

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜZEY AKTİF MADDE DESTEKLİ PROPOLİS EKSTRAKSİYONU VE ELDE
EDİLEN EKSTRELERİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

Ayşe YILMAZ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gökhan DURMAZ

TEMMUZ 2025

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜZEY AKTİF MADDE DESTEKLİ PROPOLİS EKSTRAKSİYONU VE ELDE
EDİLEN EKSTRELERİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

Ayşe YILMAZ
(36193620008)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gökhan DURMAZ
Eş Danışman: Prof. Dr. Hakan İNCİ

TEMMUZ 2025

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**YÜZEY AKTİF MADDE DESTEKLİ PROPOLİS EKSTRAKSİYONU VE
ELDE EDİLEN EKSTRELERİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

**Tezi Hazırlayan: Ayşe YILMAZ
Doktora Tezi**

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimim süresince her aşamada akademik ve etik ilkeler doğrultusunda bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen; yol gösterici yaklaşımı ve özverili katkılarıyla bana her konuda rehberlik eden çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Gökhan DURMAZ'a,

Çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen eş danışmanım Sayın Prof. Dr. Hakan İNCİ'ye,

Tezimin her aşamasında fikir ve tecrübeleri ile beni yönlendiren ve desteğini her zaman hissettiğim Sayın Prof. Dr. Sibel ULUATA'ya,

Değerli zamanını ayırarak tez çalışmama katkı sunan ve laboratuvar imkanlarını benden esirgemeyerek çalışmalarımı kolaylaştıran Sayın Prof. Dr. İhsan KARABULUT'a,

Bu çalışma kapsamında kullandığım propolis temininde ve kakaolu fındık kreması üretiminde desteklerini esirgemeyen Probin İlaç Kimya Gıda San. Ve Tic. LTD. ŞTİ.'ye,

Bu çalışma kapsamında yapılan fenolik bileşim analizini gerçekleştirdiğimiz Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne

Lisansüstü eğitimim süresince her konuda desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Tuğça BİLENLER KOÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Hacer GÜRKAN'a,

Yanıt Yüzey Yöntemi'nin değerlendirilmesinde yardımcı olan Sayın Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin KARAKAYA'ya,

Laboratuvar çalışmalarım sürecinde desteklerinden dolayı Sayın Öğr. Gör. Sevil ERGÜL'e,

Laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen kıymetli arkadaşlarım Zeynep Merve ABACI ve Feyza İZCİLER'e,

Lisansüstü hayatım boyunca her daim yanımda olan ve bu yolu beraber yürüdüğüm canım arkadaşım Öğr. Gör. Ülkühan BAĞIŞ'a,

Hayatım boyunca her an yanımda olan, maddi ve manevi tüm fedakârlıklarıyla bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan, haklarını asla ödeyemeyeceğim başta canım anneciğim Zülfinar YILMAZ ve canım babacığım Mehmet YILMAZ olmak üzere çok kıymetli ablalarım ve abilerime; varlığıyla bana güç veren, her daim destek olan canım ablalarım Emine YILMAZ ve Kandile YILMAZ'a

en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her koşulda desteğini esirgemeyen

CANIM AİLEME...



ONUR SÖZÜ

Doktora tezi olarak sunduğum “Yüzey Aktif Madde Destekli Propolis Ekstraksiyonu ve Elde Edilen Ekstrelerin Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Ayşe YILMAZ



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ	i
ONUR SÖZÜ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	5
2.1 Propolis	5
2.2 Fenolik Bileşikler.....	7
2.2.1 Propoliste Bulunan Fenolik Bileşikler ve Sağlık Üzerine Etkileri	9
2.3 Emülsiyon	12
2.3.1 Emülsiyon stabilitesi	13
2.3.2 Yüzey aktif maddeler (Emülgatörler).....	15
2.3.2.1 Lesitin	18
2.3.2.2 PGPR (Poligliserol Polirisinoleat).....	19
2.3.2.3 Tween 80 (Polisorbat 80)	20
2.4 Propolis Ekstraksiyonu	20
2.4.1 Yüzey aktif madde destekli ekstraksiyon	22
2.4.1.1 Emülsiyon ile ekstraksiyon.....	24
2.5 Lipit Oksidasyonu.....	27
2.5.1 Otooksidasyon	28
2.5.2 Antioksidan maddelerin oksidasyon ile ilişkisi	29
2.6 Gıda Uygulamalarında Propolis Kullanımı	31
2.7 Salata Sosu.....	34
2.8 Kakaolu Fındık Kreması.....	38
2.9 Propolisin Yüzey Aktif Madde Destekli Ekstraksiyonu ile İlgili Yapılan Çalışmalar	41
3. MATERYAL VE METOT	42
3.1 Materyal.....	44
3.1.1 Kullanılan kimyasallar.....	44
3.1.2 Kullanılan alet, ekipman ve cihazlar	45
3.2 Ham propoliste yapılan analizler	45
3.2.1 Nem tayini	45
3.2.2 Kül tayini	46
3.2.3 Renk ölçümü.....	46
3.2.4 Su aktivitesi (aw) analizi	46
3.2.5 Vaks değeri tayini.....	46
3.2.6 Çözünür ve çözünmez maddeler	47
3.2.7 Balsam miktarı.....	47
3.3 Propolis Ekstrelerinin Üretimi ve Optimizasyonu.....	47
3.3.1 W/O emülsiyonu üretimi ve optimizasyonu.....	48
3.3.2 O/W emülsiyonu üretimi ve optimizasyonu	50
3.3.3 Optimum koşullarda elde edilen propolis ekstraktlarının biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi	52
3.3.3.1 Toplam fenolik madde analizi (TFM)	52
3.3.3.2 Antioksidan aktivite.....	53

3.3.3.2.1 ABTS	53
3.3.3.2.2 DPPH	53
3.3.3.4 Fenolik bileşim analizi	54
3.4 Model Emülsiyon Üretimi ve Stabilite Testleri	55
3.4.1 Optimize W/O emülsiyonu üretimi ve yapılan analizler	55
3.4.1.1 Renk ölçümü	55
3.4.1.2 Sedimentasyon indeksi	55
3.4.1.3 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri	56
3.4.1.4 Oksidatif stabilite Testleri	56
3.4.1.4.1 Peroksit sayısı	56
3.4.1.4.2 TBA sayısı	57
3.4.2 Optimize O/W emülsiyonu üretimi ve yapılan analizler	57
3.4.2.1 Renk ölçümü	57
3.4.2.2 Bulanıklık (türbidite) ölçümü	58
3.4.2.3 Emülsiyon stabilite indeksi (%ESI)	58
3.4.2.4 Kremalaşma indeksi	58
3.4.2.5 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri	58
3.4.2.5.1 Sıcaklık değişiminin emülsiyon stabilitesine etkisi	59
3.4.2.5.2 pH değişiminin emülsiyon stabilitesine etkisi	59
3.4.2.5.3 Tuz konsantrasyonunun emülsiyon stabilitesine etkisi	59
3.4.2.6 Oksidatif stabilite testleri	59
3.4.2.6.1 Peroksit sayısı	59
3.4.2.6.2 TBA sayısı	59
3.5 Salata Sosu Üretimi ve Yapılan Analizler	60
3.5.1 Renk ölçümü	60
3.5.2 pH ölçümü	60
3.5.3 Viskozite	60
3.5.4 Ransimat analizi	60
3.5.6 Toplam fenolik madde (TFM)	61
3.5.7 Antioksidan aktivite	61
3.5.8 <i>in vitro</i> sindirim testleri	61
3.5.8.1 Ağız fazı	62
3.5.8.2 Mide fazı	62
3.5.8.3 İnce bağırsak fazı	62
3.5.8.4 Biyoerişilebilirliğin belirlenmesi	62
3.5.9 Duyusal analiz	63
3.6 Kakaolu Fındık Kreması Üretimi ve Yapılan Analizler	64
3.6.1 Renk ölçümü	65
3.6.2 pH ölçümü	65
3.6.3 Viskozite	65
3.6.4 Hızlandırılmış yağ ayrılması	66
3.6.5 Su aktivitesi (aw) analizi	66
3.6.6 Toplam fenolik madde (TFM)	66
3.6.7 Antioksidan aktivite	66
3.6.8 <i>in vitro</i> sindirim testleri	66
3.6.9 Duyusal analiz	66
3.7 İstatistiksel Analizler	66
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	68
4.1 Ham Propolis Analizleri	68
4.1.1 Nem tayini	68

4.1.2 Kül tayini	68
4.1.3 Renk ölçümü.....	69
4.1.4 Su aktivitesi (aw) analizi	69
4.1.5 Vaks değeri.....	69
4.1.6 Çözünür ve çözünmez madde miktarı	70
4.1.7 Reçine ve Balsam miktarı.....	70
4.2 Propolis Ekstraksiyon Optimizasyonu.....	71
4.2.1 W/O emülsiyonu optimizasyonu	71
4.2.1 O/W emülsiyonu optimizasyonu	77
4.2.3 Optimum koşullarda elde edilen propolis ekstrelerinde biyoaktivite analizleri ..	83
4.2.3.1 Toplam fenolik madde (TFM).....	83
4.2.3.2 Antioksidan aktivite.....	85
4.2.3.3 Fenolik bileşim	88
4.3 Model Emülsiyonlarda Stabilite Testleri	96
4.3.1 Optimize W/O emülsiyonunda yapılan analizler	96
4.3.1.1 Renk ölçümü.....	96
4.3.1.2 Sedimentasyon indeksi (%Sİ).....	97
4.3.1.3 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri	99
4.3.1.4 Oksidatif stabilite Testleri	100
4.3.2 Optimize O/W emülsiyonunda yapılan analizleri	105
4.3.2.1 Renk ölçümü.....	105
4.3.2.2 Bulanıklık (türbidite) ölçümü	107
4.3.2.3 Emülsiyon stabilite indeksi (%ESİ).....	108
4.3.2.4 Kremalaşma indeksi	108
4.3.2.5 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri	109
4.3.2.5.1 Termal stabilite	111
4.3.2.5.2 pH stabilitesi	114
4.3.2.5.3 Tuz konsantrasyonunun emülsiyon stabilitesine etkisi	117
4.3.2.6 Oksidatif stabilite testleri.....	120
4.4 Salata Sosunda Yapılan Analizler	125
4.4.1 Salata Sosu Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	125
4.4.2 Toplam Fenolik Madde (TFM)	126
4.4.3 Antioksidan Aktivite	128
4.4.4 Ransimat analizi	130
4.4.5 <i>in vitro</i> sindirim analizi	131
4.4.5 Duyusal analiz	132
4.5 Kakaolu Fındık Kremasında Yapılan Analizler	135
4.5.1 Kakaolu Fındık Kreması Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	135
4.5.5 Hızlandırılmış yağ ayrılması (%HYA).....	136
4.5.7 Toplam Fenolik Madde (TFM)	136
4.5.8 Antioksidan Aktivite	137
4.4.5 <i>in vitro</i> sindirim analizi	139
4.5.9 Duyusal analiz	140
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	142
KAYNAKLAR.....	145
ÖZGEÇMİŞ	163

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 : Propolisin kimyasal bileşimi ve biyoaktif bileşikleri.	6
Çizelge 2.2 : Farklı ülkelere ait propolislerin fenolik profilinin karşılaştırılması.....	10
Çizelge 3.1 : W/O emülsiyonu ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan bağımsız değişken limitleri.....	48
Çizelge 3.2 : W/O emülsiyonu ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan deneysel tasarım.	49
Çizelge 3.3 : Su içinde emülsiyonu ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan bağımsız değişken limitleri.....	50
Çizelge 3.4 : O/W ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan deneysel tasarım.	51
Çizelge 3.5 : Gradiyen akış koşulları	55
Çizelge 3.6 : <i>in vitro</i> sindirim sıvılarının stok çözelti bileşimleri ^{a,b,c}	61
Çizelge 4.1 : Ham propolisin fizikokimyasal özellikleri.	68
Çizelge 4.2 : W/O emülsiyonu ile ekstraksiyon için uygulanan deneysel tasarım ve ölçülen TFM miktarları.	71
Çizelge 4.3 : TFM değerleri için elde edilen istatistiksel parametreler.	72
Çizelge 4. 4 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstraktların TFM değerleri için kuadratik terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.	72
Çizelge 4.5 : O/W emülsiyonu ile ekstraksiyon için uygulanan deneysel tasarım ve ölçülen TFM miktarları.	77
Çizelge 4.6 : TFM değerleri için elde edilen istatistiksel parametreler.	78
Çizelge 4.7 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstraktların TFM değerleri için kuadratik terimlerinin etkisini gösteren ANOVA tablosu.	78
Çizelge 4.8 : Propolis ekstraktlarının farklı birimlerle ifade edilen TFM değerleri.	83
Çizelge 4.9 : Propolis ekstraktlarının farklı birimlerle ifade edilen ABTS değerleri.	86
Çizelge 4.10 : Propolis ekstraktlarının farklı birimlerle ifade edilen DPPH değerleri.	87
Çizelge 4.11 : Propolis ekstraktlarının fenolik bileşim profili.	89
Çizelge 4.12 : W/O emülsiyonlarının renk değerleri.	97
Çizelge 4.13 : W/O emülsiyonlarının sedimentasyon indeksi değerleri (%).	97
Çizelge 4.14 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değerleri.	99
Çizelge 4.15 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değerleri.	100
Çizelge 4.16 : 37 °C’de depolanan W/O emülsiyonlarının hidroperoksit değerleri.	102
Çizelge 4.17 : 37 °C’de depolanan W/O emülsiyonlarının TBARS değerleri.	103
Çizelge 4.18 : O/W emülsiyonlarının renk değerleri.	106
Çizelge 4.19 : O/W emülsiyonlarının bulanıklık (türbidite) değerleri.	107
Çizelge 4.20 : O/W emülsiyonlarının stabilite indeksi değerleri.	108
Çizelge 4.21 : O/W emülsiyonlarının kremalaşma indeksi değerleri.	109
Çizelge 4.22 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değerleri.	110
Çizelge 4.23 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değerleri.	111
Çizelge 4.24 : Farklı sıcaklık uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değeri.	112
Çizelge 4.25 : Farklı sıcaklık uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değerleri.	113
Çizelge 4.26 : Farklı pH uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değeri.	115
Çizelge 4.27 : Farklı pH uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değeri.	116

Çizelge 4.28 : Farklı tuz konsantrasyonlarında uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değeri.....	118
Çizelge 4.29 : Farklı tuz konsantrasyonlarında O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değeri.	119
Çizelge 4.30 : 50 °C’de inkübe edilen O/W emülsiyonlarının hidroperoksit değeri	122
Çizelge 4.31 : 50 °C’de inkübe edilen O/W emülsiyonlarının TBARS değeri.....	123
Çizelge 4.32 : Salata soslarının renk değeri.....	125
Çizelge 4.33 : Salata soslarının pH değeri.....	125
Çizelge 4.34 : Salata soslarının viskozite değeri (mPa.s).	126
Çizelge 4.35 : Salata soslarının TFM sonuçları (mg GAE/100g).	126
Çizelge 4.36 : Salata soslarının ABTS sonuçları (mg Trolox/100g).	128
Çizelge 4.37 : Salata soslarının DPPH sonuçları (mg Trolox/100g).	129
Çizelge 4.38 : Salata soslarının Ransimat testi ile belirlenen indüksiyon süreleri (saat)..	130
Çizelge 4.39 : Salata sosu örneklerinde <i>in vitro</i> sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değeri.....	131
Çizelge 4.40 : Kakaolu findık kreması renk değeri.	135
Çizelge 4.41 : Kakaolu findık kreması pH değeri.....	135
Çizelge 4.42 : Kakaolu findık kreması viskozite değeri (mPa.s).....	135
Çizelge 4.43 : Kakaolu findık kreması hızlandırılmış aw değeri.....	136
Çizelge 4.44 : Kakaolu findık kreması hızlandırılmış yağ ayrılması değeri (%).	136
Çizelge 4.45 : Kakaolu findık kreması TFM değeri (mg GAE/ 100 g).	137
Çizelge 4.46 : Kakaolu findık kreması ABTS değeri (mg Trolox/100 g).	137
Çizelge 4.47 : Kakaolu findık kreması DPPH değeri (mg Trolox/100 g).	138
Çizelge 4.48 : Kakaolu findık kreması örneklerinde <i>in vitro</i> sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değeri.....	139

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 : Propoliste yaygın olarak bulunan biyoaktif bileşikler.	7
Şekil 2.2 : Mikroemülsiyon, nanoemülsiyon ve makroemülsiyonların genel görünümü. ...	13
Şekil 2.3 : Emülsiyonlarda görülen stabilite sorunları.	14
Şekil 2.4 : Farklı yüzey aktif madde tiplerinin şematik gösterimi.	15
Şekil 2.5 : Farklı misel tiplerinin şematik gösterimi.	16
Şekil 2.6 : Soya lesitini fraksiyonlarının kimyasal yapısı.	18
Şekil 2.7 : PGPR'ın moleküler yapısı.	19
Şekil 2.8 : Tween-80'in moleküler yapısı.	20
Şekil 2.9 : Yağ içinde su (W/O), su içinde yağ (O/W) ve su-içinde-yağ-içinde-su (W/O/W) emülsiyonlarının görünümü.	25
Şekil 3.1 : Yöntem akış şeması.	43
Şekil 3.2 : Salata sosları için kullanılan duyuşsal tanımlayıcı terimler ve referans standartları.	63
Şekil 3.3 : Salata soslarının duyuşsal analiz testine ait değerlendirme formu.	64
Şekil 4.1 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM artıklarının normal % olasılık dağılımı.	74
Şekil 4.2 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM'de içsel Studentleştirilmiş artıklara karşı tahmin değerleri.	74
Şekil 4.3 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin tahmin edilen ve gerçekleşen TFM değerleri arasındaki ilişki.	75
Şekil 4.4 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren üç boyutlu yanıt yüzeyi ve karşıt gösterim grafikleri.	76
Şekil 4.5 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM artıklarının normal % olasılık dağılımı.	79
Şekil 4.6 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM'de içsel Studentleştirilmiş artıklara karşı tahmin değerleri.	80
Şekil 4.7 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin tahmin edilen ve gerçekleşen TFM değerleri arasındaki ilişki.	81
Şekil 4.8 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren üç boyutlu yanıt yüzeyi ve karşıt gösterim grafikleri.	82
Şekil 4.9 : Propolis ekstrelerinin TFM değerleri.	83
Şekil 4.10 : Propolis ekstrelerinin ABTS değerleri.	86
Şekil 4.11 : Propolis ekstrelerinin DPPH değerleri.	87
Şekil 4.12 : W/O emülsiyonlarının görünümü.	96
Şekil 4.13 : W/O emülsiyonlarının dört hafta boyunca oda sıcaklığında bekletilirken kaydedilen görüntüleri.	98
Şekil 4.14 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı.	99
Şekil 4.15 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükleri.	100
Şekil 4.16 : 37 °C'de depolanan W/O emülsiyonlarının hidroperoksit değerlerinde meydana gelen değişiklikler.	101
Şekil 4.17 : 37 °C'de depolanan W/O emülsiyonlarının TBARS değerlerinde meydana gelen değişiklikler.	102
Şekil 4.18 : O/W emülsiyonlarının görünümü.	106
Şekil 4.19 : O/W emülsiyonlarının bulanıklık (türbidite) değerlerini ait grafik.	107
Şekil 4.20 : O/W emülsiyonlarının stabilite indeksi değerlerine ait grafik.	108
Şekil 4.21 : O/W emülsiyonlarının dört hafta boyunca oda sıcaklığında bekletilirken kaydedilen görüntüleri.	109

Şekil 4.22 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapları.....	110
Şekil 4.23 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükleri.....	111
Şekil 4.24 : Farklı sıcaklık uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı üzerine olan etkisi.....	112
Şekil 4.25 : Farklı sıcaklık uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü üzerine olan etkisi.....	113
Şekil 4.26 : Farklı sıcaklık uygulamaları sonrası 24 saat sonunda O/W emülsiyonlarının meydana gelen değişim.	114
Şekil 4.27 : O/W emülsiyonlarının parçacık çapına pH'nın etkisi.....	115
Şekil 4.28 : Farklı pH uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü üzerine olan etkisi.....	116
Şekil 4.29 : Farklı pH uygulamaları sonrası 24 saat sonunda O/W emülsiyonlarının meydana gelen değişim.....	117
Şekil 4.30 : Farklı NaCl konsantrasyonu uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı üzerine olan etkisi.....	118
Şekil 4.31 : Farklı tuz konsantrasyonunun O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü üzerine olan etkisi.....	119
Şekil 4.32 : Farklı konsantrasyonlarda NaCl içeren O/W emülsiyonlarının 24 saat sonunda görünüşleri.	120
Şekil 4.33 : 50 °C'de depolanan O/W emülsiyonlarının hidroperoksit değerlerinde meydana gelen değişiklikler.	121
Şekil 4.34 : 50 °C'de depolanan O/W emülsiyonlarının TBARS değerlerinde meydana gelen değişiklikler.	123
Şekil 4.35 : Salata soslarının TFM değerleri.....	127
Şekil 4.36 : Salata soslarının ABTS değerleri.....	128
Şekil 4.37 : Salata soslarının DPPH değerleri.....	130
Şekil 4.38 : Salata soslarının Ransimat metoduyla belirlenen indüksiyon süreleri.	130
Şekil 4.39 : Salata sosu örneklerinde <i>in vitro</i> sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değerleri.....	132
Şekil 4.40 : Salata soslarının duyuusal tanımlama değerlendirilmesi.....	133
Şekil 4.41 : Salata soslarının duyuusal değerlendirmesi.....	133
Şekil 4.42 : Kakaolu fındık kremasının TFM sonuçları.....	137
Şekil 4.43 : Kakaolu fındık kremasının ABTS sonuçları.....	138
Şekil 4.44 : Kakaolu fındık kremasının DPPH sonuçları.....	138
Şekil 4.45 : Kakaolu fındık kreması örneklerinde <i>in vitro</i> sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değerleri.....	139
Şekil 4.46 : Kakaolu fındık kremasının duyuusal analiz değerlendirilmesi.....	140

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

ANOVA	: Tek yönlü varyans analizi
TFM	: Toplam fenolik madde
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
CAPE	: Kafeik asit feniletil ester
YAM	: Yüzey aktif madde
O/W	: Su içinde yağ emülsiyonu
W/O	: Yağ içinde su emülsiyonu
O/W/O	: Yağ içinde su içinde yağ
W/O /W	: Su içinde yağ içinde su
HLB	: Hidrofil-lipofil dengesi
KMK	: Kritik misel konsantrasyonu
PGPR	: Poligliserol polirisinoleat
ADI	: Kabul edilebilir günlük alım miktarı
GRAS	: Genel olarak güvenli olarak tanımlanan
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
JECFA	: Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi
SCF	: Gıda Bilimsel Komitesi
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
TF	: Toplam flavonoid
AA	: Antioksidan aktivite
PEF	: Darbeli elektrik alanı
TBARS	: Tiyoarbitürik asit reaktif madde
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
HYA	: Hızlandırılmış yağ ayrılması
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
PEG	: Polietilen glikol
YYY	: Yanıt yüzey yöntemi
TEP	: 1,1,3,3-tetraethoxypropane
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
S+P	: Su ile elde edilen propolis ekstresi
E+P	: %70'lik etanol ile elde edilen propolis ekstresi
A+P	: Ayçiçek yağı ile elde edilen propolis ekstresi
O/W+P	: Optimizasyon sonucunda belirlenen koşullarda O/W emülsiyonu ile elde edilen propolis ekstresi
W/O+P	: Optimizasyon sonucunda belirlenen koşullarda W/O emülsiyonu ile elde edilen propolis ekstresi

ÖZET

Doktora Tezi

YÜZEY AKTİF MADDE DESTEKLİ PROPOLİS EKSTRAKSİYONU VE ELDE EDİLEN EKSTRELERİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

AYŞE YILMAZ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

163+XIII sayfa

2025

Danışman: Prof. Dr. Gökhan DURMAZ

Bu çalışmada, propolisten fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için su içinde yağ (O/W) ve yağ içinde su (W/O) emülsiyonlarının çevreci ve etkili çözücüler olarak kullanılmasının olanakları araştırılmıştır. Deneysel tasarım ve istatistiksel optimizasyon için yanıt yüzeyi yöntemi (Box-Behnken tasarımı) kullanılmıştır ve bağımsız değişkenler olan emülsifiyer oranı, ekstraksiyon süresi ve yağ/su oranı parametreleri, yanıt olarak toplam fenolik madde (TFM) miktarına karşı optimize edilmiştir. Karşılaştırma amacıyla; su (S+P), ayçiçek yağı (A+P) ve %70 etanol (E+P) ile elde edilen ekstratlar kullanılmıştır. Ekstrelerde TFM ve ABTS/DPPH radikal süpürme aktiviteleri spektrofotometrik olarak, fenolik bileşim ise sıvı kromatografisi-yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi (LC-HRMS) ile belirlenmiştir. Emülsiyon kullanılarak elde edilen ekstratların fiziksel karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve oksidatif kararlılıkları standart antioksidanlarla oluşturulan emülsiyonlarla karşılaştırılarak belirlenmiştir. Çalışmanın son bölümünde, optimum koşullarda elde edilen ekstratlar, salata sosu ve kakaolu fındık kreması formülasyonlarına ilave edilerek bu ürünlerin fonksiyonel özellikleri, duyuşal beğeni düzeyleri ve fenoliklerin *in vitro* biyoçeşitliliği incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlarda örneklerin TFM, ABTS ve DPPH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). En yüksek TFM değeri O/W+P örneğinde gözlenmiş ve E+P'ye göre %18, A+P'ye göre %58 ve S+P'ye göre %830 daha fazla fenolik maddenin ekstrakte edildiği tespit edilmiştir. Radikal süpürme aktivitesi bakımından O/W+P, W/O+P ve E+P örneklerinin en yüksek değerleri gösterdiği ve bunları A+P ve S+P örneklerinin takip ettiği görülmüştür. Ekstrelerin fenolik bileşimleri incelendiğinde ise Naringenin, kafeik asit, diosmetin, kumarik asit ve galangin bakımından zengin olduğu ve en yüksek değerlerin O/W+P, W/O+P örneklerinde ölçüldüğü görülmüştür. Oksidatif stabilize çalışmalarında, peroksitlerin miktarının 30 günlük inkübasyon sonunda O/W+P örneğinde 1000 ppm askorbik asit içeren emülsiyona göre %86, 200 ppm α -tokoferol içeren emülsiyona göre de %83 daha az olduğu görülmüştür. Benzer şekilde W/O+P örneğinde ölçülen hidroperoksit miktarı tokoferol örneğinden %55, askorbik asit örneğinden %48 daha düşük olarak ölçülmüştür. İkincil oksidasyon ürünlerinin göstergesi olan TBARS testinde de bu sonuçlara paralel sonuçlar alınmıştır.

Emülsifiye propolis ekstresi ile zenginleştirilen salata sosu ve kakaolu fındık kreması örneklerinde artan propolis ekstresi ile örneklerin TFM, ABTS ve DPPH değerlerinde istatistiksel olarak önemli artış olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Yapılan duyuşal değerlendirmede, 150 ppm O/W+P ilavesinin salata sosunda belirgin bir koku/aroma değişimi meydana getirmediği ve kontrol örneğine göre daha yüksek "genel kabul edilebilirlik" değerleri gösterdiği tespit edilmiştir. Kakaolu fındık kremasında ise W/O +P formunda ilave edilen 35 ppm propolis, lezzette belirgin bir değişime sebep olmadığı gibi görünüş ve renk bakımından da kontrole göre daha iyi skorlar aldığı görülmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışma, O/W ve W/O emülsiyonlarının propolisten fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu ve gerçek gıda uygulamalarını önemli ölçüde iyileştirebileceğini göstermektedir. Geleneksel çözücülerle karşılaştırıldığında, bu çalışmada kullanılan emülsiyonlar daha yüksek geri kazanım, daha yüksek antioksidan aktivite ve tatmin edici duyuşal özellikler sunmakta ve temiz etiketli gıda formülasyonları için umut vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Ekstraksiyon, Emülsiyon, Salata Sosu, Kakaolu Fındık Kreması.

ABSTRACT

Phd. Thesis

SURFACTANT-ASSISTED PROPOLIS EXTRACTION AND DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE OBTAINED EXTRACTS

Ayşe YILMAZ

Inonu University
Graduate School of Nature and Applied Sciences
Department of Food Engineering

163+XIII page

2025

Supervisor: Prof. Dr. Gökhan DURMAZ

In this study, the feasibility of utilizing oil-in-water (O/W) and water-in-oil (W/O) emulsions as green, effective solvents for extracting phenolic compounds from propolis was evaluated. Response surface methodology (Box-Behnken design) was employed for experimental design and statistical optimization of emulsifier ratio, extraction time and oil/water ratio as independent variables against total phenolic content (TFM) as the response. For comparison, extracts obtained with water (S+P), sunflower oil (A+P) and 70% ethanol (E+P) were used. TFM and ABTS/DPPH radical scavenging activities in the extracts were determined spectrophotometrically, whereas phenolic composition was revealed by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS). The physical properties of the extracts obtained using the emulsions were characterized and their oxidative stability was determined comparatively with emulsions prepared with standard antioxidants. In the last stage of the study, the extracts obtained under optimum conditions were added to salad dressing and cocoa hazelnut spread formulations and the functional properties, sensory acceptability and *in vitro* bioaccessibility of phenolics in these products were studied.

According to the results, it was determined that there were statistically significant differences between the TFM, ABTS and DPPH values of the samples ($P<0.05$). The O/W+P sample yielded the highest TPC, which was 18%, 58%, and 830% higher compared to E+P, A+P, and S+P, respectively ($P<0.05$). In terms of radical scavenging activity, it was observed that O/W+P, W/O +P and E+P samples showed the highest values and followed by A+P and S+P samples. Upon analyzing the phenolic compositions of the extracts, it was observed that they exhibited a high concentration of naringenin, caffeic acid, diosmetin, coumaric acid, and galangin. Notably, the highest values were recorded in the O/W+P and W/O +P samples. In oxidative stability studies, it was observed that the amount of peroxides was 86% lower in the O/W+P sample compared to the emulsion containing 1000 ppm ascorbic acid and 83% lower than the emulsion containing 200 ppm α -tocopherol after 30 days of incubation. Likewise, the amount of hydroperoxide measured in the W/O +P sample was 55% lower than the tocopherol sample and 48% lower than the ascorbic acid sample. Parallel results were obtained in the TBARS test, which is an indicator of secondary oxidation products.

It was determined that there was a statistically significant increase in the TFM, ABTS and DPPH values of the samples with increasing propolis extract in the salad dressing and cocoa hazelnut cream samples fortified with emulsified propolis extract ($P<0.05$). In the sensory evaluation, it was determined that the addition of 150 ppm O/W+P did not cause a substantial alteration in the odor/aroma profile of the salad dressing. Furthermore, the resulting sample exhibited higher “general acceptability” values in comparison to the control sample. In the cocoa hazelnut cream formulation, the addition of 35 ppm propolis in the form of W/O +P did not significantly alter the flavor profile. On the other hand, the propolis-infused cream exhibited superior visual and color characteristics compared to the control group.

Overall, this study demonstrates that O/W and W/O emulsions can significantly improve the extraction and real world application of phenolic compounds from propolis. Compared to traditional solvents, these emulsions offer higher recovery, enhanced antioxidant activity, and satisfactory sensory properties, making them promising candidates for clean-label food formulations.

Keywords: Propolis, Extraction, Emulsion, Salad Dressing, Chocolate Hazelnut Cream.

1. GİRİŞ

Bilgiye erişimin kolaylaşması ve buna bağlı olarak insanların beslenme bilincinin artmasıyla birlikte, bireyler daha sağlıklı ve kaliteli yaşam sürdürebilmek için beslenme alışkanlıklarını gözden geçirmeye başlamıştır. Bu yeni bakış açısıyla insanlar yaşam süresini ve kalitesini arttırmak için hastalıklarını tedavi etmek yerine hastalığı önleyici tedbirler almayı tercih etmektedirler. Bu önleyici tedbirlerin en başında beslenme şekli ve tercihleri gelmektedir. Beslenirken aynı zamanda da sağlıklı hali koruyan, geliştiren ve bunun yanında hastalık oluşma riskini de azaltan fonksiyonel gıdalar tercih edilmektedir (Erbaş, 2006). Yanlış beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak hastalıklarda meydana gelen artışlar fonksiyonel gıdaların özelliklerini belirlemek için araştırmaları teşvik etmiştir (Doyon ve Labrecque, 2008). Bu noktada, bal, polen, propolis, arı sütü, arı ekmeği ve apilarnil gibi farklı arı ürünleri, sağlık üzerine olumlu etkileri sebebiyle, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de fonksiyonel gıda olarak tüketimi artış gösteren ürünler arasında yerini almıştır. Bu ürünlerden biri olan propolis, arıların çevredeki bitkilerin salgılarını, tükürükleri ve mumları ile karıştırdıkları, kontaminasyona ve istilacılara karşı korunmak, kovandaki aralıkları kapatmak ve kovan içindeki sıcaklığı muhafaza etmek için kovanlarına topladıkları reçineli bir maddedir (Bankova ve diğ., 2014). Bu ürün %50 reçine, %30 mum, %10 uçucu yağ, %5 polen ve %5 organik bileşik ve minerallerden oluşmaktadır (Almutairi ve diğ., 2014). Propolisin antitümör, antifungal, antikanser, antiinflamatuvar, antiviral ve antibakteriyel özellikler gibi çeşitli terapötik aktivitelere sahip olduğu ifade edilmektedir (Abu Mellal ve diğ., 2012). Bu nedenle insan sağlığını desteklemek ve kanser, kalp damar hastalıklarını, iltihaplanma ve diyabet gibi hastalıkları önlemek için ilaç ve takviye edici gıda sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır (Chen ve diğ., 2009). Bugün propolis tüm dünyada popüler bir materyal olup, saf halde ya da diğer doğal ürünlerle birlikte reçetesiz ilaçlarda, kozmetik ürünlerinde ve gıda takviyelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bankova ve diğ., 2021). Ayrıca 2019 yılında dünya çapında yaşanan ve hala etkisi devam eden COVID-19 salgını sürecinde yaşanan salgınla mücadele edebilmek için birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmaların bir kısmına propolis de konu olmuştur. Bu kapsamda propolis ile ilgili yapılan bir çalışmada propolisin hafif ve orta-şiddetli COVID-19 hastalarında klinik iyileşme için olumlu bir etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir

(Dilokthornsakul ve diğ., 2022). Bir başka çalışmada ise, hastaneye yatırılan COVID-19 hastalarından yeşil Brezilya propolisi alanların tek başına standart bakım alan hastalara göre semptomlarda iyileşme ve hastaneden taburcu olma oranlarının arttığı, ölüm oranlarının ise azaldığı ifade edilmiştir (Ali ve diğ., 2021).

Oldukça karmaşık bir bileşime sahip olan propolisin kimyasal içeriği ve fiziksel özellikleri, başta bitkisel kaynakların farklılığı olmak üzere iklim şartları, mevsim ve üretim koşulları gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Farklı orjinlerden elde edilen propolis örnekleri başta fenolik bileşikler olmak üzere, aldehitler, ketonlar, alifatik asitler, yağ asitleri ve alkoller gibi bileşikler içermektedir. Bu bileşiklerden özellikle fenolik bileşikler fonksiyonel gıdaların bileşiminde yoğun bir şekilde bulunmaktadır (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015). Propolis, sağlık açısından önem taşıyan fonksiyonel bileşikler içermesine rağmen, toplam içeriğinin %30'unu oluşturan inert bir bileşik olan mumlardan dolayı direkt olarak kullanılamamaktadır (Almutairi ve diğ., 2014). Fonksiyonel bileşikler yüksek konsantrasyonda içeren bir propolis ekstresi elde etmek için, inert materyallerin uzaklaştırılması ve fonksiyonel ögelerin korunmasını sağlayacak ekstraksiyon prosedürlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Pietta, 2000). Son ürünün biyoaktif bileşenlerinin miktarı ve kalitesi, uygulanan ekstraksiyon metodundan doğrudan etkilenmektedir. Bundan dolayı kullanılan ekstraksiyon yöntemi büyük önem taşımaktadır (Sağdıç ve diğ., 2020). Ekstraksiyon işlemi sonucunda yüksek biyoaktiviteye sahip ürün elde etmenin yanı sıra kullanılan çözücünün toksik/sağlığa zararlı olup olmadığı, tüketilebilirliği ve ekstraksiyon sonrası uzaklaştırılıp uzaklaştırılamayacağı da oldukça önemlidir (Silici, 2020). Bu nedenle bu çalışmada uygulandığı gibi özellikle gıda ve ilaç uygulamaları için kullanılması hedeflenen propolis ekstraktlarının, su ve bitkisel yağ gibi sağlık riski taşımayan çevre dostu çözücüler kullanılarak “yeşil ekstraksiyon” teknikleriyle elde edilmesi önem arz etmektedir.

Propolisin ekstraksiyonunda genel olarak maserasyon yöntemi kullanılmakta olup çözücü olarak ise %70’lik etanol çözeltisi yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat alkolün son üründe yarattığı duyuusal problemler, kozmetik ve farmasötik ürünlerde kullanımının kısıtlı olması, çocuklarda ve hamilelerde kullanılamaması gibi sebepler alkolsüz ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Sağdıç ve diğ., 2020). Piyasada etanol dışında çözücü veya taşıyıcı olarak kullanılan mono propilen glikol, gliserin ve polietilen glikol içeren farklı propolis ekstreleri görülmeye başlanmıştır. Ancak ekstraksiyonda veya taşıyıcı olarak kullanılan mono propilen glikol gibi alkol türevi maddelerin yetişkin ve çocuklarda

merkezi sinir sistemi, böbrek, karaciğer, solunum ve kalp fonksiyonları üzerinde olumsuz etkileri olduğuna dair bilimsel çalışmalar bulunduğundan kullanımları sınırlandırmaktadır (Sağdıç ve diğ., 2020). Ayrıca piyasada propolisin etanol ve alkol türevi ekstraksiyonlarına alternatif olarak su ve zeytinyağı ekstraktları ile de sıklıkla karşılaşmaktayız. Farklı çözücülerin ekstraksiyonda kullanımı propolisin yapısındaki farklı bileşenleri, farklı miktarlarda çezeceği için elde edilen propolis ekstraktlarının içerikleri farklı olacaktır. Bu farklılıklar propolisin toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal özellikleri üzerinde etkili olmaktadır (Bakkaloğlu ve Arıcı, 2019). Aynı propolis örnekleri kullanılarak farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların toplam polifenol içeriği sırasıyla, dimetil sülfoksit için (141.17±9.99 mg GAE/g propolis), etanol için (122.67±6.37 mg GAE/g propolis), aseton için (100.00±8.49 mg GAE/g propolis), Gliserol için (88.00±7.75 mg GAE/g propolis) ve su için (19.67±0.29 mg GAE/g propolis) düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (Çakıroğlu, 2010).

Su, zeytinyağı ve alkol (metanol, etanol) kullanılarak ekstrakte edilen propolisin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriklerinin araştırıldığı bir çalışmada; en düşük toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerinin su ile ekstrakte edilen grupta olduğu ve en yüksek antioksidan aktivite değerinin metanol grubunda olduğu ifade edilmiştir (Khalily, 2019). Propolisten çözücü olarak su, etanol ve bitkisel yağ (kanola ve soya) kullanılarak biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edildiği bir çalışmada ise, etanol ile propolisteki flavonoidinlerin daha yüksek oranda ekstrakte edildiği ancak bitkisel yağ ve suyun propolis bileşenlerini almakta çok etkili olmadığı bildirilmiştir (Schmidt ve diğ. 2014). Bu durumun, kullanılan çözücülerin polaritelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Propolisin ana matriksini oluşturan reçineler oldukça non-polar yapıdadır dolayısıyla suyun bu matrikse nüfuz etmesi ve biyoaktif bileşenlerin çözünmesi oldukça zordur. Diğer taraftan, propoliste bulunan fenolik maddelerin önemli bir kısmının suda çözünürlükleri de zayıftır (Azwanida, 2015). Bitkisel yağlar kullanılarak yapılan ekstraksiyonlarda ise yağın oldukça nonpolar olmasından dolayı nispeten polar olan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda yetersiz kalması ve viskozitesinin yüksek olmasından dolayı ekstraksiyon etkinliğinin yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Fenolik bileşiklerin polaritesi yağa göre yüksek suya göre ise düşük kalmaktadır ve her iki çözücü de bu bakımdan ideal ekstraksiyon verimini sağlayamamaktadır. Çalışmamızda, bu handikapın, herhangi bir organik çözücü kullanılmadan çözümlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çözücü olarak su içinde yağ (O/W) ve yağ içinde su (W/O) emülsiyonları kullanılarak propolis ekstraksiyonu

gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, yanıt yüzey yöntemi (YYY) kullanılarak her iki emülsiyon çeşidi için ayrı ayrı deney tasarımları oluşturularak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Optimum koşullarda model emülsiyonlar üretilip karakterizasyon ve stabilite analizleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra optimum koşullarda elde edilen propolis ekstraktları kakaolu fındık kreması ve salata sosu bileşiminde kullanılarak fonksiyonel ürünler elde edilmiştir. Elde edilen bu fonksiyonel ürünlerde fizikokimyasal analizler, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite (ABTS, DPPH) ve *in vitro* sindirim analizleri gerçekleştirilmiştir.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Propolis

Propolis terimi Yunanca pro ('önünde', 'girişinde') ve polis ('topluluk' veya 'şehir') kelimelerinden türemiş olup kovani savunan bir madde anlamına gelmektedir (Castaldo & Capasso, 2002). Propolis, bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından bitki reçinelerinden toplanarak üretilen ve kovan içi dezenfeksiyonu sağlamak, kovanları dış etkenlere karşı korumak, kovandaki çatlakları kapatmak, kovanın iç yüzeyini kaplamak gibi farklı amaçlar için kullanılan, elde edildiği flora göre kokusu ve rengi değişen yapışkan reçineli bir maddedir. Arılar bitkilerden topladıkları reçineleri kendi tükürük enzimleri ve balmumu ile karıştırarak propolisi oluşturmaktadır. Propolis bal mumunun yanı sıra bir miktar polen de içermektedir (Ertürk & Güler, 2013; Przybyłek & Karpiński, 2019).

Propolis, M.Ö. 300 yılından beri insanlar tarafından geleneksel bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Geçmişte Antik Mısırlılar, Persler, Romalılar ve Yunanlılar tarafından çeşitli amaçlar için kullanılmıştır. Roma ve Yunan hekimleri propolisi yara iyileştirilmesinde kullanırken İnkalar ateş düşürücü olarak kullanmışlardır. Antik Mısırlılar hem cesetlerini çürümekten korumak (mumyalamak) hem de yaraları iyileştirmek amacıyla kullanmışlardır. Çin'de ise kanser ve enfeksiyon önleyici bir ilaç olarak kullanılmıştır. 17. yüzyılda İngiltere'de yaraların tedavisinde etkili bir ilaç olarak kabul görmüştür. İngiliz farmakopeleri (17. yüzyılda) propolisi resmi bir ilaç olarak listelemişlerdir. Ayrıca, propolis 17. ve 20. yüzyılda Avrupa'da anti-bakteriyel bir ajan olarak kabul görmüştür. Propolis keman verniklemede ve parfüm yapımında da kullanılmıştır. Propolisin bileşimi ve kimyasal etkileri hakkında ilk bilimsel rapor 1908'de kamuoyuna duyurulmuştur (Anjum ve diğ., 2019; Stojanović ve diğ., 2020).

Arılar propolis üretimi için kaynak olarak çam, çeşitli kavak türleri, söğüt, huş, at kestanesi ve köknar gibi ağaçların reçinelerini kullanmaktadır. Bu bitkiler bölgeye ve mevsimlere göre çeşitlilik gösterebilmektedir (Huang ve diğ., 2014; Kumova ve diğ., 2002). Bu çeşitlilik bitki reçinelerinin rengine ve dolayısıyla da propolisin de rengine yansımaktadır. Propolisin rengi, açık sarıdan koyu kahverengiye kadar farklılık gösterebilmektedir. Propolisin fiziksel özellikleri üzerine reçine kaynağının yanı sıra mevsim sıcaklıkları ve iklim koşulları da etkili olmaktadır. Örneğin; propolis 15 °C'den daha düşük sıcaklıklarda genellikle donuk, sert ve kırılğan bir yapıda sahipken, 25-45 °C'de oldukça yapışkan ve elastik bir yapıya sahip olmaktadır. Sıcaklık 45 °C'nin üzerine

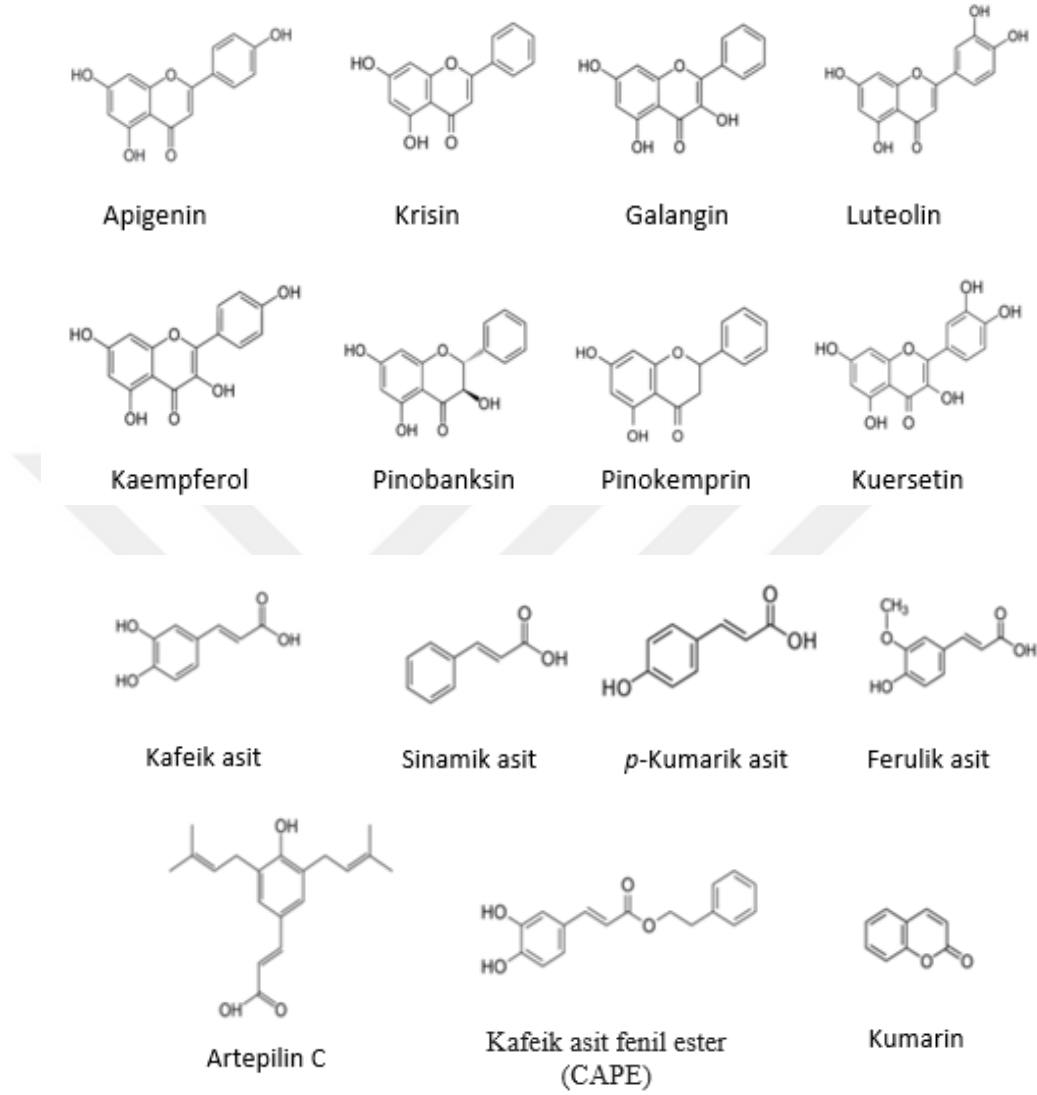
çıkıldıkça yapışkanlığı artmaktadır. Propolisin erime noktası genellikle 60-70 °C olmasına rağmen bazı türlerinin erime noktası 100 °C’i bulmaktadır (Anjum ve diğ., 2019; Krell, 1996).

Çizelge 2.1 : Propolisin kimyasal bileşimi ve biyoaktif bileşikleri (Zullkiflee ve diğ., 2022).

Kimyasal bileşim	Biyoaktif bileşikleri
Aromatik asitler	Benzoik asitler, kafeik asit, sinamik asit, kumarik asit, ferulik asit ve gallik asit
Alkoller	Gliserol, eritritol, α -sedrol, ksilitol
Esterler	Kafeik asit fenetil ester, 2-propenoik asit metil ester, 4,3-asetiloksikafeat, 3,4-dimetoksi-trimetilsilil esterler ve 3-metoksi-4-sinamat
Yağ asitleri ve alifatik asitler	İzoferulik asit, glutamik asit, fosforik asit, malik asit, tartarik asit, propanoik asit, bütanedoik asit ve stearik asit
Flavonoidler	Apigenin, asasetin, krisin, galangin, genistein, hesperetin, kaempferol, kaempferid, luteolin, naringenin, pinobanksin, pinocembrin, kuersetin ve tetrokrisin
Mikroelementler	Alüminyum (Al), bakır (Cu), magnezyum (Mg), çinko (Zn), silikon (Si), kalay (Sn), mangan (Mn), nikel (Ni) ve krom (Cr)
Şekerler	d-Altroz, d-glukoz, maltoz ve d-fruktoz
Vitaminler	A vitamini (retinol), B1 vitamini (tiamin), B2 vitamini (riboflavin), B3 vitamini (nikotinamid), B6 vitamini (piridoksin), B9 vitamini (folik asit), C vitamini (askorbik asit) ve E vitamini (tokoferol)
Diğerleri	Bütan, sikloheksan, siklopenten ve guanidin

Propolisin kimyasal yapısı da fiziksel özellikleri gibi toplandığı bitki kaynağına, arı ırkına, toplama mevsimine ve iklim koşullarına bağlı olarak önemli ölçüde çeşitlilik göstermektedir. Şimdiye kadar propolisin bileşiminde 300'den fazla kimyasal bileşik tanımlandığı ifade edilmektedir. Ham propolis genel olarak %50 bitki reçinesi, %30 mum, %10 uçucu ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 şekerler, amino asitler, vitaminler ve mineraller dahil olmak üzere diğer organik maddelerden oluşmaktadır. Reçineler ve mumlar hariç, propoliste bulunan kimyasal bileşiklerin ana grupları şunlardır: fenoller (flavonoidler, polifenoller, fenolik asitler ve diğer fenolik bileşikler) ve bunların esterleri, terpenler ve terpenoidler, steroidler, aromatik asitler, aromatik esterler, aldehitler, şekerler, şeker alkolleri ve asitleri, amino asitler, vitaminler, yağ asitleri, hidrokarbonlar, mineral elementler ve alkollerdir (Huang ve diğ., 2014; Stojanović ve diğ., 2020; Toreti ve diğ., 2013). Propolisin kimyasal bileşimleri ve biyoaktif bileşikleri Çizelge 2.1’de özetlenmiştir. Şekil 2.1’de ise

propoliste yaygın olarak bulunan biyoaktif bileşenler kimyasal yapılarıyla birlikte verilmiştir.



Şekil 2.1 : Propoliste yaygın olarak bulunan biyoaktif bileşikler (Zullkiflee ve diğ., 2022).

2.2 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan sekonder metabolitlerdir. Yapısal olarak, fenolik bileşikler bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halkadan oluşmaktadırlar. Bu bileşikler basit fenolik moleküllerden yüksek oranda polimerize bileşiklere kadar farklılık göstermektedirler. Fenolik bileşikler polifenoller olarak da adlandırılmaktadırlar. Polifenoller kimyasal yapılarına bağlı olarak fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, lignanlar ve tanenler olarak sınıflandırılmaktadır (Balasundram ve diğ., 2006; Durazzo ve diğ., 2019; El Gharraş, 2009).

Fenolik asitler hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler olmak üzere iki alt gruptan oluşmaktadır. Hidroksibenzoik asitler arasında gallik, p-hidroksibenzoik, protokatekuik, vanilik ve siringik asitler bulunur ve bunlar ortak olarak C₆–C₁ yapısına sahiptirler. Diğer bir grup olan hidroksisinnamik asitler ise üç karbonlu yan zincire (C₆–C₃) sahip aromatik bileşiklerdir. Bu grubun en yaygın olanları kafeik, ferulik, p-kumarik ve sinapik asitlerdir (Bravo, 1998). Bilinen bazı fenolik asit kaynakları; yaban mersini, kıvılcık, şeftali, patates, marul, kahve çekirdeği, ıspanak, elma, portakal, kinoa ve deniz yosunlarıdır (Oluwale ve diğ., 2022).

Flavonoidler; flavanoller, flavonoller, flavanonlar, flavonlar, izoflavonlar ve antosiyanidinler şeklinde altı alt gruptan oluşmaktadır. Bu alt grupların en yaygın bilinenleri quercetin, kaempferol (flavonoller), luteolin, apigenin (flavonlar), hesperetin, naringenin, eriodictyol (flavanonlar), epikateşin, kateşinler (flavanoller), genistein, daidzein, biokanın A, glisitein (izoflavonlar), siyanidin, delfinidin, malvidin ve peonidi (antosiyanidinler) şeklindedir. Flavonoidler, C₆–C₃–C₆ konfigürasyonunda düzenlenmiş on beş karbon atomundan oluşan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Esas olarak yapı, genellikle heterosiklik bir halka biçiminde olan 3 karbonlu bir köprü ile birleştirilmiş iki aromatik halkadan oluşmaktadır. Flavonoidler, sekiz binden fazla farklı fenolik bileşiğin yarısından fazlasını oluşturmaktadır (Balasundram ve diğ., 2006; Durazzo ve diğ., 2019). Flavonoidlerin bol bulunduğu bazı gıda kaynakları elma, yeşil çay, kakao, kivi, çilek, siyah çay, soğan, brokoli, domates, zerdeçal, nane, baklagiller, yaban mersini, muz, kırmızı şarap, siyah frenk üzümü, böğürtlen, kıvılcık ve çiçeklerdir (Oluwale ve diğ., 2022).

Lignanlar keten tohumu ve susam tohumu gibi bitkisel kaynaklarda bulunan kalorisiz ve besin değeri olmayan fenolik bileşiklerdir. Bilinen en yaygın lignanlar; lariciresinol, secoisolariciresinol, medioresinol, syringaresinol ve pinoresinoldür. Bir diğer fenolik bileşik grubu olan stilbenler ise birçok bitkide savunma mekanizması olarak üretilen polifenollerdir. Resveratrol (3,5,40-trihidroksistilben) kırmızı şarap, üzüm ve yer fıstığında bulunan en yaygın stilbenlerden biridir (Oluwale ve diğ., 2022). Lignanlar C₆–C₃–C₃–C₆ yapısına sahipken stilbenler ise C₆–C₂–C₆ yapısına sahiptir (Karabulut ve Yemiş, 2019).

Tanenler, moleküler ağırlıkları 500 ila 3000 Da arasında değişen fenolik bileşiklerdir. Tanenler, hidrolize edilebilir ve hidrolize edilemez tanenler olarak iki alt gruba ayrılmaktadır (Oluwale ve diğ., 2022). Tanenler ağaç kabuğunda, meyvede, meyvelerin kabuğunda, yapraklarda ve bitki köklerinde bulunurlar (Kumari ve Jain, 2012).

Fenolik bileşikler, bitkilerde pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid yollarının türevleri olan ikincil metabolitlerdir. Fitokimyasalların en yaygın görülen gruplarından biri olan bu bileşikler, bitkilerde önemli fizyolojik ve morfolojik öneme sahiptir. Bu bileşikler, meyve ve sebzelerin rengine ve duyuşal özelliklerine katkıda bulunmanın yanı sıra, büyüme ve üremede önemli bir rol oynamakta ve patojenlere karşı koruma sağlamaktadır. Fenolik bileşikler, antialerjenik, anti-arterojenik, anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, antioksidan, antikanser, anti-trombotik, kardiyoprotektif ve vazodilatör etkiler gibi çok çeşitli fizyolojik özellikler göstermektedir (Balasundram ve diğ., 2006; Bravo, 1998). Literatürde fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerine dair çok sayıda çalışma mevcuttur ve bu sayı gün geçtikçe daha da artış göstermektedir.

2.2.1 Propoliste Bulunan Fenolik Bileşikler ve Sağlık Üzerine Etkileri

Propolis, fenolik asitler ve flavonoidler gibi doğal antioksidanların potansiyel bir kaynağıdır (Kurek-Górecka ve diğ., 2013). Galeotti ve diğ., (2019) tarafından yapılan bir çalışmada farklı ülkelerden toplanan propolislerin fenolik bileşim profili belirlenmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 2.2’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde farklı ülkelerden gelen propolislerin bileşiminde bulunan fenolik bileşiklerin benzer olduğu gözlemlenmiştir.

Propolisin bileşiminde yer alan fenolik bileşikler aşağıda verilen çizelge ile sınırlı kalmamaktadır. Çünkü bu örneklerde sadece listedeki fenolik bileşikler taranmıştır. Dolayısı ile literatürde propolis bileşiminde bu liste dışında fenolik bileşikler mevcut olabilmektedir. Örneğin yapılan çalışmalarda propoliste ramnetin, akasetin, kaempferide, sakuranetin, izosakuranetin, tektokrisin (Park ve diğ., 1998), fenetil kafeat, izopentil kafeat, pinostrobin, benzil kafeat (Popova ve diğ., 2004), mirisetin 3,7,4,5-metil eter, pinokembrin 7-metil eter (Martos ve diğ., 1997), hesperetin, nikotinik asit (Lu ve diğ., 2004), kateşin, resveratrol, luteolin (Volpi, 2004), rutin, daidzein, genistein, kuersitrin (Fu ve diğ., 2005), benzoik asit (Hilhorst ve diğ., 1998), feniletil kafeat, sinnamil kafeat, vanilin, p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, dehidroabietik asit, sinnamik asit, benzil sinamat, sinnamil sinamat, pinobanksin ve pinobanksin 3-asetat (Popova ve diğ., 2005) fenolik bileşiklerin de tespit edildiği bildirilmiştir. Literatürü incelediğimizde propoliste bulunan bazı fenolik bileşiklerin farklılık gösterdiği gözlemlenmektedir. Bunun temel nedenlerinin arı ırkına, mevsime, iklim ve coğrafik koşullara, ekstraksiyon yöntemine ve ekstraksiyonda kullanılan çözücüye bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 2.2 : Farklı ülkelere ait propolislerin fenolik profilinin karşılaştırılması (Galeotti ve diğ., 2019).

Fenolik Bileşik Adı	İ	İs	F	R	B	U	M	T	Ç	Ur
Dikafeik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kafeik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-kumarik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ferulik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İzoferulik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3,4-dimetil-kafeik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kuersetin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pinobanksin-5-metil-eter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kuersetin-3-metil-eter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sinnamik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Krisin-5-metil-eter	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kaempferol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pinobanksin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İzorhamnetin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luteolin-metil-eter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kuersetin-dimetil-eter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galangin-5-metil-eter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pinobanksin-5-metil-eter-3-o-asetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sinnamilidenasetik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kuersetin-7-metil-eter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kuersetin-metil-x-metileter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kafeik asit izoprenil ester	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Krisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kafeik asit benzil ester	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kafeik asit izoprenil ester	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pinokembrin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galangin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kafeik asit feniletil ester (CAPE)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pinobanksin-3-o-asetat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metoksi-krisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
p-kumarik prenil ester	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-kumarik benzil ester	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kafeik asit sinnamil ester	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 2.2 (devam) : Farklı ülkelere ait propolislerin fenolik profilinin karşılaştırılması
(Galeotti ve diğ., 2019).

Fenolik Bileşik Adı	İ	İs	F	R	B	U	M	T	Ç	Ur
Pinobanksin-3-o-propionat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
p-kumarik sinnamil ester	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pinobanksin-3-o-bütirat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pinobanksin-3-o-pentanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pinobanksin-3-o-heksanoat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-metoksi sinamik asit sinamil ester	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

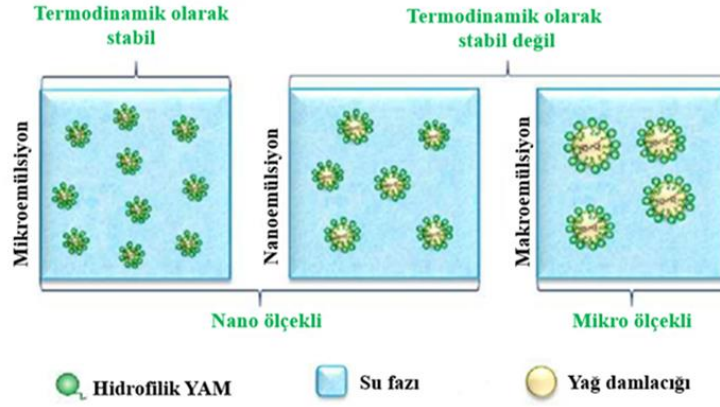
(Çizelgede İ: İtalya, İs: İspanya, F: Fransa, R: Romanya, B: Bulgaristan, U: Ukrayna, M: Makedonya, T: Türkiye, Ç: Çin ve Ur: Uruguay ülkelerini ifade etmektedir. Ayrıca + işareti ile aynı sütünde bulunan fenolik bileşiği içerdiği, – işareti ise aynı sütünde bulunan fenolik bileşiği içermediği ifade edilmektedir).

