

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI



ULUSAL PAZARDAKİ PROPOLİSLERİN BAZI KALİTE
NİTELİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MEVCUT
MEVZUATLARA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

BETÜL ALTUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOÇ.DR. MÜGE HENDEK ERTOP

TEMMUZ - 2023

KASTAMONU

TEZ ONAYI

Betül ALTUN tarafından hazırlanan “**ULUSAL PAZARDAKİ PROPOLİSLERİN BAZI KALİTE NİTELİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MEVCUT MEVZUATLARA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **13.07.2023** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP Kastamonu Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. İbrahim Tuğkan ŞEKER Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Fatma Yağmur HAZAR SUNCAK Kastamonu Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü V.

Doç. Dr. Osman ÇİÇEK

.....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış 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, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Betül ALTUN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ULUSAL PAZARDAKİ PROPOLİSLERİN BAZI KALİTE NİTELİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MEVCUT MEVZUATLARA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

BETÜL ALTUN

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:DOÇ. DR. MÜGE HENDEK ERTOP

Propolis (arı tutkalı) bal arılarının çeşitli bitkilerin tomurcuk ve sürgünlerinde bulunan reçineye balmumu katarak oluşturdukları, kovanda çeşitli amaçlarla kullandıkları yapışkan, koyu renkli bir maddedir. Propolis çeşitli biyoaktivitelere sahip 300’den fazla kimyasal bileşik içermektedir. Propolis antibakteriyel, antifungal, antitumoral, antioksidatif, imunomodulator ve diğer faydalı aktiviteleri ile doğal ilaç olarak kullanılan önemli bir arı ürünü olup bu çalışmada ticari olarak satışa sunulan 7 su bazlı, 7 alkol bazlı olmak üzere 14 adet sıvı propolis örneğinin çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda propolis örnekleri kendi aralarında karşılaştırılmış, aynı zamanda literatüre göre değerlendirilmiştir. Ayrıca propolis ekstraktlarına dair elde edilen veriler mevcut mevzuatlarda belirtilen limit değerlere göre de değerlendirilmiş, ulusal pazarda tüketime sunulan nihai propolis ürünlerinin değerlendirmesi yapılmıştır. Elde edilen sonuçların henüz taslak çalışmaları yapılan arı ürünleri tebliğine ve ilgili mevzuatlara kaynak oluşturması ve bir gıda takviyesi olan propolise dair ulusal standardizasyona katkı sağlaması hedeflenmiştir.

Ulusal pazarda tüketime sunulan örneklerin propolis içeriklerinin %7,5-40 aralığında olduğu ve 4 örneğin Takviye Edici Gıda Belge numarasının beyan edilmediği belirlenmiştir. Etil alkolle çözünen propolislerin fenolik asit ve antioksidan kapasitesi su ile çözünenlere göre önemli düzeyde yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur. Benzer şekilde alkolle çözünen örnekler daha yüksek Brix değerleri vermiştir. Örneklerin tümünde ağır metal içerikleri mevzuata uygun sınırlar içerisinde bulunmuştur. Arsenik için mevzuatta limit olmamasına karşın 5 numunede 1000 ppbden yüksek düzeyde rastlanılmıştır. Ürünlerin Fenolik asit kompozisyonları değişkenlik göstermiş, bunda ekstraksiyon metodu, işlem parametreleri ve propolisin botanik orijini gibi unsurların etkili olduğu düşünülmüştür. Yapılan bu çalışma ile belli bir bölgeye ait propolisler için kalite kriterlerini belirleyici bir standart oluşturmanın mümkün olduğu sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Propolis, standardizasyon, fenolik bileşik, antioksidan.

Temmuz 2023, 96 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

INVESTIGATION OF CONTENT AND QUALITY QUALITIES OF PROPOLIS IN THE NATIONAL MARKET AND EVALUATION ACCORDING TO LEGAL LEGISLATION

BETÜL ALTUN

**KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MÜGE HENDEK ERTOP**

Propolis (bee glue) is a sticky, dark colored sticky substance that honey bees use for various purposes in the hive by adding wax to the resin found in the buds and shoots of various plants. Propolis contains more than three hundred chemicals with various bioactivities. Propolis is an important bee product used as a natural medicine with its antibacterial, antifungal, antitumoral, antioxidative, immunomodulatory and other beneficial activities and in this study, it was aimed to determine the various physical, chemical and biological properties of 14 liquid propolis samples, 7 of which are water-based and 7 are alcohol-based, which are commercially available. Also, in this study standardization of propolis extracts has been evaluated with current legislation, and data that will form a source for the legislation have been obtained according to the analysis results.

As a result of this study, the factors affecting the quality criteria of propolis were determined. The phenolic acid and antioxidant capacity of propolis dissolved with ethyl alcohol were found to be higher than those dissolved with water and significant ($p < 0,05$) according to the t-test. Similarly, samples dissolved with alcohol gave higher values in Brix determination. Heavy metal contents in all samples are within the limits in accordance with the legislation. Although there is no limit for arsenic in the legislation, a level higher than 1000 ppb was found in 5 samples. Although the phenolic acid composition varies, it is thought that factors such as the dissolution method of propolis, its duration and the geographical origin of propolis affect these values. With this study, it was concluded that it is possible to establish a standard that determines the quality criteria for propolis belonging to a certain region.

KEYWORDS: Propolis, standardization, phenolic compound, antioxidant.

July 2023, 96 Page

TEŞEKKÜR

Tezimin başından sonuna dek tüm aşamalarında desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübeleriyle bana yol gösteren sevgili hocam Sayın Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP'a (Kastamonu Üniversitesi) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (KÜBAP)'ne KÜ-HIZDES 2021-10 No'lu Proje ile sağladıkları destekten dolayı teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans tezim süresince annesini anlayışla karşılayan mutluluk kaynağım canım oğlum Mehmet Erdem ALTUN'a, aileme, yardımlarını esirgemeyen sevgili Melike AĞIRSAYGIN'a, destek ve anlayışlarıyla katkıda bulunan değerli iş arkadaşlarıma en içten sevgilerimi sunar, kalpten teşekkür ederim.

BETÜL ALTUN

Kastamonu, 2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR	4
2.1 Propolisin Tarihçesi	6
2.2 Propolisin Kullanım Alanları	7
2.3 Propolisin Coğrafi Kökeni ve Botanik Orijini	9
2.3.1 Kavak Türü Propolis	11
2.3.2 Kahverengi Propolis	12
2.3.3 Yeşil Propolis.....	12
2.3.4 Kırmızı Propolis.....	13
2.4 Propolisin Fiziksel Özellikleri	13
2.5 Propolisin Temel Bileşen Kompozisyonu	14
2.5.1 Fenolik Bileşikler (Polifenoller)	15
2.5.1.1 Flavonoidler	17
2.5.1.2 Fenolik asitler	17
2.5.2 Tanenler	17
2.5.3 Terpenoidler.....	18
2.5.4 Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE).....	18
2.6 Propolisin Biyoaktif Nitelikleri.....	20
2.6.1 Propolisin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	23
2.6.2 Propolisin Anti-İnflamatuar Aktivitesi	24
2.6.3 Propolisin Antiviral Aktivitesi.....	25
2.6.4 Propolisin İmmüno-Modüler Aktivitesi.....	26
2.6.5 Propolisin Antioksidan Aktivitesi.....	28
2.6.6 Propolisin Antikarsinojenik Aktivitesi	29
2.7 Propolis Çözünürlüğü ve Çözücü Seçimi	30
2.7.1 Propolis Ekstraksiyonunda Kullanılan Çözücüler	30
2.7.1.1 Su	31
2.7.1.2 Etanol	31
2.7.2 Propolis Ekstraksiyon Yöntemleri	32
2.8 Standardizasyon	34
2.8.1 Ulusal ve Uluslararası Propolis Standartları	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM	41
3.1 Materyal	41
3.2 Yöntem.....	42
3.2.1 pH ve Toplam Titrasyon Asitliği (TTA).....	42

3.2.2	Renk.....	43
3.2.3	Briks.....	43
3.2.4	Toplam Fenolik Madde Miktarı (Folin-Ciocalteu Yöntemi).....	43
3.2.5	Antioksidan Aktivite Tayini	44
3.2.6	Fenolik Madde Kompozisyonu.....	45
3.2.7	Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi	45
3.2.8	Mineral Madde Kompozisyonu	45
3.2.9	Duyusal Analiz	46
3.2.10	İstatistiksel Analiz.....	48
4.	BULGULAR	49
4.1	Sıvı Propolis Örneklerinin Bazı Etiket Beyanları ve İçerikleri	49
4.2	Propolis Örneklerinin Bazı Fiziksel Nitelikleri	50
4.3	Propolis Örneklerinin Antioksidan Aktiviteleri.....	54
4.4	Propolis Örneklerinin Toplam Fenolik Madde İçerikleri	57
4.5	Propolis Örneklerinin Mineral Madde İçerikleri	60
4.6	Propolis Örneklerinin Ağır Metal İçerikleri	63
4.7	Propolis Örneklerinin Fenolik Madde Kompozisyonları.....	67
4.8	Propolis Örneklerinin Duyusal Analiz Sonuçları	71
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	75
	KAYNAKLAR	78
	ÖZGEÇMİŞ.....	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Propolis	4
Şekil 2.2 Tuzak kullanılarak propolis toplanması (a) Kovanda biriken propolisler (b)	5
Şekil 2.3 Kavak propolisi reçinesi	11
Şekil 2.4 Brezilya yeşil ve kırmızı propolis örnekleri.....	13
Şekil 2.5 Propolisin kimyasal bileşimi	15
Şekil 2.6 Rutin, ferulik asit, apigenin, luteolin, kuersetin ve kafeik asitin moleküler yapıları	16
Şekil 2.7 Propolisin biyolojik aktiviteleri	23
Şekil 2.8 Propolisin immünomodülatör aktivitesi ve antiinflamatuvar özellikleri	27
Şekil 3.1 Tez çalışma planı	42
Şekil 3.2 Propolis pH ve TTA ölçümü	43
Şekil 3.3 Toplam fenolik madde miktarı için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafığı	44
Şekil 3.4 Antioksidan aktivite için kullanılan troloks kalibrasyon grafığı	45
Şekil 3.5 Su Bazlı Duyusal Analize Hazır Propolis Örnekleri.....	47
Şekil 3.6 Alkol Bazlı Duyusal Analize Hazır Propolis Örnekleri.....	47
Şekil 4.1 Sıvı propolis örneklerinin antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarları arasındaki korelasyonu gösteren grafik	59
Şekil 4.2 Tüm örneklerin kendi aralarında benzerlik grafığı	72
Şekil 4.3 Su bazlı örneklerin kendi arasında benzerlik grafığı	72
Şekil 4.4 Alkol bazlı örneklerin kendi arasında benzerlik grafığı	73

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 En çok bilinen propolis türleri: Bitki kaynağı, coğrafik kökeni ve temel bileşenler	10
Tablo 2.2 Propolisin yapısında bulunan flavonoid türleri.....	17
Tablo 2.3 Farklı propolis türlerinin biyolojik aktivitesinden sorumlu bileşikler	22
Tablo 2.4 Propolis ekstraksiyonu için en yaygın kullanılan çözücüler ve ortaya çıkan bileşenler.....	31
Tablo 3.1 Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	41
Tablo 3.2 Propolis duysal değerlendirme kriterleri ve puanlama skalası	47
Tablo 4.1 Sıvı propolis numunelerinin bazı etiket beyanları ve ambalaj özellikleri.....	49
Tablo 4.2 Sıvı propolis numunelerinin fiziksel analiz sonuçları.....	50
Tablo 4.3 Sıvı propolis numunelerinin antioksidan aktivite değerleri.....	54
Tablo 4.4 Sıvı propolis numunelerinin toplam fenolik madde içerikleri	57
Tablo 4.5 Sıvı propolis numunelerinin mineral madde içerikleri	60
Tablo 4.6 Sıvı propolis numunelerinin ağır metal analiz sonuçları	64
Tablo 4.7 Sıvı propolis numunelerinin flavanoid madde içerikleri	68
Tablo 4.8 Sıvı propolis numunelerinin fenolik asit içerikleri	70
Tablo 4.9 Sıvı propolis numunelerinin duysal analiz değerlendirmeleri	71

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Sıcaklık
g	: Gram
kg	: Kilogram
ml	: Milimetre
pH	: Power of Hydrogen
vd.	: Ve Diğerleri
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre

Kısaltmalar

ANOVA	: Analyses Of Varyans (Varyans Analizi)
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
CAPE	: Kafeik asit fenetil ester
TEAC	: Trolox Eguivalent AntioxidantCapacity
DPPH	: 1,1-diphenyl-2- picrylhydrazy l
AAE	: Askorbik ait eşiti
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
TGK	: Türk Gıda Kodeksi

1. GİRİŞ

Propolis, bal arılarının, bitkilerin yaprak, gövde ve tomurcuk gibi kısımlarından topladığı reçine içeren kısımlar ile bitki nektar ve polenlerini, balmumu ve enzimleri ile karıştırarak oluşturdukları işlenmemiş bir üründür (TGK, 2021). Türk Standartları Enstitüsünün 2003 yılında yayınladığı tebliğde “Arı Tutkalı” olarak ifade edilirken daha önceleri “Eğin mumu” olarak da adlandırılmıştır. Propolis, suda az çözünen viskoz, keskin kokulu, yapışkan bir karışım olup, bal arılarının yaşadıkları ortamı dışarıdan gelecek tehlikelere karşı korumak için propolisi kullanır.

Propolisin yıllık tüketimi tam olarak bilinmemektedir ama son zamanlarda artan ve ortalama 700-800 tona varan tüketim vardır. Propolisin kimyasal bileşimi karışıktır ve her örnek için birbirinden farklılık mevcuttur. Şimdiye dek ekstraktlar üzerine yapılan çalışmalarda doğal olarak bulunan farklı 300 civarında bileşen bulunmuştur. Propolis içinde bulunan farklı bileşenler fenolik asitler, flavanoidler, mineral elementler hidrokarbonlar, asetogenenlignanlar, prenillenmiş p- kumarik asit, fenolik bileşenler, di ve triterpenler, şekerler, asetogenenlignanlar ve şeker alkolleri olarak sınıflandırılabilir. (Talla vd., 2014)

Propolis 10°C altı sıcaklıklarda sert ve de kırılkan olup, -18 dereceye konduğu zaman hızlıca katılaşır. Toz formda kullanımı mevcuttur. Propolis, 15-25°C derecelerinde mum kıvamında esnek bir yapı halindedir; 30-40°C derecelerde ise yumuşayıp yapışkan hal alır ve bu durum sıcak dönemlerde arıların çalışmasını güçleştirmektedir. Propolis erime derecesi olarak 80°C’de büyük oranda erir. İl toplandığı zaman yapışkan ve kendine özgü bir kokusu olan propolisin rengi değişken olabilir; renk bitki türüne, alındığı kaynağa, yaşına bağlı olarak sarıdan koyu kahverengiye kadar farklı yelpazede olabilir. Propolisin rengi, kokusu ve biyolojik karakteri toplandığı bitkiye ve bölgeye, mevsime ve koloniye bağlı olarak değişmektedir.

Propolisin üretim miktarı da toplandığı bölgeye göre farklıdır. Her yıl ve her koloni için ortalama 10- 300 g arasında miktarda propolis üretilebilir. Bu değişikliğin sebebi

de arı ırkı, iklim şartları, orman florası çeşitliliği ve tuzaklama mekanizmasından kaynaklanır (Skalicka-Wo'zniak vd., 2017).

Propolisi değerli kılan yüksek antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antitumoral özellikleri içerisindeki uçucu yağ ve polifenollerden kaynaklanır. Propolis çok eski zamanlardan beri mumyalamada, vücudun mikroplara karşı direncini güçlendirmekte ve yaraların tedavisinde doğal bir ilaç olarak kullanılmaktadır (El-Sohaimy vd., 2014). Propolisin bileşiminde bulunan C vitamini güçlü bir antioksidandır. İçeriğindeki C vitaminin yardımıyla insan vücudunun dış kaynaklı etkilere ötürü serbest radikallerden zarar görmesini engeller ve birçok kronik hastalığın ortaya çıkmasını önler. Bağışıklık güçlendirici etkileri sayesinde birçok hastalığın yanı sıra kanser tedavisinde de deneme çalışmaları yapılmaktadır. (Trushevavd, 2011)

Bütün bu faydaları göz önüne alındığında insanlar için en çabuk ve etkin şekilde fayda görmesi için farklı şekillerde kullanıma sunulmuştur. Ticari olarak tüketime sunulan propolis ürünlerini sıvı, sprey veya gargara, tablet, kapsül, granül, pastil, krem ve sakız formlarında bulmak mümkündür. (Ahn vd., 2007; Aliyazıcıoğlu vd., 2013; Li vd., 2008).

Son yıllarda yaşanan Covid-19 pandemisi süresince bağışıklık sisteminin ve alternatif tıbbın ön plana çıkmasıyla arı ürünleri daha da rağbet görmeye başlamıştır. Özellikle arı ürünlerinde en bilinenlerden olan Propolis ile ham bal ve arı sütü gibi karışımlar piyasada tüketime sunulmuş ve insan beslenmesinde takviye gıda şeklinde yer almıştır (Popova vd., 2017). Günümüzde çeşitli e-ticaret sitelerinde, aktarlar ve eczanelerde alkol, zeytinyağı, gliserol, dimetilsülfoksit (DMSO), polietilen glikol ve mineral tuzlar gibi pek çok değişik çözücüler ile hazırlanan propolis ekstraktları bulmak mümkündür. Piyasada bulunan propolislerin bir kısmı Tarım ve Orman Bakanlığı izni ile takviye edici gıda (TEG) olarak satılmakla fakat pek çoğu çok daha ilkel tekniklerle üretilmekte ve içeriği tespit edilmeden, TEG belgesi alınmadan etiketi olmadan satılmaktadır. Çalışma kapsamında ulusal pazarda ticari olarak tüketicilerin istifadesine sunulmuş propolis ürünlerinin bazı fizikokimyasal ve biyoaktif nitelikleri incelenmiş ve elde edilen veriler doğrultusunda ürünler hem kendi içinde hem de

mevcut regölasyonlara göre karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçların hem sektöre, araştırmalara ve tüketicilere yol gösterici olurken hem de bilimsel olarak literatüre temel veri sağlaması hedeflenmiştir.



2. LİTERATÜR

Propolis, bal arılarının tükürük enzimlerinin etkisiyle çiçek ve tomurcukların salgılarından üretilen yapışkan, mumsu, reçineli bir maddedir.

Bal arısının (*Apis mellifera* L.) doğal ürünlerinden biri olan propolis, çok sayıda bitki kaynağından üretilen balmumu da içeren reçineli bir maddedir (Kuropatnicki vd., 2013). Arılar bu maddeyi çeşitli amaçlarla kullanırlar. Bunlar; kovandaki boşlukları kapatmak, kovanın iç duvarları düzeltmek, kovan duvarlarını yumuşatmak, zararlı tüm dış etkenlere karşı kovayı korumak ve kovan içi ısının düzenlenmesi olarak sıralanabilir. Ayrıca kovanın içinde girerek ölmüş olan hayvanların (fare gibi) bozularak kokuşmasını, sonrasında oluşabilecek fungal ve mikrobiyal enfeksiyonları engellemek için de propolis kullanılır (Bulut ve Lenger, 2015; Krell 1996; Kuropatnicki vd. 2013; Miguel, 2013; Mohdaly vd.,2015).

Propolisin rengi, olgunluğuna, Reçinelerin kökenine ve kaynaklarına bağlı olarak yeşilimsi sarıdan kahverengiye değişir, renk ürünün kimyasal bileşiminden ve yaşından etkilenir (Burdock, 1998). Ancak şeffaf propolis bile rapor edilmiştir.



Şekil 2.1 Propolis

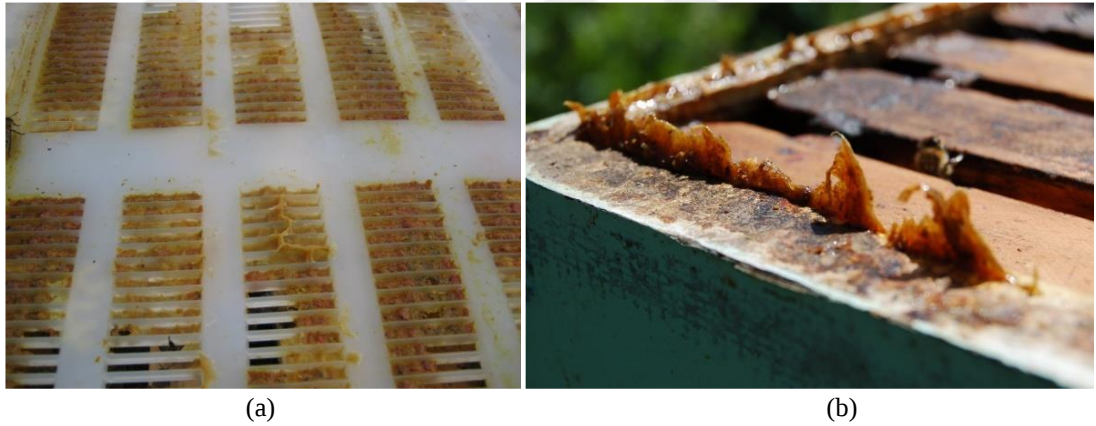
Arılar farklı yaşam ortamlarında propolisin kaynağı olarak çoğunlukla farklı bitki türlerini tercih ederler (Popova vd., 2010). Bunlar huş ağacı, çam, söğüt, meşe,

karaağaç, dişbudak gibi ağaçlar olup, bunlardan alınan tomurcuk salgıları propolisin yapısındaki maddeleri birebir etkiler (Bankova, 2005; Zhang vd., 2011).

Propolis, bal arıları tarafından bitkilerin, tomurcukların ve eksüdaların bölümlerinden toplanan maddelerden üretilen doğal reçineli bir karışımdır. Propolis kelimesi, pro'nun "girişte" ve polisin "topluluk" veya "şehir" anlamına geldiği Yunancadan türetilmiştir. Propolise arı tutkalı da denir.

Propolis üretimi her yıl ve her koloni içinde miktar olarak değişiklik gösterebilir (10-300 g). Bu farklılığın sebepleri; arı ırkı, iklim şartları, orman florası çeşitliliği ve tuzaklama mekanizmaları olarak sıralanabilir (Usman vd., 2016; Popova vd., 2017). Yıllık propolis tüketiminin miktarı kesin bilinmemekte fakat dünya genelinde yaklaşık 700-800 ton olduğu düşünülmektedir (Talla vd., 2014).

Şekil 2.2’de propolisin farklı şekillerde toplanışı gösterilmektedir.



Şekil 2.2 Tuzak kullanılarak propolis toplanması (a) Kovanda biriken propolisler (b)

Propolis, doğası gereği lipofilik, sert ve kırılgan bir malzemedir ve ısıtıldığında yumuşak, esnek, yapışkan ve çok yapışkan hale gelir (Hausen vd., 1987). Karakteristik ve hoş bir aromatik kokuya sahiptir ve rengi kaynağına ve yaşına bağlı olarak sarı yeşilden kırmızıya ve koyu kahverengiye kadar değişir (Marcucci, 1995).

2.1 Propolisin Tarihçesi

Bal ve propolisin insan sağığına faydalı etkisi bulunmaktadır. Eski zamanlardan bu yana propolis, insanlar tarafından, özellikle doktorar tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Mısırlılar, çürütücü özelliklerini iyi bildikleri için kadvralarını mumyalamak için arı tutkalı kullandılar. İnkalar, propolisi ateş düşürücü bir madde olarak kullanmıştır. Yunan ve Romalı hekimler onu ağız dezenfektanı ve yara tedavisinde antiseptik ve iyileştirici bir ürün olarak kullandılar, kutanöz ve mukozal yaraların topikal tedavisi için reçete edildi (Wagh, 2013). Propolis, 17. yüzyılın Londra farmakopelerinde resmi bir ilaç olarak listelenmiştir. Antibakteriyel aktivitesi nedeniyle, Avrupa'da propolis 17. ve 20. yüzyıllar arasında çok popüler oldu. İtalya'da keman verniğı olarak arı tutkalı kullanıldı (Monti vd., 1983).

Stradivari tarafından. 19. yüzyılın sonlarında propolis, iyileştirici özellikleri nedeniyle sıklıkla kullanılmış ve İkinci Dünya Savaşı'nda akciğer problemlerinin azalması ve iştahın iyileşmesi nedeniyle tüberküloz tedavisi için çeşitli Sovyet kliniklerinde kullanılmıştır. Balkan devletlerinde yara ve yanık tedavisi, boğaz ağrısı ve mide ülseri için propolis kullanılırdı. Propolis ile ilgili ilk bilimsel çalışma 1908'de yayınlandı ve kimyasal özete daha fazla endekslendi (Helfenberg, 1908).

Günümüzde propolis, topikal kullanım için birçok sağıklı gıda mağazasında farklı şekillerde bulunan doğal bir ilaçtır. Ayrıca kozmetikte veya çeşitli hastalıkların kendi kendine tedavisi için popüler alternatif tıpta kullanılır. Propolisin mevcut uygulamaları, soğuk sendromu (üst solunum yolu enfeksiyonları, soğuk algınlığı ve grip benzeri enfeksiyonlar) için formülasyonların yanı sıra yara iyileşmesinde, yanıkların, aknenin, herpessimpleks ve genital organların ve nörodermatitin tedavisinde yararlı dermatolojik preparatları içerir. Propolis ayrıca çürükleri önlemek ve diş eti iltihabı ve stomatit tedavisinde ağız gargaralarında ve diş macunlarında kullanılır. Kozmetikte ve sağıklı yiyecek ve içeceklerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapsüller, gargara solüsyonları, kremler, boğaz pastilleri, toz formunda ve ayrıca mumun çıkarıldığı birçok saflaştırılmış üründe ticari olarak mevcuttur.

2.2 Propolisin Kullanım Alanları

Günümüzde doğal ürünlere olan eğilim zamanla artış göstermektedir. Endüstride ise doğal ürünlerin kullanılmasıyla ortaya çıkan biyoaktif bileşiklerin, özellikle eczacılık, kozmetik ve gıda alanında değerlendirilmesi yönünde çalışmalar yapılmaktadır (Coşkun, 2020). Propolisin bileşimi komplekstir ve birçok alanda kendine yer bulmuştur. Propolis bileşimindeki maddeler ile antiinflamatuvar, antitümörel, antimikrobiyal, antiviral, antifungal, antioksidan, antimutajenik ve immunomodulator birçok etkisinin olduğunu çalışmalarla kanıtlanmıştır (Kujumgiev, 1999; Özkök, 2001; Silici ve Kaftaoğlu, 2003; Şahinler, 2000; Tomoi vd., 2000). Bunların dışında mobilya deri ve kozmetik sanayisi gibi birçok sektörde propolisin kullanımı mevcuttur (Dalio, 2018).

Tıbbi alanda yapılan çalışmalarla propolisin solunum sistemi enfeksiyonları (bronşit, KOAH, influenza), alerji, apse, diş ve diş eti rahatsızlıkları, deri hastalıkları yanık, deri ülseri, herpes, deri mantarları, kulak, burun ve boğaz enfeksiyonları, mide ülseri, reflü, sindirim sistemi, kadın hastalıkları ve üriner sistem hastalıkları gibi bir çok hastalık üzerinde iyileştirici etkisi olduğunu gösterilmiştir (Bankova, 2005; Jaganathan ve Mandal, 2010; Samarghandian vd., 2011; Sforcin, 2007; Şahinler, 1999; Yücel vd., 2014).

Propolis bünyesinde var olan antioksidan ve antibakteriyal meziyetleri sayesinde bozulmayı ve gıdaların bozulmasını önleyici özelliği ile gıda sektöründe depolama sürecine katkısı olan ürünlerden biridir. Bir çalışmada et ürünleri depolanmıştır. Bu süreçte ürünlere yağ ekleyip sonra kullanılmıştır. 8 hafta boyunca depoda bekleyen ürünlere %0,4'lük etanolik propolis ekstraktı, %0,02'lik PEE ve %28 potasyum sorbatekleterek bunların depo sürecini nasıl etkilediği gözlemlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde propolis kullanılan ürünlerin depolama süresinin arttığı gözlemlenmiştir. Bunun yanında %0,4 PEE kullanılan etlerde, melondialdehit (MDA) artışı ve tiyobarbütirik asit (TBA) artışı en düşük düzeyde bulunmuştur (Han ve Park, 2002). Başka bir çalışmada tavuk eti propolisle marine edilerek mikrobiyal gelişim düzeyi incelenmiştir. Sonuç olarak propolis muamelesinin mikrobiyal gelişimi

engellediği ve uçucu nitrojen ile TBA değerini azalttığı gözlemlenmiştir (Atik ve Gümüş, 2017; Topal vd., 2013).

Fito inhibitör etkisi sayesinde yumrulu bitki türlerinin depo sürecinde ve bu bitkilerin çimlenmesini engellemek için kullanımı mevcuttur.

Mobilyacılık sektöründe ürünlerin cilalanmasında kullanılır. Günümüzde kozmetik sektörünün yaygınlaşan ihtiyaçları doğrultusunda propolis; arı sütü, çevrede bulunan bitki ekstraktları ve E vitamini ile harmanlanarak kullanılmaktadır. Zengin içerik özelliği nedeniyle bu alanda kendine yer bulmaktadır. Cildi nemlendirmek ve kırılıkları önlemek için, bakterisit ve fungusit özellikleri sayesinde kozmetik alanında birçok farklı krem üretiminde de kullanılmaktadır (Krell ve Nations, 1996). Propolis içeren kozmetik ürünleri; sabun, losyon, antiseptik solüsyon, burun spreyleri, diş macunu, şampuan, cilt kremi ve yüz maskeleri şeklinde sıralanabilmektedir (Jung vd., 2020; Nori vd., 2011). Yapılan çalışmada diş macununa %1-10 civarında propolis çözeltisi eklenmesiyle normalde iki saat sonra ortaya çıkan mikrofloranın, altı saat sonra ortaya çıktığı görülmüştür (Albayrak ve Albayrak, 2008). Bu etkilerinden ötürü propolis diş macunu içinde de kendine yer bulmuştur (Erdem, 2002).

Ayrıca Osteoartrit, anjiyoloji, göz rahatsızlıkları ve ortopedik hastalıklarda kullanıldığı da belirlenmiştir (Coşkun, 2020).

Başka bir alan olarak evcil hayvanlarda çok yaşanan deri rahatsızlıklarında, endometritisin tedavisinde, ayak hastalıklarında olumlu sonuçlar vermiştir (Atik ve Gümüş, 2017; Duman, 2010).

