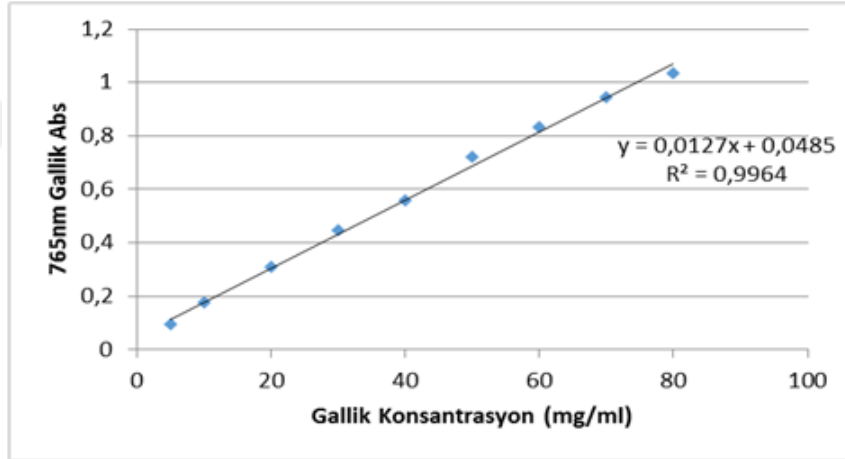
Fotoğraf 3.7. Propolis ekstraktlarının santrifüj edilmesi (a) seyreltilmiş propolis örnekleri (b) ve spektrofotometrede okumaya hazır propolis örnekleri (c)

Standart grafiği elde etmek için, öncelikle %50, %70, %90 etanol, %50, %70, %90 metanol, %100 yağ ve %100 su yardımıyla konsantrasyonu 10mg/mL olan stok gallik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra folin ciocalteau ayırıcı kullanılarak gerçekleştirilmiş analizde ekstraktan seyreltilerek alınan 100 µl çözelti üzerine 900 µl saf su, 5 mL 0.2N folin-ciocalteu reaktifi ve 4 mL doymuş sodyumkarbonat solüsyonu (75 g/L) eklenmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat süreyle bekletilmiş olan karışım spektrofotometre 765 nm’de köre karşı okunmuştur. Absorbans değerlerinin aritmetik ortalamaları alınarak standart grafiği elde edilmiştir (Çizelge 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10). Grafik üzerinde verilen formülden yararlanılarak propolis ekstraktlarındaki toplam fenolik içerik belirlenmiştir. Bu formülde ‘y’ numunenin absorbans değerini, ‘x’ ise numunenin konsantrasyonunu ifade etmektedir. Bu değerler formüle yerleştirildiğinde elde edilen sonuç, numunedeki toplam fenolik madde içeriğini (mg/mL olarak) vermektedir. Örneklerin toplam fenolik madde içeriği gallik asit standartından elde edilen kalibrasyon grafikleri %50, %70, %90 metanol (R²=0.99),

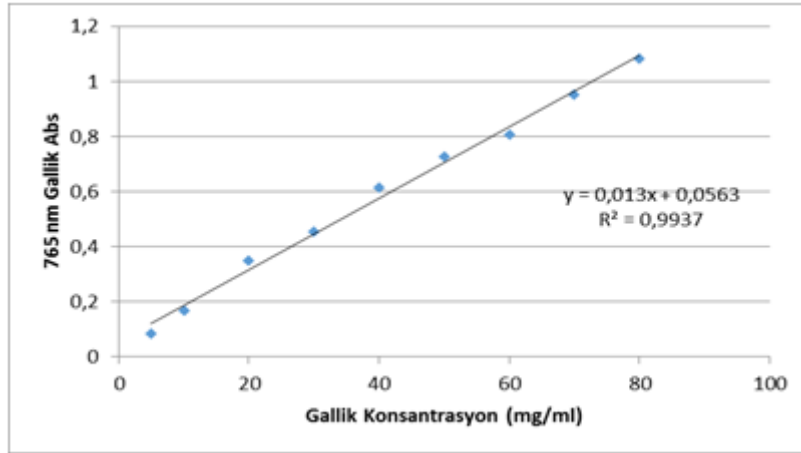
%50, %70, %90 etanol (R2=0.99), %100 su (R2=0.99), yardımıyla gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.



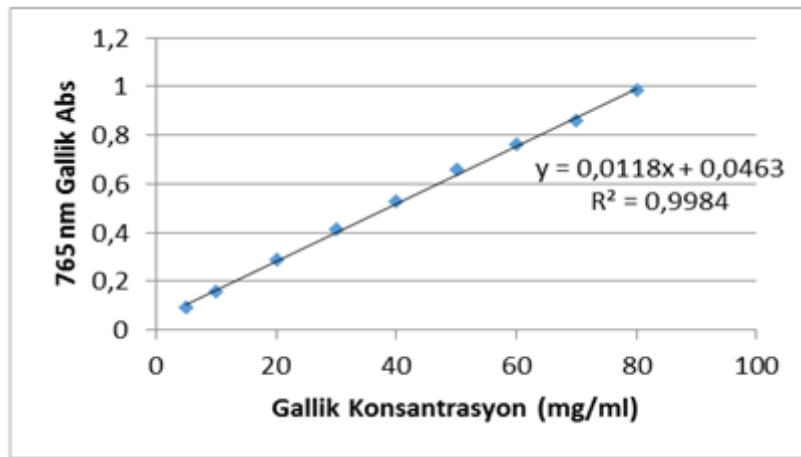
Şekil 3.4. %50 etanol gallik asit standart grafiği



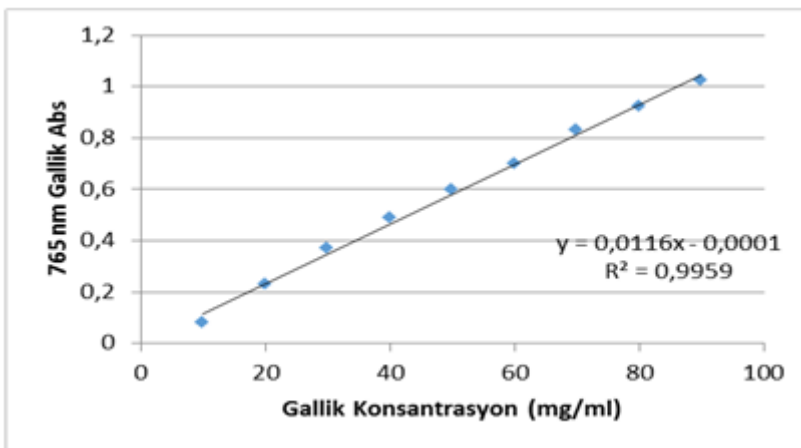
Şekil 3.5. %70 etanol gallik asit standart grafiği



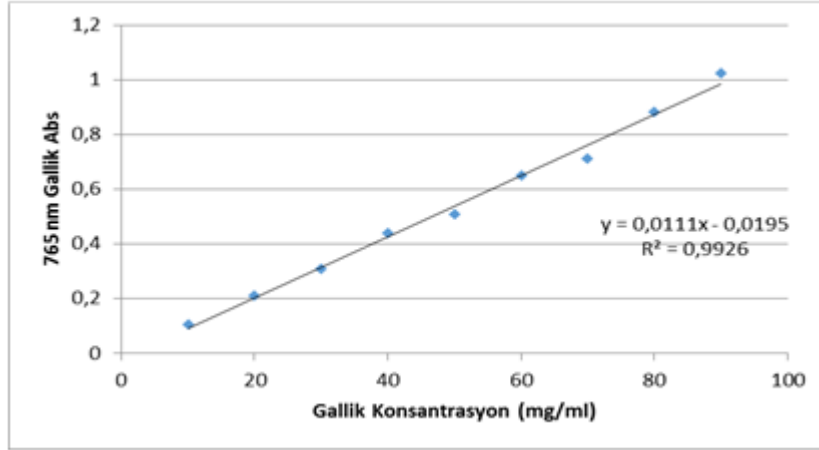
Şekil 3.6. %90 etanol gallik asit standart grafiği



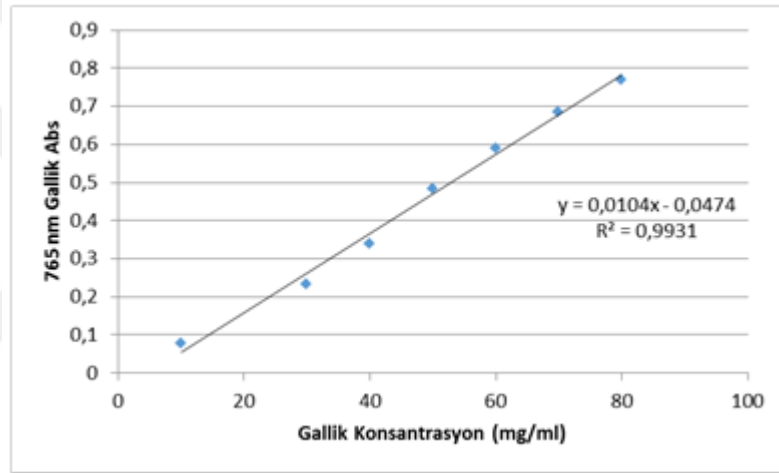
Şekil 3.7. %50 metanol gallik asit standart grafiği