Propolisin geniş spektrumlu biyolojik etkileri antik çağlardan beri bilinmekte ve kullanılmaktadır (Kurek-Górecka ve diğ., 2013). Propolisin çeşitli biyolojik ve farmakolojik etkilerinin fenolik bileşiklerle ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Zhu ve diğ., 2023). Literatürde propolisin sağlık üzerine etkileri incelendiğinde, propolisin kronik hastalıkları, özellikle otoimmün hastalıkları, diyabet, yanıklar, yaralar, jinekolojik sorunları ve laringolojik, dermatolojik, nörodejeneratif, gastrointestinal ve solunum yolu ile ilgili hastalıkları, kardiyovasküler rahatsızlıkları, antimikrobiyal, antikanser ve antioksidan aktiviteleri ve COVID-19'u tedavi etmek için terapötik potansiyele sahip olduğunu bildirilmiştir (Zullkiflee ve diğ., 2022). Burada, propolisin farmasötik ve terapötik özelliklerine dair birkaç çalışma incelenmiştir. Propoliste bulunan apigenin, krisin, galangin, kaempferol, luteolin, genistein ve pinokembrin'in antidiyabetik etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, propoliste bulunan doğal bir flavonon glikozidi olan naringinin hem insülin direncini hem de hiperglisemiye azaltan insülin benzeri ve lipit düşürücü özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Rivera-Yañez ve diğ., 2018). Son yıllarda, çeşitli coğrafi bölgelerde bulunan farklı arı türlerinden elde edilen propolisin meme, kolon, karaciğer, akciğer ve pankreas kanseri hücre hatlarının tedavisindeki antikanser özelliklerinin incelendiği çalışmalar yapılmıştır (Zullkiflee ve diğ., 2022). Propoliste bulunan flavonoidlerin ve apigenin, kafeik asit, CAPE, ferulik asit, galangin, luteolin, mirisetin, pinokembrin, kuersetin fenolik bileşiklerin antikanser özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Masadah ve diğ., 2021; Turan ve diğ., 2015). Türk propolisindeki kafeik asit ve galangin gibi biyoaktif bileşenlerin kanser hücrelerinin canlılığını azaltarak çoğalmayı engellediği meme kanseri, kolon kanseri ve karaciğer kanseri hücreleri üzerinde antiproliferatif etkilere sahip olduğunu bildirilmiştir (Vatansever ve diğ., 2010). Propolis özellikle bileşiminde

bulunan krisin, luteolin, pinokembrin ve kuersetin gibi fenolik bileşikleri sayesinde çeşitli kardiyoprotektif özelliklere sahip olduğu ifade edilmiştir (Ahn ve diğ., 2009). Sonuç olarak propolisin antidiyabetik, antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser, kardiyoprotektif, nöroprotektif, immünomodülatör ve immünoinflamatuar ajanlar gibi geniş bir biyolojik ve terapötik özellik spektrumuna sahip olmasının en temel nedeninin bileşiminde bulunan artepillin C, kafeik asit, CAPE, apigenin, krisin, galangin, kaempferol, luteolin, genistein, naringin, pinokembrin, kumarik asit ve kuersetin içeriğinden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Zullkiflee ve diğ., 2022).

2.3 Emülsiyon

Emülsiyon, birbiriyle karışmayan iki sıvıdan (genellikle yağ ve su) birinin bir yüzey aktif madde (YAM) yardımıyla diğerinin içinde küçük damlacıklar şeklinde dağılmasıyla oluşan termodinamik olarak kararsız iki fazlı bir sistem olarak tanımlanmaktadır (Sarathchandraprakash ve diğ., 2013; Serdaroğlu ve diğ., 2015). Emülsiyonlar geleneksel olarak sürekli ve dispers fazlarına göre yağ içinde su emülsiyonları (W/O) ve su içinde yağ (O/W) emülsiyonları olarak ikiye ayrılmaktadırlar (Serdaroğlu ve diğ., 2015). Bir emülsiyon sisteminde sulu faz toplam ağırlığın %45'inden fazlasını oluşturuyorsa O/W emülsiyonu olarak ifade edilmektedir. Eğer tam tersi bir durum söz konusu ise yani bir emülsiyon sisteminde yağ fazı toplam ağırlığın %45'inden fazlasını oluşturuyorsa W/O emülsiyonu olarak adlandırılmaktadır. O/W emülsiyon sistemlerinde hidrofilik YAM'lar kullanılırken, W/O emülsiyon sistemlerinde lipofilik YAM'lar kullanılmaktadır (Sarathchandraprakash ve diğ., 2013; Sharma ve diğ., 2018). Ayrıca, bu her iki emülsiyon çeşidini bir arada bulunduran çoklu emülsiyonlarda bulunmaktadır. Çift emülsiyonlar olarak da adlandırılan çoklu emülsiyonlar, dağılmış fazın kendisinin ince damlacıklar halinde bulunduğu bir emülsiyon içeren emülsiyonlar olarak tanımlanmaktadır. Çoklu emülsiyonlar temel olarak yağ içinde su içinde yağ (O/W/O) ve su içinde yağ içinde su (W/O/W) emülsiyonu olmak üzere iki farklı şekilde gruplandırılmaktadır. O/W/O emülsiyonunda, yağ önce su içinde dağıtılmakta ve daha sonra bu emülsiyon ikinci bir yağ fazı içinde dağılmaktadır. W/O/W için de benzer şekilde, su önce yağ içinde dağılmakta ve daha sonra bu yağ başka bir su fazı içinde dağıtılarak oluşturulmaktadır. Diğer emülsiyon çeşitlerinin aksine çift emülsiyonlar hem hidrofilik hem de hidrofobik YAM türlerinin kullanılmasını gerektirmektedir (Lamba ve diğ., 2015).

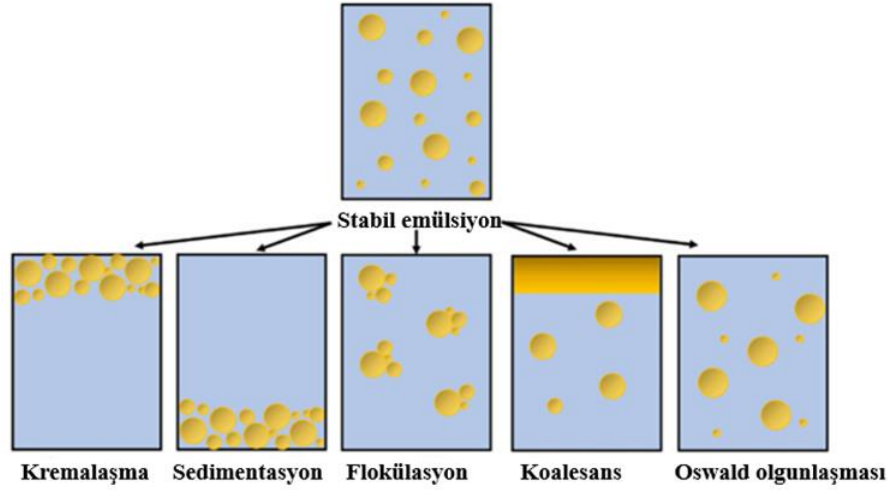


Şekil 2.2 : Mikroemülsiyon, nanoemülsiyon ve makroemülsiyonların genel görünümü (Reis ve diğ., 2023).

Emülsiyonlar partikül boyutuna göre mikroemülsiyon, nanoemülsiyon ve makroemülsiyon olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.2). Makroemülsiyonlar, büyük boyutlu emülsiyon damlacıklarından oluşur ve damlacıklarının ortalama çapları 100 nm ile 100 µm arasındadır. Nanoemülsiyonlar ise makroemülsiyonlara kıyasla daha küçük emülsiyon damlacıklarından oluşur ve yarı çapı yaklaşık 10 nm ile 100 nm arasında olan emülsiyonlardır. Nanoemülsiyon ve makroemülsiyona kıyasla daha düşük damlacıklardan oluşan mikroemülsiyonların partikül yarı çapları ise 2-50 nm arasındadır. Mikroemülsiyonlar termodinamik olarak stabil iken nanoemülsiyon ve makroemülsiyonlar termodinamik olarak stabil değildirler (McClements, 2011).

2.3.1 Emülsiyon stabilitesi

Emülsiyonlar (mikroemülsiyonlar hariç) termodinamik olarak stabil değildirler ve zamanla faz ayırımına meyillidirler. Bu nedenle, bir emülsiyon için fiziksel anlamda kararlı denilmesi için istenilen raf ömrü süresince stabil kalması gerekmektedir. Emülsiyon stabilitesi, emülsiyonların fizikokimyasal özelliklerindeki değişikliklere zamanla direnme yeteneğini ifade etmektedir. Stabilite gıda emülsiyonlarında kullanıldığında raf ömrü ve işlenme özelliklerini belirleyen önemli bir faktördür. Emülsiyon stabilitesi, ürünlerin görünümünü etkileyebilmektedir. Genellikle emülsiyonlardaki stabilite sorunları doğrudan çıplak gözle gözlemlenebilmektedir (McClements, 2011; Hu ve diğ., 2017). Bekleme sırasında emülsiyonlarda görülen instabilite sorunları Şekil 2.3’de gösterilmektedir.



Şekil 2.3 : Emülsiyonlarda görülen stabilite sorunları (Church ve diğ., 2019).

Emülsiyonlar kremalaşma, sedimentasyon, flokülasyon, koalesans ve Oswald olgunlaşması gibi çeşitli fizikokimyasal mekanizmalar nedeniyle zamanla bozulma eğiliminde olan termodinamik olarak stabil olmayan sistemlerdir. Kremalaşma ve sedimentasyon, her ikisi de yerçekimine bağlı olarak gerçekleşmektedirler. Kremalaşma, damlacıkların çevresindeki sıvıdan daha düşük bir yoğunluğa sahip olması nedeniyle yukarı doğru hareket etmesini tanımlarken; sedimentasyon, damlacıkların çevresindeki sıvıdan daha yüksek bir yoğunluğa sahip olması nedeniyle aşağı doğru hareket etmesini tanımlanmaktadır. Flokülasyon ve koalesans, her ikisi de damlacık kümeleşmesi türleri olarak ifade edilmektedir. Flokülasyon, iki veya daha fazla damlacığın bir araya gelerek damlacıkların bireysel bütünlüklerini koruduğu bir küme oluşturmasıyla meydana gelirken; koalesans, iki veya daha fazla damlacığın bir araya gelerek birleşip daha büyük bir damlacık oluşturma süreci olarak tanımlanmaktadır. Kapsamlı damlacık birleşmesi, sonunda bir numunenin üstünde ayrı bir yağ tabakasının oluşmasına yol açabilmektedir (McClements, 1999). Dağılan fazın dispers fazdaki çözünürlüğü damlacığın yarıçapına bağlıdır ve çözünürlük yarıçap azaldıkça artar. Bu, daha küçük damlaların dispers fazda çözünmesi ve ardından daha büyük damlalara difüze olması ve emülsiyonun ortalama partikül boyutunda genel bir artışa yol açan daha büyük damlalar üzerinde yeniden birikmesi ile sonuçlanır, bu durum Ostwald olgunlaşması süreci olarak ifade edilmektedir (Taylor, 1998). Yukarıda belirtilen fiziksel süreçlere ek olarak, gıda emülsiyonlarında meydana gelen, raf ömürlerini ve kalitelerini olumsuz etkileyebilecek çeşitli kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik süreçlerin de olduğu unutulmamalıdır. Bunlara lipid oksidasyonu, enzimatik hidroliz ve bakteri büyümesi örnek verilebilir (McClements, 1999). Dolayısı ile emülsiyonlarda

stabilitenin iyileştirilmesi, gıda endüstrisinde kullanılan emülsiyonların raf ömrünün uzatılmasına ve işlenmesinin kolaylaştırılmasına katkı sağlamaktadır.

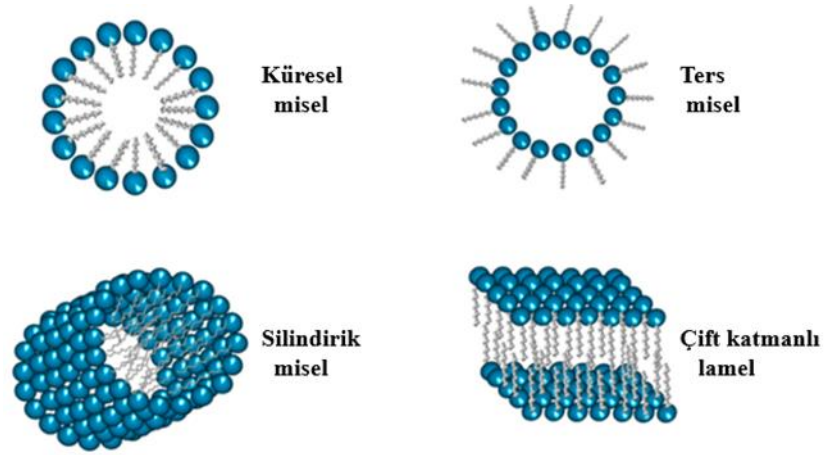
2.3.2 Yüzey aktif maddeler (Emülgatörler)

Yüzey aktif maddeler (YAM), hem hidrofobik (kuyruk) ve hem de hidrofilik (baş) bileşenlere sahip amfifilik moleküllerdir. Genellikle, hidrofobik kuyruk nispeten uzun bir hidrokarbon, florokarbon veya siloksan zinciri iken, hidrofilik kısım bir iyon (katyon veya anyon) olabilmektedir. Bu bileşikler polar olan baş kısımlarının yüklerine göre sınıflandırılmaktadır. Eğer YAM'ın baş grubunun yükü yoksa noniyonik, yükü negatif (-) ise anyonik, yükü pozitif (+) ise katyonik, yükü hem pozitif (+) hem de negatif (-) ise zwitteriyonik adlandırılmaktadır (Şekil 2.4) (Sharma, 2014).



Şekil 2.4 : Farklı yüzey aktif madde tiplerinin şematik gösterimi (Guerrero-Hernández ve diğ., 2022).

Bir maddenin emülsifiye etme kabiliyeti, moleküllerindeki hidrofil-lipofil dengesine (HLB) göre sınıflandırılmaktadır. HLB değeri, moleküldeki hidrofilik grupların ağırlık yüzdesinin hidrofobik grupların ağırlık yüzdesine oranı olarak tanımlanır. Ticari YAM'lar için HLB değerleri 1 ila 20 arasında değişmektedir. HLB değeri 3-6 gibi düşük değerlere sahip YAM'lar W/O emülsiyonların oluşumunu sağlamaktadır (gliserol esterleri, propilen glikol yağ asidi esterleri, poligliserol esterleri, sorbitol yağ asidi esterleri). Öte yandan, 8-16 gibi yüksek HLB değerlerine sahip olan YAM'lar O/W emülsiyonların oluşumunu desteklemektedir (proteinler, fosfolipidler, potasyum ve sodyum tuzları, hidrokolloidler, aljinatlar, polioksietilen yağ asidi esterleri, CMC, guar gum, vb). Sonuç olarak düşük HLB değerine sahip YAM'lar yağda daha çözünürdür ve W/O emülsiyonlarını desteklemektedir. Yüksek HLB değerine sahip YAM'lar suda daha çözünürdür ve O/W emülsiyonlarını desteklemektedir (Kralova ve Sjöblom, 2009; Sharma, 2014).



Şekil 2.5 : Farklı misel tiplerinin şematik gösterimi (Guerrero-Hernández ve diğ., 2022).

YAM'ların en önemli özelliklerinden biri, nanometre boyutunda yapılar oluşturmak için kendi kendine bir araya gelme kapasiteleridir. YAM moleküllerinin konsantrasyonu çözünürlük sınırını aştığında, bu moleküller misel adı verilen nanomerik yapılara organize olurlar. Miseller genel olarak bir yığın fazda dağılmış çekirdek-kabuk YAM bazlı sistemler olarak tanımlanır. YAM'lar bu nanometrik sistemleri sulu veya yağlı bir fazda kendiliğinden oluşturabilirler. Sulu çözeltide oluşan misellere geleneksel (veya normal) denirken, yağ fazında oluşanlar ters misel olarak adlandırılmaktadır. Geleneksel misellerde YAM moleküllerinin hidrofilik bölgesi dış kısımda hidrofobik bölgesi ise iç kısımda olacak şekilde misel oluşturmaktadır (Şekil 2.5). Miseller küresel, silindirik veya çok katmanlı düz levhalar halinde organize olabilmektedir. Ek olarak, misel morfolojisi, YAM'nin hidrofobik kuyruğunun boyutu ve tipi, polar başın doğası ve boyutu, konsantrasyon, sıcaklık, pH vb. dahil olmak üzere bazı parametreler değiştirilerek ayarlanabilmektedir (Guerrero-Hernández ve diğ., 2022).

Misel çözeltileri, gıda ve kozmetik formülasyonları, farmasötik ilaç dağıtım sistemleri, polimer sentezi, kataliz vb. gibi bazı önemli uygulamalarda kullanılmaktadır. Terapötik etkinliğin hayati önem taşıdığı biyolojik sistemlerdeki önemi nedeniyle misellerin farmasötik uygulaması oldukça ilgi çekici olmaktadır. Miseller ilaçları çözmek ve böylece biyoyararlanımlarını artırmak için kullanılabilir. Söz konusu durum, ilaç ile misel çekirdeği arasındaki etkileşime ve oluşturulan sistemin kararlılığına bağlı olmaktadır (Guerrero-Hernández ve diğ., 2022).

Kritik misel konsantrasyonu (KMK), misel adı verilen agregatların kendiliğinden oluştuğu çözünmüş YAM moleküllerinin konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. KMK'de tipik olarak küçük küresel miseller oluşurken, daha büyük konsantrasyonlarda solucan veya

vezikül benzeri misellere dönüşebilmektedirler. KMK'nin üzerindeki konsantrasyonlarda miseller serbest moleküllerle dinamik denge halindedir ancak termodinamik olarak kararlıdır ve dağılmaya karşı direnç gösterme eğilimindedirler. Buna ek olarak, KMK'ye ulaşıldığında, YAM'ların daha fazla eklenmesi sadece misel sayısını arttırmaktadır. Aksine, KMK'nin altında miseller, esas olarak YAM'nin doğasına ve molekülleri arasındaki etkileşim derecesine bağlı olan bir oranda ayrışmaktadır. Belirli bir sistem için miselleşme dar bir konsantrasyon aralığında gerçekleşmektedir. Konsantrasyonun yanı sıra sıcaklık da misel oluşumunu etkilemekte ve misel oluşumunun başlamasına karşılık gelen sıcaklık Krafft noktası olarak ifade edilmektedir (Guerrero-Hernández ve diğ., 2022).

Emülsiyon sistemlerinin bir parçası olan YAM molekülleri, ürünün mikro yapısını belirlemede ve gıdadaki yapısal ve dokusal kararlılığı etkilemede önemli bir rol oynamaktadır. Dolayısı ile kullanılan YAM'ların aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekmektedir (Sarathchandraprakash ve diğ., 2013).

- İnert olmalı ve emülsiyonun diğer bileşenleri ile kimyasal olarak reaktif olmamalıdır.
- Kullanılan sistem içinde kimyasal olarak stabil olmalıdır.
- Toksik ve tahriş edici olmamalıdır.
- Kokusuz ve nispeten daha ucuz olmalıdırlar.

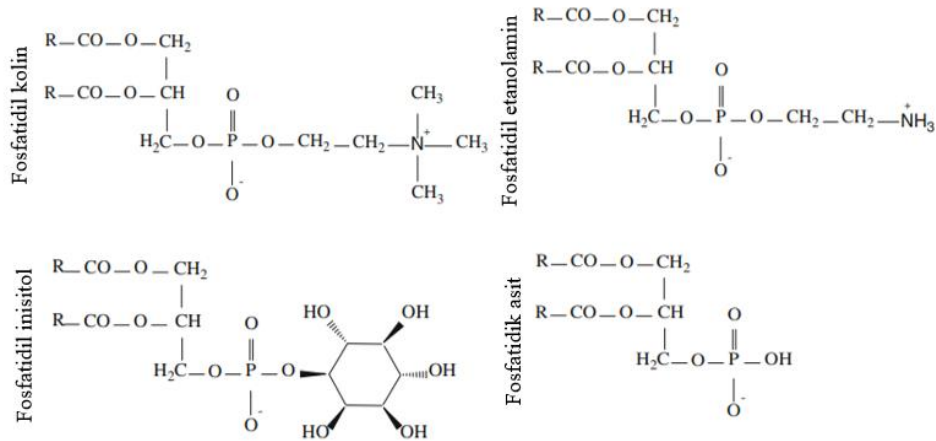
Emülsiyonlar termodinamik olarak stabil değildir. Stabil emülsiyonlar oluşturmak için YAM'lara ihtiyaç vardır. YAM'lar emülsiyon damlacıklarının, emülsiyon oluşumu sırasında bir araya gelerek topaklanmayı önlemekte, yağ ve su ara yüzeyi arasındaki ara yüzey gerilimini azaltarak faz ayrımını engellemektedir (Yılmaz, 2019).

YAM'lar gıda endüstrisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır. Yumurta sarısından elde edilen lesitin ve süttten elde edilen çeşitli proteinler gibi doğal olarak oluşan YAM'lar mayonez, soslar, tatlılar vb. gibi birçok gıda ürününün hazırlanmasında kullanılmaktadır. Monogliseridler gibi polar lipidler de gıda ürünleri için YAM olarak kullanılmaktadır. Ek olarak, sorbitan esterleri ve bunların etoksilatları ve sükroz esteri gibi sentetik YAM'lar da gıda emülsiyonlarında kullanılmaktadır. Bu nedenle, emülsiyonların oluşumunun, yapılarının ve özelliklerinin anlaşılması, gıdalardaki yapıların oluşturulması ve stabilizasyonu için çok önemli olmaktadır. Yukarıda bahsedilen ürünlere ek olarak, tam yağlı süt ve krema, tereyağı, margarin, sürülebilir ürünler, mayonezler ve soslar, kahve kremaları, krema likörleri ve bazı meyve içecekleri de gıda emülsiyonlarına örnek olarak gösterilebilir

(Kralova ve Sjöblom, 2009). Bu çalışma kapsamında kullanılan YAM'lar lesitin, PGPR ve Tween-80 şeklindedir.

2.3.2.1 Lesitin

E322 kodu ile tanımlanan lesitin fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil inositol, fosfatidik asit ve diğer maddeler (ör. trigliseritler, karbonhidratlar) gibi bileşikler içeren asetonda çözünmeyen fosfolipidlerin bir karışımıdır. Bu YAM gıda teknolojisinde birçok farklı amaç için kullanılmaktadır. Ticari lesitin, en yaygın olarak yumurta, süt, balık veya bitki tohumları olmak üzere çeşitli kaynaklardan elde edilebilmektedir. Günümüzde bitkisel lesitinler, düşük toksisiteleri ve yüksek besin değerleri nedeniyle gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan YAM'lardır. Çikolata endüstrisi düşünüldüğünde, soya fasulyesi tohumlarından elde edilen soya lesitini baskın bir rol oynamaktadır. Gıda endüstrisinde kullanılan lesitin ; sıvı (standart) ve toz (yağdan arındırılmış, modifiye edilmiş) olmak üzere iki formda bulunmaktadır. Toz lesitin sıvı lesitinden daha hidrofobiktir ve bu nedenle su bazlı karışımlar için uygundur. Çikolata gibi yüksek yağ içeriğine sahip karışımlarda, ürünün stabilitesini artırmak ve raf ömrünü uzatmak için sıvı lesitin tercih edilmektedir. Gıda ürünlerinde kullanım miktarı açısından %0.5'ten daha yüksek bir lesitin konsantrasyonunun viskozitede artışa neden olduğu ileri sürülmektedir (Icyer ve diğ., 2024).

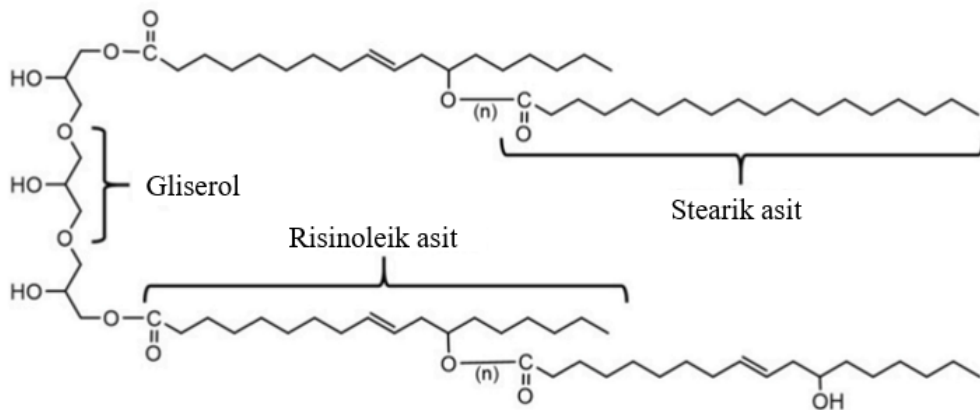


Şekil 2.6 : Soya lesitini fraksiyonlarının kimyasal yapısı (Toker ve diğ., 2024).

EFSA, lesitinler için sayısal bir ADI'ye gerek olmadığı ve lesitinlerin bir gıda katkı maddesi olarak bildirilen kullanımları için rafine maruziyet değerlendirmesinde 1 yaşından büyük genel nüfus için herhangi bir güvenlik endişesi olmadığını ifade etmiştir (EFSA, 2017).

2.3.2.2 PGPR (Poligliserol Polirisinoleat)

E476 kodu ile tanımlanan PGPR (poligliserol polirisinoleat), yoğunlaştırılmış risinoleik asidin (hint yağı kaynaklı risinoleik asit estolide olarak da adlandırılır) poligliserol ile esterleştirilmesiyle elde edilen yarı sentetik, özel bir YAM'dır. Bu bağlamda, esas olarak risinoleik asit (%80-%90), oleik asit (%3-%8), linoleik asit (%3-%7) ve stearik asitten (%0-%2) oluşan bir ürün karışımıdır. Günümüzde PGPR ticari olarak kimyasal yöntemlerle üretilmektedir ancak daha küçük ölçekte enzimatik olarak da üretilmektedir (Toker ve diğ., 2023). Sarımsı ve viskoz bir sıvı olan PGPR güçlü bir şekilde lipofiliktir. Bu nedenle yağlarda ve yağ çözücülerde çözünürken su ve etanolde çözünmemektedir. PGPR, gıda endüstrisinde mükemmel bir W/O emülsiyonlaştırıcısı olarak yaygın olarak bilinmektedir. Su içeriği çok yüksek olduğunda bile, çok kararlı emülsiyonlar oluşturmaktadır. PGPR, az yağlı sürülebilir ürünlerin üretimi için W/O emülsiyonu YAM'ı olarak kullanılmakla birlikte ana uygulama alanı çikolata endüstrisidir. Ayrıca, çikolataya PGPR ilavesi erimiş çikolatanın akış özelliklerini iyileştirmekte ve yağ çiçeklenmesinin azaltmaktadır. Lesitin ve PGPR, tamamlayıcı reolojik özelliklere sahip olduğundan, genellikle çikolata reolojisinin optimum kontrolü için kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Bastida- Rodríguez, 2013; Su ve diğ., 2023). Avrupa'da tüketime hazır gıda maddelerinden olan çikolata dahil kakao bazlı şekerlemelerde kullanılan maksimum PGPR seviyesi 5 g/kg olması gerektiği bildirilmiştir (Bastida- Rodríguez, 2013). Avrupa mevzuatı PGPR için katı saflık kriterleri belirlemiş ve olumsuz etkiler olmaksızın 25 mg/kg kabul edilebilir günlük alım miktarı (ADI) üzerinde anlaşmaya varılmıştır (Toker ve diğ., 2023).

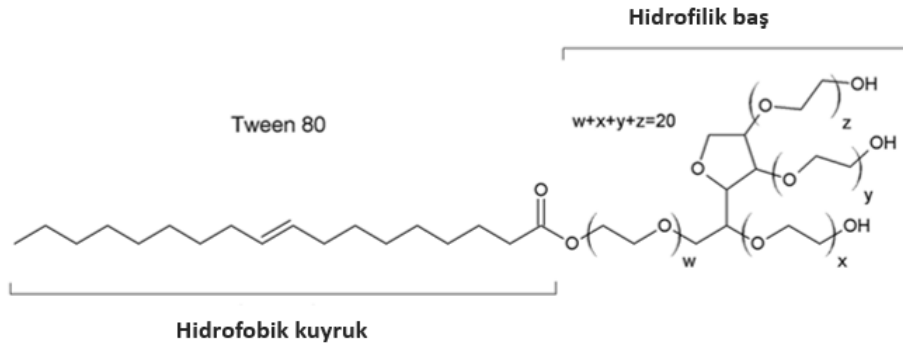


Şekil 2.7 : PGPR'nin moleküler yapısı (Price ve diğ., 2022).

2.3.2.3 Tween 80 (Polisorbat 80)

Polisorbat olarak da bilinen Tween serileri toksik olmamaları, kolay ulaşılabilir olmaları, ucuz olmaları, kolaylıkla emülsiyon oluşturmaları gibi avantajları nedeniyle gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Cho ve diğ., 2008; Szymczyk ve diğ., 2018). Bu seriden biri olan ve E433 kodu ile bilinen Tween 80 (polisorbat 80) iyonik olmayan bir YAM'dır (Kerwin, 2008). Tween 80, polioksietilen sorbitan monooleat yapısının heterojen bir dağılımından oluşmaktadır. Hidrokarbon zincirleri ve etilen oksit grupları sırasıyla Tween 80 molekülüne hidrofobik ve hidrofilik özellik kazandırmaktadır. Tween 80, gıda endüstrisinde suda çözünür bir YAM olarak kullanılmaktadır (Nayak ve diğ., 2012). Tween-80'in kimyasal yapısı Şekil 2.8'de verilmiştir.

FDA, Tween 80'e genel olarak güvenli olarak tanımlanan (GRAS) statüsünü vermiştir (Kriegel ve diğ., 2019). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi'ne (JECFA) göre tween (20, 40, 60, 65 ve 80) için kabul edilebilir günlük alım (ADI) 25 mg/kg vücut ağırlığı iken Gıda Bilimsel Komitesi (SCF) göre ise ADI 10 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (EFSA, 2015).



Şekil 2.8 : Tween-80'in moleküler yapısı (Szymczyk ve diğ., 2018).

2.4 Propolis Ekstraksiyonu

Propolis (arı tutkalı), arılar tarafından bitki reçinelerinden toplanan yapışkan bir maddedir. Yapılan çalışmalarda propolisin antioksidan, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, antikanser, immünostimüle edici, hepatoprotektif, sitotoksik gibi çok sayıda faydalı farmakolojik özelliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır. Günümüzde propolis tüm dünyada popüler bir ilaçtır ve saf halde veya reçetesiz satılan preparatlarda, kozmetiklerde ve sağlıklı

gıdaların bir bileşeni olarak diğer doğal ürünlerle birleştirilerek kullanılmaktadır. Propolis içeren ticari ürünlere olan ilgi gün geçtikçe giderek daha da artış göstermektedir (Bankova ve diğ., 2021). Bu durumun temel nedeni propolisin bileşiminde bulunan biyoaktif bileşenlerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden kaynaklanmaktadır.

Propolis ham hali ile tüketilemediğinden bileşiminde bulunan biyoaktif bileşenlerden yararlanmak için ekstraksiyon işleminin uygulanması gerekmektedir. Ekstraksiyon propolis için önemli bir adımdır. Yüksek kaliteli ve uygun maliyetli propolis içeren ürünlerin üretimi için uygun bir ekstraksiyon prosedürünün seçilmesi büyük önem arz etmektedir (Bankova ve diğ., 2021). Propolisten biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu, bileşiminde bulunan önemli bitki kaynaklı bileşiklerin çözülmesini ve propoliste her zaman bulunan mumun ortadan kaldırılmasını amaçlanmaktadır (Bankova ve diğ., 2021). Literatürde propolis ekstraksiyonu için çok sayıda yöntem kullanılmıştır. Bunlardan bazıları maserasyon (Oroian ve diğ., 2020; da Silva Cunha ve diğ., 2006), Soxhlet ekstraksiyonu (Margeretha ve diğ., 2012), ultrason destekli ekstraksiyon (Yazkan ve Ertop, 2025; Zainal ve diğ., 2022), mikrodalga destekli ekstraksiyon (Juodeikaitė ve diğ., 2022; Janani ve diğ., 2022), derin ötektik çözücü ekstraksiyonu (Funari ve diğ., 2019; Alpat ve diğ., 2023), süperkritik çözücü ekstraksiyonu (Paviani ve diğ., 2012; Biscaia ve Ferreira, 2009) ve basınçlı sıvı ekstraksiyonu (Erdogan ve diğ., 2011; Hutnik ve diğ., 2022) şeklindedir.

Propolis reçine içermesi nedeniyle suda çok düşük çözünürlüğe sahiptir ve organik çözücülerde çözünmektedir. Çünkü reçineler kimyasal bileşenleri ne olursa olsun nispeten apolardır (Bankova ve diğ., 2021). Dolayısı ile propolis için sadece ekstraksiyon yöntemi değil ayrıca ekstraksiyonda kullanılacak çözücü seçimi de önemli olmaktadır. Bu nedenle propolis ekstraksiyonunda söz konusu durumlar dikkate alınmalıdır. Literatürde propolis ekstraksiyonunda çok sayıda çözücü kullanılmıştır. Bunlardan bazıları etanol (Mohammadzadeh ve diğ., 2007; Barbarić ve diğ., 2011), metanol (Miguel ve diğ., 2014; Shi ve diğ., 2012), kloroform (Negri ve diğ., 2003; Alencar ve diğ., 2007), hegzan (Naik ve diğ., 2021; dos Santos Pereira ve diğ., 1998), propilen glikol (Pujirahayub ve diğ., 2014; Tosi ve diğ., 1996), su (Nagai ve diğ., 2003; Rocha ve diğ., 2013), bitkisel yağ (Carvalho ve diğ., 2011; Pujirahayub ve diğ., 2014) şeklindedir. Ekstraksiyonda kullanılan polar çözücüler polar moleküllerin daha iyi ekstrakte edilmesinde etkili olurken, non-polar organik ve yağlı çözücüler polar olmayan molekülleri ekstrakte etmede daha etkili olmaktadır. Ayrıca organik polar çözücüler hem non-polar hem de polar molekülleri ekstrakte etmekte etkili olmaktadır (Şuran ve diğ., 2021).

Propolis ekstraksiyonunda yukarıda ifade edilen çözücüler içerisinde en çok tercih edilen %70'lik etanoldür. Bu çözücünün tercih edilme nedenleri; diğer organik çözücülere nisbeten daha az toksik olması, su ve bitkisel yağa oranla ekstraktında daha yüksek oranda biyoaktif bileşen içermesi, suya oranla propolis bileşiminde bulunan non-polar özellikteki reçineleri daha iyi çözmesinden kaynaklanmaktadır. Ancak etanolün ifade edilen bu avantajlarının yanında bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla, alkolün son üründe yarattığı duyuusal problemler, kozmetik ve farmasötik ürünlerde kullanımının kısıtlı olması, çocuklarda ve hamilelerde kullanılamaması gibi sebepler alkolsüz ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Sağdıç ve diğ., 2020). Piyasada etanol dışında çözücü veya taşıyıcı olarak kullanılan mono propilen glikol, gliserin ve polietilen glikol gibi alkol türevi maddelerin ise yetişkin ve çocuklarda merkezi sinir sistemi, böbrek, karaciğer, solunum ve kalp fonksiyonları üzerinde olumsuz etkileri olduğuna dair bilimsel çalışmalar bulunduğundan kullanımları sınırlandırmaktadır (Sağdıç ve diğ., 2020).

Propolis ekstraksiyonu sırasında kütle transferinin bir özelliğine dikkat etmek önemlidir: katı matrisin kısmen çözünmesi ve propolis malzemesinin parçacıklı karakteri nedeniyle daha küçük parçacıklara parçalanması nedeniyle salınım normal katı-sıvı ekstraksiyonundan daha hızlı ilerlemektedir (Tsibranska ve diğ., 2012).

Literatürde yapılan çalışmalarda, propolis ekstraktının bileşiminin ve biyoaktivitesinin arı türü, kimyasal bileşim, coğrafi bölgeler, bitki türü, mevsim ve hasat zamanı ile ekstraksiyon yöntemleri dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca propolisten biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu, çözücünün türü ve konsantrasyonu, sıcaklık, zaman ve uygulanan prosedürden de etkilenmektedir (Suárez ve diğ., 2022).

2.4.1 Yüzey aktif madde destekli ekstraksiyon

YAM'lar, hem sulu hem de organik çözücülerde organik ve inorganik bileşiklerin çözünmesine yardımcı olan ve faz sınırlarında arayüz yüzey gerilimini düşüren amfifilik bileşiklerdir (Yamini ve diğ., 2020). Biyoaktif bileşen ekstraksiyonu için verimli, yeşil, sürdürülebilir ve hedef biyoaktif bileşiklere yönelik bir ekstraksiyon yönteminin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu eksikliklerin üstesinden gelmek için, organik çözücüler yerine YAM destekli ekstraksiyon geliştirilmiştir. Bu yöntem, ham maddelerden hem hidrofilik hem de hidrofobik yapıya sahip olan bileşikler ekstrakte etmek için uygulanmaktadır (Yu ve diğ., 2022).

Fenolik bileşikler, geniş bir polarite aralığına ve farklı kimyasal yapılara sahip bileşik serileri olması nedeniyle, bunların ekstraksiyonu ve tanımlanması için uygun çözümlere ihtiyaç duyulmaktadır (Hosseinzadeh ve diğ., 2013). Alternatif çözücüler arasında yer alan YAM'lar kimyasal ve fiziksel özellikleri nedeniyle oldukça dikkat çekmektedir (Barar ve Bensebia, 2025). YAM'ların özellikleri, fenolik bileşiklerin doğal malzemelerden ekstraksiyonunu ve ayrılmasını iyileştirebileceklerini ifade edilmektedir. Nitekim YAM'lar düşük konsantrasyonlarda kullanıldığında dahi ekstraksiyon verimliliğini arttırdığı bildirilmektedir (Hosseinzadeh ve diğ., 2013).

Çeşitli çalışmalarda, ekstraksiyonda YAM kullanımının, fenolik bileşikler gibi çeşitli biyoaktif bileşiklerin bitki kaynaklı ham maddelerden ekstraksiyonunda verimliliği arttırdığı ifade edilmiştir. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Hosseinzadeh ve diğ. (2013), İran'ın Batı Azerbaycan eyaletindeki çeşitli elma çeşitlerinden polifenolik bileşiklerin ekstrakte edilmesinde farklı YAM'ların misel/su karışımı çözeltilerinin etkisi incelenmiştir. YAM, su ve metanolün çeşitli oranlardaki karışımları incelenmiş ve YAM olarak kullanılan Brijin misel-su çözeltilerinin en yüksek polifenol ekstraksiyon verimliliği gösterdiği bildirilmiştir. Elmadan polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için optimum koşulların 7 mM Brij 35 ve pH 3'te meydana geldiği ifade edilmiştir.

Krstonošić ve diğ. (2023), kırmızı üzüm posasından fenolik bileşiklerin ekstrakte edilmesinde non-iyonik yüzey aktif maddeler olan Brij S20 (BS20) ve poloksamer 407 (P407) karışımlarının sulu çözeltilerinin etkisini araştırmıştır. BS20:P407 (9:1) ve BS20:P407 (1:1) karışımları kullanılarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde (TFM) içeriklerinin saf YAM ile elde edilenlerden %19'a kadar daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu karışımlar ile elde edilen ekstraktların TFM içeriğinin su ve su: etanol (1:1) çözücülerini ile elde edilen ekstraktlardan de daha yüksek olduğu ifade edilmiştir.

Sharma ve diğ. (2015), çeşitli meyve sularının TFM içeriklerinin ve antioksidan aktivitenin (AA) belirlenmesi için suyun, organik çözücülerin (metanol, etanol ve aseton) ve SDS (sodyum dodesil sülfat), Brij 35, Brij 58, Triton X-100 ve Span 40 olmak üzere beş farklı sulu YAM formülasyonunun etkisi incelemiştir. Kullanılan tüm ekstraksiyon sistemleri arasında Brij 58'in en yüksek ekstraksiyon verimliliği gösterdiği bildirilmiştir.

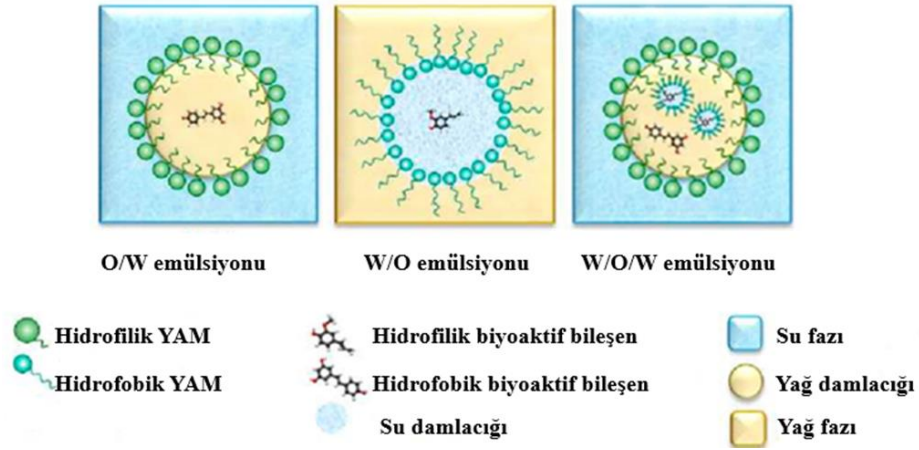
Park ve diğ. (2017), Tartary karabuğdayından daha yüksek fenolik bileşik, flavonoid ve antioksidan aktivite elde etmek için YAM'ların uygunluğunu araştırmışlardır. Optimum

biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için en uygun YAM'ı seçmek amacıyla iki farklı YAM (Hidrofilik: Tween 20 ve Lipofilik: Span 80) kullanılmış. Elde edilen sonuçlarda, Tween 20'nin, TFM, toplam flavonoid (TF) ve antioksidan aktiviteyi (AA) ekstrakte etmek için 4 mM konsantrasyonda en yüksek verimliliği gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca kontrol uygulamasına kıyasla YAM formülasyonunda TFM, TF ve AA'nın sırasıyla %200, %120 ve %110 daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

YAM'lar, fenolik bileşikler gibi geniş polariteli bileşikler ekstre etme yeteneğine sahip olan hem hidrofobik hem de hidrofilik gruplara sahiptir. Yukarıda örnek olarak verilen çalışmalarda görüldüğü üzere YAM'ların kimyasal yapısının fenolik maddelerin çözündürme mekanizmasını etkilediği için fenolik bileşik ekstraksiyonunda kullanılmaktadır (Iswandana ve diğ., 2020). Bu nedenle çalışmamızda da propolisten fenolik maddeleri ekstre etmek amacıyla YAM olarak Tween 80 (Polisorbat 80) ve PGPR kullanılmıştır.

2.4.1.1 Emülsiyon ile ekstraksiyon

Emülsiyonlar farklı fizikokimyasal özelliklere sahip üç ana bölgeden oluşmaktadır: Damlacıkları oluşturan “dispers faz”, damlacıkları çevreleyen “sürekli faz” ve her iki fazın karışmasını sağlayan YAM'dan oluşmaktadır. Emülsiyon molekülleri bu fazlar içerisinde konsantrasyonlarına ve polaritelerine göre dağılmaktadır. Polar olmayan moleküller yağ fazında, polar moleküller su fazında yer alma eğilimindeyken, amfifilik moleküller arayüzeyde yer alma eğilimindedir. Bir gıda emülsiyonunun su fazı, fizikokimyasal ve organoleptik özelliklerin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Suyun benzersiz moleküler ve yapısal özellikleri, çözünme ortamı sağlama ve suda çözünen birçok bileşenle (mineral, asit, baz, aroma, koruyucu, vitamin, şeker, emülsifiye edici ajan, protein, polisakkarit, vb) etkileşim gibi birçok önemli işlevi bulunmaktadır. Yağ fazı, yağda çözünen vitaminler, antioksidanlar, koruyucular ve uçucu yağlar dahil olmak üzere çeşitli bileşenler için iyi bir çözücü görevi görmektedir (Serdaroğlu ve diğ., 2015). Aşağıda Şekil 2.9'da bazı emülsiyon çeşitleri ve bu emülsiyonların içerdikleri fazların bileşiminde çözünebilecek biyoaktif bileşenlerin görseli yer almaktadır.



Şekil 2.9 : Yağ içinde su (W/O), su içinde yağ (O/W) ve su-içinde-yağ-içinde-su (W/O/W) emülsiyonlarının görünümü (Reis ve diğ., 2023).

Ekstraksiyonda kullanılan polar çözücüler polar molekülleri daha iyi ekstrakte ederken, non-polar çözücüler polar olmayan molekülleri ekstrakte etmede daha etkili olduğu ifade edilmektedir (Şuran ve diğ., 2021). Fenolik bileşikler, geniş bir polarite aralığına sahip bileşiklerdir (Hosseinzadeh ve diğ., 2013). Dolayısı ile bu bileşiklerin ekstraksiyonunda çözücü olarak hem polar faz ve apolar faz hem de amfifilik özelliğe sahip olan YAM içeren emülsiyon sistemlerinin kullanımının ekstraksiyon verimini arttıracakı düşünülmektedir.

Son birkaç yıldır bilim insanları farklı organik ve biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda sıklıkla mikroemülsiyonları tercih etmektedir (Amiri-Rigi ve Abbasi 2016). Gıda teknolojisi alanında mikroemülsiyonlara olan ilginin artması, her şeyden önce optik olarak şeffaf ve termodinamik olarak kararlı dispersiyonlar oluşturma yeteneği, hem lipofilik hem de hidrofilik bileşenler için yüksek çözünürlük kapasitesi, enzimatik ve kimyasal reaksiyonların etkinliğini artırması, karmaşık bir karışımdan biyolojik olarak ilgi çekici bileşenlerin seçici olarak ekstrakte edilmesine izin vermesi ve nutrasötik dağıtım sistemleri olarak potansiyel uygulamalara sahip olması gibi olağanüstü fizikokimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Amiri-Rigi ve Abbasi, 2016).

Literatürde çözücü olarak emülsiyon sistemleri kullanılarak ekstraksiyon işleminin gerçekleştirildiği çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Tsogtoo ve diğ. (2020), organik çözücüler (etanol, aseton, etil asetat, kloroform, hegzan), bitkisel yağlar (MCT yağı, soya yağı ve kolza tohumu yağı) ve Tween 20 ile hazırlanan O/W emülsiyonları çözücü olarak kullanılarak deniz iğdesi posasından β -sitosterol ve karotenoid ekstraksiyonunu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda çözücü

olarak O/W emülsiyonu kullanımının organik çözücüler ve yağlardan çok daha iyi ekstraksiyon verimliliklerine sahip olduğu bildirilmiştir.

Amiri-Rigi ve Abbasi (2016), domates posasından likopen ekstrakte etmek için çözücü olarak mikroemülsiyon kullanılmıştır. Bu bağlamda, sekiz farklı YAM (Span 20, Tween 20, Tween 60, Tween 80, saponin, ramnolipid, sakaroz monopalmitat ve lesitin), dört farklı yardımcı YAM (gliserol, propilen glikol, 1-propanol ve etanol), ultrason ve enzim ön işlemlerinin likopen ekstraksiyon verimliliği üzerindeki etkisini incelenmişlerdir. Elde edilen sonuçlarda, saponin kullanılarak kombine ultrasonik ve enzimatik ön işlem uygulanmasının likopen ekstraksiyon verimini 6 kata kadar arttırdığı ifade edilmiştir. Genel olarak, kombine ultrasonik ve enzimatik ön işlemin, yardımcı YAM olarak gliserol ve YAM olarak saponinin kullanımının maksimum likopen ekstraksiyon verimi için en uygun deneysel koşullar olduğu bildirilmiştir.

Carballo ve diğ. (2025), Meksika'da önemli bir ürün olan Jalapeño biberi atıklarından polifenol ve kapsasinoidleri ekstrakte etmek için çözücü olarak çevre dostu gıda sınıfı mikroemülsiyon kullanılmıştır. Bu mikroemülsiyonların d-limonen ve Tween 80 içerdiği ve bazı mikroemülsiyonların ise ek olarak asetik asit de içerdiği ifade edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda çözücü olarak asetik asit içeren mikroemülsiyon kullanımının TFM ekstraksiyonunu önemli ölçüde arttırdığı ($P<0.05$) ve çözücü olarak etanol kullanımına kıyasla ise TFM ekstraksiyon verimini %27 arttırdığı bildirilmiştir. Ek olarak, çözücü olarak mikroemülsiyon kullanımının etanole kıyasla daha az miktarda da olsa, Jalapeño biberlerinden kapsasinoidleri başarıyla ekstrakte ettiği de bildirilmiştir.

Amiri-Rigi ve Abbasi (2019), mikroemülsiyon kullanımının endüstriyel domates posasından likopen ekstraksiyon verimi üzerine etkisini araştırılmıştır. Çalışmada farklı oranlarda lesitin, 1-propanol, zeytinyağı ve su kullanarak zeytinyağı mikroemülsiyonları oluşturulmuştur. Elde edilen sonuçlarda çözücü olarak %53.33 lesitin, %26.67 1-propanol, %10 zeytinyağı ve %10 su karışımından oluşan 5 g mikroemülsiyon ve 1 g domates posası kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonda en yüksek ekstraksiyon verimliliğinin (%88) sağlandığı bildirilmiştir.

Roohinejad (2014), çözücü olarak O/W mikroemülsiyonlarını kullanarak darbeli elektrik alanı (PEF) işlemi sırasında farklı elektrik alan şiddetinin ve frekansının havuçtaki karotenoid ekstraksiyonu üzerindeki etkisini incelemiştir. Elde edilen sonuçlarda %30 yağ, %20 Tween 80 ve %50 tampon içeren mikroemülsiyonun en yüksek β -karoten içeriğine

sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, β -karoten ekstraksiyon verimliliği kıyaslandığında çözücü olarak mikroemülsiyon kullanımının hekzan ve gliserol monokaprilokaprat kullanımına kıyasla daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Bu durum hidrofobik bileşiklerin ekstraksiyonu için diğer çözücülere kıyasla O/W mikroemülsiyonunun kullanılmasının daha avantajlı olduğu ifade edilmiştir.

2.5 Lipit Oksidasyonu

Lipit oksidasyonu, gıdalarda meydana gelen en temel kimyasal reaksiyonlardan biridir (O'Connor ve O'Brien, 1995) ve genellikle gıdalarda istenmeyen tatların oluşmasına, besin ve biyoaktif maddelerin kaybına ve hatta toksik bileşiklerin oluşmasına neden olabilmektedir. Söz konusu reaksiyon, gıdanın tüketime uygunsuz hale gelmesine de neden olabilmektedir (Shahidi ve Zhong, 2010). Lipit oksidasyonu ilgili reaksiyon mekanizmalarına ve faktörlere bağlı olarak otooksidasyon, fotooksidasyon ve enzim katalizli oksidasyon olarak gruplandırılmaktadır. Lipit oksidasyonunu etkileyen faktörler yağ asidi bileşimi, sıcaklık, ışık, nem, atmosferik oksijen, demir, aktivatörler ve inhibitörler şeklinde ifade edilmektedir. Bu faktörler gıdalarda lipit oksidasyonunu etkileyen ve nihai ürünün kalitesini ve tüketici kabulünü doğrudan etkileyen faktörler olarak da bildirilmektedir (Abeyrathne ve diğ., 2021).

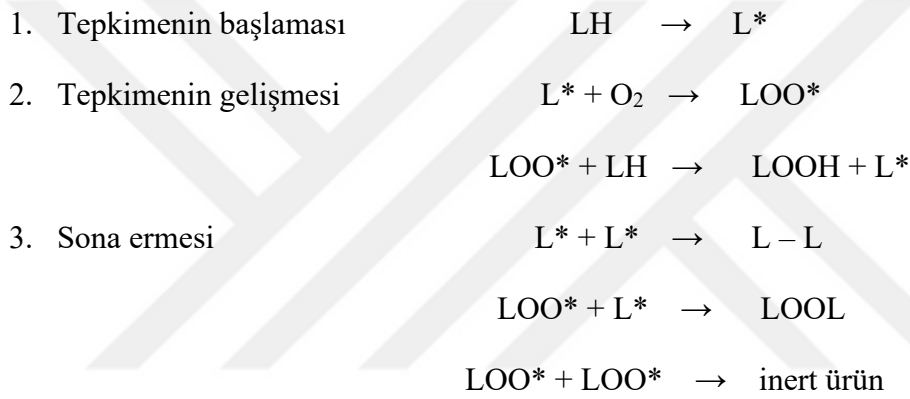
Otooksidasyon gıdalardaki en yaygın lipit oksidasyon sürecidir ve serbest radikallerin zincir reaksiyonu yoluyla lipitlerin atmosferik oksijenle kendiliğinden reaksiyonu olarak tanımlanmaktadır. İşlem, termal oksidasyonda olduğu gibi daha yüksek sıcaklıklarda hızlanabilmektedir. Fotooksidasyon, bir fotosensitizörün uyarılmasını ve lipit moleküllerine veya oksijene enerji transferini içermektedir. Oksidasyon, lipoksigenazlar gibi belirli enzimler tarafından da katalize edilebilmektedir. Bu oksidasyon çeşidi ise enzim katalizörlü oksidasyon olarak ifade edilmektedir (Shahidi ve Zhong, 2010).

Lipit oksidasyonunu belirleme yöntemleri arasında peroksit, *p*-anisidin, konjuge dien, TBARS ve kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. TBARS analizleri hayvansal gıdalardaki lipit oksidasyonunu belirlemek için en yaygın kullanılan yöntemdir ve aynı zamanda basit ve etkilidir. Ancak, TBARS yöntemleri karbonhidrat açısından zengin ürünlerde düşük bir ifade düzeyine sahip olabilmektedir. Çünkü malonaldehit şekerle reaksiyona girebilir, pembe yerine sarımsı bir renk oluşturabilir ve yağlar veya fosfolipit açısından zengin ürünler için uygun değildir. Florometrik yöntem ve duyuşal değerlendirme, gıda ürünlerindeki lipit oksidasyonunun dolaylı tespit yöntemleridir. Duyuşal değerlendirme

uygun bir yöntemdir, ancak tekrarlanabilirliği düşüktür ve kişiden kişiye farklılıklar kontrol edilememektedir. Gıdalarda ve genellikle yemeklik yağlarda birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerini belirlemek amacıyla peroksit değeri, *p*-anisidin ve TOTOX yöntemleri kullanılmaktadır (Abeyrathne ve diğ., 2021).

2.5.1 Otooksidasyon

Otooksidasyon, zincir başlama (lipit serbest radikallerinin üretimi), gelişme ve sonlanma (radikal olmayan ürünlerin üretimi) adımlarından oluşan ve bir dizi karmaşık kimyasal değişikliğe yol açan serbest radikal zincir mekanizmasıyla gerçekleşmektedir (Porter ve diğ., 1995; Frankel, 1980). Otooksidasyon mekanizmasını açıklayan basitleştirilmiş bir şema aşağıda gösterilmiştir (Yanishlieva ve Marinova, 2001):



Otooksidasyonun ilk aşaması olan başlama aşamasında doymamış lipit (LH) molekülleri ısı, ışık/iyonlaştırıcı radyasyon ve metal iyonları/ metaloprotein gibi başlatıcı faktörlerin varlığında bir hidrojen atomu kaybederek serbest radikaller (L^*) üretmektedir. Lipit radikalleri daha sonra oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikalleri (LOO^*) oluşturmakta ve bunlar yeni bir lipit molekülüne saldırarak hızlı ilerleyen reaksiyonun zincir taşıyıcıları olarak hareket etmektedir. Bu reaksiyon, hidrojen kaynağı kalmayana kadar veya zincir antioksidanlar tarafından kesilene kadar yayılmaya devam etmektedir. Bu nedenle, lipit oksidasyonu kendi kendine yayılan ve kendi kendine hızlanan bir süreç olarak ifade edilmektedir. Oksidasyon normalde başlangıç aşamasında çok yavaş ilerlemektedir. Ancak yağların bozulmaya başladığı indüksiyon periyodundan sonra ise ani bir artış meydana gelmektedir. Lipit oksidasyonunun başlatılması için ortamda ısı, ışık ve metal iyonları gibi katalizörlerinin bulunması gerekmektedir. Başlatma sürecinin oldukça karmaşık olduğu ve henüz tam olarak anlaşılmadığı ifade edilmekle birlikte, lipit molekülündeki bir hidrojen atomunun çıkarılmasını içerdiğine inanılmaktadır (Shahidi, 1997; Shahidi ve Zhong, 2010).

Oksidasyonun bir diğer aşaması olan gelişme sırasında, oksidasyonun birincil ürünleri olan lipit hidroperoksitler (LOOH) oluşmaktadır. Kararsız bir yapıya sahip olan hidroperoksitler tatsız ve kokusuzdur. Hidroperoksitlerin parçalanması sonucu aldehitler, ketonlar, alkoller, hidrokarbonlar, uçucu organik asitler ve epoksi bileşikler gibi çok çeşitli ikincil oksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Hidroperoksitlerin aksine ikincil oksidasyon ürünleri istenmeyen tat ve kokuya sahiptir. Bu nedenle, oksidasyonla ilişkili acılaştırmanın genellikle ikincil oksidasyon ürünleriyle ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Shahidi ve Zhong, 2010).

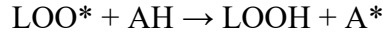
Üretilen ikincil oksidasyon ürünlerinin türü, hidroperoksitlerin bileşimine ve oksidatif kopma modeline, başka bir deyişle yağ asidi substratlarının bileşimine ve reaksiyon koşullarına bağlı olduğu bildirilmektedir. Örneğin; hekzanal, linoleik ve diğer w-6 yağ asitlerinin başlıca ikincil oksidasyon ürünlerinden biri olarak oluşurken, w-3 yağ asitlerinin oksidasyonu propanal üretimiyle sonuçlanmaktadır. Hidroperoksitler ve ikincil oksidasyon ürünlerinin çoğu oldukça reaktiftir ve daha fazla oksidasyon reaksiyonu başlatabilmektedirler. Bu oksidasyon ürünleri canlı organizmaların dokuları ve hücreleri için toksiktirler (Shahidi ve Zhong, 2010).

Oksidasyonun sonlanma aşamasında, radikaller radikal-radikal eşleşmesi yoluyla birbirlerini nötralize ederek kararlı radikal olmayan ürünler oluşturarak oksidasyonu sonlandırmaktadırlar. Sonlandırma ayrıca antioksidanlar veya serbest radikal temizleyicileri yayılma sırasında oluşan serbest radikallerle reaksiyona girdiğinde de meydana gelmektedir (St. Angelo ve diğ., 1996).

2.5.2 Antioksidan maddelerin oksidasyon ile ilişkisi

Lipit oksidasyonu sırasında serbest radikal oluşumunu engelleyen ve ortamdaki radikallerle tepkimeye girerek indüksiyon periyodu denilen süreçte yağların ana bileşenleri yerine okside olan maddelere antioksidan denir (Gülçin, 2012; Saydamlı 2014). Bu nedenle otooksidasyon tepkimesinin başlamasını ve gelişmesini engellemek amacıyla yağlara veya yağ içeren gıdalara antioksidanlar ilave edilerek oksidasyon engellenebilmekte veya geciktirilebilmektedir (Frankel, 1980). Çünkü antioksidanların yapısında serbest radikal süpürücü, singlet oksijen söndürücü, metal iyon şelatlayıcıları, birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin söndürücüleri ve pro-oksidatif enzimlerin inhibitörleri bulunmaktadır (Shahidi ve Zhong, 2010).

Antioksidanlar, zincir peroksidasyon reaksiyonlarını engelleyebilen çok etkili bir bileşik sınıfıdır. Gıdalarda kullanılan antioksidanın türüne ve konsantrasyonuna göre, otooksidasyon engellenebilmekte veya geciktirilebilmektedir. Zincir kıran bir antioksidan, aşağıda açıklandığı gibi başlatma adımına veya gelişme adımına müdahale edebilmektedir (St. Angelo ve diğ., 1996). Burada, A* düşük aktiviteye sahip radikali, LOO* peroksil radikalini, AH antioksidan maddeyi, LOOH hidroperoksitleri ve A-OOL radikal olmayan ürünleri ifade etmektedir.



Antioksidanlar, indirgeyici ajanlar, serbest radikal temizleyiciler, radikal türlerin söndürücüleri veya metaller gibi inaktivatörler prooksidanlar olarak hareket ederek oksidasyona karşı koyabilen bir bileşik grubu olarak kabul edilmektedir. Bitkiler polifenoller (antosiyeninler, flavonoller, flavonlar), karotenoidler, tanenler, lignin, fenolik asitler ve vitaminler dahil olmak üzere birçok doğal antioksidan bileşiği içermektedir (Abeyrathne ve diğ., 2021).

Antioksidanlar diyet takviyelerinde yaygın olarak kullanılmakta ve kanser, koroner kalp hastalığı gibi hastalıkların önlenmesi için sıklıkla araştırmalara konu olmaktadır. Antioksidanlar, suda (hidrofilik) veya lipidlerde (hidrofobik) çözünmelerine bağlı olarak iki farklı gruba ayrılmaktadır. Genel olarak, suda çözünen antioksidanlar hücre sitosolündeki ve kan plazmasındaki oksidanlarla reaksiyona girerken, lipitte çözünen antioksidanlar hücre zarlarını lipid peroksidasyonundan korumaktadır. Bu bileşikler vücutta sentezlenebildiği gibi diyetle de vücuda alınabilmektedir. Yukarıda belirtildiği gibi, bitkisel ürünler antioksidan özelliğe sahip polifenolik bileşikler içermeleri nedeniyle büyük bir antioksidan aktivite potansiyeline sahiptir. Bu bileşiklerin bitki ve meyve materyallerinden ekstraksiyonu, farmasötik araştırmalarda ve bitki polifenollerinin uygulamalarında büyük ilgi görmektedir (Hosseinzadeh ve diğ., 2013).

Antioksidanlar, doymamış yağ asitlerinin oksidatif bozulmasını geciktirme veya önleme nedeniyle lipid içeren gıdaların üretiminde, paketlenmesinde ve depolanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Tokoferoller, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi antioksidanlar, gıdalarda doğal olarak bulunabilmekte veya yağların ve yağlı gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında ilave edilebilmektedir. Gıda endüstrisinde kullanılan en yaygın antioksidanlardan biri olan bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi bazı sentetik

antioksidanların kullanımı, karsinogenezisin potansiyel bir destekleyicisi olarak etkileri ve tüketiciler tarafından sentetik gıda katkı maddelerinin genel olarak reddedilmesi nedeniyle tartışma konusu olmuştur. Sentetik bileşiklere alternatif olabilecek ve tüketildiğinde birçok hastalığın önlenmesinde de rol oynayabilecek yeni doğal antioksidan kaynaklarını belirlemek için çok sayıda araştırma yapılmaktadır (Abdalla ve Roozen, 2001)

Propolis genellikle polifenoller (flavonoidler, fenolik asitler ve esterleri), terpenoidler, steroidler ve amino asitler gibi üç yüzden fazla kimyasal bileşik içermektedir. Bileşimi, coğrafi ve botanik kökenlerindeki ve bölgenin bitki örtüsü dönemindeki farklılıklar nedeniyle niteliksel ve niceliksel olarak farklılık göstermektedir. Bu nedenlerden dolayı, farklı kökenlerden gelen propolis örneklerinin biyolojik aktiviteleri büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Propoliste bulunan başlıca biyoaktif maddeler olan polifenoller çok önemli fitokimyasallardır ve yüksek antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir. Propolisin antioksidan özelliği esas olarak içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler, serbest radikallere hidrojen iyonları vererek oksidasyon reaksiyonlarının hızını geciktirmekte veya önlemektedir. Propolis içerdiği fenolik bileşikler sayesinde, lipidlerin, nükleik asitlerin ve proteinlerin oksidasyonunun birincil nedeni olan serbest radikalleri temizleme aktivitesine sahip olduğu ifade edilmektedir (Doğan ve diğ., 2025).