Gıda alanında propolis kullanımı çikolata, sakız, şeker, konserve gıdalar ve diyet ürünlerinde de kullanımı yaygınlaşmıştır (Coşkun, 2020). Antioksidatif ve gıdalarda bozulmaya karşı etki gösterdiğinden dolayı tercih sebebi olmaktadır (Bankova vd., 2000; Ghisalbetti, 1979; Nedji ve Loucif Ayad, 2014). Gıda paketleme sistemleri için kullanılmakta olup çalışmaları devam etmektedir. Propolis virüsler, mantarlar, bakteriler ve mikroorganizmalar üzerindeki etkisi de araştırılmış ve gram pozitif bakterilerin genel olarak propolise karşı daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (Doğan ve Hayoğlu 2012; Przybyłek ve Karpiński, 2019). Market raflarında bulunan meyve

sularında sık karşılaşılan ve bozulmaya sebebiyet veren mayaları propolisin inhibe ettiği tespit edilmiştir. Meyve suyu üzerinde yapılan çalışmada propolisin koruyuculuğun, sodyum benzoat, potasyum sorbat gibi koruyuculara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir (Koc vd., 2007; Yang vd., 2017). Atik ve Gümüş (2017) yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonlarda propolis kullanmış sonuç olarak propolislerin funguslara karşı etkisinin olduğu doğrulanmıştır (Atik ve Gümüş, 2017; Temiz vd., 2013).

Propolis gıdalarda ayrıca çimlenmeyi önlemesinden dolayı yumrulu bitkilerin muhafazasında da kullanılmaktadır (Kumova, 2002).

Propolis antioksidan içeriği sayesinde lipid peroksidasyonunun önlenip, gıdaların raf ömrünün uzatılmasına sebep olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Fakat alkolde çözünen propolis bitter tat-aromada olduğundan, gıdalarda belirli alanlarda kullanımı kısıtlı kalmaktadır (Nori vd., 2011). Çözüm olarak ise propolis gibi doğal özütlerin üretimini gerçekleştirirken, öğütülüp toz halde kullanımı önem arz etmektedir (Marquele vd., 2006). Propolisin kullanım alanlarında yenilik sağlamak ve geliştirilmesi, ayrıca propolisin toz halde üretiminin sağlanması açısından enkapsülasyon yöntemi alternatif bir uygulama olabilmektedir (Nori vd., 2011).

2.3 Propolisin Coğrafi Kökeni ve Botanik Orijini

Son zamanlarda yapılan araştırmalar propolis çeşitliliğinin; iklim, bitki kaynağı, arının ırkı, farklı propolis üretim yöntemleri ve coğrafi orjin farklılığından kaynaklandığını göstermektedir (Dündar ve Yıldırım, 2018).

Propolis üretimi arı ırkına göre farklılık göstermektedir. Türkiye’de yapılan bir araştırmada aynı kovandaki *Apis mellifera caucasica* arı türünün yaptığı propolisin antibakteriyal aktivitesinin *Apis mellifera anatolica* türüne göre daha fazla olduğu bulunmuştur (Silici ve Kutluca, 2005). Farklı çalışmada *Apis mellifera anatolica* türünün *Apis mellifera carnica* türüne oranla daha çok propolis ürettiği gözlenmiştir (Şahinler ve Gül, 2005). Çoğunlukla Asya, Afrika, Avrupa bölgelerinde propolis üretiminde en yaygın arı türü *Apis mellifera*’dır. Kafkas arılarının İtalyan ve Uzak Doğulu arılara oranla daha fazla propolis ürettikleri bilinmektedir (Ghisalberti, 1979).

Arı ürünleri gruplandırılırken temin edildikleri bitki florasına bağlı olarak gruplara ayrılır ve biyolojik aktiviteleri floraya bağlı değişim gösterir. Polen analizi metoduyla tespiti yapılan polenler, ait oldukları florayı tanımlamada yardımcı olur. Bu metod arıların hangi bitkilerden nektar topladığını ve elde edilen arı ürününün hangi bölgeden alındığı hakkında bilgi vermektedir (Kelez, 2009).

Propolis farklı coğrafyalarda bitki kaynağına göre değişkenlik göstermekte olup en yaygın türler Tablo 2.1’de belirtilmiştir (Catchpole vd. 2015; Graikouvd. 2016; Sforcinve Bankova, 2011).

Tablo 2.1 En çok bilinen propolis türleri: Bitki kaynağı, coğrafik kökeni ve temel bileşenler

Propolis tipi	Bitki kaynağı	Coğrafik kökeni	Başlıca bileşenler
Poplar tipi (Kavak)	Populus spp.	Avrupa, Asya’nın tropik olmayan bölgeleri, Yeni Zelanda, Kuzey Amerika	Flavanoid aglikonlar (flavonlar ve flavononlar), fenolik asitler ve esterlerini içeren polifenoller
Birch tipi (Huş ağacı propolisi)	Betula verrucosa	Rusya	Flavonlar ve flavonoller
Kahverengi tip	Copaifera	Brezilya	Flavonoidler ve terpenler
Yeşil tip	Boccharis spp.	Brezilya	Prenillenmiş fenilpropanoidler, triterpenoidler, klorojenik ve benzoik asitler
Kırmızı tip	Dalbergiaspp.	Brezilya, Meksika, Küba	İzoflavonoidler, prenillenmiş benzofenonlar ve naftakinonepoksit
Clusia tipi	Clusia spp.	Küba, Venezuela	Poliprenillenmiş benzofenonlar
Pasifik tipi	Macaranga tanarius	Pasifik Bölgesi (Endonezya, Tayvan ve Okinawa vilayeti)	Prenillenmiş flavononlar
Akdeniz tipi	Cupressaceae ailesi	Yunanistan, Sicilya, Girit Adası, Malta	Diterpenler, antrakinonlar

Türkiye’de ilk kez 2000’li yıllarda propolisin kimyasal açıdan tanımlanması yapılmıştır. Bölgesel farklılıklara bağlı olarak bitki kaynaklarının ve kimyasal

içeriğinin değişebileceği belirtilmiştir. Türkiye’de coğrafi olarak bulunduğu bölgeye göre *Populus* türlerinin olduğu saptanmıştır (Silici, 2010).

2.3.1 Kavak Türü Propolis

Kavak türü propolis, hem kimyasal hem de farmakolojik açıdan üzerinde en çok çalışılan ve en iyi bilinen arı tutkalı türüdür. Ilıman bölgelerde, *Populus* türlerinin tomurcuklarından çıkan sıvılar, arılar için ana reçine kaynağıdır. Avrupa’da, Kuzey Amerika’da ve hatta Yeni Zelanda’da ve Avustralya’nın kıtasal kesiminde, *Populus*’un ana bitki kaynakları olduğu bildirilmiştir (Nagy, vd., 1986).



Şekil 2.3 Kavak propolisi reçinesi

Avrupa ve Kuzey Amerika’nın ılıman bölgelerinde, çam (*Pinus sp.*), kızılğaç (*Alnus glutinosa*), at kestanesi (*Aesculus hippocastanum*), karağaç (*Ulmus sp.*), dişbudak (*Fraxinus sp.*), meşe (*Quercus sp.*) ve kayın (*Fagus sp.*), Rusya’nın kuzey kesimlerinde kavak ve gümüş huş tomurcukları (*Betula verrucosa*), arılara propolis üretimi için reçine sağlar (Popravkovd, 1985). Kavaklar için en karakteristik flavonoidler arasında flavanonlar, özellikle pinocembrin ve pinostrobin bulunur. Bu bileşikler, birçok in vitro testte antioksidan ve anti-enflamatuar etkiler göstermiştir ve *Populus*’un farmakolojik aktivitesinde önemli bir rol oynayabilir (Rasul vd., 2013).

Yaygın olarak Kavaklar olarak bilinen *Populus* cinsi, farklı veri tabanlarına ve bitkileri sınıflandırmanın botanik yöntemine göre titrek kavak ve beyaz kavak; kavak ve kara

kavaklar; melisa kavakları; kolye kavakları veya büyük yapraklı kavaklar; subtropikal kavaklar ve Meksika kavakları olarak listelenir (Tree Names, 2018) Dünyanın her yerinde yetişirler ve birçoğu arı propolisinin öncüsüdür. Kavak tomurcuklarının kimyasal bileşimi üzerine farklı çalışmalar yapılmıştır ve tüm yazarlar fenol karboksilik asitlerin, bunların esterlerinin, flavonoidlerinin ve terpenoidlerinin bu türlerin ana bileşenleri olduğu konusunda hemfikirlerdir (Pobłocka-Olech, vd., 2018).

2.3.2 Kahverengi Propolis

Kahverengi propolis, yeşil ve kırmızı propolis kadar ana araştırma odağı olmamasına rağmen, Brezilya'da en çok üretilen ikinci propolis türüdür ve muazzam ekonomik ve tıbbi öneme sahiptir. Türkiye'de sıklıkla görülen kahverengi propolis oluşumunda kullanılan ağaçlar başlıca; kavak, söğüt ve kestanedir (Takmaklı, 2022).

2.3.3 Yeşil Propolis

Brezilya yeşil propolisi, ana kaynak olarak *Baccharisdracunculifolia* reçinesi içeren özel bir propolis türüdür. Brezilya Yeşil Propolis'in sağlık yararları, botanik kaynağı ne olursa olsun, diğer propolislerde yaygın olarak bulduklarımıza ek olarak, esas olarak bitkinin yararlarının altını çizer. *Baccharisdracunculifolia*, Brezilya'da bulunan tıbbi bir bitkidir. Esas olarak antiülser ve antiinflamatuvar özellikleri için kullanılır. Daha çok "tarlanın biberiyesi" adıyla bilinen bir yabani ot bitkisi olmakla birlikte 10 fit yüksekliğe kadar ulaşabilen ve eyalette mera alanlarında kendiliğinden yetişen (aynı zamanda istilacı bir bitki olarak kabul edilir) çok yıllık bir bitkidir. Yüksek miktarda Artepillin C ve diğer sinnamik asit varyasyonlarına sahiptir. Reçinesi, yeşil propolis üreten arılar tarafından toplanır ve işlenir. Yüksek klorofil miktarı propolise belirgin yeşil rengini verir ve anti-enflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan ve anti-tümör özellikleri içerir.

Fernandes Silvavd. (2014) yaptıkları bir çalışmada yeşil propolisin kimyasal bileşiminin analizini yapmış ve bir Brezilya yeşil propolis örneğinin uçucu fraksiyonunun fitotoksik aktivitesini değerlendirmiştir. Brezilya yeşil propolisinin uçucu fraksiyonunun kimyasal bileşimi diğer propolisten farklı olduğunu gözlemlemiş olup çalışmaya göre, “ana bileşenler fenilpropanoid 3-prenilsinamik asit allil ester

(%26,3) ve seskiterpenspatulenol (%23,4)'tür. Linalool ve α -terpineol'e (monoterpenler) ek olarak birkaç başka seskiterpen ve fenilpropanoid de tespit edilmiştir.



Şekil 2.4 Brezilya yeşil ve kırmızı propolis örnekleri

2.3.4 Kırmızı Propolis

Kırmızı propolisin iki botanik kaynağı vardır: İzoflavonoidler, pterokarpanlar ve kalkonlar açısından zengin *Dalbergiaecastaphyllum* ve benzofenon bakımından zengin *Symphoniaglobulifera* Lf., Clusiaceae (Ccana-Ccapatinta vd., 2020) Atlantik Ormanı'nın kalıntılarında, kıyıda korunan birkaç cepte bulunan bir tür Brezilya propolisidir. Brezilya'da en çok ticarileştirilen propolis türü 'yeşil propolis' olarak bilinir ama kırmızı propolis de önemli bir yer tutar. Kimyasal olarak pterokarpanlar, izoflavonoidler, kalkonlar, prenilatlanmış benzofenonlar ve fenilpropanoidler içermesiyle karakterize edilmiştir. Yapılan çalışmada bir Brezilya kırmızısı propolis örneğinin etanol özütü, tümör hücrelerine karşı sitotoksik aktivite ve *Staphylococcus aureus*'a karşı bakterisit aktivite sergilemiştir (Cabral vd., 2009).

2.4 Propolisin Fiziksel Özellikleri

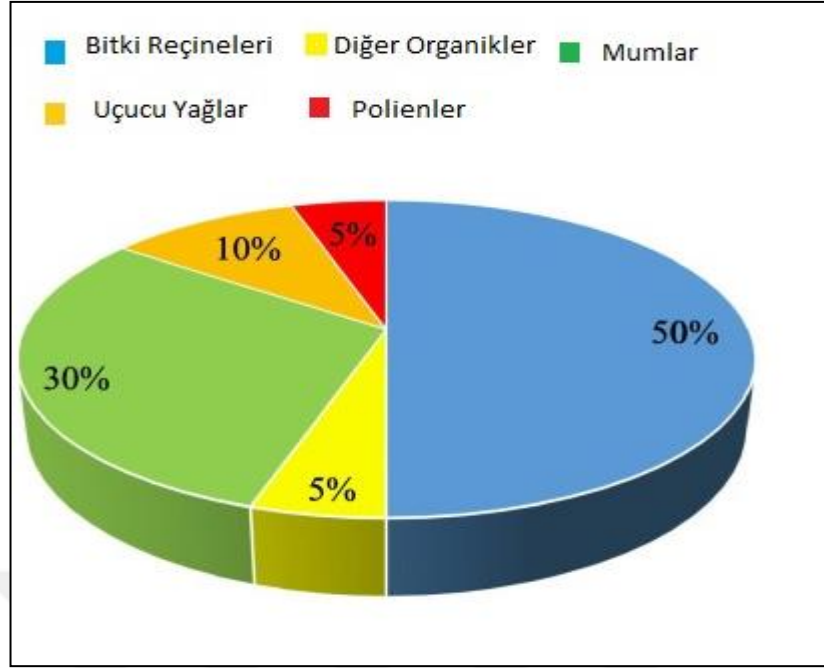
Propolis, 25°C ila 45°C derecelerde esnek, yumuşak ve yapışkan bir madde olup donmuş durumdayken sert ve kırılgan durumdadır. Bu tür bir işlemten sonra bile daha yüksek sıcaklıklarda kırılgan kalacaktır. Sıcaklık 45 °C'nin üzerine çıktığında ise giderek daha yapışkan ve yapışkan hale gelir. Propolis, 60°C ila 70°C arasında sıvı

hale gelecektir, ancak bazı örnekler göstermiştir ki erime noktası 100°C kadar yüksek olabilir (Elsnini, 2016).

Propolisin sert ve kendine özgü bir kokusu bulunmaktadır. Sebebi ise uçucu fenolik asit fraksiyonları, mekanik safsızlıklar ve sağlam yapışma özelliğinde olmasıdır (Banskota vd., 2001; Thomson, 1990). Propolis işlenirken ilk olarak mamul, mumsu yapıda ise balmumunun ayrılması amacıyla soğuk su ile yıkanması gerekir. Ardından geriye kalan propolisin hava yolu ile kurutulması sağlanmaktadır. Mumsu yapısı az ise ikinci basamağa geçilmektedir. İkinci basamak, bir çözücü yardımı ile propolislerin çözdürme işlemidir. İz miktardaki balmumu, talaş ve arı parçalarından arındırıldıktan sonra sonuncu basamak olan filtrasyon işlemine geçilmektedir. Son kalan yabancı maddelerden arındırılması filtrasyon işlemi ile gerçekleşmektedir (Burdock, 1998).

2.5 Propolisin Temel Bileşen Kompozisyonu

Propolis, arılardan salınan ve bitki kaynaklı bileşiklerden oluşan karmaşık bir karışımdır. Genel olarak, ham propolis yaklaşık %50 reçine, %30 mum, %10 uçucu yağlar, %5 polen ve %5 çeşitli organik bileşiklerden oluşur (Park vd., 2002). Şimdiye 300'den fazla bileşen tanımlanmıştır ve yeni propolis türleri ile hala yenileri tanınmaktadır. Propoliste bulunan çeşitli maddelerin oranları, toplandığı yere ve toplandığı zamanına bağlıdır. Propolisin temel bileşen kompozisyonu Şekil 2.5'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5 Propolisin kimyasal bileşimi

Propoliste bulunan birincil bileşenler flavonoidler, fenolikler ve aromatik malzemelerin karışımlarıdır. Ayrıca propolis bazı kararsız yağlar, terpenler ve bal mumu içerir. Toplamda, bu karışımlar propolisde şu şekilde dağılım gösterir; balmumu %30, uçucu yağ %10, polenler %5, diğer organik madde %5 ve bitki reçineleri %50'sini oluşturur, ayrıca 3 bileşik özelliklerine ve etkinliğine sinerjistik bir şekilde katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Propolisin kalitesi, nektarın kalınlığı, viskozitesi ve kristalleşme yeteneği gibi fiziksel özelliklerini etkileyen ve ayrıca tadı, çözünürlüğü ve korunabilirliği gibi kullanımı için çok önemli olan özellikleri etkileyen en önemli özelliklerinden biridir (Simone-Finstrom ve Spivak, 2010).

2.5.1 Fenolik Bileşikler (Polifenoller)

Polifenoller veya fenolik bileşikler bitkilerde bulunan en önemli ve bilinen bileşiklerden olup polifenoller bitkilerin ikincil metabolizma ürünleridir (Ergüzel, 2006; Kahkönen vd., 1999).

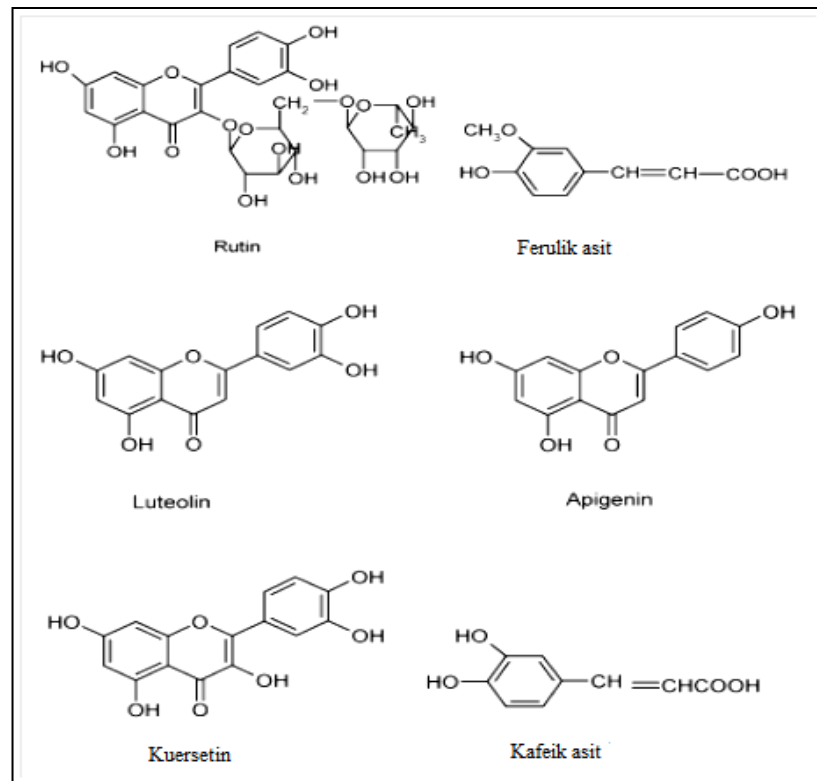
Fenolik bileşiklerin en önemli olanları sinamik asit, sinamil alkol, vanilin, benzoik asit, kafeik asit, benzil alkol ve ferulik asitlerdir ve genellikle bitkilerde bulunmakla

birlikte antioksidan aktivite başta olmak üzere birçok biyolojik etkileri olduğu bilinmektedir (Buratti, vd., 2007; Demirkıran, 2005).

Fenolik bileşikler iki grupta incelenir; fenolik asitler ve flavonoidler (Kahkönen vd., 1999). Flavonoidler ve fenolik asitler şimdiye dek belirlenmiş 5000'den fazla bileşiği ile polifenollerin en önemli sınıfıdır (Pyrzynska ve Biesaga, 2009).

Polifenoller duyuşsal özelliğın tanımlayıcısı olan renk, koku, tat öğelerine sahiptir. Bunun yanında oksidasyon reaksiyonlarına karşı önemli ölçüde koruyucu etki gösterirler ve çeşitli hastalıkların oluşmasının önlenmesinde etkileri büyüktür (Chaillou ve Nazareno, 2009; Chirinosvd., 2009; Hanvd.,2007; Rudnicki vd., 2007). Epidemiyolojik çalışmalar; insanların günlük diyetlerine ek olarak aldıkları (yeşil ve kırmızı gıdalarda sıkça bulunan) polifenollerin, özellikle damar hastalıkları ve kansere karşı koruyucu etkisini bildirmişlerdir (Ferguson, 2001).

Şekil 2.6'da bazı önemli polifenollerin moleküler yapıları gösterilmiştir (Cao, vd., 2004).



Şekil 2.6 Rutin, ferulik asit, apigenin, luteolin, kuersetin ve kafeik asitin moleküler yapıları

2.5.1.1 Flavonoidler

Flavonoidler, bitkiler aleminde ve özellikle gıdalarda çokça var olan polifenolik bileşiklerin bir grubudur (Ziaran vd., 2005). Bilinen ortalama 6500 farklı flavonoid vardır.

Tablo 2.2’de propolisin yapısında bulunan flavonoid türleri verilmiştir (Barlak,2009).

Tablo 2.2 Propolisin yapısında bulunan flavonoid türleri

Flavonoid Türü	Bileşik
Flavonoller	Kuersetin, kaempferol, galangin, fisetin
Flavononlar	Pinosembirin, naringin, hesperidin
Flavonlar	Apigenin, acacetin, krisin, luteolin

2.5.1.2 Fenolik asitler

Bitkilerin ikinci derece metabolitlerinden olan fenolik asitleri karboksilik asit içeren fenoller olarak tanımlanabilirler (Bravo, 1998; Robbins,2003).

Fenolik asitler temel olarak benzen halkası, hidroksil ve karboksil gruplarından oluşan bileşiklerdir (Kurek-Gorecka vd., 2014). Temelinde içerikleri aynı iskelet yapısında değilse de, aromatik halkada bulunanhidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonu yüzünden yapıları değişiklik gösterir (Robbins, 2003).

Fenolik asitler bitkilerin kök, gövde, yaprak ve tohumunda bulunabilir, özellikle sinamik ve benzoikasitinvanilik, kafeik, ferulik p-kumarik ve protokatesuik asit gibi türevler sebze, meyve ve tahıllarda bulunurlar (Özkök, 2009; Robbins, 2003).

Antioksidan aktivitesi yüksek doğada bulunan fenolik asitler birçok kronik hastalığı önleyici mekanizmaya sahiptir (Kim vd., 2006).

2.5.2 Tanenler

Fenolik bileşikler yaygın propolis bileşenleri olmasına rağmen, propolisteki tanenler hakkında sınırlı veri mevcuttur (Dutra vd., 2014). Tanenler, proteinlerle birleşerek

kararlı kompleksler oluşturan polifenollerdir. Tanenlere çok çeşitli biyolojik özellikler (antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antialerji ve antelmintik) atfedilmiştir (Hoste vd.,2012; Wei vd., 2012). Gıdalarda yaygın olarak bulunurlar ve fonksiyonel bileşenler olarak kabul edilirler (Dixon vd., 2005). Tanenler, gıda proteinlerini çökeltir, sindirim enzimlerini inhibe eder ve vitamin ve minerallerin alımını azaltabilir ve bu nedenle sindirimi azaltır ve beslenmeyi bozabilir. Tanenlerin iki sınıfı tanınır: anjiyospermelerde sınırlı dağılımla hidrolize edilebilir (gallik ve/veya ellagik) ve kapalı tohumluların ve diğer vasküler bitkilerin çoğu grubunda görülen proantosiyanidinler (yoğun tanenler).

Mayworm (2014) propolislerin tanen içerip içermediği üzerine yaptığı çalışmada tüm numuneler proantosiyanidinler için pozitif reaksiyon vermiştir. Yeşil ve kırmızı propolis örnekleri ile daha güçlü reaksiyonlar elde edilmiştir. En yüksek tanen içeriği (%4,1) kırmızı propolis ile elde edilmiştir. Ayrıca propolisteki tanen içeriği ile toplam fenoller arasında pozitif bir ilişki olduğunu, Güney ve kuzeydoğu Brezilya'dan gelen kahverengi türler de tanen içerir, ancak içerikleri daha düşük olduğunu bildirmiştir. Tanenlerin içeriği, propolis karakterizasyonu için bir parametre olarak ortaya çıkabileceği sonucuna varılmıştır (Mayworm, 2014).

2.5.3 Terpenoidler

Uçucular, propolis bileşenlerinin yalnızca %10'unu oluştursalar da, karakteristik reçineli kokudan sorumludurlar ve ilaç sektöründe değerlidirler. Uçucu maddeler arasında ana bileşikler olan terpenoidler, kaliteli katma değeri yüksek propolisin kalitesiz veya sahte propolisten ayırt edilmesinde etkin bir yere sahiptir. Terpenoidler de antioksidan, antimikrobiyal ve diğer biyolojik aktivitelere sahiptirler (Huang vd., 2014).

2.5.4 Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE)

CAPE, 1988 yılında Columbia Üniversitesi'nde sentezlendi (Grunberger vd., 1988) ve daha sonra propoliste güçlü bir anti-kanser bileşeni olduğu bulundu (Huang vd.,1996). CAPE, antibakteriyel, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar ve anti-kanser dahil olmak üzere çok sayıda önemli biyolojik aktiviteye sahiptir. CAPE, transkripsiyon

faktörü nükleer faktör kappa B'nin (NF- κ B) iyi bilinen ve iyi belgelenmiş bir inhibitörü ve aynı zamanda bir apoptoz indükleyicisidir. CAPE aracılı apoptoza, insan lösemik HL-60 hücrelerinde kaspaz-3 aktivasyonu, Bcl-2'nin aşağı regülasyonu ve Bax'ın yukarı regülasyonu eşlik eder. Düşük dozlarda CAPE ayrıca lipid peroksidasyonunu baskılar ve antioksidan aktivite gösterir (Wu vd., 2011).

CAPE, çeşitli kanser hücrelerini öldürür, ancak normal hücreler için zararsızdır. CAPE'nin kolon kanseri, akciğer kanseri, melanom, glioma, pankreas kanseri gibi çoklu kanser modellerinde in vitro ve in vivo inhibe edici etkilerini bildiren birkaç çalışma vardır. Mide kanseri, kolanjiokarsinom, hepatoselüler karsinom ve meme kanserindeki verilerimiz. CAPE'nin bir anjiyogenez, tümör metastazı ve invazyon inhibitörü olarak rolü, hem in vitro hem de kolon kanseri hücrelerinde in vivo çeşitli anjiyogenez modellerinde gösterilmiştir. Tümörjenezdeki diğer bir anahtar büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) veya reseptör tirozin kinazların ErbB ailesidir. Aslında ErbB2, HER2/ neu reseptörünü aşırı eksprese eden meme tümörlerinde önemli bir terapötik hedeftir, EGFR (ErbB1/HER1) ise TNBC'de işlevseldir (Wu vd., 2011).

Arı ürünlerinin antioksidan içerik ve kapasitelerini araştırıldığı çalışmada polen, arı sütü ve propolis arasında en yüksek antioksidan içeriğin propoliste olduğunu bulmuşlardır. Propolisin içerdiği çeşitli kafeik asitlerin antioksidan kapasiteyi doğrudan etkilediği düşünülmektedir (Nakajima vd.,2009).

Çoğunlukla, bal arılarının gerekli eksümaları topladığı kovan çevresinde gelişen bitki türlerinin çeşitliliği nedeniyle propolisin bileşimi son derece tutarsızdır (Aminimoghadamfarouj ve Nematollahi, 2017; Dreschervd., 2019).

Farklı orijinli propolisler farklı kimyasal bileşenler içerir. Bazı bileşenler ise farklı yerlerden alınan örneklerde ortak olarak mevcuttur (Ghisalberti, 1979). Propolisin kimyasal ve biyolojik bileşimi üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu noktaya kadar, çeşitli coğrafi bölgelerden toplanan propoliste 300'den fazla farklı bileşik tespit edilmiştir (Freires vd. 2016).

Propolisteki temel polifenoller olan flavonoidler, arının yaşadığı kaynaktan ve ekolojik botanik ortamdan etkilenir (Becerra vd., 2019; Toreti vd., 2013). Bal arılarının propolis yapmak için erişebildiği malzemeler, yapraklar ve yaprak tomurcukları üzerindeki lipofilik maddeler, ziftler, yapıştırıcılar, sakızlar ve ızgaralar gibi esas olarak bitkiler tarafından yaralanma veya kesilme durumunda boşaltılan maddelerdir (Ristivojević vd. 2015). Propolisin bitki bazlı bileşeninin sentezi, kompozisyonunu belirler ve coğrafi konumuna tabidir. Bu nedenle, propolisin özellikleri, arı barınaklarının bulunduğu yerdeki yerel bitki örtüsü ile sıkı bir şekilde özdeşleştirilir (Bankova ve Marcucci,2000).

Propolisin bileşimi rakım, aydınlatma, mevsimsel değişimler ve arı besleme alanlarından çok fazla etkilenir (Silva-Carvalho vd., 2015). Propolis örneğinin farklı coğrafi kökeni, farklı iklim koşullarına bağlı olarak biyolojik aktivitesine göre değişir (Kujumgiev vd., 1999). Biyolojik aktivitelerden sorumlu temel temel bileşikler polifenoller, aromatik asitler ve diterpenik asitlerdir, ancak çok az farklı propolis türü, ana biyoaktif bileşiklerinde farklıdır. Farklı kompozisyon, bölgenin spesifik florası ve ham madde muameleleri ile de ilgilidir.

2.6 Propolisin Biyoaktif Nitelikleri

Biyoaktif bileşenler tanımlanacak olursa, fizyolojik ve hücrel aktivite üzerine etkisi bulunan, sağlık üzerine olumlu katkılar sağlayan ikincil metabolitler denebilir. Biyoaktif bileşenler esasen birincil metabolitler olarak bilinen karbonhidrat, protein ve yağ gibi varoluşumuz, gelişimimiz için gerekli elzem kaynaklar değildir. Ancak yaşamda kalma ve zor şartlara dayanmak için destek veren önemli bileşenlerdir (Harborne, 1982).

Bitkisel kaynaklar biyoaktif bileşenlerce zengin gruptur. Fitokimyasal olarak da adlandırılan bitkisel kaynaklı biyoaktif bileşenler 3 ana gruba ayrılırlar; terpen ve terpenoidler, alkaloidler ve fenolik bileşenler (Neilson vd., 2012).

Farklı kökenlerden gelen propolisin farklı kimyası farklı propolis türlerinin biyolojik özelliklerinin farklı olacağı beklentisine yol açmaktadır. Ancak çoğu durumda bu doğru değildir. Aslında propolis, arıların mikroplara, enfeksiyonlara karşı

savunmasıdır ve tüm örneklerdeki antibakteriyel ile antifungal aktiviteler şaşırtıcı değildir.

Tüm dünyada, propolisin ana kaynağı reçineli kavak ağaçlarının tomurcuklarının reçinesi özellikle kara kavak *Populus nigra*'dır (Bankova vd., 2000). Avrupa propolisi şunları içerir: tipik 'kavak tomurcuğu' fenolikleri: fenolik asitler, flavonoid aglikonlar (flavonlar ve flavanonlar) ve bunların esterleri (Bankova vd., 2002). Kavak ağaçları yalnızca ılıman bölgede yaygındır; bu sebeple tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişemezler.

Bu habitatlarda, arılar kavaklarının yerini alacak başka bitki propolis kaynakları bulmak zorundadır. Sonuç olarak, propolis tropikal bölgelerde kavak tipinden farklı bir kimyasal bileşime sahiptir. Son on yılda, Brezilya propolisi hem ticari hem de bilimsel ilgi gördü. Ana Brezilya arı tutkalının kaynağının *Baccharis dracunculifolia* denen yaprak reçinesi olduğu ortaya çıktı (Kumawaza vd., 2003).

