



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



PROPOLİSTEKİ FENOLİK BİLEŞİKLERİN FARKLI BİYOTRANSFORMASYON KOŞULLARINDAKİ DEĞİŞİMİ

Yüksek Lisans Tezi

Ezgi DÜNDAR

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**PROPOLİSTEKİ FENOLİK BİLEŞİKLERİN FARKLI
BİYOTRANSFORMASYON KOŞULLARINDAKİ
DEĞİŞİMİ**

Ezgi DÜNDAR

Danışman :Prof. Dr. Hatice KALKAN YILDIRIM

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

Ezgi DÜNDAR tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Propolisteki Fenolik Bileşiklerin Farklı Biyotransformasyon Koşullarındaki Değişimi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 23.08.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hatice KALKAN YILDIRIM
Üye : Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK
Üye : Dr. Öğretim Üyesi İsmail EREN

İmza



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Propolisteki Fenolik Bileşiklerin Farklı Biyotransformasyon Koşullarındaki Değişimi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

23 / 08 / 2019

İmzası



Ezgi Dünder

ÖZET**PROPOLİSTEKİ FENOLİK BİLEŞİKLERİN FARKLI
BİYOTRANSFORMASYON KOŞULLARINDAKİ DEĞİŞİMİ**

DÜNDAR, Ezgi

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice KALKAN YILDIRIM

Ağustos 2019, 104 sayfa

Propolis, kompleks içeriğe sahip bir değerli bir arı ürünüdür. Propolis, çeşitli bitki kaynaklarından bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından toplanan reçinemsî maddedir. Arılar bitkilerin farklı kısımlarından topladıkları maddeleri kovana taşırlar. Arıların çeneleri yardımıyla topladıkları bu maddeleri tükürük salgıları ve balmumu ile karıştırmaları sonucunda propolis meydana gelir. Bu tezde propolisin içerdiği fenolik bileşenlerin biyotransformasyondan sonra daha kullanışlı hale gelebileceği ve farklı uygulama alanlarında kullanılabileceği düşüncesi ile yola çıkılarak propolisteki fenolik bileşenlerin farklı biyotransformasyon koşullarındaki değişimi incelenmiştir.

Biyotransformasyonda sırasında farklı çözücüler (etanol, polietilen glikol ve su), farklı inokülasyon oranları (%1,5, %2,5, %3,5), farklı kültürler (*Lactobacillus plantarum* İŞLG-2, *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014, *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) ve ultrason uygulaması (5 dk, 10 dk, 15 dk) kullanılmıştır. Farklı biyotransformasyon koşullarına tabii tutulanan propolis örneklerinin UPLC/MS-MS yöntemi fenolik bileşen analizi, Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik bileşik analizi ve troloks eşdeğeri antioksidan aktivite (TEAC), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürücü antioksidan aktivite (DPPH) ve demir

(III) iyonu indirgeyici antioksidan aktivite (FRAP) yöntemi ile analizler yapılmıştır.

Çalışmanın sonucunda, fenolik bileşenler üzerinde farklı çözücülerin, kültürlerin ve ultrason uygulamalarının etkileri değişmekle birlikte hedef fenolik bileşene göre seçilecek her bir parametrenin kalitatif olarak bir etki yaratabileceği ortaya çıkmıştır.

Anahtar sözcükler: propolis, biyotransformasyon, antioksidan aktivite, toplam fenol, laktik asit bakterileri



ABSTRACT**CHANGES OF PHENOLIC COMPOUNDS IN PROPOLIS AT
DIFFERENT BIOTRANSFORMATION CONDITIONS**

DÜNDAR, Ezgi

MSc in Food Eng.

Supervisor: Prof. Dr. Hatice KALKAN YILDIRIM

August 2019, 104 pages

Propolis is a valuable bee product with complex content. Propolis is a resinous material collected by honeybees (*Apis mellifera* L.) from various plant sources. The bees carry the materials to hive which they collect from different parts of the plants. Propolis comes to as a result of mixing these substances with salivary secretions and wax with the help of the jaws of the bees. In this thesis, the change of phenolic components in propolis under different biotransformation conditions was investigated by considering the fact that the phenolic compounds contained in propolis can become more useful after biotransformation and can be used in different application areas.

Different solvents (ethanol, polyethylene glycol and water), different inoculation rates (1.5%, 2.5%, 3.5%), different cultures (*Lactobacillus plantarum* ISLG-2, *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014, *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) and ultrasound application (5 min, 10 min, 15 min) were used during biotransformation. Propolis samples subjected to different biotransformation conditions were analyzed by UPLC/MS-MS method, total phenolic compound analysis by Folin Ciocalteu method and antioxidant activity analysis by trolox equivalent antioxidant activity (TEAC), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging antioxidant activity (DPPH) and iron (III) reducing antioxidant activity (FRAP) method.

As a result of the study, the effects of different solvents, cultures and ultrasound applications on phenolic compounds have changed and it was found

that each parameter selected according to the target phenolic component could have a qualitative effect.

Keywords: propolis, biotransformation, antioxidant activity, total phenol, lactic acid bacteria.



ÖNSÖZ

Yeni bilgiler öğrenme, bilgiyi kullanma ve araştırma isteğimi canlı tutan bir yüksek lisans dönemi sonunda sizlere tezimi sunuyorum. Tezimin belirlenme aşamasından son kısmına kadar etkin bir dönem geçirdim. Bu süreç bana farklı bakış açıları, oluşan bir problemi çözme ve pratik düşünme ile ilgili katkılar sağladı. İçine girdiğim aktif bilim ortamları teorik ve pratik olarak kendimi geliştirmemde yardımcı oldu. Gelişen ve değişen bilgileri takip etmenin önemini bu süreçte anladım. Dinamik ve kendini yenileyen bir alanda çalışma fırsatı bulduğum için kendimi şanslı hissediyorum.

İZMİR

23/08/2019

Ezgi DüNDAR



İÇİNDEKİLERSayfa

İÇ KAPAK	..ii
KABUL ONAY SAYFASI	...iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	..vii
ABSTRACT	..ix
ÖNSÖZ	..xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	..xvii
TABLolar DİZİNİ.....	..xxv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	..xxvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Propolis.....	3
2.1.2 Propolisin kimyasal bileşimi.....	5
2.1.3 Propoliste bulunan fenolik bileşikler	6
2.2 Biyotransformasyon.....	9

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.2.1 Fenolik bileşiklerin laktik asit bakterileri ile biyotransformasyonu	10
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1 Kimyasallar	12
3.2 Propolis Örnekleri	12
3.3 Kültürlerin Hazırlanması.....	12
3.4 Deney Planı.....	13
3.4.1 Propolis örneklerinin biyotransformasyonu.....	13
3.4.2 Propolis örneklerinde çözgen ve ultrasonik işlemlerin kullanımı	14
3.4.3 İnkübasyon	15
3.4.4 Alt akım işlemleri.....	15
3.5 Analizler.....	16
3.5.1 TEAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini.....	16
3.5.2 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini.....	17
3.5.3 FRAP yöntemi ile antioksidan aktivite tayini	17
3.6 Toplam Fenolik Bileşik Analizi.....	17
3.7 (UPLC/MS MS) Yöntemi ile Fenolik Bileşik Analizi.....	17

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.8 İstatistiksel Analiz	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
4.1 Antioksidan Aktivite Analizleri.....	19
4.1.1 TEAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini	19
4.1.2 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini	22
4.1.3 FRAP yöntemi ile antioksidan aktivite tayini.....	26
4.2 Toplam Fenolik Bileşik Analizi.....	30
4.3 UPLC/MS MS Yöntemi ile Fenolik Bileşik Analizi	33
5. GENEL SONUÇLAR	91
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	93
TEŞEKKÜR	101
ÖZGEÇMİŞ.....	102
EKLER	



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Deney Planı.....	14
3.2. Propolisin biyotransformasyonu.....	16
3.3 Örneklerin alt akım işlemleri.....	18
4.1 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin TEAC yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	19
4.2 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin TEAC yöntemi ile antioksidan aktivitesine etkisi	20
4.3 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin TEAC yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	21
4.4 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DPPH yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	22
4.5 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DPPH yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	23
4.6 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DPPH yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	24
4.7 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	26

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.8 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	27
4.9 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi	28
4.10 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin toplam fenolik bileşik içeriğine etkisi	30
4.11 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin toplam fenolik bileşik içeriğine etkisi	31
4.12 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin toplam fenolik bileşik içeriğine etkisi	32
4.13 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kafeik aside etkisi	33
4.14 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kafeik aside etkisi	34
4.15 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kafeik aside etkisi	35
4.16 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kaemferole etkisi.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.17 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kaemferole etkisi	36
4.18 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kaemferole etkisi	37
4.19 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin ferulik aside etkisi	38
4.20 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin ferulik aside etkisi	39
4.21 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin ferulik aside etkisi	40
4.22 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kuersetine etkisi.....	41
4.23 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kuersetine etkisi.....	42
4.24 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kuersetine etkisi.....	43
4.25 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin rutine etkisi.....	44
4.26 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin rutine etkisi.....	45
4.27 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin rutine etkisi.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.28 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin parakumarik aside etkisi	47
4.29 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin parakumarik aside etkisi	48
4.30 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin parakumarik aside etkisi	49
4.31 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin vanilik aside etkisi	50
4.32 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin vanilik aside etkisi	51
4.33 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin vanilik aside etkisi	52
4.34 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DMAE kafeik aside etkisi.....	53
4.35 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DMAE kafeik aside etkisi.....	54
4.36 Propolisin, farklı kültürler ile 3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DMAE kafeik aside etkisi.....	55
4.37 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin CAPE'ye etkisi	56
4.38 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin CAPE'ye etkisi	57

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.39 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin CAPE'ye etkisi.....	58
4.40 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin klorojenik aside etkisi.....	59
4.41 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin klorojenik aside etkisi.....	59
4.42 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin klorojenik aside etkisi.....	60
4.43 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin elajik aside etkisi	61
4.44 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin elajik aside etkisi	62
4.45 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin elajik aside etkisi	63
4.46 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin naringenine etkisi	64
4.47 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin naringenine etkisi	65
4.48 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin naringenine etkisi	66
4.49 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin pelargonine etkisi	67

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.50 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin pelargonine etkisi.....	68
4.51 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin pelargonine etkisi.....	69
4.52 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin epikateşine etkisi.....	70
4.53 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin epikateşine etkisi.....	71
4.54 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin epikateşine etkisi.....	72
4.55 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin salisilik aside etkisi.....	73
4.56 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin salisilik aside etkisi.....	74
4.57 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin salisilik aside etkisi.....	75
4.58 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin trans-sinamik aside etkisi.....	76
4.59 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin trans-sinamik aside etkisi.....	77
4.60 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin trans-sinamik aside etkisi.....	78

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.61 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin gentisik aside etkisi	79
4.62 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin gentisik aside etkisi	80
4.63 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin gentisik aside etkisi	80
4.64 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin prokatekuik aside etkisi	81
4.65 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin prokatekuik aside etkisi	82
4.66 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin prokatekuik aside etkisi	83
4.67 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin mirisetine etkisi	84
4.68 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin mirisetine etkisi	84
4.69 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin mirisetine etkisi	85
4.70 Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin 4-hidroksi benzoik aside etkisi	86
4.71 Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin 4-hidroksi benzoik aside etkisi	87

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)Sayfa

4.72 Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin 4-hidroksi benzoik aside etkisi 87



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Propolisin kimyasal bileşimi.....	5
2.2 Propoliste bulunan fenolik bileşikler.....	8
2.3 Türkiye'nin bazı illerinden toplanan propolislerin fenolik bileşik içeriği.....	9
2.4 Fenolik bileşiklerin laktik asit bakterileri ile biyotransformasyonu sonucunda elde edilen bileşikler	10



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ABTS	2,2-azinobis (3-etilbezotiyazolin-6-sülfonik asit)
CAPE	Kafeik asit fenil ester
DMAE	1,1-dimetilalil ester
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
PEG	Polietilen glikol
Troloks	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit



1. GİRİŞ

Bal arılarının (*Apis mellifera* L.) çeşitli bitki kaynakları kullanarak ürettiği ve kovanda bakterilere, virüslere ve mantarlara karşı çok kuvvetli koruyucu etkiye sahip yapışkan madde olan propolisin kullanımı her geçen gün artmaktadır. Bu değerli arı ürününün antimikrobiyal özellikleri yanında antiinflamatuvar, antitumöjenik, antiseptik ve antioksidan aktivite gibi çok sayıda yararlı biyolojik aktivite gösterdiği anlaşıldıktan sonra dünya ticaretinde ve marketlerde düzenli olarak alınıp satılan bir ürün haline gelmiştir. Propolisin bu yararlı biyolojik aktivitesinden sorumlu bileşiklerin ise bitkilerde bulunan ve bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler olduğu düşünülmektedir. Kovandan toplanan ham propolisin yararlı etkilerinden faydalanmak amacıyla uygun bir çözücü kullanılarak ekstraksiyon arayışları sürmektedir. Propolisin fenolik bileşenlerin içeriğinin belirlenmesinde ekstraksiyon aşamasında seçilen yöntemi ve kullanılan çözücüler kritik bir öneme sahiptir.

Propolis kompleks fenolik bileşik içeriği ile dikkat çeken bir materyaldir. Özellikle yüksek miktarda fenolik bileşik içeren değerli atıkların değerlendirilmesinde biyotransformasyon önemli bir rol oynamaktadır. Biyotransformasyon sırasında mikroorganizmalar seçilen bileşiğe etki ederek farklı fenolik bileşikler elde edilmesinde veya hedef fenolik bileşiğin miktarının artırılıp azaltılmasında etkilidir. Bitki matrislerinin biyotransformasyonunda ise fenolik bileşiklerin metabolizmasının araştırılmasında ise en sık tercih edilen grup laktik asit bakterileridir. Bu çalışmada propolisin içerdiği fenolik bileşenleri, biyotransformasyondan sonra daha kullanışlı hale gelebileceği ve farklı uygulama alanlarında kullanılabileceği düşüncesiyle yola çıkılarak farklı biyotransformasyon koşullarının propolisin fenolik bileşenlerine etkisi değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu tezde, propolisin fenolik bileşiklerin biyotransformasyonu için laktik asit bakterileri arasından *Lactobacillus plantarum* türü tercih edilmiştir. Aynı zamanda çalışmada *Lactobacillus plantarum* türüne ait farklı suşların, inokülüm oranlarının, ekstraksiyon yöntemi ve çözücülerin propolisin fenolik bileşiklerinin biyotransformasyonuna etkileri değerlendirilmiştir. Biyotransformasyondan sonra elde edilen materyalin fenolik bileşik miktarına ve antioksidan aktivitesine göre sınıflandırılıp farklı uygulama alanlarında kullanılmasına katkı sağlaması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Arılar, 125 milyon yıllık aşkın bir süre boyunca var olmuş ve evrimsel başarıları sayesinde dünya üzerindeki hemen hemen tüm yaşam alanlarını kullanabilecek çok yıllık türler haline gelmişlerdir. Bu evrimsel başarıya arıların ürettiği bal, balmumu, arı zehri, propolis, polen ve arı sütü gibi ürünlerin kimyasal yapısı ve arıların bu ürünleri kullanma şekli de etki etmektedir. Propolis üretimi arıların davranışsal savunma biçimlerinden biri olarak adlandırılır. Arıların patojen mikroorganizmalara karşı en önemli 'kimyasal silahı' olan propolis, antik çağlardan beri insanlar tarafından tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Bankova, 2005; Borba et al., 2015). Propolisin keşfi milattan önceki yıllara kadar uzanır. Yunan filozofu Aristoteles'in şeffaf bir kovanda arıların faaliyetlerini incelemiştir. Bir süre sonra kovan saydamlığını kaybedip mumsu maddelerle kaplanmıştır. Bu maddenin propolis olduğu tahmin edilmektedir (Kutluca ve ark., 2006). Propolis, Antik Yunan'da pro (giriş, ön) ve polis (şehir veya topluluk) olarak, dolayısıyla kovayı savunan bir madde/savunmasında kullanılan madde anlamında kullanılmıştır. (Ghisalberti, 1978).

Tarih boyunca farklı ülkelerde çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. Özellikle Antik Yunan'da, Antik Roma'da ve Mısır'da, Avrupa'da ve Kuzey Afrika'da yaygın olarak kullanılmıştır. Modern tıbbın babası olarak bilinen Hipokrat, propolisin iyileştirici özelliklerinin olduğunu kabul etmiştir. Propolis Antik Yunan'da ve Antik Roma'da antiseptik ve yara iyileştirici olarak, İnkalar antipiretik olarak ve Mısır'da ölüleri mumyalanmasında kullanmıştır. Orta Çağ'da propolis popülerliğini yitirmiştir ve merhem olarak kullanımı ortadan kalmıştır. Rönesans döneminde eski tedavi yaklaşımlarına artan ilgi nedeniyle propolise olan ilgi de artmıştır. 17.yy'da Londra'da resmi ilaçlar listesinde yer almıştır (Kutluca ve ark., 2006; Scorfin and Bankova, 2011; Marninotti and Ranzato, 2015) 17.yüzyılda İtalya'da Stradivari yaylı enstrümanların verniklenmesinde propolisi kullanmıştır (Monti, 1983). Günümüzde hala yaylı çalgılar ve akordeon gibi bazı enstrümanların cilalanmasında propolis kullanılmaktadır (Jolly, 1978; Van Ketel and Bruynzel, 1982).

Propolisin özellikleri 1960 yıllarında bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve son 40 yılda pek çok araştırmacı propolisin kimyasal kompozisyonu, biyolojik aktivitesi, farmakolojik ve tedavi edici özellikleri üzerine çalışmalar yapmıştır. Propolis hakkındaki ilk kapsamlı inceleme ise Ghisalberti tarafından 1978 yılında yayınlanmıştır (Ghisalberti, 1978). Son yıllarda propolis antibakteriyel,

antifungal, antiviral, antitümör, antienflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip olmasından dolayı büyük ilgi görmektedir (Popova ve ark., 2007).

2.1 Propolis

Propolis, *Apis mellifera* L. balarısı türü tarafından üretilen değerli bir arı ürünüdür. Propolisin temel bileşenini reçine, müsilaj ve zambak gibi bitkilerin yaprak, tomurcuk ve çatlaklarında bulunan lipofilik maddeler oluşturur (Bankova and Castro, 2000). Reçinenin kaynağı ise arıların bulunduğu coğrafi bölgeye ve arıların yaptığı seçimlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Bankova, 2016). Propolisin en önemli kaynakları arasında akçaağaç (*Acer* L.), kızılbaş (*Alnus* Mill.), fındık (*Corylus* L.), meşe (*Quercus* L.), erik (*Prunus* L.), karaağaç (*Ulmus* L.), söğüt (*Salix* L.), at kestanesi (*Aesculus hippocastanum* L.), çam (*Pinus* L.), ökaliptus (*Eucalyptus camellidensis* Dehnh.), kestane (*Castaneasativa* Mill.), huş (*Betula* L.), kavak (*Populus* L.), ıhlamur (*Tilia* L.) ve dişbudak (*Fraxinus* L.) bulunmaktadır (Kutluca ve ark., 2006; Oruç ve ark., 2014).

Apis mellifera L. balarısı türleri farklı bitkilerden alt çeneleri yardımı ile topladıkları reçineyi çiğneyerek tükürük salgılarında bulunan β -glukosidaz enzimi ile kısmen sindirerek pellet haline getirirler. Bal arılarının pellet haline getirdikleri reçineyi içsalgı bezlerinden salgılarından balmumu ile birleştirirler ve propolis elde edilir. (Ghisalberti, 1979; Krell, 1996). Propolis, Türk Standartları Enstitüsü tarafından ise ‘‘İşçi arıların, kovan içerisindeki besinleri, yavru arıları ve kendilerini çeşitli patojen mikroorganizmalardan (virüs, bakteri, fungus) korumak amacıyla bitkilerin yaprak, gövde, tomurcuk vb. kısımlarından topladığı reçinemsî maddeleri ve bitki nektarlarını, başlarında yer alan salgı bezlerinden salgılanan enzimler ile biyokimyasal değişikliğe uğratarak oluşturdukları, ‘arı tutkalı’ olarak da adlandırılan ürün.’’ olarak tanımlanmaktadır (TSE 12910, 2003).

Arıların ürettikleri propolisin kovanda birçok işlevi vardır. Genel olarak kovanın temizlenmesi, korunması ve onarılması amacıyla kullanılır. Propolisin koruyucu özelliğinin kaynağını ise bitkilerin patojenlere karşı savunma amaçlı ürettikleri reçine oluşturur (Giada, 2013). Kovan içinde havanın ise mikroorganizmaların gelişimini engellemesi ve koloniyi hastalıklardan koruması propolisin yapısında bulunan reçineden dolayısıyla kimyasal özelliklerinden ileri gelmektedir. Kovanın yumurta, larva ve arı popülasyonu 50000- 80000 aralığında, kovanın sıcaklığı 34 °C ve kovanın nem içeriği %40-65 aralığında olması dolayısıyla çeşitli mikroorganizmaların üremesi için uygun koşullar sağlandığı

halde propolisin sahip olduğu antimikrobiyal özellikler sonucunda kovanın bakteri, virüs ve funguslara karşı koruduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kovayı kontrolsüz hava akışına karşı korumakta ve kovanın nem miktarını sabit tutmaktadır (Kuropatnicki et al., 2013) Propolis sahip olduğu yapısal özellikleri sayesinde kovanda meydana gelen çatlakların tamir edilmesi, kovan girişinin küçültülmesi ile kovayı dış ortamdan izole edilmesi ve kovana giren istenmeyen canlıları mumyalanması amacıyla kullanılır (Ghisalberti, 1979; Krell, 1996; Kumova et al., 2002).