2.6 Gıda Uygulamalarında Propolis Kullanımı

Tüketicilerin kimyasal koruyucular eklenmeden taze ve minimum düzeyde işlenmiş gıdalara yönelik artan gereksinimleri, gıda işlemede bazı yenilikçi yaklaşımların benimsenmesine ve birçok doğal bileşiğin biyokoruyucu olarak kullanılmasına yol açmıştır. Bakterilerden, mantarlardan, bitkilerden veya hayvanlardan elde edilen bu bileşikler, gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatırken aynı zamanda güvenliklerini de garanti altına almayı amaçlamaktadır. Antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip doğal bir arı ürünü olan propolis güvenli bir gıdadır yani tüketiminde herhangi bir olumsuzluk ile karşılaşılmamıştır. Söz konusu durum propolisin gıda endüstrisinde biyokoruyucu olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır. Propolis doğrudan gıda matrisine ekstrakt olarak eklenebildiği gibi ürünün yüzeyine biyofilm veya yenilebilir kaplama olarak uygulanabilmekte veya gıda biyopaketleme malzemelerinin bileşimine dahil edilebilmektedir (Tumbarski ve diğ., 2022).

Literatürde propolisin gıda alanında biyokoruyucu olarak kullanımı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Ali ve diğ., (2010) tarafından yapılan çalışmada, %0.6 etanolik propolis ekstraktının taze hazırlanmış sosisin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesine etkisi araştırılmıştır. Taze hazırlanmış sosise propolis ilavesinin proteolitik, lipolitik, toplam küf ve maya sayısını azalttığını ve 5°C'de depolama sırasında taze sosisteki lipit oksidatif değişiklikleri önemli ölçüde geciktirdiği ifade edilmiştir. Ayrıca, propolisle muamele edilen sosislerin, depolamanın 12. gününde bozulan kontrollere kıyasla daha uzun raf ömrüne (21 gün) sahip olduğu bildirilmiştir.

Payandan ve diğ. (2017), İran propolisinin su ve etanol ile elde edilen ekstrelerinin her birinin üç farklı konsantrasyonu (%3, %5 ve %7), 4 °C'de 9 gün boyunca depolanan sazan (*Cyprinus carpio*) etinin mikrobiyolojik ve duyuşal parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Elde edilen sonuçlarda her iki ekstrenin tüm konsantrasyonlarının toplam plak sayıları, psikrotrofik ve laktik asit bakterilerini ve *S. aureus* sayılarını azalttığını ancak duyuşal özellikleri ise önemli ölçüde iyileştirmedeği ifade edilmiştir.

Jonaidi Jafari ve diğ. (2018), etanol ile elde edilmiş propolis ekstresi (%1 ve %2) içeren yenilebilir kitosan (%2) kaplamasının tavuk göğsünün mikrobiyolojik (mezofilik aerobik, psikrotrofik, laktik asit bakterileri, koliformlar ve *S. aureus* sayıları), kimyasal (TBARS ve peroksit değerleri) ve duyuşal (koku, renk, doku, tat ve genel kabul) özellikleri üzerine etkisi incelemiştir. Elde edilen sonuçlar, kaplamaların *S. aureus*, koliformlar, aerobik mezofilik, psikrotrofik ve laktik asit bakterilerinin büyümesi üzerinde önemli bir inhibitör etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca 4 °C'de 12 gün depolama süresince işlenmiş ürünün duyuşal özelliklerinin korunmasına yardımcı olduğunu, TBARS ve peroksit değerindeki artışın ise kontrol grubuna göre daha az olduğu ifade edilmiştir.

Akpınar ve diğ. (2015), %70'lik etil alkol ile elde edilen propolis ekstraktının farklı konsantrasyonlarının (%5, %10 ve %15) püskürtüldüğü sofralık bıldırcın (*Coturnix coturnix Japonica*) yumurtalarının 25°C'de 5 hafta depolama süresince iç kaliteleri üzerine etkisi araştırmıştır. Elde edilen sonuçlarda, diğerlerine kıyasla %10 ve %15 propolis ekstraktı ile muamele edilmiş yumurtaların iç kalitesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Pedonese ve diğ. (2019) tarafından yapılan çalışmada, steril yağsız süt, pastörize inek sütü ve inek ve keçi peynir altı suyu ile elde edilen peynirlerinde (ricotta) İtalyan propolisinin etanol ekstresinin antimikrobiyal aktivitesini incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, %2 ve %5 propolis ekstresinin steril yağsız sütte *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* ve *Pseudomonas fluorescens* sayılarını önemli ölçüde azalttığı ifade edilmiştir. Pastörize inek

sütünde ise %5 propolis ekstresinin tüm patojenleri inhibe ettiği ancak %2 propolis ekstresinin yalnızca *S. aureus* inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Her iki ricotta peynirinde de %5 propolis ekstresi *L. monocytogenes* sayılarını azaltırken, *S. aureus* ve *B. cereus* sayılarını etkilemediği ifade edilmiştir.

Özdemir ve diğ. (2010), etanolik propolis ekstraktının üç farklı konsantrasyonunun (%1, %5 ve %10), Star Ruby greyfurtunun 8 °C'de 6 ay boyunca depolanması sırasında depolama ömrü üzerindeki etkileri incelemiştir. Elde edilen sonuçlarda meyvelere %5 ve %10 propolis ekstresi uygulamanın fungal bozulmayı etkili bir şekilde engellediği bildirilmiştir. Ayrıca %5 propolis ekstresi ile muamele edilen Star Ruby greyfurtu 5 ay boyunca 8 °C'de başarı bir şekilde muhafaza edildiği ifade edilmiştir.

Pobiega ve diğ. (2021) tarafından yapılan çalışmada, %5 ve %10 propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş pullulan bazlı yenilebilir kaplamaların, 16 °C'de ve %58-63 bağıl nemde 21 gün boyunca depolama sırasında taze yaban mersini meyvesinin mikrobiyal yükü ve fizikokimyasal özelliklerini azaltma üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, propolis içeren yenilebilir kaplama uygulanmasının, tüm depolama süresi boyunca mikrobiyal sayıyı azalttığı, yaban mersini olgunlaşmasını geciktirdiği ve ağırlık kaybını azalttığı ifade edilmiştir. Ayrıca depolama sırasında, propolis ekstraktı içeren pullulan kaplama ile kaplanmış meyveler, kontrol meyvesiyle karşılaştırıldığında titre edilebilir asitlik değerlerinde küçük bir artış ve toplam çözünür katılarda hiçbir değişiklik gözlenmediği bildirilmiştir.

Koc ve diğ. (2007) tarafından yapılan çalışmada, pastörize edilmemiş dört meyve suyunda (elma, portakal, beyaz üzüm ve mandalina) Türk propolisinin etanolik ekstraktının aynı bozulmuş meyve sularından izole edilen altı farklı maya suşuna (*Candida famata*, *C. glabrata*, *C. kefir*, *C. pelliculosa*, *C. parapsilosis* ve *Pichia ohmeri*) karşı antifungal etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, 0.01 mg/mL ile 0.375 mg/mL arasındaki konsantrasyonlarda propolis uygulamasının 25 °C'de test edilen tüm mayaları inhibe ettiğini ve kimyasal koruyucu olarak kullanılan sodyum benzoattan daha büyük antifungal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak propolis, bozulmuş meyve sularından izole edilen mayalara karşı önemli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir.

Yang ve diğ. (2017) tarafından yapılan çalışmada propolis emülsiyonunun portakal suyu üzerindeki koruyucu etkisi sodyum benzoat ve potasyum sorbat ile kıyaslanarak incelenmiştir. Portakal suyuna propolis emülsiyonunun (0.02 g/mL) eklenmesinin önemli

düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiğini ve L-askorbik asit bozunmasını önemli ölçüde inhibe etti gözlemlenmiştir. Ayrıca propolis emülsiyonu ilave edilmesi portakal suyunun kalite özelliklerinin kontrol ve kimyasal koruyucu maddeler (sodyum benzoat, potasyum sorbat) içeren örneklerle kıyasla 25 °C’de 35 güne kadar koruduğu bildirilmiştir.

Gıda uygulamaları açısından, propolisin yaygın kullanımına ilişkin birkaç önemli engel bulunmaktadır. En büyük engellerden biri, ürünün duyuşal niteliklerini olumsuz yönde etkileyen propolisin karakteristik tadı ve lezzetidir. Bu durumun üstesinden gelmek amacıyla gıda uygulamalarında propolis kullanımında ya duyuşal olarak rahatsızlık verecek konsantrasyonların altında kullanılmalı ya da kapsülleme işlemi uygulanarak kullanılmalıdır.

Kapsülleme işlemi, küçük parçacıklar, sıvı veya gaz olabilen aktif bir bileşenin veya madde karışımının, daha sonraki bir salım için koruma sağlayan bir kaplama veya kabuk içinde depolanmasından oluşmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin kapsüllenmesi, oksijen, ışık ve ısı gibi dış faktörlerden korumanın yanı sıra başka avantajlar da sağlayabilmektedir. Ayrıca kapsülleme, raf ömrünü iyileştirebilmekte ve istenmeyen koku ve tatları maskeleyerek ürün performansına müdahaleyi önleyebilmektedir (Tavares ve diğ., 2022).

Literatürde propolisin enkapsülasyonu ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Propolis kapsülleme işleminde genellikle peynir altı suyu izolatu, aljinat, gam arabik ve maltodekstrin kullanılmaktadır (Shakoury ve diğ., 2022; Baysan ve diğ., 2019; Baysan ve diğ., 2021; Šturm ve diğ., 2019; Pant ve diğ., 2022; Keskin ve diğ., 2019; Andrade ve diğ., 2018).

2.7 Salata Sosu

Kişisel tercihler, kültürel gelenekler ve ekonomik koşullara rağmen daha sağlıklı bir diyet için meyve, sebze, tahıl, süt ürünleri, proteinler ve yağlar gibi yiyeceklerin diyetle dahil edilerek tüketilmesi önerilmektedir. Salatalar, modern diyetle bu besinleri dahil etmek için uygulanabilmekte ve kültürel olarak sağlam bir seçenek olarak görülmektedir. Lezzetlerini ve çekiciliklerini artırmak için salata sosları gibi soslar, salatalara eklendiğinde sağlıklı yiyeceklerin tüketilmesi daha keyifli hale gelmektedir (Gómez-Hoyos ve diğ., 2024). Son yıllarda, tüketicilerin sağlıklı bir gıda seçeneği olarak salatalara olan talebinin artmasıyla gıda endüstrisinde salata sosu ürünlerine olan ilgi de giderek artış göstermektedir. Salata

sosları, salatalara eklendiğinde tüketiciler tarafından kabul görmesini arttırabilen tipik bir tada ve kremamsılığa sahiptir (de Melo ve diğ., 2015).

Salata sosu, yağın dispers faz, suyun ise sürekli faz olduğu bir O/W emülsiyonudur (Yousif ve diğ., 2012). ABD Gıda ve İlaç Dairesi Kimlik Standardı uyarınca salata sosu, yenilebilir bitkisel yağ, sirke, limon suyu, yumurta sarısı içeren yarı katı emülsiyon ve bununla birlikte tuz, tatlandırıcılar, hardal, kırmızı biber, monosodyum glutamat ve emülgatörlerden bir veya daha fazlasını içeren pişmiş nişasta ezmesi olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca en az %30 yenilebilir bitkisel yağ içermesi gerektiği de ifade edilmektedir. Salata sosu, pH aralığı 3.2 ila 3.9 olan ekşi bir tada sahip kremsi soluk sarı bir gıdadır. Bu üründe asetik asit genellikle baskın asittir (Smittle, 1977). Ticari bir salata sosu, ağırlıkça en az %30 bitkisel yağ ve en az %4 sıvı yumurta sarısı veya eşdeğeri içermelidir. Bu soslar genellikle görünüm olarak mayoneze çok benzese de daha düşük yağ ve yumurta sarısı içeriği ve ayrıca pişmiş nişasta içerebilmeleri nedeniyle mayonez olarak etiketlenmemektedir. Azaltılmış yağ içeriği, bu ürünü mayonezden daha düşük kalorili hale getirme avantajına sahiptir (Yang ve Lai, 2003).

Salata sosu ve mayonez ürünleri gibi gıda emülsiyonlarında kullanılan bileşenler birbirleriyle fiziksel veya kimyasal olarak etkileşime girmekte ve nihai ürünlerin kalitesini belirlemektedir. Salata sosunda yaygın olarak kullanılan bireysel ham maddelerin doğası ve rolü aşağıda kısaca incelenmektedir (Ma ve Boye, 2013).

Su, hemen hemen bütün gıdaların en önemli bileşenlerinden biridir. Salata sosundaki protein, polisakkaritler, şekerler, tuzlar, vitaminler, renklendiriciler, antioksidanlar ve YAM'lar dahil olmak üzere birçok bileşen suda çözünmektedir. Salata sosu üretiminde, polisakkarit (nişasta) ve şeker karışımı suda çözünen diğer bileşenlerle karıştırılmadan önce suda önceden jelleştirilmektedir. Suyun eklenmesi aynı zamanda gıda sisteminin viskozitesini ve elastik modülünü de azaltmaktadır. Su aktivitesi (a_w), bir numunedeki "serbest su" miktarını, yani numuneye kimyasal veya fiziksel olarak bağlı olmayan su moleküllerini belirtmek için kullanılan bir ölçümdür. Serbest su mikrobiyal üreme ve kontaminasyon için bir ortam görevi görmektedir. Bu nedenle a_w , salata sosunda kalite ve güvenliğinin değerlendirilmesinde önemli bir parametredir. Yüksek a_w (0.85 ila 0.89/0.93) ve düşük pH (3.3 ila 4.1) kombinasyonu gıda ürünlerinde hem maya hem de laktobasil organizmalarının büyümesini engelleyebilmektedir (Ma ve Boye, 2013).

Yağ; açilgliseroller, yağ asitleri ve fosfolipitler de dahil olmak üzere farklı moleköl türleri içermektedir. Yağ salata sosunun lezzetine, görünümüne, reolojik ve tekstürel davranışlarına ve depolama sırasında stabilitesine önemli düzeyde katkıda bulunmaktadır. Yağ; vitaminler, renklendirici maddeler, antioksidanlar ve YAM'lar gibi bileşenlerin çözölmesinden de sorumludur. Ayrıca önemli bir enerji ve besin kaynağıdır. Salata sosu formölasyonunda yaygın olarak kullanılan yağ türleri arasında soya fasulyesi, kanola ve ayçiçeğı yağı ve bazen pamuk tohumu ve zeytinyağı bulunmaktadır (Ma ve Boye, 2013).

Yumurta sarısı, trigliseritler, fosfolipitler, stearidonik asit, yağda çözölünen vitaminler (A ve E) ve esansiyel yağ asitleri içerdüğinden iyi bir besin kaynağıdır (Yin ve diğ., 2022). Yumurta sarısı, salata sosu bileşiminde YAM olarak kullanılmaktadır. Yumurta sarısı ve bütün yumurtanın toplam katı madde oranları sırasıyla yaklaşık %52 ve %24 olduğı ifade edilmektedir. Yumurta sarısının YAM'ları lesitin ve kolesteroldür. Başlıca YAM bileşen olan lesitin, iyi bir O/W emölasyonu emölğatörü olarak bilinmektedir. Bir diğeri YAM bileşen olan kolesterol etkili bir W/O emölasyonu emölğatör ajanıdır ve bu nedenle lesitine karşı antagonistik bir etki göstermektedir. Lesitin depolama sırasında bir miktar parçalandığından emölüsifiye edici etkisi azalmaktadır. Bu nedenle stabil salata sosu üretimi için taze yumurta sarısı kullanılması önerilmektedir (Moustafa, 1995). Salata sosu bileşiminde YAM olarak sadece yumurta sarısı kullanılmamaktadır bazı çalışmalarda yumurta sarısıyla birlikte Tweenler (polisorbatlar) de kullanılabilir (Martínez ve diğ., 2007).

Tuz ve şeker salata sosunda sadece çeşni olarak işlev görmez, ayrıca aw azaltmaya ve dolayısıyla bozulmaya neden olan organizmaları engellemeye yardımcı olmaktadır. Bazı ticari sos ürünlerinde, mısır şurubu (%15.5 yüksek fruktozlu mısır şurubu gibi) bazen geliştirilmiş aroması nedeniyle şeker kaynağı olarak kullanılmaktadır. Salata sosundaki tuz çeşitleri ve konsantrasyonları, bu yiyeceklerin yapısına ve genel dokusal özelliklerine katkıda bulunmaktadır. Kalsiyum, sodyum, potasyum, klorür, karbonat ve fosfat sos ürünlerinde yaygın olarak kullanılan tuzlardır (Ma ve Boye, 2013). Çeşitli tuz türlerinin eklenmesinin mayonezdeki sıvı yumurta sarısının yapısını ve performansını önemli ölçüde etkilemektedir (Harrison ve Cunningham, 1986). Ayrıca tuz içeriğinin (%0 ila %2,3) yumurta sarısı ve farklı tipte amfifilik moleküllerin (örn. Tween 20, sakaroz laurat ve bezelye proteini) ikili karışımlarıyla stabilize edilen salata sosu tipi emölasyonların reolojik özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğı ifade edilmiştir. Tuz eklenmesi, sosların viskoz ve viskoelastik parametrelerinde kademeli bir artışa neden olmaktadır (Martínez ve diğ., 2007).

İnsan beslenmesindeki başlıca karbonhidrat kaynağı olan nişasta esas olarak doğrusal amiloz ve dallanmış amilopektin moleküllerinden oluşmaktadır. Nişasta granülleri doğal formda bütünlüklerini korumakta ve salata sosu gibi ürünlere istenilen yapıyı kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır (Ma ve Boye, 2013). Taze hazırlanmış nişasta çözeltileri güçlü bir şekilde opak görünüme sahiptir. Bekletildiğinde opaklık artmakta ve sonunda nişastanın bir kısmı çökelmektedir. Bu olgu retrogradasyon olarak tanımlanmaktadır. Retrogradasyona uğramış amilopektin 50 ila 60 °C'ye kadar ısıtılarak orijinal dağılmış haline geri dönebilir, ancak amilozun retrogradasyonu geri döndürülemezdir. Geriye dönme oldukça karmaşıktır ve amiloz türü, moleküler boyut, konsantrasyon ve dispersiyonun pH'ı gibi faktörlere bağlıdır. Nişasta granülü soğuk suda çözünmez ancak gözle görülür bir şişme olmadan ağırlığının yaklaşık %25 ila %30'unu emer. Nişasta bulamacının sıcaklığı jelatinleşme sıcaklığına yaklaştıkça, nişasta molekülleri şişer ve su emme kapasiteleri 100 kat artar, şişmeleri geri döndürülemez hale gelir ve granülün kristallliği yok olur. Salata soslarının üretiminde kullanılan nişasta, genellikle pH 3.0 ile 3.5 arasında olan ortamın yüksek asitliğine dayanıklı olmalıdır (Moustafa, 1995).

Sirke, gıda muhafazasında kullanılan ilk asitlerden biridir. Bilinen en eski sirke üzümünden yapılmıştır. Günümüzde sirkeler doğal meyvelerden, sebzelerden, rafine şekerden ve tahıllardan yapılmaktadır. Sirke yaklaşık %90 ila %95 oranında su ve yaklaşık %4 ila %6 oranında asetik asitten oluşmaktadır. Ayrıca sirkenin bileşiminde organik tatlandırıcı ve renklendirici bileşikler de mevcuttur (Kintner ve Mangel, 1954). Sirke salata sosunu asitlendirmek, mikrobiyolojik stabilitesini korumak ve dolayısı ile ürünlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır (Ma ve Boye, 2013).

Salata sosları, dünya çapında birçok kişi tarafından beğenilen popüler ve çok yönlü çeşnilerdir. Genellikle bitkisel yağların emülsifiye edilmesi, asitleştirici bileşenler, baharatlar ve diğer katkı maddelerinin eklenmesiyle hazırlanmaktadır. Bazı salata sosları emülsiyon yapısındadır. Salata soslarının stabilitesi önemli olmakla birlikte arayüz bileşimi, emülsiyon damlacık boyutu, flokülasyon ve faz ayrımı dahil olmak üzere çeşitli faktörlere dayanmaktadır. Ticari olarak satılan salata sosları genellikle tek fazlı ve iki fazlı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Tek fazlı soslar genellikle emülgatörler içerir ve yüksek kayma hızlarıyla ince homojenizasyona uğramakta, bu da faz ayrılmasını önleyen pürüzsüz ve kremi bir kıvam almasını sağlamaktadır. Öte yandan, iki fazlı salata sosları su fazının üzerinde belirgin yağ katmanları oluşturur. Stabilitesi yüksek salata sosları hazırlamak için homojenizasyon/karıştırma adımı sırasında kayma hızı, sıcaklık ve karıştırma süresi gibi

işlem koşullarına dikkat etmeyi gerektirmektedir. Bu faktörler, istenen organoleptik özelliklere sahip stabil salata soslarını üretmek için çok önemlidir (Yang ve diğ., 2024).

ABD Gıda ve İlaç Dairesi'ne (FDA) göre, salata sosları ağırlıkça en az %30 bitkisel yağ içermesi gerekmektedir (Ma ve Boye, 2013). Salata soslarında kullanılan en popüler bitkisel yağlar, harika lezzetleri, doymamış yağ asidi profilleri ve potansiyel sağlık yararları nedeniyle zeytinyağı, fıstık yağı ve ayçiçeği yağıdır. Ancak, yüksek doymamış yağ asidi içeriğine sahip bitkisel yağların kullanılması, salata soslarının raf ömrü stabilitesini olumsuz etkilemektedir. Bunun nedeni, bu yağların lipit hidroperoksitleri, aldehitler, ketonlar ve laktonlar gibi istenmeyen bileşikler oluşturabilen lipit oksidasyonuna oldukça yatkın olmalarından kaynaklanmaktadır (Yang ve diğ., 2024).

Salata sosunun oksidatif stabilitesini fizikokimyasal özellikler (pH ve misel boyutu ve elektrik yükleri) ve işleme parametreleri (depolama sıcaklığı, homojenizasyon koşulları, oksijen ve ışık seviyeleri) etkilemektedir (Kiokias ve diğ., 2017). Salata soslarının lipit oksidasyonunu ve sosların duyuşal ve besinsel değerini olumsuz etkileyebilecek oksidasyon ürünlerinin oluşumunu en aza indirmek veya geciktirmek için sentetik ve doğal antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla genellikle meyve polifenolleri ve tokoferoller gibi doğal antioksidanlar, bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve tert-bütill hidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlara güvenli ve etkili alternatifler olarak kabul edilmektedir (Yang ve diğ., 2024). Ayrıca literatürde yapılan çalışmalarda salata sosunda bu antioksidanlar sıklıkla kullanılmıştır (Sainsbury ve diğ., 2016; Let ve diğ., 2007; Abdalla ve Roozen, 2001).

Çalışmamızda da ise hem salata sosunun oksidatif stabilitesini arttırmak hem de fonksiyonel bir ürün elde etmek amacıyla sağlık üzerine olumlu etkileri bilinen propolis ekstresi içeren salata sosu üretilmiştir.

2.8 Kakaolu Fındık Kreması

Kakaolu fındık kreması, ilk olarak İtalya'da, İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra keşfedilmiştir. Sonrasında dünyanın birçok yerinde popülaritesi hızla artmış ve tüketimi giderek artan gözde bir ürün haline gelmiştir (Yiğit ve diğ., 2021). Fındık kreması, lezzeti, yüksek besin değeri ve tek başına veya diğer gıdalarla birlikte tüketim kolaylığı nedeniyle tüketiciler tarafından yaygın olarak tercih edilen bir üründür. Fındık kremaları, sürekli bir

yağ fazı içinde dağılmış farklı katı parçacıklardan (şeker, kakao tozu, süt tozu, fındık vb.) oluşan karmaşık çok fazlı sistemlerdir (Aydemir, 2019).

Kakaolu fındık kremasının üretiminde kullanılan önemli bileşenlerden olan YAM'lar çikolata ve çikolata türevi ürünlerin yapısında genellikle ürünlerin yapısal özelliklerini iyileştirmek için uzun süredir kullanılmaktadır. Bu YAM'lar, dispers ve sürekli fazlar arasındaki arayüzey gerilimini azaltmak ve viskozitesini düşürmek gibi reolojik özelliklerin düzenlenmesinde ve değiştirilmesinde rol oynamaktadır. Kakao tozu ve şekerin kakao yağı ile kaplanması YAM'lar yardımıyla gerçekleşmektedir. Ayrıca YAM'lar çikolata ve çikolata türevi ürünlerin iyi bir reolojik özellik kazanmasını sağlamaktadır. Reolojik özellikler çikolatalı ürünlerin tat ve aroma algısını doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle formülasyonda kullanılan emülgatörün türü ve içeriği akış özellikleri için çok önemlidir (Icyer ve diğ., 2024). Çikolata veya çikolata türevi ürünlerin reolojik özelliklerini iyileştirmek için YAM'lar kullanılmaktadır. YAM'lar genellikle çikolata ürünlerinde; viskozite değerini etkileyerek erimiş çikolatanın akış davranışını değiştirme, mükemmel ağız hissi ve aroma salınımı sağlama, formülasyondaki yağ gereksinimini azaltarak maliyet ve kaloriyi düşürme, raf ömrünü ve parlak görünümü iyileştirme amacıyla kullanılmaktadır (Toker ve diğ., 2024).

Çikolata veya çikolata ürünleri, kullanım amaçlarına, işlenebilirliklerine ve maliyetlerine bağlı olarak her zaman bir veya daha fazla emülsifiye edici katkı maddesinin eklenmesini gerektirebilmektedir. Uygun maliyeti, sürdürülebilirliği ve benzersiz özellikleri nedeniyle ana YAM lesitindir. Çikolata endüstrisinde en yaygın kullanılan YAM soya fasulyesinden elde edilen soya lesitini olmakla birlikte ayçiçeği, yer fıstığı ve mısır tohumlarından üretilen lesitinler de kullanılabilir. Fazla lesitin eklendiğinde, yani şeker kristalleri lesitin tarafından yeterince kaplandığında, eklenen lesitin yağ fazında çözünmediği için lesitin bileşenleri bir lamel oluşturmak üzere birbirlerinin etrafında hizalanmaktadır. Böylece 'kaplanmış' kristallerin üzerinde ikinci bir katman oluşmaktadır. Bununla birlikte, yağ asidi zincirleri artık birbirinin etrafında hizalandığından, tüm yapının dışı tekrar daha hidrofilik hale gelmektedir. Sonuç olarak viskozitede bir artış gözlenmektedir (Icyer ve diğ., 2024).

Çikolata ürünlerinde kullanılan bir YAM olan PGPR genellikle diğer emülgatörlerle birlikte kullanılmaktadır. PGPR, yağ bazlı süspansiyonların verim değeri üzerinde önemli bir etkiye sahip olması nedeniyle gıda emülgatörleri arasında benzersizdir. PGPR'ın çikolatayı daha kolay akan Newton tipi bir sıvıya dönüştürebileceği ifade edilmektedir. Öte

yandan, PGPR'nin çikolata endüstrisinde lesitin ile kullanılması sıklıkla tercih edilmektedir. Literatürde lesitin ve PGPR'nin farklı kombinasyonlarının etkileri üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmasına rağmen, emülgatör etkinliğı çikolatanın türüne, bileşimine ve kullanım amacına göre değıştığından ortak öneriler verilememektedir. Bu nedenle, her bir çikolata türü için optimum lesitin-PGPR kombinasyonunun belirlenmesi gerekli görünmektedir, çünkü emülgatör konsantrasyonunun ve oranının değıştirilmesi ürün maliyetinin, kalite ve raf ömrü stabilitesinin optimizasyonuna katkıda bulunabilmektedir (Toker ve diğ., 2024).

Yağlar ve katı yağlar, fındık kremalarının dokusal ve reolojik özellikleri için en önemli bileşenlerden biridir. Kakao yağı sürülebilir kakao kremalarında yer almaz, ancak daha ucuz bitkisel margarin ve sıvı yağlar sürülebilirliğı artırmak için kullanılmaktadır. Palm yağı, dünya çapında üretilen ve ticareti yapılan önemli sıvı ve katı yağlardan biridir ve gıda endüstrisinde birçok uygulaması bulunmaktadır. Palm yağı, sıvı fraksiyonlar (oleinler, süper oleinler ve üst oleinler) ve katı fraksiyonlar (stearin) içeren farklı bileşenlere ayrılmaktadır. Türkiye'de sektörün önde gelen firmalar tarafından kakaolu fındık kreması üretiminde kullanılan yağların sadece palm yağı veya ayieğı/palm/kanola, koton/palm, pamuk/ayieğı ve ayieğı/shea/hindistan cevizi yağlarının karışımı olduğı ifade edilmektedir (Aydemir, 2019).

Fındık kremalarının en önemli çekici duyuşal özellikleri renk, lezzet ve dokudur (Yiğit ve diğ., 2021). Kakaolu fındık kremasının ortam sıcaklığı ile buzdolabı sıcaklığı arasında pürüzsüz sürülebilirliğı, zengin kremi bir tada, yağ ayrışması olmadan pürüzsüz homojen dokuya ve yeterli oksidatif stabiliteye sahip olması istenmektedir (Aydemir ve diğ., 2021). Lipit oksidasyonu hem kakaolu fındık kremasında hem de diğeri gıdalarda işleme ve depolama sırasında gıda bozulmasının ana nedenlerinden biridir. Kimyasal gıda hasarı olan oksidasyon, ürünleri hem besinsel hem de teknolojik olarak etkilemektedir. Yağlar veya yağ içeren ürünler ısı, ışık ve metal iyonları gibi uygun olmayan koşullar altında depolandığında doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile serbest radikaller oluşturabilmektedir. Bu reaksiyonların son ürünleri istenmeyen tat ve aromaya neden olmakta ve gıdanın besinsel kalitesini olumsuz etkilemektedir. Oksidasyonun fiziksel ve teknolojik yöntemlerle önlenemediğı durumlarda, gıda maddelerinin raf ömrünü artırmak için uygulanan en etkili prosedür dışarıdan antioksidan ilave edilmesidir. Ancak sentetik antioksidanların gıdalarda kullanımı, kanserojen etkilerinin dikkat çekici olması nedeniyle son yıllarda tartışmalı hale gelmiştir. Sonuç olarak, alternatif, yeni ve doğal antioksidanların kullanımına yönelik artan bir ilgi söz konusudur (Yiğit ve diğ., 2021).

Çalışmamızda da ise hem kakaolu fındık kremasının oksidatif stabilitesini arttırmak hem de fonksiyonel bir ürün elde etmek amacıyla sağlık üzerine olumlu etkileri bilinen propolis ekstresi kakaolu fındık kreması bileşiminde kullanılmıştır.

2.9 Propolisin Yüzey Aktif Madde Destekli Ekstraksiyonu ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Literatürde YAM destekli ekstraksiyon teknikleri kullanılarak gıdalardan biyoaktif maddelerin ekstrakte edildiği birçok çalışma mevcuttur ancak bu çalışmalarda materyal olarak propolisin kullanıldığı çok az çalışmanın olduğu tespit edilmiştir. Propolisin sıcak basınçlı sıvı ekstraksiyonu ile ekstrakte edilmeye çalışıldığı bir çalışmada %29 N-100 olarak ifade edilen doğal YAM varlığında suda çözünür ekstraktının katı içeriği 35.2 mg/mL olduğu ve doğal YAM olmadan elde edilenden %44 daha fazla olduğu bildirilmiştir (Chen ve diğ., 2007).

Paradkar ve diğ. (2010), düşük oranda polar maddeler içeren propolisi sulu ortamda çözünmesini kolaylaştırmak için 2-24 saat boyunca 40-90 °C'de sulu bir Tween çözeltisinin kullanımıyla propolis ekstraksiyonu için süreci açıklamış ve karşılık gelen sıvı propolis ekstraktını vermiştir. Tweenler, etoksillenmiş sorbitanın daha yüksek yağ asidi esterlerine dayanan, yaygın olarak kullanılan gıda ve ilaç sınıfı YAM'lardır. Hidrofilik-lipofilik dengeleri (HLB) yaklaşık 14-18 arasındadır. Nispeten polar olmayan propolis biyoaktif maddelerini kendi misel boşluklarına çözündüren misel oluşumu yoluyla ekstraksiyon sürecini kolaylaştırabilmektedirler (Şuran ve diğ., 2021).

Polietilen glikol (PEG) 200-600 (%96.5-99.9 ağırlık/ağırlık) ve lesitin (%0.1-3.5 ağırlık/ağırlık) karışımı kullanılarak propolis ekstraktı elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt, dört ana hedeflenen propolis aktif bileşeninin içeriğine göre standardize edilmiştir. Bunlar; 100–1300 µg/mL p-kumarik asit, 75–800 µg/mL trans-ferulik asit, 25–300 µg/mL kafeik asit ve 40–400 µg/mL 2-feniletıl 3,4-dihidroksisinnamat şeklindedir (Radić ve diğ., 2020).

Başka bir çalışmada ise propolis ekstresi elde etmek için mikroemülsiyon sistemleri kullanılmıştır. Emülsiyonun içeriğini Tween-80 (surfaktan), etanol (ko-surfaktan), su ve yağ oluşturmaktadır. Elde edilen sonuçlarda, propolisin mikroemülsiyon kullanılarak ekstrakte edilmesinin etkili bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Dantas ve diğ., 2010).

3. MATERYAL VE METOT

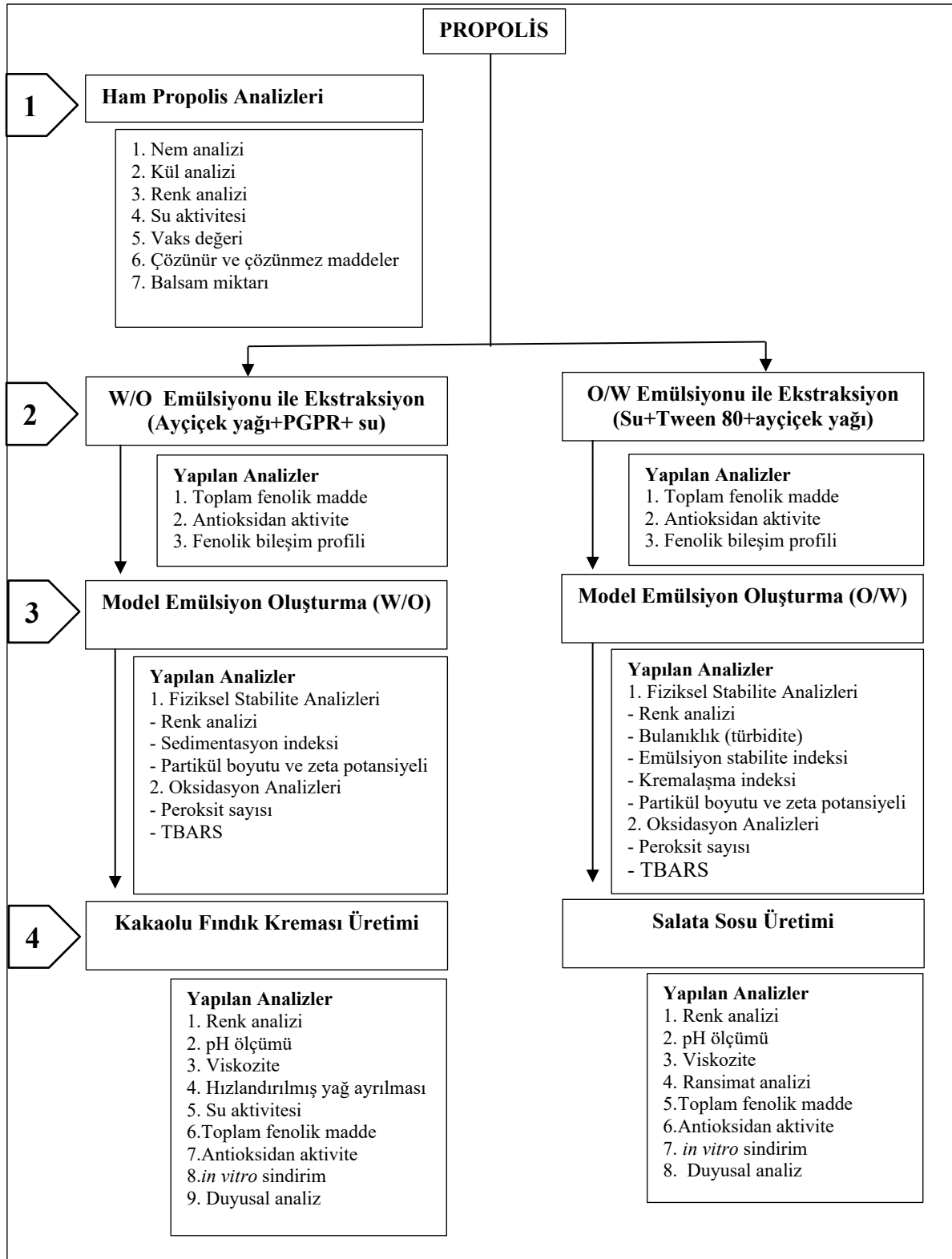
Bu tez çalışmasının deneysel kısmı dört aşamadan oluşmuştur (Şekil 3.1). Bunlar sırasıyla;

1. Materyallerin hazırlanması ve karakterizasyonu: Bu aşamada çalışma kapsamında materyal olarak kullanılan propolisten propolis tozu elde edilmiştir. Toz haline getirilen propoliste nem, renk, su aktivitesi, balsam, vaks, çözünür ve çözünmez madde analizleri gerçekleştirilmiştir.

2. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu: Su içinde yağ (O/W) ve yağ içinde su (W/O) emülsiyonları oluşturulup bu emülsiyonlarla propolis ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. YAM olarak O/W emülsiyonunda Tween-80, W/O emülsiyonunda ise PGPR kullanılmıştır. Bu aşamada her iki emülsiyon çeşidinde de yağ olarak ayçiçek yağı kullanılmıştır. Ekstraksiyondaki propolis/çözücü oranı ve ekstraksiyon sıcaklığı önceki çalışmalar referans alınarak belirlenmiştir. Ekstraksiyonda kullanılan YAM'lar (PGPR, Tween-80), su/yağ oranları ve ekstraksiyon süresi yanıt yüzey yöntemi (YYY) kullanılarak her iki emülsiyon çeşidi için ayrı ayrı deney tasarımları oluşturularak optimize edilmiştir. Optimizasyonda toplam fenolik madde (TFM) kazanımı yanıt olarak kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak sadece su, sadece ayçiçek yağı, pozitif kontrol olarak da %70'lik etanol ile aynı koşullarda ekstraktlar elde edilmiştir. Bu kontrol ekstraktlarında ve optimizasyon sonucunda elde edilen O/W ve W/O ekstraktlarında toplam fenolik madde (TFM), antioksidan aktivite (AA) ve fenolik profil analizleri yapılmıştır.

3. Model emülsiyonların hazırlanması, karakterizasyonu ve stabilite testleri: İkinci aşamada optimizasyon sonucunda elde edilen O/W ve W/O emülsiyonları ile elde edilen ekstraktlarda fiziksel stabilite ve oksidasyon analizleri yapılmıştır. Her iki emülsiyon çeşidinde de ayrı ayrı optimizasyon koşullarında emülsiyonlar oluşturulup oksidasyon analizlerinde kontrol olarak kullanılmıştır. Bu kontrol emülsiyonları herhangi bir antioksidan içermeyen, α - tokoferol içeren ve askorbik asit içeren şeklindedir. W/O emülsiyonu ile elde edilen propolis ekstresi çalışma kapsamında kakaolu fındık kremasına ve O/W emülsiyonu ile elde edilen propolis ekstresi ise salata sosuna ilave edilmiştir. Bu model emülsiyonlarda yağ olarak ayçiçek yağı kullanılmıştır. Elde edilen bu model emülsiyonlarda fiziksel stabilite analizleri ve depolama sırasındaki oksidatif stabilite analizleri gerçekleştirilmiştir. Model emülsiyonların oluşturulması ve karakterizasyonundaki temel amaç; YAM'ların etkinliğini gıda matrisindeki diğer

bileşenlerin etkisi olmadan görebilmek ve ayrıca elde edilen ekstraktların çalışma kapsamı dışındaki diğer gıda uygulamaları için kullanılabilirliği noktasında veri elde etmektir.



Şekil 3.1 : Yöntem akış şeması.

4. Gerçek gıda örnekleri üretimi ve yapılan analizler: İkinci aşamada yapılan optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen propolis ekstreleri bu aşamada gıda ürünlerine ilave edilmiştir. W/O emülsiyonu ile elde edilen propolis ekstresi liyofilize edilip suyu uzaklaştırıldıktan sonra kakaolu fındık kremasına, O/W emülsiyonu ile elde edilen propolis ekstresi ise direkt salata sosu üretiminde kullanılmıştır. Bu aşamada oluşturulan O/W emülsiyonunda ayçiçek yağı kullanılırken W/O emülsiyonunda fındık yağı kullanılmıştır. Elde edilen bu fonksiyonel ürünlerin duyu ve fiziksel özellikleri, oksidatif stabiliteleri ve fenolik bileşiklerin biyogeçişlilikleri belirlenmiştir. Kontrol olarak ise aynı gıdaların propolis ekstresi içermeyen üretilen eşdeğerleri gıda ürünleri kullanılmıştır.

3.1 Materyal

Çalışmada kullanılan ham propolis ise Bingöl ilinde yer alan Probin İlaç Kimya Gıda San. Ve Tic. LTD. ŞTİ. 'den temin edilmiştir. Ham propolis -20 °C'de 3 gün bekletildikten sonra laboratuvar tipi öğütücü ile öğütülerek toz haline getirilmiştir. Elde edilen toz halindeki propolis kullanılıncaya kadar -20°C'de iki kat kilitli plastik poşetlerde muhafaza edilmiştir.

3.1.1 Kullanılan kimyasallar

Kullanılan tüm kimyasallar Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir. Farklı firmalardan satın alınan kimyasalların temin edildiği firma parantez içerisinde ifade edilmiştir. Bu tez çalışmasında; Tween-80, PGPR, (Tito, Türkiye), lesitin (Tito, Türkiye), bütanol, hekzan, sodyum karbonat, baryum klorür ($BaCl_2$), kümen hidroperoksit, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP), etanol, metanol, kloroform, izopropil alkol, hekzan, ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), potasyum iyodür, fenoltaleyn, KOH (potasyum hidroksit), amonyum tiyosiyanat (NH_4SCN), gallik asit, hidroklorik asit, TCA (triklorasetik asit), TBA (tiyobarbütirik asit), BHT (bütilhidroksi toluen), KCl, KH_2PO_4 , $NaHCO_3$, $MgCl_2(H_2O)_6$, $NH_4(CO_3)_2$, $CaCl_2(H_2O)_2$, lipaz, pankreatin ve pepsin kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan nişasta, fındık yağı, ayçiçek yağı, yumurta, vanilin, süt tozu, kakao tozu, şeker, tuz ve üzüm sirkesi yerel marketlerden temin edilmiştir.

3.1.2 Kullanılan alet, ekipman ve cihazlar

Bu tez çalışması kapsamında; hassas terazi (WSA-224T, Weightlab inst, Çin), yüksek devirli homojenizatör (T18 digital, IKA, Almanya), distile su cihazı (ND8, Nüve, Türkiye), su banyoları (Memmert, Almanya ve NB 20, Nüve, Türkiye), etüv (MLF 120, Mipro, Türkiye), kül fırını (Carbolite, Elf 11, Birleşik Krallık), vorteks (Advanced Vortex Mixer ZV3, Velp Scientifica, İtalya), santrifüj (NF 800 R, Nüve, Türkiye), çoklu manyetik karıştırıcı (Isolab – 61332001, Almanya), öğütücü Değirmen (M20, IKA Werke, Almanya), hassas terazi (PA214C, Ohaus, ABD), pH metre (Five Easy F20, Mettler-Toledo, İsviçre), UV-VIS Spektrofotometre (UV-1800, Shimadzu, Japonya), renk ölçüm cihazı (Colorimeter CR-14, Konica Minolta, Japonya), ultra saf su cihazı (Millipore-Q, ABD), partikül yükü ölçüm cihazı (Zetasizer Nano -ZS, model ZEN3600, Birleşik Krallık), viskozimetre (Brookfield DV-II+, İngiltere), liyofilizatör (Buchi L-200 Flawil, İsviçre), soğutmalı çalkalayıcı inkübatör (MÇS-120, Mikrotest, Türkiye), ransimat cihazı (Methrom 892; Herisau, İsviçre), su aktivitesi ölçüm cihazı (LabMaster aw, Novasina AG, Lachen, İsviçre), yüksek basınçlı homojenizatörde (ISA-NLM100, Ilshin Autoclave Co.) ve otomatik pipet setleri kullanılmıştır.

3.2 Ham propoliste yapılan analizler

3.2.1 Nem tayini

Feás ve diğ. (2014), belirttiği metotta bazı değişiklikler yapılarak ham propolisteki % nem miktarı belirlenmiştir. Bu amaçla kullanılacak tartım kapları sabit tartıma getirilip daha sonra 5 g ham propolis örneği tartılmıştır. Örnek etüvde 5 saat boyunca 105 °C’de sabit tartıma gelene kadar kurutulup tartım yapılmıştır. İlk tartım (A1) ve son tartım (A2) arasındaki farktan yola çıkılarak % nem miktarı hesaplanmıştır.

$$\% Nem = \frac{A1 - A2}{A1} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\% Kuru Madde = 100 - \left(\frac{A1 - A2}{A1} \times 100 \right) \quad (3.2)$$

3.2.2 Kül tayini

Darası alınmış kroze kaplarına toz haline getirilmiş ham propolisten 3 g tartılarak 5-6 saat 550 °C’de beyaz kül oluşumu gözlenene kadar kül fırınında yakma işlemi yapılmıştır. Yakma işlemi sonunda örnek sabit tartıma gelene kadar beklenmiş ve aşağıdaki formüle göre hesaplama yapılmıştır (AOAC, 2000).

$$\% \text{ Kül} = \frac{B1 - B2}{B} \times 100 \quad (3.3)$$

B1: Örnek ağırlığı ve kroze kabı ağırlığı toplamı (g)

B2: Kuruyan örnek ve kroze kabı ağırlığı toplamı (g)

B: Örnek ağırlığı (g)

3.2.3 Renk ölçümü

Renk analizinde bir renk ölçüm cihazı (Konica Minolta CM-700d Osaka, Japonya) kullanılarak L*, a* ve b* değerleri kaydedilmiştir. Numuneler cihazın cam petrilere konularak renk analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.4 Su aktivitesi (aw) analizi

Su aktivitesi ölçüm cihazının kaplarına konulan örneğin ile 25 °C sıcaklıkta ve ± 0.003 doğruluk değerinde su aktivitesi ölçümü gerçekleştirilmiştir (Phan ve diğ., 2021).

3.2.5 Vaks değeri tayini

Ham propolisin vaks değeri Feás ve diğ. (2014)’ün belirttiği metotta bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla derin dondurucuda bekletilen toz halindeki ham propolisten 3 g alınarak üzerine 15 mL metanol ilave edilmiştir. Elde edilen karışım oda sıcaklığında ve sabit hızda 2 saat vortekslenmiştir. Daha sonra karışım -18 °C’de bir gece boyunca bekletilerek sabit tartıma getirilmiş ve darası alınmış süzge kâğıdı ile süzülmüştür. Süzgeç kâğıdında kalan vaks miktarı tartılarak belirlenmiştir. Son tartım (C2) ile ilk tartım (C1) arasındaki fark üzerinden % vaks (mum) değeri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Vaks} = \frac{C1}{C2} \times 100 \quad (3.4)$$

3.2.6 Çözünür ve çözünmez maddeler

Propoliste bulunan çözünür ve çözünmez maddelerin miktarını belirlemek amacıyla 1 g toz haline getirilmiş ham propolise 250 mL etanol ilave edilerek 30 dk boyunca çalkalayıcıda karışıma bırakılmıştır (Feás ve diğ., 2014). Süre sonunda karışım kaba filtre kâğıdı yardımıyla filtrelenmiştir. Filtrede bulunan etanolü uzaklaştırmak amacıyla filtre kâğıdı oda sıcaklığında bir süre bekletilmiştir. Filtre kâğıdının son tartımından ilk tartımı çıkarılarak filtrenin üzerinde kalan çözünmeyen katı miktarı belirlenmiştir. Çözünür madde miktarı, numune ağırlığı (D1) ile çözünmeyen ağırlık (D2) arasındaki farkla belirlenmiştir. Sonuç, % çözünür ve % çözünmez madde miktarı aşağıdaki denklemler kullanılarak yüzde olarak belirlenmiştir.

$$\% \text{ Çözünür Madde} = \frac{D1 - D2}{D2} \times 100 \quad (3.5)$$

$$\% \text{ Çözünmez Madde} = \frac{D1}{D2} \times 100 \quad (3.6)$$

3.2.7 Balsam miktarı

Etil alkol ekstraksiyon yöntemine göre balsam miktarı tayini yapılmıştır (Popova ve diğ., 2017). Bu amaçla toz propolisten 1 g alınarak üzerine 30 mL %70 etanol ilave edilerek 24 saat oda sıcaklığında karıştırıcıda karıştırmaya bırakılmıştır. Süre sonunda elde edilen ekstrakt süzülerek ekstraksiyon işlemi tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktler balon jodede birleştirilerek %70 etanol ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Sabit tartıma gelmiş evaporatör balonu tartılarak ağırlığı belirlenmiştir (boş tartım) daha sonra balona 2 mL propolis ekstraktı ilave edilerek ve etil alkol evapore edilmiştir. Evaporasyondan sonra sabit tartıma getirilen balonun ağırlığı belirlenmiştir (dolu tartım). Dolu ve boş tartım arasındaki fark üzerinden % balsam değeri hesaplanmıştır. Ekstraktlardaki balsam yüzdeleri, etanolde çözünebilir fraksiyon olarak hesaplanmıştır.

3.3 Propolis Ekstrelerinin Üretimi ve Optimizasyonu

Propolis ekstraktlarının elde edilmesinde çözücü olarak hem yağ içinde su hem de su içinde yağ emülsiyonu kullanılarak ayrı ayrı optimizasyonlar gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyondaki propolis/çözücü oranı (1/20) ve ekstraksiyon sıcaklığı (60 °C) literatürdeki çalışmalar referans alınarak belirlenmiştir. Ekstraksiyonda kullanılan yüzey aktif madde

(PGPR, Tween-80), su, yağ oranları ve ekstraksiyon süresi yanıt yüzey yöntemi (YYY) kullanılarak her iki emülsiyon çeşidi için ayrı ayrı deney tasarımları oluşturularak TFM geri kazanım oranlarına göre optimize edilmiştir. Negatif kontrol olarak sadece su, sadece ayçiçek yağı, pozitif kontrol olarak da %70'lik etanol ile aynı koşullarda ekstraktlar elde edilmiştir. Bu kontrol ekstraktlarında ve optimizasyon sonucunda elde edilen O/W ve W/O ekstraktlarında toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve fenolik profil analizleri yapılmıştır.

3.3.1 W/O emülsiyonu üretimi ve optimizasyonu

Optimizasyon çalışması yanıt yüzey yöntemi (YYY) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, Design Expert 13 (Stat-Ease Co., Minneapolis, ABD) programı kullanılarak üç değişkenli bir Box-Behnken tasarımı hazırlanmıştır. Merkezi noktada 5 olmak üzere toplam 17 deneme gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon koşulları; sıcaklık (60 °C) ve propolis/çözücü oranı (1/20) sabit olup değişken olarak ise emülsiyonda kullanılan yüzey aktif madde (PGPR) oranı, emülsiyonda kullanılan su oranı ve bekleme süresi değişkenler olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan optimizasyon koşulları için literatür bilgileri ışığında ve ön denemeler sonucu belirlenen oranlar kullanılarak optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimizasyon tasarımında kullanılan değişken limitleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : W/O emülsiyonu ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan bağımsız değişken limitleri.

	Sembol	Düşük (-1)	Orta (0)	Yüksek (+1)
PGPR oranı (%)	A	5	7.5	10
Su oranı (%)	B	0	20	40
Bekleme süresi (gün)	C	0	3	6

Optimizasyon çalışmasında yanıt olarak TFM miktarı kullanılmıştır. Çizelge 3.1'de ifade edilen bağımsız değişken limitleri programa girilerek Çizelge 3.2'deki deneysel tasarım elde edilmiştir.

Çizelge 3.2'de belirtilen 17 denemeden oluşan tasarımda her deneme için gerekli olan PGPR ve su oranının kalan yüzdelik kısmı ayçiçek yağı kullanılarak yüze tamamlanmıştır. Öncelikle her deneme için belirlenen PGPR miktarı tartılarak üzerine gerekli oranda ayçiçek yağı ilave edilmiştir. Karışımda bulunan PGPR'ın yağ içerisinde tamamen çözünmesi için ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda 50 °C'de 500 rpm'de 30 dk karıştırılmıştır (Knoth ve diğ., 2005). Uygulanan denemede eğer örnek su içeriyorsa üzerine yavaş yavaş belirtilen oranda su ilave edilmiştir. Elde edilen karışım emülsiyon oluşumu için 24 saat oda sıcaklığında

manyetik karıştırıcıda 500 rpm’de karışmaya bırakılmıştır. Emülsiyonlar oluşturulduktan sonra her deneme için 50 mL’lik falkonlara 20 g emülsiyon tartılmış ve üzerine 1 g toz haline getirilmiş propolis ilave edilmiştir. Elde edilen karışım çalkalamalı inkübatörde 150 rpm çalkalama hızında ve 60 °C sıcaklıkta 24 saat çalkalamaya bırakılmıştır. Deney tasarımında belirtilen bekleme sürelerinin sonunda örnekler inkübatörden alınmıştır.

Yukarıda deney tasarımında ifade edilen bekleme süresi inkübatörde 24 saat 60 °C sıcaklıkta çalkalama sonrasında ekstraksiyonun oda sıcaklığında (25 °C’de) devam ettiği süreyi ifade etmektedir. Denemelerde belirtilen bekleme süreleri sonunda ekstraktları içeren tüpler inkübatörden alınıp çözünmeyen propolis kalıntılarını uzaklaştırmak için +4 °C’de 8000 rpm’de santrifüjlenmiştir. Daha sonra, elde edilen ekstraktlarda TFM analizi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2 : W/O emülsiyonu ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan deneysel tasarım.

No.	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Yanıt
	PGPR oranı (A) (%)	Su oranı (B) (%)	Bekleme süresi (C) (gün)	TFM (mg GAE/g propolis)
1	7.5	20	3	
2	5	20	0	
3	10	20	0	
4	10	20	6	
5	7.5	40	0	
6	10	0	3	
7	5	20	6	
8	7.5	20	3	
9	7.5	20	3	
10	10	40	3	
11	5	40	3	
12	7.5	0	6	
13	7.5	20	3	
14	7.5	0	0	
15	7.5	40	6	
16	7.5	20	3	
17	5	0	3	

Üç bağımsız değişkenin uygulanmasıyla elde edilen yanıt (TFM) kullanılarak bu değişkenler arasındaki ilişki YYY kullanılarak belirlenmiştir.

Elde edilen propolis ekstraktlarındaki TFM miktarını maksimum seviyeye çıkaracak koşullar optimum ekstraksiyon koşulları olarak seçilmiştir. W/O emülsiyonu ile propolis ekstraktı üretimi aşağıdaki şekilde modellenerek ifade edilmiştir:

$$Y (mg GAE/g) = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_{11}A + b_{22}B + b_{33}C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC \quad (3.11)$$

Denklem 3.11'de Y ile ifade edilen bağımlı değişken TFM'yi sembolize ederken; A, B ve C sırasıyla PGPR oranı, su oranı ve bekleme süresini belirtmektedir. Diğer sembollerden olan b_0 model sabiti; b_1 , b_2 ve b_3 ise lineer terimleri; b_{11} , b_{22} ve b_{33} kuadratik terimleri; b_{12} , b_{23} ve b_{13} ise interaksiyon katsayılarını ifade etmektedir.

3.3.2 O/W emülsiyonu üretimi ve optimizasyonu

Optimizasyon çalışması yanıt yüzey yöntemi (YYY) kullanılarak Bölüm 3.2.1'de başlığı altında tanımlandığı gibi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon koşulları; sıcaklık (60 °C) ve propolis/çözücü oranı (1/20) sabit olup değişken olarak ise emülsiyonda kullanılan yüzey aktif madde (Tween-80) oranı, emülsiyonda kullanılan ayçiçek yağı oranı ve bekleme süresi bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan optimizasyon koşulları için literatür bilgileri ve ön denemeler sonucu belirlenen oranlar kullanılarak optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimizasyon tasarımında kullanılan değişken limitleri Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3 : Su içinde emülsiyonu ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan bağımsız değişken limitleri.

	Sembol	Düşük (-1)	Orta (0)	Yüksek (+1)
Tween-80 oranı (%)	A	5	7.5	10
Yağ oranı (%)	B	0	10	20
Bekleme süresi (gün)	C	0	3	6

Optimizasyon çalışmasında yanıt olarak TFM miktarı kullanılmıştır. Çizelge 3.3'de ifade edilen bağımsız değişken limitleri programa girilerek Çizelge 3.4'deki deneysel tasarım elde edilmiştir.

Çizelge 3.4'de belirtilen her bir deneme için gerekli olan Tween-80 ve ayçiçek yağı oranının kalan yüzdelik kısmı ultra saf su kullanılarak yüze tamamlanmıştır.

Öncelikle her deneme için belirlenen Tween-80 miktarı tartılarak üzerine gerekli oranda ultra saf su ilave edilmiştir. Karışımda bulunan Tween-80'in su içerisinde tamamen çözünmesi için manyetik karıştırıcıda 500 rpm'de 30 dk karıştırılmıştır. Eğer deneme yağ içeriyorsa, karışıma istenen oranda ayçiçek yağı ilave edilerek 13.000 rpm'de 3 dk yüksek devirli homojenizatörde homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen karışım emülsiyon oluşumu için 24 saat oda sıcaklığında 500 rpm'de karışmaya bırakılmıştır. Emülsiyonlar oluşturulduktan sonra her deneme için 50 ml'lik falkona 20 g emülsiyon tartılmış ve üzerine 1 g toz haline getirilmiş propolis ilave edilmiştir. Elde edilen karışım

çalkalamalı inkübatörde 150 rpm çalkalama hızında ve 60 °C sıcaklıkta 24 saat çalkalamaya bırakılmıştır.

Çizelge 3.4 : O/W ile propolis ekstraksiyonu optimizasyonunda kullanılan deneysel tasarım.

No.	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Yanıt
	Tween-80 oranı (A) (%)	Yağ oranı (B) (%)	Bekleme süresi (C) (gün)	TFM (mg GAE/g propolis)
1	10	10	0	
2	7.5	10	3	
3	7.5	10	3	
4	10	20	3	
5	7.5	0	6	
6	10	10	6	
7	10	0	3	
8	5	0	3	
9	5	20	3	
10	7.5	20	6	
11	5	10	0	
12	7.5	0	0	
13	5	10	6	
14	7.5	10	3	
15	7.5	20	0	
16	7.5	10	3	
17	7.5	10	3	

Yukarıda deney tasarımında ifade edilen bekleme süresi inkübatörde 24 saat 60 °C sıcaklıkta çalkalama sonrasında ekstraksiyonun oda sıcaklığında (25 °C’de) devam ettiği süreyi ifade etmektedir. Denemelerde belirtilen bekleme sürelerinin sonunda ekstraktları içeren tüpler inkübatörden alınıp çözünmeyen propolis kalıntılarını uzaklaştırmak için ekstraktlar +4 °C’de 8000 rpm’de santrifüjlenmiştir. Elde edilen ekstrelerde TFM analizi gerçekleştirilmiştir.

Üç bağımsız değişkenin uygulanmasıyla elde edilen yanıt (TFM) kullanılarak bu değişkenler arasındaki ilişki YYY kullanılarak belirlenmiştir.

Elde edilen propolis ekstrelerindeki TFM miktarını maksimum seviyeye çıkaracak koşullar optimum ekstraksiyon koşulları olarak seçilmiştir. O/W ile propolis ekstraktı üretimi aşağıdaki şekilde modellenerek ifade edilmiştir:

$$Y(\text{mg GAE/g}) = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_{11}A + b_{22}B + b_{33}C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC \quad (3.12)$$

Denklem 3.11’de Y ile ifade edilen bağımlı değişken TFM miktarını sembolize ederken; A, B ve C sırasıyla Tween-80 oranı, yağ oranı ve bekleme süresini ifade etmektedir.

Diğer sembollerden olan b_0 model sabiti; b_1 , b_2 ve b_3 ise lineer terimleri; b_{11} , b_{22} ve b_{33} kuadratik terimleri; b_{12} , b_{23} ve b_{13} ise interaksiyon katsayılarını ifade etmektedir.

3.3.3 Optimum koşullarda elde edilen propolis ekstraktlarının biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi

Optimizasyon sonucunda belirlenen koşullarda O/W ve W/O emülsiyonları ile ekstraktlar elde edilmiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak sadece su, sadece ayçiçek yağı, pozitif kontrol olarak da %70'lik etanol ile aynı koşullarda ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar su için S+P, ayçiçek yağı için A+P, %70'lik etanol E+P, su içinde yağ emülsiyonu için O/W+P ve yağ içinde su emülsiyonu için W/O +P olarak kodlanmıştır. Bu kontrol ekstraktları için 20 g çözücü tartılarak (etanol mL olarak ölçülmüştür) üzerine 1 g toz propolis ilave edilmiştir. Elde edilen karışım çalkalamalı inkübatörde 150 rpm çalkalama hızında ve 60 °C sıcaklıkta 24 saat çalkalamaya bırakılmıştır. İfade edilen sürenin sonunda çözücülerdeki çözünmeyen propolis kalıntılarını uzaklaştırmak için ekstraktlar +4°C'de 8000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Elde edilen tüm ekstraktlarda TFM, antioksidan aktivite (ABTS, DPPH) ve fenolik bileşim analizleri gerçekleştirilmiştir.

Ekstraktlardan 250 mg (veya μ L) alınarak üzerine 5 mL %70'lik metanol ilave edilerek 2 saat vortekslenmiştir. Süre sonunda örnekler 4000 rpm'de 10 dk santrifüjlendikten sonra süpernatant kısımlar TFM ve antioksidan aktivite (ABTS, DPPH) analizlerinde kullanılmıştır.