Ana bileşik arasında Brezilya propolisinde bulunan sınıflar p-kumarik asit ve asetofenonun prenilatlanmış türevleridir. Ayrıca ("kavak türü" propolistekilerden farklı) diterpenler, lignanlar ve flavonoidler de bulunmuştur (Marcucci ve Bakova, 1999).

Bununla birlikte *B. dracunculifolia*'dan farklı bitki kaynaklarından ve yukarıda bahsedilenlerden başka bileşikler içeren Brezilya'da birkaç tür propolis, son yıllarda yapılan çalışmalarda tescillenmiştir (Park vd., 2002, Sawaya vd., 2004).

Son zamanlarda Küba propolisinin kimyası da dikkatleri üzerine çekmiştir. Ana bileşenleri poliizoprenillenmiş benzofenonlardı. Bu içeriği ile Küba propolisi Avrupa ve Brezilya propolisinden farklı kılınmıştır. Bu propolisin bitki kaynağının *Clusia* çiçek reçinesi gül olduğu tespit edilmiştir. Hiç şüphe yok ki diğer ekosistemlerde propolis bitkisi kaynakları ve propolisin kimyasal bileşiminin bilim insanlarını şaşırtmaya devam edeceği düşünülmektedir.

Bankova vd. (2014), yaptıkları bir çalışmada kavakta favanonlar, flavonlar, fenolik asit ve bunların esterleri tip (Avrupa) propolis, prenil edilmiş p-kumarik asit ve

Baccharis tipi (Brezilya) propoliste diterpenler; prenile edilmiş Küba kırmızı propolisindeki benzofenonlar vb. gibi sorumlu bileşikler tespit etmiştir. Bu bileşikler Tablo 2.3’de gösterilmiştir.

Tablo 2.3 Farklı propolis türlerinin biyolojik aktivitesinden sorumlu bileşikler

Propolis tipi	Antibakteriyel aktivite	Antienflamatuvar aktivite	Antitümör aktivite	Hepatoprotektif aktivite	Antioksidan aktivite	Allergen aktivite
Avrupa tipi	Flavanonlar, flavonlar, fenolik asitler ve esterleri	Flavanonlar, flavonlar, fenolik asitler ve esterleri	Kafeik asit Fenil ester	Kafeik asit Ferulik asetik asit, kafeik asit fenil ester	Flavanonlar, fenolik asitler ve esterleri	3,3-dimetilalil kafein
Brezilya tipi	Prenile edilmiş p-kumarik asit, labdanditerpenleri	Tanımlanamadı	Prenile edilmiş p-kumarik asit, kileredonditerpens, Benzofuranlar	Prenile edilmiş p-kumarik asit, flavanonlar, lignanlar, kafeoil kinik asitler	Prenile edilmiş p-kumarik asit, flavanonlar	Test edilmedi
Küba tipi	Prenile edilmiş benzofenonlar	Test edilmedi	Prenile edilmiş benzofenonlar	Tanımlanamadı	Prenile edilmiş benzofenonlar	Test edilmedi
Tayvan tipi	Test edilmedi	Test edilmedi	Prenile edilmiş flavonlar	Test edilmedi	Prenile edilmiş flavonlar	Test edilmedi

Propolis bileşenlerinin ayrılması ve tanımlanması için birçok sayısal yöntem kullanılmıştır ve tanımlanan maddeler kimyasal olarak birbirine yakın gruplara aittir, bunlar ; benzoik asitler ve türevleri; polifenoller; sinamik alkol ve sinamik asit ve türevleri; benzaldehit türevleri; mineraller; steroller ve steroid hidrokarbonlar; terpen ve seskiterpen alkoller ve bunların türevleri; seskiterpen ve triterpen hidrokarbonlar; diğer asitler ve ilgili türevler; alkoller, ketonlar ve hetero aromatik bileşikler; alifatik hidrokarbonlar; şekerler ve amino asitlerdir (Walker ve Crane, 1987).

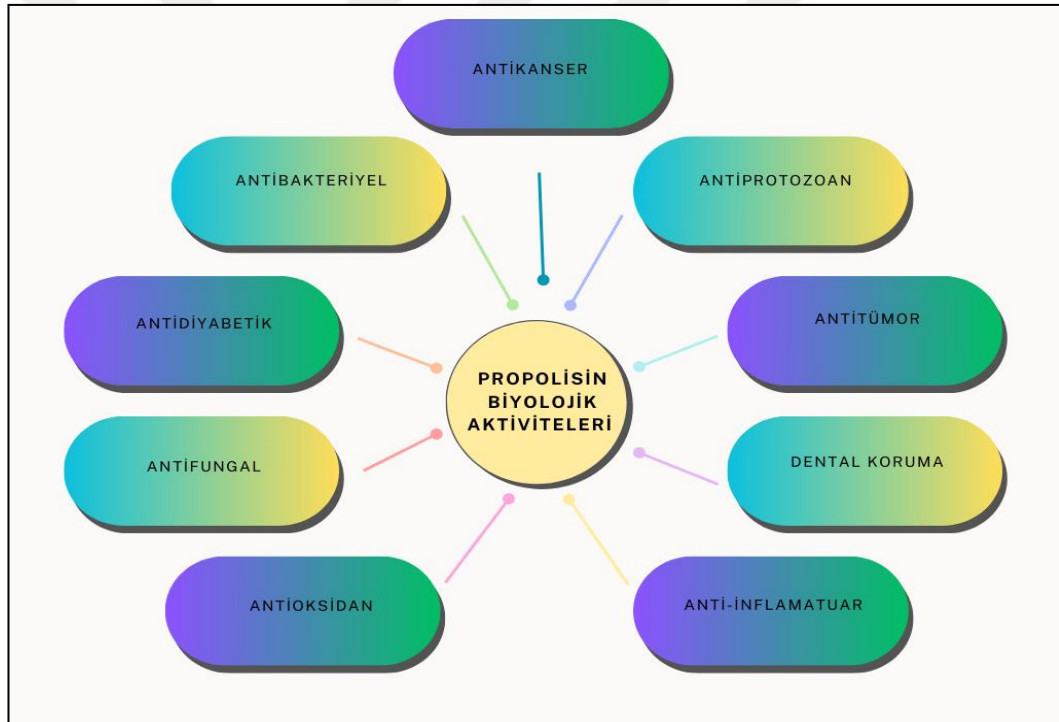
Popovavd. (2004), biyolojik aktivite ile propolis örneklerinin coğrafi kökeni arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki aramıştır. Varyans analizi (ANOVA), üç grup arı tutkalı (Avrupa, Brezilya ve Orta Amerikan) örneklerinin antibakteriyel etkisini karşılaştırmak için kullanılmıştır. Sonuçlarda Avrupa ve Brezilya propolisi, kimyasallarındaki ciddi farklılıklara rağmen benzer aktivitelere sahipti. Antibakteriyel aktiviteleri ise Orta Amerika propolisinden önemli ölçüde daha yüksek bulmuşlardır.

TSE tarafından Ocak 2003’te yayımlanan TS12910 Arıcılık- Arı Tutkalı (Propolis) standardına göre propolisin kimyasal içeriği için bir çizelge verilmiştir. Çizelgede Propolis için Fenolik Asitler ve Flavonoidler (Flavonlar, Flavonoller, Flavanonlar)

için “Bulunmalı” ibaresi yer almakta olup, Benzoik asit için 0,6-12,0 (m/m) değer aralığında olması gerektiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra Glikoz için 0,8-7,7 (m/m) ve Sakaroz için 0,1-3,4 (m/m) aralığına izin verilmiştir.

Propolis yara iyileşmesinde olumlu etkiler göstermiştir. Bunun yanında yara yatağındaki serbest radikallerin (ROS) aktivitesini onarım sürecini destekleyen şekilde azaltır. Propolis ayrıca dokulardaki kollajen miktarını artırarak kollajen metabolizması üzerinde olumlu katkılar sağlamıştır (Olczyk vd., 2014).

Propolisin biyolojik aktiviteleri görsel olarak verilmiş ve devamında kısaca açıklanmıştır (Pasupuleti vd., 2017).



Şekil 2.7 Propolisin biyolojik aktiviteleri

2.6.1 Propolisin Antimikrobiyal Aktivitesi

Propolis mikrop öldürücü etkisi gibi biyolojik ve terapötik aktivitelerinden dolayı halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Burdock, 1998) Propolis ekstraktları ve antimikrobiyal ajanların kombinasyonunun sinerjistik aktivitesi ilk olarak dama tahtası yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Günümüzde propolisin in vivo ve in vitro ortamlarda antimikrobiyal aktivitesini bakılmıştır. Güçlü antimikrobiyal etkileri

sayesinde arı çalışanları, propolisi kovanları yalıtmak, kovana giren ölü böcekleri ve hayvanları mumyalamak ve diğer dezenfeksiyon amaçları için kullanırlar. Aynı nedenden dolayı propolis, gıdaların, içeceklerin ve ilaçların koruyucusu olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Ali ve Kunugi, 2021; Noronha, vd., 2014).

Kanser ve bakteriyel enfeksiyonlar tıpta güncel sorunlardandır. Tümör ve bakteri hücreleri, yüksek replikasyon ve yayılma oranları ve ilaç direncinin hızlı gelişimi gibi benzer özellikler taşır. Antitümör ilaçlar genellikle direnç mekanizmalarının üstesinden gelmek ve normal hücrelere toksisiteyi azaltmak için bir strateji olarak kombinasyonlar halinde kullanılır. Ayrıca yeni geliştirilen antibakteriyel ajanların azlığı nedeniyle antibakteriyel ilaçların kombinasyonu önemli bir strateji haline gelmiştir. Son zamanlarda, propolisin antibiyotikler ve kemoterapötiklerle birleştirilmesinin etkisi antibakteriyel etkisini kullanmak adına galangin, rutin, naringenin, kuersetin ve pinokembrin gibi flavonoidler ve CAPE tercih edilenler arasındandır. Bakteriyel RNA polimerazı da galangin, pinokembrin ve CAPE ile kullanılarak inhibisyonu gerçekleştirilmiştir. Brezilya kırmızı propolisinde izoflavonların kendine has içeriğinde de antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. *C. albicans*, *C. tropicalis* *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* gibi mayalarla da antifungal ajan etkisini kullanarak çalışılmıştır. Antifungal aktivite Türk propolislerinde benzil alkol, fenil ve etil içeriğiyle bağlantılıdır. Brezilya propolislerinde ise α -pinen, β -pinen ve δ -kadinenler ile bağlantılıdır (Freires, vd., 2016; Noorivd, 2012; Sariguzel, vd., 2016; Stepanović, vd., 2003; Speciale, vd., 2006).

2.6.2 Propolisin Anti-İnflamatuar Aktivitesi

Propolisin geleneksel tıbbi özelliklerinden biri, bir anti-inflamatuar etkisidir. Propolis bazı deri enflamatuar hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çeşitli in vitro ve in vivo hayvan çalışmaları, beyin-karaciğer-bağırsak ekseninde polifenollerin antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerini göstermiştir (Park vd., 1996) ve polifenollerin inflamasyonun şiddetini azaltmak için inflamatuvar kaskadın farklı aşamalarını hedef aldığı gösterilmiştir (Armutcu vd., 2015).

Propoliste bulunan polifenoller, örneğin AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK), CCAAT/arttırıcı bağlayıcı protein a (C/EBPa), peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör γ (PPAR γ) ile etkileşim yoluyla çeşitli sinyal yollarını da düzenleyebilmektedir. Peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-gama koaktivatörü 1-alfa (PGC-1 α), sirtuin 1 ve sterol düzenleyici element bağlayıcı protein-1c (SREBP1c) esas olarak adipogenez ile birlikte ayrıştırıcı proteinler 1 ve 2 (UCP1 ve UCP2) hücrel enerji metabolizmasını içerir. NF- κ B antioksidan ve anti-inflamatuar yanıtları düzenlemektedir (De Almeida ve Menezes, 2002).

Borrelli vd.(2002), yılında yaptığı çalışmada propolisin anti-inflamatuar aktivitesinin, flavonoidlerin, özellikle galanginin varlığından kaynaklanıyor olabileceği öngörmüştür. Aslında, bu flavonoidin siklooksijenaz (COX) ve lipooksijenaz aktivitesini inhibe ettiği, PGE2 salınımını ve indüklenebilir COX (COX-2) izoformunun ekspresyonunu azalttığı göstermişlerdir. Birkaç çalışma ise propolisin anti-inflamatuar etkisinin CAPE ve galanginin birleşik etkisine bağlı olabileceğine ve CAPE'ningalanginin etkisini güçlendirebileceğine işaret etmiştir (Borelli vd., 2002; Higashive De Castro 1994).

Banskota vd. (2001), tarafından yürütülen çalışmada Küba kırmızı propolisinin antipsoriatik ile birlikte antiinflamatuar aktivitesi ve analjezik etkileri değerlendirildi. 50 mg/kg'daki etanol özü, sıçanlarda pamuk pelet granülom tahlilinde önemli antiinflamatuar aktivite gösterdi. propolis özü sıçanlarda carrageenin tarafından indüklenen arka pençe ödeminin gelişimini önemli ölçüde inhibe etti. 100mg/kg oral doz farelerde kroton yağı kaynaklı kulak ödeminin azalttı.

2.6.3 Propolisin Antiviral Aktivitesi

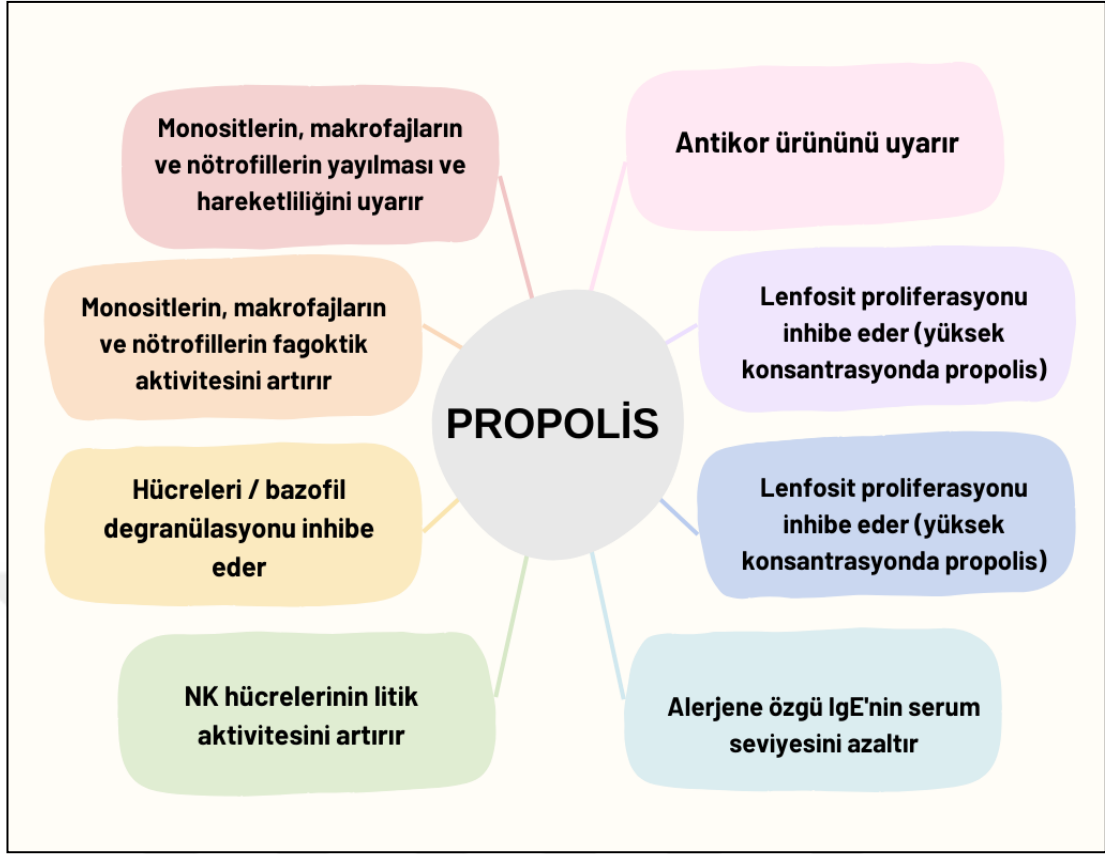
Dünya çapında, antiviral aktiviteye sahip birçok araştırma türü (insan immün yetmezliği virüsü (HIV), adenovirüs, HSV-1, HSV-2, sığır rota virüsü, influenza virüsü tip A ve B, yalancı kuduz virüsü, Newcastle virüsü hastalığı, köpek adenovirüs tip 2, kedi calicivirus, sığır viral ishali virüs, parainfluenza virüsü, bulaşıcı bursal hastalık virüsü ve kuş reovirüsü) halihazırda yürütülmüştür (Kurek-Górecka vd., 2020; Silva-Beltrán vd., 2020).

Propolis ekstraktlarının antiviral aktivitesine sahip birkaç bilimsel makale doğrulanmıştır. Örneğin, González (Wu ve Brown, 2021), propolis, normalde propoliste bulunan üç flavonoidin (quercetin, naringenin ve pinosembrin) ayrı ayrı karışımları ile Meksika propolisinin antiviral etkisini incelemiş ve farklı tedaviler değerlendirilmiştir. En iyi antiviral aktivitenin bireysel bileşiklerden ziyade propolis veya flavonoidlerin karışımından oluşan bileşiklerde olduğunu tespit ettiler. Diğer taraftan Brezilya propolisinin antiviral gösterdiği MS2 ve Av-08 bakteriyofajlarında azalma sırasıyla ~3 ve ~4,5 Log 10 PFU/mL olarak doğrulanmıştır (Lobo-Galo, vd., 2021; Silveira vd., 2021).

Ayrıca, yakın zamanda gerçekleşen COVID-19 salgınında, Brezilya propolisinin özellikle standartlaştırılmış bir yeşil propolis özü (EPP-AF®), 400–800 mg/gün dozları kullanılarak klinik tedavide değerlendirilmiştir ve hastaların hastanede kalış süresinde azalma gözlenmiştir (Rebouças-Silva, vd., 2017).

2.6.4 Propolisin İmmüno-Modüler Aktivitesi

Propolisin immünomodülatör aktivitesi ve anti inflamatuvar özellikleri Şekil 2.8’de verilmiştir (Wolska vd., 2019). Propolisin immünomodülatör özelliklerine, içerdiği flavonoidler ve fenolik asitler katkıda bulunur (Sforcin 2007, Sforcin ve Bankova 2011, Szliszka ve Krol 2013, Yuan vd., 2012). Yuan vd., bu fenolik bileşiklerin doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık hücrelerini aktive eden önemli bileşenler olabileceğini bildirmiştir (Yuan vd., 2012). Propolisin bağışıklık hücreleri üzerindeki kesin etki mekanizması bilinmemekle birlikte, flavonoidlerin makrofajları ve lenfositleri sırasıyla B ve T lenfositleri üzerinde mitojenik etkiye sahip olan IL-1 ve IL-2 üretmeleri için uyarması mümkündür (Havsteen, 2002). Örneğin yeşil propolis örneklerinde büyük miktarlarda bulunan artepilin C, Th1 lenfosit yanıtını uyaran ve Th2 yanıtını inhibe eden IL-12 üretimini uyararak makrofajlar üzerinde etki gösterir. Propolis numunelerinde bulunan sinnamik asit gibi diğer fenolik bileşikler de aktive makrofajlar tarafından IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin üretimini ve salınımını indükler, B lenfositleri tarafından antikor üretimini uyarır ve kemotaktik olarak etki eder (Havsteen, 2002). Şekil 2.8’de propolisin immünomodülatör aktivitesi ve antiinflamatuvar özellikleri detaylandırılmıştır (Wolska vd., 2019).



Şekil 2.8 Propolisin immünomodülatör aktivitesi ve antiinflamatuvar özellikleri

Yapılan çalışmalarda propolisin bu etkileri, birçok immün bozukluk için tamamlayıcı ve/veya alternatif tedavi için çok önemli bulunmuştur (Orsolice ve Basic, 2003).

Bir in vitro çalışmada propolis, farelerde in vivo olarak CD4+/CD8+ T-hücrelerinin oranını arttırarak makrofajlar üzerinde immünomodülatör etkiler göstermiştir (Koo vd., 1999). Bu, propolisin neden alt ve üst solunum yolu hastalıkları, kutanöz ülserler, faringotrasit, periodontis ve sinüzitteki akut ve kronik inflamasyonlarda kullanıldığını açıklayabilir (Maksimova-Todorova vd., 1985).

Hümmoral bağışıklık tepkisi ile ilgili olarak, propolisin etanolik ekstraktının antikor üretimini arttırdığı bulunmuştur. Scheller, vd. (1985) etanolik ekstraktı bağışıklık kazandırılmış farelerde (koyun kırmızı kan hücresi ile) kısa süreli olarak uyguladı ve daha yüksek antikor seviyeleri gösterdi. Bu uyarıcı aktiviteyi, sitokin üretimine yol açan makrofaj aktivasyonu ve dolayısıyla B ve T hücrelerinin fonksiyonlarının düzenlenmesi ile ilişkilendirmişlerdir.

Propolisin, antikor sentezini modüle etme yeteneği sayesinde, doğuştan gelen bağışıklık yanıtının farklı hücreleri üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Orsi vd., 2005). Ayrıca, dişi farelere 14 gün boyunca kafeik asit fenetil ester uygulamasının antikor üretimini arttırdığı ve splenositler tarafından artan T-lenfosit proliferasyonu ve IL-4 ve IL-2 salgılanmasına atfedilir (Park vd., 2004). Ayrıca, kafeik asit fenetil ester uygulaması sıçanlarda siklosporin A'nın neden olduğu kardiyotoksositeye karşı koruma sağlayabilir (Rezzani vd.,2005). Böylece, propolis yaşlı farelerde adaptif ve doğuştan gelen bağışıklık üzerinde olumlu bir etki göstermiştir (Gao vd., 2014).

Sporcularda hipertermal strese karşı propolisin faydalı rol oynadığı tespit edilmiştir. Doza bağımlı bir şekilde nekrozu, hiperterminin neden olduğu hayatta kalma inhibisyonunu, glutatyon tükenmesini, süperoksit üretimini ve hücre içi süperoksit patlamasını azaltabilir veya tersine çevirebilir; bu da kafeik asit fenetil esterinin, rekabetçi bisikletçilerin immün mononükleer hücrelerinde hipertermal toleransı artırabileceğini düşündürür (Chen vd., 2009).

Son zamanlarda yayınlanan umut verici sonuçlar, propolis türevinin doğal öldürücü sitotoksik aktivite ile kanser gelişiminin tedavisi veya önlenmesi için kullanılma olasılığını göstermektedir (Takeda vd.,2018).

2.6.5 Propolisin Antioksidan Aktivitesi

Bitkilerde en fazla bulunan polifenolik bileşiklerin (fenolik asitler, flavonoidler, tanenler) başlıca antioksidan etki olmak üzere birçok biyolojik aktiviteyi içerdiği çalışmalarla kanıtlanmıştır (Balasundram vd., 2006; Wojdylo vd., 2007).

Arı ürünleri son zamanlarda ilgi görmekte ve bu yönde çok miktarda çalışma yürütülmektedir. Bu doğal en kıymetli biyolojik etkinliklerinden sorumlu ajanlar ürünlerin çok küçük kısmında (%1-2) var olmaktadır (Ahn vd., 2007; Gómez-Caravaca vd., 2006; Silva vd., 2006; Socha vd., 2009).

Propoliste bulunan ve antioksidan etkiye sahip maddeler; Kafeik asit fenetil ester (CAPE), kafeik asit, ferulik asit, pinosembrin, kuersetin, luteolin ve ellajik asit gibi

fenolik bileşiklerdir (Rice-Evans vd.,1997; Russo vd., 2002). Propolis içeriğinde bulundurduğu fenolik bileşikler açısından tanınan en iyi doğal antioksidanlardan biridir (Cabral vd., 2009; De Castro, 2001). Ayrıca yapılan çalışmalar propolisin antioksidan etkisinin coğrafik koşullara, içerisindeki fenolik bileşiklerin çeşitliliğine ve miktarına bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (Cabral vd., 2009; Choi, vd., 2013, Kumazawa vd., 2004).

Kroyer ve Hegedus (2001) çalışmalarında Brezilya'nın 49 farklı bölgesinden propolis örnekleri alıp etanolle ekstrakte etmişlerdir. Bu ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesine bakılmış toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan kapasite arasında doğrusal pozitif bir korelasyon olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca propolisin *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir. Propolis üzerine yaptıkları bir diğer çalışmada propolisin alkol bazlı ekstraktlarının gıdalarda raf ömrü arttırmada ve gıda içeriklerini korumada yardımcı olduğunu söylemişlerdir.

2.6.6 Propolisin Antikarsinojenik Aktivitesi

Son yıllarda propolis ile ilgili yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalar antikanser tedavide etkinliği olan doğal bir ürün olduğunu bildirmektedir (Barlak vd., 2011; Chanvd, 2013; Markiewicz-Zukowska vd., 2013; Sawicka vd., 2012). Propolis, hücre çoğalmasını veya apoptozu (programlanmış hücre ölümü) uyaran destekleyiciler olduğu bilinen biyolojik olarak aktif kafeik asit fenetil ester (CAPE), kafeik asit, artepillin C, kuersetin, naringenin, pinosembrin, kaempferol, galangin ve genistein gibi bileşikler içermektedir (Calderon-Montano vd., 2011; Kurek-Górecka vd., 2014; Su vd., 1994).

Propoliste bulunan artepillin C'nin, özellikle fagositik aktivitelerini artırıp makrofajları aktive ederek immünoestimülasyon yoluyla kanser hücrelerine göre sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Kimoto vd., 2011). Propolis ve içerdiği bileşiklerin antitümoral etkisinin ortaya konması, yan etki göstermemesi propolisin potansiyel ilaç olarak kullanılabileceğini ortaya çıkarmıştır (Watanabe vd., 2011). Ayrıca deneysel modeller üzerinde yapılan testlerde, propolisin içerdiği flavonoidlerin

akciğer, ağız, yemek borusu, mide, kolorektal, prostat ve meme kanserlerinin gelişimini engellediği bildirilmiştir (Kurek-Górecka vd., 2014).

2.7 Propolis Çözünürlüğü ve Çözücü Seçimi

Propolisin karmaşık yapısı göz önüne alındığında doğrudan kullanılamaz. Propolis, ticari olarak uygun çözücü ile ekstrakte edilerek tüketime sunulabilir. Ekstraksiyon için kullanılan en yaygın çözücüler su, metanol, etanol, kloroform, diklorometan, eter ve asetondur (Kumar vd., 2008). Bunun yanında çözücü bileşenler arasında yapılan farklı orandaki kombinasyonlarla (metanol-metilen klorür, metanol-su) çözücülerin ekstraksiyon etkinliği ve hızı arttırılabilmektedir (Segueni, 2017).

Propolis ekstraksiyonunda çözücü seçimi önem arzeder ve karar hangi ürüne işleneceğine göre verilmelidir. Ortaya çıkan nihai ürün sağlık ve gıda sektöründe bulunuyorsa insan sağlığı için risk içermeyen gliserol ve su gibi çözücülerden faydalanılması daha anlamlıdır. Propolis ekstraksiyonunda farklı çözücüler kullanılırken, ekstraksiyon metodları farklı olduğu için ve de bu esnada farklı miktarlarda bileşen çözüleceğinden ötürü propolisin ekstraktlarının nitelikleri birbirinden değişik olabilir. Bu farklar neticesinde propolisin biyolojik içeriğinde de değişikliklere yol açacaktır (Bakkaloğlu, 2020).

2.7.1 Propolis Ekstraksiyonunda Kullanılan Çözücüler

Propolisin bileşimi birinci bitkinin toplandığı yere, sonra da ekstraksiyon için kullanılan yöntemle bağlı olarak değişmektedir (Marcucci, 1995). Bu sebeple çözücü seçimi önem taşımaktadır (Cowan, 1999).

Propolisin kullanılan formları arasında sulu ekstrakt, sıvı etanol ekstrakt ya da yarı katı ekstrakt gibi kullanımları vardır. Propolisin değişik kimyasal bileşimlere sahip olması biyolojik aktivitelerinin benzer olmasını etkilemez. Propolisin ekstraksiyonunda, parafin, balmumu, hayvansal yağ ve katı maddeler ile homojenitesi yüksek olması gibi pozitif özelliği sebebiyle zeytinyağı propolis için alternatif olarak gösterilmiştir. Zeytinyağı propolis bileşimindeki biyoaktif bileşenleri çözme kabiliyetindedir (Ramanauskiene ve Inkeniene, 2011).

Propolis bileşimi coğrafi bölgeye bağlıdır ve ikincisi ekstraksiyon yöntemi, çözücü dikkatle seçilmelidir (Cowan, 1999). Biyoaktif bileşiklerin ve ekstrakte edilen diğer kimyasal bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan ana solventler ve elde edilen bileşikler Tablo 2.4’de belirtilmiştir (Fokt vd., 2010).

Tablo 2.4 Propolis ekstraksiyonu için en yaygın kullanılan çözücüler ve ortaya çıkan bileşenler

Su	Metanol	Etanol	Kloroform	Diklorometan	Eter	Aseton
Antosiyaninler, nişastalar, tanenler, saponinler, terpenoidler, polipeptitler ve lektinler	Antosiyaninler, terpenoidler, r, saponinler, tanenler, ksantoksilin, totarol, kuasinoidler, laktonlar, flavonlar, fenonlar, polifenoller, polipeptitler ve lektinler	Tanenler, polifenol, poliasetilenler, terpenoidler, steroller ve alkaloidler,	Terpenoidler, flavonoidler	Terpenoidler, tanenler, polifenoller, poliasetilenler, steroller ve alkaloidler	Alkaloidler, terpenoidler, kumarinler ve yağ asitleri	Flavonoller

2.7.1.1 Su

Propolisin suda çözünürlüğü nispeten düşüktür (Hu vd., 2005). Propolisin su ekstraktları daha basit bir bileşen profili sergiler (Midorikawa vd.,2001).

Su ve etanolün çözücü niteliği üzerine birçok çalışma yapılmıştır. 2016 yılında Usman vd. Malezya’da toplanan propolis örneklerinin su ve etanol ile çözündürülmesini antioksidan aktivite üzerine etkilerini incelemiş %70 etanol kullanılarak ekstrakte edilen Malezya propolisinin en yüksek ekstraksiyon verimini ürettiğini, antioksidan ve bunun yanı sıra toplam fenolik ve flavanoid içeriğinin de su ile çözdürelene göre çok daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Usman vd., 2016).

Laskar vd., (2010) yaptığı bir çalışma ise diğer çalışmalarla çelişki oluşturmaktadır. Hint propolisinin sulu ve etanol özlerinin (sırasıyla AEP ve EEP) antioksidan aktivitesini inceledikleri çalışmada AEP, EEP'ye göre önemli ölçüde daha yüksek aktivite göstermiştir. Bunun nedeninin polifenol içeriği olabileceğini ve sulu ekstraktların, diğer organik çözücü ekstraktlara ikame olabileceğini bildirmişlerdir.