2.1.1 Propolisin fiziksel özellikleri

Propolis, genel olarak reçinemi ve yapışkan bir yapıya sahiptir. Propolisin diğer fiziksel özellikleri ise arı kolonilerinin bitki kaynağı seçimine ve bulunulan coğrafi bölgeye göre farklılık gösterir. Bu durum farklı renk, koku ve özelliklere sahip büyük bir propolis çeşitliliğinin oluşmasını sağlamıştır (Krell, 1996). Propolisin fiziksel özellikleri kaynağına ve yaşına bağlı olarak değişiklik gösterir. Propolis duysal olarak değerlendirildiğinde ise hoş bir aromatik bir kokuya sahiptir (Ghisalberti, 1979). Propolis bitki kaynağına bağlı olarak sarı, yeşil, kahverengi ve kırmızı renkli olabilir (Martinotti and Ranzato, 2015). *Baccharis dracunculifolia* bitki türünün kaynağını oluşturduğu Brezilya propolisinin yeşil renkte olması ve *Dalbergia ecastophyllum* bitki türünün kaynağını oluşturduğu Küba, Brezilya ve Meksika propolisinin kırmızı renkte olması bitki kaynağının propolisin rengine etkisine örnek olarak gösterilebilir (Park et al., 2002; Scorfin and Bankova, 2011). Genellikle 60 °C – 100 °C sıcaklık aralığında sıvı halde, 25 °C – 45 °C sıcaklık aralığında yumuşak ve yapışkan, 15°C ve altındaki sıcaklıklarda sert ve kırılğan bir yapı göstermektedir (Ghisalberti, 1979).

Kovandan toplanan propolis ham propolistir ve doğrudan kullanılmaz. Propolisten değerli bileşikleri açığa çıkarılması için uygun bir çözücü ile ekstraksiyonu yapılmalıdır Genellikle, etanol propolis preparatı için en iyi çözücüdür. Etil eter, su, metanol, kloroform, diklorometan ve aseton gibi diğer çözücüler propoliste bulunan bileşiklerinin özütlenmesi amacıyla kullanılabilir (Wagh, 2013; Martinotti and Ranzato, 2015). Bununla birlikte propolisin gliserol, propilen glikol ve yağ gibi çözücüler ile hazırlanan ekstraktları ilaç ve kozmetik endüstrilerinde kullanılmıştır (Tosi et al., 1996).

Propolisin ekstraksiyonunda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Maserasyon ve soxhlet ekstraksiyonu propolisin ekstraksiyonunda kullanılan geleneksel

yöntemler arasında sayılabilir. Son yıllarda ise geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin yerine alternatif olarak kullanılabilecek süperkritik sıvı ekstraksiyonu, ultrason-destekli ekstraksiyon, yüksek basınç-destekli ekstraksiyon, mikrodalga-destekli ekstraksiyon uygulamalarını içeren yöntemler göze çarpmaktadır. Bu yeni ekstraksiyon yöntemleri ile uzun ekstraksiyon süresinin kısaltılması, maliyetin düşürülmesi, fazla miktarda çözücü buharlaşmasını engellemesi ve sıcaklık ile kararlılığı bozulan bileşiklerin kontrolü gibi avantajlar sağlanarak ekstraksiyonun iyileştirilmesi hedeflenmektedir (Trusheva et al., 2007; Paviani et al., 2013; Monroy et al., 2017).

2.1.2 Propolisin kimyasal bileşimi

1960'larda, propolisin çok karmaşık olduğu düşünülüyordu, ancak propolisin kimyasal içeriği tam olarak açıklanamamıştı. İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda farklı coğrafi bölgelerden toplanan propolis örneklerinin kimyasal bileşimlerinin değişkenlik gösterdiği ortaya konulmuştur. Bununla birlikte fitokimyacılar ve farmakologların ortak çalışmaları farklı propolis örneklerinin kimyasında ve biyolojik aktivitelerinde tamamen farklı olabileceği fikrine öncülük etmiştir (Bankova, 2005).

Propolis genel olarak %45-55 oranında reçine, %25-35 oranında mum ve yağ asitleri, %10 oranında esansiyel yağ, %5 oranında polen ve %5 oranında mineral ve basit şekerler gibi diğer bileşenleri içermektedir (Krell, 1996; Cuesta et al., 2005). Propolisin kimyasal bileşimi Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2. 1. Propolisin kimyasal bileşimi.

Bileşenler (%)	Reçine (%45–55)	Flavonoidler
		Fenolik asit ve esterleri
	Mum ve yağ asitleri (%25–35)	Terpenler
		Kumarinler
		Balmumu
		Çoklu doymamış yağ asitleri
	Esansiyel yağlar (%10)	Uçucu bileşikler
	Polen (%5)	Proteinler
		Serbest amino asitler
		Vitaminler
	Diğer bileşenler (%5)	Mineraller
		Ketonlar
		Kinonlar
		Basit şekerler
		Steroidler

Propolisin kimyasal bileşimi arı ırkına, iklime, bitki kaynağına, coğrafi orijine ve propolis üretim yöntemine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Dündar ve Yıldırım, 2018). Propolisin kimyasal bileşiminde ortaya çıkan farklılıklar, çeşitli propolis türlerinin açığa çıkmasına katkı sağlamaktadır. Bu durum propolisin belli bir kimyasal standardizasyona sahip olmasının önüne geçmiştir ve propolisin kalite kontrolünde bazı sorunları beraberinde getirmektedir (Kumova ve ark., 2002; Bankova, 2005a). Propolisin içerdiği temel ve kompleks bileşenlerinin belirlenmesinde ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, yüksek akımlı ters akım kromatografisi ve kütle spektrometrisi gibi analitik yöntemler kullanılmaktadır. Ayrıca nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR) yöntemi ile farklı coğrafi orijine sahip propolis örneklerinin kimyasal içeriğinin açığa çıkarılmasında etkili ve hızlı bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Cuesta-Rubio et al., 2012). Böylece propolisin standardizasyonunu farklı bitki türlerine ve kimyasal bileşimlerine göre yapılarak bir standart oluşturulabilir (Kujumgiev ve ark., 1999; Banskota ve ark., 2001; Bankova, 2005a). Bununla birlikte propolis preparatları üreten üreticilerin, kullanacağı propolisin kimyasal bileşimi bilmesi, üretilen ürünün yüksek bir kaliteye ulaşması açısından önemlidir (Popova ve ark., 2007). Ayrıca arılar uygun bitki kaynakları bulamadıklarında çevrelerinde bulunan boya, asfalt ve mineral yağları kaynak olarak kullanırlar. Bitki kaynağının saptanması yetiştiricilerinin arıların bulunduğu bölgedeki bitki kaynaklarına hâkim olması açısından ve kaliteli bir propolis üretimi için önem taşımaktadır (Kumova et al., 2002).

2.1.3 Propoliste bulunan fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerin savunma mekanizması tarafından patojenlere karşı koruma amaçlı ve savunma mekanizması oluşturmak amacıyla üretilen bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerde biyogenetik olarak fenolik bileşikler iki metabolik yoldan üretilir. Birinci yol olan şikimik asit yolunda fenilpropanoidler ve ikinci yol olan asetik asit yolunda ise fenoller oluşur. Çoğu bitkisel fenolik bileşik shimik asit yoluyla sentezlenir. Bitki her iki yolun kombinasyonunu kullanırsa doğada en fazla bulunan fenolik bileşik grubu olan flavonoidler oluşur (Giada, 2013). Flavonoidler kimyasal yapısına göre flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanoller, izoflavonlar, izodihidroflavonlar, izoflavanlar, flavanlar, kalkonlar, dihidrokalkonlar ve antosiyanidinler olarak sınıflandırılabilir. Flavonoid grubu dışındaki fenolik bileşikler ise temel olarak benzoik asit ve türevleri, sinamik asit ve türevleri,

fenolik asit esterleri, liganlar, ligninler, kumarinlar, stilbenler, resveratrol ve fenilpropanoidler olarak sınıflandırılabilir (Huang et al., 2014).

Propolisin içeriğine dahil olan fenolik bileşikler propolisin de koruyucu özelliğinin kaynağını oluşturmaktadır (Giada, 2013; Bankova et al., 2016). Propolisin kimyasal bileşiminde tanımlanan 300'den fazla bileşen arasında fenolik bileşikler, propolisin farmakolojik ve biyolojik aktivitelerinden sorumlu oldukları için öne çıkmaktadırlar (Escriche and Juan-Borrás, 2018; Galeotti et al., 2018). Propoliste bulunan fenolik bileşikler Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Propolisin kimyasal bileşen içeriği, arıların yaptığı tercihler ve bulunulan bölgedeki bitki kaynaklarından etkilenir. Arılar, herhangi bir coğrafi bölgede belirli propolis kaynaklarını sabit bir tercih yaparak seçmektedirler (Krell, 1996). Propoliste gözlemlenen farklılık özellikle fenolik bileşik içeriğinde gözlemlenmektedir (Bankova, 2016). Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'nın tropik olmayan bölgeleri gibi ılıman ve karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolislerin esas kaynağının siyah kavak (*Populus nigra*) ağacının olduğu ortaya konulmuştur (Bankova ve ark., 2000). Kavak ağacı yetişmeyen tropikal ve subtropikal bölgelerde ise arılar yeni bitki kaynakları bulmalıdırlar (Bankova 2005b). Brezilya propolisinin ana kaynağının *Baccharis dracunculifolia* bitkisi olduğu rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalar ile kavak tipi propolis ile tropik bölgelerde toplanan propolis örneklerinin farklı fenolik bileşen içeriğine sahip olduğu ortaya konulmuştur (Park ve ark., 2002). Brezilya propolisinde ağırlıklı olarak prenile *p*-kumarik asit, prenile asetofenon türevleri ve kavak tipinden farklı flavonoidler bulunduğunu, kavak tipi propoliste ise pinocembrin, pinobanksin, pinobanksin-3-O-asetat, krizin, galangin, sinnamik asitler, kafeik asit ve esterlerinin bulunduğu rapor edilmiştir (Marcucci, 1999; Bankova 2005b). Brezilya propolisi ve kavak tipi propolisten farklı olarak kaynağını kaynağını ise *Clusia spp.* türünün oluşturduğu Küba ve Venezüela propolisinde ise poliprenile benzofenonlar tespit edilmiştir. (Cuesta-Rubio ve ark., 2002; Trusheva et al., 2004). Rusya'da *Betula verrucosa* Ehrh. türleri kaynaklı propolis asasetin, apigenin, ermanin, kaemferid, asetoksibetulenol içerirken; Küba, Brezilya ve Meksika'da *Dalbergia ecastophyllum* ve diğer *Dalbergia spp.* türleri kaynaklı propolis izoflavanlar ve terokarpanlar içermektedir. Sicilya, Malta, Kıbrıs ve Malta'da *Cupressaceae spp.* türleri büyük ihtimalle *Cupressaceae sempervirens* ve *Cupressaceae pinaceae* kaynaklı Akdeniz propolisi diterpenler ve antrakininler içerir. Okinawa, Tayvan, Endonezya'da *Macaranga tanarius* kaynaklı Pasifik propolisi C-prenile-flavanonları içermektedir (Bankova vd, 2000,

de Groot, 2013, Sforcin ve Bankova, 2011). Kenya'da *Macaranga spp.* türleri kaynaklı Afrika propolisinde macarangin adlı yeni bir flavonol çeşiti tespit edilmiştir (Petrova et al. 2010).

Tablo 2. 2. Propoliste bulunan fenolik bileşikler.

Fenolik bileşikler	Kaynak
Flavonoidler	
Flavonoller: galangin, kaempferol, kaempferid, ramnetin, izoramnetin, kuersetin, rutin, macarangin, izalpinin, fisetin	Anjum et al., 2018; De Groot, 2013; Santos-Buelga and González-Paramás, 2017; Marcucci, 1995
Flavonlar: akasetin, apigenin, krisin, tektokrisin, luteolin, pectolinarinenin	De Groot, 2013; Huang et al., 2014
Flavanonlar: naringenin, pinosembrin, alpinetin, pinostrobin, sakuranetin, izosakuranetin, pinobanksin, liquiritigenin, propolin A, propolin B, propolin E, sigmoidin B, solofenol A,	De Groot, 2013; Huang et al., 2014; Santos-Buelga and González-Paramás, 2017
İzoflavonlar ve izodihidroflavonlar: daidzein, formononetin, kalikoz, ksenognosin B, biochanin A, prantensein, medicarpin, odoratin	Santos-Buelga and González-Paramás, 2017; Huang et al., 2014
İzoflavanlar: vestitol, neovestitol, mucronulatol	Santos-Buelga and González-Paramás, 2017
Kalkonlar ve dihidrokalkonlar: alpinetin kalkon, naringenin kalkon, pinobanksin kalkon, pinostrobin kalkon, pinosembrin kalkon, sakuranetin kalkon	Marcucci, 1995
Neoflavonoidler: neoflavonoid 1, neoflavonoid 2, neoflavonoid 3, neoflavonoid 4, neoflavonoid 5, neoflavonoid 6, neoflavonoid 7, neoflavonoid 8, neoflavonoid 9, neoflavonoid 10, pterocarpinler (medicarpin)	Huang et al., 2014
Fenolik asitler	
Benzoik asit ve türevleri: benzoik asit, salisilik asit, 4-hidroksi benzoik asit, 4-metoksi benzoik asit, gentisik asit, protokatekuik asit, gallik asit, vanilik asit	Walker and Crane, 1987, Marcucci, 1995
Sinamik asit ve türevleri: ferulik asit, izoferulik asit, hidroksisinamik asit, sinamik asit metil ester, kafeik asit, o-kumarik asit, m-kumarik asit, p-kumarik asit, klorenjenik asit, artepilin C	Walker and Crane, 1987, Marcucci, 1995; Santos-Buelga and González-Paramás, 2017
Fenolik asit esterleri: benzil, butil, etil, metil-butenil (prenil, izoprenil) , metil, pentil, pentenil, fenetil esterleri - Benzoik asit fenil metil ester, salisilik asit fenil metil ester, sinamik asit etil ester, kafeik asit fenil ester	De Groot, 2013
Diğer çeşitli fenolik bileşikler	
Lignanlar, fenilpropanoidler, kumarinler, stilbenler	Huang et al., 2014; Santos-Buelga and González-Paramás, 2017

Türkiye’de 2000’li yıllarda propolisin kimyasal olarak tanımlanması yapılmıştır ve bulunduğu bölge itibari ile çoğunlukla kavak (*Populus spp.*) türlerini içerdiği saptanmıştır. Bunun yanı sıra bölgesel çeşitliliğe bağlı olarak bitki kaynaklarının değişebileceği ve dolayısıyla fenolik bileşik içeriğinin farklılaşabileceği rapor edilmiştir (Silici, 2010). Türkiye’nin farklı illerine ait propolis örneklerinin bitkisel kaynağı ve fenolik bileşik içeriği Tablo 2.3’te gösterilmiştir.

Tablo 2. 3. Türkiye’nin bazı illerinden toplanan propolislerin fenolik bileşik içeriği.

Coğrafi bölge	Bitki kaynağı	Fenolik bileşikler	Kaynak
İzmir	<i>Populus nigra</i>	Pinokembrin, pinobanksin, pinobanksin 3-O-asetat, krisin, galangin, <i>p</i> -kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, fenil etil kafeat, kafeik asit benzil ve fenil etil esterleri, <i>p</i> -kumarik asit benzil ve fenil etil esterleri, ferulik asit benzil ve fenil etil esterleri	Popova et al. 2005
Artvin	<i>Populus euphratica</i>	Benzoik asit, <i>p</i> -kumarik asit, benzil asetat, ferulik asit, kafeik asit,	Popova et al. 2005
Mersin	<i>Eucalyptus sp.</i>	Sinamik asit, hidroksisinamik asit, kumarik asit, pinobanksin,	Silici et al., 2007
Kayseri	<i>Populus nigra</i>	Pinokembrin, pinobanksin, pinobanksin 3-O-asetat, krisin, galangin, <i>p</i> -kumarik, ferulik asit, kafeik asit, fenil etil kafeat, kafeik asit benzil ve fenil etil esterleri, <i>p</i> -kumarik asit benzil ve fenil etil esterleri, ferulik asit benzil ve fenil etil esterleri	Popova et al. 2005
Adana	<i>Populus nigra</i> + bilinmeyen bitki kaynağı	Sinamik asit, benzil sinamat, kafeik asit, 1,1-dimetilalil kafeik asit ester, sinamil sinamat, pinosembrin, pinobanksin, pinobanksin 3-O-asetat, krisin, galangin, fenil etil kafeat, cinamil kafeat	Popova et al. 2005

2.2 Biyotransformasyon

Biyotransformasyon, mikroorganizmalar tarafından biyolojik katalizörler kullanılarak belirli bir bileşiğin yapısal benzerliğini kaybetmeden spesifik modifikasyona uğratılmasıdır (Hegazy et al., 2015). Mikroorganizmalar tarafından seçilen bileşik fenolik bileşikler olduğunda gerçekleşen biyotransformasyon mikroorganizmaların sekonder metabolizması ve sahip oldukları eksojen enzimler ile doğrudan ilişkilidir. Fenolik bileşiklerin biyotransformasyonu sonucunda serbest ve uçucu fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarında değişiklikler meydana gelebilmekte ve farklı fenolik bileşiklerin oluşmasına da katkı sağlanabilir.

Biyotransformasyon yöntemi yüksek miktarda fenolik bileşik içeren atıkların değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Mадiera Junior et al., 2015).

2.2.1 Fenolik bileşiklerin laktik asit bakterileri ile biyotransformasyonu

Laktik asit bakterileri, bitki matrislerinin fonksiyonlarını geliştirmek amacıyla biyotransformasyon sırasında tercih edilen mikroorganizmalardan biri olmuştur (Curiel ve ark., 2015). Literatürde laktik asit bakterilerinin fenolik bileşiklerin biyotransformasyonunda kullanılması ile farklı kaynaklardaki yüksek içerikli fenolik bileşiklerin yeniden değerlendirildiği bildirilmiştir ve bu bağlamda yapılan çalışmalar Tablo 2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2. 4. Fenolik bileşiklerin laktik asit bakterileri ile biyotransformasyonu sonucunda elde edilen bileşikler.

Fenolik bileşik	Üretilen bileşik	Kaynaklar
Kafeik asit	Vinil katekol Etil katekol	Cavin et al., 1997
<i>m</i> -kumarik asit	3-(3-hidroksifenil) propionik asit	Rodríguez et al., 2008b
<i>p</i> -kumarik asit	Vinil fenol Etil fenol	Cavin et al., 1997
Ferulik asit	Vinil gayakol Etil gayakol	Cavin et al., 1997
Gallik asit	Pirogallol	Rodríguez et al., 2008b
Metil gallat	Gallik asit	Rodríguez et al., 2008b
Oleuropein	Hidroksitirozol	Ciafardini et al., 1994
Protokatekuik asit	Katekol	Rodríguez et al., 2008b
Tannik asit	Gallik asit Pyrogallol	Rodríguez et al., 2008a Rodríguez et al., 2008b

Lactobacillus plantarum suşu farklı bitki materyallerinin içerdiği fenolik bileşenlerin biyotransformasyonu sırasında en çok tercih edilen laktik asit bakterileri arasında yer almaktadır (Rodríguez et al., 2009). Ciafardini ve arkadaşları, zeytinde önemli bir fenolik bileşen olan oleuropeinin *Lactobacillus plantarum*'da bulunan β -glukosidaz enzimi tarafından glikozid formdan aglikon forma dönüştüğünü bildirmişlerdir. Aglikon forma geçen oleuropeinin ise *L. plantarum* tarafından sağlanan esteraz enzimi ile hidroksitirozol ve elanoik asite dönüştüğünü bildirmişlerdir (Ciafardini et al., 1994). Kachori ve Hamdi, zeytin üretiminde değırmenden açığa çıkan atık suyunun *L. plantarum* ile biyotransformasyonu sonucunda vanilik asit, ferulik asit ve tirozol gibi fenolik bileşenlerinin miktarının artarak atık suyun fenolik bileşen içeriğinin laktik asit

bakterisi tarafından zenginleştirildiğini rapor etmişlerdir (Kahori and Hamdi, 2004).

Laktik asit bakterilerinin fenolik bileşiklerin biyotransformasyonuna etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda ferulik asit ve p-kumarik asit gibi hidroksisinnamiklerin laktik asit bakterileri tarafından uçucu fenollere dönüştürülebileceğini bildirmiştir (Cavin et al., 1993; Barthelmebs et al., 2001; Gury et al., 2004).

Rodriguez ve arkadaşları, *L. plantarum* CET 748 T'nin gıdalarda bulunan p-kumarik asit, kafeik asit, m-kumarik asit, gallik asit ve protokatekuik asit gibi fenolik asitleri metabolize ettiğini rapor etmişlerdir. Biyotransformasyon sonucunda p-kumarik asitten 4-vinil fenol/etil fenol, kafeik asitten 4-vinil kateşol/4-etil kateşol, ferulik asitten 4-vinil gayakol/4-etil gayakol, m-kumarik asitten 3-(3-hidroksifenil) propiyonik asit, gallik asitten pirogallol ve protokatekuik asitten kateşol elde edildiğini bildirmişlerdir (Rodriguez et al., 2008).

Propolisin biyotransformasyonu ile ilgili çok az çalışma vardır. Gardana et al. (2012), *Lactobacillus helveticus*'un propolisteki kafeik asit ve sinamik asit esterleri miktarını azalttığını rapor etmiştir. Yıldırım ve ark. (2018), *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 suşunun ise kafeik asit ve sinamik asit esterleri dışındaki fenolik bileşiklerin miktarının azaltılmasında daha etkili olduğunu vurgulamışlardır.

Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada propolisin en önemli biyoaktif bileşenleri olan fenolik bileşikler üzerine farklı çözücülerin (X1:etanol+ fosfat tampon), (X2:PEG+ fosfat tampon), (X3:su); farklı inokulum oranlarının (%1,5, %2,5, %3,5); ultrason uygulamasının (X4a: 5 dk. ultrason uygulaması), (X4b: 10 dk. ultrason uygulaması), (X4c: 15 dk. ultrason uygulaması) ve farklı kültürlerin (L1: *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2), (L2: *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014), (L3: *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) etkileri değerlendirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kimyasallar

Bu tez çalışmasında MRS broth, polietilen glikol, metanol, sodyum asetat, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, FeSO_4 , Na_2CO_3 , formik asit, rutin ve gentisik asit Merck (Almanya); etanol, asetik asit, pirogallol, Folin-Ciocalteu reaktifi, asetonitril, ABTS, troloks, potasyum persülfat, DPPH ve naringenin Sigma-Aldrich (Almanya); fosfat tampon tuzu, kuersetin, ferulik asit, klorojenik asit, elajik asit, mirisetin, salisilik asit, 4-hidroksi benzoik asit, parakumarik asit, DMAE kafeik asit, CAPE ve pelargonin Sigma (ABD); kafeik asit, kaemferol, epikateşin, trans-sinamik asit, prokatekuik asit ve vanilik asit Fluka (Almanya); etil asetat Carlo Erba (Fransa) kullanılmıştır.

3.2 Propolis örnekleri

Propolis, Ankara'nın Ayaş ilçesinde bulunan "Ceyan Arıcılık" isimli yerel bir firmadan 2017 yılında temin edilmiştir. Propolisin, kırılğan bir yapı kazanması ile öğütme işlemini kolaylaştırmak amacıyla depolama sıcaklığı -20°C olarak belirlenmiştir. Propolis örnekleri, sanayi tipi bir öğütücü kullanılarak öğütülmüştür. Öğütülen örnekler elek analiz yöntemi uygulanarak partikül büyüklüğü 35 mesh (0.5 mm) olarak belirlenmiştir.

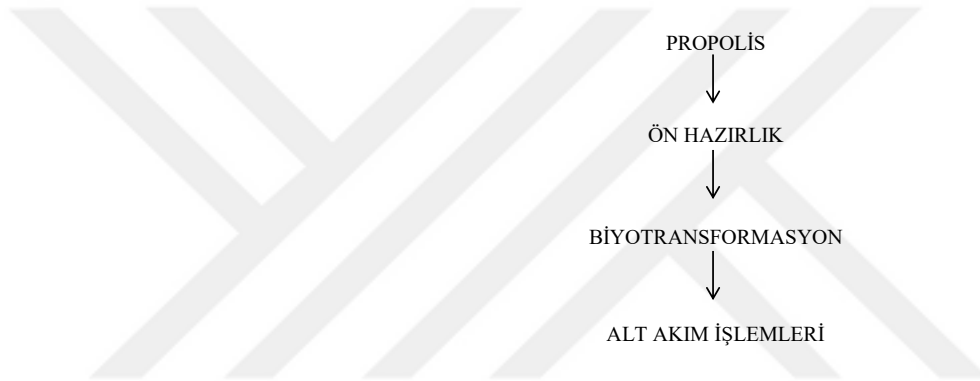
3.3 Kültürlerin Hazırlanması

Elde edilen propolis örnekleri biyotransformasyona tabi tutmak amacı ile Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliğinin kültür koleksiyonundan seçilen farklı *L.plantarum* suşları (*Lactobacillus plantarum* İŞLG -2, *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014; *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) üretimden 3 gün önce canlandırılmıştır. Besiyeri olarak MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) broth, sıvı besiyeri olarak kullanılmıştır. Besiyeri hazırlandıktan sonra pH değeri 5.5'e ayarlanmıştır ve 121°C 'de 15 dakika sterilize edilmiştir. *Lactobacillus plantarum* suşları 10 ml'lik tüplerde bulunan besiyerine inoküle edilmiştir. İnkübasyon sıcaklığı başlangıçta olarak 37°C ve 30°C olarak belirlenmiştir. *Lactobacillus plantarum* suşları 30°C 'de daha iyi bir gelişme gösterdiği için canlandırma işlemine bu sıcaklıkta 24 saat devam edilmiştir. İnkübasyon sonunda, her kültürden 0.1 ml alınarak, içinde 10 ml sıvı besiyeri bulunan farklı tüplere aktarılmıştır ve 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tekrar kültürlerden 0.1 ml alınarak içinde 10 ml sıvı besiyeri bulunan farklı tüplere aktarılmıştır ve 24

saat inkübe edilmiştir. Ayrıca, kullanılan tüm suşlar %20'lik gliserol çözeltisinde - 80 °C'de triplet olarak stoklanmıştır.

3.4 Deney Planı

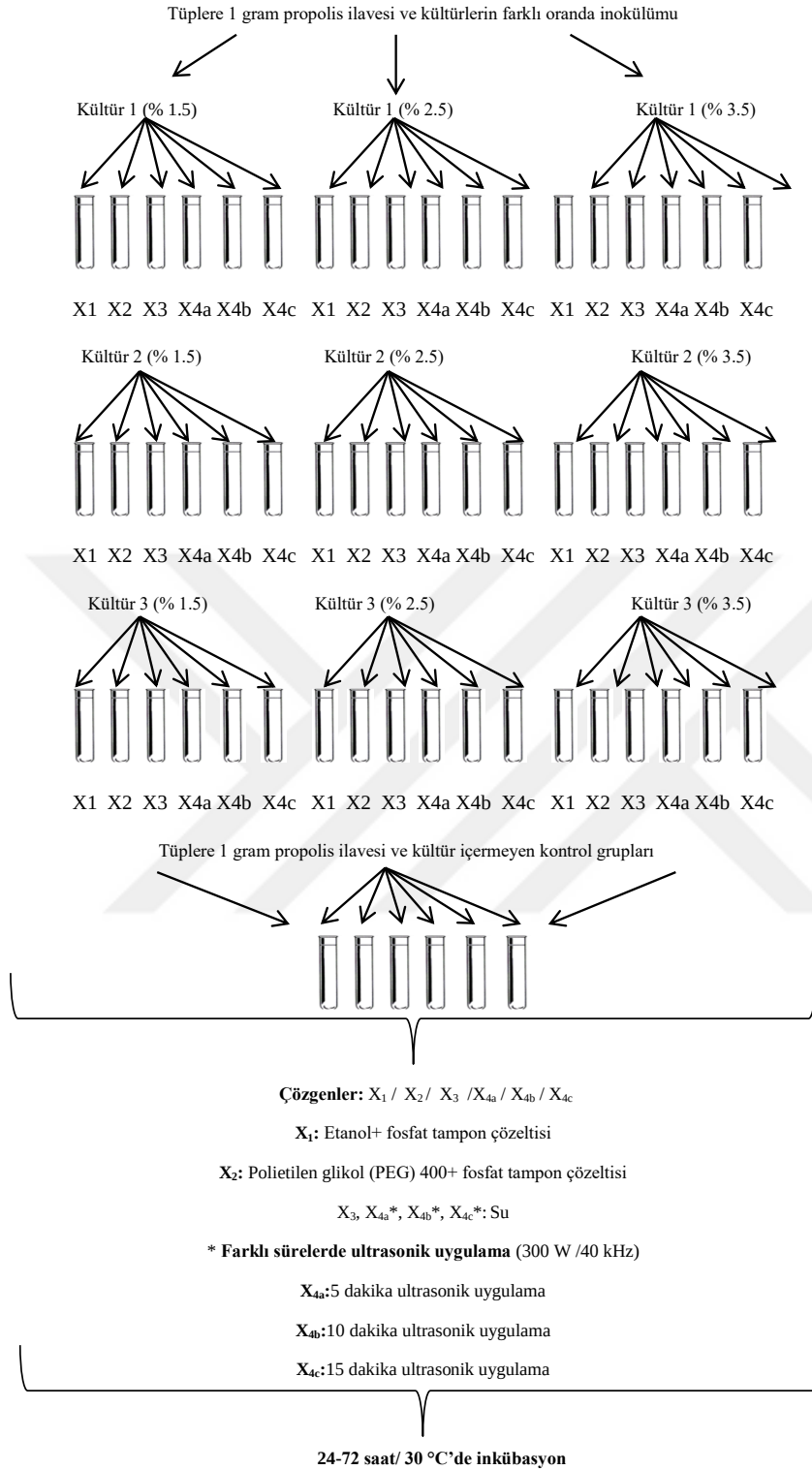
Tez kapsamında izlenen deney planı Şekil 3.1'de verilmiştir. Propolise uygulanan ön işlemlerin (öğütme ve boyutlandırma) ardından farklı kültürler kullanılarak biyotransformasyon, farklı çözümler kullanılarak ekstraksiyon ve seçilen bazı örnek gruplarına ultrasonik uygulama yapılmıştır. Kültür içermeyen (biyotransformasyon yapılmayan) sadece farklı çözümlerle ve ultrasonik uygulama yapılan 6 propolis örneği kontrol grubu olarak seçilmiştir. İnkübasyona sonunda alt akım işlemleri yapılarak deney planı tamamlanmıştır.



Şekil 3. 1. Deney Planı.

3.4.1 Propolis örneklerinin biyotransformasyonu

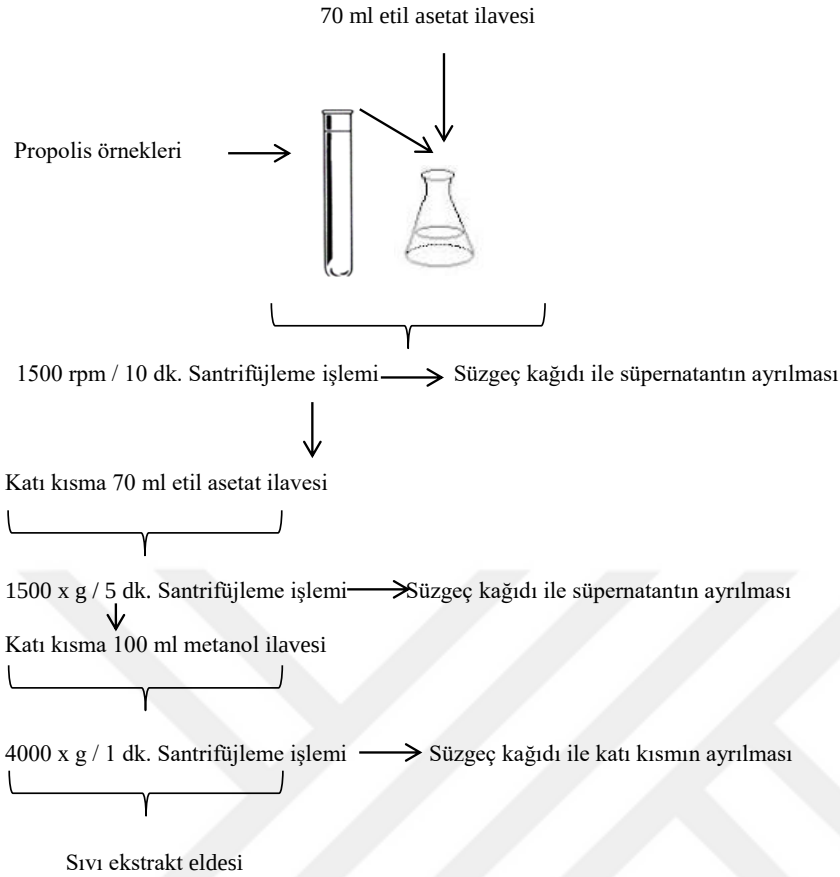
Kullanılacak propolis miktarı her bir örnek için 1 gram olarak belirlenmiştir. Biyotransformasyon için *Lactobacillus plantarum* İŞLG -2, *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014; *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşları kullanılmıştır. Propolis miktarı sabit tutularak *L. plantarum* miktarı değiştirilerek biyotransformasyon için uygun propolis/inokulum oranı belirlenmesi amacıyla farklı inokülasyon konsantrasyonlarında (%1,5, %2,5 ve %3,5) çalışılmıştır. Her bir *L. plantarum* suşu için yukarıda belirtilen inokulum konsantrasyonları ve çözümler türü değiştirilerek 18 örnek ve 3 farklı *L. plantarum* suşu kullanılarak toplamda 54 örnek elde edilmiştir. Biyotransformasyon yapılmayan (kültür içermeyen) 6 kontrol grubu örneği, propolisin fenolik bileşenleri üzerine biyotransformasyonun etkisini saptamak için kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. Propolisin biyotrasformasyonu.

3.4.2 Propolis örneklerinde çözgen ve ultrasonik işlemlerin kullanımı

Kültür inoküle edilen 54 örnek ve kültür inoküle edilmeyen 6 örnek için farklı çözgenler etkisini değerlendirmek amacıyla seçilmiştir. Bu amaçla 3 farklı



Şekil 3. 3. Örneklerin alt akım işlemleri.

3.5 Analizler

Propolis örneklerinin antioksidan aktivitesi TEAC, DPPH ve FRAP yöntemi ile, toplam fenolik bileşik içeriği Folin-Ciocalteu metodu ile ve fenolik bileşik analizi (UPLC/MS MS) yöntemi ile belirlenmiştir.

3.5.1 TEAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini

Propolis örneklerinin TEAC yöntemi ile antioksidan aktivitesi Re ve ark., (1996) yöntemine göre belirlenmiştir. ABTS radikal katyonu ($ABTS^{\bullet+}$) üretmek amacıyla su ile hazırlanan 7 mM ABTS çözeltisi ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi karıştırıldı ve 12 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. ABTS radikal katyonunun 734 nm dalga boyundaki absorbansı 1.0-1.5 olana kadar fosfat tampon ile seyreltilmiştir. Absorbansı ayarlanan 975 μ L reaktif üzerine 5-25 μ L örnek ilave edildi ve 20 dakika sonra 734 nm dalga boyunda absorbans okunmuştur. Kontrol olarak fosfat tampon ve standart olarak Trolox kullanılmıştır (Re et al., 1996).

3.5.2 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini

Propolis örneklerinin DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi modifiye edilmiş Blois (1958) yöntemine göre belirlenmiştir. Metanol kullanılarak 60.0 μM hazırlanan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali çözeltisinden 975 μL alınarak üzerine 5-50 μL örnek ilave edildi ve 20 dakika sonra 515 nm dalga boyunda absorbans okunmuştur. Kontrol olarak metanol ve standart olarak pirogallol kullanılmıştır (Vilano et al., 2007).

3.5.3 FRAP yöntemi ile antioksidan aktivite tayini

Propolis örneklerinin FRAP yöntemi ile antioksidan aktivitesi modifiye edilmiş Benzie ve Strain (1996) yöntemine göre belirlenmiştir. FRAP reaktifi hazırlamak amacıyla 25 ml 0,3 mol/L asetat tamponu (pH 3.6), 2,5 ml 20mmol/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve 2,5 ml TPTZ'nin 40 mM HCl içindeki çözeltisi sırasıyla (10:1:1) oranında karıştırılmıştır. Hazırlanan FRAP reaktifinden 900 μL alınarak üzerine 20-50 μL örnek ilave edildi ve 10 dakika sonra 593 nm dalga boyunda absorbans okunmuştur. Kontrol olarak su ve standart olarak FeSO_4 (1mM) kullanılmıştır (Pulido et al., 2000).

3.6 Toplam Fenolik Bileşik Analizi

Propolis örneklerinin Folin-Ciocalteu metodu ile toplam fenoliği içeriği modifiye edilmiş Slinkard ve Singleton (1977) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu amaçla 20 μL örnek, 680 μL saf su ilave edilerek karıştırılmıştır. 2 N stok Folin reaktifinden hazırlanan 0,5 N Folin reaktifi (Sigma: F9252) karışıma ilave edildi. Karışım 5 dakika bekletildikten sonra üzerine 400 μL %10'luk sodyum karbonat (Na_2CO_3) ilave edilerek karıştırıldı ve 2 saat oda sıcaklığında bekleme süresinden sonra 765 nm dalga boyunda absorbansı okunmuştur. Kontrol olarak su ve standart olarak galik asit kullanılmıştır (Slinkard and Singleton, 1977).

3.7 (UPLC/MS-MS) yöntemi ile Fenolik Bileşik Analizi

Propolis örneklerinin enstrümental analizleri kantitatif olarak ultra performas sıvı kromatografi (UPLC) ACQUITY Ultra Performance™ sistemine bağlanmış tandem dört kutuplu (Waters® ACQUITY™ TQD) kütle spektrometresi (MS/MS) ve elektrosprey iyonizasyon (ESI) probu (ACQUITY XEVO TQD) ile donatılmış UPLC/MS-MS (Waters, Milford, MA, USA) sistemiyle çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. UPLC-MS/MS sistemi MassLynx™ 4.1 programı ile kontrol edilmiştir. MRM

değerleri, iyon modu, cone voltaj ve collision enerji değerleri her bir molekül için belirlenmiştir. Kromatografik analizler BEH C18 kolonunda 60 °C'de (2.1 mm × 50 mm, 1.7 µm partikül büyüklüğü), hareketli faz A (0.2% formik asit/su) ve hareketli faz B (0.1% formik asit/asetonitril) kullanılarak akış hızı 0.4 mL/dk ve örnek ünitesi sıcaklığı 10 °C olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Castro et al., 2014; Gardana and Simonetti, 2011).

Standartların hazırlanması: Ölçümü yapılacak her bir molekülün (kafeik asit, kaemferol, ferulik asit, kuersetin, rutin, parakumarik asit, vanilik asit, DMAE kafeik asit, CAPE, klorojenik asit, elajik asit, naringenin, pelargonin, epikateşin, salisilik asit, trans-sinamik asit, prokatekuik asit, mirisetin, 4-hidroksi benzoik asit) metanol içinde 1 mg/mL stok çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen stok standart çözeltileri %0,1 formik asit içeren su/asetonitril (v/v: 50/50) karışımı ile 1-10000 ng/mL (Salisilik asit için 1-1000 pg/mL) konsantrasyonuna seyreltilerek ve her bir molekülün standart grafiği çizilmiştir.

3.8 İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 25 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Çoklu grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir. Varyans analizi sonucunda anlamlı farkın bulunduğu durumlarda çoklu grupların karşılaştırılmasında ise LSD testi kullanılmıştır. Sonuçlar $p < 0,05$ anlamlılık düzeyleriyle ve %95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

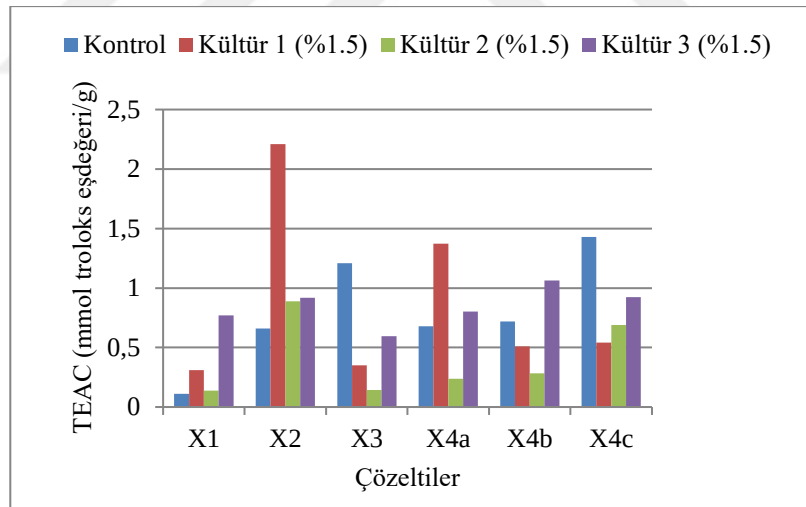
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Propolis örneklerinin antioksidan aktivitesi TEAC, DPPH ve FRAP yöntemi ile, toplam fenolik bileşik içeriği Folin-Ciocalteu metodu ile ve fenolik bileşik analizi (UPLC/MS-MS) yöntemine göre belirlenen sonuçları grafiğe aktararak sonuçlar yorumlanmıştır.

4.1 Antioksidan Aktivite Analizleri

Propolis örneklerinin antioksidan aktivitesi TEAC, DPPH ve FRAP yöntemi ile analiz edilmiştir. Farklı çözücülerin (X1: etanol+ fosfat tampon), (X2: PEG+ fosfat tampon), (X3, X4a, X4b, X4c:su); farklı inokülüm oranlarının (%1,5, %2,5, %3,5); farklı kültürlerin (Kültür 1: *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2), (Kültür 2: *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014), (Kültür 3: *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) ve ultrason uygulamasının (X4a: 5dk, X4b: 10 dk, X4c: 15dk) antioksidan aktivite üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

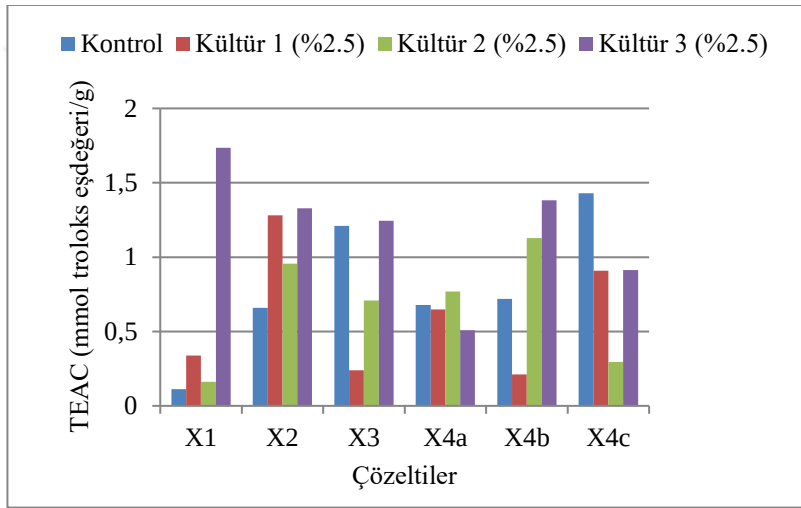
4.1.1 TEAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayini



Şekil 4. 1. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin TEAC yöntemi ile antioksidan aktivitesine etkisi

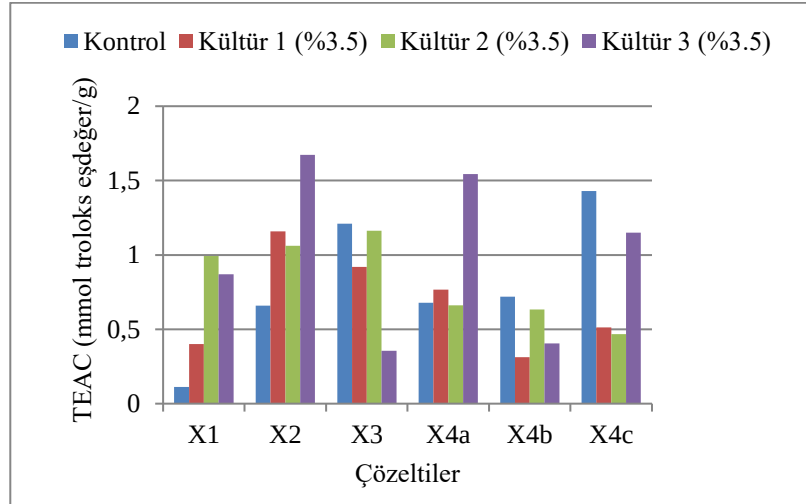
Şekil 4.1’de %1,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak TEAC yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 2,21 mmol TE/g ile en yüksek TEAC antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda

kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 0,11 mmol TE/g olarak kontrol grubunda, çözücü olarak X1'in kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2 ve X4a kullanılan örneklerde kültür 1 suşunun kontrol grubu örneklerine kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X1 ve X2 kullanımının tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca kültür 3 suşu kullanılarak gerçekleştirilen biyotransformasyonda 5 dk ve 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması antioksidan aktivitede artışa neden olmuştur.