3.3.3.1 Toplam fenolik madde analizi (TFM)

Folin&Ciocalteu yöntemi kullanılarak ekstraktların TFM miktarı ile belirlenmiştir (Yıldırım ve diğ., 2001). Ekstraktlardan 250 mg (veya μ L) alınarak üzerine 5 mL %70 lik metanol ilave edilerek 2 saat vortekslenmiştir. Süre sonunda örnekler 4000 rpm'de 10 dk. santrifüjlendikten sonra süpernatant kısımdan 100 μ L alınarak saf su ile 1000 μ L'ye tamamlanmıştır. Her tüpe sırası ile 1 mL %10'luk Folin&Ciocalteu reaktifi ve 1 mL %2'lik Na_2CO_3 ilave edilerek 30 sn vorteklenmiştir. Karışımlar daha sonra 1 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık bir yerde bekletilmiştir. Süre sonunda 750 nm'de spektrofotometre cihazında ölçümler gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar galik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir.

3.3.3.2 Antioksidan aktivite

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla 2,2-azino-bis-3-etilbenzothiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemleri kullanılmıştır. Standart olarak Trolox kullanılarak her iki yöntem için de farklı kalibrasyon eğrileri hazırlanmıştır. Sonuçlar hem trolox eşdeğeri (TAEC) hem de %inhibisyon olarak ifade edilmiştir.

3.3.3.2.1 ABTS

Öncelikle stok solüsyonu hazırlamak amacıyla 2.45 mM potasyum persülfat içinde 7 mM 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS) çözeltisi hazırlanıp oda sıcaklığında karanlık bir yerde 16 saat bekletilmiştir. Süre sonunda stok çözeltiden bir miktar alınıp etanol ile seyreltilerek absorbansı 734 nm’ de 0.700 ± 0.05 ’e ayarlanmıştır. Örneklerden 100 µL alınarak üzerine 2.9 mL seyreltilmiş ABTS solüsyonu ilave edilmiştir. Kontrol için ise 100 µL etanol alınarak üzerine 2.9 mL seyreltilmiş ABTS solüsyonu ilave edilmiştir. Vortekslendikten sonra örnekler oda sıcaklığında ve karanlık bir yerde 10 dk bekletilip spektrofotometrede 734 nm’de etanole karşı absorbans değerleri kaydedilmiştir (Re ve diğ., 1999). Sonuçlar Trolox eşdeğeri olarak ve aşağıdaki formül kullanılarak % inhibisyon olarak hesaplanmıştır.

$$\% inhibisyon = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (3.13)$$

A: Kontrolün absorbans değeri

B: Örneğin absorbans değeri

3.3.3.2.2 DPPH

Öncelikle metanol kullanılarak 6×10^{-5} M 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikali çözeltisi hazırlanmıştır. Örneklerden 100 µL alınarak üzerine 3.9 mL DPPH solüsyonu ilave edilmiştir. Kontrol için ise 100 µL metanol alınarak üzerine 3.9 mL DPPH solüsyonu ilave edilmiştir. Daha sonra karışım oda sıcaklığında ve karanlık bir yerde 30 dk bekletilip spektrofotometrede 515 nm’de metanole karşı absorbans değerleri ölçülmüştür (Brand-Williams ve diğ., 1995). Sonuçlar Trolox eşdeğeri olarak ve aşağıdaki formül kullanılarak % inhibisyon olarak hesaplanmıştır.

$$\% inhibisyon = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (3.14)$$

A: Kontrolün absorbans değeri

B: Örneğin absorbans değeri

3.3.3.4 Fenolik bileşim analizi

Ekstraktların fenolik bileşim profili Sıvı Kromatografisi-Yüksek Çözünürlük Kütle Spektrometrisi (LC-HRMS) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. LC-HRMS analizleri, DIONEX UltiMate 3000 RS pompası, DIONEX UltiMate 3000 RS otomatik numune alıcısı ve DIONEX UltiMate 3000 RS kolon fırını içeren LC sistemi ve ısıtmalı elektrosprey iyonlaşma arayüzüne sahip Exactive Plus Orbitrap (ThermoFisherScientific) yüksek çözünürlüklü MS dedektörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Orbitrap-MS cihazı, bir otomatik şırınga enjektörü (ThermoFisherScientific, ABD) kullanılarak pozitif (Pierce™ LTQ Velos ESI Positive Ion Calibration Solution) ve negatif kalibrasyon (Pierce™ Negative Ion Calibration Solution) solüsyonları ile kalibre edilmiştir.

Yapılan LC-HRMS analizlerinde LC ve MS üniteleri, sistem bilgisayarına yüklenmiş olan TraceFinder 3.2 (ThermoScientific) programı ile eş zamanlı olarak çalıştırılmış, veriler Xcalibur software version 2.1.0.1140 (ThermoFisherScientific) programı ile toplanılarak kaydedilmiştir.

Kromatografi ve yüksek çözünürlüklü MS koşulları

Gerçekleştirilen analizler için 3C18-EB 100×2 mm UHPLC (COSMOSIL) kolon kullanılmıştır. Kolon fırın sıcaklığı 30 °C olarak ayarlanmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli A fazında ultra saf suda hazırlanmış %0.5 (v/v) glasiyel asetik asit, hareketli B fazında %99.9 saflıkta LC-MS derecede metanol (Sigma) kullanılmıştır. Ayırım, numune enjeksiyon hacmi 20 µL ve 0.3 mL/dk akış hızında ve Şekil 1’de ifade edilen gradiyent elüsyon koşulları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz süresi toplam 20 dk olarak ayarlanmıştır.

Isıtılmış bir elektrosprey iyonlaşma ara yüzü ile donatılmış Orbitrap HRMS hem pozitif (Full MS/AIF) hem de negatif (Full MS/AIF) modda çalıştırılmıştır. İyonlaştırma ara yüzü kılıf gaz (sheathgas) akış oranı 35; yardımcı gaz (auxiliarygas) akış oranı 7; sprej voltaj 3.5 kV; kapiler sıcaklığı 350 °C; yardımcı gaz (auxiliarygas) sıcaklığı 350 °C; S-lens RF seviyesi 50 olarak kullanılmıştır. MS tarama aralığı 60-800 m/z; resolution 17500; ACG

target 3. 10⁶; maximum IT 2 ms; CE (çarpışma enerjisi, collisionenergy) / step CE 25 V koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.5 : Gradiyen akış koşulları

Alıkonma süresi (dk)	Akış Hızı (mL/dk)	%B	%A
0.0	0.300	0.0	100.0
0.0	0.300	0.0	100.0
2.0	0.300	0.0	100.0
15.5	0.300	98.0	2.0
15.9	0.300	98.0	2.0
16.0	0.300	0.0	100.0
19.0	0.300	0.0	100.0

3.4 Model Emülsiyon Üretimi ve Stabilite Testleri

3.4.1 Optimize W/O emülsiyonu üretimi ve yapılan analizler

W/O emülsiyonu ile yapılan propolis ekstraksiyonunda YYY ile yapılan optimizasyon sonucunda optimum TFM ekstraksiyonu gerçekleştiren emülsiyon (W/O+P) ve kontrol emülsiyonlarında bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Öncelikle optimizasyon örneği ile aynı oranda su, yağ ve PGPR içeren kontrol emülsiyonları üretilmiştir. Bu kontrol emülsiyonları herhangi bir antioksidan içermeyen (kontrol), non-polar antioksidan olarak 200 ppm α -tokoferol (W/O+TOK) içeren ve polar antioksidan olarak 1000 ppm askorbik asit (W/O+AA) içeren şeklidir. Bu emülsiyonlarda fiziksel stabilite ve oksidasyon analizleri yapılmıştır. Bu aşamada emülsiyonlarda ayçiçek yağı kullanılmıştır.

Emülsiyonlar PGPR (%5), ultra saf su (%29.20) ve fındık yağı kullanılarak üretilmiştir. Öncelikle PGPR ve ayçiçek yağı karışımı 45 °C sıcaklıkta 500 rpm'de 30 dk karıştırılmıştır. Süre sonunda üzerine ultra saf su ilave edilerek yüksek devirli homojenizatör yardımıyla 18.000 rpm'de 10 dk homojenize edilerek emülsiyonlar elde edilmiştir.

3.4.1.1 Renk ölçümü

Emülsiyonlar hazırlandıktan sonra renk ölçümleri için bir petri kabına alınarak el tipi el tipi kolorimetre (Colorimeter CR-14, Konica Minolta, Japonya) kullanılarak örneklerin renk parametreleri (L: beyazlık, a: kırmızılık ve b: sarılık) ölçülmüştür.

3.4.1.2 Sedimentasyon indeksi

Emülsiyonların sedimentasyon indeksinin belirlenebilmesi amacıyla, test tüplerine 10 ml örnek alınarak oda sıcaklığında dört hafta boyunca depolanmıştır. Emülsiyonlarda faz

ayrımı olup olmadığı depolama süresince gözlemlenmiştir. Bu amaçla sedimentasyon indeksi (SI) depolama süresince tüplerde bulunan emülsiyon yüksekliği (Ht) ile üst kısmında ayrılan yağ kısmının yüksekliği (Ho) oranlanarak aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Ushikubo ve Cunha, 2014).

$$\% SI = \frac{Ho}{Ht} \times 100 \quad (3.15)$$

3.4.1.3 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri

Emülsiyonların partikül boyutu ve partikül yüzey yükü bir partikül boyut ölçüm cihazı (Zetasizer Nano-ZS) kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla emülsiyonlar ayçiçek yağı kullanılarak seyreltilmiştir. Analiz sonuçları ortalama partikül çapı (d.nm) ve zeta (ζ) potansiyeli (mV) olarak kaydedilmiştir.

3.4.1.4 Oksidatif stabilite Testleri

Hazırlanan emülsiyonlardan 10'ar mL kapaklı cam tüplere alınarak etüvde 37°C'de oksidasyona bırakılmıştır. Deneyin başlangıcından (0. gün) itibaren üç günde bir numune alımı yapılarak peroksit sayısı ve TBA sayısı analizleri yapılmıştır.

3.4.1.4.1 Peroksit sayısı

Emülsiyondan 200 µL örnek alınarak üzerine 1.5 mL izooktan:izopropanol (3:1) çözeltisinden ilave edilmiştir. Karışım vortekslendikten sonra 3500 rpm'de 2 dk santrifüjlenerek üst fazdan 200 µL alınıp üzerine 2.8 mL metanol:bütanol (2:1) çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından 30 µL indikatör karışımı ilave edilmiştir. Elde edilen karışım oda sıcaklığında karanlıkta 20 dk bekletilerek spektrofotometrede 510 nm'de elde edilen absorbans değerleri kaydedilmiştir (Chaiyasit ve diğ., 2005). Sonuçlar kümen hidroperoksit kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır.

İndikatör çözeltisi, 3.94 M amonyum tiyosiyanat (NH₄SCN) ve Fe²⁺ çözeltisinin 1:1 oranında karıştırılması ile hazırlanmıştır. Fe²⁺ çözeltisi; 0.144 M FeSO₄ ve 0.4 M HCl ile hazırlanmış 0.132 M BaCl₂'in 1:1 oranında karıştırılıp 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmesi sonucu elde edilen üst fazdır. Fe²⁺ çözeltisi her analiz günü taze olarak hazırlanmıştır.

3.4.1.4.2 TBA sayısı

İnkübasyon süresince belirlenen günlerde, her bir emülsiyondan 1 mL örnek alınarak üzerine 2 mL tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi ilave edilmiştir (TBA çözeltisi; 75 g triklorasetik asit (TCA), 1.88 g TBA, 414 g ultra saf su, 8.8 mL HCl (%37) karışımından 100 mL alınarak üzerine %2'lik BHT çözeltisinden (etanolda) 3 mL ilave edilmesi ile elde edilmiştir). Tüplerde bulunan karışım vorteklendikten sonra kapakları kapatılarak su banyosunda 90 °C'de 15 dk bekletilmiştir. Süre sonunda çeşme suyunda 10 dk bekletilerek soğutulup üzerine 1 mL kloroform ilave edilip vortekslenmiştir. Elde edilen karışım 3000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Üst fazın spektrofotometrede absorbanşı 532 nm'de okunarak kaydedilmiştir. Okuma için kullanılacak kör örnek (1 mL distile su + 2 mL TBA çözeltisi) için de aynı işlemler yapılmıştır. 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlanmış ve sonuçlar TEP cinsinden ifade edilmiştir (McDonald & Hultin, 1987; Walker, 2016).

3.4.2 Optimize O/W emülsiyonu üretimi ve yapılan analizler

Öncelikle optimum koşullarda elde edilen örnek ile aynı oranda su, ayçiçek yağı (%19.90) ve Tween-80 (%8.27) içeren kontrol emülsiyonları üretilmiştir. Bu emülsiyonlar; herhangi bir antioksidan içermeyen (kontrol), non-polar antioksidan olarak 200 ppm α - tokoferol (O/W+TOK) içeren ve polar antioksidan olarak 1000 ppm askorbik asit (O/W+AA) içeren şeklindedir. Bu emülsiyonlarda fiziksel stabilite ve oksidasyon analizleri yapılmıştır.

Emülsiyonlar Tween-80, ayçiçek yağı ve ultra saf su kullanılarak üretilmiştir. Öncelikle ultra saf su ve Tween-80 karışımı oda sıcaklığında 500 rpm'de 30 dk karıştırılmıştır. Süre sonunda üzerine ayçiçek yağı ilave edilerek yüksek devirli homojenizatör yardımıyla 15.000 rpm'de 6 dk homojenize edilerek ön emülsiyon elde edilmiştir. Daha sonra yüksek basınçlı homojenizatörden 6 defa geçirilerek son emülsiyonlar elde edilmiştir.

3.4.2.1 Renk ölçümü

Bölüm “3.4.1.1 Renk ölçümü” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.4.2.2 Bulanıklık (türbidite) ölçümü

Emülsiyonlar hazırlandıktan hemen sonra ultra saf su ile 500 kat seyreltilerek absorbans okumalarını uygun bir aralığa düşürülerek spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda emülsiyon bulanıklığı ölçülmüştür (Uluata ve diğ., 2016).

3.4.2.3 Emülsiyon stabilite indeksi (%ESİ)

Emülsiyonların stabilite indeksini belirlemek amacıyla emülsiyonlar hazırlandıktan hemen sonra 0. ve 10. dakikada örnekler alınarak ultra saf su ile 500 kat seyreltilerek spektrofotometrede 500 nm’ de elde edilen absorbans değerleri kaydedilmiştir. Kaydedilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine konularak emülsiyonların %ESİ değerleri hesaplanmıştır (Li ve Xiang, 2019).

$$\% ESİ = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times 100 \quad (3.16)$$

A0 : 0. dakikada ölçülen absorbans

A10 : 10. dakikada ölçülen absorbans

3.4.2.4 Kremalaşma indeksi

Emülsiyonlarda krema tabakası oluşumunu gözlemlemek amacıyla, cam tüplere aynı hacimde örnekler konularak 4 hafta boyunca oda sıcaklığında depolanmıştır. Depolama süresince her hafta tüplerdeki krema katmanı ile emülsiyonların toplam yüksekliği ölçülerek aşağıda verilen formül yardımı ile her hafta için ayrı ayrı kremalaşma indeksleri hesaplanmıştır (Vasile ve diğ., 2016).

$$\% Kİ = \frac{HK}{HT} \times 100 \quad (3.17)$$

HK : kremalaşmış katmanının yüksekliği

HT : emülsiyonun toplam yüksekliği

3.4.2.5 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri

Emülsiyonların partikül boyutu ve partikül yüzey yükü bir partikül boyut ölçücü (Zetasizer Nano-ZS) ile belirlenmiştir. Emülsiyonlar ölçüm öncesi ultra saf su kullanılarak

500 kat seyreltilmiştir. Elde edilen sonuçlar için ortalama zeta (ζ) potansiyeli (mV) ve partikül çapı (d.nm) olarak kaydedilmiştir.

3.4.2.5.1 Sıcaklık değişiminin emülsiyon stabilitesine etkisi

Termal değişimlere karşı emülsiyonların stabilitelerinin incelenmek amacıyla emülsiyonlar su banyosunda 10 dk farklı sıcaklıklarda (30, 60, 90 °C) bekletilmiştir. Sıcaklık uygulaması sonrasında örnekler oda sıcaklığında karanlık bir yerde 24 saat bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda örneklerde partikül boyutu ve yükü ölçümü yapılmıştır (Uluata ve diğ., 2015).

3.4.2.5.2 pH değişiminin emülsiyon stabilitesine etkisi

Farklı pH değerlerinde emülsiyonların stabilitelerine etkisini incelenmek amacıyla emülsiyonların pH değerleri (3.0, 5.0, 7.0, 9.0) 0.5 M HCl ve 0.5 M NaOH kullanılarak ayarlanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında karanlık bir yerde 24 saat bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda örneklerde partikül boyut ve yükü ölçülmüştür (Uluata ve diğ., 2015).

3.4.2.5.3 Tuz konsantrasyonunun emülsiyon stabilitesine etkisi

Farklı tuz konsantrasyonlarının emülsiyonların stabilitelerine etkisini incelenmek amacıyla 0, 50, 100 mM NaCl çözeltisi içeren emülsiyonlar hazırlanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında karanlık bir yerde 24 saat bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda örneklerde partikül boyutu ve yükü ölçümü yapılmıştır (Uluata ve diğ., 2015).

3.4.2.6 Oksidatif stabilite testleri

Hazırlanan emülsiyonlar 10 mL olacak şekilde ayrı ayrı kapaklı cam tüplere alınarak etüvde 50°C'de oksidasyona bırakılmıştır. Deneyin başlangıcından (0. gün) itibaren üç günde bir örnek alınarak peroksit sayısı ve TBA sayısı analizleri yapılmıştır.

3.4.2.6.1 Peroksit sayısı

Bölüm “3.4.1.4.1 Peroksit sayısı” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.4.2.6.2 TBA sayısı

Bölüm “3.4.1.4.2 TBA sayısı” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.5 Salata Sosu Üretimi ve Yapılan Analizler

Salata sosu bileşimi Martínez ve diğ. (2007)'in kullandığı metod biraz modifiye edilerek belirlenmiştir. Salata sosunun bileşimi kütlece %45.5 saf su, %35 ayçiçek yağı, %6 pastörize yumurta sarısı, %4 ticari şeker, %4 üzüm sirkesi, %2.5 nişasta, %2 Tween-80 ve %1 tuz kullanılarak hazırlanmıştır. Öncelikle emülsifikasyonun ön adımı için nişasta, şeker ve su karışımları, nişasta jelatinleşme sıcaklığına (80°C) ulaşmaya kadar hafif mekanik karıştırma altında ısıtılmıştır. Sürekli fazın kıvamını arttırmak için bu prosedür izlenmiştir. Elde edilen karışım oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Karışımın ısısı oda sıcaklığına gelince diğer bileşenler de ilave edilerek 12.000 rpm'de 5 dk yüksek devirli homojenizatörden geçirilerek salata sosları hazırlanmıştır. Hazırlanan soslar analiz edilinceye kadar buzdolabında 4 °C 'de muhafaza edilmiştir. Salata sosu formülasyonunda optimum koşullarda O/W emülsiyonu kullanılarak elde edilen propolis ekstresi kullanılmıştır. Doz etkisini gözlemlemek için 150, 300 ve 450 ppm'de edilen propolis ekstresi içeren soslar hazırlanmıştır. Bu ekstrlerde bulunan su, yağ ve Tween-80 miktarları, salata sosundaki bu bileşenlerin miktarı hesaplanırken dikkate alınmıştır. Örnek kodu olarak kullanılan kontrol, propolis ekstresi içermeyen; SS+150P, 150 ppm propolis içeren; SS+300P, 300 ppm propolis ekstresi içeren ve SS+450P, 450 ppm propolis içeren salata sosu örneklerini ifade etmektedir.

3.5.1 Renk ölçümü

Bölüm “3.4.1.1 Renk ölçümü” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.5.2 pH ölçümü

Salata soslarının pH değerini belirlemek amacıyla örneklerden 1 g alınıp üzerine 10 mL saf su ilave edilerek oda sıcaklığında 5 dk karıştırılmıştır. Elde edilen karışım pH metre cihazı ile ölçümü yapılmıştır (Bildi, 2021).

3.5.3 Viskozite

Salata sosu örneklerinin viskoziteleri rotasyonel viskozimetre (Brookfield DV-II+, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir.

3.5.4 Ransimat analizi

Salata soslarının indüksiyon periyotlarının belirlenmesinde ransimat kullanılmıştır. Yaklaşık 4 g salata sosu alınarak Joshi ve diğ., (2024) uyguladığı analiz metodu modifiye

edilerek 111.6 °C sıcaklık ve 20 L/saat hava akımında örneklerin indüksiyon periyotları saat olarak belirlenmiştir.

3.5.6 Toplam fenolik madde (TFM)

Bölüm “3.3.3.1 Toplam fenolik madde” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.5.7 Antioksidan aktivite

Bölüm “3.3.3.2 Antioksidan aktivite” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.5.8 *in vitro* sindirim testleri

Salata sosunun AA ve TFM içeriklerinin simüle *in vitro* ince bağırsak koşullarındaki biyogeçişlilik oranları INFOGEST statik gastrointestinal modeli protokolüne (Brodkorb ve diğ., 2019) göre belirlenmiştir. Bu analiz propolis ekstresi içeren ve içermeyen tüm salata sosu örneklerinde yapılmıştır. Simüle ağız (saliva) sıvısı (SSF), mide gastrik sıvısı (SGF) ve ince bağırsak sıvılarında (SIF) farklı konsantrasyonlarda kullanılacak olan tuz çözeltileri kompozisyonları Çizelge 3.8’e göre hazırlanmıştır. *in Vitro* sindirim testinde kullanılan enzimlerin aktiviteleri kullanım öncesi yine aynı protokoldeki yöntemlere göre test edilmiştir. Ayrıca, ince bağırsak fazında pankreatin enzimi kullanılmıştır. Tüm salata sosu örneklerinden 5 g alınıp ağız, mide ve ince bağırsak ortamı sıvıları hazırlanarak örnekler bu ortamlara sırasıyla maruz bırakılmıştır. Propolis ekstresi içermeyen salata sosu örnekleri, kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Ayrıca *in vitro* sıvılarından kaynaklı herhangi bir girişimi bertaraf edebilmek için örnek ya da kontrol içermeyen *in vitro* sindirim sıvıları da aynı işleme tabi tutularak kör olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.6 : *in vitro* sindirim sıvılarının stok çözelti bileşimleri^{a,b,c}

Tuz çözeltileri	Tuz çözeltisi Stok konsantrasyonu (M)	SSF (pH 7)		SGF (pH 3)		SIF (pH 7)	
		0.4L hazırlama için stoktan eklenecek miktar (mL)	SSF’deki son konsantrasyon (mM)	0.4L hazırlama için stoktan eklenecek miktar (mL)	SGF’deki son konsantrasyon (mM)	0.4L hazırlama için stoktan eklenecek miktar (mL)	SGF’deki son konsantrasyon (mM)
KCl	0.5	15.1	15.1	6.9	6.9	6.8	6.8
KH ₂ PO ₄	0.5	3.7	1.35	0.9	0.9	0.8	0.8
NaHCO ₃	1	6.8	13.68	12.5	25	42.5	85
NaCl	2	-	-	11.8	47.2	9.6	38.4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0.15	0.5	0.15	0.4	0.12	1.1	0.33
NH ₄ (CO ₃) ₂	0.5	0.06	0.06	0.5	0.5	-	-
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0.3	-	1.5	-	0.15	-	0.6

^aSSF: Ağız sıvısı, SGF: Mide sıvısı, SIF: İnce bağırsak sıvısı; ^bKonsantrasyonlar 400 mL’ye karşılık gelir, *in vitro* sindirim sırasında enzimler, safra tuzu ve CaCl₂(H₂O)₂ eklendikten sonra son hacim 500 mL’ye çıkar. ^cGerekli miktardaki CaCl₂(H₂O)₂ çökelmeyi önlemek için sindirim ortamı son karışımına eklenir.

3.5.8.1 Ağız fazı

Örneklerden ayrı ayrı 0.5 g alınıp üzerine 4.5 saf su ve 4 mL müsün (SSF elektrolit solüsyonu ile hazırlanmış +4 °C'de 1 gece karıştırılmıştır) ile karıştırılmıştır. Daha sonra, bu karışıma 25 µL $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (0.3 M) ve 975 µL distile su ilave edilerek tekrar karıştırma işlemi yapılmış ve bu karışım 37 °C de 150 rpm'de orbital karıştırıcıda 10 dk inkübe edilmiştir.

3.5.8.2 Mide fazı

Ağız fazına 5 µL 0.3 M $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ ile sıcaklığı 37 °C ye getirilmiş 8 mL stok SGF çözeltisi karıştırılmış ve 3 M HCl ile pH'sı 3'e ayarlanmıştır. Daha sonra 1 mL pepsin (2000 U/mL, son konsantrasyon) ilave edilip son hacim 20 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Bu karışım, 37 °C de 150 rpm'de 2 saat boyunca karanlık ortamda inkübatörde çalkalamaya bırakılmıştır.

3.5.8.3 İnce bağırsak fazı

Mide fazı karışımına, sıcaklığı 37 °C ye getirilmiş 11 mL SIF stok solüsyonu ilave edilerek karıştırılıp, karışımın pH'sı 7'ye 1 M NaOH ile ayarlanmıştır. Bu karışıma, 40 µL 0.3 M $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ ve son karışımdaki konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde safra tuzu çözeltisi ilave edilmiştir. Pankreatin çözeltisi SIF solüsyonunda, son karışımında tripsin aktivitesi 100 U/mL ve ayrıca ilave pankreatik lipaz, aktivitesi 2000 U/mL olacak şekilde ilave edilmiştir. Son hacim 40 mL ye saf su ile tamamlanıp ve 37 °C de 150 rpm de 2 saat çalkalanarak inkübe edilmiştir. Enzimler kullanılmadan önce SIF çözeltisinde ve safra tuzu saf suda (37 °C de 30 dk) karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.5.8.4 Biyoerişilebilirliğin belirlenmesi

Numuneler üç aşamadan oluşan simüle edilmiş gastrointestinal sistem aşamalarından geçtikten sonra ince bağırsaktan sonra elde edilen digesta örneğinden bir miktar alınarak 8500 rpm de 4°C de 60 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen berrak süpernatant fenolik maddelerin çözündüğü misel fazı olarak kabul edilmiş olup bu fraksiyonun toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Bu amaçla; 1 mL misel (veya digesta), 1 mL kloroform ve 1 mL metanol test tüpüne aktarılıp karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 3500 rpm de 5 dk santrifüj edilmiştir. Üstte oluşan faz başka bir tüpe alınmıştır (Aynı işlemler ince bağırsak fazı sonrası elde edilen digesta için de uygulanmıştır). Santrifüj sonrası hem misel hemde digesta örneklerinde elde edilen üst fazların toplam fenolik madde

miktarı tespit edilmiştir (analizler 3.3.3.1 başlığında ifade edildiği gibi yapılmıştır). Aşağıdaki formül kullanılarak örneklerdeki toplam fenolik madde miktarları hesaplanmıştır.

$$Biyoerişilebilirlik (\%) = \frac{M_{misel}}{M_{digesta}} \times 100 \quad (3.18)$$

Bu denklemde;

M_{misel} = misel fraksiyonundaki TFM miktarını,

$M_{başlangıç}$ = başlangıçtaki TFM miktarları ifade etmektedir.

3.5.9 Duyusal analiz

Salata soslarının duyusal özelliklerinin tanımlanmasında Bildi (2021) tarafından kullanılan metotta bazı değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Örneklerin duyusal analizi İnönü Üniversite'sinde bulunan öğretim üyesi ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan panelistler tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelistlere analizi gerçekleştirmeden önce tanımlayıcı terimler hakkında bilgilendirme yapılmıştır. Salata sosu örneklerinin duyusal analizi için kullanılan tanımlayıcı terimler ve referansları sırasıyla Çizelge 3.6'da verilmiştir. Panelistlere farklı 3 basamaklı sayılarla kodlanmış bir şekilde sunulan örnekler ağzı kapaklı cam kavanozlarda rastgele bir düzende servis edilmiştir. Analiz sırasında, panelistlerin duyularını notürlemeleri için su ve yağsız/baharatsız kraker sunulmuştur. Salata soslarının duyusal analiz değerlendirme formu sırasıyla Şekil 3.3'te gösterilmiştir.

Duyusal Terim	Tanım	Referans
Kıvamlılık	Ürünün serbest akışa karşı gösterdiği direnç	Standart salata sosu
Tatlı	Şeker çözeltisi ile dilde algılanan tat	%5'lik şeker çözeltisi
Tuzlu	Yemeklik tuzdan dil ile algılanan tat	%0.3'lük tuzlu su çözeltisi
Ekşi	Organik asitlerden dil ile algılanan tat	Limon suyu veya limon dilimi
Yumurta sarısı	Yumurta sarısından alınan lezzet ve kokuların toplamı	Pastörize yumurta sarısı
Propolisli	Propolis ekstraktından alınan lezzet ve kokuların toplamı	Su içinde yağ emülsiyonu ile ekstrakte edilen propolis
Sirkemsi	Sirkeden alınan lezzet ve kokuların toplamı	Üzüm sirkesi

Şekil 3.2 : Salata sosları için kullanılan duyusal tanımlayıcı terimler ve referans standartları.

	292	465	748	984
Kıvamlılık (0: sıvı yağ, 10: salata sosu)				
Tatlı (0: şekerless, 10: çay şekeri)				
Tuzlu (0: hiç yok, 10: sofra tuzu)				
Ekşi (0: hiç yok, 10: limon)				
Yumurta sarısı (0: hiç yok, 10: yumurta sarısı)				
Propolisli (0: hiç yok, 10: propolis ekstraktı)				
Sirkemsi (0: hiç yok, 10: üzüm sirkesi)				

	292	465	748	984
Görünüş				
Koku/Aroma				
Tat/Lezzet				
Genel Kabul				

(1: Hiç beğenmedim, 2: Az beğendim, 3: Ne beğendim ne beğenmedim, 4: Beğendim, 5: Çok beğendim)

Şekil 3.3 : Salata soslarının duysal analiz testine ait değerlendirme formu.

3.6 Kakaolu Fındık Kreması Üretimi ve Yapılan Analizler

Kakaolu fındık kreması formülasyonu Yiğit ve diğ. (2021)'in kullandığı metod modifiye edilerek Probin İlaç Kimya Gıda San. Ve Tic. LTD. ŞTİ.'nin pilot ölçekli tesisinde üretilmiştir. Kakaolu fındık kremasının bileşimi; %45 şeker, %25 toplam yağ (%20 palm ve %5 fındık yağı), %13 fındık, %8.1 yağsız süt tozu, %8 kakao tozu, %0.65 lesitin, %0.35 PGPR ve %0.01 vanilin kullanılarak hazırlanmıştır. Öncelikle fındıklar temizlenip kabukları

uzaklaştırıldıktan sonra 120 °C sıcaklıktaki fırında 10 dk tutulup zarından ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Zarları uzaklaştırılan fındıklar öğütülerek püre haline getirilmiştir.

Üretim sırasında daha iyi bir inceltme sağlamak amacıyla katı haldeki palm yağı eritilerek sıvı hale getirilmiş ve fındık püresi, yağsız süt tozu, kakao tozu bir karıştırıcı yardımı ile karıştırılmasının ardından melanjöre aktarılmış ve yaklaşık olarak 5 saat boyunca karıştırma ve inceltme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından fındık yağı, lesitin ve PGPR eklenerek melanjör içerisinde 2 saat daha karıştırma işlemi uygulanmıştır (propolis içeren örnekler bu aşamada ilave edilmiştir). Daha sonra karışıma vanilya ilave edilerek 10 dk daha karıştırma işlemi devam ettirilmiştir. Süre sonunda kakaolu fındık kremaları steril kavanozlara dolumu gerçekleştirilmiştir.

Liyofilize W/O propolis ekstresi (35, 70, 105 ve 140 ppm) içeren kakaolu fındık kremaları için bu ekstrelerde bulunan yağ ve PGPR miktarı ve nihai kakaolu fındık kremasındaki bu bileşenlerin oranları dikkate alınarak hesaplamalar yapılmıştır.

Örnek kodu olarak kullanılan kontrol, propolis ekstresi içermeyen; KFK+35P, 35 ppm propolis içeren; KFK+70P, 70 ppm propolis ekstresi içeren; KFK+105P, 105 ppm propolis ekstresi içeren ve KFK+140P, 140 ppm propolis ekstresi içeren kakaolu fındık kreması örneklerini ifade etmektedir.

3.6.1 Renk ölçümü

Bölüm “3.4.1.1 Renk ölçümü” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.6.2 pH ölçümü

Kakaolu fındık kremalarının pH değerini belirlemek amacıyla örneklerden 10 g alınıp üzerine 90 mL kaynamış su ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra karışım kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Karışım oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Elde edilen süzöntü pH metre cihazı ile ölçümü yapılmıştır (Lanza ve diğ., 2011).

3.6.3 Viskozite

Salata sosu örneklerinin viskoziteleri rotasyonel viskozimetre kullanılarak belirlenmiştir.

3.6.4 Hızlandırılmış yağ ayrılması

Kakaolu fındık kremalarında hızlandırılmış yağ ayrılmasının belirlenmesinde Aryana ve diğ. (2003) bildirdiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Santrifüj tüplerine yaklaşık 8 g örnek konularak 20 °C sıcaklıkta 10.000 rpm’de 20 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. İşlem sonrasında örneklerden ayrılan yağ fazı miktarı belirlenmiştir. Hızlandırılmış yağ ayrılması ayrılan g yağ/100 g örnek olarak ifade edilmiştir.

3.6.5 Su aktivitesi (aw) analizi

Bölüm “3.2.4 Su aktivitesi (aw) analizi” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.6.6 Toplam fenolik madde (TFM)

Bölüm “3.3.3.1 Toplam fenolik madde” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.6.7 Antioksidan aktivite

Bölüm “3.3.3.2 Antioksidan aktivite” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.6.8 *in vitro* sindirim testleri

Bölüm “3.5.8 *in vitro* sindirim testleri” başlığı altında tanımlandığı gibi yapılmıştır.

3.6.9 Duyusal analiz

Örneklerin duyusal analizi İnönü Üniversite’sinde bulunan öğretim üyesi ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan panelistler tarafından yapılmıştır. Kakaolu fındık kremaları renk, görünüş, sürülebilirlik, lezzet, koku, ağızda hissedilen yapışkanlık, doku (pürüzlülük) ve genel beğeni özellikleri bakımından karşılaştırılmıştır. Her bir özellik için panelistler 1-5 (1: hiç beğenmedim, 2: az beğendim, 3: ne beğendim ne beğenmedim, 4: beğendim, 5: çok beğendim) arasında puan vererek değerlendirme yapmıştır. Sonuçlar örümcek ağı diyagramı kullanılarak ifade edilmiştir (Yiğit, 2017).

3.7 İstatistiksel Analizler

Analizler üç tekrar halinde gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar "ortalama $\pm$ standart sapma" şeklinde verilmiştir. Optimizasyon çalışmasında kullanılan Box-Behnken tasarımı Design Expert 13 (Stat-Ease Co., Mineapolis, ABD) programında oluşturulmuş ve sonuçlar Yanıt Yüzey Yöntemine (YYY) göre değerlendirilmiştir.

Diğer çıktıların istatistiksel açıdan değerlendirilmesi için, 'SPSS 21.0' paket programı kullanılmıştır. Sonuçlar arasındaki farkların önem düzeyi ($P<0.05$) “One-way ANOVA (Analysis of variances)” testi ve gruplar arasındaki farklılık çoklu karşılaştırma testi olan “DUNCAN” testiyle belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Ham Propolis Analizleri

Ham propoliste yapılan analizlerin sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Ham propolisin fizikokimyasal özellikleri üretiminde rol alan arıların ziyaret ettiği bitki çeşitlerine, toplandığı bölgedeki bitkilere, propolisin toplanma sezonuna ve depolama koşullarında bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir.

Çizelge 4.1 : Ham propolisin fizikokimyasal özellikleri.

	Nem (%)	Kül (%)	L	a	b	aw	Vaks (%)	Çözünür madde (%)	Çözünmez madde (%)	Balsam (%)
Ortalama	4.03	2.32	16.06	2.20	2.92	0.65	12.18	42.73	57.27	44.35
Std. sapma	0.05	0.24	0.91	0.60	0.75	0.11	1.07	0.24	0.23	0.89

4.1.1 Nem tayini

Çalışmamızda kullanılan propolisin nem içeriği 4.03 ± 0.05 olarak bulunmuştur. Bulgaristan’da yapılan bir çalışmada, 2020-2022 döneminde Bulgaristan’ın yirmi sekiz ilçesinin tamamından toplanan seksen ham propolis örneklerinin nem içeriğinin 0.98 ile 2.97 arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Tumbarski ve diğ., 2023). Hint propolisin nem içeriğinin 4.89 ile 7.37 arasında (Pant ve diğ., 2021), Anadolu propolisin 2.01 ile 4.65 arasında (Kolaylı ve diğ., 2023) değişim gösterdiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada iki farklı Kuzey İtalya propolisin nem içeriğinin ise 0.74 ile 0.69 olduğu ifade edilmiştir (Pavlovic ve diğ., 2020). Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplanan 13 propolis örneğinin nem miktarlarının ise 1.14 ile 11.58 arasında değiştiği bildirilmiştir (Keskin, 2018). Feás ve diğ. (2014) tarafından yapılan çalışmada propolisin nem içeriği 6.2 olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma kapsamında kullanılan propolisin nem miktarı literatürde yapılan çalışmalara benzer olduğu gözlemlenmiştir. Bir propolis örneğindeki nem yüzdesi depolama koşullarından etkilenmektedir (Bonvehí ve diğ., 2011).

4.1.2 Kül tayini

Çalışmamızda kullanılan propolisin kül oranı 2.32 ± 0.24 olarak bulunmuştur. Kuzey Hindistan’ın farklı coğrafi bölgelerinden toplanan 4 farklı propolisin kül içeriğinin 3.56 , 3.01 , 4.71 , 3.79 olduğu ifade edilmiştir (Pant ve diğ., 2021). Birbirini izleyen

dört yıl (2019, 2020, 2021, 2022) boyunca toplanan Portekiz propolis örneğinin (Gerês) kül içeriği sırası ile % 0.84, %0.94, %1.00 ve %0.79 olduğu bildirilmiştir (Caetano ve diğ., 2023). Bir başka çalışmada ise propolisin kül miktarı %0.4 ile 3.0 olduğu ifade edilmiştir (Vilas-Boas ve diğ., 2023). Feás ve diğ. (2014) tarafından yapılan çalışmada propolisin kül içeriği 2.5 ± 0.15 olduğu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada İspanya’da toplanan 19 farklı propolisin kül içeriğinin % 0.31 ile % 0.81 arasında olduğu ifade edilmiştir (Bonvehí ve diğ., 2011). Bu çalışma kapsamında kullanılan propolisin kül miktarının literatürde yapılan çalışmalara benzer olduğu gözlemlenmiştir

4.1.3 Renk ölçümü

Çalışmamızda kullanılan propolisin L değeri 16.06 ± 0.91 , a değeri 2.20 ± 0.60 ve b değeri 2.92 ± 0.75 olarak gözlemlenmiştir. Bulgaristan’da yapılan bir çalışmada, 2020-2022 döneminde Bulgaristan’da toplanan seksen ham propolis örneğinin L değeri 32.27 ile 59.04, a değeri 1.97 ile 11.30, b değeri 1.07 ile 26.43 arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Tumbarski ve diğ., 2023). Kuzey Hindistan’ın farklı coğrafi bölgelerinden toplanan 4 farklı propolisin L değeri 38.15 ile 41.99, a değeri 1.09 ile 2.64 ve b değeri 5.43 ile 10.20 arasında olduğu bildirilmiştir (Pant ve diğ., 2021). Bu çalışma kapsamında kullanılan propolisin L değeri yukarıda verilen çalışmalardan daha düşük, a ve b değerlerinin ise benzer olduğu gözlemlenmiştir. L değerinin daha düşük bulunmasının nedeninin ise bu çalışma kapsamında kullandığımız propolisin farklı bir ülkeye ait olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.1.4 Su aktivitesi (aw) analizi

Çalışmamızda kullanılan propolisin aw değeri 0.65 ± 0.11 olarak bulunmuştur. Kuzey Hindistan’ın farklı coğrafi bölgelerinden toplanan 4 farklı propolisin su aktivitesinin 0.73-0.81 arasında değişim gösterdiği ifade edilmiştir (Pant ve diğ., 2021). Bu çalışma kapsamında kullanılan propolisin aw değerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

4.1.5 Vaks değeri

Propolisin içerdiği balsam miktarının yüksek, vaks miktarının ise düşük olması önemli bir kalite kriteri olarak değerlendirilmektedir (Kolaylı ve diğ., 2023). Çalışmamızda kullanılan propolisin vaks miktarı 12.18 ± 1.07 olarak bulunmuştur. Kuzey Hindistan’ın farklı coğrafi bölgelerinden toplanan 4 farklı propolisin vaks içeriğinin %16.5, %22.9, %20.6, %21.30 olduğu ifade edilmiştir (Pant ve diğ., 2021). Birbirini izleyen dört yıl (2019,

2020, 2021, 2022) boyunca toplanan Portekiz propolis örneğinin (Gerês) vaks içeriğinin sırası ile %12.53, %12.56, %15.07 ve %4.17 olduğu bildirilmiştir (Caetano ve diğ., 2023). Ayrıca başka bir çalışmada kullanılan propolis vaks değerinin %13.83 ile %37.58 (Kolaylı ve diğ., 2023) olduğu ifade edilmiştir. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 13 propolis örneğinin vaks miktarlarının ise %1.60 ile %9.8 arasında değiştiği bildirilmiştir (Keskin, 2018). Feás ve diğ. (2014) tarafından yapılan çalışmada propolis vaks içeriği %10.7 olduğu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada İspanya'da toplanan 19 farklı propolis kül içeriğinin vaks içeriğinin %1.8 ile %27.7 arasında olduğu ifade edilmiştir (Bonvehí ve diğ., 2011).

4.1.6 Çözünür ve çözünmez madde miktarı

Yapılan bir çalışmada propolis çözünür ve çözünmez madde miktarının sırası ile %65.3 ve %38.4 olduğu bildirilmiştir. (Feás ve diğ., 2014). Çalışmamızda kullanılan propolis çözünür madde içeriği 42.73 ± 0.24 ve çözünmez madde içeriği ise 57.27 ± 0.23 olarak tespit edilmiştir.

4.1.7 Reçine ve Balsam miktarı

Yüksek reçine ve balsam içeriğine sahip propolis biyoaktif bileşen içeriği daha yüksek olduğu ifade edilmektedir. Çünkü propoliste bulunan biyoaktif bileşenlerin önemli çoğunluğu bu kısımda bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin çözündüğü bu kısım propolis kalitesini yansıtmaktadır. Propolisteki reçine ve balsam yüzdesi önemli bir özelliktir çünkü yüksek reçine ve balsam yüzdesi, düşük vaks ve çözünmeyen madde yüzdesi ile sonuçlanmaktadır (Bonvehí ve diğ., 2011; Kolaylı ve diğ., 2023). Propolis balsam içeriği genel olarak %45'i aştığı bildirilse de çalışma sayısı ortalama değerlerin hesaplanmasına izin vermeyecek kadar sınırlıdır (Kolaylı ve diğ., 2023). Çalışmamızda kullanılan propolis balsam içeriği 44.35 ± 0.89 olarak bulunmuştur. Kuzey Hindistan'ın farklı coğrafi bölgelerinden toplanan 4 farklı propolis balsam içeriğinin en düşüğe doğru sırası ile %40.90, %43.64, 45.90 ve %47.66 olduğu bildirilmiştir (Pant ve diğ., 2021). Birbirini izleyen dört yıl (2019, 2020, 2021, 2022) boyunca toplanan Portekiz propolis örneğinin (Gerês) balsam içeriğinin sırası ile %44.43, %55.00, %51.67 ve %48.33 olduğu bildirilmiştir (Caetano ve diğ., 2023). Farklı bölgelerden toplanan Anadolu propolisi ile ilgili yapılan çalışmada balsam miktarının %20.95 ile %54.57 arasında olduğu bildirilmiştir (Kolaylı ve diğ., 2023). İki farklı Kuzey İtalya propolisinin ise balsam miktarının %75.92 ve %54.57 olduğu ifade edilmiştir (Pavlovic ve diğ., 2020). Türkiye'nin farklı bölgelerinden

toplanan 13 propolis örneğinde en yüksek balsam miktarlarının ise %71.1 olduğu bildirilmiştir (Keskin, 2018).

4.2 Propolis Ekstraksiyon Optimizasyonu

4.2.1 W/O emülsiyonu optimizasyonu

PGPR oranı, su oranı ve bekleme süresinin etkisini incelemek üzere 17 deneme setinde oluşan Box-Behnken dizaynı oluşturulmuştur. Bu dizayna göre farklı çözücü bileşimi kullanılarak elde edilen propolis ekstrelerinin TFM miktarları çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : W/O emülsiyonu ile ekstraksiyon için uygulanan deneysel tasarım ve ölçülen TFM miktarları.

No.	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Yanıt
	PGPR oranı (A) (%)	Su oranı (B) (%)	Bekleme süresi (C) (gün)	TFM (mg GAE/g propolis)
1	7.5	20	3	82.33
2	5	20	0	83.21
3	10	20	0	82.65
4	10	20	6	86.86
5	7.5	40	0	82.63
6	10	0	3	75.75
7	5	20	6	81.99
8	7.5	20	3	83.37
9	7.5	20	3	82.43
10	10	40	3	86.68
11	5	40	3	82.73
12	7.5	0	6	74.18
13	7.5	20	3	83.15
14	7.5	0	0	73.90
15	7.5	40	6	84.36
16	7.5	20	3	84.36
17	5	0	3	74.73

Farklı oranda PGPR ve su içeren W/O emülsiyonu ve farklı ekstraksiyon süresi kullanılarak propolis ekstresinin TFM optimizasyon modellenmesinde lineer, iki faktör etkileşimli, kuadratik ve kübik model kullanım imkanları incelenmiştir. İstatistik çalışmalarında uygun model seçiminde yüksek R^2 değeri önemli bir parametredir (Karakaya, 2022). Kuadratik model diğer modellere kıyasla daha yüksek R^2 değerleri verdiği için bu model uygun görülmüştür.

Optimizasyon denemelerinden elde edilen sonuçlar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. F-değeri 146.49 olarak hesaplanmış ve bu modelin önemli

olduğunu göstermektedir. F-değerinin gürültüye bağlı olarak tesadüfen bu büyüklükte olma ihtimali %0.01'den düşüktür ve bu da modelin prosesi açıklamada önemli olduğunu göstermektedir. Lack-of-fit değeri, diğer adı ile uyumsuzluk değeri model yeterliliğinin tespitinde dikkate alınması gereken diğer bir parametredir. Uyumsuzluk değerinin standart hataya kıyasla önemsiz olması, modele dayalı yapılacak tahminlerin yeterli doğrulukta olacağını gösteren bir etmendir (Karakaya, 2022). TFM sonuçlarına ilişkin modelin uyumsuzluk değeri önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3 : TFM değerleri için elde edilen istatistiksel parametreler.

R²	0.9947
Adjusted (Düzeltilmiş) R²	0.9879
Predicted (Tahmini) R²	0.9827
Adeq Precision (Yeterli kesinlik)	37.447
Std. Dev.	0.4542
Mean	81.44
C.V % (Varyasyon katsayısı)	0.5577

Çizelge 4. 4 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstraların TFM değerleri için kuadratik terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri	
Model	271.96	9	30.22	146.49	< 0.0001	önemli
A-PGPR oranı	10.76	1	10.76	52.16	0.0002	
B-Su Oranı	179.05	1	179.05	867.98	< 0.0001	
C-Bekleme Süresi	3.14	1	3.14	15.20	0.0059	
AB	2.15	1	2.15	10.43	0.0145	
AC	7.36	1	7.36	35.69	0.0006	
BC	0.5283	1	0.5283	2.56	0.1536	
A ²	3.82	1	3.82	18.52	0.0036	
B ²	65.90	1	65.90	319.44	< 0.0001	
C ²	0.2654	1	0.2654	1.29	0.2940	
Kalıntı	1.44	7	0.2063			
Uyumsuzluk	0.1705	3	0.0568	0.1785	0.9058	önemsiz
Saf Hata	1.27	4	0.3184			
Toplam	273.40	16				

$p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

Optimizasyon denemeleri sonucunda R² 0.9947, düzeltilmiş R² 0.9879 ve tahmin R² 0.9827 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.3). R² değerinin mümkün olduğunca 1'e yakın olması istenmektedir. Elde edilen bu R² değerlerinin oldukça yüksek ve 1'e de yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca, R² her zaman düzeltilmiş ve tahmini R² değerlerinden daha

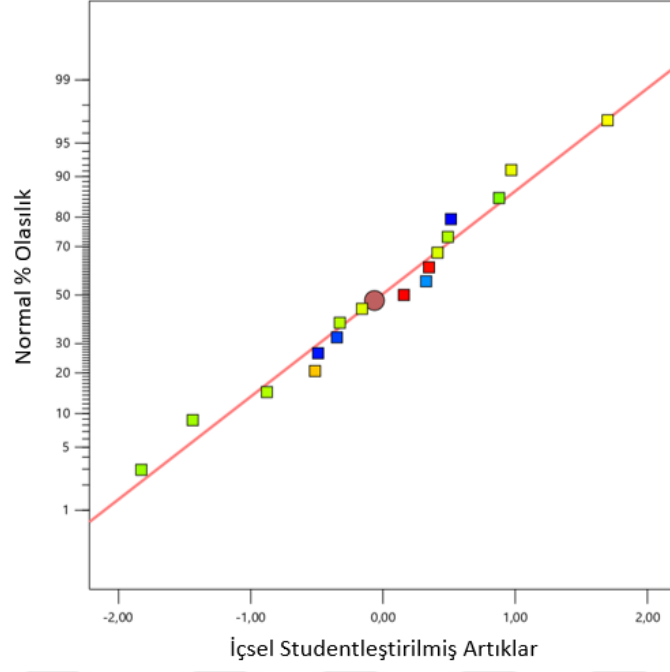
yüksektir. Tahmini R^2 ile düzeltilmiş R^2 arasındaki farkın 0.20'den küçük olması bu iki değerin birbiri ile uyumlu olduğunu ifade etmektedir (Sai ve diğ., 2023). Sonuçların kesinliğini anlamada varyasyon katsayısından faydalanılmaktadır. Düşük varyasyon katsayısı (%C.V.) yüksek kesinliğe işaret etmektedir. Varyasyon katsayısı arttıkça modelin güvenilirliği de düşmektedir. Varyasyon katsayısı %0.5577 olarak tespit edilmiştir. Modelden elde edilen anlamlı veriler sinyal olarak değerlendirilirken standart hata kaynaklı veriler ise gürültü olarak değerlendirilmektedir (Karakaya, 2022). Yeterli kesinlik (Adeq Precision) değeri sinyal/gürültü oranının hesaplanmasıyla elde edilmekte ve bu oranının 4'ten büyük olması istenmektedir (Sai ve diğ., 2023). Yeterli kesinlik değeri 37.447 olarak belirlenmiştir. Üretilen sinyal büyüklüğünün yeterli düzeyde olduğu sonucuna varılmıştır.

Varyans analizlerinin dışında modelin geçerli olması için başka çıktıların da kontrol edilmesi gerekmektedir. Bunlardan bir tanesi normal % olasılık dağılımı olup dağılımın lineer olması beklenmektedir (Karakaya, 2022). Mevcut çalışmada normal % olasılık dağılımında normal bir dağılım olduğu gözlenmiştir. Ayrıca artıklar ile tahmini değerler ile arasındaki korelasyonun iyi olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

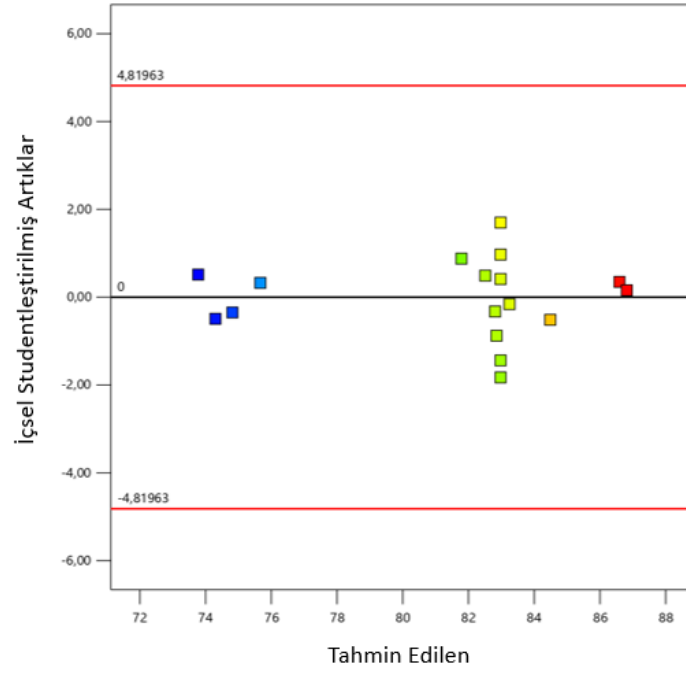
Studentleştirilmiş artıklara karşı tahmin edilen değerlerin kıyası modelin uygunluğunun kontrolünde bir diğer önemli göstergelerden biridir. Bu grafik aykırı değerlerin ve doğrusal olmayan hata varyanslarının tespitinde faydalı bir araçtır. Sıfır hattının etrafında artıkların rastgele dağılması modelin doğrusal olduğunun kabulü için yeterli kabul edilmektedir (Karakaya, 2022). Grafik incelendiğinde dağılımın belirlenen (-4.819, +4.819) sınırlar içerisinde rastlantısal dağıldığı görülmektedir (Şekil 4.2). Bu durumda, elde edilen sonuçların tahmin edilenin dışında aykırı bir sonuç bulunmadığı tespit edilmiştir.

Deneysel sonuçlar ve modelden elde edilen tahminler birbirine oldukça uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Artıkların düşük olması modelin süreci doğru bir şekilde açıkladığına kanıt olarak gösterilmektedir (Karakaya, 2022).

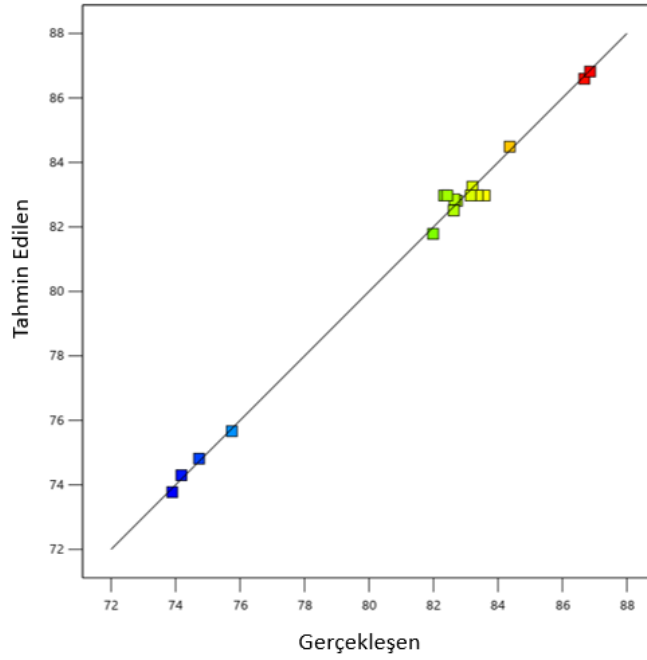
İstatistiksel değerlendirmelerle modelin yeterliliği desteklenmektedir. PGPR oranı, su oranı, bekleme süresi, PGPR oranı-su oranı, PGPR oranı-bekleme süresi, PGPR oranı² ve su oranı² terimlerinin propolisin W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM modeli için önemli olduğu sonucuna varılmıştır. TFM ifade eden model denklem 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM artıklarının normal % olasılık dağılımı.



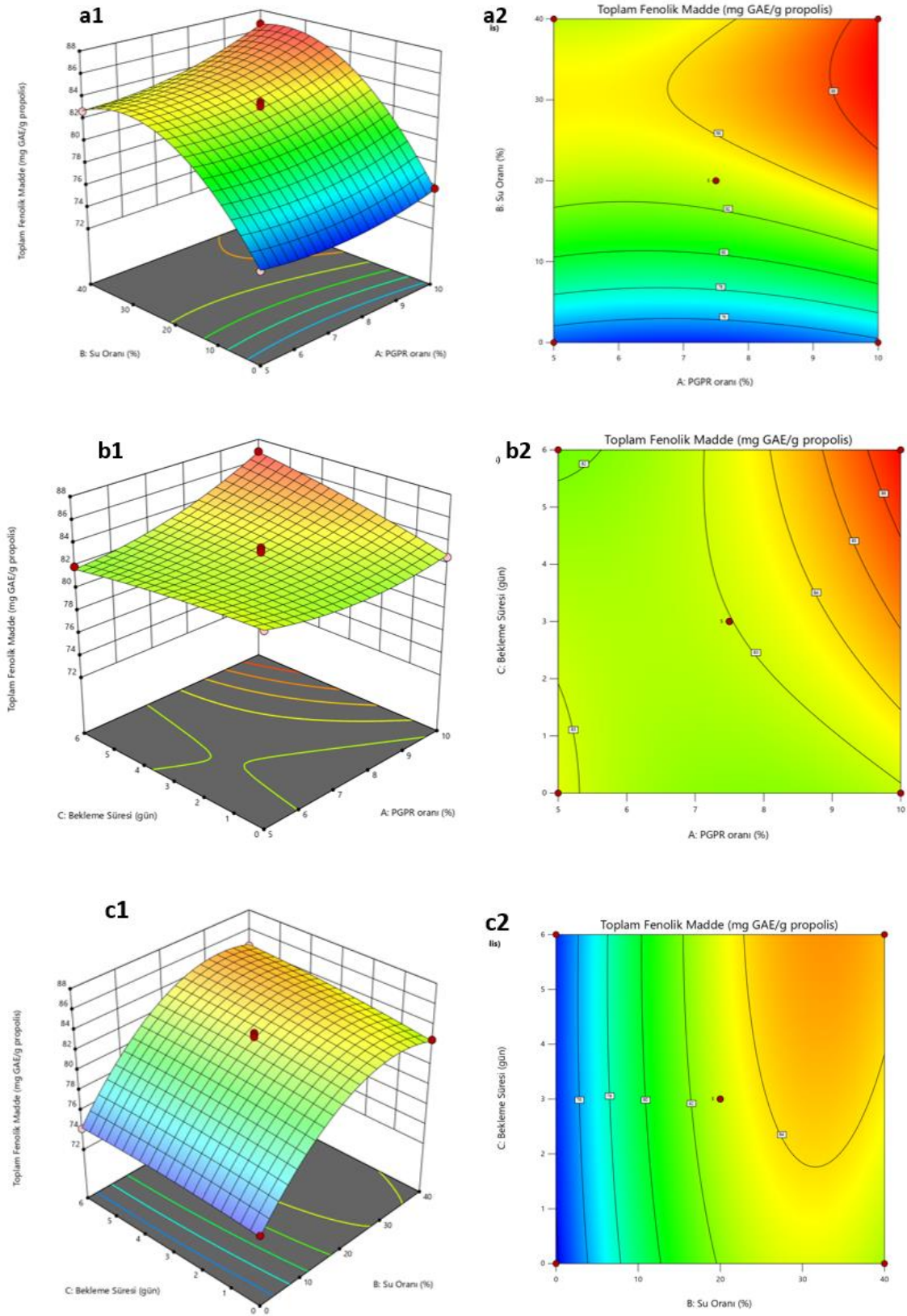
Şekil 4.2 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM’de içsel Studentleştirilmiş artıklara karşı tahmin değerleri.



Şekil 4.3 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin tahmin edilen ve gerçekleşen TFM değerleri arasındaki ilişki.

$$TFM = +82.98 + 1.16A + 4.73B + 0.6260C + 0.7333AB + 1.36AC + 0.3634BC + 0.9526A^2 - 3.96B^2 - 0.2511C^2 \quad (4.1)$$

Denklemden A, B ve C olarak gösterilen değişkenler sırasıyla PGPR oranı (%), su oranı (%) ve bekleme süresini (gün) ifade etmektedir. YYY çalışmalarında belirlenen hedef, arzu edilebilirlik (desirability) olarak adlandırılmaktadır. Asıl hedef olan maksimum üretimin sağlandığı koşullarda arzu edilebilirlik 1 veya 1'e yakın bir değerde olmaktadır. Bağımsız değişkenlerden biri olan PGPR oranı çalışmada kullanılan aralıklar içerisinde minimum olması istenirken diğer bağımsız değişkenler olan su oranı (%) ve bekleme süresi (gün) ise çalışmada kullanılan aralıklar içerisinde serbest bırakılmıştır. Bağımlı değişken (yanıt) olan TFM ise maksimum olacak şekilde modelden tahminler üretilmiştir. Bu tahminler içerisinde TFM miktarı en yüksek düzeye ulaştırması beklenen koşullar PGPR oranı %5, su oranı %29.20 ve bekleme süresi 0 gün olarak tespit edilmiştir. Elde edilen optimum koşullardaki 0 gün bekleme süresi ekstrelerin inkübatörde 24 saat 60 °C sıcaklıkta çalkalama sonrasında ekstraksiyonun oda sıcaklığında (25°C'de) devam ettiği süreyi ifade etmektedir. Belirtilen optimum koşullarda üretilen propolis ekstresinin TFM değeri 83.78 mg GAE/g propolis olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.4 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren üç boyutlu yanıt yüzeyi ve karşıt gösterim grafikleri. Su oranı ve PGPR oranı (a1 ve a2), bekleme süresi ve PGPR oranı (b1 ve b2), bekleme süresi ve su oranı (c1 ve c2) etkileşimlerinin etkisi.

4.2.1 O/W emülsiyonu optimizasyonu

Çizelge 4.5 : O/W emülsiyonu ile ekstraksiyon için uygulanan deneysel tasarım ve ölçülen TFM miktarları.

No.	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Yanıt
	Tween-80 oranı (A) (%)	Yağ oranı (B) (%)	Bekleme süresi (C) (gün)	TFM (mg GAE/g propolis)
1	10	10	0	102.86
2	7.5	10	3	98.79
3	7.5	10	3	99.27
4	10	20	3	111.54
5	7.5	0	6	93.89
6	10	10	6	104.36
7	10	0	3	96.04
8	5	0	3	80.79
9	5	20	3	99.69
10	7.5	20	6	106.97
11	5	10	0	90.12
12	7.5	0	0	87.62
13	5	10	6	90.29
14	7.5	10	3	99.39
15	7.5	20	0	110.51
16	7.5	10	3	100.31
17	7.5	10	3	99.70

Farklı oranda Tween-80 ve yağ içeren O/W emülsiyonu ve farklı ekstraksiyon süresi kullanılarak propolis ekstresinin TFM optimizasyon modellenmesinde lineer, iki faktör etkileşimli, kuadratik ve kübik model kullanım imkanları incelenmiştir. İstatistik çalışmalarında uygun model seçiminde yüksek R^2 değeri önemli bir parametredir (Karakaya, 2022). Kuadratik model diğer modellere kıyasla daha yüksek R^2 değerleri verdiğiinden bu model uygun görülmüştür.