2.7.1.2 Etanol

Etanolün en çok tercih edilen çözücü olma sebebi propolisin ekstrakte edilmesinde daha büyük dipol momente sahip olmasıdır. Etanol propolis ekstraktı için en çok

kullanılan çözücü olmasına rağmen sulu ekstraktı ile ilgili de çalışmalar vardır (Nagai vd., 2003). Etanolün çözücü olarak bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar keskin tat, ters reaksiyonlar ve bazı insanların alkolü tolere edememesi olabilir (Mello ve Hubinger, 2012). Metanolün de çözümü olarak kullanımı mevcuttur, metanollü ekstraktlar etanole göre daha fazla flavanonlar ve flavonollerin yüksek konsantrasyonunu içerir. Ancak metanol çok zehirli olmasını kullanımını zor hatta imkansız kılar (Miguel, 2010).

Altı farklı propolis ekstraktının geleneksel yöntemler ve süper kritik ekstraksiyon yoluyla kimyasal karakterizasyonunu inceleyen çalışmada Etanolik ekstraksiyonun, propolis ekstraktının biyolojik potansiyeli ile ilişkilendirilen fenolik ve flavonoid bileşikler gibi yüksek oranda antioksidan bileşik içeren ekstraktlar elde etmek için en etkili yöntem olduğu gösterilmiştir (Devequi-Nunes vd., 2018).

Trusheva vd., yaptığı çalışmada kavak tipi propolisin biyolojik olarak aktif bileşenlerinin ekstraksiyonunda etkinliklerini karşılaştırmak için çeşitli ekstraksiyon teknikleri uygulamıştır. Yöntem olarak geleneksel maserasyon ekstraksiyonu, ultrason ekstraksiyonu (UE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) kullanılmıştır. Çalışmada kstrakte edilen fenolikler ve flavonoidlerin toplam miktarları belirlenmiş ve yöntemlerin etkinliği karşılaştırılmıştır. MAE çok hızlı bulunmuş ama büyük miktarda fenolik olmayan ve flavonoid olmayan malzemenin ekstraksiyonuna yol açmıştır. UE, ekstre edilmiş fenoliklerin en yüksek yüzdesini vermiştir. Çalışmaya göre UE'nin en verimli yöntem olduğu tespit edilmiştir (Trusheva vd., 2007).

2.7.2 Propolis Ekstraksiyon Yöntemleri

Ekstraksiyon farklı çözünürlük özelliklerinden yararlanılarak katı-sıvı ya da sıvı-sıvı fazda bulunan maddelerin sıvı forma geçirilmesidir. Ekstraksiyon işlemi için; maserayon ekstraksiyon, refluks ekstraksiyon, ultrasound destekli ekstraksiyon, mikrodalga ekstraksiyonu, süper kritik akışkan ekstraksiyonu gibi farklı yöntemler bulunmaktadır (Atak ve Uslu, 2018; Yağcıoğlu, 2015). Ekstraksiyon işlemi; solventin katı matrisin içine girmesi, çözünen maddelerin solvent içerisinde çözünmesi, çözünen maddelerin matristen ayrılması ve son aşama olarak da çözünen maddelerin

toplanması basamaklarından oluşur. Ekstraksiyon işleminin verimliliğini ekstraksiyon sıcaklık derecesi, ham maddenin boyutu, solvent seçimi ve ekstraksiyon işlem süresi gibi faktörler etkilemektedir (Zhang vd., 2018).

Ekstraksiyon işlemi yapılırken propolisin içerisindeki istenmeyen maddeler uzaklaştırılırken fenolik bileşenler korunmalıdır (Bergonzini, 2006). Bu sebep ile ekstraksiyon için kullanılacak çözücü ekstraktın özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Çakıroğlu, 2010).

Maserasyon ekstraksiyon yöntemi diğer yöntemlere göre daha fazla vakit almasına rağmen propolis ekstraksiyonunda en yaygın uygulanan ekstraksiyon yöntemi maserasyon ekstraksiyon yöntemidir (Trusheva vd., 2007). Maserasyon yöntemi, örneğin uygun boyuta küçültülmesinin ardından genellikle oda sıcaklığında uygun solvent (çözücü) içerisinde uygun ve kapalı bir kapta belli bir zaman bekletilmek ve karıştırılmak suretiyle ekstrakte edilmesini temel alan bir yöntemdir (Silici ve Kutluca, 2005). Maserasyon ekstraksiyon yöntemi bitki özlü olan ham maddelerin ekstraksiyonu için kullanılan en eski ve yaygın bir yöntemdir (İlbay, 2016).

Refluks ekstraksiyon yönteminde sıcaklık solventin verimini artırmaya yardımcı olarak katı maddeye daha fazla geçmesine yardımcı olmaktadır. Böylelikle katı örnekteki çözünmesi istenen bileşenler solvente daha iyi geçiş yapmaktadırlar. Ancak katı örneğin çeşidine ve yapısına göre sıcaklıkla beraber ekstraksiyon işleminin veriminde artış olurken, çok yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerde denatürasyon olabilmektedir (Bakkaloğlu, 2020).

Refluks ekstraksiyonda su banyosu kullanılmaktadır. Hazırlanan çözelti su banyosunda belirli sıcaklık ve belirli sürelerde tutulmaktadır (Margeretta, 2012).

Ultrasound Destekli Ekstraksiyon yöntemi ise katı-sıvı ve sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemlerinde ses dalgaları yardımı ile ekstraksiyon etkinliğini artırmak amacıyla kullanılan bir metottur (Büyüktuncel, 2012). İnsanın işitebileceği frekans aralığının üstünde olan ses dalgalarına ultrasonik ses dalgaları denir. Ultrasound metodunda gıdaya verilen akustik enerji hızlıca gıda içerisinde yayılarak kütle transferi gerçekleştirir ve hücre duvarını parçalayarak hücrenin içerisindeki bileşenlerin

çözücüye geçmesini sağlar. Bu sayede ekstraksiyon işlemi diğer yöntemler göre daha hızlı gerçekleşir (Bayraktaroğlu ve Obuz, 2006; Ercan ve Soysal, 2011).

Yapılan bir çalışmada Oraian vd. (2020), propolis ekstraksiyonu için farklı üç metod (maserasyon, mikrodalga ve ultrasound ekstraksiyon) kullanarak propolisteki biyoaktif bileşiklerin seçilen ekstraksiyon yöntemi ile nasıl etkilendiğini araştırmışlardır. Optimum yöntemi seçerken propolisin toplam fenolik içeriğine, ekstraksiyon verimine, flavonların içeriğine bakarak değerlendirmişlerdir. Ultrasound destekli ekstraksiyonun diğer ekstraksiyon metodlarına göre daha iyi bir yöntem olduğu çalışma sonucunda kanıtlanmıştır.

2.8 Standardizasyon

Herhangi bir faaliyet üzerine ekonomik fayda sağlayabilmek amacıyla, ortak ve belli bir kural koyarak, bu kurallara uyma işlemine standardizasyon adı verilir. Süreç içerisinde bulunan bütün ilgili taraflar ile beraber alınmış olan kurallar bütünüdür. (Wikipedia). Standardizasyon için öncelik can ve mal güvenliği iken bunun yanında kalitenin alt sınırı tespit ederek belli bir düzeyin altında mal ve hizmet üretimine izin vermemek hedeflenmelidir.

Standartlar ulusal ve uluslararası pazarda rekabet edebilmek, uygun ve kaliteli mal ve hizmet üretmek için elzemdir.

Standardizasyonun amaçları arasında ortak noktada buluşmak, ayırt edici özellikleri bilmeyi mümkün kılan kontrol yöntemlerini belirlemek vardır.

Bunun yanında standardizasyonun herkesi ilgilendiren faydaları vardır. Bunlar üretiminin planlı yapılması, kayıpların en aza indirgenmesi, verimliliğin artması, kaliteli ürün eldesi olarak sıralanabilir.

Standardizasyon; bilimsel, teknik ve deneysel araştırmaların kesinleşmiş sonuçlarını esas alır. Sadece şuanın şartlarını tespit etmekle yetinmez ayrıca geleceğin gelişme imkânlarını da gözönünde bulundurur, gelişmeye ayak uydurur (TSE, URL- 2).

Propolisin değişken içeriği standardizasyonunu zorlaştırmıştı ve bu sorun propolisin farmasotik kullanımını sınırlamaktadır. Bazı bilim çevrelerine propolisin sadece gıda takviyesi olarak bulunmasını savunmaktadır (Bankova vd., 2000; Burdock, 1998).

Propoliste ilk standardizasyon çalışması 1970’li yıllarda yapılmış olup, ilk olarak iyot testi, sabunlaşma testi, asit sayısı ve potasyum permanganat renk giderim testi gibi basit test parametreleri belirlenmiştir. Testlerin sonuçlarına bakıldığında propolisin bileşimi ve biyolojik aktivitesi arasında çok düşük düzeyde alaka bulunduğu bildirilmiştir (Bankova, 1987).

Günümüzde propoliste standardizasyon üzerine uğraşlar devam etmekte olup konuya dair fazlaca veriye ulaşmak mümkündür (Keskin ve Kolaylı, 2018).

2.8.1 Ulusal ve Uluslararası Propolis Standartları

Bölgesel ve toplandığı bitki sebebiyle kimyasal bileşiminde ve farmakolojik aktivitesinde ortaya çıkan farklar nedeniyle Propolisin standardizasyonu oldukça zordur (Bankova vd., 2000; Rossi vd., 2002). Propolisin bileşiminin tutarlılığını sağlamak için coğrafik kökeninin stabilitesi çok önemlidir (Bankova vd., 2014; Popova vd., 2010). Propolis için dünya çapında ortak bir standart uygulamak imkansızdır, fakat benzer kimyasal profiline ve coğrafyaya göre farklı propolis türlerine uygun standartlar yapmak olasıdır (Popova vd., 2010). şimdiye kadar standardizasyon işlemi yalnızca en yaygın tür olarak bilinen baskın propolis türü olan kavak tipi propolise uygulanmıştır (Garcia-Viguera vd., 1993). Bunun yanında tropikal farklı kaynaklar ve kimyasal bileşimi çok stabil olmayan fazlaca propolis çeşidi mevcuttur (Popova vd.,2010).

Propolis için Tarım ve Orman Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri taslak tebliği yayınlamış olup nihai hali için görüş toplamaya devam etmektedir. Taslak tebliğde “Propolis: Bal arılarının, bitkilerin gövde, yaprak ve tomurcuk gibi kısımlarından topladığı reğinemsiz maddeler ile bitki nektar ve polenlerini, balmumu ve enzimleri ile karıştırarak oluşturdukları işlenmemiş ürünü” olarak tanımlanmıştır. Taslak tebliğde Ek-3 kısmında Propolis ürününe yer verilmiş olup, belirlenen ana unsurlar şu şekildedir (TGK, Arı Ürünleri Taslak Tebliği, 2021).

1. Propolis ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan propolis, başta uluslararası standartlar olmak üzere ulusal veya uluslararası standartlarda belirlenen fizikokimyasal özelliklere uygun olmalıdır.

2. Propolis ürünleri farklı propolis türleri için karakterize olan ve Taslak Tebliğ Tablo 2’de verilen bileşenlerin (p-coumaricacid, pinobanksin 3-acetate, galangin,-cinnamicacid, chrysin, pinocembrin, caffeicacid, kaempferol, ferulicacid, benzoicacid, quercetin, artemisinin C, naringenin, catechol, rutin, myricetin, hesperidin, apigenin, CAPE, chlorogenicacid) en az 8 tanesini ve her birini en az 1 mg/L veya 1 mg/kg olacak şekilde içermelidir.

Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerde, 26/1/2017 tarihli ve 29960 mükerrer sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği hükümleri uygulanır.

Taslağa göre propolis gıda kapsamında sadece sıvı formda tüketim şeklinde piyasaya verilebilir. Takviye şeklinde kullanılan gıda ürünlerinde tablet, kapsül, sıvı ampül, pastil, damlalık şişe gibi propolis ürünleri sadece takviye edici gıda olarak piyasaya verilebilir, gıda şeklinde piyasaya verilemez.

Gıda olarak piyasaya arz edilen ürünlerin etiketi üzerinde takviye edici gıdalar için geçerli ‘tüketilmesi tavsiye edilen günlük porsiyon miktarı’ verilemez. Takviye edici gıda için belirlenmiş özel kurallar kullanılmaz.

Bu Tebliğ kapsamındaki ürünlerin etiketinde ‘4 yaş ve altı çocukların tüketmesi uygun değildir’ ifadesi belirgin bir şekilde yazılmalıdır. Propolis ürünlerinin çözücüsü etikette mutlaka belirtilmelidir. Propolis ürünleri piyasaya arz ediliş formuna göre propolis ekstraktı, propolis özütü, propolis tozu gibi uygun isimler ile adlandırılabilir. Propolis ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan propolis miktarı ambalaj miktarı üzerinden % olarak belirtilmelidir. Propolis ürünleri tüketime sunulurken kullanılan propolis ulusal ve uluslararası standartlarda belirtilen fizikokimyasal niteliklere uygun olmalıdır.

Propolis ve diğer arı ürünleri gıda takviyesi kapsamında değerlendirilmekte olup 29/12/2011 tarih ve 28157 sayılı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nin Ek-1'inde yer alan limitler propolis için önem arz etmektedir. Yönetmelikte Kurşun (Pb) için gıda takviyelerinde verilen bulunabilecek maksimum limit 3 mg/kg, Kadmiyum (Cd) için 1,0 mg/kg, Civa (Hg) içinse 0,10 mg/kg olarak belirlenmiştir (TGK, Bulaşanlar Yönetmeliği, 2011). Aynı yönetmelik 2022 yılında taslak olarak görüşe açılmış olup Arsenik (As) ile ilgili gıda takviyelerinde bir limit konulmamıştır. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde Arsenik (As) için gıda takviyelerine herhangi bir limit konulmamış olmasına rağmen propolisin ana maddesi olan reçineyi asfalt ve zift gibi kaynaklardan elde edebilme riskine karşın ağır metal analizlerine dahil etmek gerekir.

Propolisin içeriği, arı yetiştiricilerinin arıların uçuş alanında en fazla olan bitkileri bilmesine yardımcı olabilir. Arılar uçtukları çevrede propolis bulamadıkları zaman çeşitli boya, asfalt ve mineral yağları içeren reçinemsi maddeleri propolis gibi toplamak zorunda kalır. Bununla ilgili çalışma yapan araştırmacılar bal arılarının asfalttan madde topladığını gözlemlemişlerdir (Nyein, 1983). Arıların propolis kaynağı yokluğunda bu toplama davranışı propolisin farmakolojik kullanımını olumsuz etkilemektedir (Kumova vd., 2002).

Kurak bir kentsel bölgede bal arıları tarafından yapılan propolisin organik kimyasal bileşenlerinin özelliklerini ve kaynaklarını belirlemek ve bal arılarının propolis yapmak veya herhangi bir yapışkan madde toplamak için içerik toplama konusunda özellikle seçici olup olmadığını incelemek için Suudi Arabistanda yapılan bir çalışmada yol döşeme (taze asfalt bulunması) dahil olmak üzere inşaat faaliyetlerinin devam ettiği ve yörede reçineli bitkilerden yoksun olan arı kovanlarından propolis toplanmıştır. Çalışmada asfalttan gelen katkılar, hopanların ve petrol türevi n-alkanların mevcudiyeti ile doğrulandığı üzere tespit edilmiştir (Alqarni vd., 2015).

Bakırcı tezinde Aydın ilinde üretimi yapılan bazı arı ürünlerindeki ağır metal düzeylerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmada bal, polen, propolis, petek gruplarında Pb düzeyini ölçmüş olup sonuçlar şu şekildedir; 637,47 µg/kg; 899,22 µg/kg; 2942,73 µg/kg; 201,63 µg/kg. Elde edilen veriler propolis grubunun yüksek kurşun değerine

sahip olduğunu göstermiştir. Diğer gruplara göre propoliste 15 kat daha fazla Pb bulunmuş olup bal, petekve polen örnekleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Propolis ile diğer gruplar arasındaki fark ise istatistik olarak $P<0,001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Bakırcı, 2019).

Bunun yanı sıra TSE tarafından Ocak 2003'te yayımlanan TS12910 Arıcılık- Arı Tutkalı (Propolis) de bağlayıcı bir standarttır. Bu standartta propolis arı tutkalı olarak ifade edilmekte ve "İşçi arıların, kovan içerişimdeki besinleri, yavru arıları ve kendilerini çeşitli patojen mikroorganizmalardan (virüs, bakteri, fungus) korumak amacıyla bitkilerin yaprak, gövde, tomurcuk vb. kısımlarından topladığı reçinensi maddeleri ve bitki nektarlarını, başlarında yer alan salgı bezlerinden salgılanan enzimler ile biyokimyasal değişikliğe uğratarak oluşturdukları "arı tutkalı" olarak da adlandırılan ürün." şeklinde tanımlanmaktadır.

TSE tarafından Ocak 2003'te yayımlanan TS12910 Arıcılık- Arı Tutkalı (Propolis) standardına göre propolis,

- Kirli sarıdan koyu kahverengine kadar değişen renkte olmalı, oda sıcaklığında yarı katı halde bulunmalı,
- Keskin, güzel kokulu ve acımsı tatta olmalı,
- Yüksek sıcaklıklarda (30-40 C) yumuşayarak yapışkan bir hal almalı,
- 80°C'da kısmen erimeli,
- Yabancı maddelerden ari olmalı yani kendinden başka gözle görülebilir taş, toprak, ölü böcek parçaları vb. her çeşit madde olarak tanımlanan yabancı maddeler arı tutkalı üzerinde veya kesitinde bulunmamalıdır şeklinde tanımlanmıştır.

Standartta propolisin kimyasal içeriği için bir çizelge verilmiştir. Çizelgede Propolis için Fenolik Asitler ve Flavonoidler (Flavonlar, Flavonoller, Flavononlar) için Bulunmalı ibaresi yer almakta olup, Benzoik asit için 0,6-12,0 (m/m) değer aralığında olması gerektiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra Glikoz için 0,8-7,7 (m/m) ve Sakaroz için 0,1-3,4 (m/m) aralığına izin verilmiştir.

Uluslararası olarak propolisin en yaygın üretildiği ülkelerden olan Brezilya’da Tarım, Hayvancılık ve Tedarik Bakanlığı (MAPA) arı ürünleri için standartlara sahip olup “Propolis Kalitesini Sabitlemek için Teknik Yönetmelik”e sahiptir. Bu yönetmelikte propolis; reçineli, sakızımsı ve bitkilerden elde edilen ürün olarak tanımlanmıştır.

Flavonoid içeriği olarak 3 çeşit sınıflandırma mevcuttur. Bunlar yönetmelikte şu şekilde belirtilmiştir:

- Düşük içerik: %1,0'e kadar (m/m);
- Orta içerik: >%1,0 - %2,0 (m/m);
- Yüksek içerik: >%2,0 (m/m).

Yönetmelikte propolisin kompozisyon ve gereksinimler başlığındaki duysal gereklilikler şu şekildedir: Aroma: botanik orijine bağlı olarak karakteristik (balzamik ve reçineli); Botanik orijine göre değişen sarımsı, kahverengi, yeşilimsi, kahverengi ve diğer renkler; Lezzet: Botanik orijine bağlı olarak hafif balzamik ile güçlü ve baharatlı arasında karakteristik; Kıvam (oda sıcaklığında): botanik orijine bağlı olarak yumuşaktan sert; Granülometri: heterojen olmalıdır.

Fiziksel-kimyasal gereksinimler ise; Kuruma kaybı: maksimum %8 (m/m); Küller: maksimum %5 (a/a); Balmumu: maksimum %25 (ağırlık/ağırlık); Fenolik Bileşikler: minimum %5 (a/a); Flavonoidler: minimum %0,5 (a/a); Oksidasyon aktivitesi: maksimum 22 saniye; Mekanik Kütle: maksimum %40 (m/m); Etanolde çözünür: minimum %35 (a/a) şeklinde ifade edilmiştir.

Bunun yanında “Propolis Özü Kimlik ve Kalite Yönetmeliği” adı ile propolis ekstraktları için ayrı bir yönetmelik mevcuttur. Bu yönetmelikte propolis Ekstresi, bileşenlerin ekstraksiyonundan elde edilen üründür. Propolis, uygun teknolojik süreçle nötr alkolde (gıda sınıfı) çözünür şeklinde tanımlanmıştır. Propolis özü için Duyusal Özellikler: Aroma: karakteristik, botanik orijine bağlı olarak (balzamik ve reçineli); Renk: kökene ve konsantrasyona bağlı olarak değişir (kehribar, kırmızımsı ve yeşilimsi); Tat: karakteristik, hafif ila güçlü, acı ve baharatlı; Görünüm: Berrak ve homojen sıvı olarak belirtilmiştir.

Fiziksel-Kimyasal Gereksinimler ise: Kuru ekstrakt: Minimum %11 (m%v); Balmumu: kuru ekstraktın maksimum %1'i (m/m); Flavonoid bileşikler: Minimum %0,25(a/a); Fenolik bileşikler: Minimum %0,50 (a/a); Oksidasyon aktivitesi: Maksimum 22 sn.; Alkol içeriği: Maksimum 70° GL (v/v); Metanol: Maksimum 0,40 mg/l şeklinde belirtilmiştir.

Etiketleme için “Kuru Ekstrakt: minimum %...” ibaresinin olması gerektiği belirtilmiştir.

Kolay tüketim için ekstraktları veya farklı formları hazırlanarak tüketilmesi gereken propolisin tüketime hazır hale gelmesi firmalar veya kişiler arası değişkenlik göstermektedir. Bu durum hem tüketici hem bütçe açısından problemlere yol açmaktadır. Yapılan merdiven altı üretimlerle kalitesi düşük ve hatta sahte ürünler piyasaya sunulmaktadır. Bu sorunu önlemek için en hızlı şekilde propolis ekstraktlarının hazırlanışı ve ekstraktların kompozisyonunu belirleyen bir standardının oluşturulması önem arz etmektedir (Keskin, 2018).

Standard özelliklere sahip ham propolis elde etmenin olası olmadığı aşıkardır (Bankova, 2005; Keskin, 2018). Yapılan bazı araştırmalarda aynı kovandan, aynı yöntem kullanılarak ve farklı mevsimlerde toplanan propolislerde biyoaktif madde düzey ve oranlarının birbirlerinden farklı olduğu gösterilmiştir (Bakchiche vd., 2017; Kumazawa vd., 2004).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

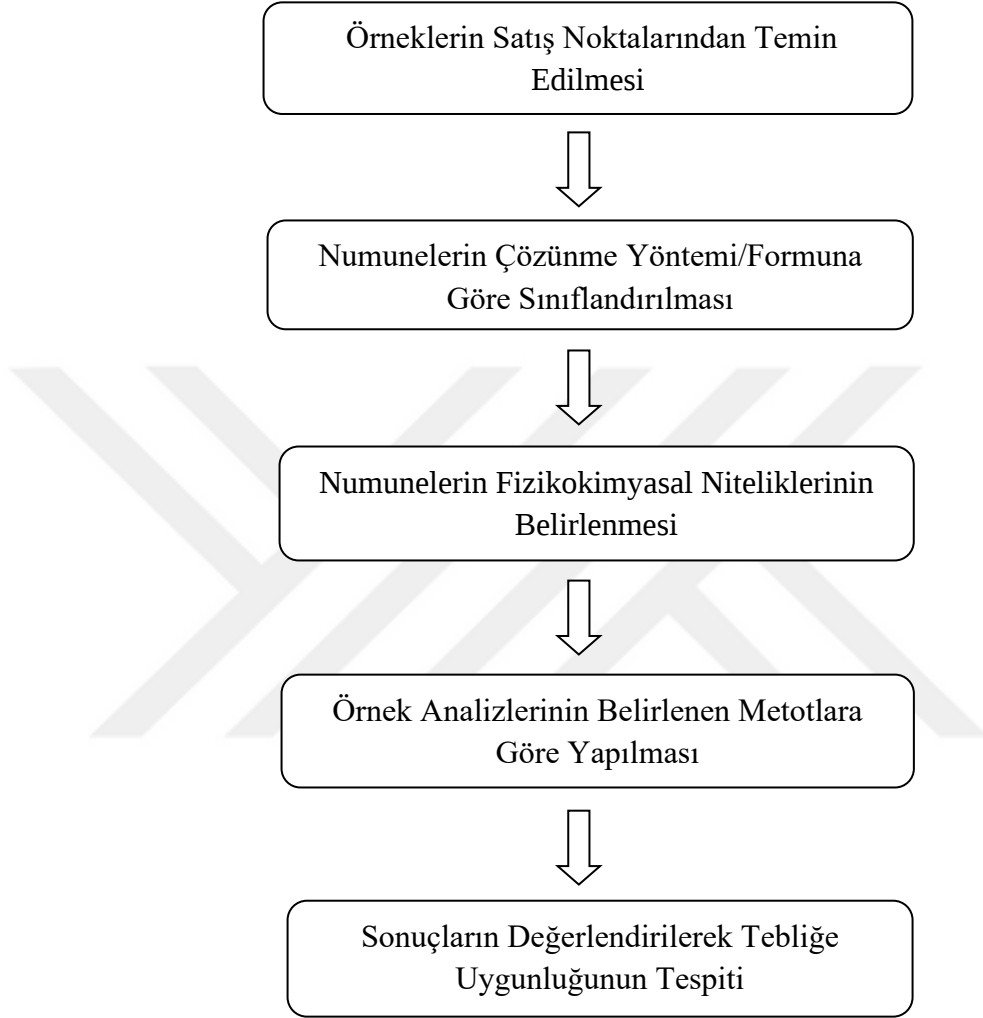
Tez çalışmasında ulusal pazarda tüketime sunulan damla formunda sıvı propolis ekstraktları, e-ticaret sitelerinden, aktarlardan ve eczanelerden satın alınarak temin edilmiştir. Bu amaçla 14 adet sıvı damla propolis elde edilmiştir. Analizlerde kullanılan kimyasallar Sigma ve Merck firmalarından temin edilmiştir. Ürünler ağzı kapalı ve orijinal ambalajında satın alınmış ve analize alınıncaya kadar buzdolabı ortamında +4C’de saklanmıştır. Çalışmada kullanılan cihazlar ise Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1 Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihaz	Marka	Model	Ülke
Kolorimetre	3nh	NR145	Çin
Çalkalamalı inkübatör	Heidolph	Unimax 1010	Almanya
Etüv	Mikrotest	MST55	Türkiye
Manyetik karıştırıcı	MTOPS	MS300HS	Kore
Vorteks	Heidolph	Reak Top	Almanya
Spektrofotometre	Schimadzu	UV-1800	Japonya
Hassas Terazi	OHAUS	Pioneer	ABD
Terazi	TEM	NS	Türkiye
pH metre	OHAUS	ST 3000	ABD
Protein tayin cihazı	Buchi	K-355	İsviçre
Kül fırını	JSR	JSMF-45T	Kore
Mikrodalga yakma sistemi	Milestone	EthosOne	İtalya
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	Shimadzu	LC20-A Prominence	Japonya
ICP-OES			

3.2 Yöntem

Tez çalışmasında uygulanan çalışma planı Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1 Tez çalışma planı

3.2.1 pH ve Toplam Titrasyon Asitliği (TTA)

Sıvı örneklerde direkt pH metre elektrotu çözelti içerisine daldırılarak örneklerin ölçümleri gerçekleştirilmiştir. TTA için 250 mL’lik erlene 10 ml örnek alınarak üzerine 90 mL su eklenerek iyice karıştırılıp, daha sonra süspansiyon içerisine fenolftalein indikatörü damlatılmıştır ve 0,1 N NaOH çözeltisi ile açık pembe renk alınıncaya kadar ve kontrol ve onaylamak amacıyla da pH değerleri 8,3’e erişinceye kadar titre edilmiştir.



Şekil 3.2 Propolis pH ve TTA ölçümü

3.2.2 Renk

Renk yoğunluğu numunelerde kolorimetrik cihazla belirlenmiştir. Kolorimetrik yöntem üç boyutlu renk ölçümünü esas almakta olup, Y eksenindeki L* (lightness); 0=siyahtan, 100=beyaza kadar olan örneğin açıklık-koyuluk (parlaklık), X eksenindeki a*; yeşil (-a), kırmızı (+a), Z eksenindeki b*; sarı(+b), mavi (-b) renk boyutunu göstermektedir. Ölçümler 5 paralel yapılarak değerlerin ortalaması alınmış ve renk parametreleri belirlenmiştir (Atasoy, 2018).

3.2.3 Briks

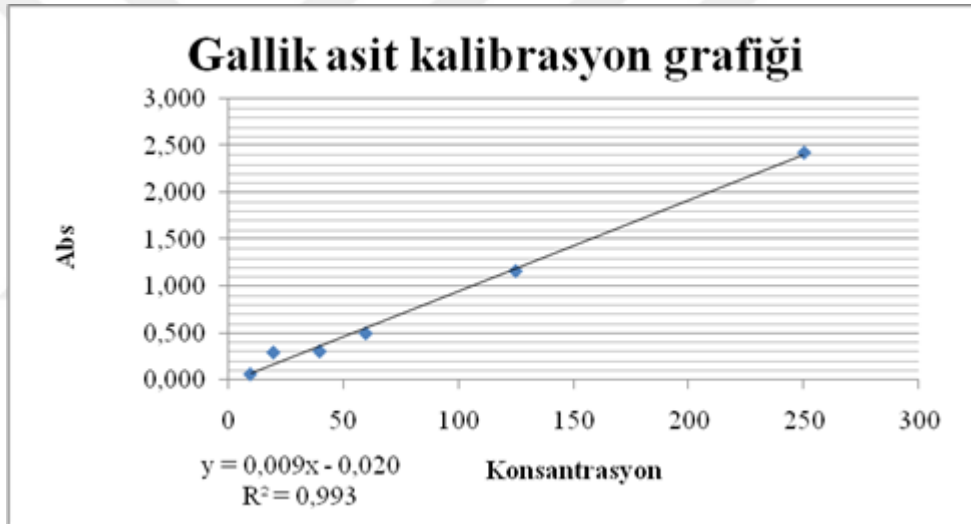
Ticari olarak temin edilen numunelerin % çözünen katı miktarını tayin edebilmek amacıyla refraktometre cihazı (Atago, Germany) kullanılmış, ölçülen değerler “Etanolik propolis ekstraktı Briks değeri” olarak ifade edilmiştir (Keskin, 2018).

3.2.4 Toplam Fenolik Madde Miktarı (Folin-Ciocalteu Yöntemi)

Fenolik maddelerin FolinCiocalteu reaktifi ile renkli kompleks oluşturması esasına dayanan ve en çok kullanılan Folin metodu kullanılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965; Singleton vd., 1999). Fenolik maddelerin folin reaktifi ile oluşturduğu mor menekşe

renkli kompleks 760 nm’de maksimum absorbansa sahip olduğundan bu rengin spektrofotometrik ölçümü ile toplam fenolik madde miktarı tespit edilmiştir.