Şekil 3.8. %70 metanol gallik asit standart grafiği



Şekil 3.9. %90 metanol gallik asit standart grafiği



Şekil 3.10. %100 su gallik asit standart grafiği

3.2.6 İstatistiksel analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında varyans analizi (one-way annova) kullanılmıştır. Gruplar arasında fark çıktığında dancan testi uygulandı. Değerlendirmelerde 0.05 güven sınırı esas alındı. N=5

BÖLÜM IV

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) metanol, etanol, zeytinyağı ve su ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesi ($\mu\text{moltrolox/g}$)

Grup	KONST.	Oran	n	Orta \pm SS	Min.	Max.
Metanol	1(%50)	1(1/5)	5	611.26 \pm 146.96 ^b	610.018	743.585
		2(1/10)	5	633.28 \pm 12.45 ^b	611.08	700.067
		3(1/20)	5	813.07 \pm 97.45 ^a	638.84	879.857
		Ortalama	15	685.87\pm123.34^C	619.97	879.857
	2(%70)	1(1/5)	5	678.12 \pm 99.81 ^{bc}	611.341	744.908
		2(1/10)	5	751.36 \pm 65.92 ^b	684.581	818.148
		3(1/20)	5	950.79 \pm 95.02 ^a	884.015	1017.582
		Ortalama	15	793.42\pm144.54^B	611.341	1017.582
	3(%90)	1(1/5)	5	837.84 \pm 86.95 ^b	771.059	904.626
		2(1/10)	5	840.83 \pm 23.78 ^b	774.49	907.616
		3(1/20)	5	1219.63 \pm 9.60 ^a	1152.847	771.059
		Ortalama	15	966.10\pm191.79^A	771.059	771.059
		Genel ORT	45	820.45\pm186.29	566.500	1286.414
Etanol	1(%50)	1(1/5)	5	569.88 \pm 11.17 ^c	503.101	636.667
		2(1/10)	5	593.17 \pm 6.52 ^b	526.390	659.957
		3(1/20)	5	609.94 \pm 4.65 ^{ba}	543.158	676.725
		Ortalama	15	590.99\pm18.52^C	503.101	676.725
	2(%70)	1(1/5)	5	621.11 \pm 0.93 ^c	554.336	687.903
		2(1/10)	5	743.14 \pm 1.86 ^b	676.366	809.933
		3(1/20)	5	930.38 \pm 0.93 ^a	863.602	997.169
		Ortalama	15	764.88\pm131.65^B	554.336	997.169
	3(%90)	1(1/5)	5	783.20 \pm 17.69 ^c	716.421	849.988
		2(1/10)	5	807.42 \pm 2.79 ^b	740.641	874.208
		3(1/20)	5	939.70 \pm 4.65 ^a	872.917	1006.484
		Ortalama	15	843.44\pm71.87^A	716.421	1006.484
		Genel ORT	45	733.109\pm136.55	503.101	1006.484
Zeytinyağı	1(%100)	1(1/5)		291.32 \pm 7.64 ^{bc}	224.541	358.108
		2(1/10)		419.22 \pm 45.85 ^{ab}	352.437	486.004
		3(1/20)		495.95 \pm 22.92 ^a	429.175	562.742
		Ortalama	15	402.16\pm91.65	224.541	562.742
Su	1(%100)	1(1/5)		156.12 \pm 15.28 ^b	89.338	222.905
		2(1/10)		216.41 \pm 262.75 ^{ab}	209.925	343.492
		3(1/20)		276.70 \pm 22.92 ^a	362.558	496.125
		Ortalama	15	287.39\pm182.57	89.338	496.125

4.1 Antioksidan Aktivite Değerleri

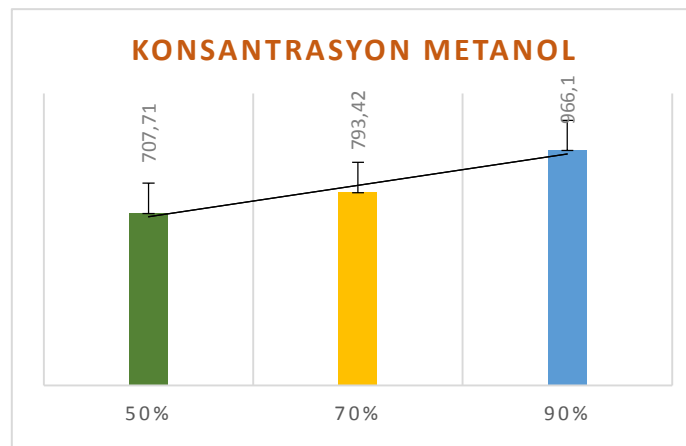
4.1.1 Metanol ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayini

Farklı konsantrasyonlarda metanol ile ekstrakte edilen ham propolisin antioksidan aktivitesindeki değişimler Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) metanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesi ($\mu\text{mol trolox/g}$)

Grup	KONST.	Oran	n	X \pm SS	Min.	Mix.
Metanol	(%50)	1(1/5)	5	611.26 \pm 146.96 ^b ^c	610.018	743.585
		2(1/10)	5	633.28 \pm 12.45 ^b	566.500	700.067
		3(1/20)	5	813.07 \pm 97.45 ^a	746.290	879.857
		Ortalama	15	707.71\pm123.34^C	566.500	879.857
	(%70)	1(1/5)	5	678.12 \pm 99.81 ^b	611.341	744.908
		2(1/10)	5	751.36 \pm 65.92 ^b	684.581	818.148
		3(1/20)	5	950.79 \pm 95.02 ^a	884.015	1017.582
		Ortalama	15	793.42\pm144.54^B	611.341	1017.582
	(%90)	1(1/5)	5	837.84 \pm 86.95 ^b	771.059	904.626
		2(1/10)	5	840.83 \pm 23.78 ^b	774.49	907.616
		3(1/20)	5	1219.63 \pm 9.60 ^a	1152.847	1286.414
		Ortalama	15	966.10\pm191.79^A	771.059	1286.414
		Genel ORT	45	822.41 \pm 187.08	566.500	1286.414

Aynı sütundaki büyük harfler konsantrasyon arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki küçük harfler oranlar arası istatistiksel farklı belirtmektedir ($p < 0.05$). (%50: 50 mL metanol, 50 mL su, %70: 70 mL metanol 30 mL su, %90: 90 mL metanol 10 mL su)



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyon ve oranlarda metanol ile çözülen propolisin antioksidan aktivite değerleri

Bu çalışmada %50, %70 ve %90 konsantrasyonlarında hazırlanan metanol çözeltilisinde ekstrakte edilen propolisin antioksidan aktivite değeri sırası ile 707.71 ± 123.34 $\mu\text{mol trolox/g}$, 793.42 ± 144.54 $\mu\text{mol trolox/g}$ ve 966.10 ± 191.79 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. En yüksek antioksidan aktivite değeri %90 metanol grubunda bulunurken en düşük değer %50 metanol grubunda gözlenmiştir. Antioksidan aktivite değeri %50 metanol çözeltilisinde propolis metanol oranı 1/5, 1/10 1/20 gr/mL olduğunda antioksidan aktivitesi sırası ile 676.80 ± 146.96 , 633.28 ± 12.45 , 813.07 ± 97.45 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. %50 metanol grubunda en yüksek antioksidan aktivite değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük antioksidan aktivite değeri propolis/metanol oranı 1/5 olan grupta bulunmuştur. %70 metanol çözeltilisinde propolis metanol oranı 1/5, 1/10 ve 1/20 gr/mL gruplarında antioksidan aktivite değeri sırası ile 678.12 ± 99.81 , 751.36 ± 65.92 , 950.79 ± 95.02 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. %70 metanol grubunda en yüksek antioksidan değeri 1/20 oranında gözlenmişken aynı grupta en düşük değer 1/5 gr/mL oranında gözlenmiştir. %90 metanol çözeltilisinde 1/5, 1/10 ve 1/20 g/mL propolis/metanol oranlarında antioksidant aktivitesi sırası ile 837.84 ± 86.95 , 840.83 ± 23.78 , 1219.63 ± 9.60 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. %90 metanol grubunda en yüksek antioksidan değeri 1/20 propolis/metanol oranında gözlenmişken en düşük değer 1/5 lik propolis/metanol oranı grubunda gözlenmiştir. Sonuç olarak farklı konsantrasyonlarda ve farklı oranlarda metanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesinde en yüksek değer %90 konsantrasyonda ve 1/20 propolis/metanol oranına sahip grupta gözlenmişken en düşük antioksidan aktivite değeri %50 konsantrasyona sahip metanol grubunda 1/5 propolis/metanol oranındaki grupta gözlenmiştir. Bekar (2011) tarafından yapılmış bir çalışmada metanolik ekstrakt kullanılarak CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayinindeki trolox standardına göre 3920 $\mu\text{mol/g}$ propolis bulunmuştur. Moreira vd., (2008) farklı iki bölgeden elde ettiği propolislerle yaptığı bir çalışmada propolisin metanolik ekstraktında antioksidan aktivite değerini bornes bölgesi propolislerinde 665.89 $\mu\text{mol/g}$ propolis olarak bildirirken Fundao bölgesi propolislerinde 577.02 $\mu\text{mol/g}$ propolis olarak gözlediğini bildirmiştir. Bu çalışmada metanol ile çözülen propolis örneklerinin ortalama antioksidan aktivite değeri (822.41 $\mu\text{mol/g}$ propolis) Bekar (2011)' in bildirdiği (3920 $\mu\text{mol/g}$ propolis) değerden düşük, Moreira vd., (2008) in bildirdiği değerden (665.89 $\mu\text{mol/g}$ propolis) yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan değerlerin diğer araştırmacıların bildirdiği değerlerden farklı olmasında propolis toplanan bölgenin bitki