Optimizasyon denemelerinden elde edilen sonuçlar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. F-değeri 471.07 olarak hesaplanmış ve bu modelin önemli olduğunu göstermektedir. F-değerinin gürültüye bağlı olarak tesadüfen bu büyüklükte olma ihtimali %0.01'den düşüktür ve bu da modelin prosesi açıklamada önemli olduğunu göstermektedir. Lack-of-fit değeri, diğer adı ile uyumsuzluk değeri model yeterliliğinin tespitinde dikkate alınması gereken diğer bir parametredir. Uyumsuzluk değerinin standart hataya kıyasla önemsiz olması, modele dayalı yapılacak tahminlerin yeterli doğrulukta olacağını gösteren bir etmendir (Karakaya, 2022). TFM ilişkin modelin uyumsuzluk değeri önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6 : TFM değerleri için elde edilen istatistiksel parametreler.

R²	0.9984
Adjusted (Düzeltilmiş) R²	0.9962
Predicted (Tahmini) R²	0.9911
Adeq Precision (Yeterli kesinlik)	81.7192
Std. Dev.	0.4957
Mean	98.36
C.V % (Varyasyon katsayısı)	0.504

Çizelge 4.7 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM değerleri için kuadratik terimlerinin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

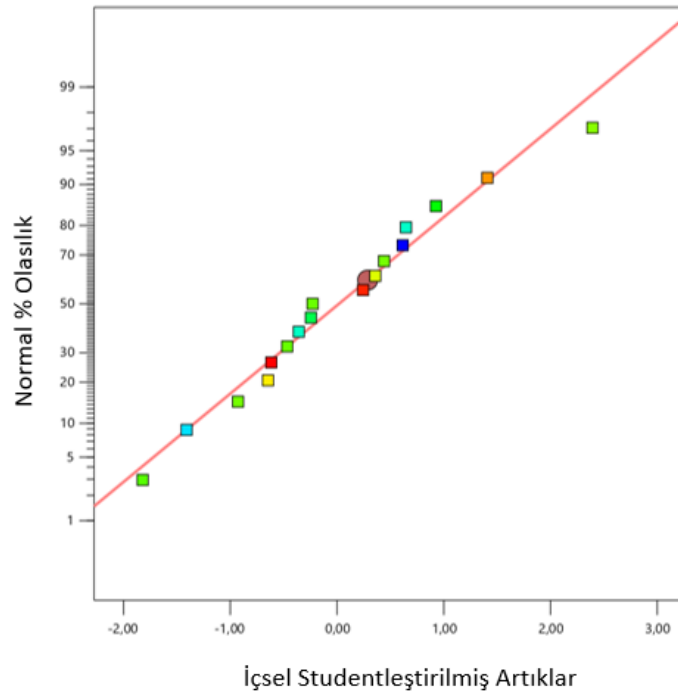
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri	
Model	1041.95	9	115.77	471.07	< 0.0001	önemli
A-Tween 80 oranı	363.41	1	363.41	1478.71	< 0.0001	
B-Yağ Oranı	618.91	1	618.91	2518.32	< 0.0001	
C-Bekleme Süresi	2.43	1	2.43	9.90	0.0162	
AB	2.91	1	2.91	11.82	0.0109	
AC	0.4464	1	0.4464	1.82	0.2197	
BC	24.01	1	24.01	97.70	< 0.0001	
A ²	29.81	1	29.81	121.29	< 0.0001	
B ²	0.1400	1	0.1400	0.5696	0.4751	
C ²	0.0221	1	0.0221	0.0899	0.7730	
Kalıntı	1.72	7	0.2458			
Uyumsuzluk	0.4552	3	0.1517	0.4798	0.7137	önemsiz
Saf Hata	1.27	4	0.3163			
Toplam	1043.67	16				

$p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

Optimizasyon denemeleri sonucunda R^2 0.9984, düzeltilmiş R^2 0.9962 ve tahmin R^2 0.9911 olarak elde edilmiştir. R^2 değerinin mümkün olduğunca 1'e yakın olması istenmektedir. Elde edilen bu R^2 değerlerinin oldukça yüksek ve 1'e de yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca, R^2 her zaman düzeltilmiş ve tahmini R^2 değerlerinden daha yüksektir. Tahmini R^2 ile düzeltilmiş R^2 arasındaki farkın 0.20'den küçük olması bu iki değer birbiri ile uyumlu olduğunu ifade etmektedir (Sai ve diğ., 2023). Sonuçların kesinliğini anlamada varyasyon katsayısından faydalanılmaktadır. Düşük varyasyon katsayısı (%C.V.) yüksek kesinliğe işaret etmektedir. Varyasyon katsayısı arttıkça modelin güvenilirliği de düşmektedir. Varyasyon katsayısı %0.504 olarak tespit edilmiştir. Modelden elde edilen anlamlı veriler sinyal olarak değerlendirilirken standart hata kaynaklı veriler ise gürültü olarak değerlendirilmektedir (Karakaya, 2022). Yeterli kesinlik (Adeq Precision) değeri sinyal/gürültü oranının hesaplanmasıyla elde edilmekte ve bu oranının

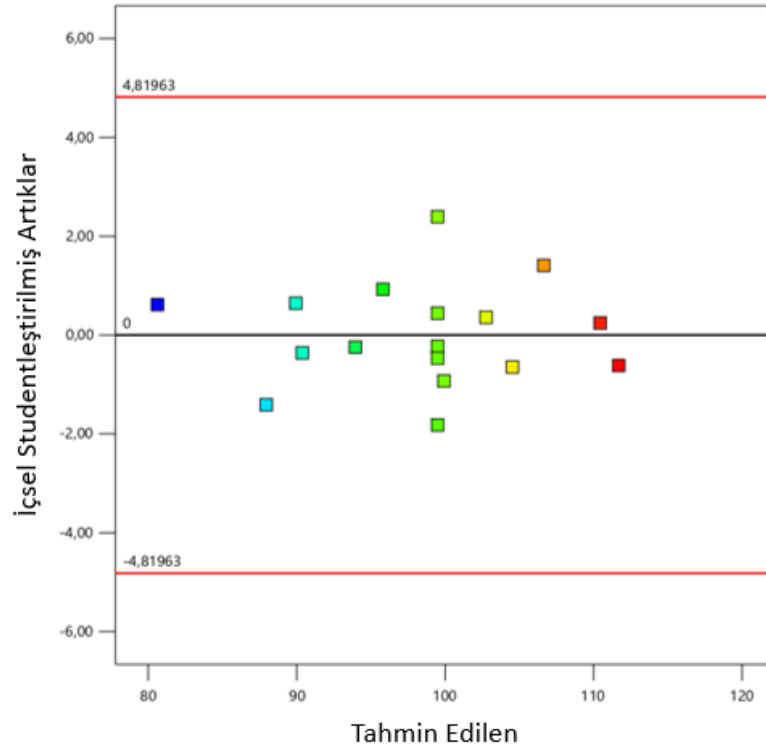
4'ten büyük olması istenmektedir (Sai ve diğ., 2023). Yeterli kesinlik değeri 81.7192 olarak belirlenmiştir. Üretilen sinyal büyüklüğünün yeterli düzeyde olduğu sonucuna varılmıştır

Varyans analizlerinin dışında modelin geçerli olması için başka çıktıların da kontrol edilmesi gerekmektedir. Bunlardan bir tanesi normal % olasılık dağılımı olup dağılımın lineer olması beklenmektedir (Karakaya, 2022). Mevcut çalışmada normal % olasılık dağılımında normal bir dağılım olduğu gözlenmiştir. Ayrıca artıklar ile tahmini değerler ile arasındaki korelasyonun iyi olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM artıklarının normal % olasılık dağılımı.

Studentleştirilmiş artıklara karşı tahmin edilen değerlerin kıyası modelin uygunluğunun kontrolünde bir diğer önemli göstergelerden biridir. Bu grafik aykırı değerlerin ve doğrusal olmayan hata varyanslarının tespitinde faydalı bir araçtır. Sıfır hattının etrafında artıkların rastgele dağılması modelin doğrusal olduğunun kabulü için yeterli kabul edilmektedir (Karakaya, 2022). Grafik incelendiğinde dağılımın belirlenen (-4.819, +4.819) sınırlar içerisinde rastlantısal dağıldığı görülmektedir (Şekil 4.6). Bu durumda, elde edilen sonuçların tahmin edilenin dışında aykırı bir sonuç bulunmadığı tespit edilmiştir.

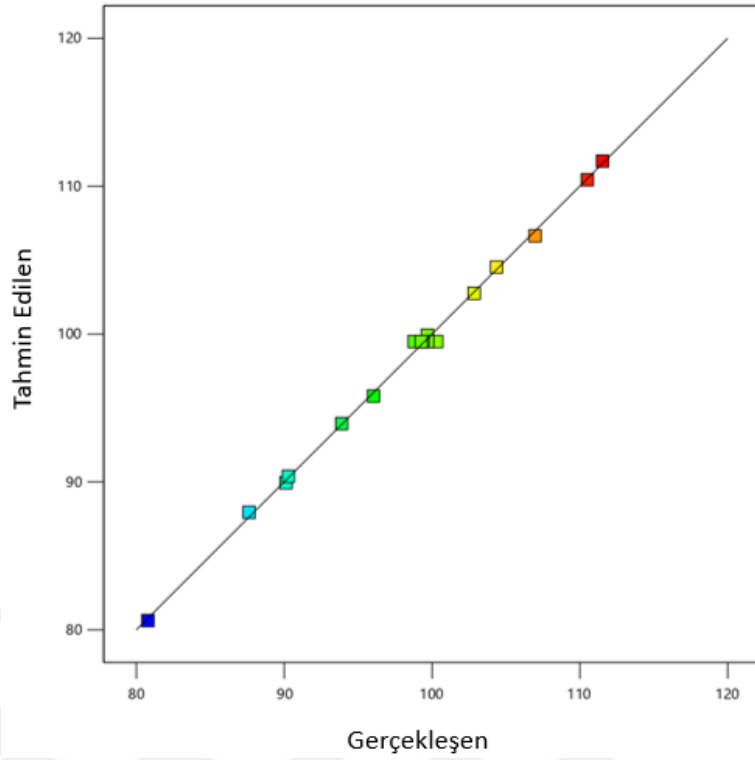


Şekil 4.6 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM’de içsel Studentleştirilmiş artıklara karşı tahmin değerleri.

Deneysel sonuçlar ve modelden elde edilen tahminler birbirine oldukça uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Artıkların düşük olması modelin süreci doğru bir şekilde açıkladığına kanıt olarak gösterilmektedir (Karakaya, 2022).

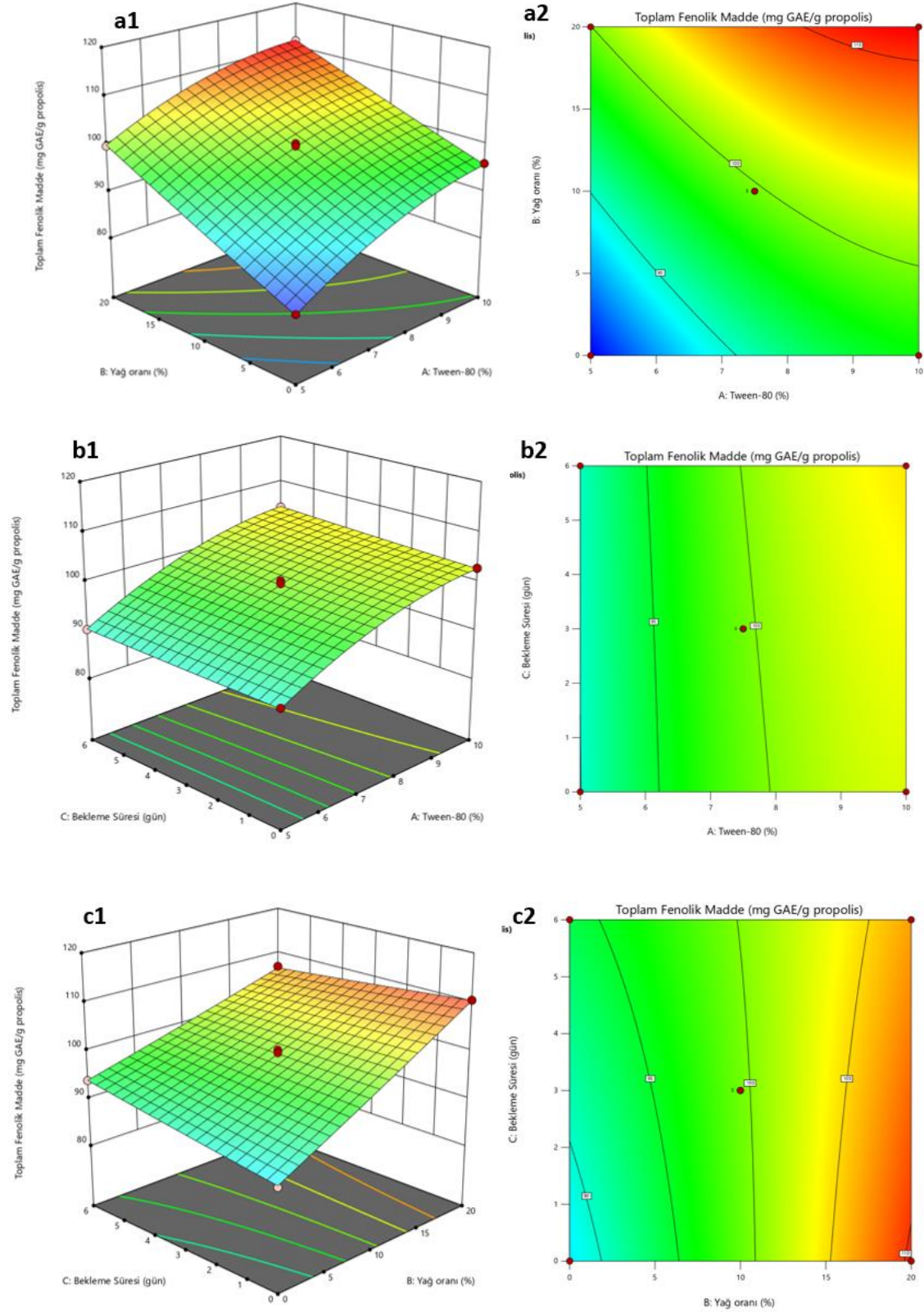
İstatistiksel değerlendirmelerle modelin yeterliliği desteklenmektedir. Tween 80 oranı, yağ oranı, bekleme süresi, Tween 80 oranı-yağ oranı, yağ oranı-bekleme süresi ve Tween oranı² terimlerinin propolisin O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM modeli için önemli olduğu sonucuna varılmıştır. TFM ifade eden model denklem 4.1’de verilmiştir.

$$TFM = +9950 + 6.74A + 8.80B + 0.5515C + 0.8523AB + 0.3341AC - 2.45BC - 2.66A^2 - 0.1823B^2 - 0.07251C^2 \quad (4.2)$$



Şekil 4.7 : O/W emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin tahmin edilen ve gerçekleşen TFM değerleri arasındaki ilişki.

Denklemden A, B ve C olarak gösterilen değişkenler sırasıyla Tween 80 oranı (%), yağ oranı (%) ve bekleme süresini (gün) ifade etmektedir. YYY çalışmalarında belirlenen hedef, arzu edilebilirlik (desirability) olarak adlandırılmaktadır. Asıl hedef olan maksimum üretimin sağlandığı koşullarda arzu edilebilirlik 1 veya 1'e yakın bir değerde olmaktadır. Bağımsız değişkenler olarak Tween-80 oranı (%), yağ oranı (%) ve bekleme süresi (gün) çalışmada kullanılan aralıklar içerisinde serbest bırakılmıştır. Bağımlı değişken (yanıt) olan TFM ise maksimum olacak şekilde modelden tahminler üretilmiştir. Bu tahminler içerisinde TFM miktarı en yüksek düzeye ulaştırması beklenen koşullar Tween 80 oranı %8.27, yağ oranı %19.90 ve bekleme süresi 0.070 gün (100.8 dk) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen optimum koşullardaki 0.070 gün (100.8 dk) bekleme süresi ekstrelerin inkübatörde 24 saat 60 °C sıcaklıkta çalkalama sonrasında ekstraksiyonun oda sıcaklığında (25 °C'de) devam ettiği süreyi ifade etmektedir. Belirtilen optimum koşullarda üretilen propolis ekstresinin TFM değeri 110.825 mg GAE/g propolis olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.8 : W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstrelerin TFM değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren üç boyutlu yanıt yüzeyi ve karşıt gösterim grafikleri. Yağ oranı ve Tween 80 oranı (a1 ve a2), bekleme süresi ve Tween 80 oranı (b1 ve b2), bekleme süresi ve yağ oranı (c1 ve c2) etkileşimlerinin etkisi.

4.2.3 Optimum koşullarda elde edilen propolis ekstralarında biyoaktivite analizleri

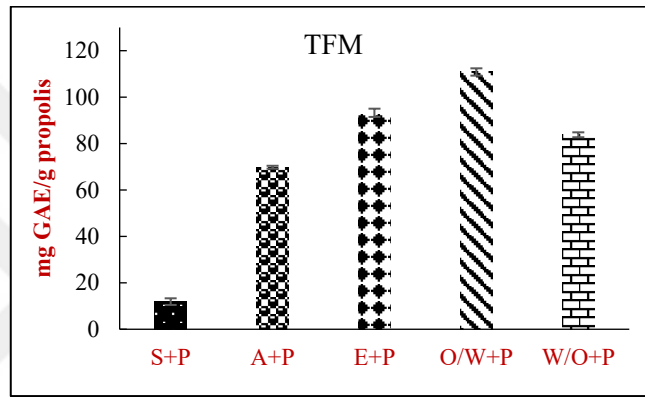
4.2.3.1 Toplam fenolik madde (TFM)

Çizelge 4.8 : Propolis ekstralarının farklı birimlerle ifade edilen TFM değerleri.

Analiz	Örnek adı	mg GAE/ g propolis	mg GAE/ g ekstrakt
TFM	S+P	11.90±1.43 ^c	*0.60±0.07 ^c
	A+P	69.81±0.62 ^d	3.48±0.03 ^d
	E+P	93.24±1.77 ^b	*4.68±0.09 ^b
	O/W+P	110.83±1.58 ^a	5.52±0.06 ^a
	W/O +P	83.78±1.06 ^c	4.24±0.05 ^c

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

*Çizelgede mg GAE/ g ekstrakt ile ifade edilen değerlerde E+P ve S+P ekstralarında g ekstrakt ifadesi yerine mL ekstrakt cinsinden değerler yazılmıştır.



Şekil 4.9 : Propolis ekstralarının TFM değerleri.

Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen propolis ekstralarının TFM içeriği S+P için 11.90±1.43 mg GAE/g propolis, A+P için 69.81±0.62 mg GAE/g propolis, E+P için 93.24±1.77 mg GAE/g propolis, O/W+P için 110.83±1.58 mg GAE/g propolis ve W/O+P için 83.78±1.06 mg GAE/g propolis olarak bulunmuştur. Örneklerin TFM değerleri arasında önemli bir fark olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). En yüksek TFM değeri O/W+P (110.83±1.58 mg GAE/g propolis) ekstresinde bulunurken en düşük TFM değeri S+P (11.90±1.43 mg GAE/g propolis) ekstresinde olduğu gözlemlenmiştir. W/O+P örneğinin S+P ve A+P örneklerinden daha yüksek, E+P ve O/W+P örneklerinden ise daha düşük TFM değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca W/O+P örneğinin TFM içeriğinin E+P örneğinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Elde edilen bu veri çalışmamız için büyük önem arz etmektedir. Çünkü literatürde propolis ekstresi elde etmek için çözücü olarak sıklıkla %70'lik etanol tercih edilmektedir. Sıklıkla tercih edilmesinin nedeni ise hem diğer organik çözücülere kıyasla tüketiminde daha az toksik etki oluşturması hem de su ve bitkisel yağlar ile elde edilen ekstralara kıyasla daha yüksek oranda TFM içeriğine sahip olmasıdır.

Khalily (2019), tarafından yapılan çalışmada farklı oranlarda su (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) kullanılarak elde edilen Niğde propolis ekstrelerinin TFM değeri sırası ile 72.22 ± 0.62 , 74.37 ± 1.13 , 76.63 ± 0.50 mg GAE/g olduğu bildirilmiştir. Özdemir (2018), tarafından yapılan çalışmada Türkiye’de toplanan su ile elde edilen ticari propolis ekstraktlarının TFM 1.45-22.69 mg GAE/mL ekstrakt arasında olduğu ifade edilmiştir. Litaretürde çözücü olarak su kullanılarak yapılan diğer çalışmalarda elde edilen ekstrelerin TFM değeri Trabzon propolisi 19.67 ± 0.29 mg GAE/g propolis (Çakıroğlu, 2010), Kayseri propolisi 89.42 mg GAE/100 g (Şahin, 2019), 1.65 mg GAE/100 g propolis (Bakkaloğlu, 2020) ve 0.07-0.22 mg GAE/g (Keskin, 2018) olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında elde edilen su ekstresinin TFM içeriğinin (11.90 ± 1.43 mg GAE/g propolis) literatürdeki bazı çalışmalara göre yüksek bazılarına göre ise düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Farklı bitkisel yağlar kullanılarak elde edilen propolis ekstrelerinin TFM içeriğinin zeytin yağı 63.52 ± 3.46 , fındık yağı 59.10 ± 2.93 ve ayçiçek yağı 55.35 ± 3.50 mg GAE / g propolis) olduğu bildirilmiştir (Karakaş, 2012). Farklı özellikte zeytin yağları kullanılarak hazırlanan Kayseri propolis ekstrelerinin TFM içeriği ise rafine için 462.03-1650.98, soğuk sıkım için 633.76-2064.74 ve riviera için 725.61-1780.49 mg GAE/100 g aralığında olduğu ifade edilmiştir (Şahin, 2019). Özdemir (2018), tarafından yapılan çalışmada Türkiye’de toplanan ticari zeytin yağı ile elde edilen propolis ekstraktlarının TFM içeriğinin 1178.24 mg GAE/ml ekstrakt olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında elde edilen ayçiçek yağı ekstresinin TFM içeriğinin (69.81 ± 0.62 mg GAE/g propolis) literatürdeki çalışmalara kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Literatürdeki çalışmalarda propolis ekstrelerinin elde edilmesinde çözücü olarak su ve bitkisel yağların yanı sıra organik çözücüler de kullanılmaktadır. Organik çözücüler içerisinde ise en çok %70’lik etanol tercih edilmektedir. Khalily (2019), tarafından Niğde propolisi kullanılarak yapılan çalışmada %70 etanol ile farklı propolis/etanol oranları (1/5, 1/10, 1/20 g/mL) kullanılarak elde edilen propolis ekstrelerinin TFM değerinin sırası ile 590.55 ± 2.36 , 609.44 ± 3.93 , 647.24 ± 2.36 mg GAE/g olduğu bildirilmiştir. Kullanılan çözücü miktarı arttıkça TFM değerinin arttığı ve en yüksek TFM içeriğine sahip örneğin 1/20 oran grubunda olduğu ifade edilmiştir. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda %70’lik etanol kullanılarak elde edilen ekstrelerin TFM içerikleri 48.35 mg GAE/100 g propolis (Bakkaloğlu, 2020), Trabzon propolisi 122.67 ± 6.37 mg GAE/g propolis (Çakıroğlu, 2010), kahverengi propolis 55.74 ± 0.48 , yeşil propolis 90.55 ± 1.52 , kırmızı propolis 91.32 ± 0.49 mg GAE/g propolis (Andrade ve diğ., 2017), 314 mg GAE/g ekstrakt (Rivera-Yañez ve diğ.,

2018), 77.53±13.03 mg GAE/g ekstrakt (Siripatrawan ve diğ., 2013), 2.778±0.30 mg GAE/g (Ceylan ve Basturk, 2022) ve 200-340 mg GAE/g aralığında (Bonvehí ve Gutiérrez, 2011) olduğu bildirilmiştir. Özdemir (2018), tarafından yapılan çalışmada Türkiye’de toplanan ticari etanolik propolis ekstraktlarının TFM içeriğinin 75.90-107.06 mg GAE/ml ekstrakt arasında olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında elde edilen %70 etanol ekstresinin TFM içeriğinin (93.24±1.77 mg GAE/g propolis) literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında bazı çalışmalara göre yüksek bazılarına göre ise düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Kubiliene ve diğ. (2015) tarafından yapılan çalışmada su, zeytin yağı ve %70 etanol kullanılarak elde edilen propolis ekstraktlarının TFM içeriğinin sırasıyla 1.6±0.4 mg/mL GAE, 0.5±0.2 mg/mL GAE ve %70 etanol 12.7±1.2 mg/mL GAE olduğu ifade edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda en yüksek TFM içeriğine sahip ekstrenin %70 etanol ile elde edilen ekstrede olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Literatürdeki veriler incelendiğinde propolislerin toplandığı coğrafi konum, iklim ve bitki örtüsü gibi etmenlerden dolayı TFM içeriğinin farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda aynı propolis türü kullanılarak elde edilen ekstraktlarda da kullanılan çözücülere bağlı olarak TFM içeriğinin değiştiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada da aynı propolisten farklı çözücüler kullanılarak ekstraktlar elde edilmiş olup bu ekstraktların TFM içeriğinin farklı olduğu gözlemlenmiştir. Söz konusu durumun temel nedeninin çalışmada kullanılan çözücülerin polaritelerinin farklılığından ve buna bağlı olarak propolisi çözme oranlarının değişkenliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca literatürdeki çalışmalar ile bu çalışma sonucu elde edilen TFM bulguları karşılaştırıldığında da bazı farklılıklar olduğu görülmektedir. Söz konusu durumun propolis ekstraktlarının TFM içeriğinin ekstraksiyonda kullanılan çözücü dışında uygulanan yöntem, sıcaklık ve süre gibi parametrelerden etkilenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.3.2 Antioksidan aktivite

ABTS

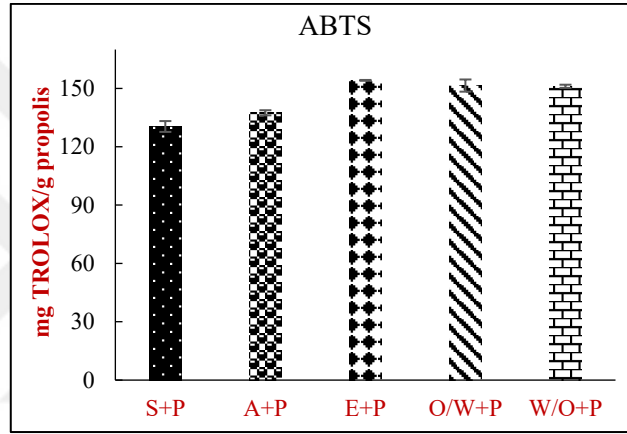
Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen propolis ekstraktlarının ABTS içeriği S+P örneği için 130.43±2.79 mg Trolox/g propolis, A+P örneği için 137.47±1.32 mg Trolox/g propolis, E+P örneği için 154.15±0.21 mg Trolox/g propolis, O/W+P örneği için 151.47±3.13 mg Trolox/g propolis ve W/O+P örneği için 151.10±0.87 mg Trolox/g propolis olarak tespit edilmiştir. Örnekler içerisinde W/O+P, O/W+P ve E+P örnekleri arasında önemli farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir ($P<0.05$). S+P ekstresinin ABTS değerinin

diğer örneklere kıyasla en düşük olduğu tespit edilmiştir. A+P ekstresinin ise S+P örneğine kıyasla daha yüksek ancak W/O+P, O/W+P ve E+P örneklerine kıyasla ise daha düşük ABTS değerine sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 : Propolis ekstrelerinin farklı birimlerle ifade edilen ABTS değerleri.

Analiz	Örnek adı	mg Trolox/ g propolis	μM Trolox / g propolis	μM Trolox / g ekstrakt	% İnhibisyon
ABTS	S+P	130.43 $\pm$ 2.79 ^c	521.12 $\pm$ 11.15 ^c	*28.18 $\pm$ 0.56 ^c	75.93 $\pm$ 2.72 ^c
	A+P	137.47 $\pm$ 1.32 ^b	549.24 $\pm$ 5.26 ^b	27.59 $\pm$ 0.26 ^b	87.77 $\pm$ 1.61 ^b
	E+P	154.15 $\pm$ 0.21 ^a	615.88 $\pm$ 0.86 ^a	*30.94 $\pm$ 0.04 ^a	97.89 $\pm$ 0.10 ^a
	O/W+P	151.47 $\pm$ 3.13 ^a	605.18 $\pm$ 12.49 ^a	30.40 $\pm$ 0.63 ^a	97.74 $\pm$ 0.29 ^a
	W/O +P	151.10 $\pm$ 0.87 ^a	603.72 $\pm$ 3.49 ^a	30.33 $\pm$ 0.18 ^a	97.69 $\pm$ 0.11 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$). *Çizelgede μM Trolox/g ekstrakt ile ifade edilen değerlerde E+P ve S+P ekstrelerinde g ekstrakt ifadesi yerine ml ekstrakt cinsinden değerler yazılmıştır.



Şekil 4.10 : Propolis ekstrelerinin ABTS değerleri.

Khalily (2019), tarafından Niğde propolisi kullanılarak su, zeytin yağı ve %70 etanol kullanılarak yapılan çalışmada ABTS değerleri su ekstresinde 156.12 $\pm$ 15.28 ile 276.70 $\pm$ 22.92 μM trolox/g aralığında, zeytin yağı ekstresinde 569.88 $\pm$ 11.17 ile 609.94 $\pm$ 4.65 μM trolox/g aralığında ve %70 etanol ekstresinde 621.11 $\pm$ 0.93 ile 930.38 $\pm$ 0.93 μM trolox/g aralığında olduğu bildirilmiştir. Elde edilen bu sonuçlarda %70 etanol kullanılarak elde edilen ekstrenin en yüksek ABTS değerine sahip olduğu ifade edilmektedir. Çalışmamızda da benzer sonuç elde edilmiştir.

Bir başka çalışmada, propilen glikol ve %70 etanol kullanılarak elde edilen propolis ekstrelerinin ABTS değerinin sırası ile 420–940 μmol Trolox/g ve 560–1.430 μmol Trolox/g olduğu ifade edilmiştir. Propilen glikole kıyasla %70 etanol ile elde edilen ekstrelerin ABTS değerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Bonvehí ve diğ., 2011).

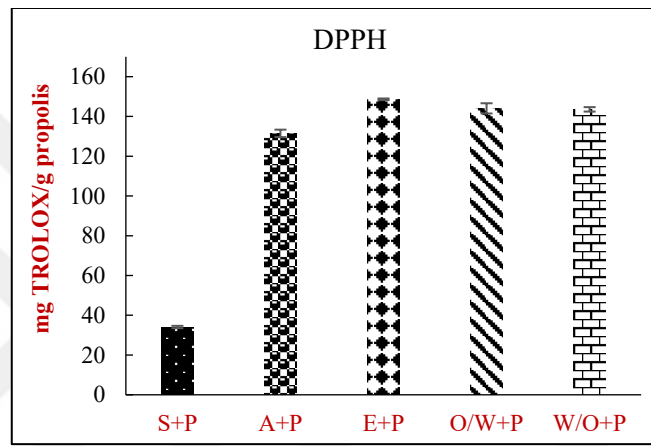
DPPH

Çizelge 4.10 : Propolis ekstrelerinin farklı birimlerle ifade edilen DPPH değerleri.

Analiz	Örnek adı	mg Trolox/g propolis	µM Trolox/g propolis	µM Trolox/g ekstrakt	%İnhibisyon
DPPH	S+P	34.09±0.60 ^d	136.20±2.40 ^d	*6.84±0.12 ^d	21.53±0.94 ^d
	A+P	131.48±1.87 ^c	525.31±7.48 ^c	26.39±0.38 ^c	88.21±0.96 ^c
	E+P	148.62±0.42 ^a	593.79±1.69 ^a	*29.83±0.09 ^a	94.98±0.26 ^a
	O/W+P	144.06±2.58 ^b	575.55±10.30 ^b	28.91±0.52 ^b	93.80±0.29 ^b
	W/O +P	143.56±1.11 ^b	573.59±4.45 ^b	28.81±0.22 ^b	93.61±0.29 ^b

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

*Çizelgede µM Trolox/g ekstrakt ile ifade edilen değerlerde E+P ve S+P ekstrelerinde g ekstrakt ifadesi yerine ml ekstrakt cinsinden değerler yazılmıştır.



Şekil 4.11 : Propolis ekstrelerinin DPPH değerleri.

Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen propolis ekstrelerinin DPPH içeriği S+P örneği için 34.09±0.60 mg Trolox/g propolis, A+P örneği için 131.48±1.87 mg Trolox/g propolis, E+P örneği için 148.62±0.42 mg Trolox/g propolis, O/W+P örneği için 144.06±2.58 mg Trolox/g propolis ve W/O+P örneği için 143.56±1.11 Trolox/g propolis olarak tespit edilmiştir. En yüksek DPPH değeri E+P (148.62±0.42 mg Trolox/g propolis) ekstresinde bulunurken en düşük DPPH değerinin S+P (34.09±0.60 mg Trolox/g propolis) ekstresinde olduğu gözlemlenmiştir. W/O+P ve O/W+P örnekleri arasında ise anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Ayrıca bu örneklerin E+P örneğinden daha düşük ancak S+P ve A+P örneklerine kıyasla ise daha yüksek DPPH değerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

Literatür incelendiğinde propolis ekstresi elde edilirken çözücü olarak etanol, su ve bitkisel yağ dışında başka çözücüler de kullanılmaktadır. Bu çözücüler kullanılarak elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivitelerine dair birkaç örnek aşağıda özetlenmiştir.

Baştürk ve Yavaş (2024) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'nin 16 ilinden toplanan propolis örneklerinin metanolik ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. elde edilen sonuçlarda, 13 propolis örneğinde DPPH inhibisyonu %28.1-%92.5 aralığında bulunduğu ifade edilmiştir. ABTS sonuçlarının ise bir örnek hariç diğer propolis örneklerinde 262-1370 µmol trolks/g aralığında bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmamız kapsamında elde edilen ekstrelerin DPPH inhibisyonu %21.53-%94.98 aralığında ve ABTS sonuçları ise 136.20-593.79 µmol trolks/g olarak bulunmuştur. Söz konusu çalışma ile farklı sonuçlar elde etmemizin temel nedeninin kullanılan çözücü farklılığı olduğu düşünülmektedir.

Propolisin antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesinde aynı yöntemler kullanılmış olmasına rağmen elde edilen sonuçların farklılık göstermesi; propolisin türü, toplandığı bölgenin coğrafi konumu, iklim koşulları ve bitki örtüsü gibi değişkenlere bağlıdır. Aynı çözücü (etanol) kullanılarak yapılan değerlendirmelerde ise, kullanılan yöntemler ve propolisin türüne bağlı olarak sonuçlarda farklılıklar tespit edilmiştir.

4.2.3.3 Fenolik bileşim

S+P, A+P, E+P, O/W+P ve W/O+P ekstrelerinin fenolik bileşim analizi sonucu elde edilen veriler çizelge 4.11'da verilmiştir.

Propolisin fenolik bileşimi arı ırkına, mevsime, iklim ve coğrafi koşullara, ekstraksiyon yöntemine ve ekstraksiyonda kullanılan çözücüye bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir.

Vanilik asit sadece W/O +P ekstresinde tespit edilmiş olup neohesperidin ve eskulin hidrat ise sadece O/W+P ekstresinde tespit edilmiştir. Sinapik asit, 3-hidroksibenzoik asit (3-HBA), apigenin 7-glukuronid ve luteolin-7-O-glukuronid sadece S+P ekstresinde tespit edilmiştir. Sadece E+P ekstresinde tespit edilen fenolik bileşikler ise vanilin, rutin hidrat M-OH₂, isokuersitrin (kuersetin 3-glucosid), narsisin (Narsisosid, İzohamnetin 3-rutinosid), kuersetin 3-rutinosit 7-glukosit, nikotiflorin ve astragalindir.

Elde edilen bütün propolis ekstrelerinde 4-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, 3,4-dihidroksibenzaldehit, kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, krisin, apigenin, asasetin, genkwanin, luteolin, diosmetin, galangin, kuersetin, izorhamnetin, kaempferol ve naringenin fenolik bileşikler tespit edilmiş olup örnekler arasında istatistiksel olarak önemli farklılığın olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Bu fenolik bileşikler içerisinde protokateşik asit, 3,4-

dihidroksibenzaldehit, kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, krisin, asasetin ve genkwanin diğer ekstrelelere kıyasla en yüksek oranda O/W+P örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Apigenin, luteolin, galangin, kuersetin, izorharmnetin, kaempferol ve naringenin ise en yüksek oranda W/O+P örneğinde tespit edilmiştir. Diosmetinin ise en yüksek oranda A+P örneğinde olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.11 : Propolis ekstralarının fenolik bileşim profili.

Fenolik bileşik adı	Örnek Adı	Ortalama $\pm$ std. sapma
4-Hidroksibenzoik asit	S+P	3590.21 $\pm$ 815.70 ^a
	A+P	512.10 $\pm$ 100.15 ^d
	E+P	1038.64 $\pm$ 109.01 ^d
	O/W+P	1797.83 $\pm$ 17.92 ^c
	W/O+P	2818.17 $\pm$ 38.81 ^b
3-hidroksibenzoik asit (3-HBA)	S+P	662.20 $\pm$ 26.00 ^a
	A+P	0.00
	E+P	0.00
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Protokatekuik asit (3,4-Dihidroksibenzoik asit)	S+P	3524.86 $\pm$ 81.25 ^a
	A+P	323.95 $\pm$ 16.42 ^c
	E+P	1379.46 $\pm$ 49.13 ^d
	O/W+P	1622.58 $\pm$ 45.00 ^c
	W/O+P	2043.69 $\pm$ 93.65 ^b
3,4-dihidroksibenzaldehit (Protokatekuik aldehit)	S+P	4685.15 $\pm$ 176.52 ^c
	A+P	1056.35 $\pm$ 214.77 ^c
	E+P	2167.72 $\pm$ 139.03 ^d
	O/W+P	7398.16 $\pm$ 311.26 ^a
	W/O+P	5086.22 $\pm$ 23.52 ^b
Vanilik asit	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	0.00
	O/W+P	0.00
	W/O+P	814.07 $\pm$ 100.82 ^a
Vanilin	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	5026.05 $\pm$ 323.87 ^a
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Kumarik asit (trans-3-hidroksisinamik asit)	S+P	45380.42 $\pm$ 295.38 ^c
	A+P	40618.95 $\pm$ 1281.64 ^d
	E+P	29292.49 $\pm$ 896.38 ^c
	O/W+P	75996.72 $\pm$ 217.52 ^a
	W/O+P	62340.60 $\pm$ 586.75 ^b

Çizelge 4.11 (devam) : Propolis ekstralarının fenolik bileşim profili.

Fenolik bileşik adı	Örnek Adı	Ortalama ± std. sapma
Kafeik asit fenil ester (CAPE)	S+P	0.00 ^d
	A+P	29212.98±1098.81 ^a
	E+P	28480.65±2126.08 ^a
	O/W+P	15293.67±729.14 ^c
	W/O+P	24857.10±453.28 ^b
Ferulik asit	S+P	18738.79±461.92 ^{cd}
	A+P	22014.72±4510.10 ^c
	E+P	15184.76±2231.47 ^d
	O/W+P	74558.80±310.03 ^a
	W/O+P	30671.23±3174.78 ^b
Sinapik asit	S+P	41.37±9.17 ^a
	A+P	0.00
	E+P	0.00
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Klorojenik asit	S+P	637.92±161.87 ^a
	A+P	0.00 ^c
	E+P	553.81±98.76 ^a
	O/W+P	21.91±6.90 ^c
	W/O+P	315.43±31.31 ^b
Kuinik asit	S+P	3141.79±463.93 ^a
	A+P	0.00 ^c
	E+P	1243.10±26.84 ^b
	O/W+P	3329.81±645.06 ^a
	W/O+P	3711.75±116.69 ^a
Krisin (5,7-Dihidroksi-2-fenil-4H-kromen-4-on)	S+P	873.78±6.08 ^d
	A+P	19413.31±581.39 ^b
	E+P	14618.90±288.47 ^c
	O/W+P	20732.68±974.88 ^a
	W/O+P	20676.42±972.68 ^a
Apigenin (5,7-Dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-4H-kromen-4-on)	S+P	559.70±94.57 ^c
	A+P	16065.43±1227.62 ^b
	E+P	10737.67±687.65 ^d
	O/W+P	13656.42±755.44 ^c
	W/O+P	21806.54±371.18 ^a
Acacetin (5,7-Dihidroksi-2-(4-metoksifenil)-4H-kromen-4-on)	S+P	833.51±160.41 ^d
	A+P	13083.41±319.73 ^a
	E+P	10478.03±194.10 ^c
	O/W+P	12524.20±279.76 ^b
	W/O+P	12007.70±474.84 ^b
Apigenin 7-glukuronid	S+P	17.22±4.82 ^a
	A+P	0.00
	E+P	0.00
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Genkwanin (4',5-Dihidroksi-7-metoksiflavon, Apigenin 7-O-metil eter)	S+P	789.76±209.89 ^d
	A+P	13235.93±776.03 ^a
	E+P	10252.34±773.05 ^c
	O/W+P	12527.41±279.94 ^{ab}
	W/O+P	12010.57±475.15 ^b

Çizelge 4.11 (devam) : Propolis ekstralarının fenolik bileşim profili.

Fenolik bileşik adı	Örnek Adı	Ortalama ± std. sapma
Rutin hidrat M-OH ₂	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	1536.16±283.87 ^a
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Luteolin	S+P	344.44±55.00 ^d
	A+P	1973.63±315.99 ^c
	E+P	2296.71±164.88 ^c
	O/W+P	3348.91±323.36 ^b
	W/O+P	5025.32±273.51 ^a
Luteolin-7-O-glukuronid (Luteolin-7-O-β-D-glukuronid)	S+P	32.53±10.27 ^a
	A+P	0.00
	E+P	0.00
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Diosmetin (Luteolin 4'-metil eter)	S+P	1685.36±144.02 ^c
	A+P	67705.15±8243.48 ^b
	E+P	38280.53±1769.02 ^d
	O/W+P	53688.22±3893.27 ^c
	W/O+P	84850.53±1100.32 ^a
Galangin (3,5,7-Trihidroksi-2-fenil-4H-kromen-4-on)	S+P	0.00 ^d
	A+P	58692.26±1824.67 ^a
	E+P	48724.37±3346.19 ^b
	O/W+P	43809.64±284.09 ^c
	W/O+P	49568.53±1135.00 ^b
Kuersetin	S+P	420.00±62.80 ^e
	A+P	6523.46±1090.26 ^b
	E+P	5186.90±765.23 ^c
	O/W+P	3286.55±332.25 ^d
	W/O+P	8260.38±200.74 ^a
İsokuersitrin (Kuersetin 3-glukozit)	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	696.63±102.08 ^a
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Narcissin (Narcissoside, Isorhamnetin 3-rutinoside)	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	685.32±111.91 ^a
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Kuersetin 3-rutinosit 7-glukozit	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	514.19±101.87 ^a
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
İzorhamnetin (Kuersetin 3'-metil eter)	S+P	3455.50 ± 362.89 ^{cd}
	A+P	4869.09 ± 559.14 ^b
	E+P	2950.83 ± 358.46 ^d
	O/W+P	4036.06 ± 163.74 ^{bc}
	W/O+P	7789.69 ± 899.96 ^a

Çizelge 4.11 (devam) : Propolis ekstralarının fenolik bileşim profili.

Fenolik bileşik adı	Örnek Adı	Ortalama ± std. sapma
Kaempferol	S+P	158.95±32.30 ^d
	A+P	18153.23±1483.84 ^b
	E+P	12325.48±372.70 ^c
	O/W+P	12940.19±824.55 ^c
	W/O+P	19871.76±996.44 ^a
Afzelin (Kaempferol 3-ramnosit)	S+P	73.65±11.13 ^b
	A+P	0.00 ^c
	E+P	336.71±39.86 ^a
	O/W+P	0.00 ^c
	W/O+P	0.00 ^c
Kaempferit	S+P	0.00 ^b
	A+P	0.00 ^b
	E+P	17909.80±1740.53 ^a
	O/W+P	1252.09±417.51 ^b
	W/O+P	1003.76±80.12 ^b
Nikotiflorin (Kaempferol 3-rutinosit, Kaempferol 3-O-β-rutinosit)	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	259.32±63.44 ^a
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Astragalin (Kaempferol 3-glukozit)	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	476.06±174.33 ^a
	O/W+P	0.00
	W/O+P	0.00
Mirisetin	S+P	0.00 ^d
	A+P	0.00 ^d
	E+P	41.86±3.71 ^c
	O/W+P	62.68±3.77 ^b
	W/O+P	109.71±3.34 ^a
Naringenin	S+P	27688.16±381.08 ^c
	A+P	181862.43±5855.79 ^c
	E+P	57880.36±3363.69 ^d
	O/W+P	204771.40±8324.43 ^b
	W/O+P	236396.39±3741.20 ^a
Neohesperidin	S+P	0.00
	A+P	0.00
	E+P	0.00
	O/W+P	1526.38±130.61 ^a
	W/O+P	0.00
Ellagik asit	S+P	772.56±11.24 ^b
	A+P	0.00 ^c
	E+P	955.06±8.09 ^a
	O/W+P	330.36±86.01 ^d
	W/O+P	563.42±30.45 ^c
Esculin hidrat	S+P	0.00 ^b
	A+P	0.00 ^b
	E+P	26.47±5.19 ^a
	O/W+P	0.00 ^b
	W/O+P	0.00 ^b

Çizelge 4.11 (devam) : Propolis ekstrelerinin fenolik bileşim profili.

Fenolik bileşik adı	Örnek Adı	Ortalama $\pm$ std. sapma
Pinokembrin	S+P	2719.04 $\pm$ 29.44 ^d
	A+P	32197.83 $\pm$ 858.31 ^a
	E+P	0.00 ^e
	O/W+P	11845.74 $\pm$ 800.38 ^c
	W/O+P	14860.15 $\pm$ 602.73 ^b
Kafeik asit	S+P	254043.48 $\pm$ 8498.91 ^c
	A+P	43657.15 $\pm$ 4582.23 ^d
	E+P	47537.93 $\pm$ 451.40 ^d
	O/W+P	396313.09 $\pm$ 7597.70 ^a
	W/O+P	266593.11 $\pm$ 5872.90 ^b

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).
*Çizelgede verilen fenolik bileşikler S+P ve E+P ekstrelerinde ng/ml cinsinden; A+P, O/W+P ve W/O+P ekstrelerinde ise ng/g cinsinden ifade edilmiştir.

Kafeik asit fenil ester (CAPE) su ekstresinde; klorojenik asit, kuinik asit ve ellagik asit A+P ekstresinde; pinokembrin E+P ekstresinde tespit edilememiştir.

Çakiroğlu (2017) tarafından yapılan çalışmada; Trabzon, Erzurum, Zonguldak ve Adıyaman illerinde toplanan propolisinin sulu ve etanollü ekstraktlarında 3,4-di-O-kafeoilkuinik asit, 3,5-di-O-kafeoilkuinik asit, 4,5-di-O-kafeoilkuinik asit, 3,4,5-tri-O-kafeoilkuinik asit, klorojenik asit, kafeik asit, kafeik asit fenetil ester, apigenin, mirisetin, kaempferol, kuersetin, galangin, krisin, naringin, transsinnamik asit, pinokembrin ve naringenin olmak üzere toplam 17 fenolik bileşik taranmıştır. Elde edilen sonuçlarda sulu ekstraktın yüksek miktarda kafeik asit (204.00 $\mu\text{g/mL}$), klorojenik asit (10.20 $\mu\text{g/mL}$), 3,4,5-tri-O-kafeoilkuinik asit (7.75 $\mu\text{g/mL}$), trans-sinnamik asit (28.90 $\mu\text{g/mL}$) içerdiği ifade edilmiştir. Etanollü ekstraktın çok yüksek miktarda krisin (641.33 $\mu\text{g/mL}$), kafeik asit fenetil ester (630.67 $\mu\text{g/mL}$), pinokembrin (572.67 $\mu\text{g/mL}$), galangin (534.11 $\mu\text{g/mL}$), naringenin (372.39 $\mu\text{g/mL}$) içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca etanollü ekstraktın kafeik asit (66.00 $\mu\text{g/mL}$), mirisetin (2.32 $\mu\text{g/mL}$), kuersetin (40.69 $\mu\text{g/mL}$), trans-sinnamik asit (91.49 $\mu\text{g/mL}$) ve kaempferol (98.72 $\mu\text{g/mL}$) içerdiği de ifade edilmiştir. Çalışmamızda da su ekstresinde en yüksek oranda bulunan fenolik bileşiğin ile kafeik asit (254043.48 $\pm$ 8498.91 $\mu\text{g/mL}$) ve olduğu gözlemlenmiştir. %70 Etanol ekstresin de ise en yüksek oranda bulunan 3 fenolik bileşiğin ise kafeik asit (47537.93 $\pm$ 451.40 $\mu\text{g/mL}$), galangin (48724.37 $\pm$ 3346.19 $\mu\text{g/mL}$) ve naringenin (57880.36 $\pm$ 3363.69 $\mu\text{g/mL}$) olduğu tespit edilmiştir.

Keskin (2018) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin değişik bölgelerinde bulunan arıcılardan (Bilecik, Kayseri, İstanbul, Rize, Kars, Sivas, Kırklareli, Zonguldak, Balıkesir, Ağrı, Yığılca, Siirt, Ardahan) alınan ham propolis örneklerinin 13 adet etanol, 4 adet su ekstresinde fenolik bileşim analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca 9 adet ticari propolis

etanolik ekstraktı ve 1 adet ticari propolis su ekstraktı da çalışmada kullanılmıştır. Bütün propolisin ekstrelerinde gallik asit, protokatekuik asit, p-OH benzoik asit, kateşin, vanilik asit, kafeik asit, şiringik asit, epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, rutin, daidzein, t-sinamik asit ve luteolin fenolik bileşikler taranmıştır. Elde edilen sonuçlarda ticari etanol ekstrelerinden biri hariç kalan diğer bütün ekstrelerde p-kumarik asit olduğu tespit edilmiş olup miktarı 0.71-30.181 mg/g ekstrakt aralığında bildirilmiştir. Ferulik asit 1 adet etanol ve 2 adet ticari etanol örnekleri hariç bütün ekstrelerde tespit edilmiştir. Tüm örneklerde ferulik asit miktarının 0.45-10.75 mg/g ekstrakt aralığında olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca genel olarak örneklerde tespit edilen fenolik bileşiklerin kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, t-sinamik asit ve luteolin olduğu ifade edilmiştir. Çalışmamızda kapsamında elde edilen ekstrelerde ise t-sinamik asit hariç kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve luteolin tespit edilmiştir.

Kolaylı ve diğ. (2023) tarafından yapılan çalışmada, 2020 yılında Anadolu'nun 7 bölgesinde toplanan 40 adet ham propolis örneğinin %70 etanol ile elde edilen ekstresinde fenolik bileşim analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda taranan 25 adet fenolik bileşik içerisinde hiçbir numunede gallik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, şiringik asit, m-OH benzoik asit, rutin, epikateşin, daidzein, resveratrol ve kurkumin tespit edilemediği bildirilmiştir. Ancak kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, kuersetin, t-sinamik asit, krisin, pinokembrin ve CAPE tüm numunelerde değişen miktarlarda tespit edildiği ifade edilmiştir. Hesperidin ve ramnetinin ise çoğu numunede tespit edildiği, ancak ellagik asitin sadece üç numunede tespit edildiği bildirilmiştir. Anadolu propolisi, Orta Anadolu ile Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgeleri arasında farklılık gösterirken, Marmara, Karadeniz ve Ege bölgelerinden elde edilen propolis örnekleri birbirlerine çok benzer fenolik içeriklere sahip olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, yedi farklı coğrafi bölgeden oluşan Anadolu propolisinin, kafeik asit, kafeik asit fenetil ester (CAPE), krisin, pinokembrin ve sinamik asit bileşenleri açısından zengin bir fenolik içeriğe sahip olduğu ve bölgeler arasında önemli bir farklılık olmadığı ifade edilmiştir. Ayrıca dünya çapında çoğu propolis numunesinin ana bileşenlerinin krisin, kafeik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit olduğu ifade edilmiştir. Anadolu propolisinin ana bileşenlerinin ise pinokembrin, sinamik asit ve CAPE olabileceği bildirilmiştir. Çalışmamızda ise bahsi geçen bu üç fenolik bileşik içerisinde pinokembrin ve CAPE'nin tespit edilmiş olup ancak sinamik asit taranmadığı için bu bileşik ile ilgili herhangi bir yorum yapılamayacaktır.

Galeotti ve diğ., (2019) tarafından yapılan bir çalışmada farklı ülkelerden (İtalya, İspanya, Fransa, Romanya, Bulgaristan, Ukrayna, Makedonya, Türkiye, Çin ve Uruguay) gelen propolislerden elde edilen etanol ekstresinin fenolik bileşim profili ve yüzde oranı incelenmiştir. Bu örneklerde taranan 41 adet fenolik bileşik içerisinde tüm örneklerde dikafeik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, izoferulik asit, 3,4-dimetil-kafeik asit, sinnamik asit, krisin-5-metil-eter, pinobanksin-5-metil-eter-3-o-asetat, sinnamilidenasetik asit, p-kumarik prenil ester, p-kumarik benzil ester, pinobanksin-3-o-bütirat, pinobanksin-3-o-pentanoat, pinobanksin-3-o-heksanoat ve p-metoksi sinamik asit sinamil ester olmadığı ifade edilmiştir. Öte yandan, tüm örneklerde kuersetin, pinobanksin-5-metil-eter, kuersetin-3-metil-eter, apigenin, kaempferol, pinobanksin, izorhamnetin, luteolin-metil-eter, kuersetin-dimetil-eter, galangin-5-metil-eter, kuersetin-7-metil-eter, kuersetin-metil-x-metileter, kafeik asit izoprenil ester, krisin, kafeik asit benzil esteri, kafeik asit izoprenil ester, pinokembrin, galangin, kafeik asit feniletıl ester (CAPE), pinobanksin-3-o-asetat, metoksi-krisin, kafeik asit sinamil ester, pinobanksin-3-o-propionat ve p-kumarik sinamil ester fenolik bileşiklerinin tespit edildiğı bildirilmiştir. Tüm örneklerde ana fenolik bileşiklerin pinobanksin ve türevleri (pinobanksin-3-O-asetat ve pinobanksin-3-O-butirat), krisin, pinocembrin ve galangin olduğu ifade edilmiştir. Avrupa ülkelerinden gelen propolislerin birbirlerine oldukça benzediğı ve benzer bir polifenolik bileşim ve yüzde oranına sahip olduğu ifade edilmiştir. Türk propolisinde ise en yüksek oranda bulunan fenolik bileşiklerin pinobanksin-3-o-acetate (%12.7), galangin (%5.7), chrysin 4.0, pinokembrin (%3.6), pinobanksin-3-o-propionate (%3.1) ve quercetin-3-methyl-ether (%3.0) olduğu bildirilmiştir.

Son olarak bu çalışma kapsamında elde edilen propolis ekstralarının TFM, antioksidan aktivite (ABTS, DPPH) ve fenolik bileşim profili analizlerinin sonuçları tekrar özetlenmiş olup birbirleri ile olan ilişkileri kısaca aşağıda özetlenmiştir.

Ekstrelerin TFM içeriğinin 11.90 ± 1.43 ile 110.83 ± 1.58 mg GAE/g propolis arasında farklılık gösterdiği, tüm ekstraların TFM değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). En yüksek TFM içeriğine sahip ekstrenin O/W+P (110.83 ± 1.58 mg GAE/g propolis), en düşük TFM içeriğine sahip ekstrenin ise S+P'de (11.90 ± 1.43 mg GAE/g propolis) olduğu gözlemlenmiştir.

Örneklerin ABTS değerleri karşılaştırıldığında ise E+P ekstresinin, O/W+P ve W/O+P ekstralarının arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı ($P < 0.05$); S+P ve A+P ekstralarına kıyasla ise daha yüksek ABTS değerine sahip olduğu görülmüştür. DPPH

değerine göre ise en yüksek değere sahip örneğin E+P ekstresi olduğu gözlemlenmiştir. O/W+P ve W/O+P ekstrelerinin ise E+P'ye kıyasla daha düşük, S+P ve A+P örneğine kıyasla ise daha yüksek DPPH değerine sahip olduğu görülmüştür. Tüm örnekler içerisinde en düşük ABTS ve DPPH değerine sahip ekstrenin S+P olduğu gözlenmiştir.

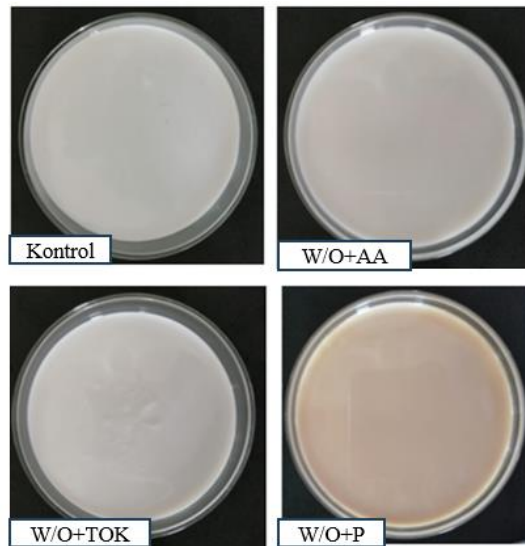
Örneklerin fenolik bileşim içeriği incelendiğinde ise en fazla fenolik bileşik içeren örneklerin E+P, O/W+P ve W/O+P ekstrelerinde olduğu gözlenmiştir. Antioksidan aktivite ve TFM sonuçları da bu durumu desteklemektedir.

4.3 Model Emülsiyonlarda Stabilite Testleri

4.3.1 Optimize W/O emülsiyonunda yapılan analizler

4.3.1.1 Renk ölçümü

Emülsiyonların görünümü Şekil 4.12'de, renk değerleri ise Çizelge 4.12'de verilmiştir. Şekil 4.12 incelendiğinde propolis içeren emülsiyon örneğinin diğer örneklerle kıyasla daha sarı olduğu gözlemlenmiştir. Propolis içeren örneğin sarı renkte görülmesinin nedeninin ekstraksiyonda kullanılan çözücünün propoliste bulunan renk bileşenlerini de bünyesine almasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.12 : W/O emülsiyonlarının görünümü.

Çizelge 4.12 incelendiğinde parlaklık göstergesi olarak bilinen L değerinin emülsiyonlar arasında önemli bir farklılığa sahip olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Tokoferol içeren örneğin en yüksek L değerine sahip olduğu, propolis içeren örneğin ise en düşük L değerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol örneği ile askorbik asit içeren örneğin L

değeri arasında ise anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir ($P<0.05$). Tüm örneklerde kırmızı (+a) ve yeşil (-a) eksenini temsil eden a değerinin örnekler arasında önemli bir farklılığa sahip olmadığı görülmüştür ($P>0.05$). Örneklerin b değerleri incelendiğinde ise örnekler arasında önemli farklılık olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$). En yüksek b değerine sahip örneğin propolis içeren örnek olduğu, diğer örnekler arasında ise önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P>0.05$).

Çizelge 4.12 : W/O emülsiyonlarının renk değerleri.

	Kontrol	W/O+AA	W/O+TOK	W/O+P
L	59.85±5.13 ^{ab}	58.08±3.68 ^{ab}	60.58±2.23 ^a	54.18±2.56 ^b
a	-3.80±0.41 ^a	-4.18±1.06 ^a	-4.23±0.71 ^a	-3.65±0.70 ^a
b	4.45±0.62 ^b	6.63±0.90 ^b	6.08±0.26 ^b	19.73±2.93 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$)

4.3.1.2 Sedimentasyon indeksi (%Sİ)

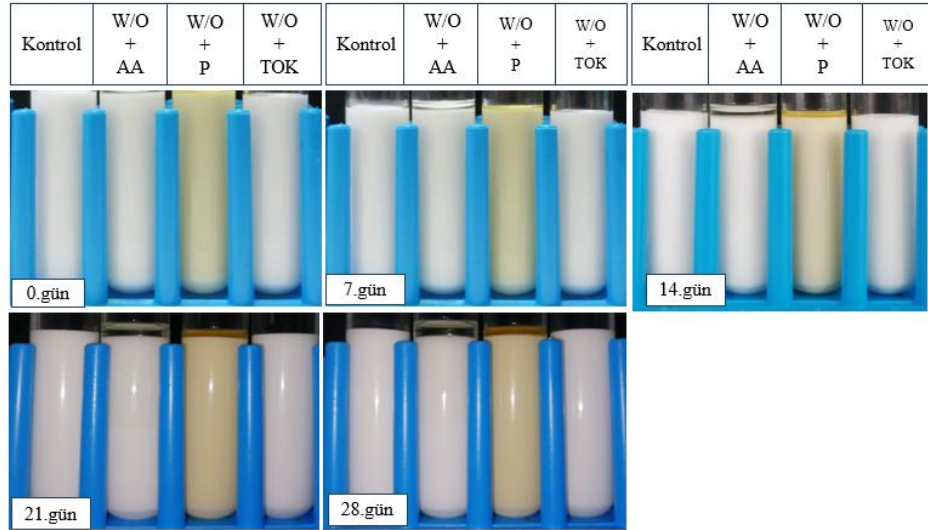
Fizikokimyasal özellikler emülsiyonun oluşumu ve stabilitesi için büyük önem arz etmektedir. Örneğin; yoğunluk, sedimentasyon stabilitesinde belirleyici iken viskozite damlacıkların parçalanmasında ve hareketliliğinde etkili olmaktadır. Yağın polaritesi, sulu faz ile arayüzey gerilimi ve arayüzeydeki bileşenlerin ayrışmasını etkileyebilmektedir. Ayrıca, yağ asitleri zincir uzunluğu, doymamışlık sayısı, molekül konfigürasyonu gibi kimyasal yapı da emülsiyonun stabilitesini etkilemektedir (Ushikubo ve Cunha, 2014).

Çizelge 4.13 : W/O emülsiyonlarının sedimentasyon indeksi değerleri (%).