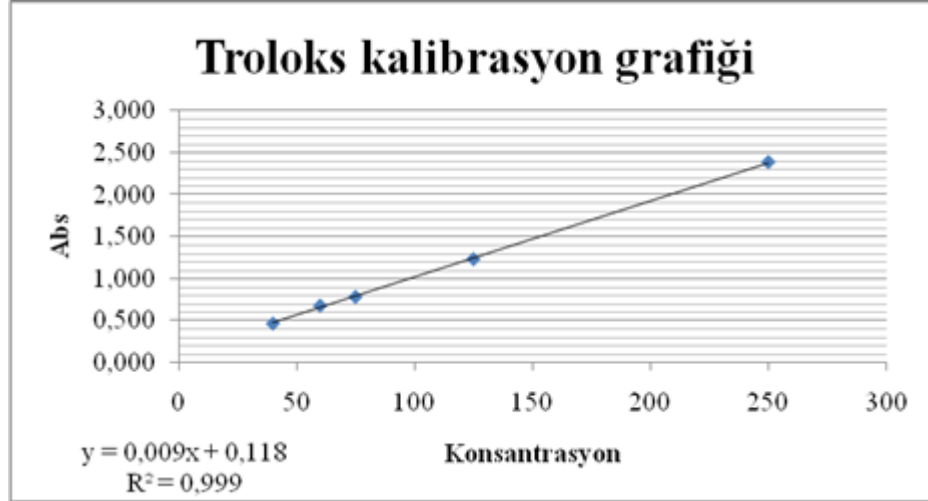
2 g karışım örneği 20 ml'ye çözücü içinde ekstrakte edilen 1:10 oranında seyreltme işlemi uygulandıktan sonra, 0,15 mL örnek alınarak üzerine 0,15mL 0,2 N Folin-Ciocalteu's fenol çözeltisi, 0,12 mL %7,5'lik Na_2CO_3 ve 1,2 mL saf su eklenmiştir. Karıştırma işleminin ardından örnekler karanlıkta oda sıcaklığında 1 saat bekletilmişler ve süre sonunda 760 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçülmüştür. Aynı işlemler farklı konsantrasyonlarda (10; 20; 40; 60; 125; 250; 500 mg/L) hazırlanan gallik asit standart çözeltileri ile de gerçekleştirilmiş ve örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı gallik asit standart eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır.



Şekil 3.3 Toplam fenolik madde miktarı için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği

3.2.5 Antioksidan Aktivite Tayini

Karışımların antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) serbest radikal giderim yöntemi kullanılmıştır. Ekstrakte edilmiş örnekler seyreltildikten sonra 0,3 mL örnek, 4,9 mL DPPH (0,025 g/L etanol) çözeltisi ile karıştırılarak, kontrol olarak örnek yerine çözücü kullanılmıştır. Örnekler vortekslenmiş ve 27°C de 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda örneklerin, 517 nm’de UV- spektrofotometrede okutulmuş, sonuçlar inhibisyon (%) ve µg/ml trolox cinsinden belirlenmiştir.



Şekil 3.4 Antioksidan aktivite için kullanılan troloks kalibrasyon grafiği

3.2.6 Fenolik Madde Kompozisyonu

Bu analiz için Kastamonu Üniversitesi MERLAB'DA LC-MS/MS yöntemiyle hizmet alımı yapılmıştır. Eldeki mevcut standartlara göre kafeik asit, kateşin, epikateşin, klorogenik asit, etil gallat, gallik asit, isorhamnetin, kamferol, luteolin, mirisetin, naringin, P-kumarik asit, phlorizin, propilgallat, protokateşik asit, kuersetin, resveratrol, rutin gibi fenolik madde miktarları tespit edilmiş ve TGK Arı Ürünleri Taslak Tebliğinde belirtildiği üzere en az 1 mg/L (veya 1 mg/kg) limitine uygunlukları değerlendirilmiştir.

3.2.7 Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi

Kromatografik yöntemle fenolik bileşenlerin kompozisyonu ayrı ayrı belirlendikten sonra tespit edilen flavonoid maddelerin (apigenin, apigenin, chrisin, galangin, genistein, hesperetin, isorhamnetin, kaempferol, luteolin, myristin, naringenin, pinobanksin, pinocembrin, quercetin, quercetin, rutin, taxifolintaxifolin) miktarları toplanarak toplam flavonoid madde miktarı belirlenmiştir.

3.2.8 Mineral Madde Kompozisyonu

Numuneler önce Isolab marka öğütücüde steril bir şekilde öğütülüp homojen hale getirilmiştir. Daha sonra Mikrodalga Yakma Sistemi (CEM MARS 6) kullanılarak yakılmıştır. Cihazın aplikasyon bilgilerine göre çalışılacak numune için prosedürde

belirtildiği kadar numune tartılıp üzerine 10ml HNO₃ (67% v/v) ilave edilmiştir. Mikrodalga kaplarının ağızları sıkıca kapatılarak yakma için sıcaklık programı ayarlanmıştır. Analizi yapılacak numune için belirlenmiş sıcaklık programı prosedürüne göre 45 bar basınçta ilk 15 dk 200°C ye çıkılmış daha sonra 15 dk 200°C de sabit tutulmuştur. İşlem sonunda çözeltilerin oda sıcaklığına soğuması beklenmiştir. Daha sonra çözelti haline gelen numunelerin üzeri ultra saf su ile tamamlanmıştır. Seyreltme faktörü hesaplanarak ölçüm sonunda hesaba katılmıştır. İçinde partikül kalmayacak şekilde mikrofiltrelerden süzülüp ve direk işleme alınmıştır. ICP-OES cihazında metallerin konsantrasyonları ölçülürken cihaz kendiliğinden üç ölçüm yapmaktadır (n=3). Daha sonra bu üç ölçümün ortalaması alınarak standart sapma hesaplanmıştır. ICP-OES için temin edilen multielement standart stok çözeltisi (Merck, Germany) kalibrasyon standartlarının hazırlanmasında kullanılmıştır. Standart stok çözeltisi istenilen elementlere göre farklılık göstermektedir. Analize uygun standart çözelti seçilerek hazırlanan örnekler ve kalibrasyon çözeltileri Spectro Blue marka ICP-OES cihazında analiz edilmiştir.

3.2.9 Duyusal Analiz

Propolislerde suda çözünme, lezzet/tat, koku, renk, artık tat, genel kabul edilebilirlik nitelikleri açısından değerlendirilmiştir. Bu amaçla 100 ml içme suyu içeren cam ve desensiz bardaklara 10 damla propolis damlatılarak panelistlere sunulmuştur. Daha önce propolis tüketmiş, arı ürünlerine alerjisi olmayan ve sigara kullanmayan kişilerden seçilen panel grubuna, değerlendirme nitelikleri ve puanlama hakkında bilgi verilmiştir. birbirinden bağımsız kodlar ile panelistlere sunulan örnekler duyusal nitelikler açısından 0-5 puan aralığında hedonik skala ile değerlendirilmiştir.

Bu amaçla duyusal değerlendirme kriterlerine dair bir form hazırlanmış, örneklerin genel yapı ve lezzet profiline ait sonuçlar karşılaştırılmıştır. İstenen propolis kalite özellikleri ve puanlama skalası Tablo 3.2’de verilmiştir

Tablo 3.2 Propolis duyusal değerlendirme kriterleri ve puanlama skalası

ÖZELLİKLER	
Tat/lezzet	Örneklerin yuttuktan sonra ağızda bıraktığı tat düzeyi
Koku	Rahatsız edici koku unsurları bulunmamalı
Bulanıklık	Homejen bir görüntü olmalı, içinde tortu bulunmamalı
Renk/Görünüm	Kendine özgü veuniform renkteolmalı
Ağızda kalan atık tat	Tadımdan sonra ağızda bulaşık kötü buruk tat olmamalı
KABULEDİLEBİLİRLİK DÜZEYİ	
5 puan	Çok beğendim
4 puan	Beğendim
3 puan	Orta derecede beğendim
2 puan	Az beğendim
1 puan	Hiç beğenmedim



Şekil 3.5 Su Bazlı Duyusal Analize Hazır Propolis Örnekleri



Şekil 3.6 Alkol Bazlı Duyusal Analize Hazır Propolis Örnekleri

3.2.10 İstatistiksel Analiz

Elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS 26.0.6 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçların değerlendirmesinde veriler çoklu varyans analiz (ANOVA) ile örneklerin veri ortalamaları arasındaki fark $p < 0,05$ anlamlılık düzeyine istinaden *Tukey* çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Alkol ve su bazlı iki ürün grubunun karşılaştırılmasında ise Bağımsız değişkenler *t*-testi kullanılmıştır.

Duyusal değerlendirme sonuçlarının beğeni skorlarına göre ürün benzerlik ve kümelenme eğilimlerinin tespiti için Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis-PAST 4.03 Statistical Analysis App For Windows) uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Sıvı Propolis Örneklerinin Bazı Etiket Beyanları ve İçerikleri

Ulusal pazardan temin edilen 14 adet sıvı propolis örneklerine ait bazı ambalaj, etiket beyanı ve fiziksel nitelikler Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Sıvı propolis numunelerinin bazı etiket beyanları ve ambalaj özellikleri

Numune	Net hacim (ml)	Form	Takviye edici gıda no	Nihai Çözgen	İçerik	Raf Ömrü
P1	30 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Su	Su, propolis ekstraktı (%18)	2 yıl
P2	30 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Su	Saf su, saf propolis ekstresi tozu (%14,4)	3 yıl
P3	20 ml	Cam şişe	Yok	Su	Propolis, su	3 yıl
P4	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Su	Gliserin, saf su, saf propolis (%20)	3 yıl
P5	20 ml	Cam şişe	Yok	Su	Saf su, propolis ekstresi (%40)	4 yıl
P6	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Su	Su, propolis ekstraktı (%7,5)	2 yıl
P7	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Su	Saf su, organik propolis	3 yıl
P8	30 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Alkol	Propolis, Zn, D vit	3 yıl
P9	30 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Alkol	Propolis (%20), etanol	3 yıl
P10	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Yok	Alkol	Propolis (%38), su, etanol	2 yıl
P11	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Yok	Alkol	Propolis (%20), su, etanol	2 yıl
P12	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Alkol	Propolis (%30), su, etanol	3 yıl
P13	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Alkol	Propolis (%20), su, etanol	3 yıl
P14	20 ml	Damlalıklı cam şişe	Var	Alkol	Propolis (%20), su, etanol	3 yıl

Sıvı propolis örnekleri çözgen türü dikkate alınarak 7 adet su ile çözünen 7 adet alkolde çözünen örnekler olarak analize alınmıştır. Tüketime sunulan katı ve sıvı propolisler arasında kullanım kolaylığı açısından damlalıklı sıvı propolisler daha popülerdir. 14 propolis örneğinin 12 adedinin damlalıklı şişe kapağı bulunmaktadır, P3 ve P5

örnekleri ise sadece cam şişe olarak satışa sunulmuştur. Örneklerin net hacimleri 20 ve 30 ml arasında değişkenlik göstermektedir.

02.05.2013 tarih ve 28635 sayılı Takviye Edici Gıdaların İthalatı, Üretimi, İşlenmesi ve Piyasaya Arzına İlişkin Yönetmelik kapsamında takviye edici gıdalar onay alınmadan üretilemez, işlenemez, ithalatı yapılamaz ve piyasaya arz edilemez. Piyasadan topladığımız 14 sıvı propolis örneğinin 10 tanesinde ambalaj üzerinde takviye edici gıda numarasına yer verilmiş olup, 4 adet propolis örneğinde takviye edici gıda numarası etikette beyan edilmemiştir.

26.01.2017 tarih ve 29960 sayılı Türk Gıda Kodeksi Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği hükümleri geçerli olup, ana bileşen içerikleri, net miktar, menşei, işletme kayıt veya onay numarası, son kullanma tarihi veya raf ömrü gibi beyanlar ambalaj üzerinde bulunmalıdır. Propolis ekstraktlarının yüzdesi içerik ve standardizasyon açısından önem arz etmektedir. Piyasadan toplanan 14 propolis örneğinin ana bileşenleri etikette beyan edilmiş olup P3, P7, P8 örnekleri dışındaki 11 örnekte ekstrakt oranına etikette yer verilmiştir. Örneklerin ekstraksiyon yüzdesi %7,7 ile %40 arasında değişim göstermektedir. Propolis örneklerinde çözücü ve propolis dışında mineral ilavesi olan P8 örneği bulunmaktadır. Raf ömrü tüm numunelerde etikette belirtilmiş olup, bu süre 2 ile 4 yıl arasında değişim göstermektedir.

4.2 Propolis Örneklerinin Bazı Fiziksel Nitelikleri

Ulusal pazardan temin edilen 14 adet sıvı propolis örneği fiziksel kriterleri incelemeye alınmış ve Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2 Sıvı propolis numunelerinin fiziksel analiz sonuçları

		Renk						
	Numune	TTA (%)	pH	L^*	a^*	b^*	Briks	Kırılma İndisi
Su Bazlı	P1	3,5±0,7 ^u D	8,08±0,09 ^{bA}	1,511,51 ^{cB}	0,89±0,05 ^{efD}	1,68±0,28 ^{cdCD}	8,29±0,02 ^{jD}	1,34
	P2	0	8,26±0,08 ^{aA}	1,73±0,08 ^{cB}	1,75±0,18 ^{defD}	2,38±0,20 ^{cdCD}	8,62±0,02 ^{iC}	1,34
	P3	25±1,41 ^{hC}	3,93±0,03 ^{hD}	15,70±0,51 ^{aA}	7,17±0,11 ^{aA}	20,08±0,37 ^{aA}	10,62±0,03 ^{iB}	1,34
	P4	0	8,26±0,05 ^{aA}	0,42±0,04 ^{cB}	1,90±0,17 ^{cdeD}	0,56±0,05 ^{cdD}	62,69±0,07 ^{dA}	1,45
	P5	210±2,82 ^{aA}	4,19±0,03 ^{gC}	2,90±0,62 ^{cB}	3,62±0,52 ^{bcdC}	4,17±0,92 ^{cC}	10,56±0,05 ^{iB}	1,34
	P6	193±2,82 ^{abB}	4,39±0,01 ^{fBC}	12,92±0,28 ^{aA}	5,08±0,20 ^{abcB}	14,14±0,17 ^{bB}	1,93±0,02 ^{ke}	1,33
Alkol Bazlı	P7	179,5±2,12 ^{bB}	4,45±0,03 ^{fB}	14,97±4,15 ^{aA}	6,99±0,09 ^{aA}	20,42±0,58 ^{aA}	8,52±0,04 ^{jC}	1,34
	P8	60±0,7 ^{fF}	5,93±0,04 ^{cA}	0,28±0,04 ^{cC}	0,38±0,21 ^{efB}	0,31±0,07 ^{cdC}	73,81±0,12 ^{cC}	1,47
	P9	171±2,1 ^{bB}	4,52±0,03 ^{fD}	2,12±0,61 ^{cC}	7,10±4,70 ^{aA}	3,49±1,05 ^{cdC}	39,64±0,08 ^{fE}	1,40

Tablo 4.2'nin devamı

Renk								
	Numune	TTA (%)	pH	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	Briks	Kırılma İndisi
Alkol Bazlı	P10	139±2,8 ^{dD}	4,52±0,01 ^{FD}	14,38±1,05 ^{aA}	7,51±0,37 ^{aA}	21,63±1,37 ^{aA}	86,98±0,03 ^{bB}	1,51
	P11	166±1,4 ^{bB}	4,79±0,04 ^{deC}	2,11±0,23 ^{cC}	7,91±0,62 ^{aA}	3,18±0,12 ^{cdC}	36,52±0,04 ^{gF}	1,39
	P12	97±1,41 ^{eE}	4,96±0,02 ^{dB}	6,47±1,20 ^{bB}	6,68±0,76 ^{abA}	10,21±1,60 ^{bB}	91,64±0,08 ^{aA}	1,52
	P13	152±2,8 ^{cC}	4,90±0,03 ^{deB}	0,15±0,01 ^{cC}	0,23±0,02 ^{FB}	0,11±0,1 ^{dC}	57,18±0,02 ^{eD}	1,43
	P14	177±2,82 ^{bA}	4,76±0,01 ^{eC}	1,33±0,13 ^{cC}	4,99±0,56 ^{abcdA}	2,14±0,23 ^{cdC}	35,11±0,02 ^{hG}	1,39
	P*	<0.001	<0.001	0,009	0,279	0,142	0,127	

*Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

**Aynı sütundaki farklı büyük harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

14 sıvı propolis örneğinin toplam titrasyon asitliği istatistiğine bakıldığında örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin TTA değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin TTA değerlerinin kendi grubu içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$).

Gıdalardaki asidik seviyelerin mantar ve bakteri gibi mikroorganizmalar üzerindeki etkisinden dolayı bunların belirli sınırlar içinde olması gerekir. Önemi her geçen gün artan propolis, içerdiği fenolik asitler nedeniyle asidik bir pH değerine sahiptir. Propoliste bulunan bu maddelerin mikroorganizmalar üzerindeki etkilerinin pH yükseldikçe azaldığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Ivančajić vd., 2010).

Kara vd., (2022) yaptıkları çalışmada propolis örneklerinde pH değerleri 4,29 ile 5,82 arasında bulmuş, ekstraktların pH değerinin ekstraksiyon için kullanılan çözücü karışımlarındaki etanol yüzdesindeki artışa paralel olarak arttığını belirtmiştir. Ortamda yüksek etanol artışı olduğunda pH değeri düşük ivmede seyretmiştir. Ayrıca çalışmada ultrasonik ve normal ekstraksiyon yöntemleri arasında pH değerleri açısından anlamlı bir fark gözlemlenmediği bildirilmiştir.

14 numunede yapılan pH sonuçları genelde asidik karakter göstermekle birlikte en düşük 3,93; en yüksek 8,26 olarak ölçülmüştür. Su ile çözünen 3 numune 8 civarı pH değeri ile bazik yapı sergilemiştir. 14 sıvı propolis örneğinin pH değerlerinin istatistiğine bakıldığında tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı

bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin pH değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin pH değerlerinin kendi grupları içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Bir maddenin kırılma indisini bularak miktarını tayin etmek için çözelti içerisinde çözünmüş olan maddenin miktarını bilmek gereklidir. Kırılma indisi maddenin fiziksel bir niteliğidir ve her maddenin kırılma indeksi birbirinden farklıdır.

Refraktometreler çözelti içerisindeki katı veya çözünmüş madde miktarını ve kırılma indeksini ölçmeye yarayan cihazlardır ve gıda kimyası içerisinde kendilerine önemli yer bulurlar. Refraktometrelerin kuru madde çizelgesi 20°C'deki sakkaroz çözeltilerine göre ayarlanmıştır. Dolayısıyla elde edilen Briks değerlerinin % çözünür kuru madde miktarı sakkaroz cinsinden verilir. Bu teknik daha çok sulu çözeltilere uygulansa da etanolik propolis özütleri için de kullanımı mevcuttur (Cardoso vd., 2016; Pastor vd., 2011; Popova vd., 2017).

14 örnek üzerinde refraktometre ile yapılan briks ve kırılma indisi sonuçlarına göre, kırılma indisi en düşük 1,33 ve en yüksek 1,52 değeri okunmuştur. Kırılma indisi paralel analizleri arasında fark minimum olduğundan standart sapma hesaplanamamış ve istatistik yapılamamıştır. Briks değerleri için ise aralık çok daha geniş gözlemlenmiş olup en düşük P6 numunesinde (1,93); en yüksek P12 numunesinde (91,64) okunmuştur.

14 sıvı propolis örneğinin briks değerlerinin istatistiğine bakıldığında tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin briks değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin briks değerlerinin kendi grupları içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Ticari propolisler üzerine yürütülen bir çalışmada piyasadan temin edilen örneklerin Briks değerinin 0-100 arasında değiştiğini tespit etmiş, Briks değerlerinin propolisin içerdikleri safsızlıklar veya çözünürlüğü etkileyen farklı çözücüler nedeniyle değişken olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca etanolik propolis ekstraktlarının briks ve toplam polifenol verileri arasındaki korelasyondan (korelasyon katsayısı 0,9) yola çıkılarak ekstraktın içerdiği toplam polifenol miktarı hakkında da tahminde bulunulabileceğini bildirmişlerdir (Keskin ve Kolaylı, 2019).

Gıdalarda renk ölçümü için kullanılan Hunter kolorimetresi ile 3 nokta ölçüm yöntemiyle 14 numunedeki renk değerleri analiz edilmiş ve L* değeri 0,15-15,70 arasında geniş bir dağılım göstermiştir. L* değeri sonuçları ele alındığında 14 sıvı propolis örneğinin kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin L* değeri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin L* değerinin kendi grubu içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Numunelerde ışık geçirgenliğinin düşük olduğu tespit edilmiştir.

Hunter kalorimetresinde kırmızı-yeşil renk belirteci a* değeri ve sarı-mavi renk belirteci b* değeri olarak ifade edilmektedir. Örneklerin renk değerlerine bakıldığında ise örnek dağılımının a* kriteri için kırmızı, b* kriteri için sarı renk skalasında olduğu görülmüştür.

14 sıvı propolis örneğinin a* ve b* değerlerinin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin a* ve b* değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Netice olarak örneklerin a* ve b* renk değerleri için çözgenin önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin a* ve b* değerlerinin kendi grupları içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Contieri vd., (2022) yaptıkları çalışmada propolislerin renk değerlerini incelemiş, Brezilya mevzuatına göre propolis ticari özlerinin amber tonlarında, kırmızımsı veya yeşilimsi olması gerekliliğini incelemişlerdir. Analiz edilen tüm numuneler açık bir ton sergilemiş ve kırmızımsı pembe ve gri tonlarında karakteristik renkle eşleşmeyen örnekler tespit etmişlerdir.

Farklı ülkelerden (Brezilya, Mısır, Suudi Arabistan, Umman, Çin ve Bulgaristan) alınan propolislerde kimyasal analiz, antioksidan, sitotoksik ve antimikrobiyal özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada fonksiyonel özelliklerin coğrafi bölgeye, hasat mevsimine ve zamanına göre propolisin bağları ve içeriğindeki biyoaktif bileşikler doğrudan etkilendiği gözlemlenmiş olup, en yüksek antioksidanı sergileyen Mısır propolisinin ilaç sanayinde potansiyele sahip olabileceği belirtilmiştir (Mohamed vd., 2020).

4.3 Propolis Örneklerinin Antioksidan Aktiviteleri

Ulusal pazardan temin edilen 14 adet sıvı propolis örneklerinin antioksidan aktiviteleri belirlenmiş olup elde edilen veriler Tablo 4.3’de verilmiştir. Verilerin tümü kendi arasında ve su bazlı ve alkol bazlı olmak üzere iki grup arasında istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.3 Sıvı propolis numunelerinin antioksidan aktivite değerleri

Ürün grubu	Numune	İnhibisyon (%)	TEAC (µg/ml)
Su bazlı	P1	26,15±0,31 ^{fB}	6155,6±88,89 ^{fB}
	P2	43,15±0,86 ^{eB}	11011,1±244,44 ^{eB}
	P3	8,74±0,21 ^{hB}	1183,3±61,11 ^{hB}
	P4	49,38±0,27 ^{dB}	12788,9±77,78 ^{dB}
	P5	4,90±0,31 ^{iB}	88,9±88,89 ^{iB}
	P6	6,05±0,25 ^{iB}	416,7±72,22 ^{iB}
	P7	22,18±0,39 ^{gB}	5022,2±111,11 ^{gB}
Alkol bazlı	P8	78,05±0,74 ^{cA}	20977,8±211,11 ^{cA}
	P9	84,71±0,51 ^{bA}	22877,8±144,44 ^{bA}
	P10	89,36±0,10 ^{aA}	24205,6±27,78 ^{aA}
	P11	87,24±0,43 ^{aA}	23600,0±122,22 ^{aA}
	P12	83,74±0,47 ^{bA}	22600,0±133,33 ^{bA}
	P13	82,57±0,04 ^{bA}	22266,7±11,11 ^{bA}
	P14	89,28±0,02 ^{aA}	24183,3±5,56 ^{aA}

*Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

**Aynı sütundaki farklı büyük harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

Propolis örneklerinin antioksidan aktivite değerleri geniş bir veri aralığında olup, inhibisyon oranı en düşük %4,90 (P5), en yüksek ise %89,36 (P10) olarak bulunmuştur. TEAC değerleri de %inhibisyon ile doğru orantılı olarak en düşük P5 örneğinde (88,9 µg/ml), en yüksek P10 örneğinde (24205,6 µg/ml) belirlenmiştir.

Tüm örneklerin antioksidan aktivite değerleri karşılaştırıldığında aralarındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Örneklerin antioksidan aktivite değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Bu sonuca göre çözgen veya baz olarak kullanılan maddenin nihai ürünün antioksidan kapasitesi üzerinde etkili olduğunu söylemek mümkündür. P5 numunesi ekstrakt oranı olarak en yüksek içeriğe sahip olmasına (%40) rağmen antioksidan aktivitesinin en düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Märghıtaş vd. (2009), propolis antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi için DPHH yöntemini kullanmış ve propolisin kimyasal bileşimi yöresel çevre ile ilgili olduğu için değişkenlik gösterse de floranın her zaman önemli biyolojik aktiviteler sergilediğini ve antioksidan aktivitenin de ilk sırada yer aldığını bildirmişlerdir.

Touzani vd., (2021) farklı bölgelerden topladığı propolis numunelerinin etanol ekstraktlarında toplam antioksidan kapasiteyi 48,01 – 90,87 mg AAE/g arasında belirlemişlerdir. Bozkuş ve Değer (2022) Türkiye'nin farklı bölgelerinden topladıkları propolis numunelerinin dimetilsulfoksit (DMSO) ve etanol ile ekstraktlarının toplam total antioksidan aktivitesini (TE: Trolox eşdeğeri) 233,1-248,5 mmol TE/100 g olarak bulmuşlardır. Kurek-Goreckavd., (2012) ise Polonya'nın Kamianna bölgesinden topladıkları propolis numunelerinde toplam antioksidan aktivitesini 108,41-153,52 mmol TE/100g olarak belirlemişlerdir.

Shehata vd. (2020), Mısır, Çin, Bulgaristan, Brezilya gibi farklı bölgelerden, kahverengi ve yeşil olarak ayrı tür propolisler toplamışlar, kimyasal ve biyolojik analizler ile farklarını belirlemişlerdir. Sonuçlar, özellikle kimyasal bileşim için numunelerin propolis varyasyonlarını ortaya koymuş ve anlamlı farklılıklar

görülmüştür. Mısır propolisi antioksidan ve antimikrobiyal etki bakımından yüksek olarak değerlendirilmiştir.

Yapılan çalışmalar, propolisin antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerin aynı olsa da propolise bağlı (çeşit, toplandığı bölgenin coğrafi konumu, iklimi ve bitki örtüsü) olarak sonuçların farklılık sergilediğini göstermektedir.

Piccinelli (2013); Cezayir ve Gregori (2010) Venedik propolislerinin fenolik ve antioksidan aktivitelerinin korelasyonu üzerine yaptıkları çalışmalarda iki aktivite arasında doğrusal bir orantı olduğunu bildirmişlerdir.

Şahin (2019), yaptığı çalışmada farklı çözücülerin propolisin antioksidan aktivitesi üzerine etkilerini incelemiş, propolisin etil alkol, propilen glikol, su ve zeytinyağı ile yapılan özütlerinin toplam fenolik madde içeriğini sırasıyla 2011,12; 2156,63; 89,42 ve 570,24 mg GAE/100g olarak tespit etmiştir. En yüksek fenolik madde içeriğinin propilen glikol ile yapılan özütte olduğu gözlemlenmiştir. Zeytinyağında çözünen propolisteki antioksidan değeri 458,54 mg AAE/g ile en yüksek bulunmuş olup, sonrasında antioksidan seviyesi yüksekten düşüğe etil alkol, propilen ve suda çözünen propolislerde tespit edilmiştir. Yine buna paralel olarak en yüksek antioksidan aktivite değeri zeytinyağı çözünen propoliste bulunmuştur (Şahin, 2019).

Kumawazavd (2004) çeşitli coğrafi kökenlerden propolislerin antioksidan aktivitesi karşılaştırmak için Arjantin, Avustralya, Brezilya, Bulgaristan, Şili, Çin, Macaristan, Yeni Zelanda, Güney Afrika, Tayland, Ukrayna, Uruguay, Amerika Birleşik Devletleri ve Özbekistan'dan numuneler almış ve farklı coğrafi kökenlere sahip propolislerde bileşenlerde ve kantitatif değerlerde farklılıklar gözlemlemiş ve bu nedenle propolisin kalitesini değerlendirmenin zor olduğunu ifade etmiştir.

Yapılan bir çalışmada propolisin Dimetil sülfoksit (DMSO)'lu ekstraktının Trolox Antioksidan Eşdeğeri üzerinden toplam antioksidan kapasitesinin (248,50 mmol TAE/100 g propolis) etanollü, gliserollü, asetonlu ve sulu ekstraktlarındaki toplam antioksidan kapasitesinden daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Veriler göz önüne

alındığında propolis ekstraktında kullanılan farklı çözücülerin propolisin antioksidan kapasitesinde etkili olduğu açıkça görülmektedir (Çakıroğlu, 2010).

4.4 Propolis Örneklerinin Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Ulusal pazardan temin edilen 14 adet sıvı propolis örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri HPLC cihazı ile tespit edilmiş olup, sonuçlar Tablo 4.4’de verilmiştir.

Propolis örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri en düşük 372,22 µg/ml (P5) ve en yüksek 30333,33 µg/ml (P12) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.4 Sıvı propolis numunelerinin toplam fenolik madde içerikleri

Ürün grubu	Numune	GAE (µg/ml)
Su bazlı	P1	3250,00±50,00 ^{gB}
	P2	3427,78±16,67 ^{gB}
	P3	916,67±5,56 ^{ijB}
	P4	7511,11±133,33 ^{eB}
	P5	372,22±5,56 ^{iB}
	P6	1066,67±66,67 ^{iB}
	P7	2094,44±127,78 ^{hB}
Alkol bazlı	P8	10138,89±72,22 ^{dA}
	P9	18472,22±150,00 ^{bA}
	P10	29961,11±116,67 ^{aA}
	P11	13444,44±33,33 ^{cA}
	P12	30333,33±222,22 ^{aA}
	P13	5983,33±127,78 ^{fA}
	P14	13372,22±227,78 ^{cA}

*Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

**Aynı sütundaki farklı büyük harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

Tüm örneklerin toplam fenolik madde değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur. Örneklerin fenolik madde içerikleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli (p<0,05) bulunmuştur. Alkol ve su bazlı grupların

kendi içerisinde veriler arasındaki farkın ise önemsiz olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Bu sonuca göre çözgen veya baz olarak kullanılan maddenin nihai ürünün fenolik madde içeriği üzerinde etkili olduğunu söylenebilir. Diğer taraftan ürünlerin toplam fenolik madde içeriğindeki geniş dağılımın kullanılan çözgenin yanı sıra propolisin işleme tekniği ve proses parametrelerinden de etkilenmiş olabileceği düşünülmektedir.

Numuneler içerisinde en düşük değer ekstrakt oranı en yüksek (%40) olmasına rağmen 372,22 GAE ($\mu\text{g/ml}$) ile P5 numunesinde okunmuştur. En yüksek fenolik madde içeriği ise 30333,33 GAE ($\mu\text{g/ml}$) ile P12 numunesinde görülmüştür.