Şekil 4. 2. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin TEAC yöntemi ile antioksidan aktivitesine etkisi

Şekil 4.2'de %2,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak TEAC yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 1,74 mmol TE/g ile en yüksek TEAC antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 0,11 mmol TE/g olarak kontrol grubunda, çözücü olarak X1'in kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1 ve X2 kullanımının tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca kültür 3 suşu kullanılarak gerçekleştirilen biyotransformasyonda 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması antioksidan aktivitede artışa neden olmuştur.



Şekil 4. 3. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerin TEAC yöntemi ile antioksidan aktivitesine etkisi

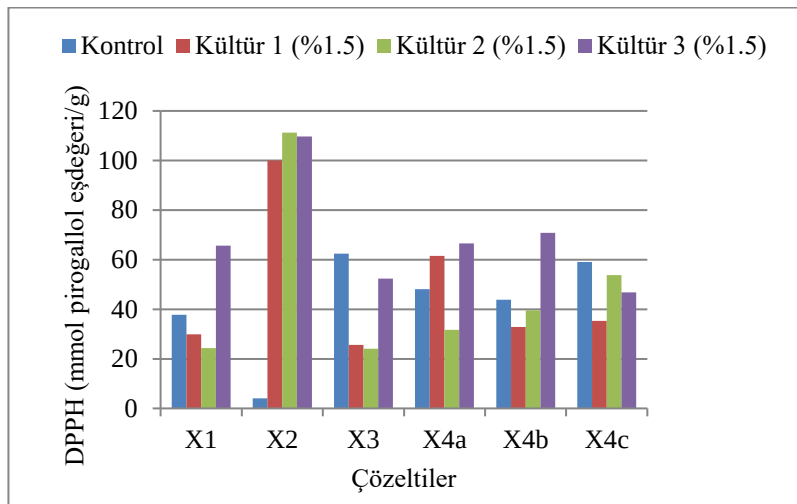
Şekil 4.3'te %3,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözümler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak TEAC yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 1,67 mmol TE/g ile en yüksek TEAC antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözümleri olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 0,11 mmol TE/g olarak kontrol grubunda, çözümleri olarak X1'in kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözümleri olarak X1, X2 ve X4a kullanılan örneklerde kültür 1 suşunun kontrol grubu örneklerine kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Çözümleri olarak X1 ve X2 kullanımının tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı buna karşılık X3 çözümü'nün tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca kültür 3 suşu kullanılarak gerçekleşen biyotransformasyonda 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması antioksidan aktivitede artışa neden olmuştur.

X1 çözümü ile çözülmüş örneklerde kültür 2 suşu ($p<0,01$) ve kültür 3 ($p<0,01$) suşu TEAC antioksidan aktivitesinde anlamlı olarak artışına neden olduğu tespit edilmiştir. X2 çözümü ile çözülmüş örneklerde, her 3 kültür ile tüm inokülüm oranlarında gerçekleştirilen biyotransformasyon sonunda TEAC antioksidan aktivitesi artış göstermiştir. Ancak X3 çözümü ile çözülmüş örneklerde her 3 kültür ile gerçekleştirilen biyotransformasyon TEAC antioksidan aktivitesinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. X4a ile çözümlenen ve 5 dk

ultrason uygulanan örneklerde kültür 1 suşu ($p<0,01$) ve kültür 2 suşu ($p<0,01$) %1,5 ve %3,5 inokülüm oranlarında TEAC antioksidan aktivitesinde artışa neden olmuştur. X4b çözücüsü ile çözünen ve 10 dk ultrason uygulanan örneklerde kültür 2 suşu ve kültür 3 suşu %1,5 inokülüm oranında TEAC antioksidan aktivitesi artışına neden olmuştur ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak X4c çözücüsü ile çözünen ve 15 dk ultrason uygulanan örneklerde tüm inokülüm oranlarında TEAC antioksidan aktivitesi azalmıştır.

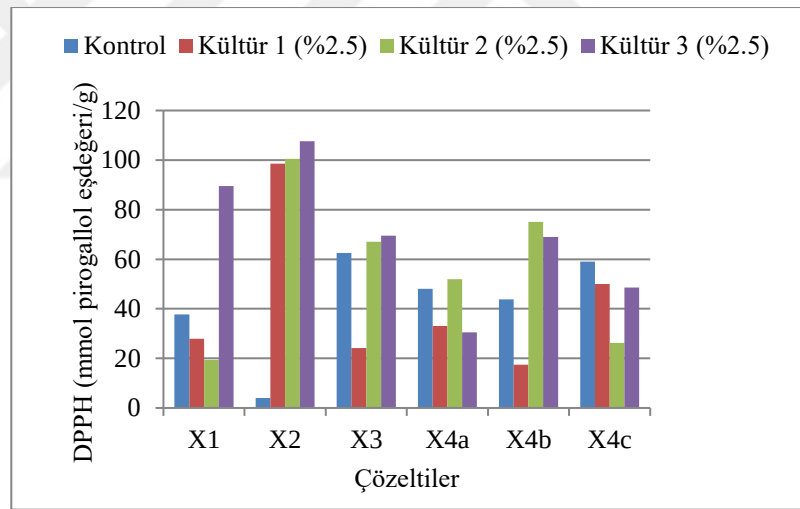
Çözücü olarak kullanılan etanol ve PEG'in tüm kültür gruplarında ve inokülüm oranlarında TEAC antioksidan aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. 2,21 mmol TE/g ile en yüksek TEAC antioksidan aktiviteye biyotransformasyonda *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2 suşunun %1,5 inokülüm oranında ve çözücü olarak PEG'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte ulaşılmıştır. *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşu kullanılarak gerçekleşen biyotransformasyonda tüm inokülüm oranlarında ve çözücü olarak su kullanıldığında 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulamasının TEAC antioksidan aktivitesinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. 0,11 mmol TE/g ile en düşük TEAC antioksidan aktiviteye kontrol grubunda ve çözücü olarak etanolün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte ulaşılmıştır.

4.1.2 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini



Şekil 4. 4. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesine etkisi

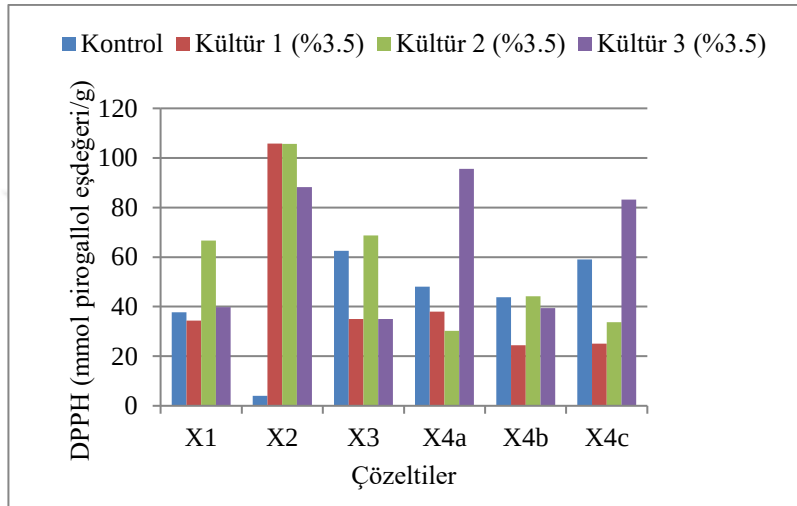
Şekil 4.4'te %1,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak DPPH yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 111,28 mmol PE/g ile en yüksek DPPH antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 4,07 mmol PE/g olarak kontrol grubunda, çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2 kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Kültür 3 suşu kullanılarak gerçekleşen biyotransformasyonda 5 dk ve 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması antioksidan aktivitede artışa neden olmuştur. Ancak aynı çözücüde ultrason uygulanmayan ve 15 dk ultrason uygulanan örneklerde tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktivitenin azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 4. 5. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesine etkisi

Şekil 4.5'te %2,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak TEAC yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 107,61 mmol PE/g ile en yüksek DPPH antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 4,07 mmol PE/g olarak kontrol grubunda, çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ve ultrasonik uygulama

uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2 kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Kültür 2 suşu kullanılarak gerçekleşen biyotransformasyonda 5 dk ve 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması antioksidan aktivitede artışa neden olmuştur. Ancak aynı çözücünde 15 dk ultrason uygulanan örneklerde tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktivitenin azaldığı belirlenmiştir.



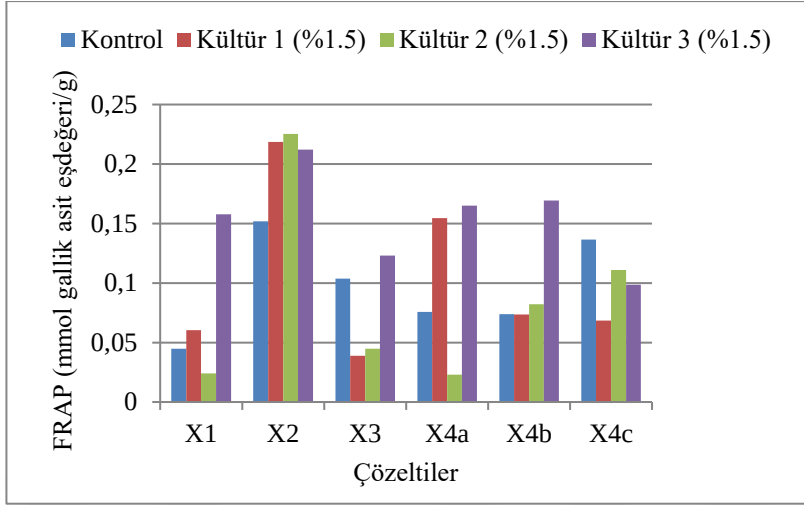
Şekil 4. 6. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesine etkisi

Şekil 4.6'da %3,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak DPPH yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 105,74 mmol PE/g ile en yüksek DPPH antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 4,07 mmol PE/g olarak kontrol grubunda, çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2 kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Kültür 3 suşu kullanılarak gerçekleşen biyotransformasyonda 5 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması antioksidan aktivitede artışa neden olmuştur. Ancak aynı çözücünde 10 dk ultrason uygulanan örneklerde tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktivitenin azaldığı belirlenmiştir.

X1 çözücüsü ile çözünmüş örneklerde kültür 2 suşu ($p<0,05$) ve kültür 3 ($p<0,01$) suşu DPPH antioksidan aktivitesinde anlamlı olarak artışına neden olduğu tespit edilmiştir. X2 çözüsü ile çözünmüş örneklerde, her 3 kültür ile tüm inokülüm oranlarında gerçekleştirilen biyotransformasyon sonunda DPPH antioksidan aktivitesi anlamlı olarak artış göstermiştir ($p<0,01$). X4a çözücüsü ile çözünmüş 5 dk ultrason uygulaması uygulanan örneklerde kültür 1 ve kültür 2 suşu her inokülasyon oranında DPPH antioksidan aktivitesinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır, kültür 3 suşu ile gerçekleştirilen biyotransformasyon ise antioksidan aktivitede anlamlı olmayan bir artış sağlamıştır. X4b çözücüsü ile çözünmüş 10 dk ultrason uygulaması uygulanan örneklerde kültür 2 (%2,5 ve %3,5 inokülasyon oranında) ve kültür 3 suşu (%1,5 ve %2,5 inokülasyon oranında) DPPH antioksidan aktivitesinde artış sağlamıştır ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. X4c çözücüsü ile çözünmüş 15 dk ultrason uygulaması uygulanan örneklerde kültür 3 suşu (%3,5 inokülasyon oranında) antioksidan aktivite üzerinde anlamlı olmayan bir artış sağlamıştır, diğer kültür gruplarında ve tüm inokülasyon oranlarında DPPH antioksidan aktivitede azalmalar meydana gelmiştir.

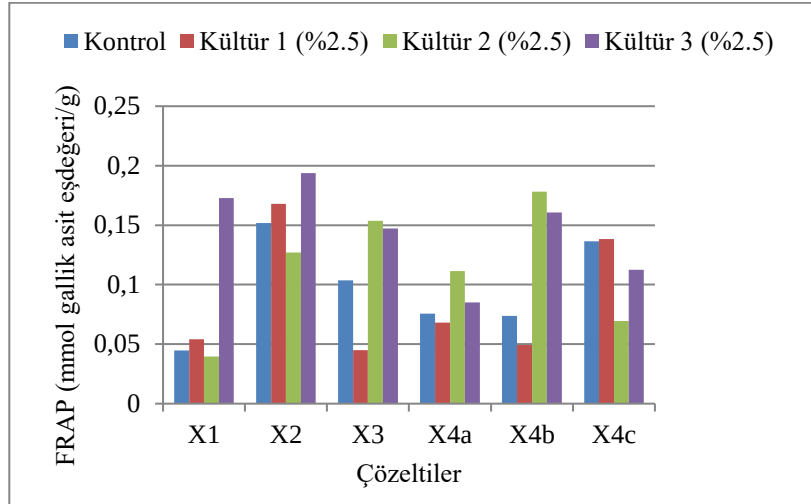
Çözücü olarak kullanılan PEG'in tüm kültür gruplarında ve inokülüm oranlarında DPPH antioksidan aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. 111,28 mmol PE/g ile en yüksek DPPH antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 suşunun %1,5 inokülüm oranında ve çözücü olarak PEG'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte ulaşılmıştır. *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşunun %1,5 ve %3,5 inokülüm oranlarında kullanılmasıyla gerçekleşen biyotransformasyonda 5 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması DPPH antioksidan aktivitesinde artışa neden olmuştur. *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 suşunun %2,5 inokülüm oranında kullanılması ile 5 dk ve 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması DPPH antioksidan aktivitesinde artışa neden olmuştur. 4,07 mmol PE/g ile en düşük DPPH antioksidan aktivitesine kontrol grubunda ve çözücü olarak PEG'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte ulaşılmıştır.

4.1.3 FRAP yöntemi ile antioksidan aktivite tayini



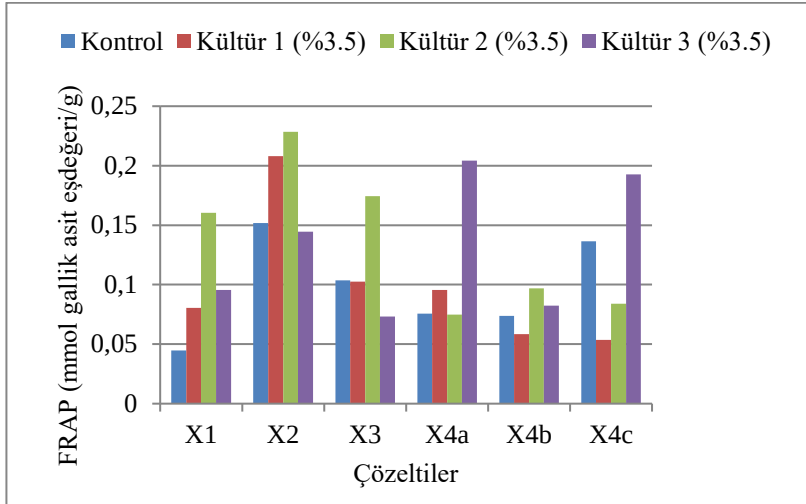
Şekil 4. 7. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerin FRAP yöntemi ile gerçekteştirilen antioksidan aktivitesine etkisi

Şekil 4.7’de %1,5 inokùlüm oranı ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözümler ve ultrasonik uygulamaya bağılı olarak FRAP yöntemi ile gerçekteştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 0,23 mmol GAE/g ile en yüksek FRAP antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözümlü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 0,02 mmol GAE/g olarak kùltür 2 suşunun ve çözümlü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözümlü olarak X2 kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. X4c çözümlüsü kullanılarak gerçekteşen ve 15 dk ultrason uygulanan örnekler hariç kùltür 3 ile tüm çözümlü gruplarında gerçekteşen biyotransformasyonun kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 8. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi

Şekil 4.8’de %2,5 inokùlüm oranı ile farklı kùltürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 0,19 mmol GAE/g ile en yüksek FRAP antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değerler 0,04 mmol GAE/g olarak kontrol grubunda ve kùltür 2 suşunda çözücü olarak X1’in kullanıldığı örneklerde saptanmıştır. X4c çözücüsü kullanılarak gerçekleşen ve 15 dk ultrason uygulanan örnekler hariç kùltür 3 ile tüm çözücü gruplarında gerçekleşen biyotransformasyonun kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 9. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi

Şekil 4.9’da %3,5 inokùlüm oranı ile farklı kùltürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisini göstermektedir. 0,23 mmol GAE/g ile en yüksek FRAP antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değerler 0,04 mmol GAE/g olarak kontrol grubunda çözücü olarak X1’in kullanıldığı örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1 kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. X3 çözücüsü kullanılan ve ultrason uygulanmayan örnek hariç kùltür 3 ile tüm çözücü gruplarında gerçekleşen biyotransformasyonun kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir.

X1 çözücüsü ile çözülmüş örneklerde kùltür 2 suşu (%3,5 inokulum oranında) ve kùltür 3 suşu (%1,5 inokùlüm oranında) FRAP antioksidan aktivitesinde anlamlı olarak artışa neden olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,01$). X2 çözücü ile çözülmüş örneklerde, her 3 kùltür ile tüm inokulasyon oranlarında gerçekleştirilen biyotransformasyon sonunda FRAP antioksidan aktivitesi anlamlı olarak artış göstermiştir ($p < 0,01$). X3 çözücüsü ile çözülmüş örneklerde kùltür 2 suşu ve kùltür 3 suşu tüm inokulum oranlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmazken kùltür 1 suşu kullanımı uygulanması FRAP antioksidan aktivitesini düzeyini düşürmüştür. X4a çözücüsü ile çözülmüş 5 dk ultrason uygulaması

uygulanan örneklerde kültür 3 suşu her inokülasyon oranında FRAP antioksidan aktivitesinde anlamlı bir artış sağlamıştır ($p<0,01$). X4b çözücüsü ile çözünmüş 10 dk ultrason uygulaması uygulanan örneklerde kültür 2 ve kültür 3 suşu (%2,5 inokülasyon oranında) kullanıldığında FRAP antioksidan aktivitesinde anlamlı olmayan bir artış sağlamıştır ancak kültür 1 suşu ile tüm inokülasyon oranlarında gerçekleştirilen biyotransformasyon sonucunda FRAP antioksidan aktivitesinde azalmalar meydana gelmiştir.

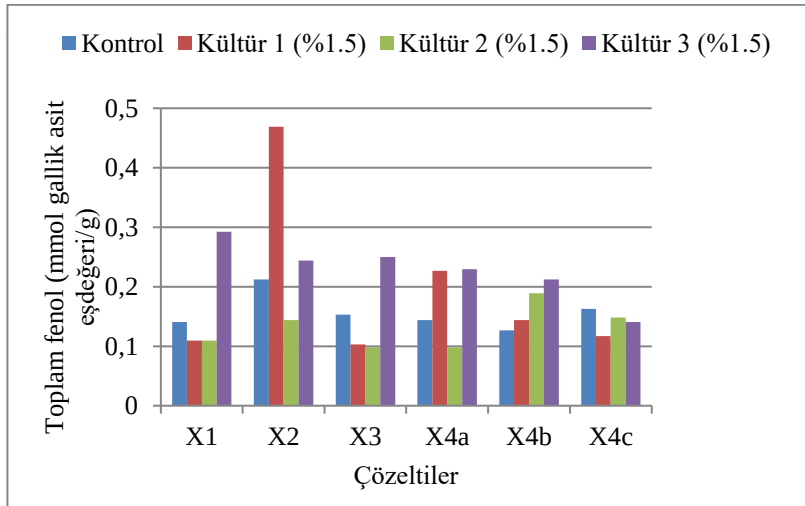
Çözücü olarak kullanılan PEG'in tüm kültür gruplarında ve inokülüm oranlarında FRAP antioksidan aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. 0,23 mmol GAE/g ile en yüksek FRAP antioksidan aktivitesine sahip örnek biyotransformasyonda *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 suşunun %1,5 inokülüm oranında ve çözücü olarak PEG'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte tespit edilmiştir. *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşunun tüm inokülüm oranlarında 5 dk ve 10 dk süre ile uygulanan ultrason uygulaması DPPH antioksidan aktivitesinde artışa neden olmuştur. 0,02 mmol GAE/g ile en düşük FRAP antioksidan aktivitesine *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 suşunun %1,5 inokülüm oranında ve çözücü olarak suyun kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte ulaşılmıştır.