Gün	Kontrol	W/O+AA	W/O+TOK	W/O+P
0	0.00	0.00	0.00	0.00
7	0.00 ^C	3.51±0.21 ^{d,A}	0.00 ^C	1.82±0.06 ^{c,B}
14	0.00 ^C	4.39±0.17 ^{c,A}	0.00 ^C	1.92±0.04 ^{c,B}
21	0.00 ^C	5.26±0.24 ^{b,A}	0.00 ^C	3.51±0.22 ^{b,B}
28	0.00 ^C	7.02±0.36 ^{a,A}	0.00 ^C	5.36±0.38 ^{a,B}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Emülsiyonların stabilitesi 28 gün boyunca gözlemlenmiştir. Bu süre boyunca belli aralıklarla kaydedilen emülsiyon görüntüleri Şekil 4.13'te, sedimentasyon indeksi değerleri ise Çizelge 4.13'te verilmiştir. Emülsiyonların kaydedilen görüntüleri incelendiğinde depolama süresi boyunca kontrol ve W/O+TOK örneğinde herhangi bir faz ayrımı olmadığı ancak W/O+AA ve W/O+P örneklerinde faz ayrımının olduğu görülmektedir. Faz ayrımı gerçekleşen örneklerde depolama süresince sedimentasyon değerinde önemli farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$).



Şekil 4.13 : W/O emülsiyonlarının dört hafta boyunca oda sıcaklığında bekletilirken kaydedilen görüntüleri.

Raviadaran ve diğ. (2019) tarafından yapılan çalışmada, bitkisel yağ bazlı W/O emülsiyonunda emülgatör olarak PGPR kullanımının Span 80'e kıyasla daha düşük SI değerine sahip olduğu ve dolayısı ile daha iyi stabilite gösterdiği ifade edilmiştir. Ayrıca, PGPR, yağın yağ asidi zincirleriyle bir ağ oluşturmada Span 80'e kıyasla çoklu yağ asidi zincirlerine sahip olduğu ifade edilmiştir.

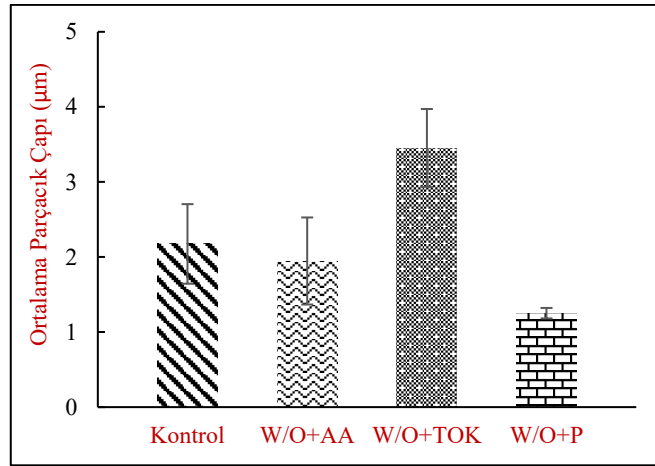
Birçok çalışmada, PGPR'ın W/O emülsiyonlarında iyi emülsifiye edici özelliklere sahip olduğu ifade edilmektedir. PGPR'ın W/O emülsiyonlarında arayüzde iyi elastikiyet sağlaması yapısında bulunan hidrofobik zincirlerinin yağlarda bulunan yağ asitlerinin dallı yapısına bağlanmasına atfedilmektedir. Ayrıca, PGPR'ın hidrofilik kısmı da emülgatör molekülünün sulu faza bağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. PGPR'nin hidrofilik kısmı, nispeten büyük olan poligliserol parçacıklarından oluşmaktadır. Hidroksil grupları, hidrojen bağları ile su moleküllerine bağlanmakta ve bu da yapılandırılmış bir arayüze neden olmaktadır. Emülgatörün hidrofilik kısmının su ile iyi bir şekilde sabitlenmesi, daha yüksek su fraksiyonuna sahip emülsiyonların stabilitesine katkıda bulunmaktadır (Ushikubo ve Cunha, 2014). Çalışmamız kapsamında hazırlanan W/O emülsiyon örneklerinin su içeriği yüksek olmasına rağmen kontrol ve W/O+TOK örnekleri 28 gün boyunca stabil olmasının temel nedeninin yukarıda ifade edilen durum olduğu düşünülmektedir. Ayrıca W/O+AA ve W/O+P örneklerinin ise daha hızlı destabilizasyonunun ise emülsiyonların viskozitelerinden kaynaklanmış olabileceği ifade edilmektedir (Raviadaran ve diğ., 2019). Çünkü bu örnekler polar antioksidan içermektedir. Polar antioksidanlar W/O emülsiyonlarının su fazında

çözündüğünden emülsiyonların viskozitesinde düşüşe neden olmaktadır. Emülsiyonların viskozitesi ile SI ters orantılır.

4.3.1.3 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri

W/O emülsiyonlarının partikül boyutları incelendiğinde kontrol $2.17 \pm 0.53 \mu\text{m}$, W/O+AA $1.95 \pm 0.58 \mu\text{m}$, W/O+TOK $3.45 \pm 0.52 \mu\text{m}$ ve W/O+P $1.25 \pm 0.69 \mu\text{m}$ şeklinde olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.14). Örneklerin partikül boyutları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Örnekler içerisinde W/O+TOK'un en yüksek ve W/O+P'nin ise en düşük partikül boyutuna sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.14). Ayrıca, elde edilen sonuçlarda kontrol, W/O+AA ve W/O+P örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

Emülsiyonlar partikül boyutuna göre mikroemülsiyon, nanoemülsiyon ve makroemülsiyon olarak sınıflandırılmaktadır. En yüksek partikül boyutuna sahip olan makroemülsiyonların damlacıklarının ortalama çapları 100 nm ile 100 μm arasında olduğu ifade edilmektedir (McClements, 2011). Örneklerin partikül boyutları 1.25 ± 0.69 ile $3.45 \pm 0.52 \mu\text{m}$ aralığında olduğundan örnekler makroemülsiyon olarak tanımlanabilir. Bu emülsiyon örnekleri oluşturulurken düşük enerjili metod kullanıldığından dolayı partikül boyutunun yüksek olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.14 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı.

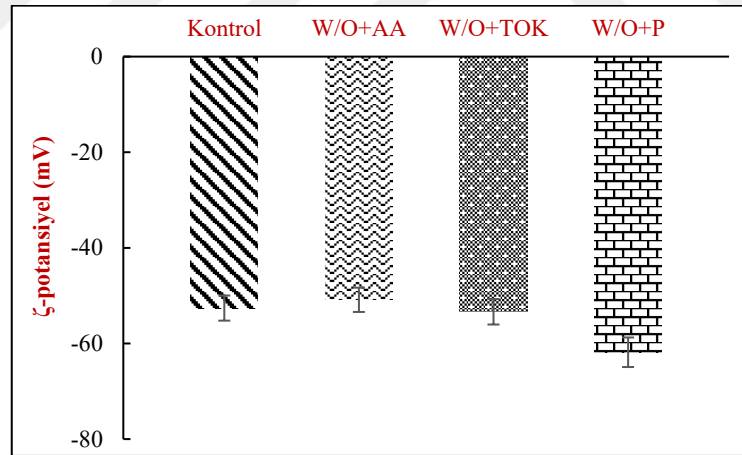
Çizelge 4.14 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değerleri.

	Kontrol	W/O+AA	W/O+TOK	W/O+P
Ortalama parçacık çapı (μm)	2.17 ± 0.53^b	1.95 ± 0.58^b	3.45 ± 0.52^a	1.25 ± 0.69^b

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P < 0.05$).

Bitkisel yağlar, nispeten yüksek miktarda doymamış yağ asitleri ve uzun zincirli lipidler içermektedir. Ayçiçek yağı ve zeytinyağındaki doymamış bileşenlerin, W/O emülsiyonlarının arayüzünde tek tip bir film oluşumunu engellediği ve böylece damlacık boyutunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Surh, 2009). Çalışmamızda partikül boyutunun yüksek çıkmasının bir diğer nedeninin ise kullanılan yağın ayçiçek yağı olmasından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Emülsiyon örneklerinin partikül yüzey yükü sonuçlarına göre tüm örneklerin damlacık yükünün negatif olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.15). Örneklerin partikül yüklerinin büyükten küçüğe doğru sırası ile W/O+AA (-50.87 ± 4.99 mV), kontrol (-52.60 ± 0.36 mV), W/O+TOK (-53.37 ± 1.46 mV) ve W/O+P (-61.83 ± 4.52 mV) şeklindedir (Çizelge 4.16). Emülsiyonların partikül yüzey yükünün negatif olması W/O emülsiyonlarının oluşumunda kullanılan PGPR'ın iyonik olmayan bir YAM olmasından kaynaklanmaktadır (Xu ve diğ., 2020). İyonik olmayan YAM'lar genellikle damlacıklar arasında hafif bir elektrostatik bariyer oluşturarak sistemi stabilize etmektedir. Genel olarak, ζ -potansiyeli $> \pm 30$ mV olan sistemler farmasötik olarak kararlı kabul edilmektedir (Sharma ve diğ., 2014).



Şekil 4.15 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükleri.

Çizelge 4.15 : W/O emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değerleri.

	Kontrol	W/O+AA	W/O+TOK	W/O+P
Parçacık yüzey yükleri (mV)	-52.60 ± 0.36^a	-50.87 ± 4.99^a	-53.37 ± 1.46^a	-61.83 ± 4.52^b

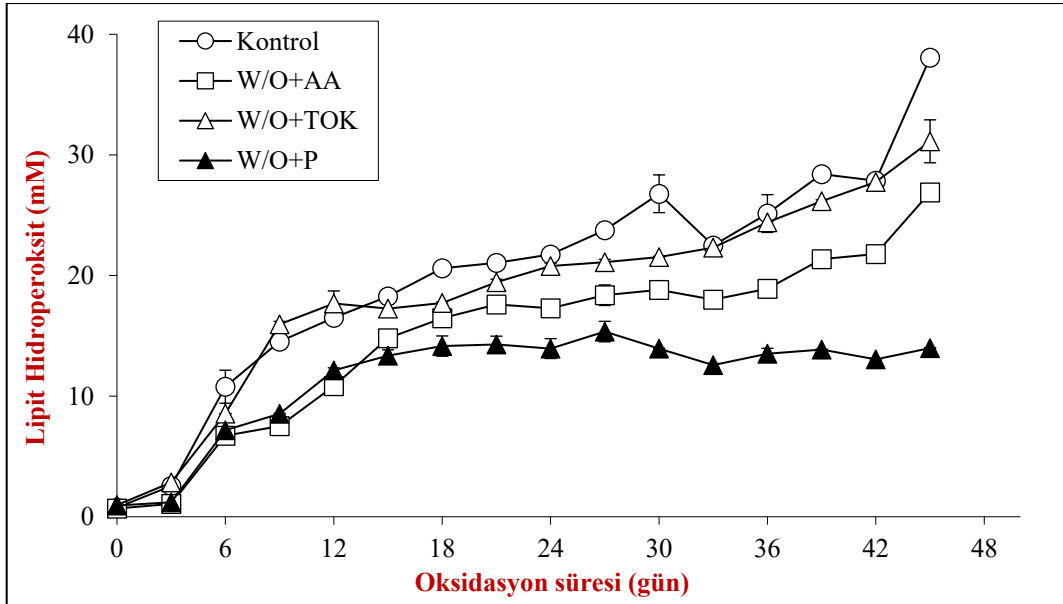
Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P < 0.05$).

4.3.1.4 Oksidatif stabilite Testleri

Çalışma kapsamında optimize edilen koşullarda W/O emülsiyonu ile elde edilen emülsiyon propolis ekstresinin oksidatif stabilitesinin, aynı koşullarda hazırlanan polar ve

non-polar antioksidan içeren ve hiçbir antioksidan içermeyen W/O emülsiyonları ile kıyaslanması amaçlanmıştır. W/O emülsiyon örnekleri 45 gün boyunca 37 °C’de etüv içerisinde hızlandırılmış oksidasyon testlerine tabi tutularak birincil (hidroperoksit) ve ikincil (tiyobarbitürik asit reaktif madde) oksidasyon ürünleri oluşumları sırası ile peroksit sayısı ve TBA sayısı ile belirlenmiştir. Peroksit sayısı sonuçları şekil 4.16 ve çizelge 4.16’de; TBA sayısı sonuçları ise şekil 4.17 ve çizelge 4.17’de verilmiştir.

Tüm emülsiyon örneklerinde lipit hidroperoksit oluşumunun 3. güne kadar sabit bir oranda arttığı 3. günden itibaren ise oluşum hızında artış olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol, W/O+TOK ve W/O+AA örneklerinde oksidasyon süresi boyunca lipit hidroperoksit oluşumunda sürekli bir artış olduğu, W/O+P örneğinde ise diğer örneklerle kıyasla lipit hidroperoksit oluşumunun daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca depolama süresi boyunca bütün emülsiyon örneklerinin lipit hidroperoksit oluşumunda istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Lipit hidroperoksit sonuçlarına göre; herhangi bir antioksidan içermeyen kontrol örneğinin depolama süresince en yüksek hidroperoksit değerine sahip olduğu görülmüştür. Antioksidan içeren örnekler içerisinde ise non-polar antioksidan içeren W/O+TOK örneğinin en yüksek, propolis içeren W/O+P örneğinin ise en düşük hidroperoksit değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak propolisin W/O emülsiyonlarının oksidatif stabilitesini arttırmada etkili olduğu söylenebilir.

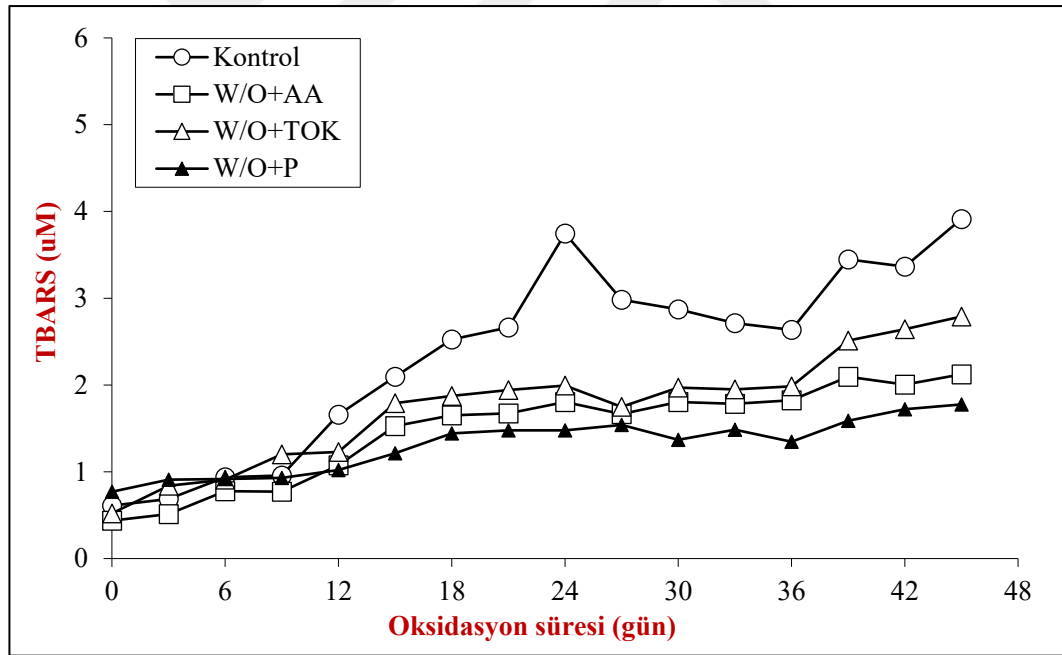


Şekil 4.16 : 37 °C’de depolanan W/O emülsiyonlarının hidroperoksit değerlerinde meydana gelen değişiklikler.

Çizelge 4.16 : 37 °C’de depolanan W/O emülsiyonlarının hidroperoksit değerleri.

Gün	Kontrol	W/O+AA	W/O+TOK	W/O+P
0	0.76±0.04 ^{i,AB}	0.68±0.04 ^{i,B}	0.97±0.07 ^{i,A}	0.93±0.02 ^{e,AB}
3	2.55±0.02 ^{i,B}	1.06±0.00 ^{i,D}	2.84±0.01 ^{i,A}	1.20±0.02 ^{e,C}
6	10.78±2.74 ^{i,A}	6.72±0.10 ^{h,C}	8.55±0.01 ^{i,AB}	7.18±0.16 ^{d,AB}
9	14.52±0.42 ^{h,A}	7.51±0.22 ^{h,B}	15.95±0.25 ^{h,A}	8.54±0.04 ^{d,B}
12	16.50±0.07 ^{gh,A}	10.83±0.16 ^{g,B}	17.68±1.04 ^{gh,A}	12.13±0.22 ^{c,B}
15	18.27±0.38 ^{fg,A}	14.80±0.27 ^{f,B}	17.26±0.01 ^{gh,A}	13.35±0.49 ^{abc,B}
18	20.60±0.16 ^{ef,A}	16.46±0.45 ^{e,BC}	17.72±0.09 ^{gh,B}	14.15±0.84 ^{abc,C}
21	21.06±0.27 ^{ef,A}	17.60±0.23 ^{cde,B}	19.45±0.24 ^{fg,AB}	14.29±0.69 ^{bc,C}
24	21.74±0.54 ^{e,A}	17.28±0.19 ^{de,B}	20.79±0.24 ^{ef,A}	13.94±0.82 ^{abc,C}
27	23.77±0.46 ^{cde,A}	18.37±0.85 ^{cd,BC}	21.11±0.23 ^{ef,AB}	15.35±0.85 ^{a,C}
30	26.78±1.56 ^{bc,A}	18.81±0.16 ^{cd,B}	21.53±0.07 ^{ef,B}	13.94±0.04 ^{abc,C}
33	22.49±0.15 ^{de,A}	18.01±0.11 ^{cd,B}	22.32±0.03 ^{de,A}	12.57±0.15 ^{bc,C}
36	25.14±1.56 ^{bcd,A}	18.90±0.55 ^{e,B}	24.41±0.27 ^{cd,A}	13.52±0.45 ^{abc,C}
39	28.40±0.07 ^{b,A}	21.36±0.27 ^{b,C}	26.17±0.11 ^{bc,B}	13.87±0.04 ^{abc,D}
42	27.87±0.36 ^{b,A}	21.78±0.05 ^{b,B}	27.75±0.61 ^{b,A}	13.05±0.05 ^{bc,C}
45	38.07±0.54 ^{a,A}	26.89±0.40 ^{a,B}	31.13±1.78 ^{a,B}	13.98±0.04 ^{abc,C}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.17 : 37 °C’de depolanan W/O emülsiyonlarının TBARS değerlerinde meydana gelen değişiklikler.

İkincil oksidasyon ürünü olarak TBARS değerleri ölçülmüş olup tüm örneklerin TBARS değerlerindeki artışın birincil oksidasyon ürünü olan hidroperoksit oluşumuna paralel olarak oksidasyon süresi boyunca arttığı belirlenmiştir. Kontrol ve W/O+AA örneklerinin TBARS değerleri 9. güne kadar sabit bir hızla artarken 9.günden itibaren hızlı bir artış göstermiştir. W/O+TOK örneğinin TBARS değerlerinin 12. güne kadar sabit bir

hızla artış gösterdiği ancak 12.günden depolama sonuna kadar ise TBARS değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). W/O+P örneğinin TBARS değerlerinin 9.güne kadar istatistiksel olarak önemli bir artış gözlenmediği ($P>0.05$) ve diğer bütün örneklerle kıyasla depolama süresi boyunca en düşük TBARS değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca depolama süresince örneklerin TBARS değerleri küçükten büyüğe doğru $W/O+P < W/O+AA < W/O+TOK < \text{kontrol}$ şeklinde olduğu ve peroksit oluşumu ile benzer trend gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, hidroperoksit oluşumuna paralel olarak bütün emülsiyon örneklerinin depolama süresi boyunca TBARS değerlerinde istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$).

Elde edilen oksidasyon sonuçlarına göre propolisin W/O emülsiyonunun oksidatif stabilitesini arttırmada olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir. Söz konusu durumun temel nedeninin ise propolisin yapısında yer alan fenolik bileşiklerden ve bu fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (bölüm 4.2.3.2 Antioksidan aktivite ve 4.2.3.3 Fenolik bileşim kısmına bakınız).

Çizelge 4.17 : 37 °C’de depolanan W/O emülsiyonlarının TBARS değerleri.

Gün	Kontrol	W/O+AA	W/O+TOK	W/O+P
0	0.61±0.03 ^{i,B}	0.44±0.00 ^{f,C}	0.52±0.02 ^{e,BC}	0.77±0.01 ^{g,A}
3	0.69±0.00 ^{ii,B}	0.51±0.01 ^{ef,C}	0.84±0.03 ^{d,A}	0.91±0.01 ^{fg,A}
6	0.94±0.01 ^{i,A}	0.78±0.04 ^{de,B}	0.91±0.01 ^{cd,A}	0.92±0.01 ^{fg,A}
9	0.96±0.04 ^{i,AB}	0.77±0.06 ^{de,B}	1.20±0.04 ^{c,A}	0.93±0.03 ^{fg,B}
12	1.66±0.08 ^{h,A}	1.08±0.02 ^{d,B}	1.23±0.05 ^{c,B}	1.02±0.11 ^{ef,B}
15	2.10±0.06 ^{g,A}	1.53±0.10 ^{c,BC}	1.79±0.14 ^{b,AB}	1.21±0.05 ^{de,C}
18	2.53±0.10 ^{f,A}	1.65±0.04 ^{c,BC}	1.87±0.10 ^{b,B}	1.44±0.01 ^{cd,C}
21	2.66±0.07 ^{def,A}	1.67±0.03 ^{c,BC}	1.94±0.12 ^{b,B}	1.48±0.02 ^{bc,C}
24	3.75±0.05 ^{ab,A}	1.80±0.05 ^{abc,B}	1.99±0.04 ^{b,B}	1.48±0.01 ^{bc,C}
27	2.98±0.15 ^{d,A}	1.67±0.10 ^{c,B}	1.75±0.06 ^{b,B}	1.54±0.04 ^{abc,B}
30	2.87±0.07 ^{de,A}	1.80±0.15 ^{abc,BC}	1.97±0.06 ^{b,B}	1.37±0.01 ^{cd,C}
33	2.71±0.01 ^{def,A}	1.78±0.02 ^{bc,B}	1.95±0.06 ^{b,B}	1.48±0.03 ^{bc,C}
36	2.64±0.02 ^{ef,A}	1.82±0.02 ^{abc,B}	1.98±0.05 ^{b,B}	1.35±0.05 ^{cd,C}
39	3.45±0.00 ^{bc,A}	2.10±0.11 ^{ab,C}	2.51±0.09 ^{a,B}	1.59±0.04 ^{abc,D}
42	3.36±0.12 ^{c,A}	2.01±0.10 ^{ab,C}	2.64±0.05 ^{a,B}	1.72±0.09 ^{ab,C}
45	3.91±0.10 ^{a,A}	2.12±0.04 ^{a,C}	2.79±0.09 ^{a,B}	1.78±0.11 ^{a,C}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Literatürde, yağların ve yağ içeren gıdaların oksidatif stabilitesi üzerine propolisin olumlu etkileri olduğu ifade edilen çalışmalar da mevcuttur. Ancak propolis ekstresinin W/O emülsiyonlarının oksidatif stabilitesi üzerindeki etkileri henüz kapsamlı bir şekilde araştırılmamıştır. Bu nedenle, propolis ekstrelerinin yağların oksidasyonu üzerine etkilerini inceleyen bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Baştürk ve Yavaş (2024) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin 16 ilinden toplanan propolis örneklerinin metanol ile elde edilen ekstralarının ayçiçek yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, ayçiçek yağına 1000 ppm konsantrasyonda uygulanan propolisin metanol ekstralarından 13'ünün, peroksit oluşumunu engellemede BHT'den (200 ppm) daha etkili olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, çoğu propolis ekstresinin (1000 ppm), hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında ayçiçek yağında *p*-anisidin (*p*-AV) üretimine karşı antioksidan aktivite gösterdiği de ifade edilmiştir. Çalışmada, Türk propolisinin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu ve oksidasyonu geciktirdiği ve yağ içeren gıdaların oksidasyonunu geciktirmek için gıda sektöründe ticari olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Ceylan ve Baştürk (2022) tarafından yapılan çalışmada, kızartma işlemi sırasında palm olein yağının oksidatif stabilitesi üzerinde %80 metanol ile elde edilen kinoa ekstresi ve %70 etanol ile elde edilen propolis ve uçkun ekstralarının etkileri araştırılmıştır. Propolis, uçkun ve kinoa ekstralarını 1000–1500 ppm düzeyinde içeren yağlar ile sentetik antioksidan (200 ppm BHT) içeren yağın oksidatif stabiliteyi kıyaslanmıştır. Elde edilen verilerde propolis ekstresinin (1500 ppm) termal-oksidatif stabilite üzerinde en iyi sonuçları verdiğini ve BHT'ye en yakın değerleri gösterdiğini ifade edilmiştir.

Özcan (2000) tarafından yapılan çalışmada, %0.01 oranında BHA ve BHT içeren zeytinyağları, farklı oranlarda (%0.02, %0.04, %0.06 ve 0.08) metanolik propolis ekstresi içeren zeytinyağları ile herhangi bir antioksidan eklenmeyen kontrol zeytinyağının 60°C'de 35 gün süresince depolanması sırasında belli aralıklarla peroksit değerleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, antioksidan ilave edilen örneklerle kıyasla kontrol örneğinin daha yüksek peroksit değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca %0.01 oranında BHA ve BHT içeren örneklerle kıyasla %0.06 ve %0.08 propolis ekstresi içeren örneklerin daha düşük peroksit değerine sahip olduğu ve dolayısı ile daha iyi antioksidan aktivite sergilediği ifade edilmiştir. Sonuç olarak propolis ekstresinin zeytinyağlarının oksidatif stabilitesini arttırdığı bildirilmiştir.

Esfandiarifard ve Ziaolhagh (2021), tarafından yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda (%0, %0.5 ve %1) metanolik propolis ekstresi ilave edilen ayçiçek yağı 25°C'de 60 gün boyunca inkübe edilerek peroksit ve TBARS değerleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda ayçiçek yağına antioksidan ilave edilmesinin numunelerin peroksit ve TBARS değerlerinde azalmaya yol açtığını bildirilmiştir. Peroksit ve TBARS değerlerini azalma üzerine etkileri kıyaslandığında %1 propolis ekstresi içeren örneğin, %0.5 propolis

ekstresi içeren ve sentetik antioksidan içeren örneklerden daha etkili olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, propolis metanolik ekstraktının güçlü bir antioksidan olduğu ve bu özelliği sayesinde depolama sırasında yağ ve yağ içeren ürünlerde antioksidan özellik göstererek oksidatif stabiliteyi arttırdığı ifade edilmiştir.

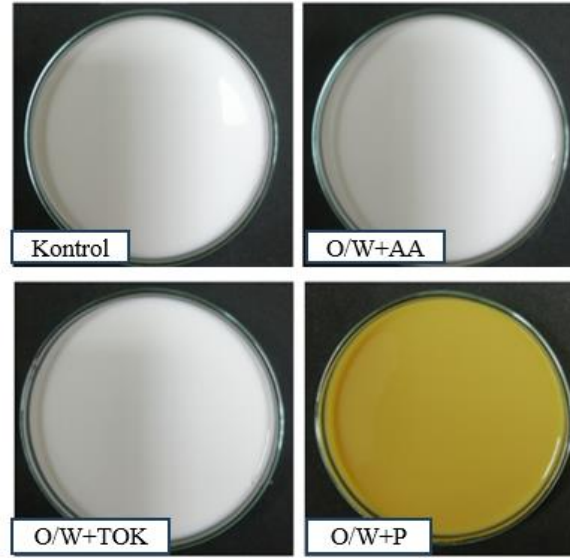
Uçak (2018) tarafından yapılan çalışmada, balık yağının oksidatif stabilitesi üzerine propolis ekstresinin etkileri incelemek amacıyla hızlandırılmış (60 °C'de 21 gün) oksidasyon koşulları altında lipid oksidasyon seviyesini belirlemek amacıyla, farklı konsantrasyonlarda (100, 500, 1000 mg/kg) propolis ekstresi ve sentetik antioksidan olarak butil hidroksitoluen (BHT, 100 mg/kg) balık yağına ilave edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda propolis ekstresi ilave edilen örneklerin depolama süresi boyunca peroksit, TBARS ve p-anisidin değerleri kontrol grubu ve BHT ilave edilen gruba göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Sonuçlar, 500 ve 1000 mg/kg propolis ekstresi ilave edilen balık yağı örneklerinde oksidasyon seviyesinin daha düşük olduğunu ve en etkili konsantrasyonun ise 1000 mg/kg propolis ekstresi olduğunu ifade edilmiştir.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda görüldüğü üzere propolis ekstresi kullanımının oksidatif stabiliteyi arttırdığı belirtilmektedir. Çalışmamız kapsamında elde edilen sonuçlarda da benzer durum gözlemlenmiştir.

4.3.2 Optimize O/W emülsiyonunda yapılan analizleri

4.3.2.1 Renk ölçümü

Emülsiyonların görünümü Şekil 4.18'de, renk değerleri ise Çizelge 4.18'da verilmiştir. Şekil 4.18 incelendiğinde propolis içeren emülsiyon örneğinin diğer örneklerle kıyasla daha sarı olduğu görülmektedir. Bu durumun temel nedeninin ise ekstraksiyon sırasında fenolik bileşiklerle birlikte propoliste bulunan renk bileşenlerin de çözücüye geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer durum propolisin W/O emülsiyonu ile elde edilen ekstresinde de gözlemlenmiştir (4.3.1.1 Renk ölçümü kısmına bakınız).



Şekil 4.18 : O/W emülsiyonlarının görünümü.

Çizelge 4.19 incelendiğinde parlaklık göstergesi olarak bilinen L değerinin emülsiyonlar arasında önemli bir farklılığa sahip olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Kontrol örneğinin en yüksek L değerine sahip olduğu, propolis içeren örneğin ise en düşük L değerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol, O/W+AA ve O/W+TOK örneklerinin L değerleri arasında ise anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir ($P>0.05$). Örneklerin L değerlerinin 54.78 ± 3.41 ile 66.38 ± 6.52 arasında olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.18 : O/W emülsiyonlarının renk değerleri.

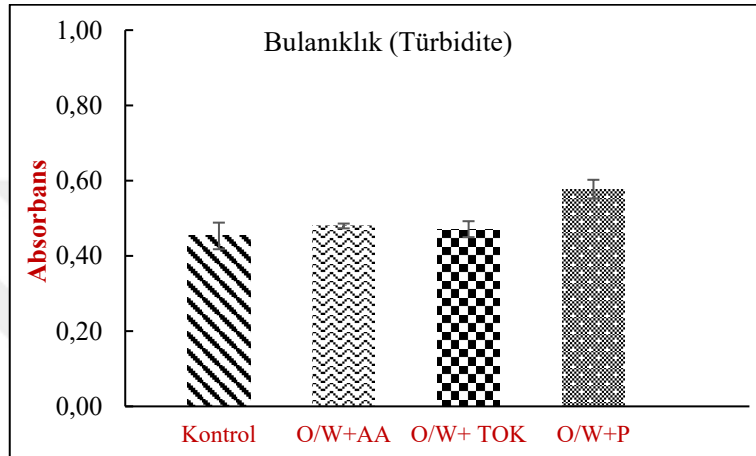
	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
L	66.3 ± 6.52^a	64.70 ± 2.75^a	64.98 ± 1.25^a	54.78 ± 3.41^b
a	-4.80 ± 0.26^b	-4.65 ± 0.35^{ab}	-3.78 ± 1.01^{ab}	-3.45 ± 1.05^a
b	5.53 ± 0.93^b	5.35 ± 0.89^b	4.90 ± 0.78^b	20.53 ± 1.90^a

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Emülsiyon örneklerinin a ve b değerleri arasında önemli farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Ancak O/W+AA ve O/W+TOK örneklerinin a değerleri arasında; kontrol, O/W+AA ve O/W+TOK örneklerinin ise b değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). O/W+P örneğinin ise diğer örneklere kıyasla en yüksek a ve b değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Tüm örneklerin a değerlerinin -4.80 ± 0.26 ile -3.45 ± 1.05 arasında; b değerlerinin ise 4.90 ± 0.78 ile 20.53 ± 1.90 arasında olduğu belirlenmiştir.

4.3.2.2 Bulanıklık (türbidite) ölçümü

Emülsiyonların hazırlandıktan hemen sonra absorbanslarının ölçülmesi sonucu elde edilen sonuçlar Çizelge 4.19 ve Şekil 4.19’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlarda örneklerin bulanıklık değerlerinin 0.45 ± 0.04 ile 0.58 ± 0.02 aralığında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca örneklerin türbidite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılığın olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Örnekler içerisinde en yüksek bulanıklık değerine sahip örneğin O/W+P olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.19 : O/W emülsiyonlarının bulanıklık (türbidite) değerlerini ait grafik.

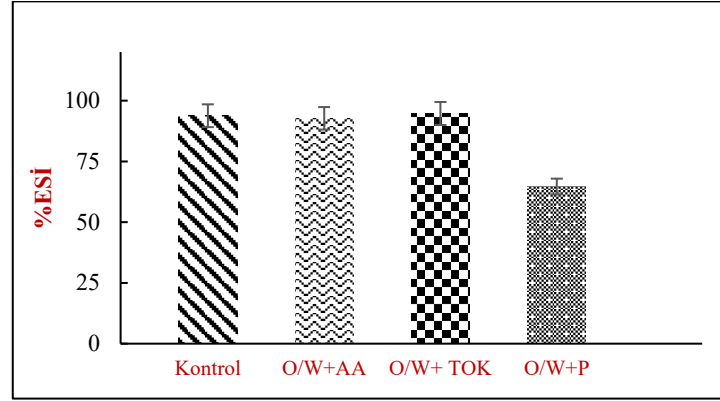
Emülsiyon örnekleri aynı konsantrasyonda Tween 80 içermelerine rağmen O/W+P örneği hariç diğer örnekler daha düşük partikül boyutuna sahip olduğundan daha düşük bulanıklığa sahiptirler. Benzer şekilde O/W+P örneği de daha yüksek partikül boyutuna sahip olduğundan bulanıklığı daha yüksektir. Çünkü literatürde ifade edildiği üzere, nanoemülsiyonlarda yağ damlacıkları çok küçük olduğundan ışığı güçlü bir şekilde saçmadıkları için bulanıklık düşük olmaktadır (McClements ve Rao, 2011). Şekil 4.20’ da yer alan grafikte de görüldüğü üzere yüksek bulanıklık değeri daha büyük parçacık boyutuna sahip olan tanecikleri temsil etmektedir.

Çizelge 4.19 : O/W emülsiyonlarının bulanıklık (türbidite) değerleri.

Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
0.45 ± 0.04^b	0.48 ± 0.01^b	0.47 ± 0.02^b	0.58 ± 0.02^a

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

4.3.2.3 Emülsiyon stabilite indeksi (%ESİ)



Şekil 4.20 : O/W emülsiyonlarının stabilite indeksi değerlerine ait grafik.

Emülsiyon stabilite indeksi (ESİ) belirli bir süre boyunca emülsiyonun stabil kalma yeteneğinin ölçüsüdür. ESİ değeri emülsiyonun kararlılığının bir ölçüsüdür, diğer bir ifade ile ESİ değeri ne kadar yüksek ise emülsiyon o kadar stabil, ne kadar düşük ise emülsiyon o kadar kararsız denilmektedir (Koşar, 2023).

Çizelge 4.20 : O/W emülsiyonlarının stabilite indeksi değerleri.

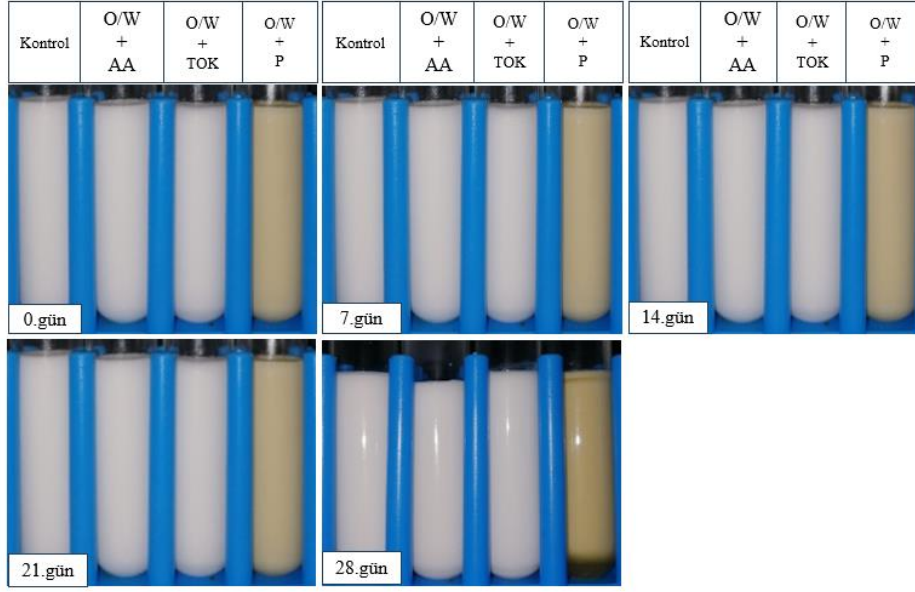
Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
93.80±4.48 ^a	92.74±0.71 ^a	94.73±0.04 ^a	64.68±2.46 ^b

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Emülsiyonların ESİ değerleri Şekil 4.20 ve Çizelge 4.20’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde emülsiyon örneklerinin ESİ değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Ancak kontrol, O/W+AA ve O/W+TOK örneklerinin ESİ değerleri yüksek olduğu ve bu örnekler arasında istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Emülsiyonlar içerisinde en düşük ESİ değerine sahip olan örneğin ise O/W+P örneği olduğu belirlenmiştir. Önceki paragrafta verilen bilgiden yola çıkarak emülsiyonlar içerisinde stabilitesi en düşük olan örneğin O/W+P olduğu gözlemlenmiştir. Kremalaşma indeksi kapsamında kaydedilen Şekil 4.22’deki görüntüler bu durumu desteklemektedir.

4.3.2.4 Kremalaşma indeksi

Kremalaşma indeksi O/W emülsiyonlarında yağ damlacıklarının flokülasyon derecesi hakkında dolaylı bilgi verdiği ifade edilmektedir. Bir emülsiyonun damlacık boyutu ne kadar yüksek ise stabilite sorunları olarak bilinen kremalaşma ve flokülasyon o kadar hızlı gerçekleşmektedir (Demetriade ve McClements, 2000).



Şekil 4.21 : O/W emülsiyonlarının dört hafta boyunca oda sıcaklığında bekletilirken kaydedilen görüntüleri.

Şekil 4.21’de bu çalışma kapsamında hazırlanan O/W emülsiyonlarının dört hafta boyunca oda sıcaklığında bekletilirken kaydedilen görüntüleri görülmektedir. Emülsiyonların kremalaşma indeksi değerleri ise Çizelge 4.21’de verilmiştir. Şekil 4.21’deki görüntüler ve Çizelge 4.21’deki değerler incelendiğinde 28. güne kadar hiçbir emülsiyonda kremalaşma gözlenmediği görülmektedir. Yirmisekizinci günde ise O/W+P örneğinin hem yüzeyinde kremalaşma hem de alt kısmında faz ayrımı olduğu belirlenmiştir. Bu durumun temel nedeninin diğer emülsiyonlara kıyasla O/W+P örneğinin partikül boyutunun daha yüksek olması ve propolis ekstraksiyonu sırasında emülsiyonun stabilitesini olumsuz etkileyebilecek bileşenlerin de ekstrakte edilmiş olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.21 : O/W emülsiyonlarının kremalaşma indeksi değerleri.

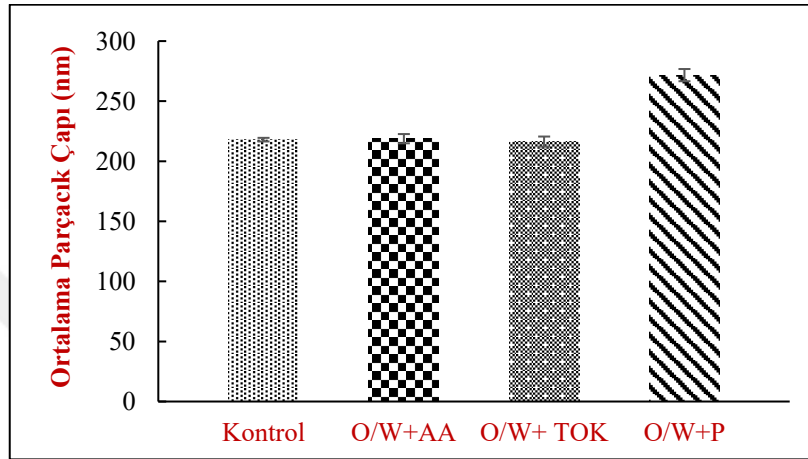
Gün	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
0	0.00	0.00	0.00	0.00
7	0.00	0.00	0.00	0.00
14	0.00	0.00	0.00	0.00
21	0.00	0.00	0.00	0.00
28	0.00	0.00	0.00	1.29±0.61 ^{a,A}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

4.3.2.5 Partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri

Şekil 4.22 ve Çizelge 4.22’de verilen emülsiyonların partikül boyutu değerleri incelendiğinde örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu

gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Ancak kontrol, O/W+AA ve O/W+TOK örnekleri arasında ise istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Örneklerin partikül boyutunun 216.37 ± 4.19 nm ile 271.67 ± 5.08 nm aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Tüm örnekler içerisinde ise partikül boyutu en yüksek olan örneğin O/W+P olduğu belirlenmiştir. Tüm emülsiyon örneklerinin bileşimleri aynı olduğundan partikül boyutundaki bu farklılığın O/W+P örneğinin bileşiminde bulunan propolisten kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.22 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapları.

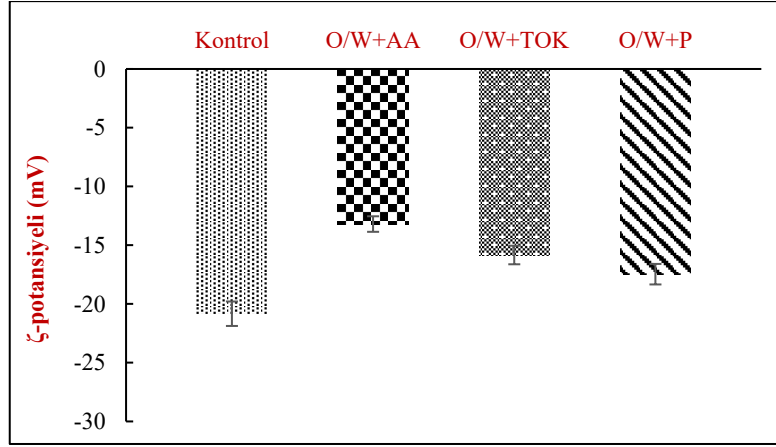
Çizelge 4.22 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değerleri.

Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
217.97±1.50 ^b	218.77±3.86 ^b	216.37±4.19 ^b	271.67±5.08 ^a

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Şekil 4.23 ve Çizelge 4.23’de verilen emülsiyonların partikül yüzey yükü değerleri incelendiğinde örneklerin partikül yüzey yüklerinin negatif olduğu belirlenmiştir. Bu durumun temel nedeninin ise emülsiyonların bileşiminde kullanılan Tween-80’in non-iyonik bir YAM olmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü, non-iyonik YAM’lar tarafından stabilize edilen lipit damlacıklarının, YAM ya da yağ içinde OH⁻ adsorbsiyonu veya serbest yağ asidi kirlilikleri mevcudiyetinden dolayı nötr pH’da negatif bir yüke sahip oldukları ifade edilmiştir (Abacı, 2020).

Çizelge 4.24’de verilen emülsiyonların partikül yüzey yükü değerleri incelendiğinde örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Örneklerin partikül yüzey yüklerinin -20.83 ± 0.42 mV ile -13.20 ± 0.36 mV aralığında olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.23 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükleri.

Çizelge 4.23 : O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değerleri.

Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
-20.83±0.42 ^d	-13.20±0.36 ^a	-15.83±0.06 ^b	-17.47±0.15 ^c

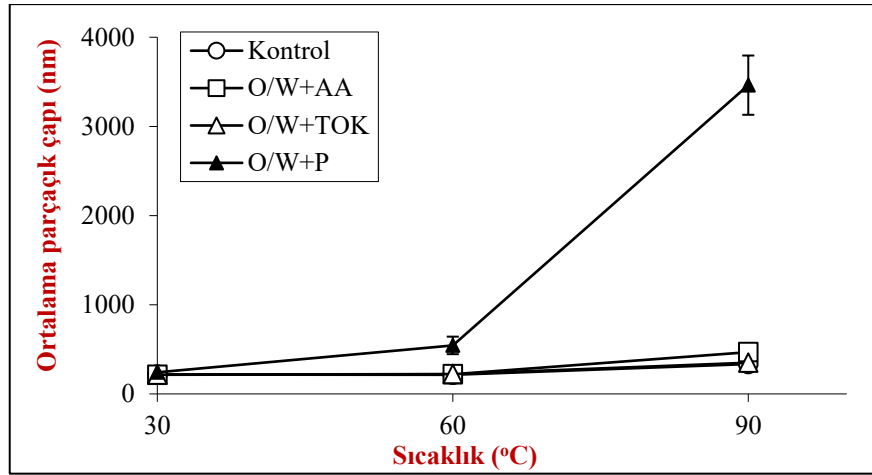
Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütunda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P < 0.05$)

Ayrıca emülsiyonların çevresel etkilere karşı fiziksel stabilite çalışmaları sırasında da partikül boyutu ve partikül yüzey yükleri belirlenmiştir. Çevresel etkilere karşı gösterilen stabilite için farklı konsantrasyonlarda tuz çözeltileri ekleme, farklı pH değerleri ve değişik sıcaklık uygulamalarında çalışmalar yapılarak emülsiyonların bu etkilere karşı partikül boyutu ve yüzey yükü değişimleri incelenmiştir. Bu değişimler alt başlıklar halinde sırası ile açıklanmıştır.

4.3.2.5.1 Termal stabilite

O/W emülsiyonlarının termal stabilitesini belirlemek amacıyla, örneklere farklı sıcaklıklar (30 °C, 60 °C, 90 °C) uygulanarak karanlık bir ortamda 24 saat bekletildikten sonra partikül boyutu ve partikül yükü ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sıcaklık uygulamasından hemen sonra ve 24 saat sonrasında O/W emülsiyonlarında meydana gelen değişimler kaydedilerek görüntüleri Şekil 4.26’da verilmiştir.

Emülsiyonlara sıcaklık uygulaması sonrasında elde edilen partikül boyutu sonuçları Şekil 4.24 ve Çizelge 4.24’te verilmiştir. Çizelge 4.24 incelendiğinde sıcaklık uygulamasının örnekler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).



Şekil 4.24 : Farklı sıcaklık uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı üzerine olan etkisi.

Örnekler kendi içerisinde değerlendirildiğinde 30 °C, 60 °C sıcaklık uygulamalarının örneklerin partikül boyutunda önemli bir farklılığa neden olmadığı ancak 90 °C'nin örneklerin partikül boyutunda önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). En büyük partikül boyutu farklılığının ise O/W+P örneğinde olduğu gözlemlenmiştir. Bu örneğin 30 °C, 60 °C ve 90 °C'de uygulamasında elde edilen partikül boyutu sırası ile 242.00 ± 11.79 nm, 544.00 ± 98.33 nm ve 5129.33 ± 893.57 nm şeklindedir. Bu verilere göre O/W+P örneğine uygulanan 30 °C'ye göre; 60 °C sıcaklığın partikül boyutunu yaklaşık 2 kat attırdığı, 90°C'nin ise partikül boyutunu yaklaşık 21 kat arttırdığı belirlenmiştir.

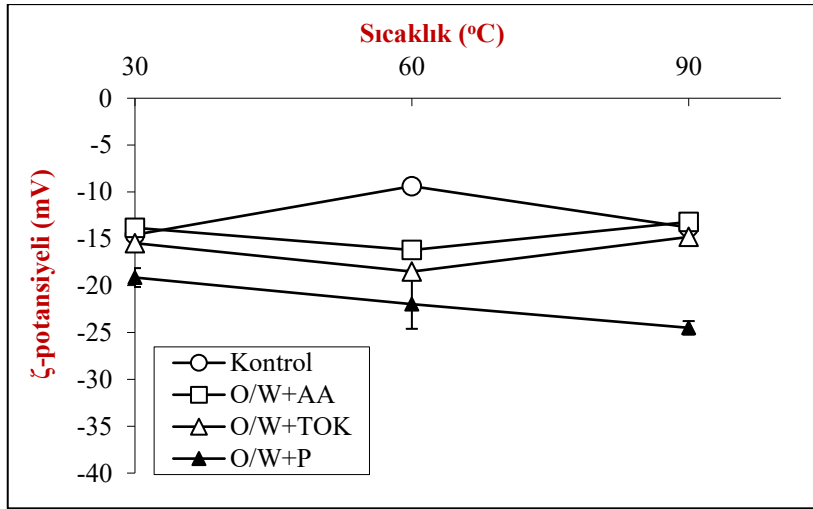
Tüm sıcaklık derecelerinde en düşük partikül boyutuna sahip örneğin kontrol örneği, en yüksek partikül boyutuna sahip örneğin ise O/W+P olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.24 : Farklı sıcaklık uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değeri.

	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
30°C	$216.23 \pm 3.75^{b,B}$	$214.63 \pm 2.91^{b,B}$	$215.50 \pm 2.14^{b,B}$	$242.00 \pm 11.79^{b,A}$
60°C	$214.43 \pm 2.83^{b,B}$	$220.83 \pm 5.37^{b,B}$	$222.33 \pm 5.05^{b,B}$	$544.00 \pm 98.33^{b,A}$
90°C	$334.77 \pm 5.10^{a,B}$	$468.37 \pm 7.56^{a,B}$	$349.73 \pm 10.22^{a,B}$	$5129.33 \pm 893.57^{a,A}$

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P < 0.05$).

O/W emülsiyonlarının termal stabilitesini belirlemek amacıyla uygulanan farklı sıcaklıkların zeta potansiyeli üzerine de etkisi incelenmiş olup elde edilen veriler. Şekil 4.25 ve Çizelge 4.25'te verilmiştir. Çizelge 4.25 incelendiğinde sıcaklık uygulamasının örnekler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).



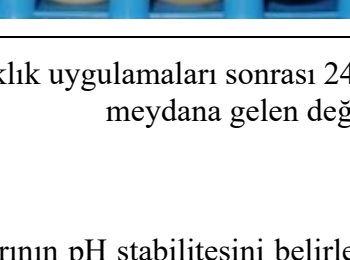
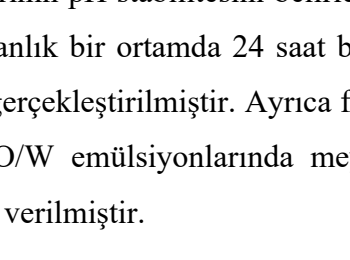
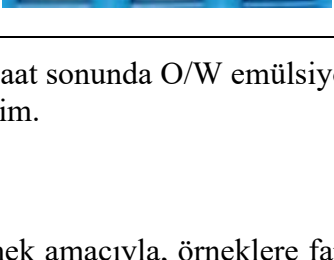
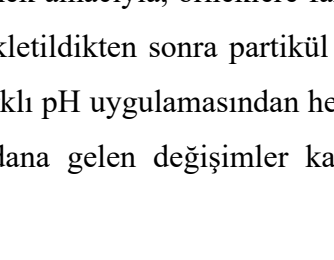
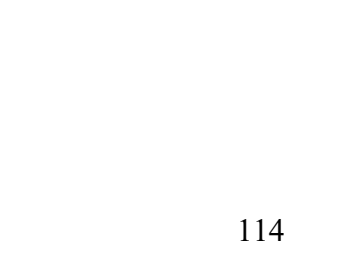
Şekil 4.25 : Farklı sıcaklık uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü üzerine olan etkisi.

Örneklerin parçacık yüzey yükü değerleri kontrol için -9.39 ± 0.46 ile -14.57 ± 0.06 mV arasında; O/W+AA için -13.20 ± 0.30 ile -16.20 ± 0.10 mV arasında; O/W+TOK için -14.80 ± 0.70 ile -18.50 ± 0.10 mV arasında; O/W+P için ise -19.13 ± 1.01 ile -24.50 ± 0.72 mV arasında bulunmuştur. Bütün sıcaklık uygulamalarında, O/W+P emülsiyonun zeta potansiyelinin mutlak değerinin diğer örneklerle kıyasla daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Benzer durum O/W+P emülsiyonun partikül boyutu sonuçlarında 60 °C ve 90 °C sıcaklık uygulamalarında da gözlemlenmiştir. Şekil 4.26’da yer alan görüntüler bu durumu destekler niteliktedir. Görüntüler görüldüğü üzere O/W+P emülsiyonu örneğine 60 °C ve 90 °C sıcaklık uygulamaları sonrasında emülsiyonda faz ayrımı olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.25 : Farklı sıcaklık uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değerleri.

	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
30°C	$-14.57 \pm 0.06^{c,AB}$	$-13.83 \pm 0.12^{b,A}$	$-15.47 \pm 0.57^{a,B}$	$-19.13 \pm 1.01^{a,C}$
60°C	$-9.39 \pm 0.46^{a,A}$	$-16.20 \pm 0.10^{c,B}$	$-18.50 \pm 0.10^{b,B}$	$-21.97 \pm 2.64^{ab,C}$
90°C	$-13.80 \pm 0.26^{b,AB}$	$-13.20 \pm 0.30^{a,A}$	$-14.80 \pm 0.70^{a,B}$	$-24.50 \pm 0.72^{c,C}$

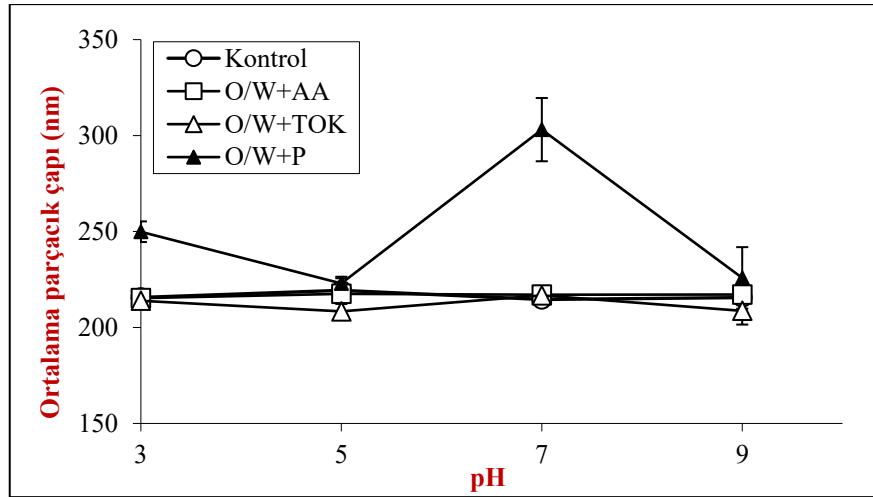
Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P < 0.05$).

	0.Gün			1.Gün		
	30 °C	60 °C	90 °C	30 °C	60 °C	90 °C
Kontrol						
O/W+AA						
O/W+TOK						
O/W+P						

Şekil 4.26 : Farklı sıcaklık uygulamaları sonrası 24 saat sonunda O/W emülsiyonlarının meydana gelen değişim.

4.3.2.5.2 pH stabilitesi

O/W emülsiyonlarının pH stabilitesini belirlemek amacıyla, örneklere farklı pH (3, 5, 7, 9) uygulanarak karanlık bir ortamda 24 saat bekletildikten sonra partikül boyutu ve partikül yükü ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca farklı pH uygulamasından hemen sonra ve 24 saat sonrasında O/W emülsiyonlarında meydana gelen değişimler kaydedilerek görüntüleri Şekil 4.29’da verilmiştir.



Şekil 4.27 : O/W emülsiyonlarının parçacık çapına pH'nın etkisi.

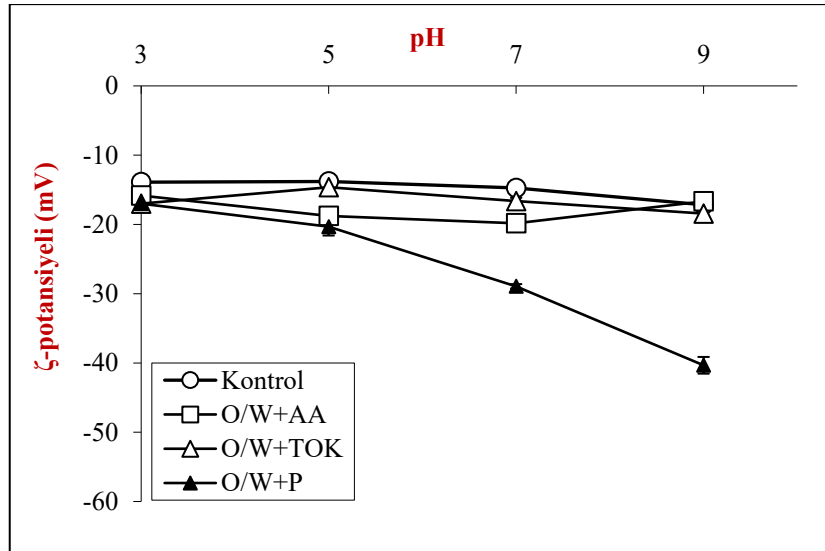
Emülsiyonlara farklı pH uygulaması sonrasında elde edilen partikül boyutu sonuçları Şekil 4.27 ve Çizelge 4.26'da verilmiştir. Çizelge 4.26 incelendiğinde pH uygulamasının örneklerin partikül boyutu değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Örnekler ayrı ayrı incelendiğinde farklı pH uygulamasının kontrol, O/W+AA ve O/W+TOK örneklerinin partikül boyutlarında istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olmadığı fakat O/W+P örneğinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Ayrıca genel olarak farklı pH uygulamalarında partikül boyutu en yüksek olan örneğin O/W+P olduğu ve bu örnek için en yüksek partikül boyu değerinin ise pH 7'de olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.26 : Farklı pH uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değeri.

	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
pH 3	215.67±2.29 ^{a,B}	215.30±2.15 ^{a,B}	213.93±0.31 ^{a,B}	249.90±5.38 ^{b,A}
pH 5	219.37±7.09 ^{a,A}	217.53±2.15 ^{a,A}	208.40±4.24 ^{a,B}	222.97±2.70 ^{c,A}
pH 7	214.60±2.95 ^{a,B}	217.10±3.18 ^{a,B}	216.73±2.61 ^{a,B}	303.10±16.48 ^{a,A}
pH 9	215.60±1.75 ^{a,A}	217.17±1.62 ^{a,A}	208.70±7.19 ^{a,A}	225.83±16.04 ^{c,A}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Emülsiyonlara farklı pH uygulamaları sonrasında elde edilen partikül yükü sonuçları Şekil 4.28 ve Çizelge 4.27'de verilmiştir. Çizelge 4.27 incelendiğinde farklı pH'larda örneklerin partikül yükü değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Elde edilen veriler incelendiğinde genel olarak örneklerin pH değeri arttıkça partikül yükünün mutlak değerce artış gösterdiği tespit edilmiştir. Örneklerin partikül yüküleri incelendiğinde, bütün pH uygulamalarında mutlak değerce en yüksek partikül yükü değerine sahip örneğin O/W+P örneği olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.28 : Farklı pH uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü üzerine olan etkisi.

Örneklerin aynı pH değerinde elde edilen parçacık yüzey yükü değerleri incelendiğinde; pH 3'te O/W+P ve O/W+TOK örneklerinin parçacık yüzey yükü değerleri arasında, pH 5'te ise kontrol ve O/W+TOK parçacık yüzey yükü değerleri arasında önemli bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.27 : Farklı pH uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değeri.

	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
pH 3	-13.90±0.52 ^{a,A}	-15.83±0.15 ^{a,B}	-17.00±0.17 ^{b,C}	-17.00±0.52 ^{a,C}
pH 5	-13.80±0.36 ^{a,A}	-18.77±0.57 ^{c,B}	-14.63±0.12 ^{a,A}	-20.33±1.27 ^{b,C}
pH 7	-14.73±0.45 ^{b,A}	-19.83±0.29 ^{d,C}	-16.63±0.47 ^{b,B}	-28.93±0.32 ^{c,D}
pH 9	-17.17±0.29 ^{c,AB}	-16.67±0.21 ^{b,A}	-18.43±0.50 ^{c,B}	-40.33±1.21 ^{d,C}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

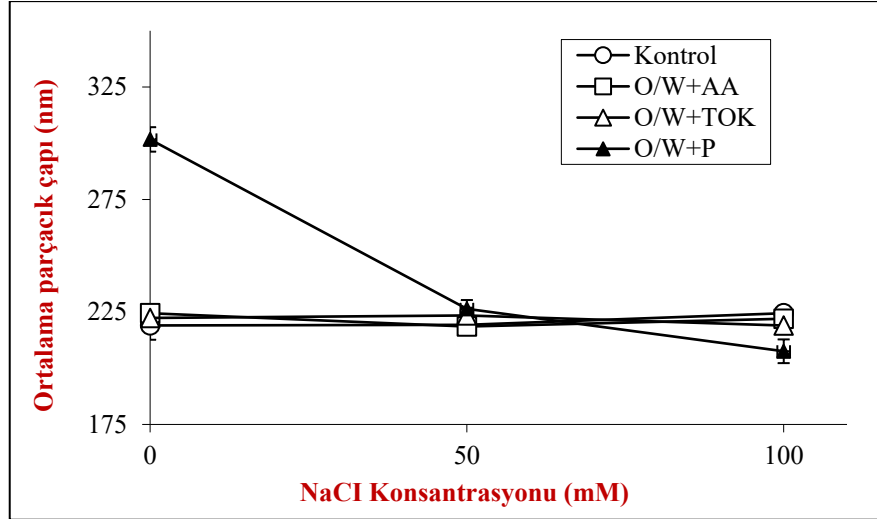
Şekil 4.2 incelendiğinde O/W emülsiyonlarına farklı pH uygulanmasının kontrol, O/W+TOK ve O/W+AA örneklerin görünüşünde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. O/W+P örneğinin görüntüleri incelendiğinde ise pH 3, pH 5 ve pH 7 uygulamasının bu örneğin görünüşünde herhangi bir değişime neden olmadığı ancak pH 9 uygulamasının örneğin renginde farklılığa neden olduğu ve daha kahverengimsi bir görüntü oluştuğu tespit edilmiştir.

	0.Gün				1.Gün			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
Kontrol								
O/W+AA								
O/W+TOK								
O/W+P								

Şekil 4.29 : Farklı pH uygulamaları sonrası 24 saat sonunda O/W emülsiyonlarının meydana gelen değişim.