Aliyazıcıoğlu vd. (2013) yaptıkları çalışmada, fenolik bileşiklerden bazılarını analiz etmiş ve 10 değişik yerden temin edilen propolislerin in vitro biyolojik aktivitelerini incelemiştir. Sonuç olarak Artvin dışındaki tüm propolislerin yüksek düzeyde fenolik bileşiğe sahip olduğunu ve propolis metanolik ekstraktların FRAP değerlerinin 54,38 ile 85,56 M Fe (II) / g propolis aralığında bulunduğunu bildirmiştir. Güney Eskişehir, İzmir ve Sinop propolisinin FRAP değerlerinin diğerlerinden anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Ayrıca Eskişehir ve Kastamonu'nun güney ve kuzeyi arasındaki FRAP ve total fenollerin anlamlı farklı değerleri bulunmuştur ($p < 0,05$). Propolis örneklerinin fenolik içerik ile FRAP değerleri arasında da yüksek pozitif korelasyon bulunmuştur ($r^2=0,73$).

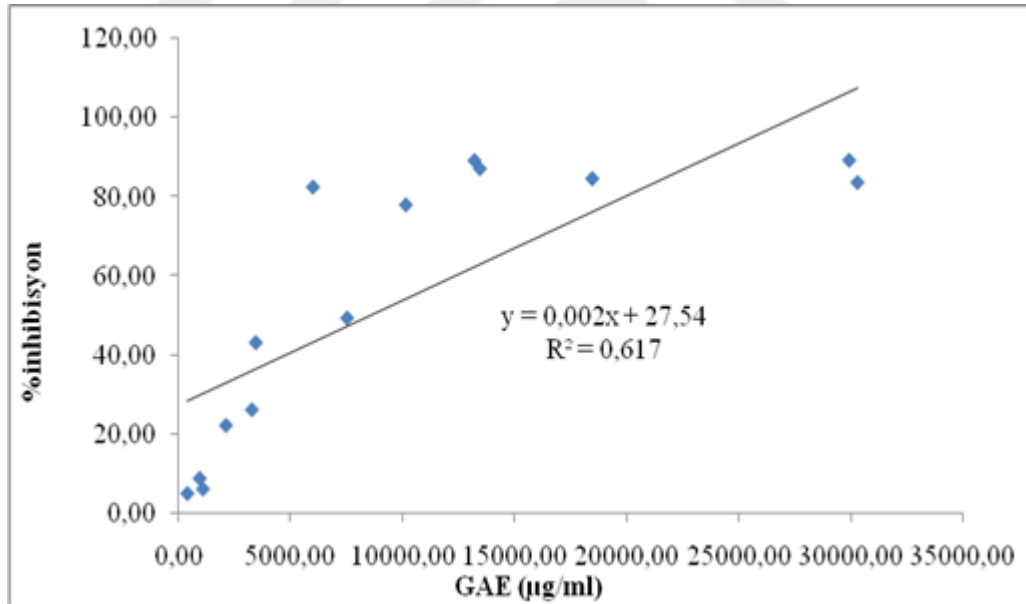
Ahn vd. (2007), Çin'de 12 farklı bölgeden propolis toplamış ve bir lokasyon hariç diğer propolislerin antioksidan özelliği bulunduğunu, içeriklerinde kafeik asit, ferulik asit ve kafeik asit fenil esterlerinin yüksek düzeyde bulunduğunu belirlemişlerdir.

Keskin (2018) Türkiye'den topladıkları ham propolis örneklerinde, yapılan araştırma bulgularına benzer olarak çözücü olarak etanol kullandığında toplam fenolik madde içeriğini 16,13-178,38 mg GAE/g propolis düzeyinde belirlemişlerdir. Buna karşılık çözücü olarak su kullandıklarında toplam fenolik madde düzeyini çok daha düşük düzeylerde (0,07-0,22 mg GAE/g propolis) belirlemişlerdir (Keskin, 2018).

Kubiliene vd. (2015) çalışmalarında Litvanya bölgesinden örnekler toplamış, farklı çözücülerle ekstrakte etmiş ve etanolle ekstrakte edilen propolis için 12,7 mg/mL GAE, suyla ekstrakte edilen propolis için 1,6 mg/mL GAE ve zeytinyağı ile ekstrakte

edilen propolis için 0,5 mg/mL GAE değerlerini bulmuşlardır. Yapılan farklı bir çalışmada ise propolis ekstraksiyonunda etanol ve propilen glikol kullanılmış, etanollü ekstraktın toplam fenolik içeriğinin (21–34 g/100 g), propilen glikollü ekstraktın içeriğinden (20–30.3 g/100g) fazla olduğu bildirilmiştir (Bonvehi ve Gutiérrez, 2011).

Fenolik ürünlerin etkisini pekiştirmek için yapılan çalışmalarda fenolik madde miktarına orantılı şekilde, antioksidan kapasitenin ve de antimikrobiyal, anti-tümoral, antiinflamatuvar, antiviral, anti-fungal vs gibi diğer bütün biyolojik aktivitelerin de arttığı bir çok çalışmayla ispat edilmiştir (Huang vd., 2005; Kolaylı vd., 2010; Küçük vd., 2007; Sarıkaya vd., 2009; Tezcan vd.,2011). Bu çalışmada da, incelenen örneklerin antioksidan aktivite (%inhibisyon) ve toplam fenolik madde miktarları (µg/ml) arasında Pearson korelasyon testine göre pozitif korelasyon tespit edilmiş ve istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.



Şekil 4.1 Sıvı propolis örneklerinin antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarları arasındaki korelasyonu gösteren grafik

Fenolik bileşenlerden olan flavonoidlerin, taşıdığı hidroksil gruplarının birbirlerine bulundukları pozisyonlarının antioksidan kapasitesini değiştirdiği bilinmektedir (Cai vd., 2006). Sonuç olarak var olan spesifik bir flavonoidin varlığı toplam fenolik madde miktarını arttırabilir ve bu durum toplam antioksidan kapasiteyi arttırabilir.

4.5 Propolis Örneklerinin Mineral Madde İçerikleri

Ulusal pazardan temin edilen 14 adet sıvı propolis örneğinin ICP-OES cihazı ile mineral madde içerikleri tespit edilmiştir. Numunelerin kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum(K), manganez (Mn), demir (Fe) ve çinko (Zn) değerlerinin ölçümü yapılmış olup, sonuçlar Tablo 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.5 Sıvı propolis numunelerinin mineral madde içerikleri

Numune	Ca (ppm)	Mg (ppb)	K (ppm)	Mn (ppb)	Fe (ppb)	Zn (ppb)
P1	59,40±1,00 ^{deB}	4628,35±167,40 ^{aD}	179,45 ±10,0 ^{ghC}	< 0,076	884,90±43,40 ^{ba}	< 0,554
P2	27,20±0,30 ^{deB}	1615,2±9,75 ^{aEF}	151,00±3,20 ^{hD}	< 0,076	118,05±1,50 ^{dC}	< 0,554
P3	24,30±0,15 ^{deB}	1225,45±5,75 ^{aF}	99,80±0,95 ^{IE}	< 0,076	< 1,243	< 0,554
P4	28,00±0,30 ^{deB}	2350,45±18,70 ^{aE}	160,4±3,20 ^{hCD}	36,45±0,080 ^{efC}	< 1,243	< 0,554
P5	57,55±0,20 ^{deB}	11003,6±15,10 ^{aB}	58,05±1,10 ^{IF}	< 0,076	< 1,243	< 0,554
P6	212,15±3,50 ^{abA}	8038,75±63,45 ^{aC}	235,00±3,65 ^{FB}	231,05±4,6 ^{cB}	263,45±2,95 ^{cB}	127,6±7,50
P7	257,75±30 ^{aA}	35350,3±406,12 ^{aA}	1097,65±6,35 ^{ba}	449,5±29,64 ^{aA}	< -5.616	89,15±34,84
P8	111,6±1,55 ^{cC}	12863,75±178,35 ^{aA}	642,7±4,20 ^{dC}	132,35±2,40 ^{dD}	5472,4±38,25 ^a	15582,8±91,00
P9	30,3±0,05 ^{deE}	2596,5±32,50 ^{aA}	153,6±1,70 ^{hF}	< 0,076	< 1,243	< 0,554
P10	155,4±0,85 ^{cB}	15635,75±166,8 ^{aA}	720,2±2,30 ^{cB}	363,75±2,80 ^{IF}	< 1,243	< 0,554
P11	16,30±0,15 ^{eF}	2373,00±21,30 ^{aA}	198,70±2,05 ^{gE}	< 0,076	< 1,243	< 0,554
P12	63,05±0,40 ^{dD}	18029,00±2,42 ^{aA}	571,8±4,95 ^{eD}	61,55±0,03 ^{eE}	< 1,243	< 0,554
P13	209,30±2,75 ^{ba}	51504,50±133,50 ^{aA}	1831,00±6,65 ^{aA}	403,40±2,95 ^{ba}	< 1,243	142,3±8,45
P14	57,5±0,55 ^{deD}	5767,10±46,05 ^{aA}	194,4±0,35 ^{gE}	225,15±2,50 ^{cC}	< 1,243	< 0,554
p*	0,140	0,817	0,238	0,940	0,007	0,001

1 mg/kg = 1000 ppb 1 ppm = 1000 ppb

*Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

**Aynı sütundaki farklı büyük harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

Sıvı propolis örneklerinin mineral madde değerleri kalsiyum için değerler en düşük P11 numunesinde 16,30 ppm ve en yüksek P7 numunesinde 257,7 ppm olarak okunmuştur. Magnezyum için en düşük P3 numunesinde 1225,45 ppb ve en yüksek P13 numunesinde 51504,50 ppb olarak okunmuştur. Potasyum için en düşük P5 numunesinde 58,05 ppm ve en yüksek P13 numunesinde 1831,00 ppm olarak okunmuştur. Manganez için değerler en düşük P3 numunesinde <0,076 ppb ve en yüksek P7 numunesinde 449,5 ppb olarak okunmuştur. Demir için en düşük P4 numunesinde <1,243 ppb ve en yüksek P8 numunesinde 5472,4 ppb olarak okunmuştur. Çinko için en düşük P1 numunesinde <0,554 ppb ve en yüksek P8 numunesinde 15582,8 ppb olarak okunmuştur.

numunesinde 15582,8 ppb okunmuştur. Çinko için değerin bu denli yüksek olmasının sebebi P8 numunesinin etiket ibaresinde Zn ilavesi olduğunu belirtmiş olmasıdır.

14 sıvı propolis örneğinin Ca değerlerinin istatistiğine bakıldığında tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin Ca değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin Ca değerlerinin kendi grupları içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

14 sıvı propolis örneğinin Mg değerlerinin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği görülmüştür ($p>0,05$). Örneklerin Mg değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde su bazlı propolis örneklerinin Mg değerlerinin kendi grupları içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği ($p<0,05$), alkol bazlı örneklerin ise kendi aralarında anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

14 sıvı propolis örneğinin K değerlerinin istatistiğine bakıldığında tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin K değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin K değerlerinin kendi grupları içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

14 sıvı propolis örneğinin Mn değerlerinin istatistiğine bakıldığında tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin Mn değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan

çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin Mn değerlerinin kendi grupları içerisinde anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bazı propolis örneklerinin Mn değerlerinin cihaz ölçüm limitinin altında (0,076 ppb) değer vermesinden dolayı bu örneklerde istatistiki değerlendirme yapılamamıştır.

14 sıvı propolis örneğinin Fe değerleri incelendiğinde tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin Fe değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin Fe değerlerinin su bazlı grupta anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Alkol bazlı grupta ise P8 numunesi haricindeki örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bazı propolis örneklerinin Fe değerlerinin cihaz ölçüm limitinin altında (1,243 ppb) değer vermesinden dolayı bu örneklerde istatistiki değerlendirme yapılamamıştır.

Su bazlı örnekler arasında Zn değeri yalnızca P6 ve P7 örneklerinde, alkol bazlı propolislerde P8 ve P13 örneklerinde tespit edilmiştir. Su bazlı ve alkol bazlı grupları için örneklerin çoğunun cihaz algılama limitinin altında (0,554 ppb) değer vermesinden dolayı istatistik oluşturulamamıştır.

Bu veriler incelendiğinde mineral değerlerinde çözücü dışında ekstraksiyon çeşidi, süresi, sıcaklığı gibi başka faktörlerin bu değişime etki ettiği düşünülmektedir. Ristivojević vd. (2023) Sırbistan’da yaptıkları çalışmada coğrafik ve botanik orijinleri bakımından farklılık gösteren 22 propolis numunesinin makro ve mikro element içeriğini incelemiş, makro elementlerin (Na, Ca, Mg, K ve P) daha yaygın olduğunu mevcut Ca içeriğinin en yüksek, Na içeriğinin ise en düşük olduğunu belirlemişlerdir. Toksik element analizinde ise analiz edilen numunelerin hiçbirinde As ve Hg tespit edilmemiştir.

Soós vd. (2019) ekstraksiyon süresine ve ekstraksiyon çözücüsünün etanol içeriğine bağlı olarak propolis ekstraktlarının mineral içeriğini incelemişlerdir. Bu çalışma, propolis ekstraktlarının element içeriğinin, ekstraksiyon çözücüsünün bileşiminden

önemli ölçüde etkilendiğini ve çoğu durumda ekstraksiyon süresinin büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermesi açısından önemlidir. Analiz edilen elementlerin çoğunun, sulu çözeltilerde etanol içeren çözücülere göre daha iyi çözüldüğü, bununla birlikte, birkaç istisna dışında insan vücudu için gerekli olan elementlerin %50 veya %80 (h/h) etanol içeren çözücülerde de iyi bir şekilde özütlendiği tespit edilmiştir.

Arda (2022) tarafından yapılan çalışmada, propolis ürünlerindeki makro ve mikro element içeriklerinin ICP-OES ile tayini için yaptığı çalışmada ticari propolis damla numunelerinde 11 elementin (Na, Ca, Mg, K, Al, B, Cu, Fe, Mn, P ve Zn) konsantrasyonları araştırılmış, 10 elementin (As, Bi, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb ve Hg) çok küçük konsantrasyonlarda bulunması ve tespit edilebilme sınırının altında olmasından dolayı ICP-OES cihazı ile tespitleri yapılamamıştır. Ticari propolis damla numunelerinde genel olarak, Fe ve Na elementi hariç diğer tüm konsantrasyonları belirlenen elementlerin (Ca, Mg, K, Al, B, Cu, Mn, P ve Zn) A markası olarak bilinen su ile ekstrakte edilmiş numunede, alkol ve su+gliserol ile ekstrakte edilmiş örneklerden daha yüksek bulunduğu belirlenmiştir.

Gong vd., (2012) Çin'den toplanan 31 propolis örneğinin Ca, Al, Mg, K, Fe, Na, Zn, Mn, Sr, Cu, Cr, Ni ile As, Cd, ve Pb gibi toksik elementlerin ICP ile belirlenen içeriği ile coğrafi kökeni arasındaki ilişkileri incelenmiş, propolisteki ortalama Ca, Al, Mg, K, Fe, Na, Zn, Mn, Pb, Sr ve Cd içeriğinin 1449,1 mg/kg; 971,2 mg/kg; 552,5 mg/kg; 1137,4 mg/kg; 1188,4 mg/kg, 497,5 mg/kg; 160,8 mg/kg; 36,93 mg/kg; 19,92 mg/kg; 8,70 mg/kg ve 0,60 mg/kg iken As, Cu, Cr ve Ni elementleri birçok örnekte tespit edilmemiştir. Propolis örneklerinin element konsantrasyonu ilişkilerini ortaya çıkarmak için çok değişkenli analiz kullanılmış olup element ile coğrafi kökenin gruplandırmada doğru orantılı olduğu sonucuna varılmıştır.

4.6 Propolis Örneklerinin Ağır Metal İçerikleri

Ulusal pazardan temin edilen 14 adet sıvı propolis örneğinin ICP-OES cihazı ile ağır metal içerikleri tespit edilmiştir. Numunelerdeki Civa(Hg), Arsenik (As), Kadmiyum (Cd), Kurşun (Pb) kalıntıları tespit edilmiş olup Tablo 4.6'da değerler verilmiştir.

Tablo 4.6 Sıvı propolis numunelerinin ağır metal analiz sonuçları

	Numune	Hg	As (ppb)	Cd (ppb)	Pb (ppb)
Su Bazlı	P1	<0,4	< 3,034	199,80±4,10 ^{aA}	502,7±51,60 ^{eB}
	P2	<0,4	< 3,034	211,40±1,75 ^{aA}	662,35±17,35 ^{deAB}
	P3	<0,4	< 3,034	214,15±1,05 ^{aA}	684,00±13,05 ^{cdAB}
	P4	<0,4	< 3,034	197,85±0,05 ^{aA}	688,30±21,70 ^{bcdAB}
	P5	<0,4	< 3,034	227,90±1,65 ^{aA}	832,1±41,00 ^{abcA}
	P6	<0,4	< 3,034	223,30±1,80 ^{aA}	812,60±0,10 ^{abcdA}
	P7	<0,4	< 3,034	227,40±47,84 ^{aA}	824,45±70,20 ^{abcdA}
Alkol Bazlı	P8	<0,4	< 3,034	185,60±0,10 ^{aE}	855,15±22,75 ^{aA}
	P9	<0,4	1898,35±182,80 ^{bAB}	211,00±2,80 ^{aD}	761,9±19,75 ^{abcdB}
	P10	<0,4	1031,25±56,3 ^{cC}	227,25±1,90 ^{aAB}	806,3±14,7 ^{abcdAB}
	P11	<0,4	2445,80±76,95 ^{aA}	209,40±1,10 ^{aD}	764,20±17,10 ^{abcdB}
	P12	<0,4	1129,25±3,51 ^{cC}	232,40±0,08 ^{aA}	805,40±0,20 ^{abcdAB}
	P13	<0,4	< 3,034	216,45±2,15 ^{aCD}	849,45±9,40 ^{abA}
	P14	<0,4	1336,75±182,1 ^{cBC}	221,15±1,45 ^{aBC}	781,15±7,60 ^{abcdAB}
P*			<0,001	0,416	0,006

1 mg/kg = 1000 ppb

*Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

**Aynı sütundaki farklı büyük harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğunu göstermektedir.

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği (2011) Ekler Bölüm 3’de belirtilen ağır metal bulaşı limitleri Gıda Takviyeleri için sınırlandırılmıştır. Yönetmeliğe göre Pb için 3 mg/kg, Cd için 1.0 ppm, Hg için 0,1 ppm olarak limit değerler verilmiştir. Tüm propolis örneklerinde Hg analizi yapılmasına rağmen Hg içerikleri cihaz ölçüm limitinin (0,4 ppm) altında tespit edilmesinden dolayı veriler arasında istatistiksel analiz ve TGK Bulaşanlar Yönetmeliğine göre değerlendirme yapılamamıştır.

Analizi yapılan sıvı propolis örneklerinin Kadmiyum (Cd) kalıntı değerleri incelendiğinde en düşük P8 örneğinde 185,6 ppb ve en yüksek P12 örneğinde 232,40 ppb olduğu belirlenmiştir.

14 sıvı propolis örneğinin Cd değerlerinin istatistiğine bakıldığında tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği görülmüştür

($p>0,05$). Örneklerin As değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Su bazlı ve alkol bazlı grupların kendi içinde yapılan çoklu varyans analizi neticesinde propolis örneklerinin Cd değerlerinin su bazlı grup içerisinde anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($p>0,05$). Alkol bazlı grupta ise fark anlamlıdır ($p<0,05$). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nin Ek-1'inde yer alan ve maksimum limit Cd için 1,0 mg/kg olarak belirlenmiş olup, bu limite tüm numunelerin uygun olduğu bulunmuştur.

Sıvı propolis örneklerinden Kurşun (Pb) miktarı en düşük P1 örneği (502,7 ppb) ve en yüksek P8 örneği (855,15 ppb) olduğu belirlenmiştir. 14 sıvı propolis örneğinin Pb değerlerinin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin Pb değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nin Ek-1'inde Kurşun (Pb) için gıda takviyelerinde bulunabilecek maksimum limit 3 mg/kg olarak verilmiş olup, örneklerin tümü bu limitin altında kalmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde gıda takviyeleri için belirtilmiş herhangi bir maksimum kalıntı limit değeri bulunmaktadır. Ancak ham propolisin arılar tarafından üretiminde çevreden veya ekstraksiyonda proses veya çözgen maddeden gelebilecek As kalıntısı taşınma ihtimalinden yola çıkılarak, bu çalışma kapsamında As miktarları da kontrol edilmiştir. As değerleri açısından tüm örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Örneklerin As değerleri su bazlı ve alkol bazlı iki örnek grubu arasında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farklılık bağımsız değişkenler t-testine göre önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Bazı propolis örneklerinin As değerlerinin cihaz ölçüm limitinin altında (3,034 ppb) değer vermesinden dolayı bu örneklerde istatistiki değerlendirme yapılamamıştır. Alkol bazlı grup verilerinin kendi aralarındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Suda çözünür propolislerde hiç As kalıntısına rastlanmamış olup alkol bazlı grupta kayda değer miktarda As kalıntısına rastlanılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde herhangi bir limit değeri bulunmadığından numunelerin standartlara uygunluğuna dair değerlendirme

yapılamamıştır. Diğer ağır metal bulaşı miktarlarına göre As seviyelerinin daha yüksek olması, TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde gıda takviyeleri için As miktarı seviyesi için de limit değer bulundurulması gerekliliğini düşündürmektedir. Ayrıca özellikle alkol bazlı ürünlerde As seviyesinin yüksek olması, As bulaşısının ticari sıvı propolis üretiminde ekstraksiyonda kullanılan tarımsal etil alkolün safsızlığını ve bulaşı kaynağı olabileceğini de göstermektedir.

Propolisteki mineral içerikleri üretildiği coğrafi bölgelerin ayırt edici bir özelliği, çevre kirliliğinin bir göstergesi ve güvenilir izlenebilirlik yöntemleri geliştirmek için kullanılır (Pierini vd.,2013). Toprakta ve bitkilerde biriken ağır metallerin düzeyi ile arı ürünlerindeki içerikleri arasında yakın bir ilişki vardır (Kabata-Pen-dias, 2011). Propolis, polifloral bala göre toksik elementlerle çok daha fazla kirlenir, ancak her ikisi de biriken toksik elementlerin seviyesinin belirlenmesi yoluyla çevre kirliliğinin derecesini değerlendirmek için biyoindikatör olarak kullanılabilir (Roman vd., 2011). Düşük bir konsantrasyonda bile, bu tür elementler birçok hastalığa ve insan organizmasının işleyişinde anormalliklere neden olabilir. Yapılan bir araştırmada İtalya Roma'da şehir merkezinin yoğun trafikli bir bölgesine ve farklı bölgelerde 5 noktaya arı kolonileri yerleştirilmiştir. Kovanlardan alınan bal, polen, propolis ve balmumu örneklerinin ağır metal (Pb, Cd, Cr) düzeyleri kıyaslandığında, şehir merkezinden alınan propolis örneklerindeki değerler daha yüksek olmakla birlikte; Pb 4,32 µg/kg, Cd 6,59 µg/kg, Cr 7,03 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucu olarak yoğun trafik bulunan alanlarda üretilen bal ve polenin içeriğinde propolise göre daha az ağır metal birikimi olduğu belirlenmiştir (Conti ve Botre, 2001).

Başka bir çalışma Polonya'nın Wrocław kentinde yürütülmüş olup farklı 20 kovandan 100 bal ve 100 propolis örneği alınmış As, Cd, Cu, Pb ve Zn kalıntıları incelenmiştir. Bal ve propolis için bakılan ağır metallerin birikim seviyeleri Zn>Cu>Pb>As>Cd olarak bildirilmiştir. Propoliste ise değerler ortalama olarak Zn 48,08 mg/kg; Cu 6,95 mg/kg; Pb 5,74 mg/kg; Cd 0,194 mg/kg tespit edilmiştir. Elementler arasında en yüksek konsantrasyonlara propoliste rastlanılmış olup propolisteki ağır metal birikiminin, propolisin elde edildiği lokasyonla birebir ilişkili olduğu bildirilmiştir (Roman vd., 2011).

Benzer bir çalışma Tokat ilinde yoğun trafikle propoliste ağır metal kalıntısı arasında ilişkiyi incelemek için yapılmıştır (Arıkan, 2010). Tokat-Turhal karayolunun kenarına 36 adet arı kolonisi konulmuş ve bu kolonilerden propolis örnekleri alınarak Cu, Zn, Fe, Cd, Cr, Pb ve Mn içeriklerine bakılmıştır. Propolis örneklerinde değerler ortalama şu şekildedir; Cu için 2,412 µg/kg; Zn için 349,79 µg/kg; Fe için 242,43 µg/kg; Cd için 0,138 µg/kg; Cr için 4,242 µg/kg; Pb için 5,090 µg/kg; Mn için 5,424 µg/kg. Çalışma sonucuna göre Cd birikiminin en çok trafiğin fazla olduğu yol düzleminde olduğu gözlenmiştir. Diğer arı ürünleri ile kıyaslandığında Pb birikimi en çok propoliste olmuştur (Arıkan, 2010).

4.7 Propolis Örneklerinin Fenolik Madde Kompozisyonları

Ulusal pazardan temin edilen 14 adet sıvı propolis örneğinin LC-MS/MS cihazı ile fenolik madde kompozisyonları tespit edilmiştir. Fenolik madde kompozisyonları, flavanoid madde içerikleri (Tablo 4.7) ve fenolik asit içerikleri (Tablo 4.8) olarak ayrı tablolarda verilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Taslak Tebliği'nde gıda takviyesi olarak tüketime sunulacak sıvı propolislerin tebliğ ekindeki tabloda verilen fenolik maddelerden (p-kumarik acid, Pinobanksin 3-asetat, Galangin, Sinnamik asit, Krisin, Pinosembrin, Kafeik asit, Kaempferol, Ferulik asit, Benzoik asit, Kuersetin, Artepilin C, Naringenin, Katekol, Rutin, Mirisetin, Hesperidin, Apigenin, CAPE, Klorojenik asit) en az 8 tanesini ve her birini en az 1 mg/L veya 1 mg/kg olacak şekilde içermesi gerektiği öngörülmektedir. Tablo 4.7 ve Tablo 4.8'de taslak tebliğde adı geçen bu fenolik maddeler yıldız (*) işareti ile belirtilmiştir. Bu çalışma kapsamında incelenen ticari sıvı propolislerden P5 numunesi hariç, diğer tüm propolis örneklerinin tebliğde bahsi geçen fenolik madde içeriği şartı sağladıkları ve en az 8 adet fenolik maddeyi ve en az 1mg/kg (1000 ppb) düzeyinde içerdikleri tespit edilmiştir.

Genel olarak flavanoid madde kompozisyonu incelendiğinde bileşen değerlerinin geniş bir aralıkta değişim gösterdiği, alkol bazlı sıvı propolislerin toplam fenolik madde içeriklerinin su bazlılardan yüksek olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.7 Sıvı propolis numunelerinin flavanoid madde içerikleri

	(ppb)	Kateşin	Mirisetin*	Naringenin*	Kuersetin*	Rutin trihidrat*	Luteolin	Krisin*	Apigenin	CAPE	Triasetin	Toplam flavanoid (ppm)
Su Bazlı	P1	1698,28	1109,37	241,54	723,62	480,69	-----	163171,53	52191,19	1582,39	1938,53	223,137
	P2	425,66	1216,36	822,65	820,53	495,27	-----	83540,17	61255,76	2475,28	3338,48	154,390
	P3	2278,98	1231,35	29137,31	12119,98	1211,38	-----	42383,26	15946,98	30759,63	2662,11	137,731
	P4	1594,73	1223,18	50326,08	1226,59	1302,52	-----	183255,37	62563,74	302348,06	2677,54	606,518
	P5	668,87	108,82	1275,95	163,28	50,16	-----	12132,26	3441,37	65,90	5351,08	232,576
	P6	171,21	1109,21	15384,22	1505,74	503,31	-----	56712,49	11724,32	44490,57	2773,36	134,374
	P7	1554,47	2538,24	31700,26	28273,76	8653,00	1409,32	31654,46	38448,91	62663,48	2259,10	209,155
Alkol Bazlı	P8	501,66	1894,13	41203,99	43532,22	30997,50	5330,91	88643,11	122669,46	136380,31	-----	471,153
	P9	1517,46	7192,16	92555,68	110944,03	25826,11	11508,03	83669,99	103957,15	431734,70	1733,27	870,639
	P10	1006,02	27877,75	187138,01	335933,89	4582,85	68736,66	173957,97	97849,53	804898,84	3481,76	1705,463
	P11	1030,00	1516,66	91773,18	154905,19	6606,80	40295,97	125398,19	152157,10	476212,41	2430,03	1052,326
	P12	1464,30	8707,65	146142,00	122668,44	2088,98	112053,92	172442,71	313710,50	697909,15	11001,99	1588,190
	P13	823,28	2051,87	67871,83	42315,71	12538,39	11459,01	84767,58	73791,34	222212,11	3534,82	521,366
	P14	1195,56	2283,71	63196,52	62623,03	3083,76	856,75	107240,42	43526,17	474079,80	9511,22	767,597

Sıvı propolis örnekleri içerisinde en düşük toplam flavanoid içeriğe sahip su bazlı P5 (23257,69 ppb) örneği iken, en yüksek içeriğe alkol bazlı P10 (1705463,27 ppb) örneğinin sahip olduğu tespit edilmiştir. Luteolin flavanoidinin, çalışma kapsamında incelenen 7 adet su bazlı sıvı propolisten 6 adedinde yer almadığı yalnızca P7 örneğinde ve tüm alkol bazlı örneklerde bulunduğu tespit edilmiştir. Su bazlı sıvı propolis örneklerinde özellikle baskın flavanoidlerin CAPE, Apigenin, Chrysin ve Naringenin olduğu, alkol bazlılar da ise bunlara ilave olarak Quercetin flavanoidinin de baskın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Su bazlı örnekler içerisinde en yüksek CAPE, Apigenin, Chrysin ve Naringenin içeriğine sahip örneğin P4 olduğu belirlenmiştir. Alkol bazlılar içerisinde en yüksek CAPE, Chrysin, Quercetin ve Naringenin içeriğine sahip örneğin ise P10 olduğu belirlenmiştir.

Toy (2019)'un yapmış olduğu çalışmada Marmara Bölgesi Güney Marmara bölümünden 48 propolis örneği toplanarak kimyasal içerikleri incelemiş, her bileşik grubunun farklı 5 ilde hatta illerin içinden alınan gruplarda dahi farklı değerlere sahip olduğu bildirilmiştir. Her ilin coğrafi özelliklerinin farklı olmasının (Yalova ilini makro-klima iklim tipine sahip, Çanakkale ili ormanlık, Balıkesir ise 3 iklimi barındırıyor olması) ve de bitki örtüsünün (zeytinlik, çayır, gürgen, ıhlamur vb.) propolisin bileşimini farklılaştırdığı belirtilmiştir (Toy, 2019).

Kahraman vd (2022), Türk arı poleni ve propolisin etanolik özütlerinde fenolik bileşim, antiradikal, antiproliferatif ve antibakteriyel aktivitelerine dair yaptıkları çalışmada propolis ekstraktının kateşin, sinapinik asit, o-kumarik asit, rutin, hesperidin, kuersetin, ancak daha yüksek miktarlarda sinnamik asit (8256,1 µg/g) ve apigenin (3965,9 µg/g) ve daha düşük miktarlarda da klorojenik asit (24,3 µg/g) ve siringic asidi (18,4 mg) içerdiğini bildirmişlerdir.