florası, arı genotipi, propolis toplama yöntemi ve ekstraksiyon koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

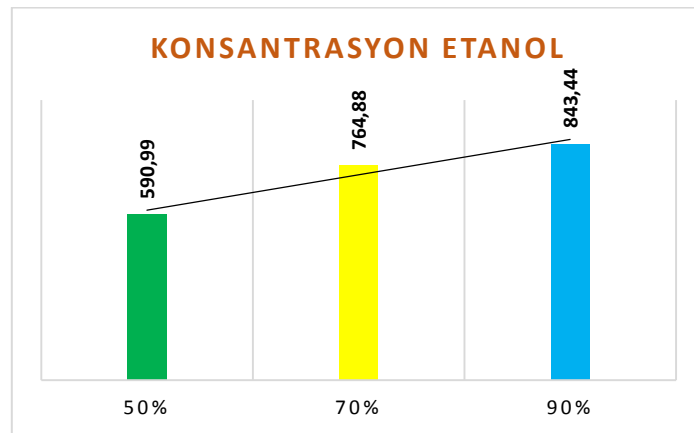
4.1.2 Etanol ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayini

Farklı konsantrasyonlarda etanol ile ekstrakte edilen ham propolisin antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda etanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesi ($\mu\text{mol trolox/g}$)

Grup	KONST.	Oran	n	X \pm SS	Min.	Max.
Etanol	1(%50)	1(1/5)	5	569.88 \pm 11.17 ^c	503.101	636.667
		2(1/10)	5	593.17 \pm 6.52 ^b	526.390	659.957
		3(1/20)	5	609.94 \pm 4.65 ^a	543.158	676.725
		Ortalama	15	590.99\pm18.52^C	503.101	676.725
	1(%70)	1(1/5)	5	621.11 \pm 0.93 ^c	554.336	687.903
		2(1/10)	5	743.14 \pm 1.86 ^b	676.366	809.933
		3(1/20)	5	930.38 \pm 0.93 ^a	863.602	997.169
		Ortalama	15	764.88\pm131.65^B	554.336	997.169
	1(%90)	1(1/5)	5	783.20 \pm 17.69 ^c	716.421	849.988
		2(1/10)	5	807.42 \pm 2.79 ^b	740.641	874.208
		3(1/20)	5	939.70 \pm 4.65 ^a	872.917	1006.484
		Ortalama	15	843.44\pm71.87^A	716.421	1006.484
		Genel ORT	45	528.72 \pm 201.62	249.584	740.693

Aynı sütundaki büyük harfler konsantrasyon arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki küçük harfler oranlar arası istatistiksel farklı belirtmektedir (P<0.05). (%50: 50 mL etanol, 50 mL su, %70: 70 mL etanol 30 mL su, %90: 90 mL etanol 10 mL su).



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyon ve oranlarda etanol ile çözülen propolisin antioksidant aktivite değerleri

Bu çalışmada %50, %70 ve %90 konsantrasyonlarında hazırlanan etanol ile ekstrakte edilen propolisin antioksidan aktivite değeri sırası ile 590.99 ± 18.52 $\mu\text{mol trolox/g}$, 764.88 ± 131.65 $\mu\text{mol trolox/g}$ ve 843.44 ± 71.87 $\mu\text{mol trolox/g}$ propolis olarak bulunmuştur. En yüksek antioksidan değeri %90 etanol grubunda bulunurken en düşük değer %50 etanol grubunda gözlenmiştir. Antioksidan aktivite değeri %50 etanol grubunun farklı propolis/etanol oranlarında (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 569.88 ± 11.17 , 593.17 ± 6.52 ve 609.94 ± 4.65 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. %50 etanol grubunda en yüksek antioksidan değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değer 1/5 oran grubunda bulunmuştur. Antioksidan aktivite değeri %70 etanol grubunda bulunan farklı propolis/etanol oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 621.11 ± 0.93 , 743.14 ± 1.86 ve 930.38 ± 0.93 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. %70 etanol grubunda en yüksek antioksidan değeri 1/20 oran grubunda gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranda gözlenmiştir. %90 etanol konsantrasyon grubunda bulunan farklı propolis/etanol oranlarında (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) antioksidan aktivite değeri sırası ile 783.20 ± 17.69 , 807.42 ± 2.79 ve 939.70 ± 4.65 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. %90 etanol grubunda en yüksek antioksidan değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranda gözlenmiştir. Sonuç olarak etanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesinde en yüksek değeri %90 etanol konsantrasyon grubunda yer alan 1/20 oranlık grupta gözlenmişken en düşük değeri %50 etanol konsantrasyon grubunda 1/5 oranında gözlenmiştir. Saroğlu (2018) antioksidan aktivite değerini DPPH analiziyle 470 $\mu\text{mol trolox /g}$ olarak bildirirken, CUPRAC analiziyle 890 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bildirmiştir. Mohammadzadeh vd. (2007), İran'ın farklı bölgelerinden gelen etanolik propolis örneklerinin antioksidan aktivite değerini FRAP tahlili ile ölçmüş ve sonuçları 100 , 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında Trolox ile karşılaştırmış ve propolis etanolik ekstraktların FRAP değerlerini 31.5 ± 14.6 ila 1650 ± 72 $\mu\text{mol Trolox}$ olarak gözlemlemiştir. Yavuz (2011), CUPRAC metoduna göre Türkiye'nin Van, Erzurum, Gümüşhane, Ordu, Rize ve Muğla şehirlerinden toplanan propolis örneklerinin % 95'lik etil alkol çözeltisinde en yüksek toplam antioksidan aktivitesini Erzurum (3950 $\mu\text{mol/g}$ propolis) ve Gümüşhane (4150 $\mu\text{mol/g}$ propolis) illerinden elde edilen propolis numunelerinde gözlemlediğini bildirmiştir. Khalily (2019), yaptığı bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş propolisin antioksidan aktivite değeri 569.68 $\mu\text{mol trolox/g}$ propolis olarak bildirmiştir. Andrade vd. (2017), yaptığı bir çalışmada Brezilyanın kuzeydoğu bölgesinden kahverengi, yeşil ve kırmızı propolisin %70 etanol ile ekstraktının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesini değerlendirmiştir. En yüksek antioksidan