Farklı yöntemler kullanılarak tespit edilen antioksidan aktiviteler karşılaştırıldığında, PEG çözücüsü ile çözünen örneklerde tüm kültür gruplarında ve inokülüm oranlarında; su ile çözünen örneklerde ise *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşunun ve ultrason uygulamasının üç yöntemle gerçekleştirilen antioksidan aktivitede artış sağlayarak pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 suşu ile PEG çözücüsünde ve %1,5 inokülüm oranında, *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşunun tüm inokülüm oranlarında çözücü olarak su kullanıldığında ve ultrasonik uygulama ile desteklendiğinde başarılı sonuçlara ulaşıldığı tespit edilmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarında ise en yüksek değere 0,47 mmol GAE/g olarak, *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2 suşunun %1,5 inokülüm oranında ve çözücü olarak PEG'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte ulaşılmıştır. *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşunun %1,5 inokülüm oranında ultrason uygulaması kullanılması ile antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşik miktarında artış sağlaması nedeniyle antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşik miktarı arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan korelasyon analizlerinde seçilen çözücüye göre değişmekle beraber, tüm çözücülerde

antioksidan aktivite düzeyleri ile kamferol, CAPE, kuersetin, parakumarik asit, DMEA kafeik asit ve ellajik asit arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

4.2 Toplam Fenolik Bileşik Analizi

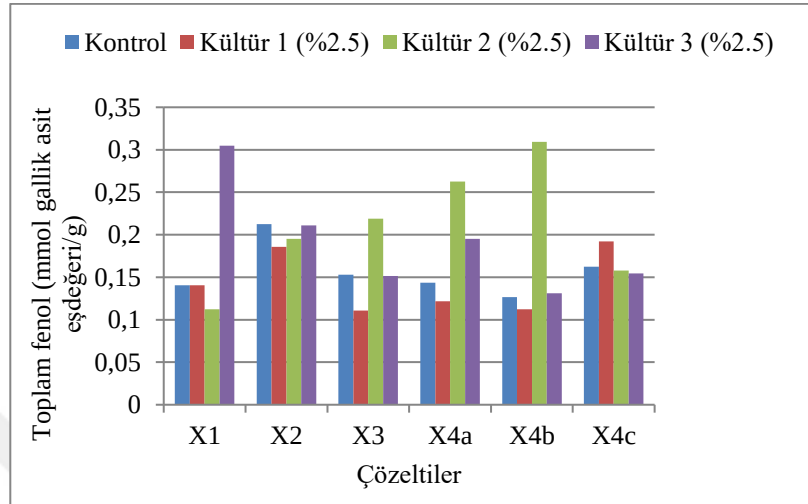
Propolis örneklerinin toplam fenolik bileşik miktarı üzerinde farklı çözücülerin (X1: etanol+ fosfat tampon), (X2: PEG+ fosfat tampon), (X3:su); farklı inokülüm oranlarının (%1,5, %2,5, %3,5) ve farklı kültürlerin (Kültür 1: *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2), (Kültür 2: *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014), (Kültür 3: *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) ve ultrason uygulamasının (X4a: 5dk, X4b: 10 dk, X4c: 15 dk) etkileri değerlendirilmiştir.



Şekil 4. 10. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin FRAP yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesine etkisi

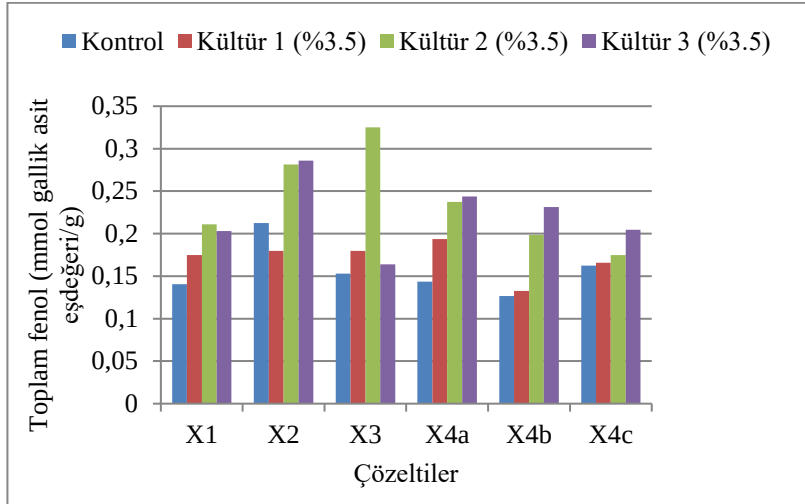
Şekil 4.10'da %1,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak toplam fenolik bileşik miktarına etkisini göstermektedir. 0,47 mmol GAE/g ile en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte bulunmuştur. En düşük değer ise 0,10 mmol GAE/g olarak biyotransformasyonda kültür 1 ve kültür 2 suşunun çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan ve biyotransformasyonda kültür 2 suşunun çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrason uygulama uygulanan 3 farklı örnekte eşit olarak bulunmuştur. Çözücü olarak X4b kullanılan ve 10 dk ultrason uygulanan örneklerde tüm kültür gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit

edilmiştir. Çözücü olarak X4c kullanılan ve 15 dk ultrason uygulanan örneklerde kültür 3 suşu kullanılarak gerçekleşen biyotransformasyon dışında kültür 3 suşu tüm çözücü gruplarında toplam fenolik bileşik içeriğinde artışa neden olmuştur.



Şekil 4. 11. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin toplam fenolik bileşik içeriğine etkisi

Şekil 4.11’de %2,5 inokülüm oranı ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak toplam fenolik bileşik miktarına etkisini göstermektedir. 0,31 mmol GAE/g ile en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrason uygulanan örnekte bulunmuştur. En düşük değer ise 0,11 mmol GAE/g olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan ve biyotransformasyonda kültür 1 suşunun çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrason uygulanan 2 farklı örnekte eşit olarak bulunmuştur. Çözücü olarak X3 kullanılan ultrason uygulanmayan örnekte, X4a kullanılan ve 5 dk ultrason uygulanan örnekte ve X4b kullanılan ve 10 dk ultrason uygulanan örneklerde kültür 2 suşunun kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir.

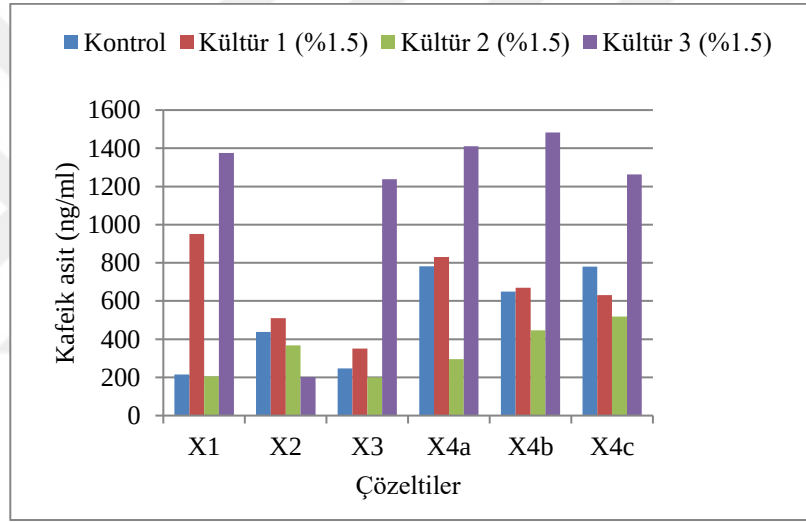


Şekil 4. 12. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin toplam fenolik bileşik içeriğine etkisi

Şekil 4.12’de %3,5 inokùlüm oranı ile farklı kùltürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı olarak toplam fenolik bileşik miktarına etkisini göstermektedir. 0,33 mmol GAE/g ile en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrason uygulanmayan örnek iken en düşük değer ise 0,13 mmol GAE/g olarak kontrol grubunda çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X3, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla fenolik bileşen içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X2 kullanıldığında ise kùltür 1 suşunun fenolik bileşen içeriğini azalttığı tespit edilmiştir. Biyotransfromasyonda kùltür 2 suşunun kullanıldığı örneklerde tüm çözücü gruplarında kontrol grubuna kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırdığı belirlenmiştir.

4.3 UPLC/MS MS yöntemi ile Fenolik Bileşik Analizi

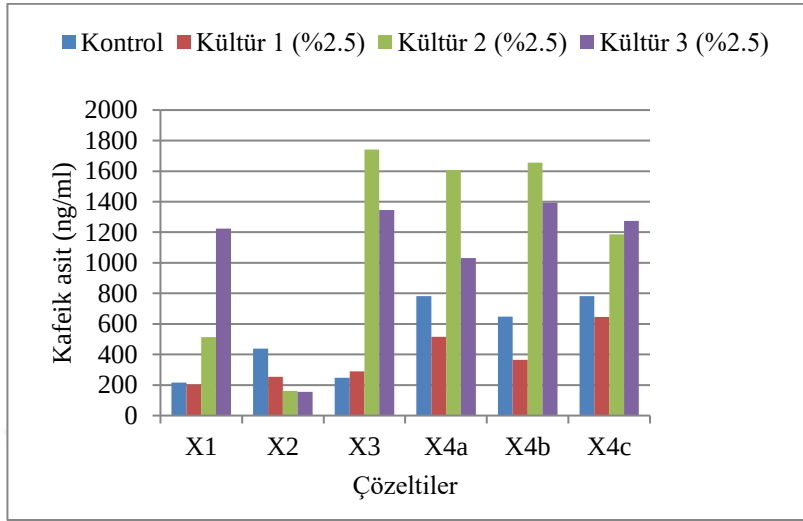
Propolis örneklerinde 20 farklı fenolik bileşeni (kafeik asit, kaemferol, kuersetin, rutin, parakumarik asit, vanilik asit, DMAE kafeik asit, CAPE, klorojenik asit, elajik asit, naringenin, pelargonin, epikateşin, salisilik asit, trans-sinamik asit, prokatekuik asit, mirisetin, 4-hidroksi benzoik asit) tespit edilmiştir. Farklı çözücülerin (X1: etanol+ fosfat tampon), (X2: PEG+ fosfat tampon), (X3: su); farklı inokülüm oranlarının (%1,5, %2,5, %3,5) ve farklı kültürlerin (Kültür 1: *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2), (Kültür 2: *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014), (Kültür 3: *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) ve ultrason uygulamasının (X4a: 5dk, X4b: 10 dk, X4c: 15dk) fenolik bileşik içeriği üzerine etkileri değerlendirilmiştir.



Şekil 4. 13. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kafeik aside etkisi

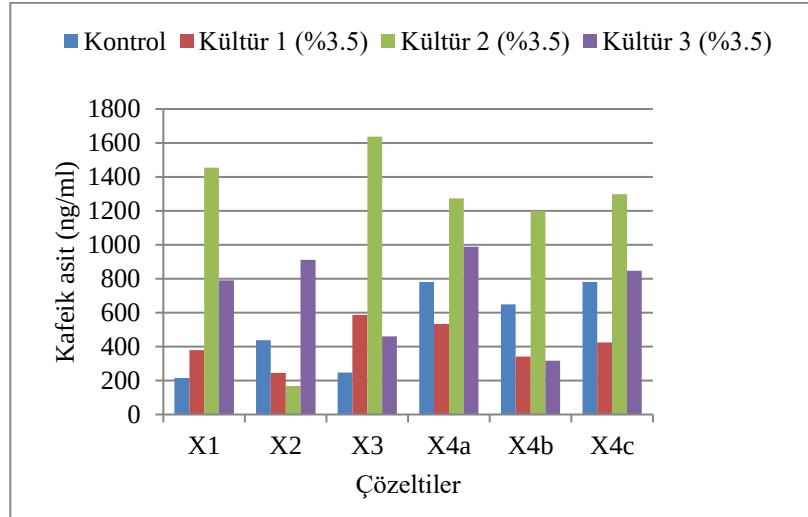
Şekil 4.13'te %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak kafeik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 1482,52 ng/mL ile en yüksek kafeik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X4c'nin kullanıldığı 15dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 200,14 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Biyotransformasyonda kültür 2 kullanılan örneklerde tüm çözücü gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla kafeik asit içeriği miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Biyotransformasyonda kültür 1 suşu kullanıldığında ise X1, X2, X3,

X4a ve X4c çözücülerini kullanan örneklerde kontrol grubu örneklerine kıyasla kafeik asit miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.



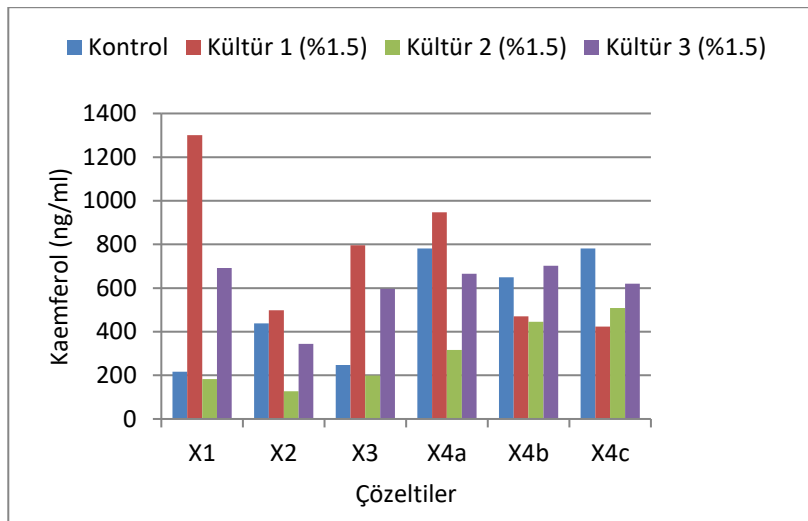
Şekil 4. 14. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokulum oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kafeik aside etkisi

Şekil 4.14'te %2,5 inokulum oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak toplam kafeik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 1741,32 ng/mL ile en yüksek kafeik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 155,65 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Tüm kültür gruplarında çözücü olarak X2 kullanıldığında kafeik asit içeriği kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır.



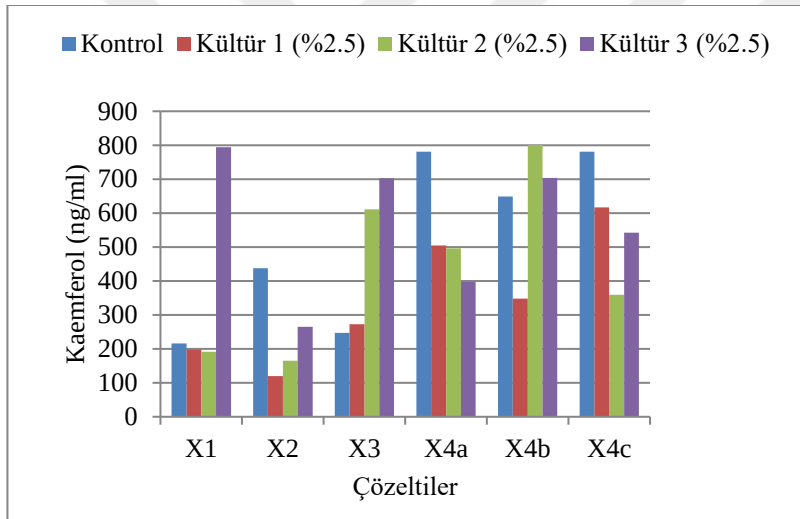
Şekil 4. 15. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kafeik aside etkisi

Kafeik asit ile kaemferol ($r=0,57$), ferulik asit ($r=0,34$), kuersetin ($r=0,61$), parakumarik asit ($r=0,65$), vanilik asit ($r=0,53$), DMAE kafeik asit ($r=0,44$), CAPE ($r=0,51$), elajik asit ($r=0,64$), naringenin ($r=0,91$), trans-sinamik asit ($r=0,86$) ve 4-hidroksibenzoik asit ($r=0,43$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kullanılan çözücülerden X2 ve X3 arasında anlamlı farklar ($p=0,001$) olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve kùltür 3 suşu arasında ($p=0,027$), kùltür 1 suşu ve kùltür 2 suşu arasında ($p=0,007$), kùltür 3 suşu ve kùltür 1 suşu arasında ($p=0,001$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 16. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kaemferole etkisi

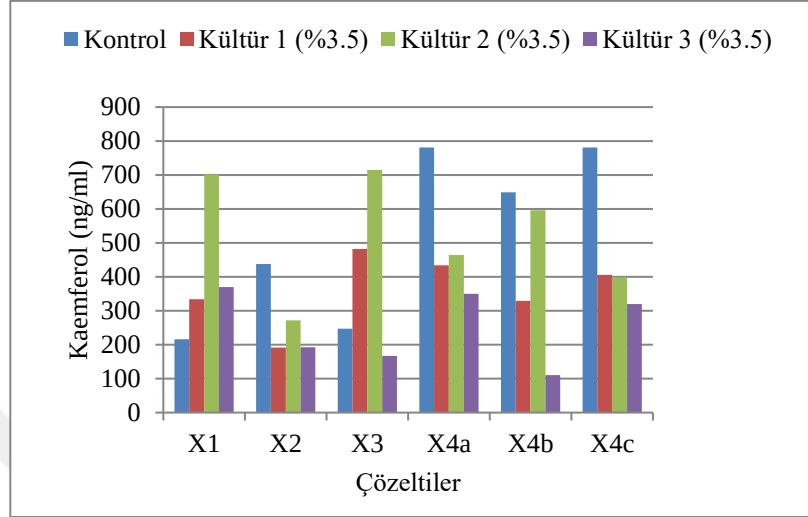
Şekil 4.16'da %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı olarak kaemferol içeriğindeki değişimi göstermektedir. 1301,23 ng/mL ile en yüksek kaemferol miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 126,46 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Biyotransformasyonda kültür 2 kullanılan örneklerde tüm çözücü gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla kaemferol miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Biyotransformasyonda kültür 1 suşu kullanıldığında ise X1, X2, X3 ve X4a çözücülerini kullanılan örneklerde kontrol grubu örneklerine kıyasla kaemferol miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 17. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kaemferole etkisi

Şekil 4.17'de %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı kaemferol içeriğindeki değişimi göstermektedir. 800,90 ng/mL ile en yüksek kaemferol miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X4b'nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 119,68 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kültür 1 suşunun kontrol

grubu örneklerine kıyasla kaemferol miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X3 kullanılan örnekte kültür 1 suşunun kontrol grubu örneğine kıyasla kaemferol miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.

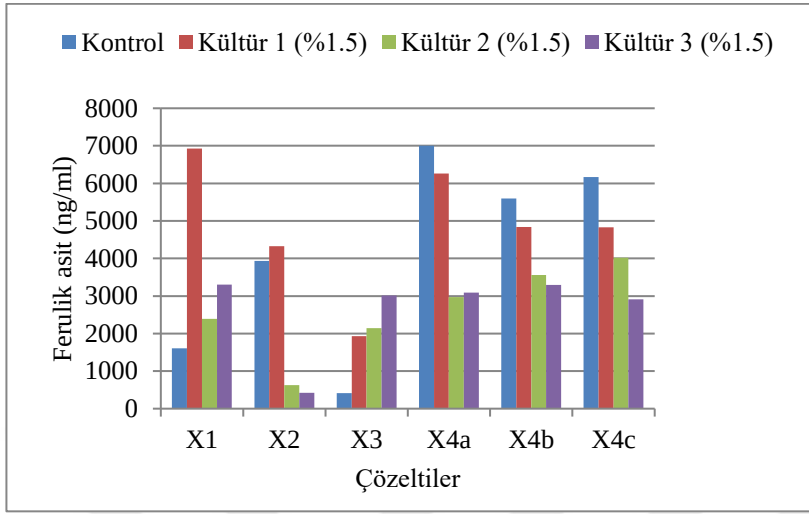


Şekil 4. 18. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kaemferole etkisi

Şekil 4.18’de %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı kaemferol içeriğindeki değişimi göstermektedir. 781,36 ng/mL ile en yüksek kaemferol miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 110,49 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı ve 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2, X3, X4a, X4b ve X4c kullanılan örnekte kültür 3 suşunun kontrol grubu örneklerine kıyasla kaemferol miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1 kullanılan örnekte kültür 1 suşunun kontrol grubu örneğine kıyasla kaemferol miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.