Coelho vd. (2017) Brezilya'nın farklı bölgelerinden alınan on altı propolis örneğinin etanolik özütünün 1000–27200 µg/g konsantrasyonlarda p-kumarik asit içerdiğini, fenolik profilinde kafeoilkinik asit türevlerinin yanı sıra dihidrokaempferid ve artepillin C'nin ana bileşikler olduğunu bildirmişlerdir.

Tablo 4.8 Sıvı propolis numunelerinin fenolik asit içerikleri

	(ppb)	Sinamik asit*	Gallik asit*	Tannik asit	Kafeik asit*	2-5, Dihidroksi benzoik asit*	Trans ferulik asit*	Elajik asit	Toplam fenolik asit (ppm)
Su Bazlı	P1	58450,54	13753,26	-----	4782,78	6,79	4473,17	2347,21	83,814
	P2	53905,98	18036,81	-----	8577,11	205,52	5541,38	9614,61	95,881
	P3	17967,96	2426,63	-----	120729,46	-----	9274,57	10387,19	160,786
	P4	81810,10	4044,50	-----	114837,86	50,59	728639,38	2074,71	931,457
	P5	584,38	4898,46	-----	4198,82	28,49	1557,38	223,80	11,491
	P6	8631,01	6729,90	-----	147326,29	-----	75817,91	1848,80	240,354
	P7	10538,64	4279,65	-----	352788,11	208,05	257101,52	24222,41	649,138
Alkol Bazlı	P8	99732,59	20968,94	-----	25871,21	763,58	57368,14	46999,98	251,705
	P9	213153,99	9250,30	176506,07	407085,56	91,28	71362,26	96421,70	973,871
	P10	96462,05	5914,59	-----	515156,69	308,98	1348264,31	251768,28	2217,875
	P11	250661,62	10022,72	-----	317015,62	39,28	140639,74	142636,50	861,016
	P12	141871,22	4392,37	-----	356322,53	-----	260053,17	120861,73	883,501
	P13	87747,12	11753,58	53549,92	524699,46	267,67	141010,21	33164,36	852,192
	P14	184581,14	24595,99	-----	451022,94	146,21	874694,26	56777,39	1591,818

Tablo 4.8’de sıvı propolis örneklerinin fenolik asit içerikleri yer almaktadır. Sıvı propolis örnekleri içerisinde en düşük toplam fenolik asit içeriğine sahip su bazlı P5 (11,491 ppm) örneği iken, en yüksek içeriğe alkol bazlı P10 (2217,875 ppm) örneğinin sahip olduğu tespit edilmiştir. Tannik asidin çalışma kapsamında incelenen 7 adet su bazlı sıvı propolisin hiç birisinde yer almadığı, alkol bazlı örneklerde ise yalnızca P9 ve P13 örneklerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Su bazlı sıvı propolis örneklerinde özellikle baskın fenolik asitlerin Trans ferulic asit, Kafeik asit, Sinnamik ve Gallik asitler olduğu, alkol bazlılar da ise Trans ferulic asit, Kafeik asit ve Sinnamik asitten sonra Ellajik asidin baskın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Su bazlı örnekler içerisinde en yüksek fenolik asit içeriğine sahip örneğin P4 olduğu, alkol bazlılar içerisinde ise P10 örneği olduğu belirlenmiştir.

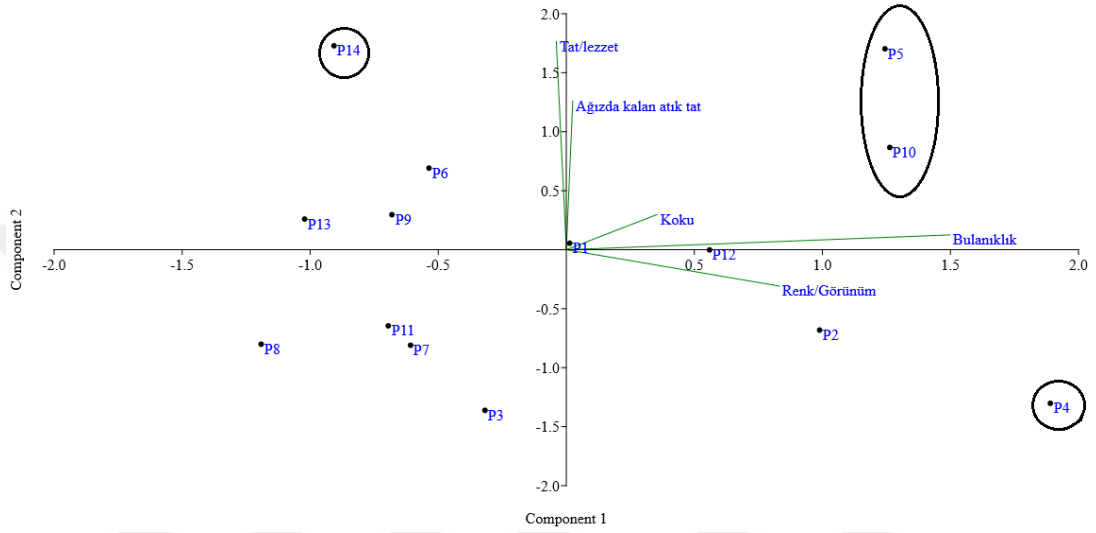
4.8 Propolis Örneklerinin Duyusal Analiz Sonuçları

14 adet sıvı propolis ekstraktı duyusal analiz için hazırlanarak 7 panelist ile analizi yapılmıştır. Tat/lezzet, koku, bulanıklık, renk/görünüm, ağızda kalan atık tat olmak üzere 5 kriter belirlenerek panelistlere örneklere 1’den 5’e kadar puan vermeleri istenmiştir. Doldurulan formlardaki değerlerin ortalaması ve standart sapması hesaplanmış olup Tablo 4.9’da verilmiştir.

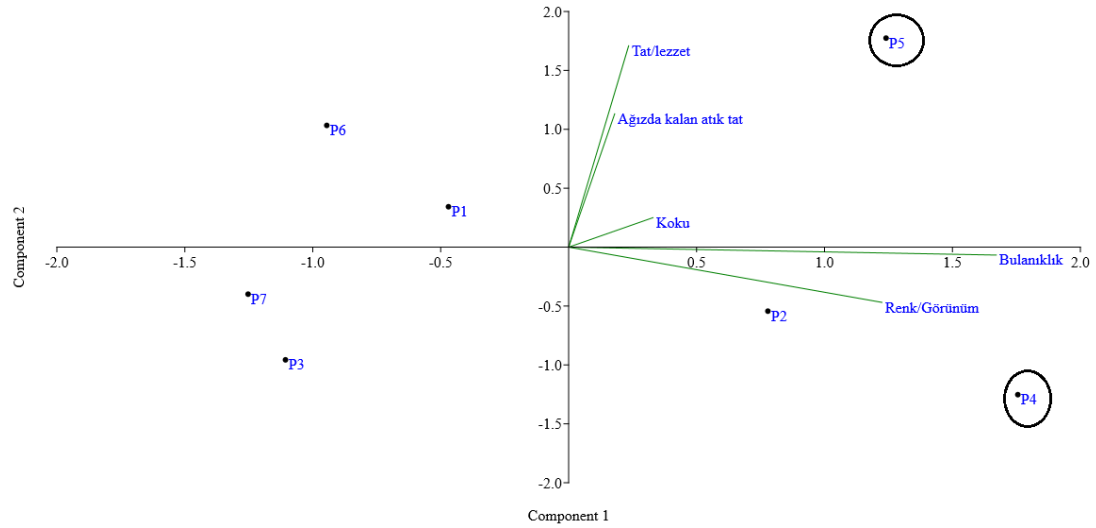
Tablo 4.9 Sıvı propolis numunelerinin duyusal analiz değerlendirmeleri

	Numune	Tat/Lezzet	Koku	Bulanıklık	Renk/ Görünüm	Ağızda Kalan Atık Tat
Su Bazlı	P1	3,14±1,07	3,43±1,13	2,43±1,40	2,43±1,62	3,71±1,11
	P2	2,71±1,38	3,00±1,63	3,14±1,21	3,86±1,21	3,43±1,40
	P3	2,14±1,07	2,71±1,25	2,43±1,62	1,86±0,69	2,71±1,38
	P4	2,43±1,27	3,00±1,41	4,29±0,76	4,14±0,90	2,71±1,11
	P5	4,71±0,76	3,43±1,51	4,00±1,15	2,86±1,07	4,29±1,50
	P6	4,00±0,82	2,57±1,13	1,86±0,90	2,43±1,40	3,86±1,46
	P7	2,86±1,07	2,71±0,95	1,71±0,95	2,43±1,40	2,86±1,21
Alkol Bazlı	P8	2,86±1,35	2,57±0,79	1,14±0,38	2,00±1,00	2,86±1,35
	P9	3,71±1,38	3,00±1,15	1,71±0,76	2,14±0,90	3,43±1,40
	P10	4,00±1,53	3,86±1,07	4,00±1,41	2,71±1,70	3,71±1,38
	P11	3,00±1,29	2,57±1,72	1,86±1,21	2,00±1,00	2,86±1,35
	P12	3,43±1,13	2,86±0,90	3,29±1,70	2,57±1,51	3,29±1,38
	P13	3,57±1,40	3,00±1,73	1,29±0,49	2,00±1,15	3,57±1,27
	P14	4,71±0,49	2,57±1,51	1,57±0,79	2,00±0,82	4,57±0,53

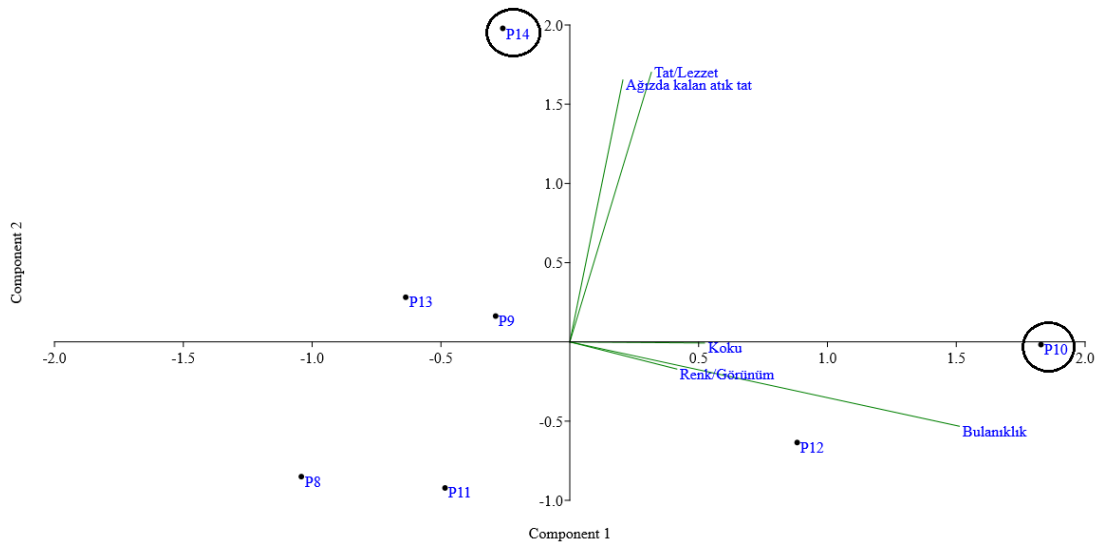
Alkol bazlı ve su bazlı propolis örnekleri için, duyu analizi skorlarına göre kümelendirme eğilimi ve benzerliklerinin ifadesi için sonuçlar, tüm örnekler kendi arasında (Şekil 4.2), su bazlı ürünler kendi arasında (Şekil 4.3) ve alkol bazlı ürünler kendi arasında (Şekil 4.4) olmak üzere Temel Bileşen Analizi ile yorumlanmış ve grafikleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.2 Tüm örneklerin kendi aralarında benzerlik grafiği



Şekil 4.3 Su bazlı örneklerin kendi aralarında benzerlik grafiği



Şekil 4.4 Alkol bazlı örneklerin kendi arasında benzerlik grafiği

Panelistlerin değerlendirmeleri sonucu renk/görünüm ve bulanıklık nitelikleri açısından en beğenilen ürün P4, tat/lezzet ve ağızda kalan atık tat nitelikleri açısından ise P14 örneği olarak değerlendirilmiştir. Kümelenme eğilimi açısından ürünler bir arada değerlendirildiğinde incelenen duyu nitelikleri açısından P4 ve P14 örnekleri diğer örneklerden bağımsız olarak değerlendirilirken, P5 ve P10 örnekleri, program tarafından benzer olarak bulunmuştur. Genel olarak daha düşük skorlara sahip P6, P9 ve P13 numuneleri kendi arasında, P7, P8 ve P11 örnekleri ise kendi arasında kümelenme göstermişlerdir. Yine örnekler arasında en düşük skorlara sahip P3 örneği ise bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Duyusal skorlar açısından ürünler su veya alkol bazlı olmalarına göre belirli bir kümelenme eğilimi göstermemişlerdir.

Su bazlı ürünler kendi arasında değerlendirildiğinde renk/görünüm ve bulanıklık nitelikleri açısından en beğenilen ürün P4, tat/lezzet, koku ve ağızda kalan atık tat nitelikleri açısından ise P5 örneği olarak değerlendirilmiştir. Bu numuneler kümelenme eğilimi açısından diğerleriyle benzer bulunmazken, P1 ve P6 örnekleri, P3 ve P7 örnekleri benzer bulunmuş ve kendi aralarında kümelenme göstermişlerdir.

Alkol bazlı ürünler kendi arasında değerlendirildiğinde, renk/görünüm, bulanıklık ve koku nitelikleri açısından en beğenilen ürün P10, tat/lezzet, koku ve ağızda kalan atık tat nitelikleri açısından ise P14 örneği en beğenilen ürün olarak değerlendirilmiştir. Bu numuneler kümelenme eğilimi açısından diğerleriyle benzer bulunmazken, P9 ve

P13 örnekleri, P8 ve P11 örnekleri benzer bulunmuş ve kendi aralarında kümelenme göstermişlerdir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Yönetmeliğinde de yer alan hem ilaç hem takviye edici gıda olarak insanların kullanımına sunulan propolisin ekstrakte edilmiş özütlerinin hazırlanması ve ticari olarak kullanıma sunulurken bazı ortak kriterlerin bulunması ve standardize edilmesi önem taşımaktadır. Fakat bu ürünlerin ne şekilde ve hangi standardize edilmesi gerektiği henüz net olmamakla birlikte yürürlükte olan mevcut bir standart bulunmamaktadır. Mevcut yaptığımız bu çalışma ile Türkiye’de ticari olarak satışa sunulan ve tüketicinin çok daha kolay erişebildiği su ve alkol bazlı propolis özütlerinin bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametreleri karşılaştırıldı. Fiziksel, toplam fenolik madde miktarı, fenolik madde kompozisyonları, antioksidan madde, mineral madde ve ağır metal içeriği gibi analiz sonuçlarının referans alınarak ölçüldüğü bu çalışma ile her bir parametrenin propolis özütlerinin kalitesinin belirlenmesinde önemli kriterler olduğu belirlendi. Propolis özütleri için tüketim, fiyatlama ve etiketleme gibi unsurların bu kriterler göz önüne alınarak standardize edilmesinin mümkün olduğu görülmekte olup, veriler Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Taslak Tebliği için kaynak oluşturmaktadır.

Çalışmamızda Ulusal pazarda tüketime sunulan 14 örneğin Türk Gıda Kodeksi Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliğine uygunluğu incelendiğinde 4 örnek hariç kalanların hepsinin etiketinde takviye edici gıda belge numarası bulunmakta olduğu ve Yönetmeliğe uyduğu gözlemlenmiştir. Örneklerin ekstrakt oranlarının da etikette beyanı gerekmekte olup 3 örnekte herhangi bir oran verilmemiştir. Kalan 11 örnekte propolis ekstrakt oranları %7,5 ile %40 arasında değişmekte olup bu farkın örneklerin fizikokimyasal ve biyolojik içeriklerini etkileyebileceği düşünülmektedir. İçerik kısmında çözgen ve propolis bilgisi dışında P8 örneğinde olduğu gibi etikette de ifade edilen Znlavesi, mineral madde analizinde Zn miktarını doğrudan etkilemiştir.

14 numunedeki fiziksel analiz sonuçlarına bakıldığında genelde asidik karakter gösterdiği görülmekle beraber 3 örnekte 8’in üzerinde okuma yapılmış yani bazik karakter sergilemiştir. Örneklerin renk değerleri analiz edilmiş ve L* değeri 0,15-

15,70 arasında geniş bir dağılım göstermiş olup, bu sonuç örneklerin ışık geçirgenliğinin düşük olduğunu ifade etmektedir. Ayrıca örneklerin renk değerlerine bakıldığında ise örnek dağılımının a* kriteri için kırmızı, b* kriteri için sarı renk skalasında olduğu görülmüştür. Örneklerin briks değeri incelendiğinde çözgenin anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Yürüttüğümüz bu çalışmada çözgen farkının propolis örneklerinin özellikle antioksidan ve fenolik madde kapasitesini doğrudan etkilediği görülmüştür. Etanol ile hazırlanan ekstraktlarda su ile çözünen ekstraktlara kıyasla, propolisin en önemli biyolojik kriterlerini belirleyen fenolik madde ve antioksidan kapasitesi istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olarak tespit edilmiş, alkol çözgeninin bu maddeleri ham propolisten sıvı ekstrakta geçirmek için çok daha başarılı olduğu tespit edilmiştir.

Kentsel ve endüstriyel kirliliğin düşük olduğunun göstergesi ağır metal içerikleri incelenmiş ve piyasadan toplanan numuneler için kirliliğin az olduğu bölgeden üretildiği sonucuna varılmıştır. Netice olarak bu çalışmanın sonuçları, ticari propolis örneklerinin tüketimi nedeniyle ağır metallerin ortalama alımının, tolere edilebilir seviyelerin altında olduğunu göstermektedir. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği 2011'deki halinden sonra 2022 yılında taslak olarak görüşe açılmış olup Arsenik için takviye gıdalar başlığında henüz bir limit oluşturulmamıştır. Oysa yaptığımız çalışmada arsenik için 14 örnekten 5 tanesinde 1031,25 ile 2445,80 ppb aralığında kalıntı tespit edilmiştir. Bu durum, diğer arı ürünlerinden daha fazla ağır metal bulaşı riski taşıyan v bir gıda takviyesi olan propolis başta olmak üzere diğer gıda takviyeleri için de Arsenik limitinin oluşturulmasının ve regülasyonda yer almasının önem arz ettiğini göstermektedir. Ayrıca arsenik kaynağının tespitine dair çalışma yapılması, gerekli durumda kullanılan çözgenlerin ağır metal bulaşısına kadar incelenmesi gerektiği de düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında incelenen sıvı propolis örneklerinin fenolik madde kompozisyonundaki geniş dağılımın farklı etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nihai ürünün elde edilmesinde çözücü seçimi kadar, proses parametrelerinin ve seçilen ekstraksiyon yönteminin de etkili olduğu belirtilmektedir. Propolis numunelerinde toplam fenolik madde düzeylerinin geniş bir varyasyon

göstermesi nedeniyle piyasaya sürülen numunelerde toplam fenolik madde düzeyinin bildirilmesi önem taşımaktadır. Ayrıca ölçüm metodlarına ve ekstraksiyon yöntemlerine göre de toplam fenolik madde düzeyi değişkenlik gösterdiğinden etiket üzerinde yönteminde bildirilmesi gerekmektedir.

Türkiye’de propolis standardı bazı limitlerle birlikte oluşturulmalıdır. Ham propolis reçinemsî yapısından dolayı doğrudan tüketilmeye uygun değildir. Bu sebeple ticari propolis ekstraktlarında bulunması gereken parametreler daha kolay belirlenebilir ve standardize edilebilir.

Diğer taraftan ham propolisin hasat edildiği kovanların bulunduğu coğrafi ve botanik orijinin de propolis temel parametreleri önemi büyüktür. Bu durumu ele alan fazlaca çalışma mevcut olup ve farklı coğrafyalardan elde edilen propolis örneklerinin farklı biyoaktiviteye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Aynı bileşiğin aynı il gurupları arasında bile farklı olma sebebinin iklimsel farklılık ve arıların farklı bitki kaynaklarını kullanarak toplamaları olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma ile piyasada satışa sunulan propolis örneklerinin kimyasal ve biyoaktif kriterleri ele alınmış ve var olan standartlara uygunluğu ele alınmıştır. Çalışma neticesinde propolisten bölgesel olarak daha stabil sonuçlar alındığı göz önüne alınarak, ticari propolislerin kalite kriterleri için limitler belirlenebileceği, bu yolla da tüketici ve üretici için değerli bir adım atılacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Ahn, M.R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F. ve Nakayama, T., (2007). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China, *Food Chem.*, 101,4, 1383-1392.
- Albayrak, S. & Albayrak, S. (2008). Propolis: Natural Antimicrobial Matter. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 37, 201–215.61 164.
- Ali, A. M., & Kunugi, H. (2021) Propolis, bee honey, and their components protect against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A review of in silico, in vitro, and clinical studies. *Molecules*, 26(5), 1232.
- Aliyazıcıoglu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E. ve Kolayli, S.2013. Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey, *International Journal of Food Properties*, 16, 277-287.
- Alqarni A., Rushdi A., Owayss A., Raweh H., El-Mubarek A., Simoneit B. (2015) “Organic Tracers from Asphalt in Propolis Produced by Urban Honey Bee” *Plos One* | [Dor:10.1371/journal.pone.0128311](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128311)
- Aminimoghadamfarouj N., A. Nematollahi (2017). Propolis Diterpenes as a Remarkable Bio-Source for Drug Discovery Development: A Review *Int. J. Mol. Sci.*, 18 (6)
- Arıkan A. Arı Ürünlerinde Ağır Metal Birikimine Trafiğin Etkisi (2010). Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 67.
- Armutcu, F., Akyol, S., Ustunsoy, S., & Turan, F. F. 2015. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects. *Experimental and therapeutic medicine*, 9(5), 1582-1588.
- Atak, E., & Uslu, M. E. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 3(27), 39-48.
- Atik, A. & Gümüş, T., (2017), “Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları”, *Akademik Gıda* 15(1)60-65
- Bakchiche B., Temizer İK., Güder A., Çelemlı ÖG., Yegin SÇ., Bardaweel SK. & Ghareeb MA., (2020). Chemical composition and biological activities of honeybee products from Algeria. *J Appl Biotechnol Rep*, 7(2), 93-103.
- Bakırcı S., (2019). “Aydın İlinde Üretimi Yapılan Bazı Arı Ürünlerindeki Ağır Metal Düzeylerinin Karşılaştırılması” Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Veteriner) Yüksek Lisans Programı, Yüksek Lisans Tezi.
- Bakkaloğlu Z., (2020) Farklı Çözücü ve Yöntemler Kullanılarak Elde Edilen Propolis Ekstraktlarının Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi

- Balasundram N, Sundram K, Samman S (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99(1): 191-203.
- Bankova V., (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol* 100: 114-117.
- Bankova V., Galabov AS., Antonova D., Vilhelmova, N. & Di Perri, B., (2014). Chemical composition of Propolis Extract ACF® and activity against herpes simplex virus. *Phytomedicine* 21: 1432-1438.
- Bankova V., Popova M., Bogdanov S. & Sabatini AG., (2002) Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. *Z Naturforsch* 57c:530–3.
- Bankova V., S.L. de Castro M.C. Marcucci (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin *Apidologie*, 31 pp. 3-15)
- Banskota, A. H., Tezuka, Y., & Kadota S. (2001). Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis. *Phytotherapy Research*, 15, 561–571.
- Barlak, Y., (2009). Türk propolisi ekstraktlarının prostat kanser hücre serilerinin proteomikine etkisi. Doktora Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Barlak, Y., Değer, O., Çolak, M., Karataylı, SC., Bozdayı, AM. & Yücesan, F., (2011). Effect of Turkish propolis extracts on proteome of prostate cancer cell line. *Proteome Science*.doi:10.1186/1477-5956-9-74.
- Bayraktaroglu, G., & Obuz, E., (2006). Ultrasound Yönteminin İlkeleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı. 9. *Gıda Kongresi*, 24-26. Mayıs. Bolu.
- Becerra B., R.D. Calla-Poma, M.F. Requena-Mendizabal, P.A. Millones-Gomez (2019) Antibacterial effect of Peruvian propolis collected during different seasons on the growth of streptococcus mutans *Open Dent. J.*, 13 (1)
- Beratta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. & Facino, R.M. (2005). Standardization of Antioxidant Properties of Honey by A Combination of Spectrophotometric/Fluorimetric Assays and Chemometrics, *Anal. Chim. Acta*, 533, 185-191.
- Bonvehí, J.S.& Gutiérrez, A.L. (2011). Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(9), 1387-1395.
- Borrelli, F; Maffia, P; Pinto, L; Lanaro, A; Russo, A; Capasso, F; & Latini, A (2002) Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 73(Suppl.1): S53-S63.
- Bravo, L., (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutr Rev* 56(11): 317-333.

- Buratti, S., Benedetti, S. & Cosio, MS., (2007). Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta*, 71: 1387-1392.
- Burdock, G.A., (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis) *Food Chem. Toxicol.*, 36 (1998), pp. 347-363)
- Büyüktuncel, E., (2012). “Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri” *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, no. 2, pp. 209–242.
- Cabral, ISR, Oldoni, TLC., Prado, A., Bezerra, RMN. & Alencar SM., (2009) “Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira.” *Quim Nova* 32: 1523– 1527
- Cai, Y.Z., Sun, M., Xingc, J., Luo, Q. & Corke, H., (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants, *Life Sci.*, 78, 2872 – 2888.
- Calderon-Montano, J M., Burgos-Moron, E., Perez-Guerrero, C. & Lopez-Lazaro, M., (2011). A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 11(4): 298-344.
- Cao, YH., Wang, Y. & Yuan, Q., (2004). Analysis of Flavonoids and Phenolic Acid in Propolis by Capillary Electrophoresis. *Chromatographia* 59: 135-140.
- Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., Suddes A (2015). Antiproliferative activity of New Zealand propolis and phenolic compounds vs human colorectal adenocarcinoma cells. *Fitoterapia* 106: 167-174.
- Ccana-Ccpatinta GV, Mejía JAA, Tanimoto MH, Groppo M, Carvalho JCAS, Bastos JK (2020) *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub and *Symphonia globulifera* L.f.: the botanical sources of isoflavonoids and benzophenones in Brazilian red propolis. *Molecules* 25:2060.
- Chaillou LL, Nazareno MA (2009). Bioactivity of propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to their chemical composition. *LWT-Food Sci Technol* 42: 1422-1427.
- Chan, GC., Cheung, KW. & Sze, DM. (2013). The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 44(3): 262-273.
- Chen YJ, Huang AC, Chang HH, Liao HF, Jiang CM, Lai LY, et al. Caffeic acid phenethyl ester, an antioxidant from propolis, protects peripheral blood mononuclear cells of competitive cyclists against hyperthermal stress. *J Food Sci.* 2009;74:H162–7.
- Chirinos, R., Betalleluz-Pallardel, I., Huaman, A., Arbizu, C., Pedreschi, R., Campos, D. (2009). HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chem* 113: 1243-1251.

- Choi, S.J., Shimomura, K., Kumazawa, S., Ahn, M.R. (2013). Antioxidant properties and phenolic composition of propolis from diverse geographic regions in Korea. *Food Science and Technology Research* 19(2): 211-222.
- Coelho, J., Falcao, S.I., Vale, N., Almeida-Muradian, L.B. & Vilas-Boas, M. (2017). Güneydoğu ve güney Brezilya propolisinin fenolik bileşimi ve antioksidan aktivite değerlendirmesi. *Arıcılık Araştırmaları Dergisi*, 56 (1), 21-31.
- Conti, M.E. & Botrè, F. (2001) Honeybees and Their Products as Potential Bioindicators of Heavy Metals Contamination, *Environmental Monitoring and Assessment*, 69, 267-282.
- Contieri, L. S., de Souza Mesquita, L. M., Sanches, V. L., Viganó, J., Martinez, J., da Cunha, D. T., & Rostagno, M. A. (2022). Standardization proposal to quality control of propolis extracts commercialized in Brazil: A fingerprinting methodology using a UHPLC-PDA-MS/MS approach. *Food Research International*, 161, 111846.
- Coşkun, N.Ö. (2020). Püskürtmeli Kurutma Yöntemi ile Propolis Enkapsülasyonu Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Aydın.
- Coşkun, P. & İnci, H. (2020). Propolisin Kimyasal İçeriği ile Antibakteriyel, Antiviral ve Antioksidan Aktivitesi. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 4(4), 1053-1070.
- Cowan, M. M. (1999). "Plant products as antimicrobial agents," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12, no. 4, pp. 564–582
- Çakıroğlu, T. (2010). "Çesitli Çözücülerde Türk Propolisinin Çözünürlüğünün İncelenmesi," PhDthesis, Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri.
- Dalio, J. S., (2018) "Factors Effecting Propolis Collection Behaviour Of *Apis mellifera* L." *International Journal of Current Innovation Research*, Vol.,4, Issue 3(A), pp. 1092-1094, March, 2018
- De Almeida, E. C., & Menezes, H. 2002. Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 8(2), 191-212.
- De Castro, S.L. (2001). Propolis: Biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. *Annual Review of Biomedical Sciences*. doi:10.5016/1806-8774.2001v3p49.
- Demirkıran O (2005). *Hypericum montbretii* Spach. bitkisindeki fenolik bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanması. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Devequi-Nunes, D., Machado, B.A.S., Barreto, G.d.A., Rebouças Silva, J., da Silva, D.F., et al. (2018) Chemical characterization and biological activity of six different

extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. PLOS ONE 13(12)

Dixon, Richard A., De-Yu Xie, and Shashi B. Sharma. "Proanthocyanidins—a final frontier in flavonoid research?." *New phytologist* 165.1 (2005): 9-28.

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

Drescher N., A.M. Klein, T., Schmitt, S.D., Leonhardt (2019). A clue on bee glue: New insight into the sources and factors driving resin intake in honeybees (*Apis mellifera*) PLoS ONE, 14 (2)

Duman, S. (2010), “Çanakkale (Türkiye) İlinde Toplanan Propolis Örneklerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Çalışmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.

Dutra, Richard Pereira, et al. "Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith." *Journal of agricultural and food chemistry* 62.12 (2014): 2549-2557.

Dündar, E., & Yıldırım, H. K. (2018). Propolisin Çeşitliliğine Etki Eden Faktörler. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 10(2), 61-66.

Electronic resources available from: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Propolis>. (2014).

Electronic resources available from: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Standardizasyon>

Elsnini, R.M. (2016) Chemical Characterization and Biological Activity of African Propolis, Strathclyde Institute of Pharmacy and Biomedical Sciences, Degree of Doctor of Philosophy

El-Sohaimy, S.A. & Masry, S.H.D. (2014). Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Egyptian and Chinese Propolis, *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 14, 10, 1116-1124.