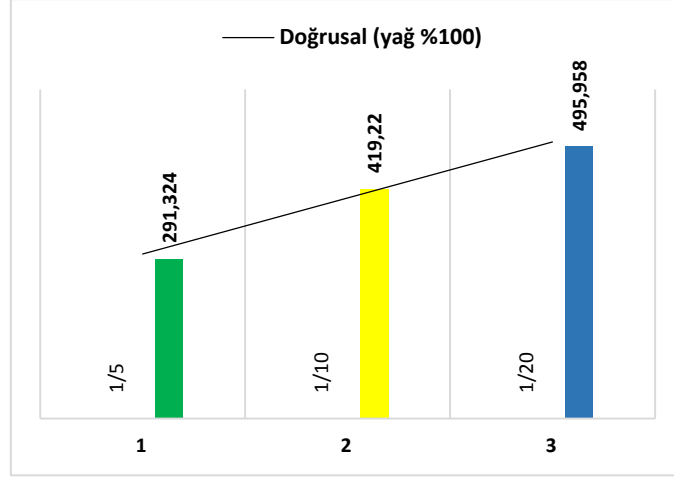
aktivitesinin kırmızı propoliste 2913.55 $\mu\text{mol Trolox/g}$ propolis olarak bulunurken, en düşük değeri kahverengi propoliste 1868.45 $\mu\text{mol Trolox/g}$ propolis olarak bildirmiştir. Jansen-Alves vd. (2019), yaptığı bir çalışmada propolisin potansiyel bir doğal koruyucu olarak kullanılmak üzere antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini göstermiştir. %80 etanol ile çözülmüş propolisin FRAP metodu (815.75 $\mu\text{mol trolox /g}$) ve DPPH metodu (51.12 $\mu\text{mol trolox /g}$) ile yüksek antioksidan kapasite bildirmiştir. Kalogeropoulos vd. (2009), yaptıkları bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş Yunanistan propolisin DPPH yönetimi göre toplam antioksidan aktivite değerini (1110 $\mu\text{mol trolox/g}$) bildirmiştir. Bu çalışmada %70 etanol ile çözülen propolis örneklerinin ortalama antioksidan aktivite değeri (764.88 $\mu\text{mol trolox/g}$ propolis) Khalily (2019) in bildirdiği (569.68 $\mu\text{mol/g}$ propolis) değerden yüksek, Andrade vd. (2017)'nin (1868.45 $\mu\text{mol trolox/g}$ propolis) ve Kalogeropoulos vd. (2009)'nin bildirdiği değerlerden (1110 $\mu\text{mol trolox/g}$) düşük olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan değerlerin diğer araştırmacıların bildirdiği değerlerden farklı olmasında propolis toplanan bölgenin bitki florası, arı genotipi, propolis toplama yöntemi ve ekstraksiyon koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.1.3 Zeytinyağı ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayin

Çizelge 4.4. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) zeytinyağı ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesi ($\mu\text{mol trolox/g}$)

Grup	KONST.	Oran	n	X \pm SS	Min.	Max.
Zeytinyağı	1(% 100)	1(1/5)	5	291.32 \pm 7.64 ^c	224.541	358.108
		2(1/10)	5	419.22 \pm 45.85 ^b	352.437	486.004
		3(1/20)	5	495.95 \pm 22.92 ^a	429.175	562.742
		Ortalama	15	402.16\pm91.65	224.541	562.742

Farklı harfler oran gruplarının antioksidan değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.3. Zeytinyağı ile çözülen propolisin antioksidan aktivite değerleri

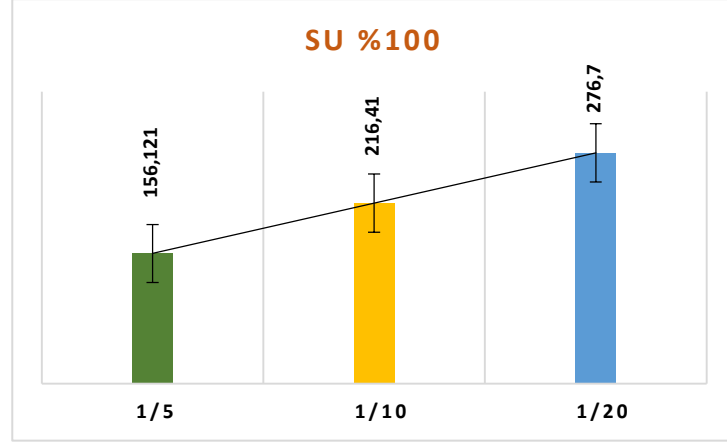
Antioksidan aktivite değeri %100 zeytinyağı grubunun farklı oranlarında (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 569.88 ± 11.17 , 593.17 ± 6.52 ve 609.94 ± 4.65 µmol trolox/g olarak bulunmuştur. En yüksek antioksidan değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranda gözlenmiştir.

4.1.4 Su ile ekstrakte edilen propoliste antioksidan aktivite tayini

Çizelge 4.5. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) su ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesri (µmol trolox/g)

Grup	KONST.	Oran	n	X±SS	Min.	Mix.
Su	1(% 100)	1(1/5)	5	156.12 ± 15.28^b	89.338	222.905
		2(1/10)	5	216.41 ± 116.27^{ab}	362.558	496.125
		3(1/20)	5	276.70 ± 22.92^a	209.925	343.492
		Ortalama	15	276.7 ± 182.57	89.338	496.125

Farklı harfler oran gruplarının antioksidan değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P < 0.05$).



Şekil 4.4. Su ile çözülen propolisin antioksidan aktivite değerleri

Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) propolis/su ile çözülen propolislerin antioksidan aktivite değeri sırası ile 156.12 ± 15.28 , 216.70 ± 22.92 ve 276.70 ± 22.92 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur. En yüksek antioksidan değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranında gözlenmiştir. Propolis suda az çözünmektedir, bunun nedeni ise kovandan alınan propolisin ham ve saf olmasıdır. Brezilya'da üretilen taze propolisin 50 mg/mL oranında su ile ekstresi sonucu hazırlanan propolis çözeltisinin antioksidan aktivite değeri $25 \mu\text{mol trolox/g}$ olarak bildirilmiştir (Nagai vd., 2003). Bu çalışmada su ile çözülen propolis örneklerinin ortalama antioksidan aktivite değeri ($276.7 \mu\text{mol trolox/g}$ propolis) (Nagai vd., 2003)' in bildirdiği ($25 \mu\text{mol/g}$ propolis) değerden yüksek olarak bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan değerlerin diğer araştırmacıların bildirdiği değerlerden farklı olmasında propolis toplanan bölgenin bitki florası, arı genotipi, propolis toplama yöntemi ve ekstraksiyon koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2 Toplam Fenolik Madde Tayini

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 mL) metanol, etanol, zeytinyağı ve su ile ekstrakte edilmiş ham propoliste bulunan toplam fenolik madde (mg GAE/g)

Grup	KONST.	Oran	n	X±SS	Min.	Max.
Matanol	1(%50)	1(1/5)	5	565.59±2.54 ^c	559.823	571.363
		2(1/10)	5	584.23±6.77 ^b	578.467	590.007
		3(1/20)	5	606.27±1.69 ^a	600.501	612.041
		Ortalama	15	585.36±17.66^C	559.823	612.041
	2(%70)	1(1/5)	5	742.41±15.51 ^c	736.644	748.184
		2(1/10)	5	797.15±5.60 ^b	791.385	802.925
		3(1/20)	5	821.29±3.01 ^a	815.523	827.063
		Ortalama	15	786.95±35.31^B	736.644	827.063
	3(%90)	1(1/5)	5	933.33±0.90 ^c	927.563	939.103
		2(1/10)	5	980.18±9.91 ^b	974.410	985.950
		3(1/20)	5	1032.88±21.17 ^a	1027.114	1038.654
		Ortalama	15	982.13±43.91^A	927.563	1038.654
		Genel ORT	45	784.817±167.16	559.823	1038.654
Etanol	1(%50)	1(1/5)	5	241.18±5.11 ^c	235.411	246.951
		2(1/10)	5	255.35±1.96 ^b	249.584	261.124
		3(1/20)	5	265.39±0.59 ^a	259.624	271.164
		Ortalama	15	253.97±10.69^C	235.411	271.164
	2(%70)	1(1/5)	5	590.55±2.36 ^c	584.781	596.321
		2(1/10)	5	609.44±3.93 ^b	603.679	615.219
		3(1/20)	5	647.24±2.36 ^a	641.474	653.014
		Ortalama	15	615.74±24.55^B	584.781	653.014
	3(%90)	1(1/5)	5	696.07±0.66 ^c	690.307	701.847
		2(1/10)	5	718.38±5.00 ^b	712.615	724.154
		3(1/20)	5	734.92±1.53 ^a	729.153	740.693
		Ortalama	15	716.46±17.07^A	690.307	740.693
		Genel ORT	45	528.72±201.62	249.584	740.693
Zeytinyağı	(%100)	1(1/5)	5	78.38±0.03 ^b	72.615	84.155
		2(1/10)	5	79.67±0.26 ^b	73.901	85.441
		3(1/20)	5	83.42±0.93 ^a	77.651	89.190
		Ortalama	15	80.49±2.27	72.615	89.190
Su	(%100)	1(1/5)	5	72.22±0.62 ^b	66.454	77.994
		2(1/10)	5	74.37±1.13 ^b	68.604	80.144
		3(1/20)	5	76.63±0.50 ^a	70.866	82.405
		Ortalama	15	74.41±2.00	66.454	80.144

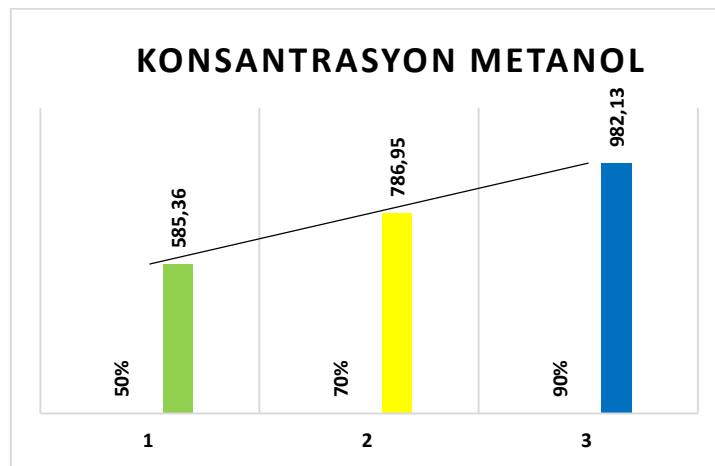
4.2.1 Metanol ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini

Farklı konsantrasyonlarda metanol ile ekstrakte edilen ham propolisin toplam fenolik madde içeriği Çizelge 4.7’de sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) metanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde (mg GAE/g) miktarları

Grup	KONST.	Oran	n	X±SS	Min.	Max.
Matanol	1(%50)	1(1/5)	5	565.59±2.54 ^c	559.823	571.363
		2(1/10)	5	584.23±6.77 ^b	578.467	590.007
		3(1/20)	5	606.27±1.69 ^a	600.501	612.041
		Ortalama	15	585.36±17.66^C	559.823	612.041
	2(%70)	1(1/5)	5	742.41±15.51 ^c	736.644	748.184
		2(1/10)	5	797.15±5.60 ^b	791.385	802.925
		3(1/20)	5	821.29±3.01 ^a	815.523	827.063
		Ortalama	15	786.95±35.31^B	736.644	827.063
	3(%90)	1(1/5)	5	933.33±0.90 ^c	927.563	939.103
		2(1/10)	5	980.18±9.91 ^b	974.410	985.950
		3(1/20)	5	1032.88±21.17 ^a	1027.114	1038.654
		Ortalama	15	982.13±43.91^A	927.563	1038.654
		Genel ORT	45	784.817±167.16	559.823	1038.654

Farklı harfler konsantrasyonlar arası farklı istatistiksel grupları temsil etmektedir (P<0.05). Farklı küçük harfler oranlar arası farklı istatistiksel grupları temsil etmektedir (P<0.05). (%50: 50 mL metanol, 50 mL su, %70:70 mL metanol 30 mL su, %90: 90 mL metanol 10 mL su).



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyon ve oranlarda metanol ile çözölen propolis toplam fenolik madde tayini

Bu çalışmada farklı (%50, %70, %90) konsantrasyonlardaki metanol ile ekstrakte edilen propolisin toplam fenolik madde değeri sırası 585.36±17.66 mg GAE /g, 786.95±35.31 mg GAE /g ve 982.13±43.91 mg GAE/g olarak bulunmuştur. En yüksek toplam fenolik madde değeri %90 metanol grubunda bulunurken en düşük değer %50 metanol grubunda gözlenmiştir. Toplam fenolik madde değeri %50 metanol grubundaki farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 565.59±2.54, 584.23±6.77, 606.27±1.69 mg GAE/g olarak bulunmuştur. %50 metanol grubunda en yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranında bulunmuştur. Toplam fenolik madde değeri %70 metanol grubundaki farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 742.41±15.51, 797.15±5.60, 821.29±3.01 mg GAE / g olarak bulunmuştur. %70 metanol grubunda en yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranında gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranında gözlenmiştir. %90 metanol grubundaki farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 933.33±0.90, 980.18±9.91, 1032.88±21.17 olarak bulunmuştur. %90 metanol grubunda en yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranında gözlenmiştir. Sonuç olarak metanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin en yüksek toplam fenolik madde değeri %90 metanol grubundaki 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değeri %50 metanol grubundaki 1/5 oranda gözlenmiştir. Saroğlu (2018) yaptığı bir çalışmada en yüksek toplam fenolik madde içeriğini 11564±178 mg GAE/100 g propolis olarak bulurken, en düşük toplam fenolik madde içeriğini 7206±120.8 mg GAE/100 g propolis olarak bildirmiştir. Bekar (2011), yapılmış bir çalışmada metanolik ekstrak kullanarak toplam polifenolik madde içeriğini 253.40 mg GAE/g propolis olarak bulunduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada metanol ile çözülen propolis örneklerinin ortalama toplam fenolik madde değeri (784.817 mg GAE/100 g propolis) Saroğlu (2018) (11564±178 mg GAE/100 gr) ve Bekar (2011)' in (253.40 mg GAE/g propolis) bildirdiği değerlerden düşük olarak bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan değerlerin diğer araştırmacıların bildirdiği değerlerden farklı olmasında propolis toplanan bölgenin bitki florası, arı genotipi, propolis toplama yöntemi ve ekstraksiyon koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir

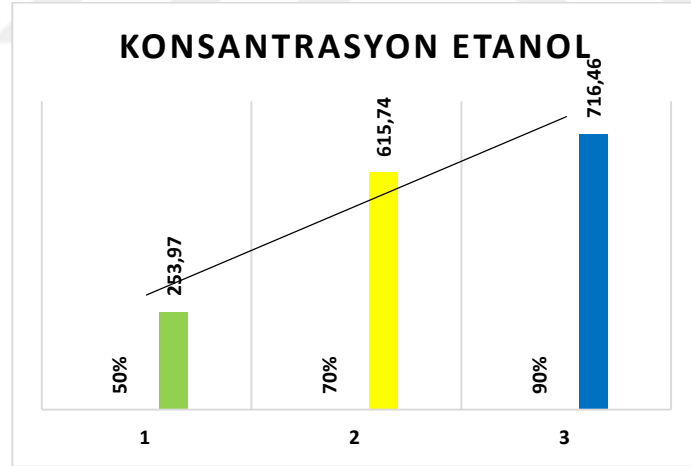
4.2.2 Etanol ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini

Farklı konsantrasyonlarda etanol ile ekstrakte edilen ham propolisin toplam fenolik madde içeriği Çizelge 4.8'de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyon (%50, %70, %90) ve farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) etanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde içeriği (mg GAE /g)

Grup	KONST.	Oran	n	X±SS	Min.	Max.
Etanol	1(%50)	1(1/5)	5	241.18±5.11 ^c	235.411	246.951
		2(1/10)	5	255.35±1.96 ^b	249.584	261.124
		3(1/20)	5	265.39±0.59 ^a	259.624	271.164
		Ortalama	15	253.97±10.69^C	235.411	271.164
	2(%70)	1(1/5)	5	590.55±2.36 ^c	584.781	596.321
		2(1/10)	5	609.44±3.93 ^b	603.679	615.219
		3(1/20)	5	647.24±2.36 ^a	641.474	653.014
		Ortalama	15	615.74±24.55^B	584.781	653.014
	3(%90)	1(1/5)	5	696.07±066 ^c	690.307	701.847
		2(1/10)	5	718.38±5.00 ^b	712.615	724.154
		3(1/20)	5	734.92±1.53 ^a	729.153	740.693
		Ortalama	15	716.46±17.07^A	690.307	740.693
		Genel ORT	45	528.72±201.62	249.584	740.693

Farklı büyük harfler konsantrasyonlar arası farklı istatistiksel grupları temsil etmektedir(P<0.05). Farklı küçük harfler oranlar arası farklı istatistiksel grupları temsil etmektedir(P<0.05) (%50:50 mL etanol, 50 mL su, %70:70 mL etanol 30 mL su, %90: 90 ml etanol 10 mL su).



Şekil 4.6. Farklı konsantrasyon ve oranlarda etanol ile çözülen propolis toplam fenolik madde tayini

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan etanol çözeltilisinde ekstrakte edilen propolisin toplam fenolik madde değeri sırası ile 253.97±10.69 mg GAE/g, 615.74±24.55 mg GAE/g ve 716.46±17.07 mg GAE/g olarak bulunmuştur. En yüksek toplam fenolik madde değeri %90 etanol grubunda bulunurken en düşük toplam fenolik madde değeri %50 etanol grubunda gözlenmiştir. Toplam fenolik madde değeri %50