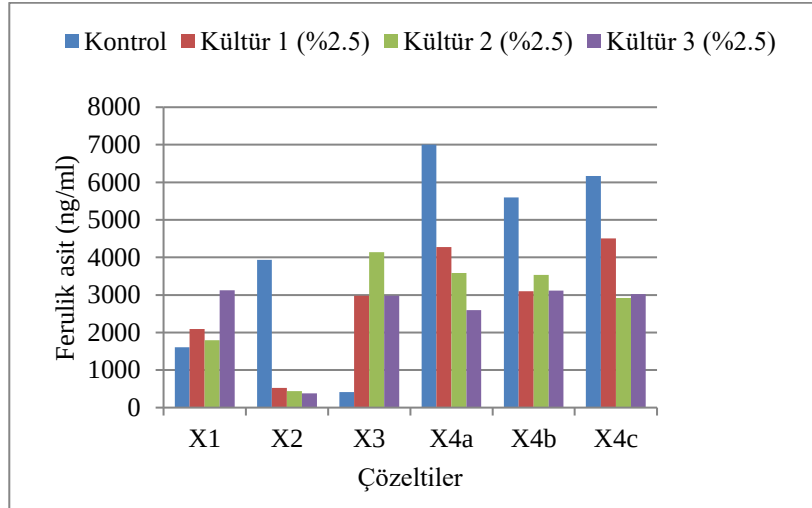
Kaemferol ile kafeik asit ($r=0,57$), ferulik asit ($r=0,76$), kuersetin ($r=0,89$), parakumarik asit ($r=0,91$), vanilik asit ($r=0,27$), DMAE kafeik asit ($r=0,89$), CAPE ($r=0,91$), elajik asit ($r=0,89$), naringenin ($r=0,71$), pelargonin ($r=0,33$) trans-sinamik asit ($r=0,67$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kullanılan çözücülerden X1 ve X2

arasında anlamlı farklar ($p=0,018$) olduğu tespit edilmiştir. %1,5 inokülüm oranı ve %3,5 inokülüm oranı arasında ($p=0,042$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



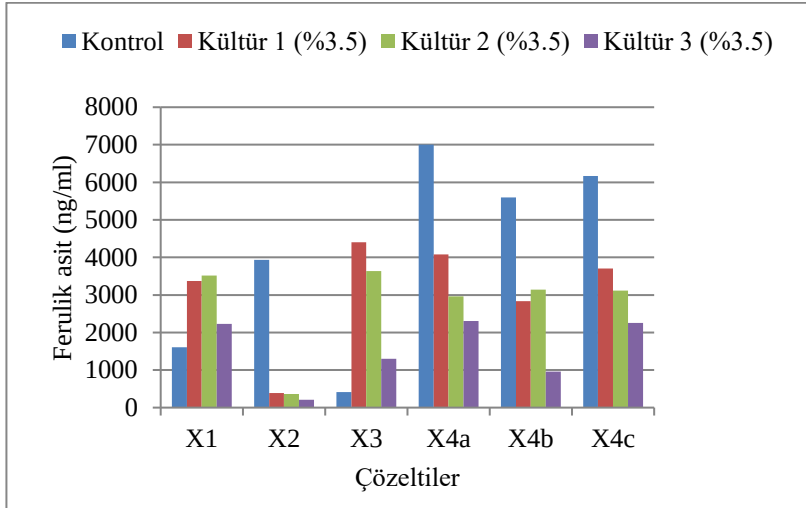
Şekil 4. 19. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin ferulik aside etkisi

Şekil 4.19'da %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı ferulik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 7007,14 ng/mL ile en yüksek ferulik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 409,75 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X3 kullanılan örnekte kültür 1 suşunun kontrol grubu örneklerine kıyasla ferulik asit miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. 5 dk, 10 dk ve 15 dk ultrason uygulamasının ise tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneğine kıyasla ferulik asit miktarını azalttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 20. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin ferulik aside etkisi

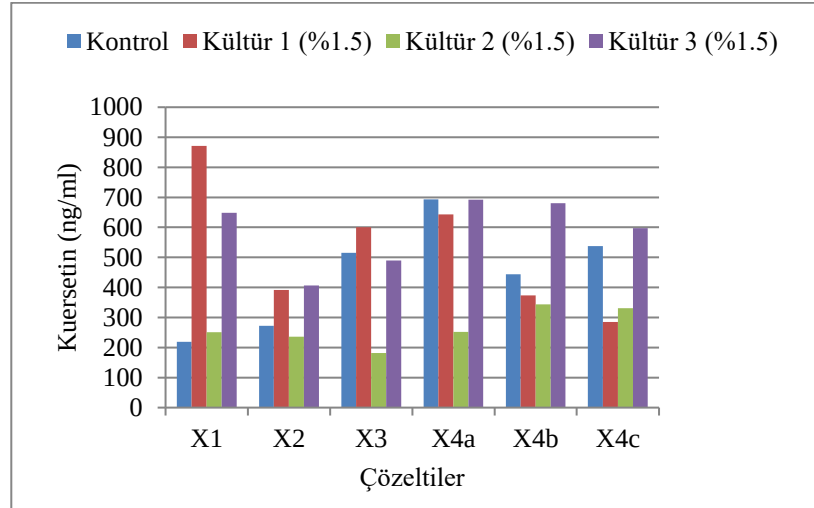
Şekil 4.20’de %2,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı ferulik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 7007,14 ng/mL ile en yüksek ferulik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 409,75 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2, X4a ve X4c kullanılan örnek gruplarında tüm kùltür suşlarında, kontrol grubuna kıyasla ferulik asit miktarının azalttığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X3 kullanılan örnek gruplarında tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneğine kıyasla kaemferol miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 21. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin ferulik aside etkisi

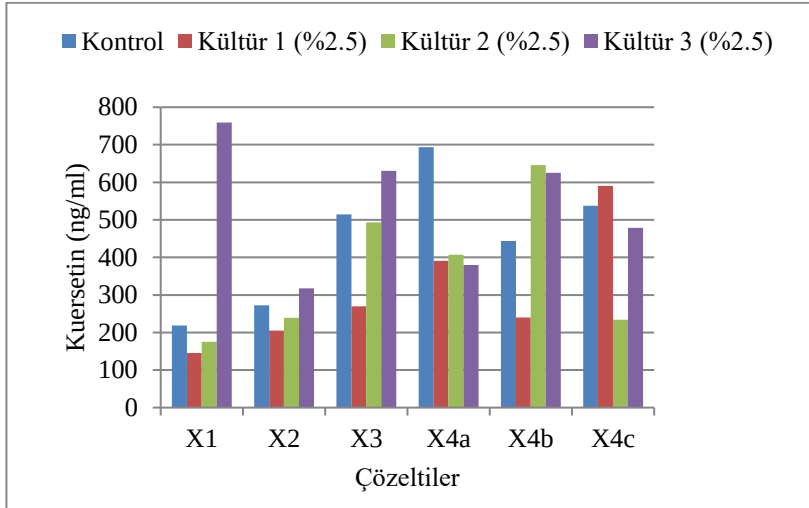
Şekil 4.21’de %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı ferulik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 7007,14 ng/mL ile en yüksek ferulik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 209,41 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde tüm kùltür suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla ferulik asit miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X3 kullanılan örnekte tüm kùltür suşlarında kontrol grubu örneğine kıyasla ferulik asit miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.

Ferulik asit ile kafeik asit ($r=0,34$), kaemferol ($r=0,76$), kuersetin ($r=0,50$), parakumarik asit ($r=0,71$), DMAE kafeik asit ($r=0,88$), CAPE ($r=0,86$), elajik asit ($r=0,54$), naringenin ($r=.0.43$), trans-sinamik asit ($r=0,33$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kullanılan çözücülerden X1 ve X2 arasında anlamlı farklar ($p=0,004$) olduğu tespit edilmiştir. %3,5 inokùlüm oranı ve kontrol grubu arasında ($p=0,032$) anlamlı farklar tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve kùltür 3 suşu arasında ($p=0,011$) ve kùltür 1 suşu ve kùltür 3 suşu arasında ($p=0,008$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



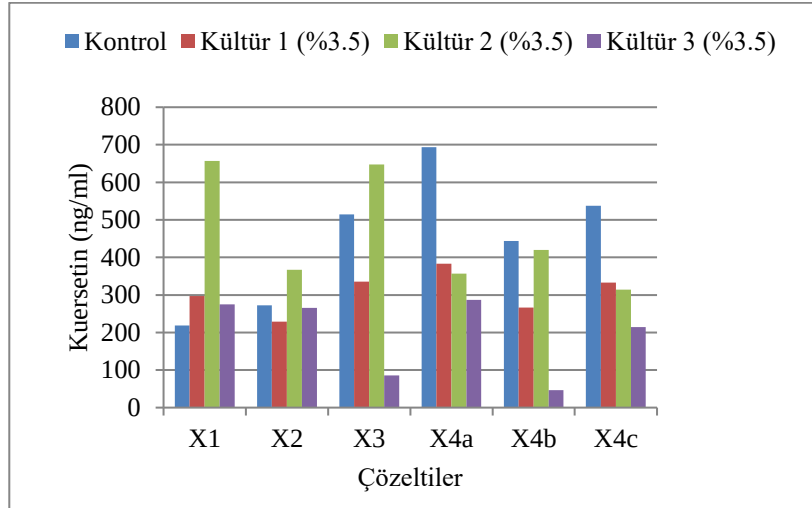
Şekil 4. 22. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kuersetine etkisi

Şekil 4.22’de %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı kuersetin içeriğindeki değişimi göstermektedir. 871,07 ng/mL ile en yüksek kuersetin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 181,38 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2, X3, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kültür 2 suşunun kontrol grubu örneklerine kıyasla kuersetin miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Ancak çözücü olarak X1 kullanıldığında kültür 2 suşunun, kontrol grubu örneklerine kıyasla kuersetin miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 23. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kuersetine etkisi

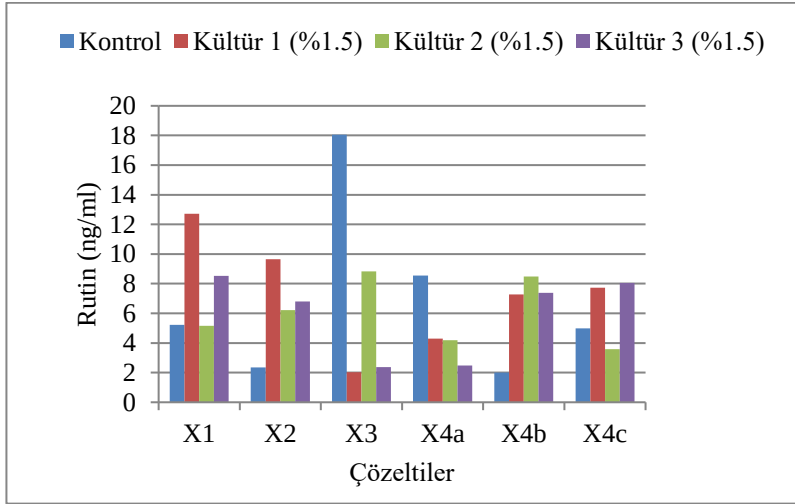
Şekil 4.23'te %2,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı kuersetin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 759,13 ng/mL ile en yüksek kuersetin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 145,40 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X3, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 3 suşunun kontrol grubu örneklerine kıyasla kuersetin miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X4a kullanıldığında tüm kùltür suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla kuersetin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 24. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin kuersetine etkisi

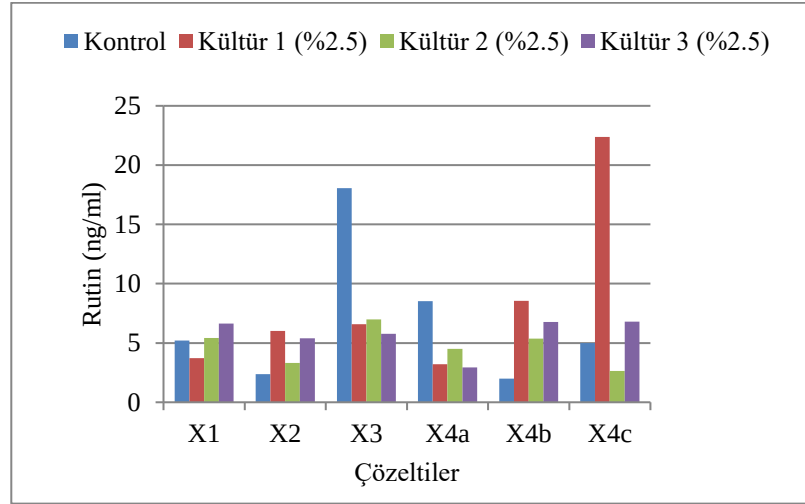
Şekil 4.24'te %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı kuersetin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 693,68 ng/mL ile en yüksek kuersetin miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 46,05 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b'nin kullanıldığı ve 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X3 kullanılan örneklerde kùltür 2 suşunun kontrol grubu örneklerine kıyasla kuersetin miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla kuersetin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

Kuersetin ile kafeik asit ($r=0,61$), ferulik asit ($r=0,50$), kaemferol ($r=0,89$), parakumarik asit ($r=0,86$), DMAE kafeik asit ($r=0,70$), CAPE ($r=0,75$), elajik asit ($r=0,93$), naringenin ($r=0,79$), pelargonin ($r=0,27$), trans-sinamik asit ($r=0,73$), 4-hidroksi benzoik asit ($r=0,30$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. %3,5 inokùlüm oranı ve %1,5 inokùlüm oranı arasında ($p=0,024$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



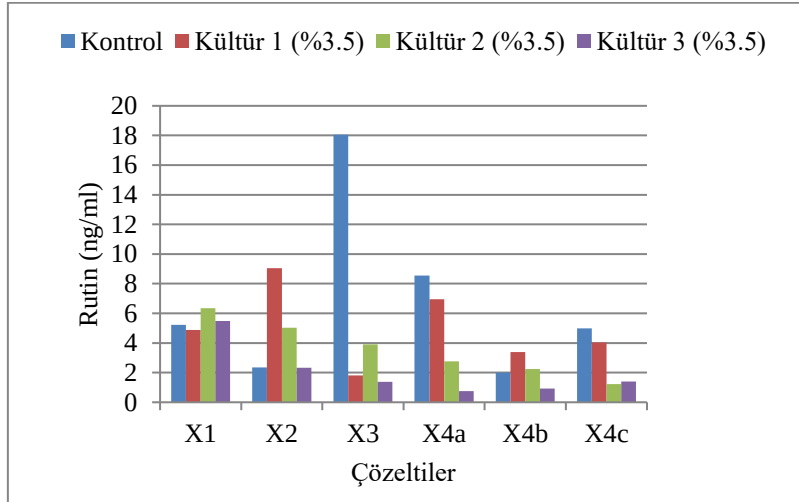
Şekil 4. 25. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin rutine etkisi

Şekil 4.25'te %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı rutin içeriğindeki değişimi göstermektedir. 10,06 ng/mL ile en yüksek rutin miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 2,03 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ve ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2 ve X4b kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla rutin miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Ancak çözücü olarak X3 ve X4a kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla rutin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 26. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin rutine etkisi

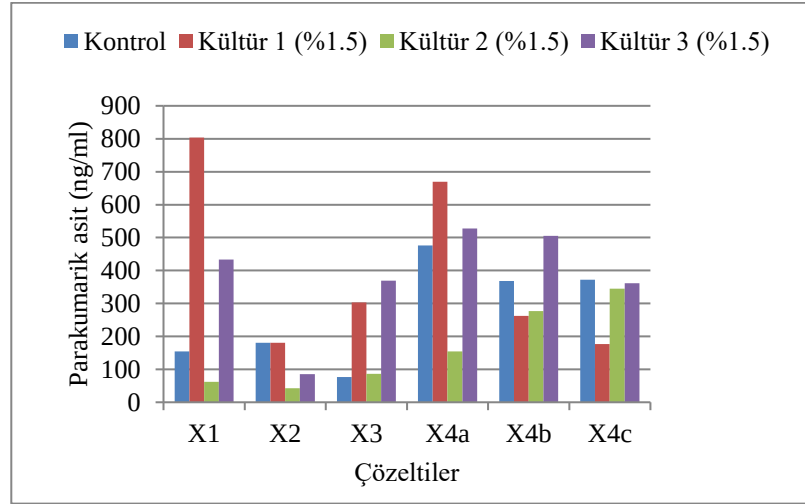
Şekil 4.26'da %2,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı rutin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 22,39 ng/mL ile en yüksek rutin miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4c'nin kullanıldığı 15 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değeri 2 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X4b'nin kullanıldığı ve 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2 ve X4b kullanılan örneklerde tüm kùltür suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla rutin miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Ancak çözücü olarak X3 ve X4a kullanıldığında tüm kùltür suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla rutin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 27. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin rutine etkisi

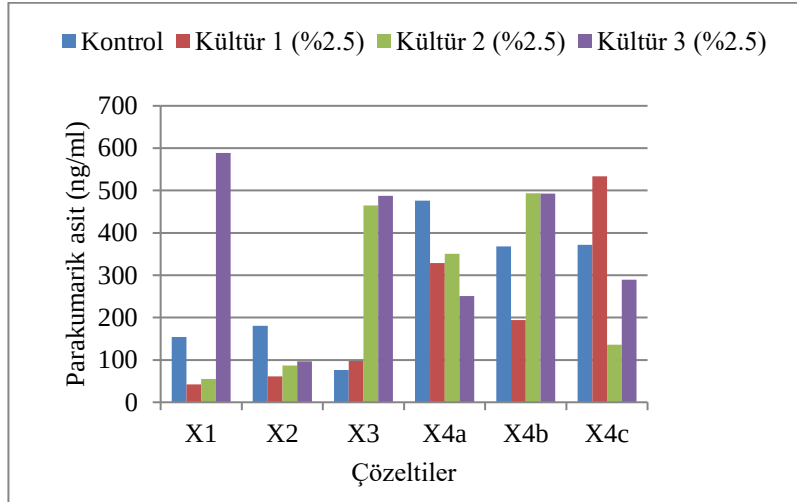
Şekil 4.27’de %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı rutin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 18,06 ng/mL ile en yüksek rutin miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 0,76 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı ve 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X3, X4a ve X4c kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla rutin miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Ancak çözücü olarak X1, X2 ve X4b kullanıldığında kùltür 2 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla rutin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

Rutin ile epikateşin ($r=0,27$) ve kuersetin ($r=0,32$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. %3,5 inokùlüm oranı ve %1,5 inokùlüm oranı arasında ($p=0,020$), %3,5 inokùlüm oranı ve %2,5 inokùlüm oranı arasında ($p=0,027$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



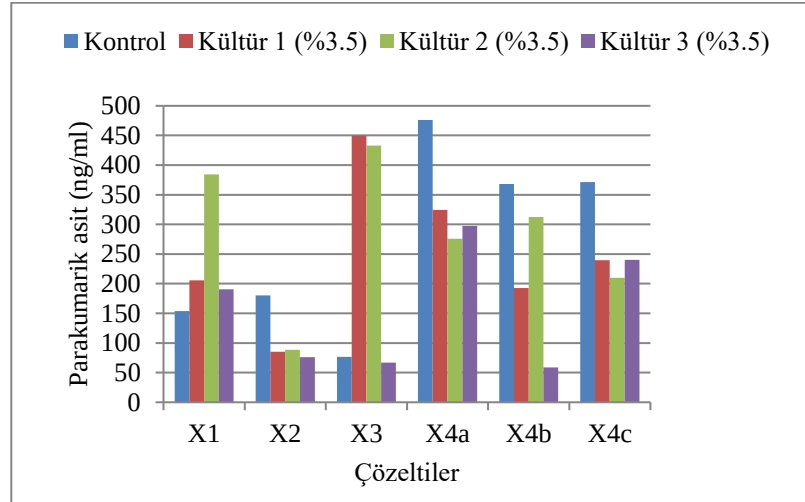
Şekil 4. 28. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin parakumarik aside etkisi

Şekil 4.28’de %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı parakumarik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 803,37 ng/mL ile en yüksek parakumarik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 42,74 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 2 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla parakumarik asit miktarının azaltığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla parakumarik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 29. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokulum oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin parakumarik aside etkisi

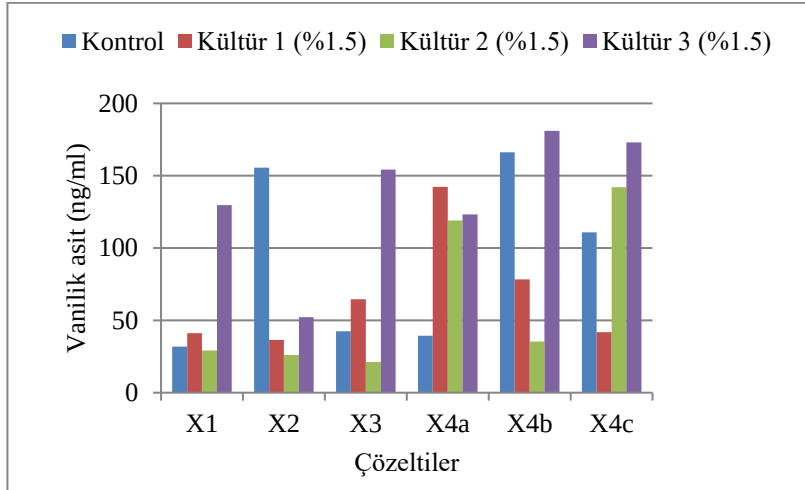
Şekil 4.29'da %2,5 inokulum oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı parakumarik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 588,83 ng/mL ile en yüksek parakumarik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 42,53 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a ve X4b kullanılan örneklerde kültür 1 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla parakumarik asit miktarının azaltığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla parakumarik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 30. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin parakumarik aside etkisi

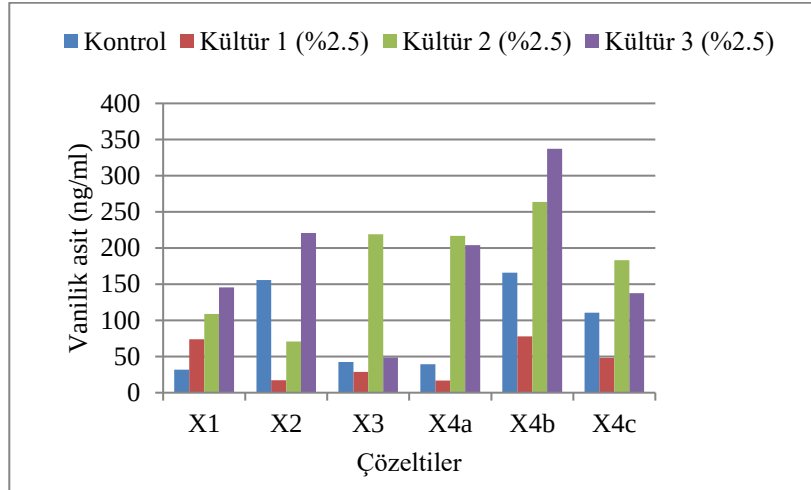
Şekil 4.30'da %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı parakumarik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 476,12 ng/mL ile en yüksek parakumarik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 58,52 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b'nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1 kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla parakumarik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir. Ancak çözücü olarak X2, X4a, X4b ve X4c kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla parakumarik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

Parakumarik asit ile kafeik asit ($r=0,65$), ferulik asit ($r=0,71$), kaemferol ($r=0,91$), kuersetin ($r=0,86$), vanilik asit ($r=0,34$), DMAE kafeik asit ($r=0,83$), CAPE ($r=0,87$), elajik asit ($r=0,84$), naringenin ($r=0,78$), pelargonin ($r=0,33$), trans-sinamik asit ($r=0,72$), 4-hidroksi benzoik asit ($r=0,26$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.