Ercan, S.Ş. & Soysal, Ç., (2011). Ultrasonun Gıdalarda ve Enzimlerin İnaktivasyonunda Kullanılması, *Gıda/ The Journal of Food*, 36(4). 225-231.

Erdem, G.B., 2002, “Propolisin Dış Çürüklüğü Oluşumuna Etkisinin Sıçan Dişlerinde Araştırılması”, *Teknik Arıcılık*, 77, 27-28.

Ergüzel, ET. (2006). Quercetin (3, 3', 4', 5, 7- penta hidroksiflavon)'in bakır (II) ve çinko (II) komplekslerin kararlılık sabitlerinin tayini. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Ferguson, LR. (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutat Res* 475: 89-111.

- Fernandes Silva, C., Lima, C., Negri, G., Salatino, M., Mayworm, W. (2014) "Composition of the volatile fraction of a sample of Brazilian green propolis and its phytotoxic activity" *J Sci Gıda Tarım* 2015;95: 3091–3095
- FoktH, A., Pereira, A. M., Ferreira, A., Cunha, & C. Aguiar (2010). "How do bees prevent hive infections The antimicrobial properties of propolis. Current Research, Technology and Education," *Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, vol. 1, pp. 481–493
- Freires, I. A., Queiroz, V. C. P. P., Furletti, V. F., Ikegaki, M., de Alencar, S. M., Duarte, M. C. T., & Rosalen, P. L. 2016. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. *Journal de mycologie medicale*, 26(2), 122-132.
- Freires, I. A., S. M. de Alencar and P. L. Rosalen (2016). "A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases." *European journal of medicinal chemistry* 110.
- G. Bergonzini, N. Volpi. (2006). "Analysis of Flavonoids From Propolis by On-Linehplc–Electrospray Mass Spectrometry," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 42, no. 3, pp. 354–361.
- Gao W, Wu J, Wei J, Pu L, Guo C, Yang J, et al. Brazilian green propolis improves immune function in aged mice. *J Clin Biochem Nutr.* 2014; 55:7–10.
- Garcia-Viguera C, Ferreres F, Tomas-Barberan FA (1993). Study of Canadian Propolis by GC-MS and HPLC. *Z Naturforsch* 48c: 731-735.
- Ghisalberti E. L. (1979). "Propolis: a review," *Bee World*, vol. 60, pp. 59–84
- Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A. Ve Fernandez-Gutierrez, A., (2006). Advances in the Analysis of Phenolic Compounds in Products Derived From Bees, *J Pharmac Bio Anal.*, 41, 1220–34.
- GongShangji, Liping Luo, Wei Gong, Yinyu Gao, Mingyong Xie, (2012) Multivariate analyses of element concentrations revealed the groupings of propolis from different regions in China, *Food Chemistry*, Volume 134, Issue 1, Pages 583-588
- Görkem Arda (2022) Propolis Ürünlerindeki Makro ve Mikro Element İçeriklerinin Icp-Oes İle Tayini, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Graikou K, Popova M, Gortzi O, Bankova V, Chinou I (2016). Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type? *LWT - Food Sci Technol* 65: 261-267.
- Gregoris, Elena ve Roberto Stevanato. "Venedik propolisinin polifenolik bileşimi ile antioksidan aktivitesi arasındaki ilişkiler." *Gıda ve Kimyasal Toksikoloji* 48.1 (2010): 76-82.

- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 5th Edition. USA: Oxford University Press.
- Han X, Shen T, Lou H (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *Int J Mol Sci* 8: 950-988.
- Han, S.K., Park, H.K., 2002, "Accumulation of thiobarbituric acid-reactive substances in cured pork sausage treated with propolis extracts", *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(13): 1487-1489.
- Harborne, J., *Introduction to ecological biochemistry*. Academic Press: London, etc 1982, 278, 388-91
- Hausen B. M., E. Wollenweber, H. Senff, and B. Post (1987). "Propolis allergy. (II). The sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester," *Contact Dermatitis*, vol. 17, no. 3, pp. 171–177
- Havsteen, B. H., (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharma. Therap.*, 96, 67-202.
- Helfenberg K. D., (1908). "The analysis of beeswax and propolis," *Chemiker Zeitung*, vol. 31, pp. 987–998
- Higashi, K. O., & De Castro, S. L. 1994. Propolis extracts are effective against *Trypanosoma cruzi* and have an impact on its interaction with host cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 43(2), 149-155.
- Hoste, Herve, et al. "Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections." *Veterinary parasitology* 186.1-2 (2012): 18-27.
- <https://www.tarimorman.gov.tr/Duyuru/1346/Mevzuat-Taslagi-Turk-Gida-Kodeksi-Ari-Urunleri-Teblici>
- Hu F, Hepburn HR, Li Y, Chen M, Radloff SE, Daya S (2005). Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *J Ethnopharmacol* 100: 276-283.
- Huang S, Zhang C, Wang K, Li G, Hu F (2014). "Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis" *Molecules* 2014, 19(12)
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R.L., 2005. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1841-1856.
- ISO/TC 34/SC 19/WG 2- PROPOLIS Çalışma Taslağı
- Ivančajić S, Mileusnić I, Cenić-Milošević D (2010) In vitro antibacterial activity of propolis extracts on 12 different bacteria in conditions of 3 various pH values. *Archives of Biological Sci* 62(4):915–934

- Jaganathan, S. K., and Mandal, M., 2010, “Involvement of nonprotein thiols, mitochondrial dysfunction, reactive oxygen species and p 53 in honey-induced apoptosis”, *Invest New Drugs* 28: 624-633.
- Jung, E., Weon J. B. Ji, H. You, J. Oh S. Y. Kim, H. & Park D. (2020). Comparative Study of the Biological Activity of Propolis Extracts with Various Countries of Origin as Cosmetic Materials. *Journal of the School of Cosmetic Sci. of Korea*, 46(2), 159–166.
- Kabata-Pendias, A. (2011). Trace elements in soils and plant. London and New York: Taylor and Francis.
- Kahkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954–3962
- Kahraman, H. A., Tutun, H., Kaya, M. M., Usluer, M. S., Tutun, S., Yaman, C., ... & Keyvan, E. (2022). Ethanolic extract of Turkish bee pollen and propolis: phenolic composition, antiradical, antiproliferative and antibacterial activities. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 36(1), 45-56.
- Kara, Y., Can, Z., & Kolaylı, S. (2022). What should be the ideal solvent percentage and solvent-Propolis ratio in the preparation of Ethanolic Propolis extract?. *Food Analytical Methods*, 15(6), 1707-1719.
- Kelez, A. (2009). Batı Karadeniz Bölgesi Ballarının Polen Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir.
- Keskin M. (2018) “Propolis ve Özütlerinin Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi ve Enkapsülasyonu” Karadeniz Teknik Üniversitesi, Doktora tezi
- Keskin M. & Kolaylı S. (2018) “Propoliste Standardizasyon Mümkün Mü?” *U. Arı D. – U. Bee J.* 2018, 18 (2): 101-110
- Keskin M. & Kolaylı S. (2019) “Ticari propolis ekstraktlarının kalite parametreleri açısından karşılaştırılması” *Uludağ Arıcılık Dergisi – Uludag Bee Journal* 2019, 19 (1): 43-49
- Kim K-H, Tsao R, Yang R. & Cui SW (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chem* 95: 466-473.
- Kimoto T, Arai S, Kohguchi M, Aga M, Nomura Y, Micallef MJ, Kurimoto M. & Mito K (1998). Apoptosis and suppression of tumor growth by Artepillin C extracted from Brazilian propolis. *Cancer Detection and Prevention* 22(6): 506-515.
- Koç, A, N., Silici, S., Sarigüzel, F, M. & Sağdıç, O. (2007). Antifungal Activity of Propolis in Four Different Fruit Juices. *Food Technol. Biotechnol.* 45 (1) 57–61.

- Kolaylı, S., Kara, M., Tezcan, F., Erim, F.B., Sahin, H., Ulusoy, E. & Aliyazıcıoğlu, R., (2010). Comparative study of chemical and biochemical properties of different melon cultivars: standard, hybrid, and grafted melons. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 9764-9769
- Koo, H., Rosalen, P.L., Cury, J.A., Park, Y.K., Ikegaki, M., Sattler, A., et al. Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. *Caries Res.* 1999; 33:393–400.
- Krell, R., (1996), “Value-Added Products From Beekeeping”, FAO Agricultural Services Bulletin, Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, No. 124.
- Kroyer, G. & Hegedus, N., (2001). Evaluation of Bioactive Properties of Pollen Extracts A Functional Dietary Food Supplement, *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2, 171-174.
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barauskaite, K. & Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 156.
- Kujumgiev A., I. Tsvetkova, Y. Serkedjieva, V. Bankova, R. Christov, & S. Popov (1999). “Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 64, no. 3, pp. 235–240
- Kumar N., M. K. K. Ahmad, R. Dang, & A. Husain (2008). “Antioxidant and antimicrobial activity of propolis from Tamil Nadu zone,” *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 2, no. 12, pp. 361–364
- Kumazawa, S., Hamasaka, T. & Nakayama, T., 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem*, 84(3), 329-339.
- Kumazawa, Sh., Yoned, M., Shibata, I., Kanaeda, J., Hamasaka, T., Nakayama, Ts. (2004) Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *Chem Pharm Bull*; 51:740–2.
- Kumova U., Korkmaz A., Avcı B.C. & Ceyran G. (2002). “Önemli bir arı ürünü: Propolis” *Uludağ Arıcılık Dergisi*
- Kurek-Górecka A, Rzepecka-Stojko A, Górecki M, Stojko J, Sosada M, Swierczek-Zieba G (2014). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* 19(1): 78-101.
- Kurek-Górecka, A.; Górecki, M.; Rzepecka-Stojko, A.; Balwierz, R.; Stojko, J. Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules* 2020, 25, 556.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoglu, Ş., Ulusoy., E., Baltacı, C. & Candan, F. (2007). Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types from Anatolia, *Food Chem.*, 100, 526-534.

- Laskar, Rajibul Arif, et al. "Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents." *Food Chemistry* 122.1 (2010): 233-237.
- Li, F., Awale, S., Tezuka, Y. & Kadota, S., 2008. Cytotoxic Constituents From Brazilian Red Propolis and Their Structure–Activity Relationship, *Bioorg., Med., Chem.*, 16, 5434–5440.
- Lobo-Galo, N.; Gálvez-Ruíz, J.C.; Balderrama-Carmona, A.P.; Silva-Beltrán, N.P.; Ruiz-Bustos, E. (2021) “Recent biotechnological advances as potential intervention strategies against COVID-19” *3 Biotech* , 11.
- Maksimova-Todorova V, Manolova N, Gegova G, Serkedzhieva Iu, Uzunov S. Antiviral action of fractions isolated from propolis. *Acta Microbiol Bulg.* 1985; 17:79–85.
- Marcucci MC, Bankova VS. (1999) Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Curr Top Phytochem* ;2: 115–23
- Marcucci MM (1995). “Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity,” *Apidologie*, vol. 26, no. 2, pp. 83–99
- Margeretha, I., Suniarti, D. F., Herda, E. M., & Alim, Z. (2012). Optimization and Comparativestudy of Different Extraction Methods of Biologically Active Components of IndonesianpropolisTrigonasp, *Doğal Ürünler Dergisi*, 5, 233-242.
- Mărghițaș Liviu Al., Dezmîrean Daniel, Moise Adela, Cristina M., Mihaî, Stan Laslo Laura (2009) DPPH Method for Evaluation of Propolis Antioxidant Activity, *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 66 (1-2
- Markiewicz-Zukowska R, Borawska MH, Fiedorowicz A, Naliwajko SK, Sawicka D,Car H (2013). Propolis changes the anticancer activity of temozolomide in U87MGhuman glioblastoma cell line. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13: 50.
- Marquele, F. D., Stracieri, K. M., Fonseca, M. J. V. & Freitas, L. A. P. de. (2006). Spraydried Propolis Extract. I: Physicochemical and Antioxidant Properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 61, 325–330.
- Mayworm, Marco AS, et al. "Does propolis contain tannins?." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014 (2014).
- Mello BCBS, Hubinger MD (2012). Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. *Int J Food Sci Tech* 47: 2510-2518.
- Midorikawa K, Banskota AH, Tezuka Y, Nagaoka T, Matsushige K, Message D, Huertas AAG, Kadota S (2001). Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Analysis of Propolis. *Phytochem Analysis* 12: 366-373.

- Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD (2010). Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. *Food Chem Toxicol* 48: 3418-3423.
- Mohamed G. Shehata a, Fauziah T. Ahmad b c, Ahmed N. Badr d, Saad H. Masry e f, Sobhy A. El-Sohaimy a , *Annals of Agricultural Sciences* (2020) Chemical analysis, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of propolis from different geographic regions Volume 65, Issue 2, Pages 209-217
- Monti M., E. Berti, G. Carminati, and M. Cusini, (1983). "Occupational and cosmetic dermatitis from propolis," *Contact Dermatitis*, vol. 9, no. 2, p. 163)
- Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N (2003). Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chem* 80: 29-33.
- Nagy, E.; Papay, V.; Litkei, G.; Dinya, Z. Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components, of propolis and *Populi gemma* by GC/MS method. *Stud. Org. Chem.* 1986, 23, 223–232.
- Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S., & Hara, H. (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(1), 4.
- Nedji, N. & Loucif-Ayad, W. (2014). Antimicrobial Activity of Algerian Propolis in Foodborne Pathogens and Its Quantitative Chemical Composition. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, 433–437.
- Neilson, A.; Ferruzzi, M.; Coulston, A.; Boushey, C., Bioavailability and metabolism of bioactive compounds from foods. *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease* 2012, 407-423
- Nizamlioğlu, NM. & Nas, S. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Teknolojik Araştırmalar* 5 (1): 20-35.
- Noori, A. L., Al-Ghamdi, A., Ansari, M. J., Al-Attal, Y., & Salom, K. 2012. Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *International journal of medical sciences*, 9(9), 793.
- Nori, M. P., Favaro Trindade, C. S., De Alencar, S. M., Thomazini, M., De Camargo Balieiro, J. C., & Castillo, C. J. C. (2011). Microencapsulation of Propolis Extract by Complex Coacervation. *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 429-435.
- Noronha, V., S Araujo, G., T Gomes, R., H Iwanaga, S., C Barbosa, M., N Abdo, E., & R Santos, V. 2014. Mucoadhesive propolis gel for prevention of radiation-induced oral mucositis. *Current clinical pharmacology*, 9(4), 359-364.
- Nyein MM. The use of asphalt as a propolis substitute. *Amer. Bee J.* 1983; 123: 732–732.

- Olczyk P., K. Komosinska-Vassev, G. Wisowski, L. Mencner, J. Stojko, and E. M. Kozma (2014) "Propolis modulates fibronectin expression in the matrix of thermal injury," *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 748101, 10 pages)
- Orsi RO, Sforcin JM, Funari SR, Bankova V. Effects of Brazilian and Bulgarian propolis on bactericidal activity of macrophages against *Salmonella typhimurium*. *Int Immunopharmacol*. 2005; 5:359–68.
- Orsolić N, Basić I. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: A factor of antitumor reactivity. *J Ethnopharmacol*. 2003; 84:265–73.
- Özkök A (2009). Muğla Bilgesinde Üretilen Çam Balı ve Propolisin Mikroskopik, Organoleptik ve Kimyasal Analizi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Özkök, A., Sorkun, K., 2001, "Apiterapide Kullanılan Önemli Arı Ürünlerinden: Bal, Polen ve Propolis ", *Teknik Arıcılık Dergisi* 72 (2001): 4-10.
- Park JH, Lee JK, Kim HS, Chung ST, Eom JH, Kim KA, et al. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. *Int Immunopharmacol*. 2004; 4:429–36.
- Park, E. H., Kim, S. H., & Park, S. S. 1996. Anti-inflammatory activity of propolis. *Archives of Pharmacal Research*, 19(5), 337-341.
- Park Y. K., S. M. Alencar, and C. L. Aguiar (2002). "Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, no. 9, pp. 2502–2506
- Pasupuleti V., Lakshmi Sammugam, Nagesvari Ramesh and Siew Hua Gan (2017) Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits
- Peterson, J. ve Dwyer, M. (1998) Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity, *Nutr. Res*, 18
- Piccinelli, Anna Lisa vd. "Cezayir propolisinin kimyasal bileşimi ve antioksidan aktivitesi." *Tarım ve gıda kimyası dergisi* 61.21 (2013): 5080-5088.
- Pierini, G.D.; Granero, A.M.; DiNezio, M.S.; Centurión, M.E.; Zon, M.A.; Fernández, H. (2013) Development of an electroanalytical method for the determination of lead in Argentina raw propolis based on bismuth electrodes. *Microchem. J.*, 106, 102–106.
- Pobłocka-Olech, L.; Migas, P., Krauze-Baranowska, M. (2018) "TLC determination of some flavanones in the buds of different genus *Populus* species and hybrids." *Acta Pharm.*, 68, 199–210.

- Popova M, Bankova V, Naydensky Ch, Tsvetkova I, Kujumgiev A. (2004) Comparative study of the biological activity of propolis from different geographic origin: a statistical approach. *Macedonian Pharm Bull*; 50:9–14.
- Popova M, Chen C-N, Chen P-Y, Huang C-Y, Bankova V (2010). A Validated Spectrophotometric Method for Quantification of Prenylated Flavanones in Pacific Propolis from Taiwan. *Phytochem Analysis* 21: 186-191.
- Popova, M., Giannopoulou, E., Skalicka-Woźniak, K., Graikou, K., Widelski, J., Bankova, V., Kalofonos, H., Sivolapenko, G., Gawel-Beben, K., Antosiewicz, B. & Chinou, I., (2017). Characterization and Biological Evaluation of Propolis from Poland, *Molecules*, 22, 1159
- Popravko, S.A.; Sokolov, I.V.; Torgov, I.V. (1982) “New natural phenolic triglycerides.” *Chem. Nat. Compd*, 18, 153–157.
- Przybyłek, I., & Karpinski, T. M. (2019). Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules* 24(11): 2047k.
- Pyrzyska K, Biesaga M (2009). Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trac-Trend Anal Chem* 28(7): 893-902.
- Ramanauskienė K, Inkenienė AM (2011). Propolis oil extract: quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity. *Nat Prod Res* 25 (15): 1463-1468.
- Rasul, A.; Millimouno, F.M.; Eltayb, W.A.; Ali, M.; Li, J.; Li, X. Pinocembrin: A Novel Natural Compound with Versatile Pharmacological and Biological Activities. *BioMed Res. Int.* 2013, 2013, 1–9.
- Rebouças-Silva, J.; Celes, F.S.; Lima, J.B.; Barud, H.S.; De Oliveira, C.I.; Berretta, A.A.; Borges, V.M. (2017) “Parasite Killing of *Leishmania (V) braziliensis* by Standardized Propolis Extracts.” *Evid.-Based Complementary Altern. Med.*
- Rezzani R, Giugno L, Buffoli B, Bonomini F, Bianchi R. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester against cyclosporine A-induced cardiotoxicity in rats. *Toxicology*. 2005; 212:155–64.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2(4): 152-159.
- Ristivojević P., J. Trifković, F. Andrić, D. Milojković-Opsenica (2015) Poplar-type Propolis: Chemical Composition, Botanical Origin and Biological Activity *Nat. Prod. Commun.*, 10(11)
- Ristivojević, P., Nešić, J., Andrić, F., Nedić, N., Stanisavljević, L., Milojković Opsenica, D., & Trifković, J. (2023). Elemental profile of propolis from different areas of Serbia. *Chemistry & Biodiversity*, 20(3), e202201140.
- Robbins RJ (2003). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *J Agr Food Chem* 51(10): 2866-2887.

- Roman A, Madras-Majewska B, Popiela-Pleban E. (2011) Comparative Study of Selected Toxic Elements in Propolis and Honey, *Journal of Apicultural Science*, Poland, 55(2), 97-106.
- Rossi A, Ligresti A, Longo R, Russo A, Borrelli F, Sautebin L (2002). The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine* 9: 530-535.
- Rudnicki M, Oliveira MR, Pereira TV, Reginatto FH, Dal-Pizzol F, Moreira JCF (2007). Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. *Food Chem* 100: 719-724.
- Russo A, Longo R, Vanella A (2002). Antioxidant activity of propolis: Role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 73 Supplement 1: 21-29.
- Samarghandian, S., J. T., Afshari, & Davoodi, S., 2011, "Honey induces apoptosis in renal cell carcinom", *Pharmacogn Mag.* 7 (25): 46-52
- Sarıkaya, A.O., Ulusoy, E., Öztürk, N., Tunçel M. & Kolaylı S., (2009). Antioxidant Activity and Phenolic Acid Constituents of Chestnut (*Castania Sativa* Mill.) Honey And Propolis, *J. Food Biochem.*, 33,4, 470–481.
- Sariguzel M., F., Berk, E., Koc, A. N., Sav, H., & Demir, G. 2016. Antifungal activity of propolis against yeasts isolated from blood culture: In Vitro evaluation. *Journal of clinical laboratory analysis*, 30(5), 513-516.
- Sawaya ACHF, Tomazela DM, Cunha IBS et al. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of propolis. *Analyst* 2004;129: 739–44
- Sawicka, D., Car, H., Borawska, MH., & Nikliński, J. (2012). The anticancer activity of propolis. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 50(1): 25-37.
- Scheller S, Gazda G, Pietsz G, Gabrys J, Szumlas J, Eckert L, et al. The ability of ethanol extract of propolis to stimulate plaque formation in immunized mouse spleen cells. *Pharmacol Res Commun.* 1988; 20:323–8.
- Segueni N., Khadraoui ., Rhouati S., "Volatile compounds as propolis characterization markers," in *Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration*, Springer, 2017, pp. 1271–1273.
- Sforcin JM, Bankova V (2011). "Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? " *J Ethnopharmacol* 133: 253-260.
- Sforcin, J. M., 2007, "Propolis and the immune system: a review ", *Journal of Ethnopharmacology* 113: 1-14
- Shehata, Mohamed G., et al. "Chemical analysis, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of propolis from different geographic regions." *Annals of Agricultural Sciences* 65.2 (2020): 209-217.

- Silici S, Kaftanoğlu O ,2003, “Antimicrobial analysis of propolis samples from different regions of Turkey”, *Uludag Bee Journal* 3 (3): 16-1
- Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L. (2010). Total Phenolic Content, Antiradical, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Rhododendron Honeys, *Food Chemistry*, 121 238– 243.
- Silici, S., & Kutluca, S. (2005). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Propolis Collected by Three Different Races of Honeybees in The Same Region. *J. Ethnopharmacol.* 99, 69–73.
- Silva, J.F.M., Souza, M.C., Matta, S.R., Andrade, M.R. ve Vidal, F.V.N., (2006). Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities, *Food Chemistry*, 99, 431–435.
- Silva-Beltrán, N.P.; Balderrama-Carmona, A.P.; Umsza-Guez, M.A.; Souza Machado, B.A. (2020) Antiviral effects of Brazilian green and red propolis extracts on Enterovirus surrogates. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 27, 28510–28517.
- Silva-Carvalho, R., F. Baltazar and C. Almeida-Aguiar (2015). “Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development.” Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM 2015.
- Silveira, M.A.D.; De Jong, D.; Berretta, A.A.; dos Galvão, E.B.S.; Ribeiro, J.C.; Cerqueira-Silva, T.; Amorim, T.C.; da Conceição, L.F.M.R.; Gomes, M.M.D.; Teixeira, M.B.; et al. (2021) “Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial.” *Biomed. Pharmacother*, 138, 111526.
- Simone-Finstrom M., M. Spivak (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees *Apidologie*, 41 (3), pp. 295-311
- Socha, R., Juszczak, L., Pietryzk, S. ve Fortuna, T., (2009). Antioxidant activity and phenolic composition of herb honeys, *Food Chem.*, 103, 568-574.
- Soós, Áron, et al. "Mineral content of propolis tinctures in relation to the extraction time and the ethanol content of the extraction solvent." *LWT* 111 (2019): 719-726.
- Speciale, A., Costanzo, R., Puglisi, S., Musumeci, R., Catania, M. R., Caccamo, F., 2006. Antibacterial activity of propolis and its active principles alone and in combination with macrolides, beta-lactams and fluoroquinolones against microorganisms responsible for respiratory infections. *Journal Chemotherapy*, 18:164–171.
- Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I., & Švabić-Vlahović, M. 2003. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research*, 158(4), 353-357.

- Su ZZ, Lin J, Grunberger D, Fisher PB (1994). Growth suppression and toxicity induced by Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) in type 5 Adenovirus-transformed rat embryo cells correlate directly with transformation progression. *Cancer Research* 54(7): 1865-1870.
- Szliszka, E., & Krol, W. 2013. Polyphenols isolated from propolis augment TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2013, Article ID 731940, 10 pages.
- Şahin Nur Seda, 2019, Farklı Çözücülerle Hazırlanan Propolis Özütleri İle Propolis Ticari Ürünlerinin Biyoaktivitesinin Belirlenmesi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi
- Şahinler, N., 2000, "Arı Ürünleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi", MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, Sayfa 138-148.
- Şahinler, N., & Gül, A. (2005). The effects of Propolis Production Methods and Honeybee Genotypes on Propolis Yield. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(9), 1212-1214.
- Şahinler, N., (1999), "Propolisin Bileşimi ve Kullanım Olanakları", MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 4(1-2):167-180
- Şenol Yazkan Sevde Nur (2022) Kestane Propolisinden Bioaktif Bileşik Ekstraksiyon Proseslerinin Yüzey Yanıt Yöntemi İle Optimizasyonu Ve Ekstraktların Karakterizasyonu, Yüksek lisans tezi, Kastamonu Üniversitesi.
- Takeda K, Nagamatsu K, Okumura K. A water-soluble derivative of propolis augments the cytotoxic activity of natural killer cells. *J Ethnopharmacol*. 2018; 218:51–8.
- Takmaklı, Osmancan. "Propolisin Diaper Dermatit'e (Pişik) Eşlik Eden Enfeksiyonlara Karşı Bebek Bezlerinde Kullanılma Potansiyelinin Araştırılması." (2022).
- Talla, E., Tamfu, A., Biyanzi, P., Sakava, P., Asobo, F., Mbafor, J., Tchuengue, N. F. Ve Ndjouenkeu, R., (2014). Phytochemical Screening, Antioxidant Activity, Total Polyphenols and Flavonoids Content of Different Extracts of Propolis From Tekel (Ngaoundal, Adamawa Region, Cameroon), *The Journal of Phytopharmacology*, 3, 5, 321-329.
- Temiz, A., Mumcu, A.Ş., Tüylü, A.Ö., Sorkun, K., Salih, B., 2013, "Antifungal activity of propolis samples collected from different geographical regions of Turkey against two food-related molds, *Aspergillus versicolor* and *Penicillium aurantiogriseum*", *Gıda* 38(3): 135-142.
- Tezcan F, Kolaylı S, Sahin H, Ulusoy E. & Erim B.F., (2011). Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys, *J. Food Nut. Res.*, 50, 33-40.
- Thomson, W. M. (1990). Propolis. *Medical Journal Of Australia*, 153.

- Tomoi, S., M.D, Miyatara, G., 2000, "The nutraceutical benefit, part 3: Honey", Nutritional Pharmaceutical, 2000;16:468-469
- Tomruk, E., (2005). Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi için Hidrofilik Destek Materyal_Sentez ve Kromatografik Karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Topal, E., Yücel, B., Köseoğlu, M., 2013, "Propolisin hayvancılık, tarım ve gıda teknolojisinde kullanımı", Hasad Hayvancılık Dergisi 29(341): 58-65.
- Toreti, V. C., H. H. Sato, G. M. Pastore & Y. K. Park (2013). "Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin." Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM 2013.
- Toy Nesibe Özge (2019) Marmara Bölgesi Güney Marmara Bölümünden toplanılan propolis örneklerinin kimyasal yapısı, Yüksek Lisans Tezi, Uşak Üniversitesi.
- Tree Names. Available online: https://www.treenames.net/ti/populus/populus_names_index.html (accessed on 7 April 2018).
- Trusheva B., Trunkova D. & Bankova V. (2007) "Different extraction methods of biologically active components from propolis: A preliminary study," Chemistry Central Journal, vol. 1, no. 1, p. 13.
- Türk Gıda Kodeksi, 2021, Arı Ürünleri Tebliği taslak metin, Tarım ve Orman Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara
- Türk Standardı, 2003, TS 12910 Arı Tutkalı (Propolis) Standardı, Ankara.
- Usman, Z. U., Bakar, A. B. A. & Mohamed, M., (2016). Phytochemical Screening and Comparison of Antioxidant Activity of Water and Ethanol Extract Propolis From Malaysia, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 8(5), 413-415.
- Wagh, V.D., (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials Adv. Pharmacol. Sci., pp. 1-11
- Walker, P. & E. Crane (1987). "Propolisin Bileşenleri," Apidologie , cilt. 18, s. 327-334
- Watanabe MAE, Amarante MK, Conti BJ, & Sforcin JM (2011). Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects: A review. Journal of Pharmacy and Pharmacology 63(11): 1378-1386.
- Wei, Shu-Dong, et al. "Characterization and antioxidative properties of condensed tannins from the mangrove plant Aegiceras corniculatum." Journal of Applied Polymer Science 124.3 (2012): 2463-2472.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry 105(3): 940-949.

- Wolska, K., Gorska, A., Antosik, K., & Lugowska, K. 2019. Immunomodulatory effects of propolis and its components on basic immune cell functions. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(4), 575-588.
- Wu, Jing, et al. "Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), derived from a honeybee product propolis, exhibits a diversity of anti-tumor effects in pre-clinical models of human breast cancer." *Cancer letters* 308.1 (2011): 43-53.
- Wu, M.; Brown, A.C. Applications of catechins in the treatment of bacterial infections. *Pathogens* 2021, 10, 546.
- Yağcıoğlu, P. (2015). Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Adaçayı (*Salvia Officinalis* L.) Bitkisinden Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu. Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 121s., İstanbul.
- Yang, W., Wu, Z., Huang, Z. Y. & Miao, X. (2017). Preservation of Orange Juice Using Propolis. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 3375–3383.
- Yuan J, Liu J, Hu Y, Fan Y, Wang D, Guo L, Nguyen TL, Zhao X, Liu X, Liu C, Wu Y. (2012) "The immunological activity of propolis flavonoids liposome on the immune response against ND vaccine." *Int J Biol Macromol*. Nov;51(4):400-5. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.06.002. Epub 2012 Jun 13. PMID: 22705053.
- Yücel, B., Topal, E., Akçiçek, E., Kösoğlu, M, 2014, "Propolisin İnsan Sağlığına Etkileri", *Anadolu, J. Of AARI* 24 (2) 2014, 41 - 49 MFAL
- Zhang, C-P., Zheng, H-Q., Liu, G. & Hu, F-L. (2011). Development and validation of HPLC method for determination of salicin in poplar buds: Application for screening of counterfeit propolis. *Food Chem* 127: 345-350.
- Zhang, H., Fu, Y., Niu, F., Li, Z., Ba, C., & Jin, B. (2018). Enhanced Antioxidant Heat-Denatured zein and Carboxymethyl Chitosan. *Food Hydrocoll*, 81, 104–112.
- Ziaraan, HR., Rahmani, HR. & Pourreza, J. (2005). Effect of dietary oil extract of propolis on immune response and broiler performance. *Pakistan J Biol Sci* 8(10): 1485-1490.