etanol grubundaki farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 241.18±5.11, 255.35±1.96, 265.39±0.59 mg GAE/g olarak bulunmuştur. %50 etanol grubunda en yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranında gözlenmişken en düşük değer 1/5 oranında bulunmuştur. Toplam fenolik madde değeri %70 etanol grubunun farklı oranlarında (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) toplam fenolik madde değeri sırası ile 590.55±2.36, 609.44±3.93 647.24±2.36 mg GAE/g olarak bulunmuştur. %70 etanol grubunda en yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranda gözlenirken en düşük değer 1/5 lik oranda gözlenmiştir. %90 etanol grubunun farklı oranlarında (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 696.07±066, 718.38±5.00, 734.92±1.53 mg GAE/g olarak bulunmuştur. %90 etanol grubunda en yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranda gözlenirken en düşük değer 1/5 oranında gözlenmiştir. Sonuç olarak etanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin en yüksek toplam fenolik madde değeri %90 etanol grubundaki 1/20 oranda gözlenmişken en düşük toplam fenolik madde değeri %50 etanol grubundaki 1/5 oranda gözlenmiştir. Kızıltaş (2018), yaptığı bir çalışmada farklı kovanların (Ahşap, strafor ve plastik) propolis üretimine ve içeriğine (toplam fenolik bileşim) etkisi incelemiş, en yüksek fenolik madde değerini plastik kovanlarda 413.274±212.910 mg/g olarak gözlemlendiğini bildirmiştir. Sorucu (2015), yapmış olduğu bir çalışmada marmara bölgesindeki propolislerde biyolojik etkisi olan fenolik madde ve miktarlarının mevsim farkına bağlı olarak incelemiş, % 70'lik etil alkol/su ile ekstraksiyonu yaparak gallik asit standartını göre elde edilen sonuçlar sırası ile ilk bahar, yaz ve son bahar mevsimde 0.0560 mg GAE/g, 0.1174 mg GAE/g, 0.11789 mg GAE/g olarak bildirmiştir. Araştırmada elde edilen üretim ortalamalarının diğer çalışmalara oranla yüksek olmasının temel nedeninin propolisen ekstraksiyon yönetime göre ayrıca propolisin bölgeye bağla olarak kaynaklandığı düşünülmektedir. Andrade vd. (2017), yaptığı bir çalışmada Brezilyanın kuzeydoğu bölgesinden kahverengi, yeşil ve kırmızı propolisin %70 etanolik ekstraktı topla fenolik madde ve antioksidan aktivitesinin değerlendirilmiştir. Sonuç da topla fenolik madde en düşük değeri kahverengi propoliste 55.74 mg GAE/ propolis bulunurken en yüksek değeri kırmızı propoliste 91.32 mg GAE/ propolis olarak bulunmuştur. Escriche ve Juan-Borras (2018), yaptıkları bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş propolisin toplam fenolik madde içeriğini 286 mg GAE/g propolis olarak bulurken, en önemli fenolik maddelerin kaemferol, p-kumarik asit, m-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, rutin, kuarsetin, apigenin ve pinosembriin olduğunu bildirmişlerdir. Khalily (2019), yaptığı bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş propolisin toplam fenolik madde içeriği 593.31 mg

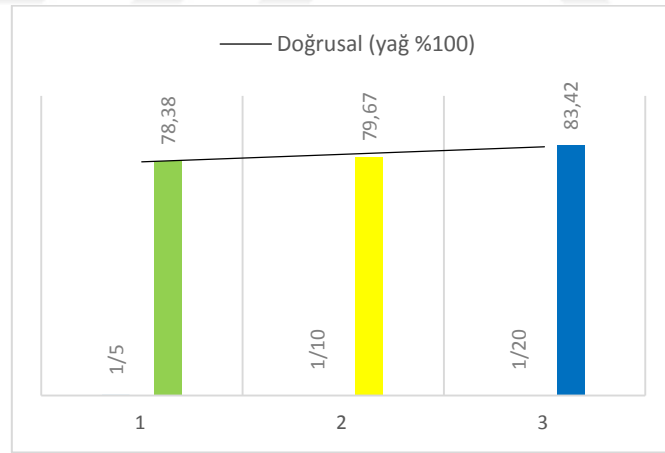
GAE/g propolis olarak bildirmiştir. Bu çalışmada %70 etanol ile çözülen propolis örneklerinin ortalama toplam fenolik madde değeri (615.74 mg GAE/g propolis) Khalily (2019) (593.31 mg GAE/100 gr) ve Andrade vd. (2017)' nin (91.32 mg GAE/g propolis) bildirdiği değerlerden yüksek olarak bulunmuştur. Bu çalışmada bulunan değerler diğer araştırmacıların bildirdiği değerlerden farklı olmasında propolis toplanan bölgenin bitki florası, arı genotipi, propolis toplama yöntemi ve ekstraksiyon koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2.3 Zeytinyağı ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini

Çizelge 4.9. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) zeytinyağı ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g)

Grup	KONST.	Oran	n	X±SS	Min.	Max.
Zeytinyağı	1(%100)	1(1/5)	5	78.38±0.03 ^b	72.615	84.155
		2(1/10)	5	79.67±0.26 ^b	73.901	85.441
		3(1/20)	5	83.42±0.93 ^a	77.651	89.190
		Ortalama	15	80.49±2.27	72.615	89.190

Farklı harfler farklı istatistiksel grupları temsil etmektedir (P<0.05).



Şekil 4.7. Zeytinyağı ile çözülen propolisin toplam fenolik madde tayini

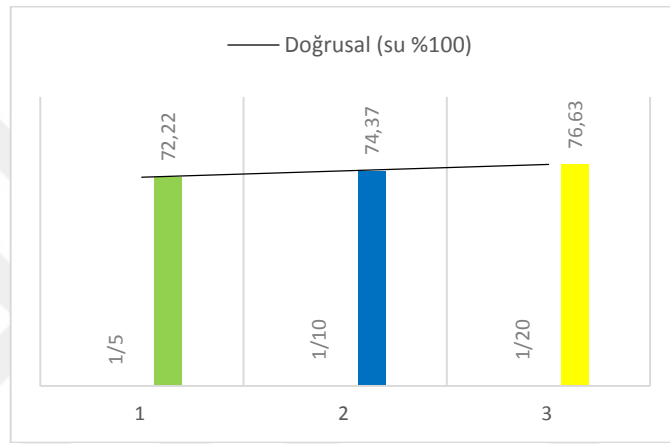
Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) yağ ile çözülmüş propolisin toplam fenolik madde değeri sırası ile 78.38±0.03, 79.67±0.26, 83.42±0.93 olarak bulunmuştur. En yüksek fenolik madde değeri 1/20 oranda ve en düşük değeri 1/5 oranda gözlenmiştir.

4.2.4 Su ile ekstrakte edilen propoliste toplam fenolik madde tayini

Çizelge 4.10. Farklı oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) su ile ekstrakte edilmiş ham propolisin toplam fenolik madde içeriği (mg/g)

Grup	KONST.	Oran	n	X±SS	Min.	Max.
Su	(%100)	1(1/5)	5	72.22±0.62 ^b	66.454	77.994
		2(1/10)	5	74.37±1.13 ^b	68.604	80.144
		3(1/20)	5	76.63±0.50 ^a	70.866	82.405
		Ortalama	15	74.41±2.00	66.454	80.144

Farklı harfler farklı istatistiksel grupları temsil etmektedir(p<0,05)



Şekil 4.8. Su ile çözülen propolisin toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde değeri %100 su oranlarda (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) sırası ile 72.22±0.62, 74.37±1.13, 76.63±0.50, olarak bulunmuştur. En yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranda ve en düşük değeri 1/5 oranda gözlenmiştir.

BÖLÜM V

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ham olarak kullanım imkanı pek olmadığı için su, zeytinyağı ve alkol gibi farklı çözücülerde ekstrakte edilen propolisin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda ve farklı oranlarda %90 metanol (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) %70 metanol (1/5, 1/10, 1/20 g/mL), %50 metanol (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) %90 etanol (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) %70 etanol (1/5, 1/10, 1/20 g/mL), %50 etanol (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) %100 yağ (1/5, 1/10, 1/20 g/mL), %100 su (1/5, 1/10, 1/20 g/mL), olarak ayrılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda belirtildiği şekilde sıralanmıştır;

1. Sonuç olarak farklı konsantrasyonlarda ve farklı oranlarda metanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesinde en yüksek değeri %90 konsantrasyonda ve 1/20 propolis/metanol oranına sahip grupta gözlenmişken en düşük antioksidan aktivite değeri %50 konsantrasyona sahip metanol grubunda 1/5 propolis/metanol oranının sahip grupta bulunmuştur.
2. Etanol ile ekstrakte edilmiş ham propolisin antioksidan aktivitesinde en yüksek değeri %90 etanol konsantrasyon grubunda yer alan 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değeri %50 etanol konsantrasyon grubunda 1/5 oranında gözlenmiştir.
3. Zeytinyağı ekstraktı da en yüksek antioksidan değeri 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değeri 1/5 oranda gözlenmiştir.
4. Su ile ekstrakte edilen propolisin antioksidan aktivite değeri 1/5, 1/10, 1/20 g/mL oranlarında sırası ile 156.12 ± 15.28 , 276.70 ± 22.92 ve 429.34 ± 262.75 $\mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulunmuştur.
5. Metanol ile ekstrakte edilen propolisin en yüksek toplam fenolik madde değeri %90 metanol grubunda 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değer %50 metanol grubunda 1/5 oranında gözlenmiştir.
6. Etanol ile ekstrakte edilen propolisin en yüksek toplam fenolik madde değeri %90 etanol grubunda 1/20 oranda gözlenmişken en düşük değeri %50 etanol grubunda 1/5 oranında bulunmuştur.
7. Zeytinyağı ile ekstrakte edilen propolis örneklerinde en yüksek toplam fenolik madde değeri 1/20 oranında ve en düşük değer 1/5 oranında gözlenmiştir.