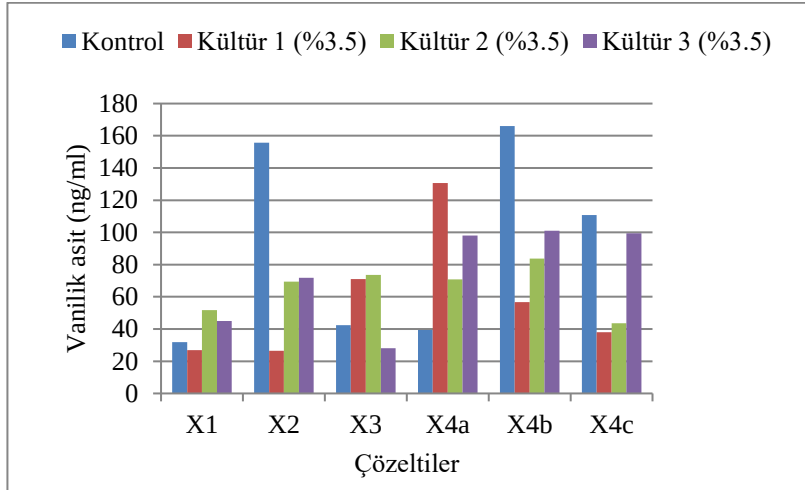
Şekil 4. 31. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin vanilik aside etkisi

Şekil 4.31’de %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı vanilik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 181,07 ng/mL ile en yüksek vanilik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulan örnek iken en düşük değer 21,28 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Kültür 3 suşu kullanılan örneklerde X2 çözücüsü hariç tüm çözücülerde, kontrol grubu örneklerine kıyasla vanilik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X2 ve X4b kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla vanilik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 32. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin vanilik aside etkisi

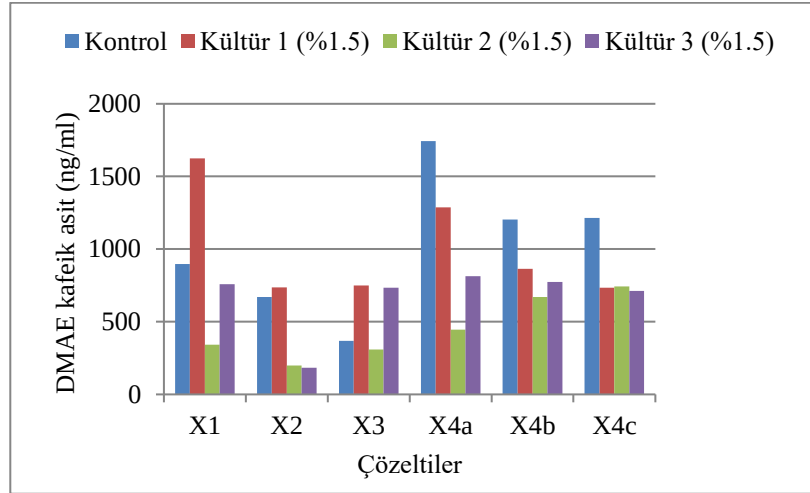
Şekil 4.32’de %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı vanilik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 337,11 ng/mL ile en yüksek vanilik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 16,75 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Kültür 2 suşu kullanılan örneklerde X2 çözücüsü hariç tüm çözücülerde, kontrol grubu örneklerine kıyasla vanilik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X1 kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla vanilik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 33. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin vanilik aside etkisi

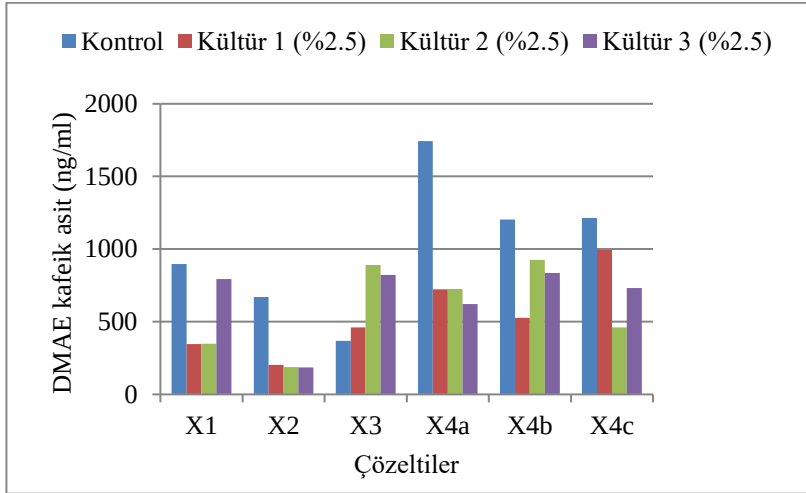
Şekil 4.33'te %3,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı vanilik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 166,07 ng/mL ile en yüksek vanilik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 26,58 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2, X4b ve X4c kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla vanilik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X4a kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla vanilik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Vanilik asit ile kafeik asit ($r=0,53$), kaemferol ($r=0,27$), kuersetin ($r=0,28$), parakumarik asit ($r=0,34$), elajik asit ($r=0,38$), naringenin ($r=0,50$), pelargonin ($r=0,29$), trans-sinamik asit ($r=0,51$), 4-hidroksi benzoik asit ($r=0,29$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. %1,5 inokülüm oranı ve %2,5 inokülüm oranı arasında ($p=0,038$), %2,5 inokülüm oranı ve %3,5 inokülüm oranı arasında ($p=0,002$) anlamlı farklar tespit edilmiştir. Kültür 1 suşu ve kültür 3 suşu arasında ($p=0,04$), kültür 3 suşu ve kültür 1 suşu arasında ($p=0,001$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



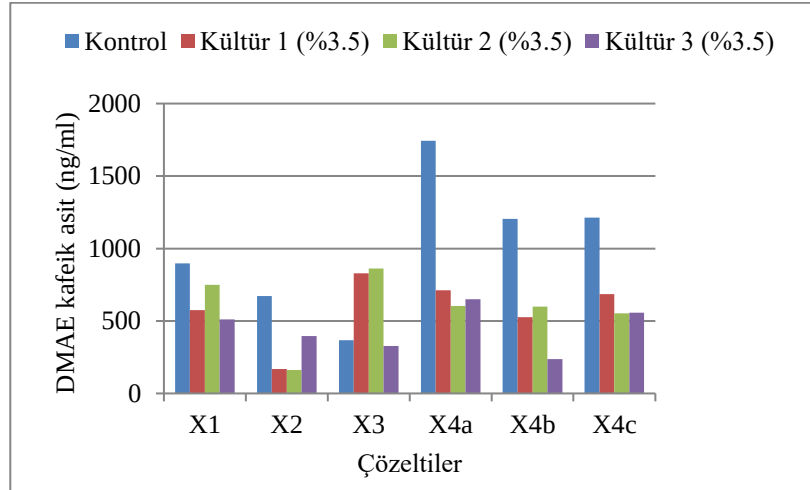
Şekil 4. 34. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DMAE kafeik aside etkisi

Şekil 4.34'te %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı DMAE kafeik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 1743,53 ng/mL ile en yüksek DMAE kafeik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 183,12 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan tüm örneklerin DMAE kafeik asit içeriği kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır. Tüm kültür gruplarında ultrason uygulamasının alejen molekül olan DMAE kafeik asit miktarını azalttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 35. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DMAE kafeik aside etkisi

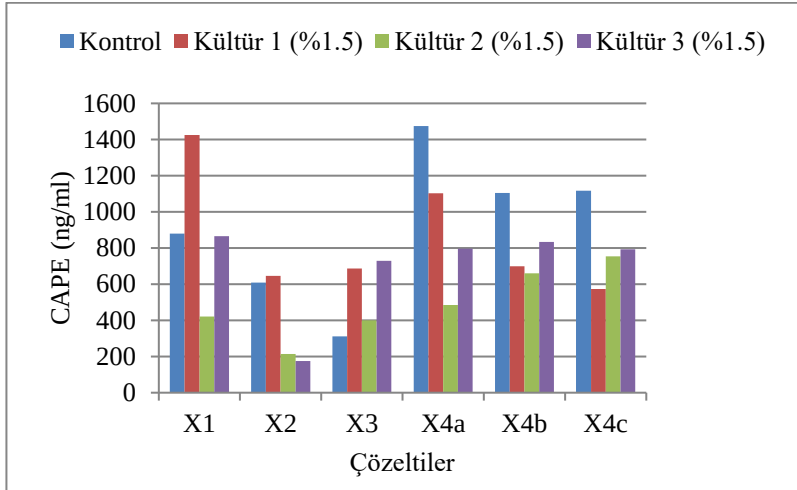
Şekil 4.35'te %2,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı DMAE kafeik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 1743,53 ng/mL ile en yüksek DMAE kafeik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 185,87 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan tüm örneklerin DMAE kafeik asit içeriğı kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır. Ancak çözücü olarak X3 kullanımını tüm kùltür gruplarında DMAE kafeik asit miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 36. Propolisin, farklı kùltürler ile 3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin DMAE kafeik aside etkisi

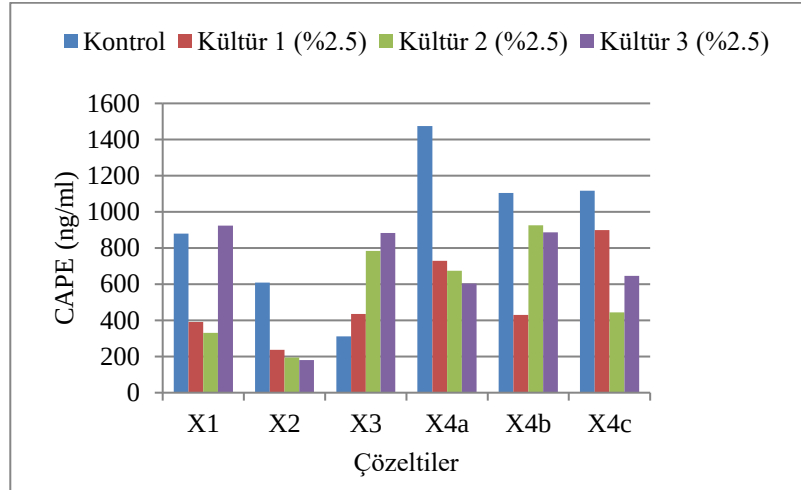
Şekil 4.36'da %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı DMAE kafeik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 1743,53 ng/mL ile en yüksek DMAE kafeik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 161,99 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerin tüm kùltür gruplarında kafeik asit içeriğı kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır. Kùltür 1 ve Kùltür 2 suşlarında çözücü olarak X3 kullanımının DMAE kafeik asit miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.

DMAE kafeik asit ile kafeik asit ($r=0,44$), kaemferol ($r=0,89$), ferulik asit ($r=0,88$), kuersetin ($r=0,70$), parakumarik asit ($r=0,83$), elajik asit ($r=0,73$), naringenin ($r=0,56$), pelargonin ($r=0,31$), trans-sinamik asit ($r=0,53$), CAPE ($r=0,96$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kontrol grubu ile %1,5 inokùlüm oranı ($p=0,034$), %2,5 inokùlüm oranı ($p=0,005$), %3,5 inokùlüm oranı ($p=0,001$) arasında (anlamalı farklar tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile kùltür 1 suşu ($p=0,036$), kùltür 2 suşu ($p=0,001$), kùltür 3 suşu ($p=0,004$), arasında anlamalı farklar tespit edilmiştir. X1 çözücüsü ile X2 çözücüsü arasında ($p=0,004$) anlamalı farklar tespit edilmiştir.



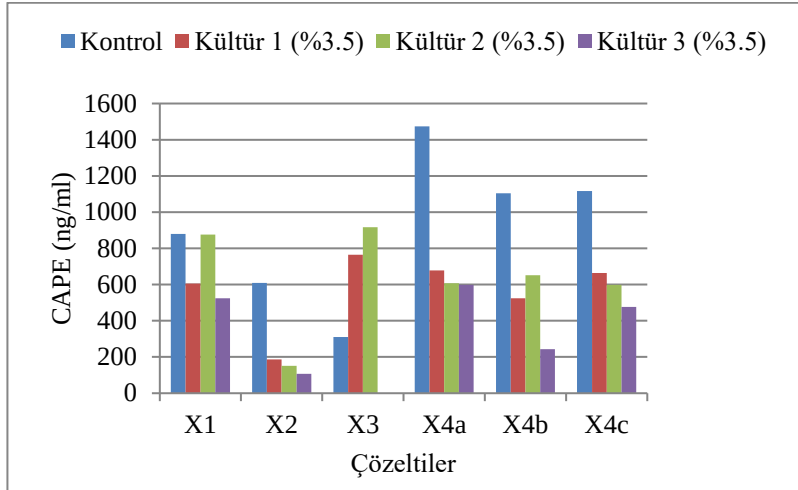
Şekil 4. 37. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin CAPE'ye etkisi

Şekil 4.37'de %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı CAPE içeriğindeki değişimi göstermektedir. 1474,32 ng/mL ile en yüksek CAPE miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 174,71 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan tüm örneklerin kafeik asit içeriği kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır. Tüm kùltür gruplarında ultrason uygulamasının CAPE miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında kontrol grubuna kıyasla CAPE miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 38. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin CAPE'ye etkisi

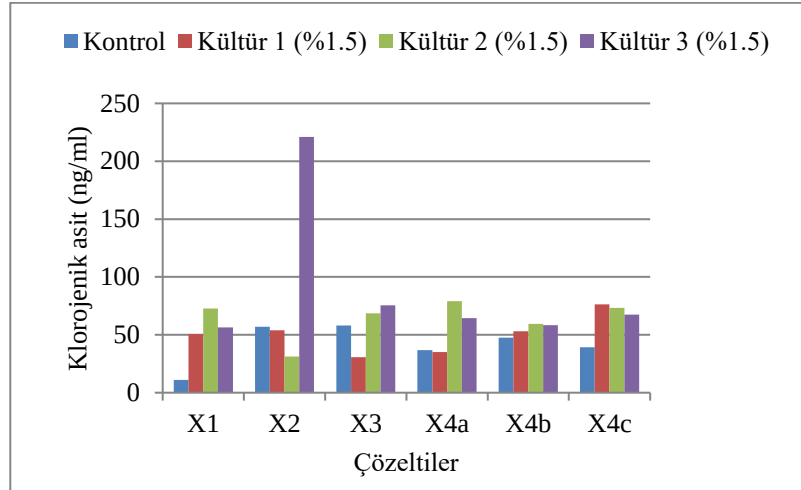
Şekil 4.38'de %2,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı CAPE içeriğindeki değışimi göstermektedir. 1474,32 ng/mL ile en yüksek CAPE miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değeri 180,13 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan tüm örneklerin kafeik asit içeriğı kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır. Tüm kùltür gruplarında ultrason uygulamasının alejen molekül olan CAPE miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında kontrol grubuna kıyasla CAPE miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 39. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin CAPE'ye etkisi

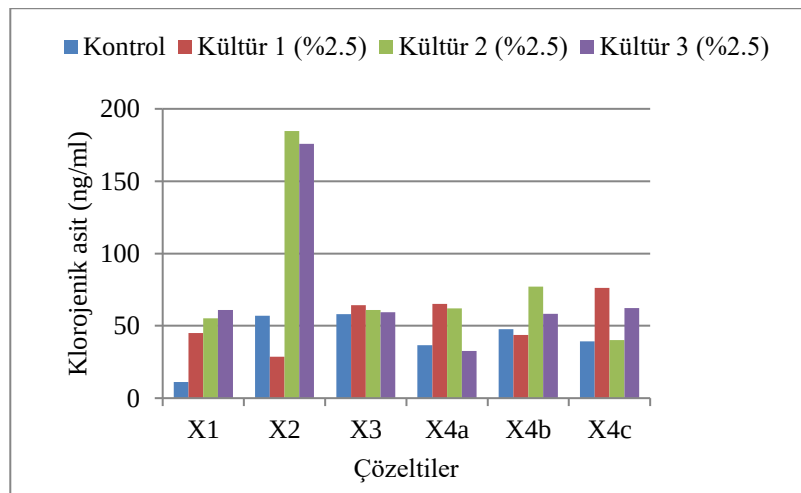
Şekil 4.39'da %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı CAPE içeriğindeki değışimi göstermektedir. 1474,32 ng/mL ile en yüksek CAPE miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 107,12 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan tüm örneklerin CAPE içeriğı kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır. Tüm kùltür gruplarında ultrason uygulamasının CAPE miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında kontrol grubuna kıyasla CAPE miktarının arttığı tespit edilmiştir.

CAPE ile kafeik asit ($r=0,51$), kaemferol ($r=0,91$), ferulik asit ($r=0,86$), kuersetin ($r=0,75$), parakumarik asit ($r=0,87$), elajik asit ($r=0,78$), naringenin ($r=0,67$), pelargonin ($r=0,29$), trans-sinamik asit ($r=0,62$), CAPE ($r=0,96$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kontrol grubu ile %2,5 inokùlüm oranı ($p=0,018$), %3,5 inokùlüm oranı ($p=0,007$) arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile kùltür 2 suşu ($p=0,011$), kùltür 3 suşu ($p=0,026$), arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. X1 çözücüsü ile X2 çözücüsü arasında ($p=0,000$) ve X2 çözücüsü ile X3 çözücüsü arasında ($p=0,000$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



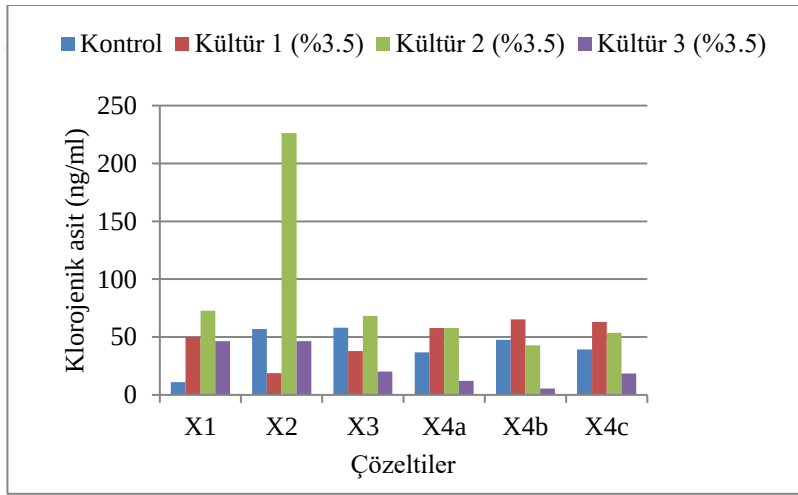
Şekil 4. 40. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin klorojenik aside etkisi

Şekil 4.40'ta %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı klorojenik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 220,86 ng/mL ile en yüksek klorojenik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 11,14 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X4b ve X4c kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla klorojenik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 41. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin klorojenik aside etkisi

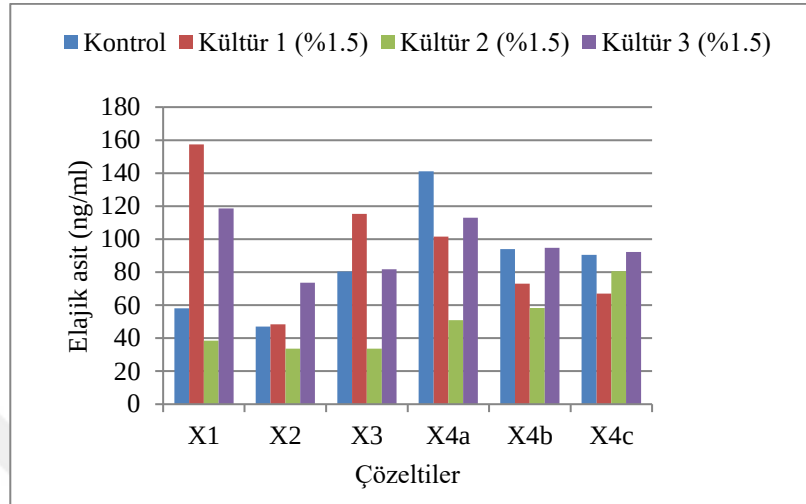
Şekil 4.41’de %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı klorojenik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 184,56 ng/mL ile en yüksek klorojenik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 11,14 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1 ve X3 kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla klorojenik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 42. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin klorojenik aside etkisi

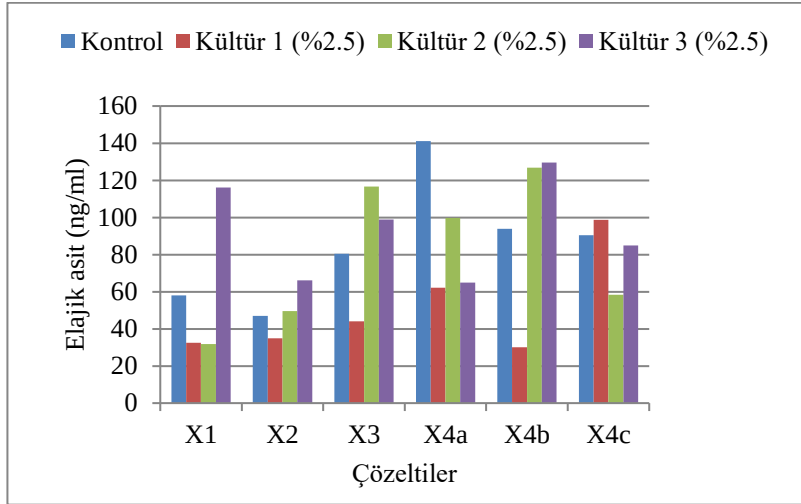
Şekil 4.42’de %3,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı klorojenik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 226,16 ng/mL ile en yüksek klorojenik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 5,59 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1 kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla klorojenik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X2, X3, X4a, X4b ve X4c kullanıldığında tüm kültür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla klorojenik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. X1 çözücüsü ile X2 çözücüsü arasında ($p=0,003$) ve X2 çözücüsü ile X3 çözücüsü arasında ($p=0,000$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