4.3.2.5.3 Tuz konsantrasyonunun emülsiyon stabilitesine etkisi

O/W emülsiyonlarının iyonik gücün emülsiyon stabilitesine etkisini belirlemek amacıyla, örneklere farklı konsantrasyonlarda NaCl (0 mM, 50 mM, 100 mM) uygulanarak karanlık bir ortamda 24 saat bekletildikten sonra partikül boyutu ve partikül yüzey yükü ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca farklı NaCl konsantrasyonu uygulamasından hemen sonra ve 24 saat sonrasında O/W emülsiyonlarında meydana gelen değişimler kaydedilerek görüntüleri Şekil 4.32’de verilmiştir.



Şekil 4.30 : Farklı NaCl konsantrasyonu uygulamalarının O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı üzerine olan etkisi.

Emülsiyonlara farklı NaCl konsantrasyonu uygulaması sonrasında elde edilen partikül boyutu sonuçları Şekil 4.30 ve Çizelge 4.28’da verilmiştir. Çizelge 4.28 incelendiğinde NaCl uygulamasının örneklerin partikül boyutu değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Örnekler ayrı ayrı incelendiğinde farklı NaCl uygulamasının kontrol, O/W+AA ve O/W+TOK örneklerinin partikül boyutlarında istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olmadığı fakat O/W+P örneğinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Benzer durum farklı pH stabilitesi sonuçlarında da gözlemlenmiştir.

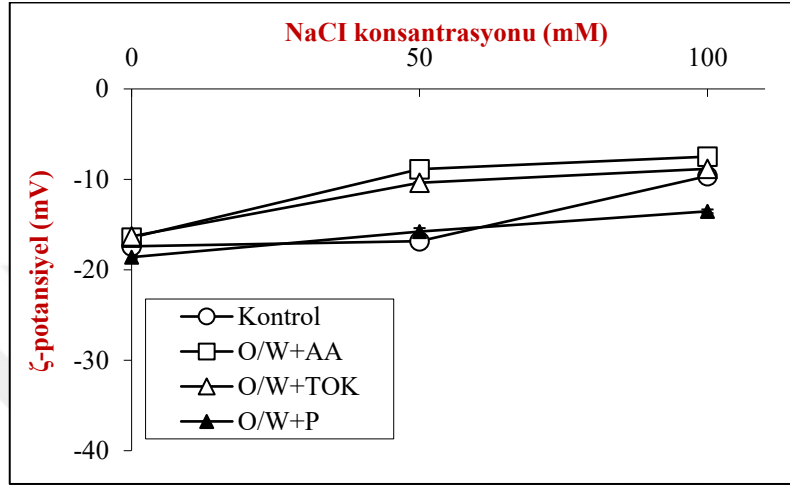
Çizelge 4.28 : Farklı tuz konsantrasyonlarında uygulanan O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı değeri.

	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
0 mM	219.00±6.35 ^{a,B}	223.93±6.83 ^{a,B}	222.30±4.75 ^{a,B}	301.70±5.44 ^{a,A}
50 mM	219.30±4.54 ^{a,AB}	218.53±2.97 ^{a,B}	223.43±3.45 ^{a,AB}	226.37±3.93 ^{b,A}
100 mM	224.43±2.29 ^{a,A}	221.97±3.96 ^{a,A}	218.97±2.57 ^{a,A}	207.53±5.27 ^{c,B}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Örneklerin 0 mM NaCl konsantrasyonu uygulanmasında örneklerin partikül boyutları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Ancak bu konsantrasyon uygulamasında kontrol, O/W+AA ve O/W+TOK örneklerinin partikül boyutları arasında önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). 0 mM ve 50 mM NaCl konsantrasyonları uygulanmasında partikül boyutu en yüksek olan örneğin O/W+P örneği olduğu belirlenmiştir. 50 mM NaCl konsantrasyonu uygulanmasında kontrol

ve O/W+TOK örneklerinin partikül boyutları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). 100 mM NaCl konsantrasyonu uygulanmasında ise kontrol, O/W+TOK ve O/W+AA örneklerinin partikül boyutları arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Söz konusu konsantrasyon uygulamasında en düşük partikül boyutuna sahip örneğin O/W+P, en yüksek partikül boyutuna sahip örneğin ise kontrol olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.31 : Farklı tuz konsantrasyonunun O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü üzerine olan etkisi.

Çizelge 4.29 : Farklı tuz konsantrasyonlarında O/W emülsiyonlarının ortalama parçacık yüzey yükü değerleri.

	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
0 mM	-17.40±0.44 ^{b,B}	-16.43±0.42 ^{c,A}	-16.30±0.36 ^{c,A}	-18.60±0.17 ^{c,C}
50 mM	-16.83±0.23 ^{b,D}	-8.88±0.06 ^{b,A}	-10.37±0.06 ^{b,B}	-15.77±0.38 ^{b,C}
100 mM	-9.63±0.28 ^{a,C}	-7.49±0.19 ^{a,A}	-8.83±0.39 ^{a,B}	-13.53±0.21 ^{a,D}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Emülsiyonlara farklı NaCl konsantrasyonu uygulaması sonrasında elde edilen partikül yüzey yükü sonuçları Şekil 4.31 ve Çizelge 4.29'da verilmiştir. Çizelge 4.29 incelendiğinde NaCl uygulamasının örneklerin partikül boyutu değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Emülsiyon örneklerine farklı NaCl konsantrasyonu uygulanması sonrasında tüm konsantrasyonlar için mutlak değerce en yüksek partikül yüzey yüküne sahip örneğin O/W+TOK olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde genel olarak örneklere uygulanan NaCl konsantrasyonu arttıkça partikül yüzey yükünün mutlak değerce azalış gösterdiği tespit edilmiştir.

Şekil 4.32 incelendiğinde O/W emülsiyonlarına farklı konsantrasyonlarda NaCl uygulanmasının örneklerin görünüşünde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir.

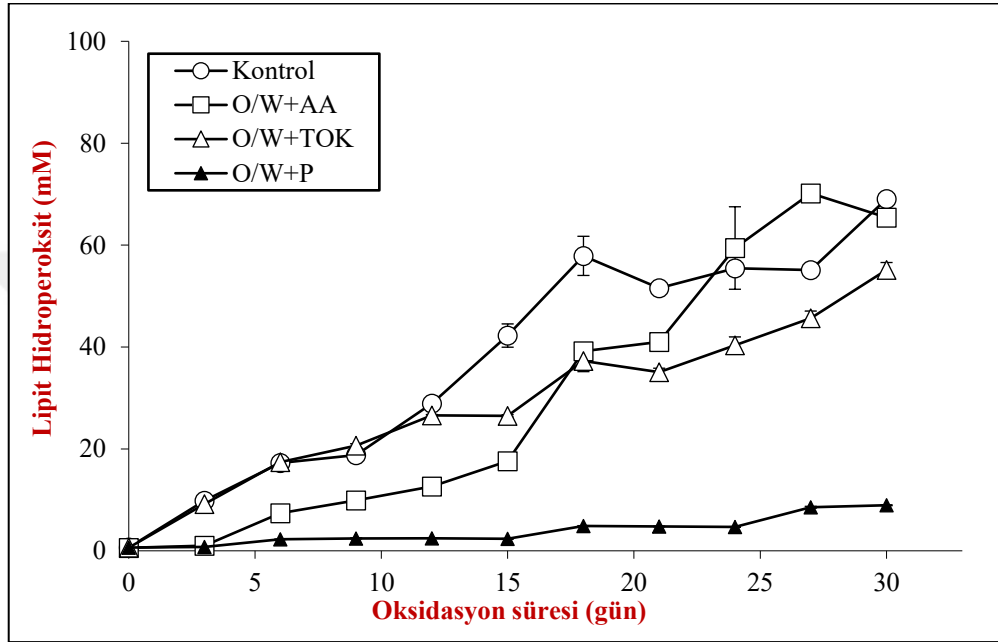
	0.Gün			1.Gün		
	0 mM	50 mM	100 mM	0 mM	50 mM	100 mM
Kontrol						
O/W+AA						
O/W+TOK						
O/W+P						

Şekil 4.32 : Farklı konsantrasyonlarda NaCl içeren O/W emülsiyonlarının 24 saat sonunda görünüşleri.

4.3.2.6 Oksidatif stabilite testleri

Çalışma kapsamında optimize edilen koşullarda O/W emülsiyonu ile elde edilen emülsiyeye propolis ekstresinin oksidatif stabilitesinin, aynı bileşimlere sahip olacak şekilde hazırlanan polar ve non-polar antioksidan içeren ve hiçbir antioksidan içermeyen O/W

emülsiyonları ile kıyaslanması amaçlanmıştır. Hazırlanan bu O/W emülsiyon örnekleri 30 gün boyunca 50 °C sıcaklıkta etüv içerisinde hızlandırılmış oksidasyon testlerine tabi tutularak birincil (hidroperoksit) ve ikincil (tiyobarbitürik asit reaktif madde) oksidasyon ürünleri oluşumları sırası ile peroksit sayısı ve TBA sayısı ile belirlenmiştir. Peroksit sayısı sonuçları Şekil 4.33 ve Çizelge 4.30’de; TBA sayısı sonuçları ise şekil 4.34 ve çizelge 4.31’de verilmiştir.



Şekil 4.33 : 50 °C’de depolanan O/W emülsiyonlarının hidroperoksit değerlerinde meydana gelen değişiklikler.

Kontrol örneğinde 0. günden itibaren lipid hidroperoksit oluşum hızında artış olduğu ve bu durumunun depolamanın 18. gününe kadar devam ettiği, sonrasında ise hem düşüş hem de yükselişlerin olduğu tespit edilmiştir. O/W+TOK, O/W+AA ve O/W+P örneklerinde lipid hidroperoksit oluşumunun 3. güne kadar sabit bir oranda arttığı, 3. günden itibaren ise O/W+TOK, O/W+AA örneklerinde hidroperoksit oluşum hızında artış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca depolama süresi boyunca bütün emülsiyon örneklerinin lipid hidroperoksit oluşumunda istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Lipit hidroperoksit sonuçlarına göre; kontrol örneğinin depolama süresince en yüksek, O/W+P örneğinin ise depolama süresi boyunca en düşük lipid hidroperoksit değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, O/W emülsiyonunda polar antioksidan olan askorbik asit, non-polar antioksidan olan α -tokoferol ve antioksidanlar bakımından zengin içeriğe sahip olan propolisin oksidatif stabiliteyi düşürücü etkisi olduğu

tespit edilmiştir. Propolisin O/W emülsiyonlarının oksidatif stabilitesini arttırma diğerlerine kıyasla daha etkili olduğu belirlenmiştir.

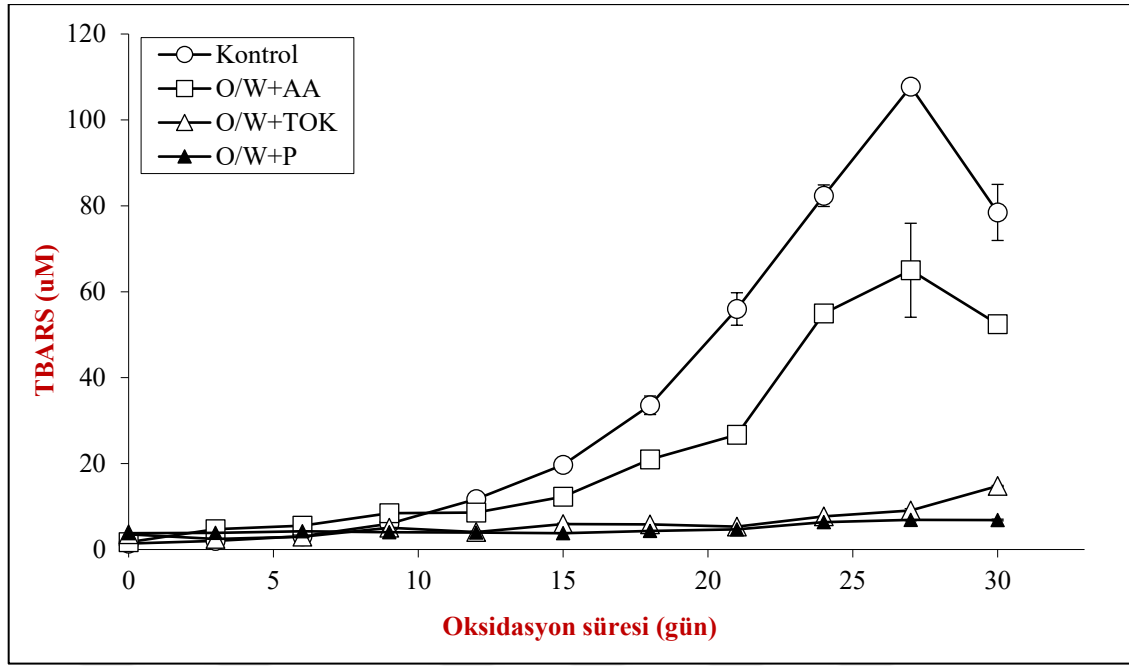
Çizelge 4.30 : 50 °C’de inkübe edilen O/W emülsiyonlarının hidroperoksit değerleri.

Gün	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
0	0.66±0.00 ^{g,A}	0.59±0.01 ^{e,B}	0.63±0.01 ^{h,AB}	0.65±0.01 ^{e,A}
3	9.83±0.02 ^{f,A}	1.00±0.20 ^{de,B}	9.19±0.38 ^{g,A}	0.75±0.07 ^{e,B}
6	17.26±0.18 ^{e,A}	7.39±0.06 ^{cde,B}	17.41±0.66 ^{f,A}	2.26±0.06 ^{d,C}
9	18.81±0.76 ^{e,A}	9.92±0.07 ^{cde,B}	20.66±0.36 ^{f,A}	2.44±0.10 ^{d,C}
12	28.91±0.54 ^{d,A}	12.65±0.01 ^{cd,C}	26.59±0.16 ^{e,B}	2.45±0.02 ^{d,D}
15	42.25±2.28 ^{c,A}	17.59±1.36 ^{c,C}	26.49±0.23 ^{e,B}	2.35±0.06 ^{d,D}
18	57.89±3.84 ^{b,A}	39.18±0.78 ^{b,B}	37.27±2.10 ^{cd,B}	4.86±0.08 ^{c,C}
21	51.55±1.17 ^{b,A}	41.01±0.13 ^{b,B}	35.06±0.78 ^{d,C}	4.78±0.07 ^{c,D}
24	55.45±1.42 ^{b,A}	59.43±8.09 ^{a,A}	40.36±1.62 ^{c,A}	4.70±0.05 ^{c,B}
27	55.10±0.18 ^{b,B}	70.17±1.04 ^{a,A}	45.66±1.40 ^{b,C}	8.54±0.19 ^{b,D}
30	69.06±0.85 ^{a,A}	65.42±0.32 ^{a,A}	55.14±1.44 ^{a,B}	8.95±0.09 ^{a,C}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

İkincil oksidasyon ürünü olarak TBARS değerleri ölçülmüş olup örneklerin TBARS değerlerinin 9. güne kadar sabit bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Dokuzuncu günden itibaren kontrol örneğinde, 12. günden itibaren ise O/W+AA örneğinde TBARS değerlerinin hızla artış gösterdiği belirlenmiştir. O/W+TOK ve O/W+P örneğinin TBARS değerlerinin ise depolama süresince genelde sabit bir hızla ilerlediği ve birbirine çok yakın değerlere sahip oldukları tespit edilmiştir. Kontrol, O/W+AA ve O/W+P örneklerinin TBARS sonuçlarının hidroperoksit oluşumuna paralel olduğu ancak O/W+TOK örneğinin değerlerinde paralellik gözlemlenmemiştir. O/W+TOK örneğinin birincil oksidasyon ürünü olan hidroperoksit oluşumun depolama süresince genelde artış gösterdiği ancak TBARS değerlerinin genelde sabit olduğu belirlenmiştir. Bu durumun temel nedeninin söz konusu örnekte oluşan hidroperoksitlerde depolanma boyunca herhangi bir parçalanmanın olmamasından ve buna bağlı olarakta ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tüm emülsiyon örneklerinin TBARS değerlerinde depolama süresi boyunca istatistiksel olarak önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Depolama süresince örneklerin TBARS değerleri küçükten büyüğe doğru genel olarak O/W+P < O/W+TOK < O/W+AA < kontrol şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, hidroperoksit oluşumuna paralel olarak bütün emülsiyon örneklerinin depolama süresi boyunca TBARS değerlerinde istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$).



Şekil 4.34 : 50 °C’de depolanan O/W emülsiyonlarının TBARS değerlerinde meydana gelen değişiklikler.

Çizelge 4.31 : 50 °C’de inkübe edilen O/W emülsiyonlarının TBARS değerleri.

Gün	Kontrol	O/W+AA	O/W+TOK	O/W+P
0	1.39±0.00 ^{f,B}	1.71±0.12 ^{d,B}	3.56±0.21 ^{fg,A}	3.81±0.09 ^{c,A}
3	2.01±0.10 ^{f,D}	4.75±0.02 ^{cd,A}	2.46±0.07 ^{h,C}	3.89±0.05 ^{c,B}
6	3.09±0.15 ^{f,C}	5.54±0.10 ^{cd,A}	3.00±0.11 ^{gh,C}	4.24±0.02 ^{bc,B}
9	6.01±0.06 ^{f,B}	8.46±0.11 ^{cd,A}	5.06±0.01 ^{e,C}	4.02±0.01 ^{c,D}
12	11.73±0.03 ^{ef,A}	8.61±0.25 ^{cd,B}	4.04±0.20 ^{f,C}	3.93±0.00 ^{c,C}
15	19.72±0.04 ^{e,A}	12.28±0.31 ^{bcd,B}	5.92±0.21 ^{d,C}	3.80±0.08 ^{c,D}
18	33.58±2.16 ^{d,A}	20.99±0.71 ^{bc,B}	5.85±0.02 ^{de,C}	4.32±0.02 ^{bc,C}
21	55.99±3.78 ^{c,A}	26.71±0.44 ^{b,B}	5.33±0.04 ^{de,C}	4.68±0.04 ^{b,C}
24	82.35±2.50 ^{b,A}	54.95±1.57 ^{a,B}	7.70±0.02 ^{c,C}	6.38±0.20 ^{a,C}
27	107.75±1.42 ^{a,A}	65.01±10.94 ^{a,B}	9.08±0.44 ^{b,C}	6.90±0.22 ^{a,C}
30	78.47±6.52 ^{b,A}	52.45±0.49 ^{a,B}	14.78±0.15 ^{a,C}	6.87±0.20 ^{a,C}

Küçük harflerle gösterilen indisler aynı sütundaki, büyük harflerle gösterilen indisler ise aynı satırda verilen ortalamaların istatistiksel grubunu göstermektedir ($P<0.05$).

Elde edilen oksidasyon sonuçlarına göre propolis W/O emülsiyonunun oksidatif stabilitesini arttırdığı gibi O/W emülsiyonunun da oksidatif stabilitesini arttırmada olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir. Söz konusu durumun temel nedeninin ise W/O emülsiyonlarının oksidatif stabilite sonuçları kısmında ifade edildiği gibi propolisin yapısında yer alan fenolik bileşiklerden ve bu fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (bölüm 4.2.3.2 Antioksidan aktivite ve 4.2.3.3 Fenolik bileşim kısmına bakınız).

Literatürde, farklı çözücülerle elde edilen propolis ekstralarının W/O emülsiyonlarının oksidatif stabilitesi üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

El-Guendouz ve diğ. (2018) tarafından yapılan çalışmada; propolisin %70'lik etanol ile hazırlanan ekstresinin, buğday tohumu ve badem yağı içeren Tween 80 ve Span 80 kullanılarak hazırlanan O/W emülsiyonlarının 37 °C'de 9 hafta süresince depolanması sırasında oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, badem yağı kullanılarak hazırlanan O/W emülsiyonlarında propolis'in %0.02 ve %0.04 konsantrasyonlarda kullanımının oksidatif stabiliteyi arttırdığı bildirilmiştir.

Da Silva ve diğ. (2025) tarafından yapılan çalışmada, yeşil (GPE) ve kahverengi (BPE) Brezilya propolislerinin %70'lik etanol ile elde edilen ekstralarının gıda emülsiyonu içinde antioksidan sinerjisini değerlendirmişlerdir. Çalışmada, GPE, BPE ve her iki ekstrenin belirli oranlarda karıştırılması ile elde edilen GPE+BPE (59:41, v/v) formülasyonları, ayrı ayrı emülsiyonlarda son konsantrasyonları %0.2 (v/v) olacak şekilde kullanılmıştır. Kontrol grupları olarak ise sentetik antioksidan olan BHT ve %70'lik etanol içeren emülsiyonlar kullanmışlardır. Hazırlanan bu emülsiyonlar hızlandırılmış koşullar altında (44 °C'de) 24 gün depolayarak emülsiyonun oksidatif stabiliteğini değerlendirmişlerdir. Emülsiyonlar YAM olarak Tween-80 ve sorbitan monooleat içermektedir. Elde ettikleri sonuçlarda etanol içeren emülsiyon hariç diğer bütün örneklerin oksidatif stabilitesinin düşük olduğu bildirilmiştir. Antioksidan içeren örnekler içerisinde ise en yüksek oksidatif stabiliteye sahip örneğin ise GPE+BPE içeren emülsiyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca propolis içeren örneklerin oksidatif stabilitesinin BHT içeren örneğe kıyasla daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak, karışık propolis ekstralarının gıdalarda antioksidan olarak daha etkili olabileceği ifade edilmiştir.

Cottica ve diğ. (2018) tarafından yapılan çalışmada, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) bakımından zengin olan soya fasulyesi yağı ve Brezilya propolisinin farklı etanol ekstraları ineklerin yemine eklenmiş ve hayvanların sütünün antioksidan aktivitesi ve lipid oksidasyonu değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda, propolis verilen ineklerin süt örneklerinde antioksidan aktivitede artış olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, süt sığırlarının diyetine propolisin etanol ekstresinin eklenmesi, propanol ve heksanal üretimi açısından lipid oksidasyonuna karşı oksidatif stabiliteyi arttırdığı ifade edilmiştir.

Yukarıda ifade edilen çalışmalarda görüldüğü üzere O/W emülsiyonlarında propolis ekstresi kullanımının emülsiyonlarda oksidatif stabiliteyi arttırdığı bildirilmektedir. Çalışmamız kapsamında elde edilen sonuçlarda da benzer durum gözlemlenmiş olup literatürde bu konuda yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Söz konusu durum propolisin bileşiminde yer alan biyoaktif bileşenlerden ve özellikle fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.4 Salata Sosunda Yapılan Analizler

4.4.1 Salata Sosu Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Salata sosunda fizikokimyasal analizler kapsamında renk, pH ve viskozite analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar sırasıyla Çizelge 4.32, Çizelge 4.33 ve Çizelge 4.34'te verilmiştir.

Çizelge 4.32 : Salata soslarının renk değerleri.

	Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
L	51.40±4.82 ^a	46.82±2.34 ^b	45.68±2.91 ^b	48.90±1.97 ^{ab}
a	-2.20±0.44 ^a	-2.72±0.46 ^a	-2.76±0.56 ^a	-2.48±0.24 ^a
b	11.08±0.64 ^c	14.02±2.05 ^b	14.08±1.35 ^b	17.72±1.61 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Salata soslarının renk değerleri incelendiğinde örneklerin L ve b değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ancak a değerleri arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir ($P>0.05$). Örnekler içerisinde en yüksek L ve a değerine kontrol, en yüksek b değerine ise SS+450P örneğinin sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin L değerlerinin 45.68 ile 51.40 arasında, a değerlerinin -2.76 ile -2.20 arasında ve b değerlerinin ise 11.08 ile 17.72 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.33 : Salata soslarının pH değerleri.

	Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
	3.99±0.01 ^a	3.99±0.01 ^a	3.99±0.02 ^a	3.98±0.02 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Örneklerin pH değerleri incelendiğinde ise örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Örneklerin pH değerlerinin 3.98-3.99 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.34 : Salata soslarının viskozite değerleri (mPa.s).

Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
1279.25±98.36 ^a	1162.50±105.31 ^{ab}	1125.00±159.48 ^{ab}	1080.00±123.96 ^b

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$)

Örneklerin viskozite değerleri incelendiğinde örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). En yüksek viskozite değerine sahip örneğin kontrol, en düşük viskozite değerine sahip örneğin ise SS+450P olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, örneklerin viskozite değerlerinin 1080.00 ile 1279.25 mPa.s arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Örneklerin viskozite değerleri karşılaştırıldığında örneklerin propolis içeriği arttıkça viskozitenin düştüğü tespit edilmiştir. Bu durumun temel nedeninin propolisin bileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ulloa ve diğ. (2017) tarafından yapılan çalışmada, biraya farklı konsantrasyonlarda (0.05, 0.15 ve 0.25 g/L) propolis etanol ekstresi (EEP) ilavesinin altın rengi ale birasının fizikokimyasal parametrelerini değiştirmedeği bildirilmiştir.

4.4.2 Toplam Fenolik Madde (TFM)

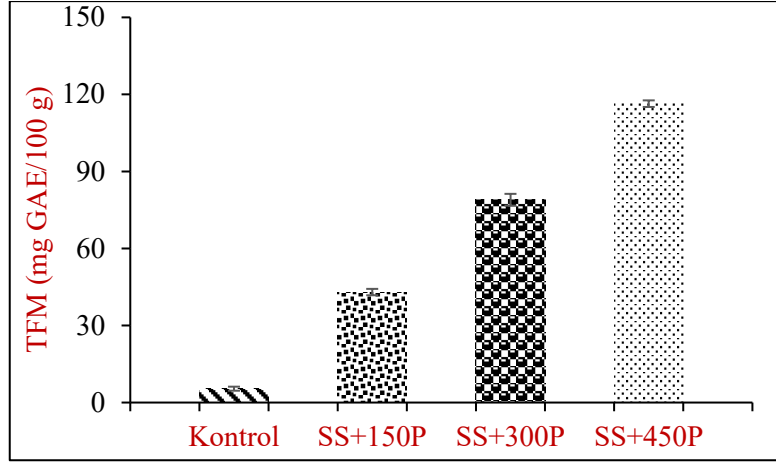
Salata soslarında yapılan TFM analizi sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.35 ve Şekil 4.35’da verilmiştir.

Çizelge 4.35 : Salata soslarının TFM sonuçları (mg GAE/100g).

Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
5.40±0.78 ^d	43.03±1.24 ^c	78.98±2.90 ^b	116.40±1.29 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Salata soslarının TFM değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Örneklerin TFM sonuçlarının 5.40±0.78 mg GAE/100g ile 116.40±1.29 mg GAE/100g arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. En düşük ve en yüksek TFM değerine sahip örneklerin sırası ile kontrol ve SS+450P olduğu gözlemlenmiştir. Örneklerin propolis içeriği arttıkça TFM değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu durumun propolisin bileşiminde yer alan biyoaktif bileşenlerden ve özellikle fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.35 : Salata soslarının TFM değerleri.

Çeşitli araştırmalar, gıda ürünlerine propolis ekstresi ilavesinin TFM ve antioksidan aktivitesini önemli ölçüde artırdığını ortaya koymuştur. Propolis konsantrasyonu bu artışlarla doğrudan ilişkilidir ve gıda formülasyonlarında fonksiyonel bir bileşen olarak potansiyelini göstermektedir.

Ulloa ve diğ. (2017) tarafından yapılan çalışmada, biraya farklı konsantrasyonlarda (0.05, 0.15 ve 0.25 g/L) propolis etanol ekstresi (EEP) ilavesinin etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, biraya EEP ilavesinin kontrol grubuna (EEP içermeyen) kıyasla %4.5, %16.7 ve %26.7 değerlerinde TFM'de doğrusal bir artışa neden olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada

Loper ve diğ. (2021) tarafından yapılan çalışmada, farklı konsantrasyonlarda Brezilya yeşil propolisinin sulu ekstresi ile takviye edilmiş kırmızı meyve suyu formülasyonlarında TFM içeriği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda kırmızı meyve suyuna propolis ekstresi ilavesinin TFM içeriğini arttırdığı bildirilmiştir.

Ghannadiasl ve Jahdoust (2024) tarafından yapılan çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki (%0, %4.7, %9.1, %16.6 ve %28.5) sulu propolis ekstresinin çiğ sütün TFM içeriği üzerine etkisi incelenmiştir. Ölçümler ilk gün sıfırıncı saatte ve tedaviden 6 ve 24 saat sonra yapılmış ve sütler analiz edilene kadar 5 °C'de muhafaza edilmiştir. TFM içeriği, 0 saatte tedavi edilen sütteki propolis ekstresi konsantrasyonunun artmasıyla artış göstermiştir. Sıfırıncı saatte en düşük ve en TFM içeriğine sahip örneklerin sırasıyla kontrol sütü ve %28.5 propolis ekstresi içeren sütte olduğu ifade edilmiştir. Kontrol numunesinde ve %4.7 propolis ekstresi içeren çiğ sütte 24 saat boyunca TFM içeriğinde azalma eğilimi gözlemlenmiştir. Bu örneklerin aksine %9.1 ve %16.6 propolis ekstresi içeren çiğ sütlerin

TFM içeriğinde artış gözlemlenmiş %28.5 propolis ekstresi içeren çiğ sütteki değişim eğiliminin ise önemsiz olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamız kapsamında propolisin salata sosunun TFM içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu veri ile literatürdeki çalışmalarda birbirini destekler niteliktedir.

4.4.3 Antioksidan Aktivite

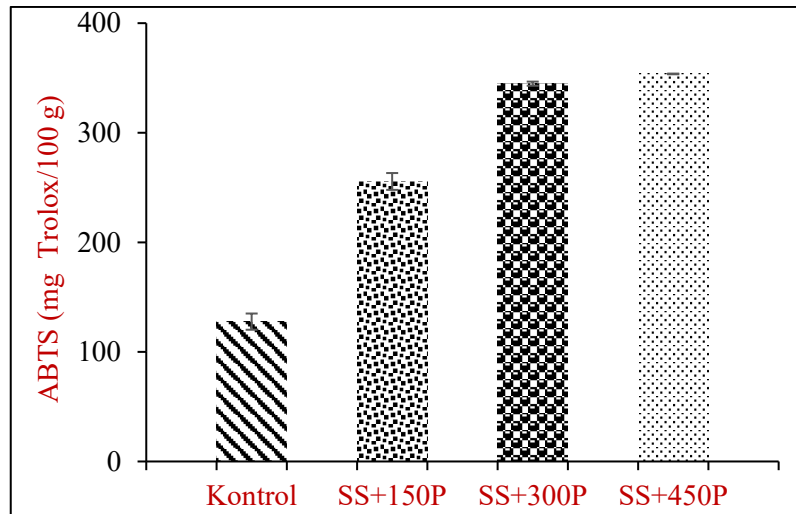
Salata soslarında yapılan antioksidan aktivite analizi olarak ABTS ve DPPH analizleri gerçekleştirilmiştir. ABTS sonuçları Çizelge 4.36 ve Şekil 4.36’da verilmiştir. DPPH sonuçları ise Çizelge 4.37 ve Şekil 4.37’de verilmiştir.

Çizelge 4.36 : Salata soslarının ABTS sonuçları (mg Trolox/100g).

Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
127.62±7.40 ^c	255.55±7.67 ^b	344.78±1.90 ^a	353.67±0.32 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Salata soslarının ABTS radikal süpürme gücü değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Örneklerin ABTS radikal süpürme gücü değerlerinin 127.62±7.40 mg Trolox/100g ile 353.67±0.32 mg Trolox/100g arasında olduğu belirlenmiştir. Örneklerin ABTS radikal süpürme gücü değerleri küçükten büyüğe doğru kontrol< SS+150P< SS+300P< SS+450P şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek ABTS radikal süpürme gücü değerine sahip olan SS+450P örneğinin TFM değerinin kontrolün 2.77 katı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.36 : Salata soslarının ABTS değerleri.

Salata soslarının DPPH değerleri incelendiğinde ise örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Örneklerin DPPH değerlerinin 85.78 ± 2.25 mg Trolox/100g ile 282.23 ± 10.84 mg Trolox/100g arasında olduğu belirlenmiştir. Örneklerin DPPH değerleri küçükten büyüğe doğru kontrol < SS+150P < SS+300P < SS+450P şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek ABTS değerine sahip olan SS+450P örneğinin TFM değerinin kontrolün 3.29 katı olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.37 : Salata soslarının DPPH sonuçları (mg Trolox/100g).

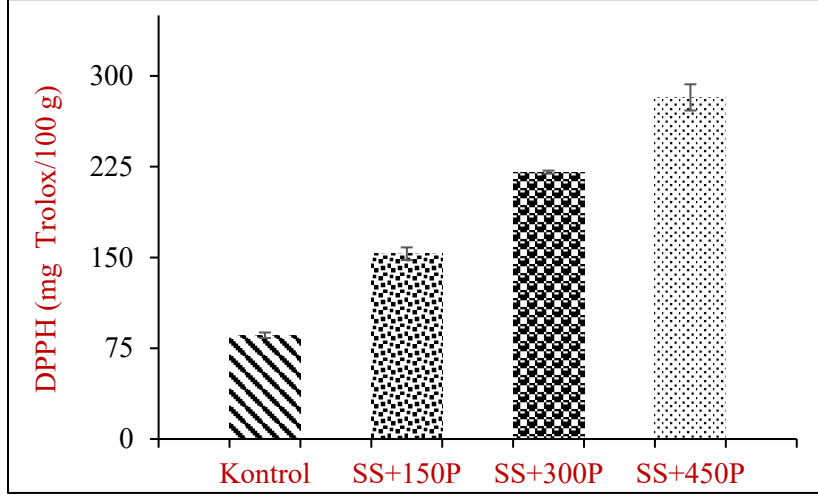
Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
85.78 ± 2.25^d	153.09 ± 5.22^c	220.48 ± 1.26^b	282.23 ± 10.84^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Antioksidan aktivite sonuçları değerlendirildiğinde hem ABTS hem de DPPH sonuçlarında propolis içeren örneklerin antioksidan aktivitesinin kontrole kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, salata soslarının bileşiminde bulunan propolis konsantrasyonu arttıkça antioksidan değerlerinde de artış olduğu belirlenmiştir. Benzer durum TFM sonuçlarında da gözlemlendiğinden elde edilen bu sonuçlar birbirini desteklemektedir (Bölüm 4.2.3 Optimize propolis ekstraktlarında biyoaktif bileşen analiz sonuçları kısmına bakınız).

Ulloa ve diğ. (2017) tarafından yapılan çalışmada, biraya farklı konsantrasyonlarda (0.05, 0.15 ve 0.25 g/L) propolis etanol ekstresi (EEP) ilavesinin etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda FRAP testi, EEP ilavesi sonrasında kontrol grubuna göre antioksidan aktivitede 1555, 1705 ve 1892 μmol Trolox eşdeğeri/L değerlerinde doğrusal artışlar olduğunu göstermiştir. Bir başka çalışmada ise, farklı konsantrasyonlarda Brezilya yeşil propolisinin sulu ekstresi ile ilave edilmiş kırmızı meyve suyu formülasyonlarında DPPH, ABTS ve FRAP yöntemleriyle değerlendirilen nihai ürünün antioksidan aktivitesini güçlendirildiği bildirilmiştir. Ayrıca gıda örneklerindeki antioksidan aktivite artışının meyve suyuna eklenen sulu yeşil propolis özlerinin konsantrasyonuyla orantılı olduğuda ifade edilmiştir (Loper ve diğ., 2021). Bir başka çalışmada, çiğ süte farklı konsantrasyonlardaki (%0, %4.7, %9.1, %16.6 ve %28.5) sulu propolis ekstresi ilavesinin örneklerin DPPH testi kullanılarak değerlendirilen antioksidan aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Ghannadiasl ve Jahdoust, 2024).

Sonuç olarak çalışmamız kapsamında propolisin salata sosu örneklerinin antioksidan aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu veri ile literatürdeki çalışmalarında birbirini desteklemektedir.



Şekil 4.37 : Salata soslarının DPPH değerleri.

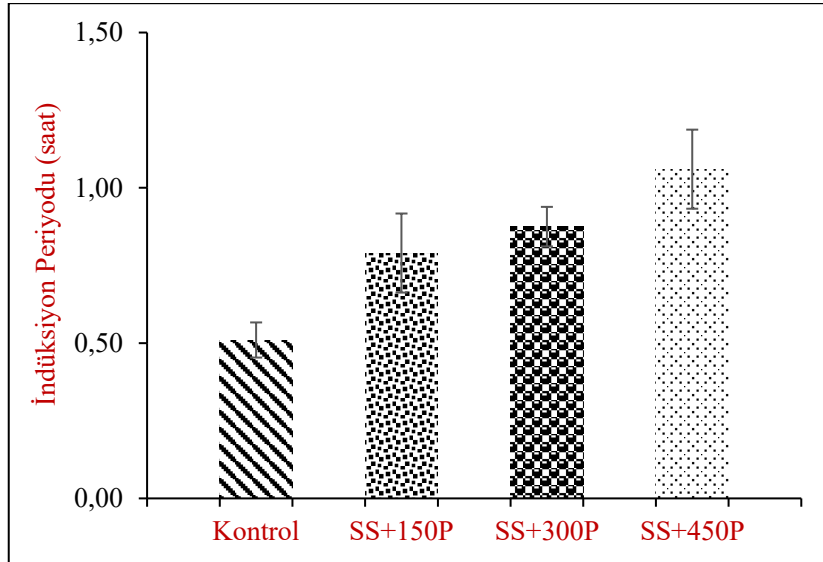
4.4.4 Ransimat analizi

Salata soslarının oksidatif stabilitesini belirlemek amacıyla ransimat analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.38 ve Şekil 4.38’da verilmiştir.

Çizelge 4.38 : Salata soslarının Ransimat testi ile belirlenen indüksiyon süreleri (saat).

Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
0.51±0.06 ^b	0.79±0.13 ^a	0.88±0.06 ^a	1.06±0.13 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.38 : Salata soslarının Ransimat metoduyla belirlenen indüksiyon süreleri.

Sonuçlar değerlendirildiğinde örneklerin ransimat sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Örneklerin indüksiyon periyotlarının 0.51±0.06 saat ile 1.06±0.13 saat arasında olduğu belirlenmiştir. Örneklerin

oksidatif stabiliteleri kıyaslandığında küçükten büyüğe doğru kontrol < SS+150P < SS+300P < SS+450P şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. Oksidatif stabilitesi en yüksek ve en düşük olan örneklerin sırası ile SS+450P ve kontrol olduğu belirlenmiştir. Salata sosuna propolis ilavesinin oksidatif stabiliteyi arttırdığı ve propolis konsantrasyonu arttıkça oksidatif stabilitede artış olduğu tespit edilmiştir.

Örneklerin ransimat analizi sonucunda elde edilen değerleri ile TFM, ABTS ve DPPH değerleri birbirini destekler niteliktedir.

4.4.5 *in vitro* sindirim analizi

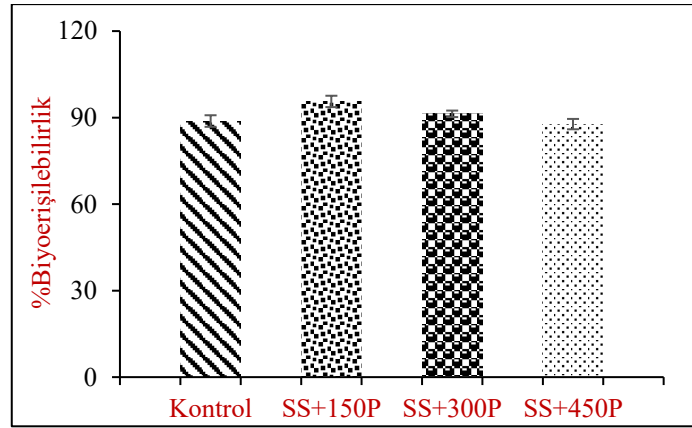
Salata sosu örneklerinde *in vitro* sindirim gerçekleştirilmiş olup ince bağırsak fazı sonrasında elde edilen üründe TFM analizi gerçekleştirilip %biyoerişilebilirlikleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.39 ve Şekil 4.39’da verilmiştir.

Farklı oranlarda propolis ekstresi içeren salata sosu örneklerinin %biyoerişilebilirliklerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Örneklerin %biyoerişilebilirlikleri karşılaştırıldığında SS+150P örneğinin en yüksek değere sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak salata sosu örneklerinde propolis konsantrasyonu arttıkça %biyoerişilebilirlikte düşüş olduğu belirlenmiştir. Söz konusu durumun yüksek konsantrasyonlarda propolis ekstresi kullanımının fenolik bileşiklerin salınımını ve emilimini engelleyen karmaşık etkileşimlere yol açmasından kaynaklanabileceği ve gıda matriksinde bulunan diğer bileşenler ile etkileşime girerek fenolik bileşik salınımı olumsuz etkilemesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Mutlu ve diğ. (2024) ise yüksek konsantrasyonların, sindirim sırasında hassas fenolik bileşiklerin daha fazla bozulmasına yol açabileceği ifade etmişlerdir.

Çizelge 4.39 : Salata sosu örneklerinde *in vitro* sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değerleri.

Faz	Kontrol	SS+150P	SS+300P	SS+450P
İnce Bağırsak	88.81±2.01 ^b	95.61±1.97 ^a	91.31±1.13 ^{ab}	87.75±1.79 ^b

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

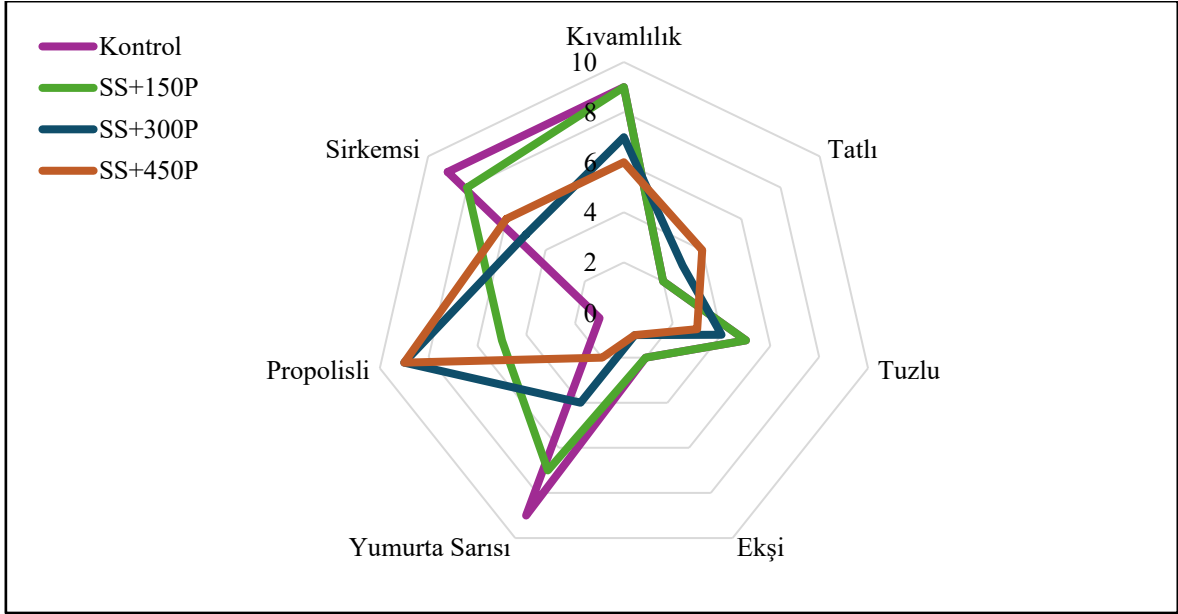


Şekil 4.39 : Salata sosu örneklerinde *in vitro* sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değerleri.

Propolis bileşiminde yüksek reçine ve lipit içerdiğinden, bu komplekslerin çözünürlüğünün sindirim ilerledikçe, muhtemelen sindirim sıvıları ve enzimlerin etkisiyle artış gösterdiğini ifade edilmektedir (Mutlu ve diğ., 2024). Literatürde yapılan başka çalışmalarda ise sindirim süreci sonunda fenolik madde içeriğinde gözlemlenen artışın, enzim uygulamaları ve bağırsak evresindeki inkübasyon sırasında fenolik bileşiklerin ekstrakte edilebilirliğinin artmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Bouayed ve diğ., 2011; Özdal diğ., 2019). Ayrıca bağırsak sindirimi sırasında görülenler gibi daha yüksek pH ortamları, fenolik bileşiklerin konsantrasyonunu artırma eğiliminde olduğu da ifade edilmiştir (Özkan ve diğ., 2022).

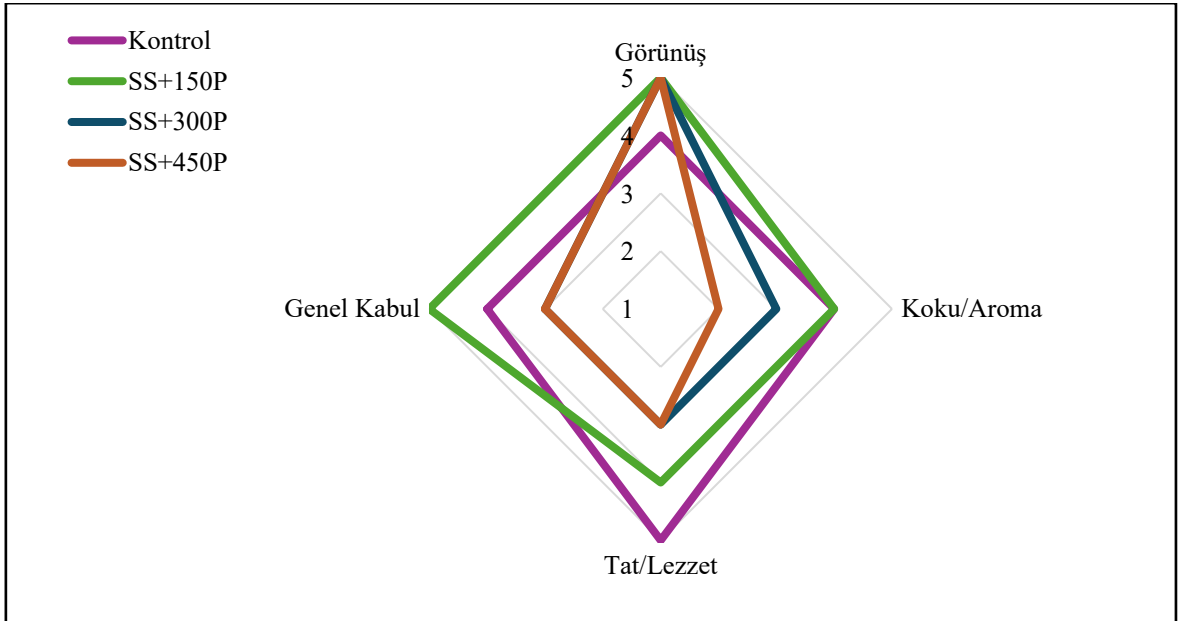
4.4.5 Duyusal analiz

Bu çalışma kapsamında hazırlanan salata sosu örneklerinin duyusal değerlendirme öncesi duyusal tanımlama sonuçları Şekil 4.40'da ve duyusal değerlendirme sonuçları ise Şekil 4.41'de verilmiştir. Gıda maddelerinin duyusal özellikleri, belirli duyusal tanımlayıcı terimler kullanılarak, eğitilmiş panelistler ve standart test yöntemleri aracılığıyla nicel verilere dönüştürülebilmektedir (Bildi, 2021). Elde edilen bu veriler, ürünü doğrudan görmeyen bir okuyucunun, ürünün nasıl bir yapıya ve özelliğe sahip olduğu konusunda güçlü bir fikir edinmesine olanak tanımaktadır. Salata soslarının duyusal tanımlama değerlendirilmesinde 7 adet terim kullanılmıştır. Bunlar; kıvamlılık, tatlı, tuzlu, ekşi, yumurta sarısı, propolisli ve sirkemsi şeklindedir. Puanlama skalası 10 üzerinden değerlendirilmiştir. Sıfır ifade edilen terimin algılanmadığını ifade ederken 0'dan 10'a doğru yaklaşıldıkça o terimin algılanma seviyesinde bir artış olduğu ifade edilmektedir.



Şekil 4.40 : Salata soslarının duyu tanımlama değerlendirilmesi.

Dört farklı salata sosunda yapılan duyu tanımlamada diğer örneklerle kıyasla kontrol örneğinde kıvamlılık, sirkemsi tad ve yumurta sarısı tadının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Propolis tadı en yüksek olan örneklerin SS+300P ve SS+450P olduğu; SS+150P örneğinde propolis tadının düşük olduğu kontrol örneğinde ise propolis tadının algılanmadığı belirlenmiştir. Çünkü kontrol örneği propolis içermemektedir. Ayrıca, SS+150P ve SS+300P örneklerinde tuz tadının algılandığı gözlemlenmiştir. Tüm örneklerde genel olarak tatlı ve ekşi tadın algılanmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.41 : Salata soslarının duyu değerlendirilmesi.

Salata soslarının duysal değerlendirmesi gönüllü katılımcılar tarafından görünüş, koku/aroma, tat/lezzet ve genel kabul değerlendirilerek yapılmıştır. Puanlama için 1 ile 5 aralığında rakamlar kullanılarak yapılmıştır. Puanlamada kullanılan numaralar sırası ile 1: hiç beğenmedim, 2: az beğendim, 3: ne beğendim ne beğenmedim, 4: beğendim, 5: çok beğendim açıklamalarını ifade etmektedir.

Genel olarak örneklerin görünüş skorlarının diğer niteliklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Koku/aroma niteliği değerlendirildiğinde kontrol ve SS+150P örneklerinin skorlarının eşit olduğu ve SS+300P ve SS+450P örneklerinden ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tat/lezzet niteliği değerlendirildiğinde ise kontrol örneğinin en yüksek skora sahip olduğu bunu SS+150P örneğinin takip ettiği, SS+300P ve SS+450P örneklerinin ise aynı skora sahip olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin genel kabul edilebilirliklerinin ise sırası ile büyükten küçüğe doğru SS+150P> kontrol> SS+300P≥ SS+450P şeklindedir.

Salata soslarının tüketici kabulü değerlendirildiğinde SS+150P örneğinin diğer propolis içeren örneklere kıyasla daha kabul edilebilir olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu örneğin koku/aroma ve tat/lezzet özelliklerinin geliştirilmesinin gerekmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda, ürün formülasyonu, bileşenlerin türü ve miktarı ile hazırlama koşulları değiştirilerek, tüketicilerin daha çok beğeneceği ürünlerin geliştirilmesi önerilmektedir.

Loper ve diğ. (2021) tarafından yapılan çalışmada, farklı konsantrasyonlarda Brezilya yeşil propolisinin sulu ekstresi ile takviye edilmiş kırmızı meyve suyu formülasyonlarında gönüllü tüketiciler tarafından formülasyonun duysal kabulü araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, propolis içeren tüm kırmızı meyve suyu formülasyonları, genel kabul edilebilirlik testinde önemli sonuçlar vermiş ve gönüllü tüketiciler tarafından satın alma niyetine ilişkin olarak onaylanmıştır. Formülasyon F3 (6.1 mg.mL⁻¹) en iyi sonuçları göstermiştir. Olumlu satın alma niyeti, katılımcıların kabulünün %64.75'ine ulaşmıştır. Sağlık yararları ile birleştirilmiş, hoş duysal ve fonksiyonel özelliklere sahip, şeker içermeyen yeni bir içecek elde edilmiştir.

Gıdalara propolis ekstresi ilavesi TFM ve antioksidan aktiviteyi artırırken, gıda ürünleri üzerindeki potansiyel duysal etkileri dikkate almak önemlidir. Bazı çalışmalar, propolis ekstresinin yüksek konsantrasyonlarının gıda ürününün tadını değiştirebileceğini ve tüketici kabulünü korumak için dikkatli formülasyonlar kullanılması gerektirdiğini göstermektedir (Lopes ve diğ., 2021).

4.5 Kakaolu Fındık Kremasında Yapılan Analizler

4.5.1 Kakaolu Fındık Kreması Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Kakaolu fındık kremasında yapılan fizikokimyasal analizler kapsamında renk, pH, viskozite ve a_w analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar sırasıyla Çizelge 4.40, Çizelge 4.41, Çizelge 4.42 ve Çizelge 4.43'te verilmiştir.

Çizelge 4.40 : Kakaolu fındık kreması renk değerleri.

	Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
L	27.18±1.82 ^a	28.70±1.95 ^a	27.52±1.40 ^a	28.30±1.70 ^a	27.92±2.02 ^a
a	1.38±0.27 ^a	1.93±0.32 ^a	1.42±0.36 ^a	1.32±0.29 ^a	1.78±0.16 ^a
b	6.72±0.69 ^a	6.61±0.70 ^a	6.85±0.61 ^a	6.43±0.27 ^a	6.30±0.64 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Kakaolu fındık kremalarının renk değerleri incelendiğinde örneklerin L ve b değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir ($P>0.05$). Örnekler içerisinde en yüksek L, a ve b değerine sırası ile KFK+35P, KFK+35P ve KFK+70P örneklerinin sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin L değerlerinin 27.18 ile 28.70 arasında, a değerlerinin 1.32 ile 1.93 arasında ve b değerlerinin ise 6.30 ile 6.85 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.41 : Kakaolu fındık kreması pH değerleri.

	Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
	6.86±0.02 ^a	6.85±0.01 ^a	6.78±0.01 ^a	6.80±0.07 ^a	6.81±0.08 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Örneklerin pH değerleri incelendiğinde ise örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Örneklerin pH değerlerinin 6.80 ile 6.86 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.42 : Kakaolu fındık kreması viskozite değerleri (mPa.s).

	Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
	14665±756.6 ^a	14785±685.9 ^a	14465±473.8 ^a	14735±1039.4 ^a	14665±473.8 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Örneklerin viskozite değerleri incelendiğinde örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir ($P>0.05$). En yüksek viskozite değerine sahip örneğin KFK+35P, en düşük viskozite değerine sahip örneğin ise KFK+70P olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin viskozite değerlerinin 14465 ile 14785 mPa.s arasında

değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak örneklerin bileşiminde bulunan propolisin viskozite üzerinde bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.43 : Kakaolu fındık kreması hızlandırılmış aw değerleri.

Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
0.406±0.01 ^a	0.404±0.01 ^a	0.413±0.01 ^a	0.407±0.01 ^a	0.415±0.01 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Örneklerin aw değerleri incelendiğinde örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir ($P>0.05$). En yüksek aw değerine sahip örneğin KFK+140P, en düşük aw değerine sahip örneğin ise KFK+35P olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin aw değerlerinin 0.404 ile 0.415 arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak örneklerin bileşiminde bulunan propolisin örneklerin aw içeriği üzerinde bir etkisi olmadığı belirlenmiştir.

4.5.5 Hızlandırılmış yağ ayrılması (%HYA)

Kakaolu fındık kreması gibi sürülebilir kıvama sahip kremlerde yağ ayrılması katı parçacıkların özgül ağırlık farkı ve seçilen yağın tipinden ileri geldiği ifade edilmektedir. Bu tür sürülebilir ürünlerin yüzeyinde oluşan serbest yağ ayrılması önemli bir problem teşkil etmektedir (Ertuğrul, 2023). HYA değeri örneklerin yüzeyinde oluşan serbest yağ ayrılmasının bir ölçüsüdür. Örneklerin %HYA değerleri Çizelge 4.44'te verilmiştir. Örneklerin HYA değerinin %7.35 ile %8.58 arasında olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin HYA değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.44 : Kakaolu fındık kreması hızlandırılmış yağ ayrılması değerleri (%).

Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
8.58±0.52 ^a	8.39±0.12 ^a	8.54±1.06 ^a	8.49±0.45 ^a	7.35±0.49 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Ertuğrul (2023) tarafından yapılan çalışmada, kakaolu fındık kreması örneklerinin HYA değerleri %8.27–11.73 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir.

4.5.7 Toplam Fenolik Madde (TFM)

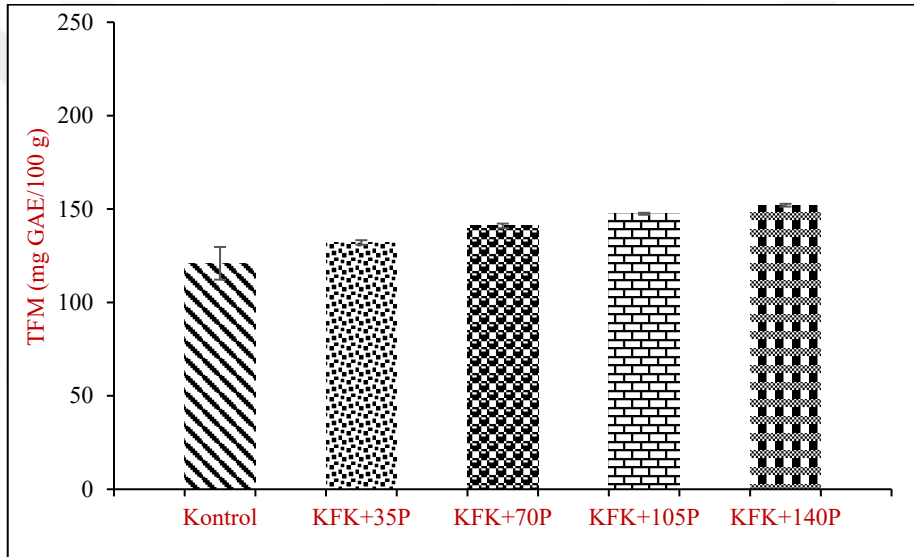
Kakaolu fındık kreması örneklerinde yapılan TFM analizi sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.45 ve Şekil 4.42'da verilmiştir.

Çizelge 4.45 : Kakaolu findık kreması TFM değerleri (mg GAE/ 100 g).

Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
120.95±8.75 ^d	132.11±1.21 ^c	141.00±1.23 ^{bc}	147.47±0.52 ^{ab}	152.06±0.74 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Örneklerin TFM değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Örneklerin TFM sonuçlarının 120.95±8.75 mg GAE/100g ile 152.06±0.74 mg GAE/100g arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. En düşük ve en yüksek TFM değerine sahip örneklerin sırası ile kontrol ve SS+450P olduğu gözlemlenmiştir. Örneklerin propolis içeriği arttıkça TFM değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu durumun propolisin bileşiminde yer alan fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.42 : Kakaolu findık kremasının TFM sonuçları.

4.5.8 Antioksidan Aktivite

Kakaolu findık kremalarında antioksidan aktivite analizi olarak ABTS ve DPPH analizleri gerçekleştirilmiştir. ABTS sonuçları Çizelge 4.46 ve Şekil 4.43’de verilmiştir. DPPH sonuçları ise Çizelge 4.47 ve Şekil 4.44’de verilmiştir.

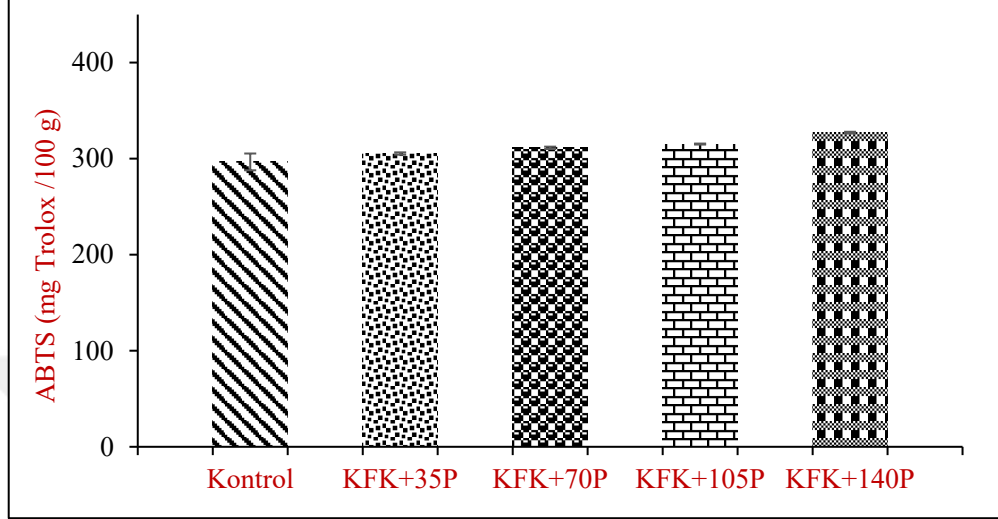
Çizelge 4.46 : Kakaolu findık kreması ABTS değerleri (mg Trolox/100 g).

Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
296.60±8.72 ^c	305.31±0.60 ^{bc}	311.24±0.61 ^b	315.18±1.22 ^b	327.21±0.32 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).

Kakaolu findık kremasının ABTS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Örneklerin ABTS değerlerinin 296.60±8.72 mg

Trolox/100g ile 327.21 ± 0.32 mg Trolox/100g arasında olduğu belirlenmiştir. Örneklerin ABTS değerleri küçükten büyüğe doğru kontrol < SS+150P < SS+300P < SS+450P şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek ABTS değerine sahip örneğin olan SS+450P olduğu belirlenmiştir.

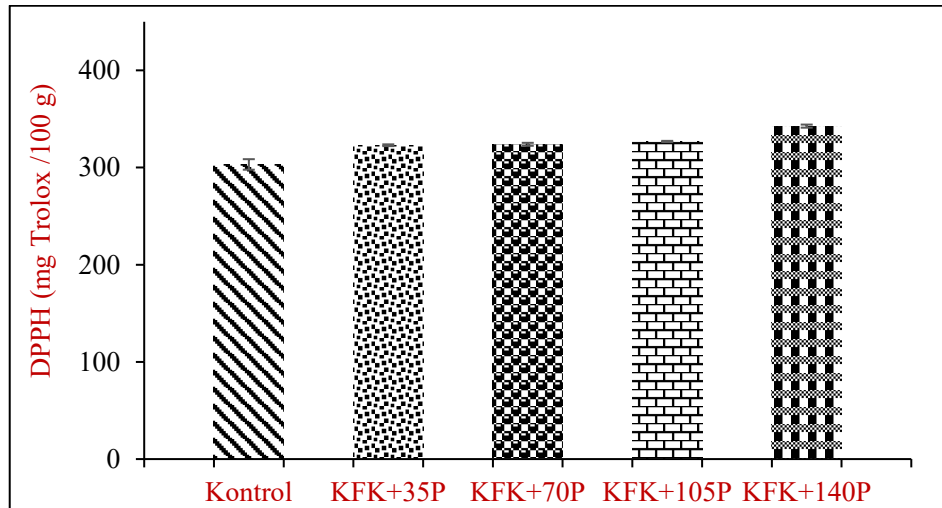


Şekil 4.43 : Kakaolu fındık kremasının ABTS sonuçları.