8. %100 su ile ekstrakte edilen propolisin en yüksek toplam fenolik madde deęeri 1/20 oranda ve en dūřuk deęeri 1/5 oranda elde dilmifitir.
9. Sonuç olarak en yūksek antioksidan aktivite deęeri ve toplam fenolik madde deęeri %90 lık metanol grubunun 1/20 lik oranında gōzlenmiřken en dūřuk antioksidan aktivite deęeri ve en dūřuk toplam fenolik madde deęeri 1/5 lik su ekstraktı gurubunda gōzlemlenmiřtir.

Bu çalıřmadan elde edilen tūm sonuçlar doęrultusunda propolisin farklı ōzgenlerin farklı oran ve konsantrasyonlarında antioksidan aktivitesinin ve toplam fenolik madde içerięinin deęiřiklik gōsterdięi gōrūlmūřtir. Son zamanlarda özellikle saęlık sektōründe önemli bir kullanım alanı bulmaya bařlayan propolisin en yūksek antioksidan ve fenolik madde içerięinin metanol ekstraksiyonu ile elde edildięi sonucuna varılmıřtır.

KAYNAKLAR

Acar, J. ve Gökmen, V., “Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri”, *Gıda Kimyası* 435-452, 1998.

Akkuş, İ., “Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri”, 2. Baskı, *Mimoza Yayınları* Konya, 1995.

Altay, Z., “Siklofosamid Uygulanan Ratlarda Nefrotoksisite Üzerine Propolisin Etkileri” ,*The Effects Of Propolis On Nephrotoxicity In Cyclophosphamide Treated Rats* 2016.

Andrade, J. K. S., Denadai, M., de Oliveira, C. S., Nunes, M. L. and Narain, N., “Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region”, *Food Research International* 101, 129-138., 2017.

Anıl, M., “Antioksidan Olarak Tahıllar”, *Proceeding Of The Hububat 2006-Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi* 7-8, 2006.

Anonim-1: <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/-35.html>, 2010

Anonim-2: http://www.hammaddeler.com/index.php?option=com_content_andview=article&id=2270&Itemid=249, 2019

Anonim-3: <https://www.labblog.interlab.com.tr/tek-yazi/isolab-chemicals-Etil-Alkol>, 2019

Anonim-4: <https://okimya.com/alkoller/metil-alkol>, 2019

Anonim-5: 194.27.141.99/mehmet-can-akyolcu/MCA-Ders-Notlari-turkce, 2019

Atik, A. ve Gümüş, T., “Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları”. *Akademik Gıda*, 15(1), 60-65, 2017.

Banskota, A. H., Nagaoka, T., Sumioka, L. Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K., Matsushige, K. and Kadota, S., “Antiproliferative Activity Of The Netherlands Propolis and Its Active Principles İn Cancer Cell Lines”, *Journal Of Ethnopharmacology*, 80:67-73, 2002.

Başer, H. K. C., “Fonksiyonel gıdalar ve nütrosötikler”. 14, *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, 2002.

Bakırhoğlu, D., “Avrupa Birliği'ndeki önemli zeytinyağı ihracatçıları ve Türkiye”. Yüksek Lisans Tezi, *DEÜ Sosyal Bilimleri Enstitüsü*, 2006.

Bekar, A., “Trabzon Yöresi Propolisinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İle Fenolik Bileşiklerinin Belirlenmesi ve Antioksidan Aktivitelerinin Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2011.

Borba, R. S., Wilson, M. B., and Spivak, M. “Hidden Benefits Of Honeybee Propolis İn Hives”, *In Beekeeping–From Science To Practice*, (Pp. 17-38). Springer, Cham, 2017.

Bozkurt, A. F., “Farklı Düzeylerde Propolis Uygulamalarının Farelerde Lipid Peroksidasyonu (Mda) İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Değerlendirilmesi”, Doctoral Dissertation, *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 2010.

Burdock, G. A., “Review Of The Biological Properties and Toxicity Of Bee Propolis (Propolis)”, *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347-363, 1998.

Carvalho, A. A., Finger, D., Machado, C. S., Schmidt, E. M., Da Costa, P. M., Alves, A. P. N. N. and Dos Santos, J. M. T. “In Vivo Antitumoural Activity and Composition Of An Oil Extract Of Brazilian Propolis”, *Food Chemistry*, 126(3), 1239-1245, 2011.

Cemeli, E., Baumgartner, A., and Anderson, D. "Antioxidants and The Comet Assay", *Mutation Research/Reviews In Mutation Research*, 681(1), 51-67, 2009.

Cemeroğlu, A.P. ve Cemeroğlu, B.S., "Sağlık Açısından Gıda Fenolikleri", *Gıda Teknolojisi*, 3(9),52-55, 1998.

Cowan, M. M. "Plant Products As Antimicrobial Agents", *Clinical Microbiology Reviews*,12(4), 564-582, 1999.

Doğan, N., ve Hayoğlu, İ. "Propolis ve Kullanım Alanları", *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 16(3), 39-48, 2012.

Eroğlu, H. E., Tatlışen, A., ve Özkul, Y. "Mesane Kanseri Doku Kültürlerindeki Mikronükleus Üzerine Propolis ve Mitomisin-C'nin Etkileri", *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 15-21, 2004.

Escriche, I., and Juan-Borrás, M. "Standardizing The Analysis Of Phenolic Profile In Propolis", *Food Research International*, 106, 834-841, 2018.

Eymir, A., "Bursa İlinde Yetişen Osmanoğlu ve Sariaşlama Kestanelerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı, Fenolik Kompozisyonu ve Antioksidan Kapasiteleri Üzerine Haşlama ve Fırınlamanın Etkisi", Yüksek Lisans Tezi, *Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tunceli,2017.

Fernandez-Panchon Ms, Villano D, Troncoso Am, Garcia-Parrilla Mc,. "Antioxidant Activity Of Phenolic Compounds: From In Vitro Results To In Vivo Evidence",*Critical Reviews In Food Science and Nutrition*,48: 649-671, 2008.

Ghisalberti, E. L., "Propolis: A Review", *Bee World* 60(2), 59-84.,1979.

Gıada Mdlr,. "Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power", *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role For Antioxidants*, 87-112, 2013.

Halliwell, B., and Gutteridge, J. C. “Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, and Antioxidant Therapy”, *The Lancet*,323(8391), 1396-1397, 1984.

Harborne J. B. and Williams C. A., “Advances in Flavonoid Research Since 1992”, *Phytochemistry*, 55:481-504, 2000.

Isla, M. I., Moreno, M. N., Sampietro, A. R., and Vattuone, M. A., “Antioxidant Activity Of Argentine Propolis Extracts”, *Journal Of Ethnopharmacology*,76(2), 165-170, 2001.

Iwashina T., “The Structure and Distribution Of The Flavonoids İn Plants”, *Journal Of Plant Research*,113:287-299, 2000.

Jansen-Alves, C., Maia, D. S., Krumreich, F. D., Crizel-Cardoso, M. M., Fioravante, J. B., da Silva, W. P., and Zambiasi, R. C., “Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities”, *Food hydrocolloids*, 87, 703-711.,2019.

Kafadar, İ., “Deneyisel Septik Artrit Modelinde Eklem Kıkırdağı Hasarı Üzerine İntraartiküler Uygulanan Propolisin Etkileri”, Tıpta Uzmanlık Tezi, *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Kayseri 2009.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., and Heinonen, M., “Antioxidant Activity Of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds”, *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962, 1999.

Karakaş, S.,“Türk Propolisinin Ticari Bitkisel Yağlarda Çözünürlüğünün İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon, 2012.

Karlıdağ, K. S., ve Genç, F., “Farklı Balarısı (*Apis mellifera*) İrk ve Yöntemleri İle Üretilen Propolis Örneklerinin Reçine Miktarları”. *Uludağ Arıcılık Dergisi*,7(2), 52-58, 2007.

Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Troullidou, E., Mourtzinou, I., and Karathanos, V. T., "Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus" *Food chemistry*, 116(2), 452-461, 2009.

Kızıldaş , H., "Farklı Kovanların Propolis Üretimine ve İçeriğine (Fenolik Bileşim) Etkisi" Yüksek Lisans Tezi, *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, 2018.

Kim, D. O., and Lee, C. Y., "Comprehensive Study On Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (Vceac) Of Various Polyphenolics In Scavenging A Free Radical and Its Structural Relationship", *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*, 44(4), 253-273, 2004.

Kolaç, T., Gürbüz, P., ve Yetiş, G., "Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri", *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26-42, 2017.

Kumova, U., "Önemli Bir Arı Ürünü": Propolis., *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2(2), 2002.

Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., and Krol, W., "Historical Aspects Of Propolis Research In Modern Times". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.