Çizelge 4.47 : Kakaolu fındık kreması DPPH değerleri (mg Trolox/100 g).

Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
303.19±5.41 ^c	322.96±0.90 ^b	323.90±1.52 ^b	326.82±0.61 ^b	342.61±1.60 ^a

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).



Şekil 4.44 : Kakaolu fındık kremasının DPPH sonuçları.

Örneklerin DPPH değerleri incelendiğinde ise örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Örneklerin DPPH değerlerinin 303.19 ± 5.41 mg Trolox/100g ile 342.61 ± 1.60 mg Trolox/100g arasında olduğu

belirlenmiştir. En yüksek ve en düşük DPPH değerine sahip olan örneklerin sırası ile SS+450P ve kontrol olduğu tespit edilmiştir.

4.4.5 *in vitro* sindirim analizi

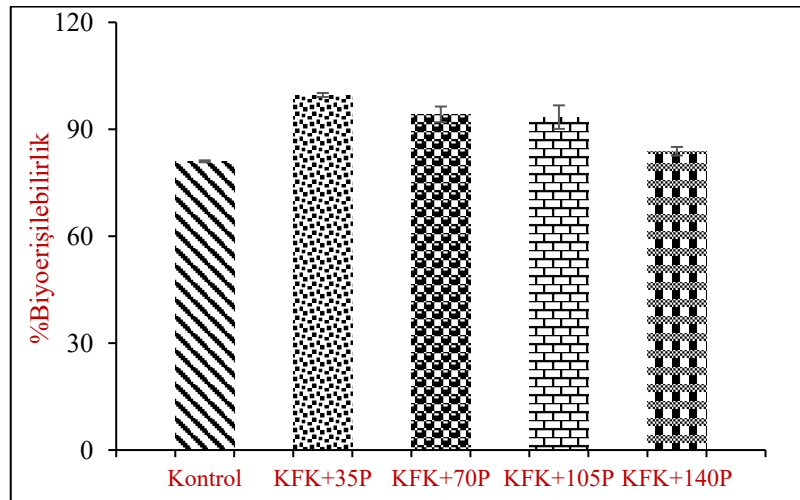
Kakaolu fındık kremalarında *in vitro* sindirim gerçekleştirilmiş olup sindirim sonrasında elde edilen ürünlerde TFM analizi gerçekleştirilip %biyoerişilebilirlikleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.48 ve Şekil 4.45’da verilmiştir.

Farklı oranlarda propolis ekstresi içeren kakaolu fındık kreması örneklerinde sindirim sonrası örneklerin %biyoerişilebilirliklerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Örneklerin %biyoerişilebilirlikleri büyükten küçüğe doğru sıralandığında KFK+35P, KFK+70P, KFK+105P, KFK+140P, kontrol şeklindedir. Fındık kreması örneklerinde konsantrasyon arttıkça biyoerişilebilirliğinde düşüş olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu durumun yüksek konsantrasyonlarda propolis ekstresi kullanımının fenolik bileşiklerin salınımını ve emilimini engelleyen karmaşık etkileşimlere yol açmasından kaynaklanabileceği ve gıda matriksinde bulunan diğer bileşenler ile etkileşime girerek fenolik bileşik salınımı olumsuz etkilemesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer durum salata sosu sonuçlarında da gözlemlenmiştir (4.4.5 *in vitro* sindirim kısmına bakınız).

Çizelge 4.48 : Kakaolu fındık kreması örneklerinde *in vitro* sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değerleri.

Faz	Kontrol	KFK+35P	KFK+70P	KFK+105P	KFK+140P
İnce Bağırsak	81.01±0.27 ^c	99.61±0.56 ^a	94.18±2.20 ^b	93.40±3.30 ^b	83.83±1.21 ^c

Harflendirme ile gösterilen indisler aynı satırdaki verilen ortalamaların istatistiksel grubunu ifade etmektedir ($P<0.05$).



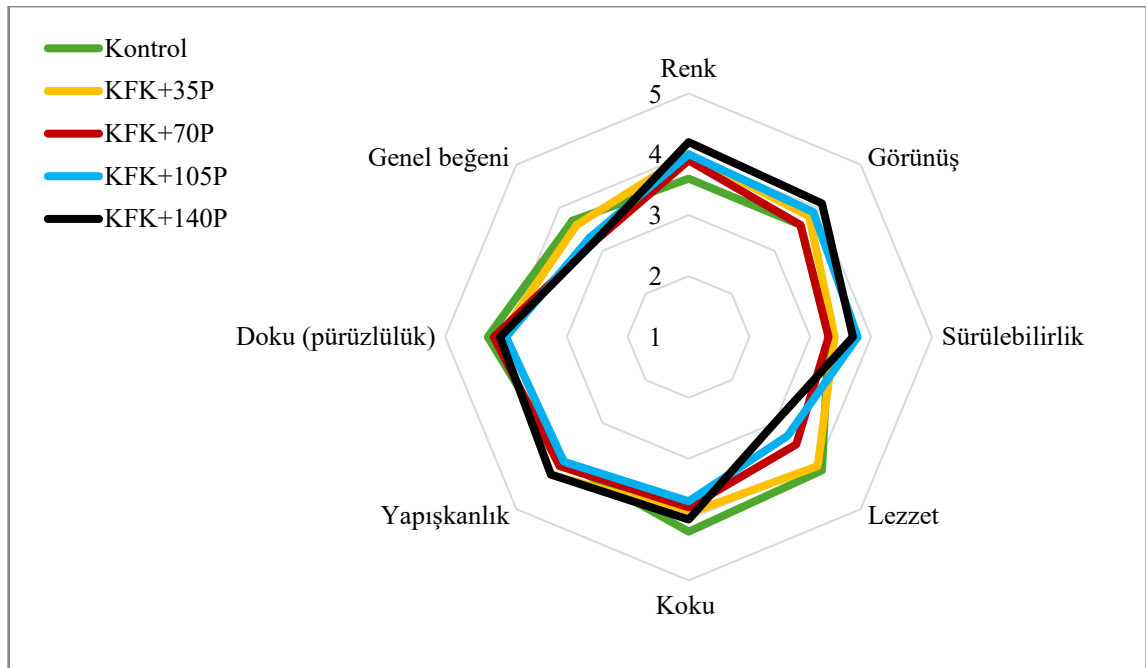
Şekil 4.45 : Kakaolu fındık kreması örneklerinde *in vitro* sindirim sonucu fenolik bileşiklerin %biyoerişilebilirlik değerleri.

Propolis bileşiminde yüksek reçine ve lipit içerdiğinden, bu komplekslerin çözünürlüğünün sindirim ilerledikçe, muhtemelen sindirim sıvıları ve enzimlerin etkisiyle artış gösterdiğini ifade edilmektedir (Mutlu ve diğ., 2024). Literatürde yapılan başka çalışmalarda ise sindirim süreci sonunda fenolik madde içeriğinde gözlemlenen artışın, enzim uygulamaları ve bağırsak evresindeki inkübasyon sırasında fenolik bileşiklerin ekstrakte edilebilirliğinin artmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Bouayed ve diğ., 2011; Özdal diğ., 2019). Ayrıca bağırsak sindirimi sırasında görülenler gibi daha yüksek pH ortamları, fenolik bileşiklerin konsantrasyonunu artırma eğiliminde olduğu da ifade edilmiştir (Özkan ve diğ., 2022).

4.5.9 Duyusal analiz

Bu çalışma kapsamında hazırlanan kakaolu fındık kreması örnekleri için yapılan duyusal değerlendirme sonuçları Şekil 4.46'de verilmiştir.

Kakaolu fındık kremasının duyusal değerlendirmesi gönüllü katılımcılar tarafından görünüş, renk, sürülebilirlik, lezzet, koku, yapışkanlık, doku (pürüzlülük) ve genel beğeni değerlendirilerek yapılmıştır. Puanlama için 1 ile 5 aralığında rakamlar kullanılarak yapılmıştır. Puanlamada kullanılan numaralar sırası ile 1: hiç beğenmedim, 2: az beğendim, 3: ne beğendim ne beğenmedim, 4: beğendim, 5: çok beğendim açıklamalarını ifade etmektedir.



Şekil 4.46 : Kakaolu fındık kremasının duyusal analiz değerlendirmesi.

Kakaolu fındık kreması örnekleri farklı oranlarda propolis ekstresi ile zenginleştirilmiştir. Örneklerin genel olarak doku (pürüzlülük) ve yapışkanlık özelliklerinin aynı beğeniye sahip olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin koku özellikleri değerlendirildiğinde ise en yüksek ve en düşük beğeniye sahip örneklerin sırası ile kontrol ve KFK+105P olduğu belirlenmiştir. Lezzet özelliği en yüksek olan örneklerin ise kontrol ve KFK+35P olduğu görülmüştür. Genel olarak düşük örneklerin sürülebilirlik özelliklerinin diğer özelliklerine kıyasla daha az beğenildiği tespit edilmiştir. Görünüş ve renk değerlerinin ise örneklerin propolis içeriği arttıkça daha fazla beğenildiği gözlemlenmiştir. Örneklerin genel beğenileri incelendiğinde ise büyükten küçüğe doğru kontrol, KFK+35P, KFK+70P, KFK+105P ve KFK+140P şeklinde sıralandığı görülmüştür. Örneklerin propolis içeriği arttıkça genel beğenilerinde azalma gözlemlenmiştir.

Örneklerin tüketici kabulü değerlendirildiğinde KFK+105P örneğinin diğer propolis içeren örneklerle kıyasla daha kabul edilebilir olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu örneğin sürülebilirlik ve görünüş özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda, söz konusu ürünün sürülebilirlik ve görünüş özelliklerinin dair iyileştirmelerin yapılması ve geliştirilmesi önerilmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de arı ürünlerinin öneminin anlaşılması ile birlikte bu ürünlerin tüketimi de gün geçtikçe artış göstermektedir. Buna paralel olarak bilim dünyasında da bu konuda çalışmalar giderek artmaktadır. Önemli bir arı ürünü olan propolis, bileşiminde bulunan biyoaktif bileşenlerin özellikle de fenolik bileşiklerin sağlık üzerinde olumlu etkilerinden dolayı oldukça rağbet görmektedir. Ancak bu ürün ham hali ile tüketilemediğinde ekstraktı elde edilerek tüketilebilir forma dönüştürülmektedir. Bu amaçla uygulamada ve bilimsel literatürde genel olarak organik çözücüler, su ve bitkisel yağlar kullanılmaktadır. Bu alanda yapılan bilimsel çalışmalar incelendiğinde su ve bitkisel yağlar ile elde edilen ekstraktların organik çözücüler ile elde edilen ekstraktlara kıyasla fenolik bileşik açısından daha fakir olduğu bildirilmektedir. Organik çözücüler içerisinde ise propolis ekstraksiyonunda en çok tercih edilen çözücü %70'lik etanoldür. Bu çözücünün tercih edilme nedeni ise diğer organik çözücülere kıyasla daha masum yani daha az toksik olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak söz konusu çözücünün bazı bireyler tarafından dini sebeplerden dolayı tercih edilmemesi, hamile bireylerin ve çocukların tüketimine dair bazı sınırlamaların bulunması bizi alternatif çözücü bulma arayışına yönlendirmiştir. Bu ihtiyaca binaen, bu çalışma kapsamında, çözücü olarak O/W ve W/O emülsiyonları kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonun koşulları, TFM kazanımını maksimize etmek üzere yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilmiştir. Optimizasyon sonucunda elde edilen ekstraktların çözücülerini ile aynı bileşime sahip model emülsiyonlar hazırlanıp karakterizasyon ve stabilite testleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise optimum koşullarda elde edilen propolis ekstraktları, kakaolu fındık kreması ve salata sosu bileşiminde kullanılmıştır.

Çalışmamız kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir;

- ✓ Propolisin yanıt yüzey yöntemi kullanılarak TFM içeriğine göre optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak W/O emülsiyonu kullanımında optimize koşullar PGPR oranı %5, su oranı %29.20 ve bekleme süresi 0 gün olarak tespit edilmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktın TFM değeri 83.78 mg GAE/g propolis olarak bulunmuştur. Çözücü olarak O/W emülsiyonu kullanımında ise optimize koşullar Tween 80 oranı %8.27, yağ oranı %19.90 ve bekleme süresi 0.070

gün olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstrenin TFM değeri 110.82 mg GAE/g propolis olarak bulunmuştur.

- ✓ S+P, A+P, E+P ve optimize ekstrelerde TFM, ABTS, DPPH ve fenolik bileşim analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda örneklerin TFM, ABTS ve DPPH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). TFM değerleri kıyaslandığında sırası ile büyükten küçüğe doğru O/W+P> E+P> W/O+P> A+P> S+P şeklinde sıralanmaktadır. ABTS ve DPPH değerleri sıralandığında ise E+P> O/W+P> W/O+P> A+P> S+P elde edilmektedir. Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraların fenolik profili incelendiğinde ise en fazla fenolik bileşiğin O/W+P, W/O+P ve E+P örneklerinde tanımlandığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre O/W ve W/O emülsiyonlarının propolis ekstresi için alternatif çözücü olabileceği sonucuna varılabilir.
- ✓ W/O emülsiyonlarında yapılan oksidatif stabilite testlerinde W/O+P örneğinin oksidatif stabilitesinin W/O+AA, W/O+TOK ve kontrol örneğine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. O/W emülsiyonlarında yapılan oksidatif stabilite testlerinde de O/W+P örneğinin oksidatif stabilitesinin O/W+AA, O/W+TOK ve kontrol örneğine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Her iki emülsiyon çeşidinde de oksidatif stabilitesi yüksek olan örneğin propolis içeren emülsiyon olduğu belirlenmiştir. Bu durum propolisin bileşiminde bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır.
- ✓ Çalışmanın bir diğer aşamasında optimize propolis ekstraları farklı konsantrasyonlarda salata sosu ve kakaolu fındık kreması bileşiminde kullanılarak fonksiyonel gıdalar elde edilmiştir. Bu fonksiyonel gıdalarda bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda bu gıdalara propolis ekstresi ilavesinin gıdaların TFM, ABTS ve DPPH değerlerini arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu gıdalarda yapılan duyusal değerlendirmede salata sosu için genel olarak beğenisi yüksek olan örneğin SS+150P olduğu kakaolu fındık kreması için ise genel olarak KFK+105P örneği hariç diğer örneklerin orta düzeyde beğenildiği gözlemlenmiştir.

Öneriler;

- ✓ Propolis ekstresi elde edilmesinde çözücü olarak kullanılan her iki emülsiyon çeşidi, farklı yüzey aktif maddeler ve farklı üretim yöntemleri kullanılarak daha yüksek fenolik bileşik kazanımı hedeflenebilir. Ayrıca pickering veya çoklu

emülsiyon sistemleri de kullanılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilebilir.

- ✓ Çalışma kapsamında üretilen fonksiyonel gıdaların duyuşal özelliklerinin geliştirilmesi ve tüketici beğenilerinin arttırılması için bu gıdaların bileşiminde kullanımında herhangi bir sakınca olmayan ve propolis tadını baskılayacak/maskeleyecek bileşenler kullanılarak daha yüksek konsantrasyonlarda propolis ilavesi mümkün olabilir.
- ✓ Çalışma kapsamında elde edilen ekstreler salata sosu ve kakaolu fındık kreması dışında başka gıdalarda da kullanılarak yeni fonksiyonel ürünler geliştirilebilir.



KAYNAKLAR

- Abacı, Z. M. (2020).** *Omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş kayısı nektarının fiziksel ve oksidatif stabilitesinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Abdalla, A. E., & Roozen, J. P. (2001).** The effects of stabilised extracts of sage and oregano on the oxidation of salad dressings. *European Food Research and Technology*, 212, 551-560.
- Abeyrathne, E. D. N. S. Nam, K., & Ahn, D. U. (2021).** Analytical methods for lipid oxidation and antioxidant capacity in food systems, *Antioxidants*, 10(10), 1587.
- Abu-Mellal, A., Koolaji, N., Duke, R. K., Tran, V. H. & Duke, C. C. (2012).** Prenylated cinnamate and stilbenes from Kangaroo Island propolis and their antioxidant activity. *Phytochemistry*, 77, 251-259.
- Ahn, M. R., Kunimasa, K., Kumazawa, S., Nakayama, T., Kaji, K., Uto, Y., Hori H., Nagasawa H. & Ohta, T. (2009).** Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis, *Molecular nutrition & food research*, 53(5), 643-651.
- Akpınar, G. C., Canogullari, S., Baylan, Alasahan, S. & Aygun, A. (2015).** The use of propolis extract for the storage of quail eggs, *Journal of Applied Poultry Research*, 24(4), 427-435.
- Alencar, S. M. D., Oldoni, T. C., Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A., Rosalen, P.L. & Ikegaki, M. (2007).** Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propoli., *Journal of ethnopharmacology*, 113(2), 278-283.
- 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.
- Ali, F. H., Kassem, G. M. & Atta-Alla, O. A. (2010).** Propolis as a natural decontaminant and antioxidant in fresh oriental sausage, *Veterinaria italiana*, 46(2), 167-172.
- Almutairi, S., Eapen, B., Chundi, S. M., Akhalil, A., Siheri, W., Clements, C., Fearnley, J., Watson, D. G. & Edrada-Ebel, R. (2014).** New anti-trypanosomal active prenylated compounds from African propolis, *Phytochemistry Letters*, 10, 35-39.
- Alpat, U., Nar, T., Karasu, S. & Sagdic, O. (2023).** Optimization of propolis extraction with natural deep eutectic solvents using central composite design, *Phytochemistry Letters*, 58, 49-59.
- Amiri-Rigi, A. & Abbasi, S. (2016).** Microemulsion-based lycopene extraction: Effect of surfactants, co-surfactants and pretreatments, *Food chemistry*, 197, 1002-1007.
- Amiri-Rigi, A. & Abbasi, S. (2019).** Extraction of lycopene using a lecithin-based olive oil microemulsion. *Food chemistry*, 272, 568-573.

- Andrade, J. K. S., Denadai, M., de Oliveira, C. S., Nunes, M. L. & Narain, N.** (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region, *Food Research International*, 101, 129-138
- Andrade, J. K. S., Denadai, M., Andrade, G. R. S., da Cunha Nascimento, C., Barbosa, P. F., Jesus, M. S. & Narain, N.** (2018). Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis, *Food research international*, 109, 278-287.
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Basmir M.A., Tahir, M., Ansari, M.J., Ghramh, H.A., Adgaba, N. & Dash, C. K.** (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A reviews, *Saudi journal of biological sciences*, 26(7), 1695-1703.
- AOCS** (1989). Official and Recommended Methods of the American Oil Chemists' Society. American Oil Chemists' Society, Method Am 5-04, Cd 8-53, Cd 18-90 and **Ce 2-66 Champaign, IL.**
- AOAC.** (2000). Official Methods Of Analysis (17 ed.). Washington: D.C: Assn. Of Official Analytical Chemists.
- Aryana, K. J., Resurreccion, A. V. A., Chinnan, M. S. & Beuchat, L. R.** (2003). Functionality of palm oil as a stabilizer in peanut butter, *Journal of Food Science*, 68(4), 1301-1307.
- Aydemir, O.** (2019). Utilization of different oils and fats in cocoa hazelnut cream production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(5), e13930.
- Azwanida, N. N.** (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation, *Med aromat plants*, 4(196), 2167-0412.
- Bakkaloğlu, Z. & Arıcı, M.** (2019). Farklı çözücülerle propolis ekstraksiyonunun toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri, *Akademik Gıda*, 17(4), 538-545.
- Bakkaloğlu, Z.** (2020). *Farklı çözücü ve yöntemler kullanılarak elde edilen propolis ekstraktlarının karakterizasyonu*, (Doktora Tezi), Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- 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., Popova, M. & Trusheva, B.** (2014). Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a reviews, *Chemistry Central Journal*, 8, 1-8.
- Bankova, V., Trusheva, B. & Popova, M.** (2021). Propolis extraction methods: A reviews, *Journal of apicultural research*, 60(5), 734-743.
- Barar, A. & Bensebia, O.** (2025). Surfactant assisted extraction for the recovery of bioactive compounds from solid wastes of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill): Optimization by Box–Behnken Design, *Process Biochemistry*, 153, 170-181.

- Barbarić, M., Mišković, K., Bojić, M., Lončar, M. B., Smolčić-Bubalo, A., Debeljak, Ž. & Medić-Šarić, M.** (2011). Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells, *Journal of ethnopharmacology*, 135(3), 772-778.
- Bastida-Rodríguez, J.** (2013). The food additive polyglycerol polyricinoleate (E-476): structure, applications, and production Methods, *International Scholarly Research Notices*, 2013(1), 124767.
- Baştürk, A. & Yavaş, B.** (2024). Improving sunflower oil stability with propolis: A study on antioxidative effects of Turkish propolis during accelerated oxidation, *Journal of Food Science*, 89(12), 8910-8929.
- Baysan, U., Elmas, F. & Koç, M.** (2019). The effect of spray drying conditions on physicochemical properties of encapsulated propolis powder, *Journal of Food Process Engineering*, 42(4), e13024.
- Baysan, U., Bastioğlu, A. Z., Coşkun, N. Ö., Takma, D. K., Balçık, E. Ü., Sahin-Nadeem, H. & Koç, M.** (2021). The effect of coating material combination and encapsulation method on propolis powder properties, *Powder technology*, 384, 332-341.
- Bildi, E.** (2021), *Soğuk Aspir Yağıyla Salata Sosu Üretimi*, (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Biscaia, D. & Ferreira, S. R.** (2009). Propolis extracts obtained by low pressure methods and supercritical fluid extraction, *The Journal of Supercritical Fluids*, 51(1), 17-23.
- 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.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. L. W. T.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Bravo, L.** (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S. & Recio, I.** (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion, *Nature protocols*, 14(4), 991-1014.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T.** (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake, *Food chemistry*, 128(1), 14-21.
- Caetano, A. R., Oliveira, R. D., Pereira, R. F. C., Cardoso, T. V., Cardoso, A. & Almeida-Aguiar, C.** (2023). Examination of raw samples and ethanol extracts of Gerês Propolis collected in different years, *Plants*, 12(22), 3909.

- Carballo, D. E., Torres-Hermosillo, S., Piñón-Gómez, L., Mendoza, J., Sánchez-Ramírez, B., Quintero-Ramos, A., Chávez-Flores, D. & Gutiérrez-Méndez, N. (2025).** Development of food-grade microemulsions (F-G μ Ems) for green extraction of bioactive compounds from Jalapeño waste (*Capsicum annum* var. Hot), *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 43, 101912.
- Carvalho, A. A., Finger, D., Machado, C. S., Schmidt, E. M., da Costa, P. M., Alves, A. P. N. N., Morais T.M.F., de Queiroz, M.G.R., Quinária, S.P., da Rosa, M.R., dos Santos, J.M.T., Pessoa, C., de Moraes, M.O., Costa-Lotufo, L.V., Sawaya A.C.H.F., Eberlin, M.N. & Torres, Y. R. (2011).** In vivo antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis, *Food Chemistry*, 126(3), 1239-1245.
- Castaldo, S., & Capasso, F. (2002).** Propolis, an old remedy used in modern medicine, *Fitoterapia*, 73, S1-S6.
- Ceylan, M. M. & Basturk, A. (2022).** Investigation of the effects of uckun (*Rheum ribes* L.), quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), and propolis extracts on the thermal oxidation of palm olein oil during the deep-frying process, *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(2), e16210.
- Chaiyasit, W., McClements, D. J. & Decker, E. A. (2005).** The relationship between the physicochemical properties of antioxidants and their ability to inhibit lipid oxidation in bulk oil and oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4982-4988.
- Chen, C. R., Shen, C. T., Wu, J. J., Yang, H. L., Hsu, S. L. & Chang, C. M. J. (2009).** Precipitation of sub-micron particles of 3, 5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid in Brazilian propolis from supercritical carbon dioxide anti-solvent solutions, *The Journal of Supercritical Fluids*, 50(2), 176-182.
- Chen, C. R., Lee, Y. N., Chang, C. M. J., Lee, M. R. & Wei, I. C. (2007).** Hot-pressurized fluid extraction of flavonoids and phenolic acids from Brazilian propolis and their cytotoxic assay in vitro, *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 38(3-4), 191-196.
- Cho, Y. H., Kim, S., Bae, E. K., Mok, C. K. & Park, J. (2008).** Formulation of a cosurfactant-free O/W microemulsion using nonionic surfactant mixtures, *Journal of Food Science*, 73(3), E115-E121.
- Church, J., Lundin, J. G., Diaz, D., Mercado, D., Willner, M. R., Lee, W. H. & Paynter, D. M. (2019).** Identification and characterization of bilgewater emulsions, *Science of the total environment*, 691, 981-995.
- Cottica, S. M., Amado, D. A. V., Aguiar, S. C. D., Boening, J. S., Franco, S. L., Zeoula, L. M. & Visentainer, J. V. (2018).** Antioxidant activity and lipid oxidation in milk from cows with soybean oil and propolis extract added to their feed, *Food Science and Technology*, 39, 467-474.
- Çakıroğlu, T. N. (2010).** *Çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünün incelenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Çakiroğlu, T. N.** (2017). *Türk propolisinin sulu ve etanolü ekstraktının HPLC ve GC-MS ile karakterizasyonu* (Doktora Tezi). Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- da Silva Cunha, I. B., Rodrigues, M. L. T., Meurer, E. C., Bankova, V. S., Marcucci, M. C., Eberlin, M. N. & Frankland Sawaya, A. C. H.** (2006). Effect of the maceration time on chemical composition of extracts of Brazilian propolis, *Journal of apicultural research*, 45(3), 137-144.
- Da Silva, J. D. F., Breda, F. C., Ribeiro, L. C., De Lima, J. A., Berretta, A., Prestes, O.D., Zanella, R., Cichoski, A.J. & Mello, R. D. O.** (2025). Can a mixture of green and wild propolis extracts have a synergistic antioxidant effect in situ? An oil-in-water emulsion application, *Food Chemistry Advances*, 100985.
- Dantas, T. N., Silva, H. S., Dantas Neto, A. A., Marcucci, M. C. & Maciel, M. A. M.** (2010). Development of a new propolis microemulsion system for topical applications, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20, 368-375.
- de Melo, A. N. F., de Souza, E. L., da Silva Araujo, V. B. & Magnani, M.** (2015). Stability, nutritional and sensory characteristics of French salad dressing made with mannoprotein from spent brewer's yeast, *LWT-Food science and technology*, 62(1), 771-774.
- Demetriades, K. & McClements, D. J.** (2000). Influence of sodium dodecyl sulfate on the physicochemical properties of whey protein-stabilized emulsions, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 161(3), 391-400.
- Doğan, S. M., Yalçın, S. & Onbaşlar, E. E.** (2025). Lipid oxidation and antioxidant properties of propolis collected in different regions of Turkey, *Journal of Apicultural Research*, 1-8.
- dos Santos Pereira, A., Pinto, A. C., Nobrega Cardoso, J., Radler de Aquino Neto, F., Freiman de Souza Ramos, M., Dellamora-Ortiz, G. M. & Pereira dos Santos, E.** (1998). Application of high temperature high resolution gas chromatography to crude extracts of propolis, *Journal of High Resolution Chromatography*, 21(7), 396-400.
- Doyon, M. & Labrecque, J.** (2008). Functional foods: a conceptual definition, *British Food Journal*, 110(11), 1133-1149.
- Dilokthornsakul, W., Kosiyaporn, R., Wuttipongwaragon, R. & Dilokthornsakul, P.** (2022). Potential effects of propolis and honey in COVID-19 prevention and treatment: A systematic review of in silico and clinical studies, *Journal of Integrative Medicine*, 20(2), 114-125.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., Novellino, E. & Santini, A.** (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health, *Phytotherapy Research*, 33(9), 2221-2243.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS).** (2015). Scientific Opinion on the re-evaluation of polyoxyethylene sorbitan monolaurate (E 432), polyoxyethylene sorbitan monooleate (E 433), polyoxyethylene sorbitan monopalmitate (E 434), polyoxyethylene sorbitan

monostearate (E 435) and polyoxyethylene sorbitan tristearate (E 436) as food additives, *Efsa Journal*, 13(7), 4152.

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Di Domenico, A., Frutos, M. J. & Dusemund, B. (2017). Re-evaluation of lecithins (E 322) as a food additive, *EFSA Journal*, 15(4), e04742.

El Gharra, H. (2009). Polyphenols: food sources, properties and applications—a reviews, *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2512-2518.

El-Guendouz, S., Aazza, S., Lyoussi, B., Majdoub, N., Bankova, V., Popova, M., Raposo S., Antunes, M.D. & Miguel, M. G. (2018). Effect of poplar-type propolis on oxidative stability and rheological properties of O/W emulsions, *Saudi pharmaceutical journal*, 26(8), 1073-1082.

Erbaş, M. (2006). Yeni bir gıda grubu olarak fonksiyonel gıdalar. *Türkiye*, 9, 24-26.

Erdogan, S., Ates, B., Durmaz, G., Yilmaz, I. & Seckin, T. (2011). Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Anatolia propolis and their radical scavenging capacities, *Food and Chemical Toxicology*, 49(7), 1592-1597.

Ertuğrul A.N. (2023), *Prebiyotik ve Kalorisi Azaltılmış Kakaolu Fındık Kreması Üretimi*, (Yüksek Lisans Tezi). Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çankırı.

Ertürk, Ö., & Güler, N. (2013). Halk ilaçlarında propolisin tarihi kullanımı ile onun biyolojik aktivitesi ve kimyasal kompozisyonu, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 13(1), 33-40.

Esfandiarifard, M. & Ziaolhagh, S. (2021). Study on the antioxidant activity of propolis extract and its effect on the oxidation of sun-flower oil, *Food Science and Technology*, 17(107), 119–130.

Feás, X., Pacheco, L., Iglesias, A. & Estevinho, L. M. (2014). Use of propolis in the sanitization of lettuce, *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7), 12243-12257.

Frankel, E. N. (1980). Lipid oxidation, *Progress in lipid research*, 19(1-2), 1-22.

Fu, S. H., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2005). Analysis of flavonoids in propolis by capillary electrophoresis, *Journal of Food and Drug Analysis*, 13(1), 4.

Funari, C. S., Sutton, A. T., Carneiro, R. L., Fraige, K., Cavaleiro, A. J., da Silva Bolzani, V., Hilder, E.F & Arrua, R. D. (2019). Natural deep eutectic solvents and aqueous solutions as an alternative extraction media for propolis, *Food Research International*, 125, 108559.

Galeotti, F., Capitani, F., Fachini, A. & Volpi, N. (2019). Recent advances in analytical approaches for the standardization and quality of polyphenols of propolis, *Journal of Medicinal Plant Research*, 13(19), 487-500.

Ghannadiasl, F., & Jahdoust, Z. (2024). Effects of Aqueous Extracts of Propolis on Total Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Raw Milk, *Iranian Food*

- Gómez-Hoyos, C., Serpa-Guerra, A., Argel. Pérez, S., Velásquez. Cock, J. A., Vélez-Acosta, L., Gañán-Rojo, P. & Zuluaga-Gallego, R.** (2024). A Novel French-Style Salad Dressing Based on Pickering Emulsion of Oil-Water Lycopene from Guava and Cellulose Nanofibers, *Molecules*, 29(21), 5118.
- Guerrero-Hernández, L., Meléndez-Ortiz, H. I., Cortez-Mazatan, G. Y., Vaillant-Sánchez, S. & Peralta-Rodríguez, R. D.** (2022). Gemini and bicephalous surfactants: a review on their synthesis, micelle formation, and uses, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1798.
- Harrison, L. J. & Cunningham, F. E.** (1986). Influence of salt on properties of liquid yolk and functionality in mayonnaise, *Poultry Science*, 65(5), 915-921.
- Hilhorst, M. J., Somsen, G. W. & De Jong, G. J.** (1998). Potential of capillary electrophoresis for the profiling of propolis, *Journal of high resolution chromatography*, 21(11), 608-612.
- Hosseinzadeh, R., Khorsandi, K. & Hemmaty, S.** (2013). Study of the effect of surfactants on extraction and determination of polyphenolic compounds and antioxidant capacity of fruits extracts, *PloS one*, 8(3), e57353.
- Hu, Y. T., Ting, Y., Hu, J. Y. & Hsieh, S. C.** (2017). Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems, *Journal of food and drug analysis*, 25(1), 16-26.
- Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L.** (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis, *Molecules*, 19(12), 19610-19632.
- Hutnik, J., Phillips, L. & Mojica, E. R. E.** (2022). Optimization of temperature condition in pressure liquid extraction of propolis samples, *J. Undergrad. Chem. Res*, 21, 15.
- Icyer, N. C., Ozmen, D., Sener, D., Kokyar, N. & Toker, O. S.** (2024). Structural and sensory impact of various emulsifiers in cocoa hazelnut spread formulations, *Journal of Food Science*, 89(10), 6590-6600.
- Iswandana, R., Olisia, S., Adriyani, M., Jufri, M. & Munim, A.** (2020). Application of Tween 80 and Tween 20 for microwave-assisted extraction of oxyresveratrol from mulberry (*Morus alba* L.) twigs, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(3), 093-100.
- İlbilge Saydamlı**, Gıda Kimyası, Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2014.
- Gülcin, I.** (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview, *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.
- Janani, D., Lad, S. S., Rawson, A., Sivanandham, V. & Rajamani, M.** (2022). Effect of microwave and ultrasound-assisted extraction methods on phytochemical extraction of bee propolis of Indian origin and its antibacterial activity, *International Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 7205-7213.

- Jonaidi Jafari, N., Kargozari, M., Ranjbar, R., Rostami, H. & Hamed, H.** (2018). The effect of chitosan coating incorporated with ethanolic extract of propolis on the quality of refrigerated chicken fillet, *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13336.
- Joshi, T., Kapoor, S., Rana, S., Bala, M., Singh, A. & Mahajan, B. V. C.** (2024). Valorization of guava seed oil as a functional ingredient in salad dressing: implications on quality characteristics, rheological behaviour, morphology, oxidative stability and shelf life, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(8), 6698-6710.
- Juodeikaitė, D., Žilinskas, M. & Briedis, V.** (2022). Preparation of aqueous propolis extracts applying microwave-assisted extraction, *Processes*, 10(7), 1330.
- Karabulut, G. & Yemiş, O.** (2019). Fenolik bileşiklerin bağlı formları ve biyoyararlılığı, *Akademik Gıda*, 17(4), 526-537.
- Karakaş, S.** (2012). *Türk propolisinin ticari bitkisel yağlarda çözünürlüğünün incelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Karakaya, H.** (2022). *Gıda ve yem analizlerinde kullanılan bazı analitik mikotoksin standartlarının üretimi üzerine araştırmalar* (Doktora tezi). İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye.
- Kerwin, B. A.** (2008). Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: structure and degradation pathways, *Journal of pharmaceutical sciences*, 97(8), 2924-2935.
- Keskin, M., Keskin, Ş. & Kolaylı, S.** (2019). Preparation of alcohol free propolis-alginate microcapsules, characterization and release property, *Lwt*, 108, 89-96.
- Keskin, M.** (2018). *Propolis ve özütlerinin kalite parametrelerinin belirlenmesi ve enkapsülasyonu* (Doktora Tezi), Karadeniz Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Khalil, F.** (2019). *Farklı çözücülerde ekstrakte edilen propolisin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Kintner, T. C. & Mangel, M. W.** (1954). *Vinegars and salad dressings*. University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station.
- Kiokias, S., Gordon, M. H. & Oreopoulou, V.** (2017). Effects of composition and processing variables on the oxidative stability of protein-based and oil-in-water food emulsions, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(3), 549-558.
- Knoth, A., Scherze, I. & Muschiolik, G.** (2005). Effect of lipid type on water-in-oil-emulsions stabilized by phosphatidylcholine-depleted lecithin and polyglycerol polyricinoleate, *European journal of lipid science and technology*, 107(12), 857-863.

- Koc, A. N., Silici, S., Mutlu-Sariguzel, F. & Sagdic, O.** (2007). Antifungal activity of propolis in four different fruit juices, *Food Technology and Biotechnology*, 45(1), 57-61.
- Kolaylı, S., Birinci, C., Kara, Y., Ozkok, A., Samancı, A. E. T., Sahin, H. & Yildiz, O.** (2023). A melissopalynological and chemical characterization of Anatolian propolis and an assessment of its antioxidant potential, *European Food Research and Technology*, 249(5), 1213-1233.
- Koşar, M.** (2023), *Malatya Kayısı Gaminın Fizikokimyasal ve Yüzey Aktif Madde Özelliklerinin Araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi), İnönü Üniversitesi, Malatya.
- Kralova, I. & Sjöblom, J.** (2009). Surfactants used in food industry: a reviews, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 30(9), 1363-1383.
- Krell, R.** (1996). *Value-added products from beekeeping* (Vol. 124). Food & Agriculture Org..
- Kriegel, C., Festag, M., Kishore, R. S., Roethlisberger, D. & Schmitt, G.** (2019). Pediatric safety of polysorbates in drug formulations, *Children*, 7(1), 1.
- Krstonošić, M. A., Sazdanić, D., Ćirin, D., Maravić, N., Mikulić, M., Cvejić, J. & Krstonošić, V.** (2023). Aqueous solutions of non-ionic surfactant mixtures as mediums for green extraction of polyphenols from red grape pomace, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 33, 101069.
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K. & Savickas, A.** (2015). Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of their composition and biological activities, *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 1-7.
- Kumari, M., & Jain, S.** (2012). Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes, *Research Journal of Recent Sciences ISSN*, 2277, 2502.
- Kumova, U.** (2002). Önemli bir arı ürünü: Propolis, *Uludag Bee Journal*, 2(2), 10-24.
- Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M. & Świerczek-Zięba, G.** (2013). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis, *Molecules*, 19(1), 78-101.
- Lamba, H., Sathish, K. & Sabikhi, L.** (2015). Double emulsions: emerging delivery system for plant bioactives, *Food and Bioprocess Technology*, 8, 709-728.
- Lanza, C. M., Mazzaglia, A. & Pagliarini, E.** (2011). Sensory profile of a specialty Sicilian chocolate, *Italian Journal of Food Science*, 23(1), 36-44.
- Let, M. B., Jacobsen, C. & Meyer, A. S.** (2007). Ascorbyl palmitate, γ -tocopherol, and EDTA affect lipid oxidation in fish oil enriched salad dressing differently, *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(6), 2369-2375.
- Li, Y. & Xiang, D.** (2019). Stability of oil-in-water emulsions performed by ultrasound power or high-pressure homogenization, *PLoS One*, 14(3), e0213189.
- Lopes, G. A., Fidelis, P. C., Almeida, B. M. D., Almeida, J. J., Ientz, G. D. A. S., Binda, N. S., Teixeira A.F., Vieira-Filho S.A., Caligiorne R.B., Saude-Guimaraes D.A., Brumano R.B. & Figueriredo S.M.** (2021). Antioxidant

- activity, sensory analysis and acceptability of red fruit juice supplemented with Brazilian green propolis, *Food Science and Technology*, 42, e13521.
- Lu, Y., Wu, C. & Yuan, Z.** (2004). Determination of hesperetin, cinnamic acid and nicotinic acid in propolis with micellar electrokinetic capillary chromatography, *Fitoterapia*, 75(3-4), 267-276.
- Ma, Z. & Boye, J. I.** (2013). Advances in the design and production of reduced-fat and reduced-cholesterol salad dressing and mayonnaise: a reviews, *Food and Bioprocess Technology*, 6, 648-670.
- Margeretha, I., Suniarti, D. F., Herda, E. & Mas'ud, Z. A.** (2012). Optimization and comparative study of different extraction methods of biologically active components of Indonesian propolis *Trigona* spp, *J. Nat. Prod*, 5, 233-242.
- Martínez, I., Riscardo, M. A. & Franco, J. M.** (2007). Effect of salt content on the rheological properties of salad dressing-type emulsions stabilized by emulsifier blends, *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1272-1281.
- Martos, I., Cossentini, M., Ferreres, F. & Tomás-Barberán, F. A.** (1997). Flavonoid composition of Tunisian honeys and propolis, *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(8), 2824-2829.
- Marcucci, M. C.** (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity, *Apidologie*, 26(2), 83-99.
- Masadah, R., Ikram, D. & Rauf, S.** (2021). Effects of propolis and its bioactive components on breast cancer cell pathways and the molecular mechanisms involved, *Breast Disease*, 40(s1), S15-S25.
- McClements, D.** (1999). *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques* CRC Press. New York: 2nd ed. Pp, 234.
- McClements, D. J.** (2011). Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance, *Soft matter*, 7(6), 2297-2316.
- McClements, D. J. & Rao, J.** (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity, *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.
- Mcdonald, R. E. & Hultin, H. O.** (1987). Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle, *Journal of Food Science*, 52(1), 15-21.
- Miguel, M. G., Nunes, S., Dandlen, S. A., Cavaco, A. M. & Antunes, M. D.** (2014). Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal, *Food Science and Technology*, 34, 16-23.
- Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamedi, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S. E. S. & Ostad, S. N.** (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract, *Food chemistry*, 103(3), 729-733.
- Moustafa, A.** (1995). Salad oil, mayonnaise, and salad dressings, In *Practical handbook of soybean processing and utilization* (pp. 314-338). AOCS Press.

- Mutlu, C., Demir, Z., Özkan, A., & Erbaş, M. (2024).** Phenolic changes in propolis during in vitro digestion and cytotoxic effects on human cancer cell lines, *British Food Journal*, 126(11), 3906-3921.
- Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H. & Suzuki, N. (2003).** Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis, *Food chemistry*, 80(1), 29-33.
- Naik, R. R., Shakya, A. K., Oriquat, G. A., Katekhaye, S., Paradkar, A., Fearnley, H. & Fearnley, J. (2021).** Fatty acid analysis, chemical constituents, biological activity and pesticide residues screening in Jordanian propolis, *Molecules*, 26(16), 5076.
- Nayak, V. S., Tan, Z., Ihnat, P. M., Russell, R. J. & Grace, M. J. (2012).** Evaporative light scattering detection based HPLC method for the determination of polysorbate 80 in therapeutic protein formulations, *Journal of chromatographic science*, 50(1), 21-25.
- Negri, G., Salatino, M. L. F. & Salatino, A. (2003).** 'Green propolis': unreported constituents and a novel compound from chloroform extracts, *Journal of Apicultural Research*, 42(3), 39-41.
- O'Connor, T. P. & O'Brien, N. M. (1995).** Lipid oxidation, *Advanced dairy chemistry*, 2, 309-347.
- Oluwole, O., Fernando, W. B., Lumanlan, J., Ademuyiwa, O., & Jayasena, V. (2022).** Role of phenolic acid, tannins, stilbenes, lignans and flavonoids in human health—a reviews, *International Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 6326-6335.
- Oroian, M., Dranca, F. & Ursachi, F. (2020).** Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis, *Journal of food science and technology*, 57, 70-78.
- Özcan, M. (2000).** Use of propolis extract as a natural antioxidant for plant oils, *Grasas y Aceites*, 51(4), 251-253.
- Özdal, T., Ceylan, F. D., Eroglu, N., Kaplan, M., Olgun, E. O., & Capanoglu, E. (2019).** Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis, *Food Research International*, 122, 528-536.
- Özdemir, E. (2018),** *Türkiye'den toplanan propolis ürünlerinin antioksidan özelliklerinin incelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Özdemir, A. E., Candir, E. E., Kaplankiran, M., Soylu, E. M., Şahinler, N. & Gül, A. (2010).** The effects of ethanol-dissolved propolis on the storage of grapefruit cv. Star Ruby, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34(2), 155-162.
- Özkan, G., Aras, A., & Güven, E. Ç. (2022).** Investigating the antioxidant properties of some herbal infusions during in vitro digestion, *Journal of Apitherapy and Nature*, 5(1), 1-13.
- Pant, K., Thakur, M., Chopra, H. K. & Nanda, V. (2022).** Encapsulated bee propolis powder: Drying process optimization and physicochemical characterization, *LWT*, 155, 112956.

- Pant, K., Thakur, M., Chopra, H. K., Nanda, V., Ansari, M. J., Pietramellara, G. & Datta, R. (2021).** Characterization and discrimination of Indian propolis based on physico-chemical, techno-functional, thermal and textural properties: A multivariate approach, *Journal of King Saud University-Science*, 33(4), 101405.
- Paradkar, A., Dhumal, R., Kelly, A. & Gilda, S. (2011).** Propolis and Process for the Treatment Thereof and End Products Formed Therefrom, *WO Patent 2011092511A1*, 4.
- Park, Y. K., Koo, M. H., Abreu, J. A., Ikegaki, M., Cury, J. A. & Rosalen, P. L. (1998).** Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms, *Current microbiology*, 36, 24-28.
- Park, C. H., Azad, M. O. K., Heo, J. W. & Kang, W.S. (2017).** Higher Extraction of Phytochemical Compounds from Tartary Buckwheat Seeds by the Application of Surfactant Formulation. *Korean Journal of Plant Resources*, 30(6), 686-692.
- Paviani, L. C., Saito, E., Dariva, C., Marcucci, M. C., Sánchez-Camargo, A. P. & Cabral, F. A. (2012).** Supercritical CO₂ extraction of raw propolis and its dry ethanolic extract, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 29, 243-251.
- Pavlovic, R., Borgonovo, G., Leoni, V., Giupponi, L., Ceciliani, G., Sala, S. & Giorgi, A. (2020).** Effectiveness of different analytical methods for the characterization of propolis: A case of study in Northern Italy, *Molecules*, 25(3), 504.
- Payandan, E., Sayyed-Alangi, S. Z., Shamloofar, M. & Koohsari, H. (2017).** Study of chemical composition and efficacy of different extracts of Iranian propolis on the microbiological and sensory parameters of minced *Cyprinus carpio* meat at 4 °C storage, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(5), 593-603.
- Pedonese, F., Verani, G., Torracca, B., Turchi, B., Felicioli, A. & Nuvoloni, R. (2019).** Effect of an Italian propolis on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in milk and whey cheese, *Italian journal of food safety*, 8(4), 8036.
- Phan, A. D. T., Adiamo, O., Akter, S., Netzel, M. E., Cozzolino, D. & Sultanbawa, Y. (2021).** Effects of drying methods and maltodextrin on vitamin C and quality of *Terminalia ferdinandiana* fruit powder, an emerging Australian functional food ingredient, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(12), 5132-5141.
- Pietta, P. G. (2000).** Flavonoids as antioxidants, *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Pobiega, K., Igielska, M., Włodarczyk, P. & Gniewosz, M. (2021).** The use of pullulan coatings with propolis extract to extend the shelf life of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit, *International Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 1013-1020.
- Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A. G. & Bogdanov, S. (2004).** Validated methods for the quantification of

biologically active constituents of poplar-type propolis, *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 15(4), 235-240.

- Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O. & Bankova, V.** (2005). Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition, *Phytomedicine*, 12(3), 221-228.
- Popova, M., Trusheva, B. & Bankova, V.** (2017). Content of biologically active compounds in Bulgarian propolis: a basis for its standardization, *Bulg. Chem. Commun*, 49(2017), 115-120.
- Porter, N. A., Caldwell, S. E. & Mills, K. A.** (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids, *Lipids*, 30(4), 277-290.
- Price, R., Gray, D., Watson, N., Vieira, J. & Wolf, B.** (2022). Linking the yield stress functionality of polyglycerol polyricinoleate in a highly filled suspension to its molecular properties, *LWT*, 165, 113704.
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M.** (2019). Antibacterial properties of propolis, *Molecules*, 24(11), 2047.
- Pujirahayu, N., Ritonga, H. & Uslinawaty, Z.** (2014). Properties and flavonoids content in propolis of some extraction method of raw propolis, *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(6), 338-40.
- Radić, S., Radić, B. & Šuran, J.** (2020). Liquid propolis extract, its preparation and use thereof, *WO patent 2020169425A1*, 2.
- Raviadaran, R., Ng, M. H., Manickam, S. & Chandran, D.** (2019). Ultrasound-assisted water-in-palm oil nano-emulsion: Influence of polyglycerol polyricinoleate and NaCl on its stability, *Ultrasonics Sonochemistry*, 52, 353-363.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Reis, C. A., Gomes, A. & do Amaral Sobral, P. J.** (2023). Films based on biopolymers incorporated with active compounds encapsulated in emulsions: Properties and potential applications—a reviews, *Foods*, 12(19), 3602.
- Rivera-Yañez, N., Rodriguez-Canales, M., Nieto-Yañez, O., Jimenez-Estrada, M., Ibarra-Barajas, M., Canales-Martinez, M. M. & Rodriguez-Monroy, M. A.** (2018). Hypoglycaemic and antioxidant effects of propolis of Chihuahua in a model of experimental diabetes, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018(1), 4360356.
- Rocha, B. A., Bueno, P. C. P., Vaz, M. M. D. O. L. L., Nascimento, A. P., Ferreira, N. U., Moreno, G. D. P., Rodrigues, M.R., Costa-Machado, A.R.M., Barizon, E.A., Campos, J.C.L., de Oliveira, P.F, Acésio, N.O., Martins, S.P.L, Tavares, D.C. & Berretta, A. A.** (2013). Evaluation of a propolis water extract using a reliable RP-HPLC methodology and in vitro and in vivo efficacy and safety characterisation, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 670451.

- Roohinejad, S.** (2014). *Extraction of β -carotene from carrot pomace using microemulsions and pulsed electric fields* (Doctoral dissertation). University of Otago, New Zealand.
- Sağdıç, O., Karasu, S., & Goktas, H.** (2020). Piyasada satılan ticari propolis örneklerinin biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (19), 19-31.
- Sai, D. A., Nataraj, K. S. & Lakshmana, R. A.** (2023). Response surface methodology-a statistical tool for the optimization of responses, *Global Journal of Addiction & Rehabilitation Medicine*, 7(1), 555705.
- Sainsbury, J., Grypa, R., Ellingworth, J., Duodu, K. G. & De Kock, H. L.** (2016). The effects of antioxidants and shelf life conditions on oxidation markers in a sunflower oil salad dressing emulsion (SOSDE), *Food Chemistry*, 213, 230-237.
- Sarathchandraprakash, N. K., Mahendra, C., Prashanth, S. J., Manral, K., Babu, U. V. & Gowda, D. V. S.** (2013). Emulsions and emulsifiers, *Asian J. Exp. Chem*, 8(1&2), 30-45.
- Schmidt, E. M., Santos, C. D. S., Stock, D., Finger, D., Baader, W. J., Caetano, I. K. & Torres, Y. R.** (2014). Effect of extraction solvent on antiradical activity of the obtained propolis extracts, *Journal of Apicultural Research*, 53(1), 91-100.
- Serdaroğlu, M., Öztürk, B. & Kara, A.** (2015). An overview of food emulsions: description, classification and recent potential applications, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(6), 430-438.
- Shahidi, F.** (Ed.). (1997). *Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications*. The American Oil Chemists Society.
- Shahidi, F. & Ambigaipalan, P.** (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A reviews, *Journal of functional foods*, 18, 820-897.
- Shahidi, F. & Zhong, Y.** (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability, *Chemical society reviews*, 39(11), 4067-4079.
- Shakoury, N., Aliyari, M. A., Salami, M., Emam-Djomeh, Z., Vardhanabhuti, B. & Moosavi-Movahedi, A. A.** (2022). Encapsulation of propolis extract in whey protein nanoparticles, *Lwt*, 158, 113138.
- Sharma, R.** (2014). Surfactants: basics and versatility in food industries. *PharmaTutor*, 2(3), 17-29.
- Sharma, N., Devi, R., Singh, S., Garg, A., Khathuriya, R. & Singhvi, I.** (2018). An Overview on multiple emulsions, *European Journal of Biomedical*, 5(5), 200-204.
- Sharma, S., Kori, S. & Parmar, A.** (2015). Surfactant mediated extraction of total phenolic contents (TPC) and antioxidants from fruits juices, *Food chemistry*, 185, 284-288.

- Sharma, S., Shukla, P., Misra, A. & Mishra, P. R.** (2014). Interfacial and colloidal properties of emulsified systems: Pharmaceutical and biological perspective, In *Colloid and interface science in pharmaceutical research and development* (pp. 149-172). Elsevier.
- Shi, H., Yang, H., Zhang, X. & Yu, L.** (2012). Identification and quantification of phytochemical composition and anti-inflammatory and radical scavenging properties of methanolic extracts of Chinese propolis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12403-12410.
- Silici, S.** (2020). *Bilimsel gerçeklerle apiterapi*. Akademisyen Kitabevi.
- Siripatrawan, U., Vitchayakitti, W. & Sanguandeeikul, R.** (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution, *International Journal of Food Science and Technology*, 48(1), 22-27.
- Smittle, R. B.** (1977). Microbiology of mayonnaise and salad dressing: a reviews, *Journal of Food Protection*, 40(6), 415-422.
- St. Angelo, A. J., Vercellotti, J., Jacks, T. & Legendre, M.** (1996). Lipid oxidation in foods, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 36(3), 175-224.
- Stojanović, S. T., Najman, S. J., Popov, B. B., & Najman, S. S.** (2020). Propolis: chemical composition, biological and pharmacological activity—a reviews, *Acta Medica Medianae*, 59(2).
- Su, C., De Meulenaer, B. & Van der Meeren, P.** (2023). Analytics and applications of polyglycerol polyricinoleate (PGPR)—Current research progress, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(6), 4282-4301.
- Suárez, G. A. P., Galindo, N. J. P. & Cuervo, O. H. P.** (2022). Obtaining Colombian propolis extracts using modern methods: A determination of its antioxidant capacity and the identification of its bioactive compounds, *The Journal of Supercritical Fluids*, 182, 105538.
- Šuran, J., Cepanec, I., Mašek, T., Radić, B., Radić, S., Tlak Gajger, I. & Vlainić, J.** (2021). Propolis extract and its bioactive compounds—From traditional to modern extraction technologies, *Molecules*, 26(10), 2930.
- Surh, J. H.** (2009). Influence of xanthan, emulsification temperature, and environmental stresses on the preparation of water-in-corn oil emulsions droplets coated by polyglycerol polyricinoleate, *Food science and biotechnology*, 18(2), 299-306.
- Szymczyk, K., Zdziennicka, A. & Jańczuk, B.** (2018). Adsorption and aggregation properties of some polysorbates at different temperatures, *Journal of solution chemistry*, 47, 1824-1840.
- Šturm, L., Črnivec, I. G. O., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., Humar M., Levic S., Nedović V., Kopinč R., Deželak, M., Gonzales A.P. & Ulrih, N. P.** (2019). Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials, *Food and Bioproducts Processing*, 116, 196-211.

- Şahin, N. S.** (2019). *Farklı çözücülerle hazırlanan propolis özütleri ile propolis ticari ürünlerinin biyoaktivitesinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Tavares, L., Smaoui, S., Lima, P. S., de Oliveira, M. M. & Santos, L.** (2022). Propolis: Encapsulation and application in the food and pharmaceutical industries, *Trends in food science & technology*, 127, 169-180.
- Taylor, P.** (1998). Ostwald ripening in emulsions. *Advances in colloid and interface science*, 75(2), 107-163.
- Toker, O. S., Ozonuk, S., Gunes, R., Icyer, N. C., Rasouli, H. P., Konar, N., Palabiyik I. & Altop, C.** (2024). Importance of emulsifiers in chocolate industry: Effect on structure, machinability, and quality of intermediate and final products, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 101(8), 721-733.
- Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., & Park, Y. K.** (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 697390.
- Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C. & Bruni, A.** (1996). Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents, *Phytotherapy research*, 10(4), 335-336.
- Tsibranska, I. H., Tylkowski, B., Peev, G. A., Giamberini, M. & Garcia-Valls, R.** (2012). Mass transfer kinetics of biologically active compounds from Propolis, *Bulgarian Chemical Communications*, 44(1), 64-69.
- Tsogetoo, B., Taarji, N., Melanie, H., Khalid, N., Tsolmon, S., Kobayashi, I. & Nakajima, M.** (2020). Emulsion-based extraction of β -sitosterol and carotenoids from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) pomace, *International Food Research Journal*, 27(1).
- Tumbariski, Y., Topuzova, M. & Todorova, M.** (2022). Food Industry Applications of Propolis: A Review, *Journal of Hygienic Engineering & Design*, 40.
- Tumbariski, Y., Todorova, M., Topuzova, M., Gineva, G., Yanakieva, V., Ivanov, I. & Petkova, N.** (2023). Comparative study on physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties of propolis collected from different regions of Bulgaria, *Journal of Apicultural Science*, 67(1), 37-56.
- Turan, I., Demir, S., Misir, S., Kilinc, K., Mentese, A., Aliyazicioglu, Y. & Deger, O.** (2015). Cytotoxic effect of Turkish propolis on liver, colon, breast, cervix and prostate cancer cell lines, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(5), 777-782.
- Walker, R. M.** (2016). Fish oil nanoemulsions: optimization of physical and chemical stability for food system applications.
- Uçak, İ.** (2018). Determination of the lipid oxidation level in fish oil enriched with propolis extract.
- Ulloa, P. A., Vidal, J., Ávila, M. I., Labbe, M., Cohen, S., & Salazar, F. N.** (2017). Effect of the addition of propolis extract on bioactive compounds and antioxidant activity of craft beer, *Journal of Chemistry*, 2017(1), 6716053.

- Uluata, S., McClements, D. J. & Decker, E. A.** (2015). Physical stability, autoxidation, and photosensitized oxidation of ω -3 oils in nanoemulsions prepared with natural and synthetic surfactants, *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(42), 9333-9340.
- Uluata, S., McClements, D. J. & Decker, E. A.** (2016). Riboflavin-induced oxidation in fish oil-in-water emulsions: Impact of particle size and optical transparency, *Food chemistry*, 213, 457-461.
- Ushikubo, F. Y. & Cunha, R. L.** (2014). Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions, *Food Hydrocolloids*, 34, 145-153.
- Vasile, F. E., Martinez, M. J., Ruiz-Henestrosa, V. M. P., Judis, M. A. & Mazzobre, M. F.** (2016). Physicochemical, interfacial and emulsifying properties of a non-conventional exudate gum (*Prosopis alba*) in comparison with gum arabic, *Food hydrocolloids*, 56, 245-253.
- Vatansever, H. S., Sorkun, K., Gurhan, S. I. D., Ozdal-Kurt, F., Turkoz, E., Gencay, O. & Salih, B.** (2010). Propolis from Turkey induces apoptosis through activating caspases in human breast carcinoma cell lines, *Acta histochemica*, 112(6), 546-556.
- Vilas-Boas, M., Lopes, M., Nunes, L. F., Pereyra, A., Kunert, C., Beckh, G. & Falcão, S. I.** (2023). Assessing the performance of analytical methods for propolis—A collaborative trial by the international honey commission, *Journal of Apicultural Research*, 62(3), 542-555.
- Volpi, N.** (2004). Separation of flavonoids and phenolic acids from propolis by capillary zone electrophoresis, *Electrophoresis*, 25(12), 1872-1878.
- Xu, D., Zheng, B., Che, Y., Liu, G., Yuan, Y., Wang, S. & Cao, Y.** (2020). The stability, microstructure, and microrheological properties of monascus pigment double emulsions stabilized by polyglycerol polyricinoleate and soybean protein isolate, *Frontiers in Nutrition*, 7, 543421.
- Yamini, Y., Feizi, N. & Moradi, M.** (2020). Surfactant-based extraction systems, In *Liquid-phase Extraction* (pp. 209-239). Elsevier.
- 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.
- Yang, S. C. & Lai, L. S.** (2003). Dressings and Mayonnaise, The Products and Their Manufacture. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 1892– 1898.
- Yang, B., Chen, J. & Mis Solval, K.** (2024). Microencapsulated polyphenol extracts from Georgia-grown pomegranate peels delay lipid oxidation in salad dressing during accelerated and ambient storage conditions, *Food Science & Nutrition*, 12(1), 370-384.
- Yanishlieva, N. V., & Marinova, E. M.** (2001). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants, *European journal of lipid science and technology*, 103(11), 752-767.

- Yazkan, S. N. Ş. & Ertop, M. H.** (2025). Optimization of Bioactive Compound Extraction from Propolis by Reflux, Maceration and Ultrasound-assisted Methods and Characterization of the Extracts, *Journal of Agricultural Sciences*, 31(2), 359-372.
- Yıldırım, A., Mavi, A. & Kara, A. A.** (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. Extracts, *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(8), 4083-4089.
- Yılmaz, M. A. & Durmaz, G.** (2015). Mulberry seed oil: a rich source of δ -tocopherol, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92, 553-559.
- Yılmaz, A.** (2019), *Keten tohumu yağının oksidatif stabilitesinin mikroemülsiyeye polar antioksidanlarla artırılması* (Yüksek Lisans Tezi). İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Yiğit, G. G.** (2017). *Kakaolu fındık kremasının fonksiyonel özelliklerin arttırmak amacıyla endüstriyel ekmek mayasının (saccharomyces cerevisiae) kullanımı* (Doktora Tezi). Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- Yiğit, G. G., Cerit, İ. & Demirkol, O.** (2021). Oxidative stability of cocoa hazelnut cream enriched with inactive yeast cells, *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6), e15567.
- Yin, M., Chen, M., Yanagisawa, T., Matsuoka, R., Xi, Y., Tao, N. & Wang, X.** (2022). Physical properties, chemical composition, and nutritional evaluation of common salad dressings, *Frontiers in Nutrition*, 9, 978648.
- Yousif, E. I., Gadallah, M. G. E. & Afaf, M. S.** (2012). Effect of different modification methods on physicochemical properties of potato starch and its uses in salad dressing. *Egypt. Journal of Food Science*, 40, 17-32.
- Yu, L., Meng, Y., Wang, Z. L., Cao, L., Liu, C., Gao, M. Z., Zhao C. & Fu, Y. J.** (2020). Sustainable and efficient surfactant-based microwave-assisted extraction of target polyphenols and furanocoumarins from fig (*Ficus carica* L.) leaves, *Journal of Molecular Liquids*, 318, 114196.
- Zainal, W. N. H. W., Azian, N. A. A. M., Albar, S. S & Rusli, A. S.** (2022). Effects of extraction method, solvent and time on the bioactive compounds and antioxidant activity of *Tetrigona apicalis* Malaysian propolis, *Journal of Apicultural Research*, 61(2), 264-270.
- Zhu, L., Zhang, J., Yang, H., Li, G., Li, H., Deng, Z. & Zhang, B.** (2023). Propolis polyphenols: A review on the composition and anti-obesity mechanism of different types of propolis polyphenols, *Frontiers in Nutrition*, 10, 1066789.
- Zullkiflee, N., Taha, H. & Usman, A.** (2022). Propolis: Its role and efficacy in human health and diseases, *Molecules*, 27(18), 6120.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Ayşe YILMAZ

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2016, İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
- **Yüksek Lisans** : 2019, İnönü Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

MESLEKİ DENEYİM:

- -

YÜKSEK LİSANS VEYA DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN ÇALIŞMALAR
(Makaleler, Bildiriler, Patentler v.b.)