Khalily, R., "Propolis Ekstrakti ile Zenginleştirilmiş Yenilebilir Filmlerin Alabalık Filetosu Kalitesi Üzerine Etkileri" Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde, 2019.

Lee, J., Koo, N and Min, D. B., "Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals", *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety*, 3(1), 21-33., 2004.

Marcucci, M. C., "Propolis: Chemical Composition, Biological Properties and Therapeutic Activity", *Apidologie*, 26(2), 83-99, 1995.

Menezes, H., Bacci Jr, M., Oliveira, S. D., and Pagnocca, F. C., “Antibacterial Properties Of Propolis and Products Containing Propolis From Brazil”, *Apidologie*, 28(2), 71-76, 1997.

Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamed, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S. E. S. and Ostad, S. N., “Antioxidant Power Of Iranian Propolis Extract”, *Food Chemistry*, 103(3), 729-733, 2007.

Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., and Estevinho, L. “Antioxidant Properties, Total Phenols and Pollen Analysis Of Propolis Samples From Portugal”, *Food and Chemical Toxicology*, 46(11), 3482-3485, 2008.

Moreno, M. I. N., M. I. Isla, A. R. Sampietro, and M. A. Vattuone., “Comparison of the freeradicalscavenging activity of propolis from several regions of Argentina”. *J. Ethnopharmacol*, 71: 109 -114, 2000.

Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., and Suzuki, N., “Preparation and Antioxidant Properties Of Water Extract Of Propolis”, *Food Chemistry*, 80(1), 29-33, 2003.

Özalpan, A., “*Temel Radyobioloji*”, *Haliç Üniversitesi*, 2001.

Paiva-Martins F., Gordon M. H. and, Gameiro P., “Activity and Location Of Olive Oil Phenolic Antioxidants In Liposomes”, *Chem Phys Lipids*, 124: 23–36, 2003.

Park, Y. K., Koo, M. H., Ikegaki, M., and Contado, J. L., “Comparison Of The Flavonoid Aglycone Contents Of Apis Mellifera Propolis From Various Regions Of Brazil” *Arquivos De Biologia E Tecnologia*, 1997.

Pellegrini, N., Miglio, C., Del Rio, D., Salvatore, S., Serafini, M., and Brighenti, F., “Effect Of Domestic Cooking Methods On The Total Antioxidant Capacity Of Vegetables” *International Journal Of Food Sciences and Nutrition*, 60(Sup2), 12-22, 2009.

Polat, G., ve Koçan, D., “Propolis ve Antimikrobiyel Etkisi”, *Türkiye*, 9, 24-26, 2006.

Ramanauskienė, K., and Inkėnienė, A. M. “Propolis Oil Extract: Quality Analysis and Evaluation Of Its Antimicrobial Activity”, *Natural Product Research*, 25(15), 1463-1468, 2011.

Ramos, A. F. N. and Miranda, J. D., Propolis: “A Review Of Its Anti-Inflammatory and Healing Actions”. *Journal Of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 13(4), 697-710, 2007.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay”, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237, 1999.

Russo, A., Cardile, V., Sanchez, F., Troncoso, N., Vanella, A., and Garbarino, J. A., “Chilean Propolis: Antioxidant Activity and Antiproliferative Action In Human Tumor Cell Lines”, *Life Sciences*, 76(5), 545-558, 2004.

Saroğlu, Ö., “Bayburt ve Türkiyenin Çeşitli Bölgelerinden Elde Edilmiş Bal, Polen ve Propolis Gibi Arı Ürünlerinin Bazı Kalite Özelliklerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Istanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul 2018.

Seven, İ., Seven, P. T. and Yılmaz, S., “Responses Of Broilers Under Cold Conditioning (15°C) To Dietary Triiodothyronine and Iodine Combined To Antioxidants (Selenium and Vitamin C)”, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15(4), 499-504, 2009.

Seven, P. T., Yılmaz, S., Seven, I., Cercı, I. H., Azman, M. A., and Yılmaz, M., “Effects Of Propolis On Selected Blood Indicators and Antioxidant Enzyme Activities In Broilers Under Heat Stress”, *Acta Veterinaria Brno* 78(1), 75-83, 2009.

Sforcin, J. M., and Bankova, V., “Propolis: Is There A Potential For The Development Of New Drugs?”, *Journal Of Ethnopharmacology* 133(2), 253-260, 2011.

Shahidi, F. and Naczki, M., "Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications" **Technomic** USA, 1995.

Shakespeare, K. H., Propolis: "Composition, Health, Medicine" **Bee Product Sci**, 13, 1-29, 2012.

Shohaib T, Shafique M, Dhanya N. and Divakar M., "Importance Of Flavonoids In Therapeutics", **Hygeia: Journal For Drugs and Medicines**, 3:1-18, 2011.

Skevin, D., Rade, D., Štrucek, D., Mokrović, Ž., Neđeral, S., and Benčić, Đ., "The Influence Of Variety and Harvest Time On The Bitterness and Phenolic Compounds Of Olive Oil", **European Journal Of Lipid Science and Technology**, 105(9), 536-541, 2003.

Sorucu, A., "Marmara Bölgesindeki Propolislerde Biyolojik Etkisi Olan Fenolik Madde ve Miktarlarının Mevsim ve Rakım Farkına Bağlı Olarak Belirlenmesi" Doktora Tezi, **Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Bursa-2015.

Stahl W., Berg H. and Arthur J., "Bioavailability and Metabolism", **Mol Aspects Med**, 23: 39–100, 2002.

Szalay J., "What Are Free Radicals", <https://www.livescience.com/54901-free-radicals.html> 29.04.2017, 2016.

Szczesna, T., "Protein Content and Amino Acid Composition Of Bee-Collected Pollen From Selected Botanical Origins", **Journal Of Apicultural Science** 50(2), 81-90., 2006.

Spanos, G.A. and Wrolstad, R.E., "Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice" **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 38, 1565-1571, 1990.

Tatlı Seven, P., "The Effects Of Dietary Turkish Propolis and Vitamin C On 647 Performance, Digestibility, Egg Production and Egg Quality In Laying Hens Under

Different Environmental Temperatures”, *Asian Australasian Journal Of Animal Sciences*,21(8): 1164-1170, 2008.

Tatli Seven, P., Yılmaz, S., Seven, I. and Tuna Keleştemur, G., “Effects Of Propolis İn Animals Exposed Oxidative Stres”, In: Lushchak V1 (Ed): *Oxidative Stress-Environmental Induction and Dietary Antioxidants*, 267- 288, Tech Book (Isbn: 978-953-51-05534), Rijeka, Croatia, Doi: 10.5772/2536, 2012

Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., and Bruni, A., “Antimicrobial Activity Of Some Commercial Extracts Of Propolis Prepared With Different Solvents”, *Phytotherapy Research*,10(4), 335-336, 1996.

Tunalıoğlu, R., Tiryaki, G. Y., Tan, S. and Taşkaya, B., “Dünya Zeytinyağı Tüketimindeki Gelişmeler; Bu Gelişmeyi Destekleyen Çalışmalar ve Türkiye Zeytinyağı Tüketimindeki Değişimler”, *Türkiye I. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Sempozyumu, İzmir* 2003.

Tuncel, N. B., ve Yılmaz, N., “Kaz Dağları’ndan Toplanan Bazı Bitkilerin Fenolik Asit Kompozisyonlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İle Belirlenmesi”, *Akademik Gıda*,8(3), 18-23, 2010.

Uğuzlar, H., “Antalya’da Yetişen Areceae Arum Dioscorides Tohumlarının Antioksidan Aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde Tayini” Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 2009.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J., “Free Radicals and Antioxidants İn Normal Physiological Functions and Human Disease”, *The International Journal Of Biochemistry and Cell Biology*,39(1), 44-84ö, 2007.

Vennat, B., Arvouet-Grand, A., Gross, D., and Pourrat, A., “Qualitative and Quantitative Analysis Of Flavonoids and İdentification Of Phenolic Acids From A Propolis Extract”, *Journal De Pharmacie De Belgique*, 50(5), 438-444, 1995.

Vermerris, W., and Nicholson, R., “*Phenolic Compound Biochemistry*”, **Springer Science and Business Media**, 2007.

Yavuz, C., “Türkiye’nin Bazı İllerinden Toplanan Propolislerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Biyoaktif Bileşenlerinin Tayini” Yüksek Lisans Tezi, **Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ordu, 2011.

Yücel, B., Topal, E., Akçiçek, E. ve Kösoğlu, M., “Propolisin İnsan Sağlığına Etkileri”. **Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 24(2), 41-49, 2014.



ÖZ GEÇMİŞ

1993 yılında Afganistan'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Balkh-Mazar-Sharif'de tamamladı. 2011 yılında girdiği Balkh Üniversitesi Biyoloji Bölümünden 2014 yılında mezun oldu. 2017 yılında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Hayvansal Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.