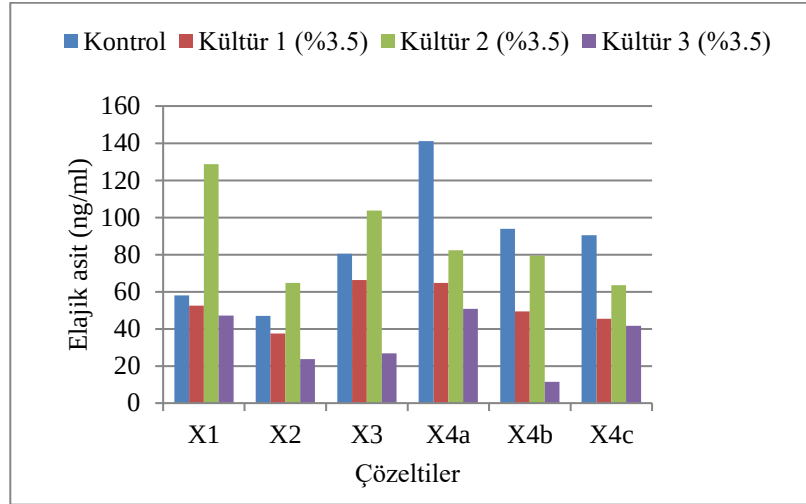
Şekil 4. 43. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin elajik aside etkisi

Şekil 4.43'te %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı elajik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 157,44 ng/mL ile en yüksek elajik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 33,65 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla elajik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1, X2 ve X3 kullanıldığında kültür 1 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla elajik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 44. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin elajik aside etkisi

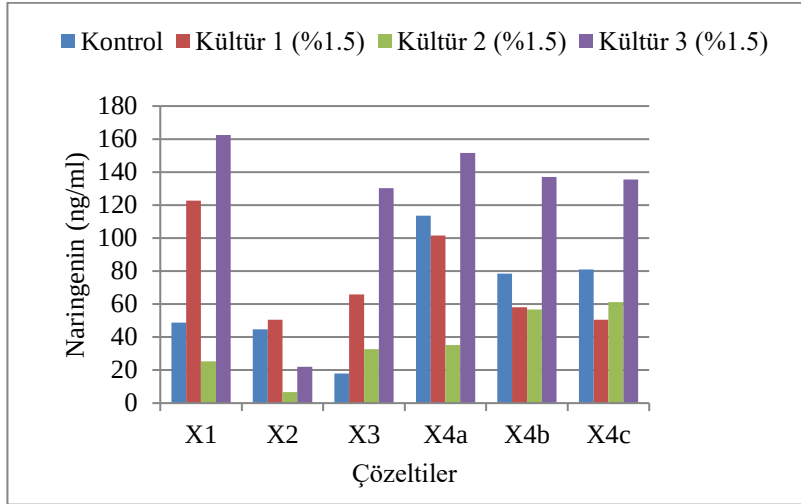
Şekil 4.44'te %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı elajik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 141,13 ng/mL ile en yüksek elajik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 30,06 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X4b'nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla elajik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1, X2 ve X3, X4b ve X4c kullanıldığında kültür 3 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla elajik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 45. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin elajik aside etkisi

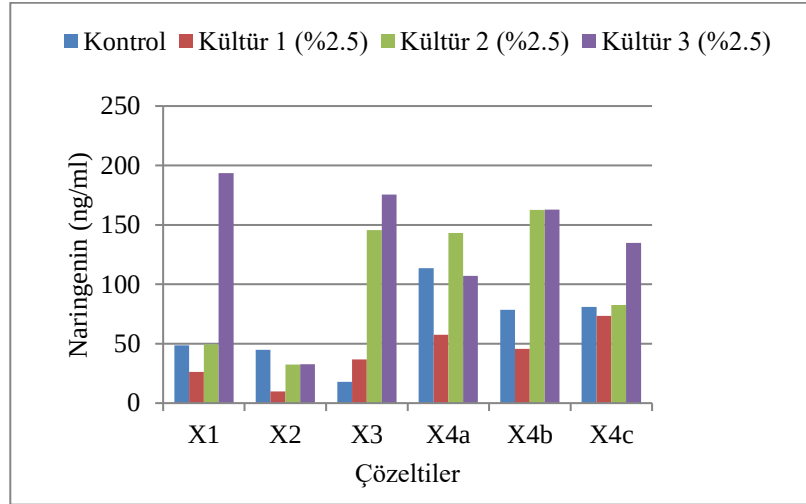
Şekil 4.45'te %3,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı elajik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 141,13 ng/mL ile en yüksek elajik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 11,43 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b'nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla elajik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1, X2 ve X3 kullanıldığında kültür 2 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla elajik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Elajik asit ile kafeik asit ($r=0,64$), kaemferol ($r=0,89$), ferulik asit ($r=0,54$), kuersetin ($r=0,93$), parakumarik asit ($r=0,84$), vanilik asit ($r=0,38$), DMAE kafeik asit ($r=0,73$), CAPE ($r=0,78$), naringenin ($r=0,76$), pelargonin ($r=0,32$), trans-sinamik asit ($r=0,74$), 4-hidroksi benzoik asit ($r=0,40$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. %1,5 inokülüm oranı ve %3,5 inokülüm oranı arasında ($p=0,038$) anlamlı farklar tespit edilmiştir. X1 çözücüsü ve X2 çözücüsü arasında ($p=0,038$), X3 çözücüsü ve X2 çözücüsü suşu arasında ($p=0,013$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



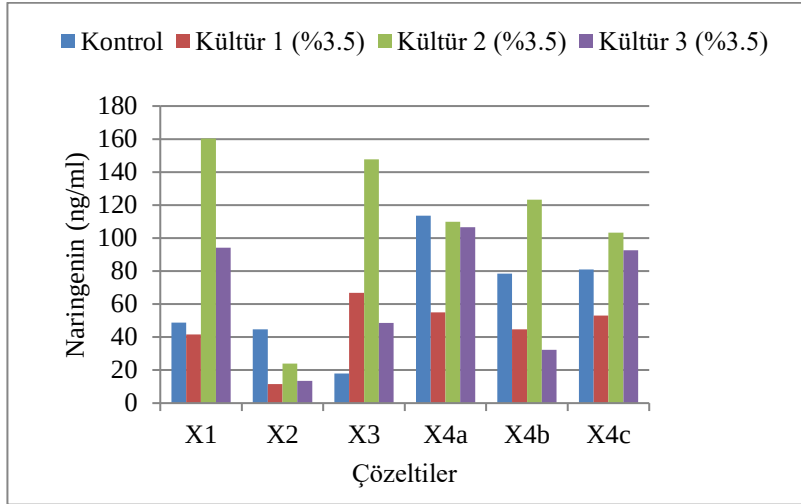
Şekil 4. 46. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin naringenine etkisi

Şekil 4.46’da %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı naringenin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 162,53 ng/mL ile en yüksek naringenin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 6,72 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 1 ve kùltür 2 suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla naringenin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanıldığında kùltür 3 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla naringenin miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm tüm kùltür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla naringenin miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 47. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin naringenine etkisi

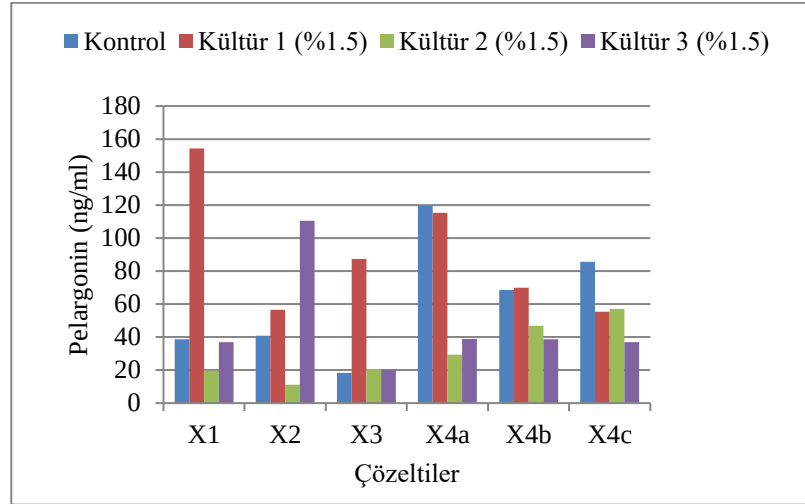
Şekil 4.47’de %2,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı naringenin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 193,46 ng/mL ile en yüksek naringenin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 32,45 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 1 suşunda, kontrol grubu örneklerine kıyasla naringenin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Ancak çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla naringenin miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 48. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin naringenine etkisi

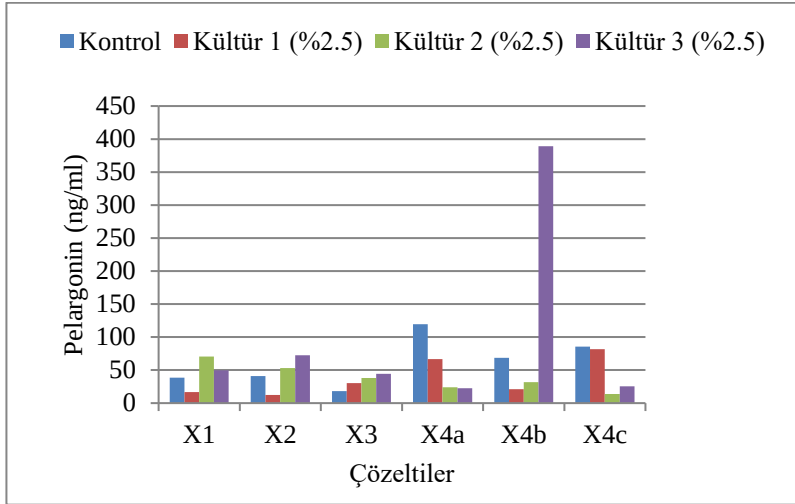
Şekil 4.48’de %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı naringenin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 160,41 ng/mL ile en yüksek naringenin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 11,55 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 1 suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla naringenin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla naringenin miktarının arttığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X2 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla naringenin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

Naringenin ile kafeik asit ($r=0,91$), kaemferol ($r=0,71$), ferulik asit ($r=0,43$), kuersetin ($r=0,74$), parakumarik asit ($r=0,78$), vanilik asit ($r=0,50$), DMAE kafeik asit ($r=0,56$), CAPE ($r=0,67$), elajik asit ($r=0,76$), trans-sinamik asit ($r=0,91$), 4-hidroksi benzoik asit ($r=0,42$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kùltür 1 suşu ve kùltür 2 suşu arasında ($p=0,001$) anlamlı farklar tespit edilmiştir. X1 çözücüsü ve X2 çözücüsü arasında ($p=0,001$), X3 çözücüsü ve X2 çözücüsü suşu arasında ($p=0,000$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



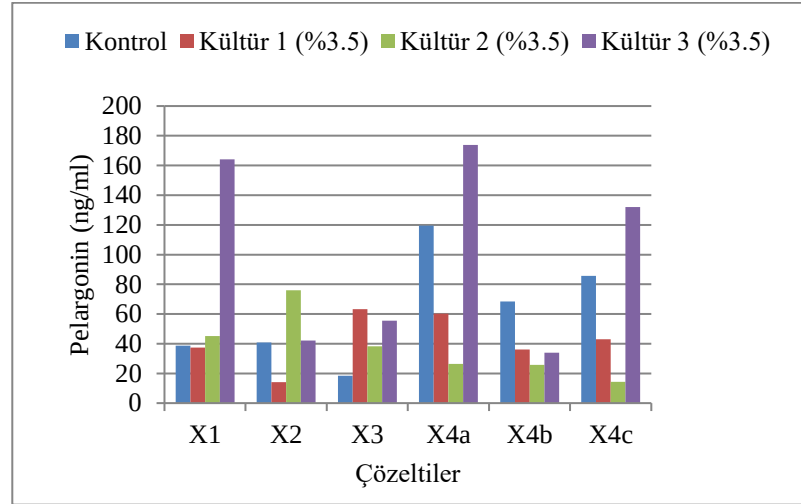
Şekil 4. 49. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin pelargonine etkisi

Şekil 4.49'da %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı pelargonin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 154,35 ng/mL ile en yüksek pelargonin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 11,19 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a ve X4c kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla pelargonin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1, X2, X3 ve X4b kullanıldığında kùltür 1 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla pelargonin miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla pelargonin miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 50. Propolisin, farklı kùltürler ile %2,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin pelargonine etkisi

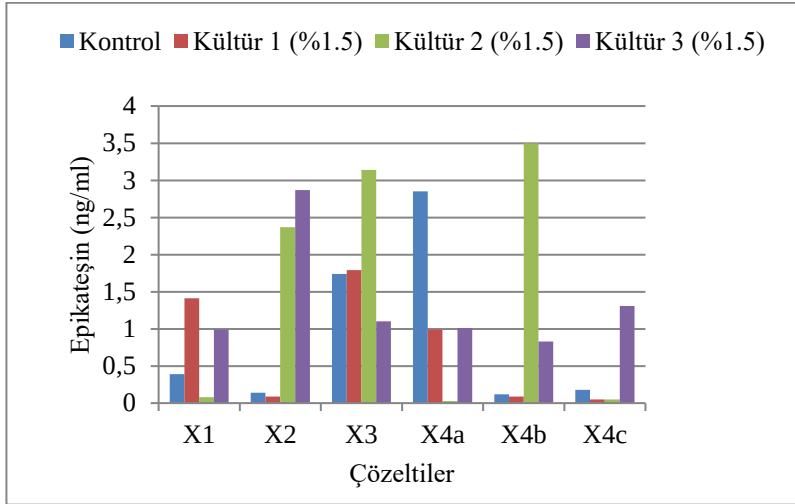
Şekil 4.50’de %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı pelargonin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 389,10 ng/mL ile en yüksek pelargonin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 12,37 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a ve X4c kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla pelargonin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1, X2 ve X3 kullanıldığında kùltür 2 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla pelargonin miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla pelargonin miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 51. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerinin pelargonine etkisi

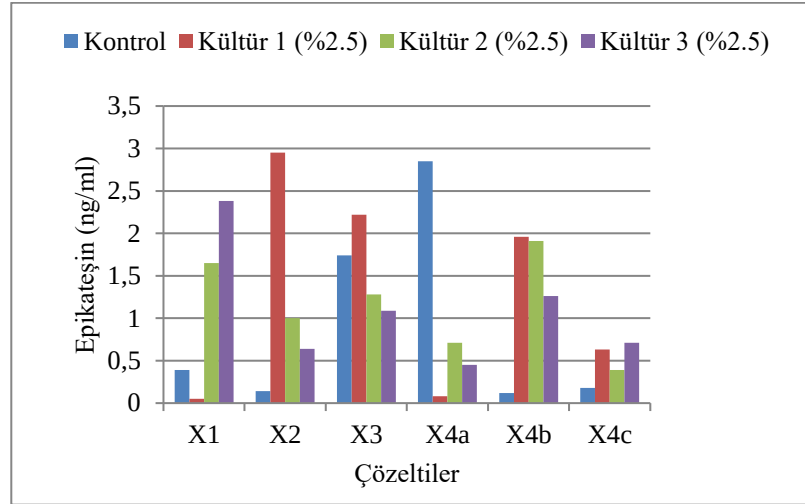
Şekil 4.51’de %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözümler ve ultrasonik uygulamaya bağı pelargonin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 173,75 ng/mL ile en yüksek pelargonin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözümlü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 14,06 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözümlü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözümlü olarak X4a ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 1 ve kùltür 2 suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla pelargonin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözümlü olarak X1, X2, X3 ve X4b kullanıldığında kùltür 2 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla pelargonin miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözümlü olarak X3 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında, kontrol grubuna kıyasla pelargonin miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Pelargonin ile kaemferol ($r=0,33$), kuersetin ($r=0,27$), parakumarik asit ($r=0,33$), vanilik asit ($r=0,29$), DMAE kafeik asit ($r=0,31$), CAPE ($r=0,29$), elajik asit ($r=0,32$), arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kùltür 2 suşu ve kùltür 3 suşu arasında ($p=0,014$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



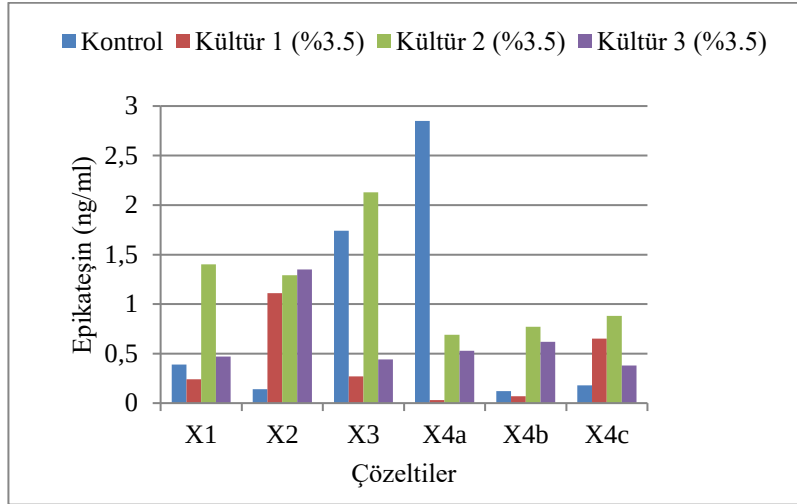
Şekil 4. 52. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerin epikateşine etkisi

Şekil 4.52’de %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözümler ve ultrasonik uygulamaya bağlı epikateşin içeriğindeki değişimi göstermektedir. 3,5 ng/mL ile en yüksek epikateşin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözümleri olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 0,03 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözümleri olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözümleri olarak X4a ve X4c kullanılan örneklerde kültür 1 ve kültür 2 suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla epikateşin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözümleri olarak X2, X3 ve X4b kullanıldığında kültür 2 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla epikateşin miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 53. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerin epikateşine etkisi

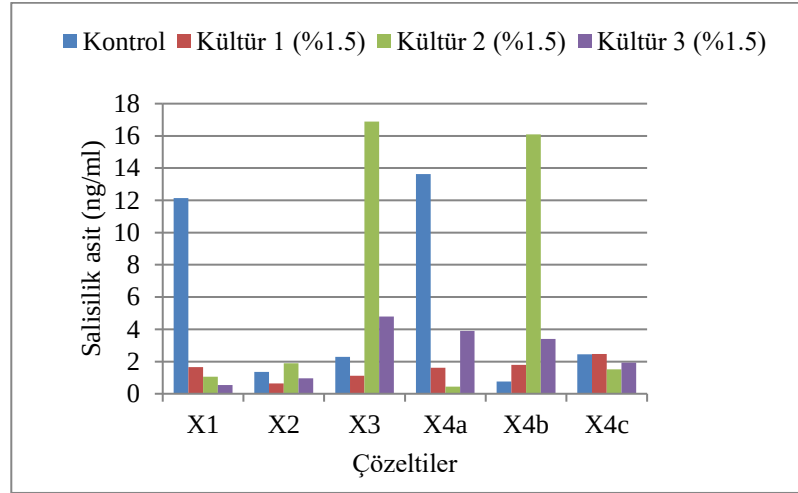
Şekil 4.53'te %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözümler ve ultrasonik uygulamaya bağlı epikateşin içeriğindeki değişimi göstermektedir. 2,95 ng/mL ile en yüksek epikateşin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözümleri olarak X2'nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 0,05 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözümleri olarak X1'in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözümleri olarak X2, X3 ve X4a kullanılan örneklerde kültür 2 ve kültür 3 suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla epikateşin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözümleri olarak X2, X3, X4b ve X4c kullanıldığında kültür 1 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla epikateşin miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 54. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin epikateşine etkisi

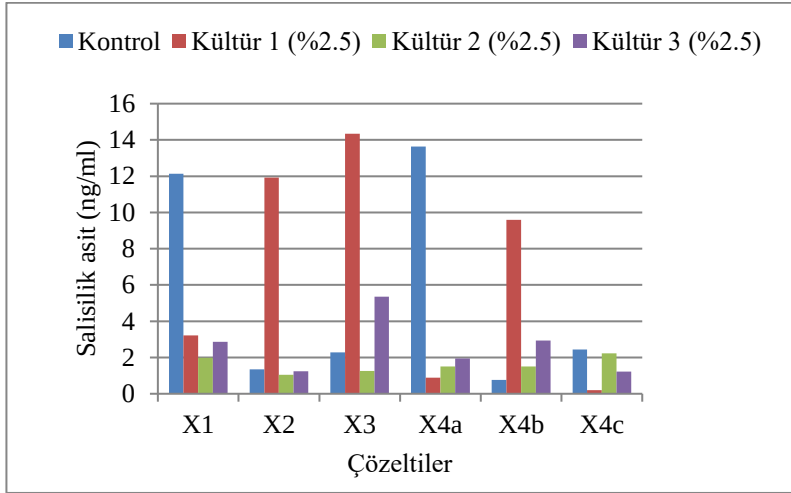
Şekil 4.54'te %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı epikateşin içeriğindeki değışimi göstermektedir. 2,85 ng/mL ile en yüksek epikateşin miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 0,03 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X3, X4a ve X4b kullanılan örneklerde kùltür 1 suşunda, kontrol grubu örneklerine kıyasla epikateşin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X1, X2, X3, X4b ve X4c kullanıldığında kùltür 2 suşunda kontrol grubuna kıyasla epikateşin miktarının arttığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak X4a kullanıldığında tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla epikateşin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

Epikateşin ile rutin ($r=0,91$), salisilik asit ($r=0,71$), gentisik asit ($r=0,43$), prokatekuik asit ($r=0,74$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.



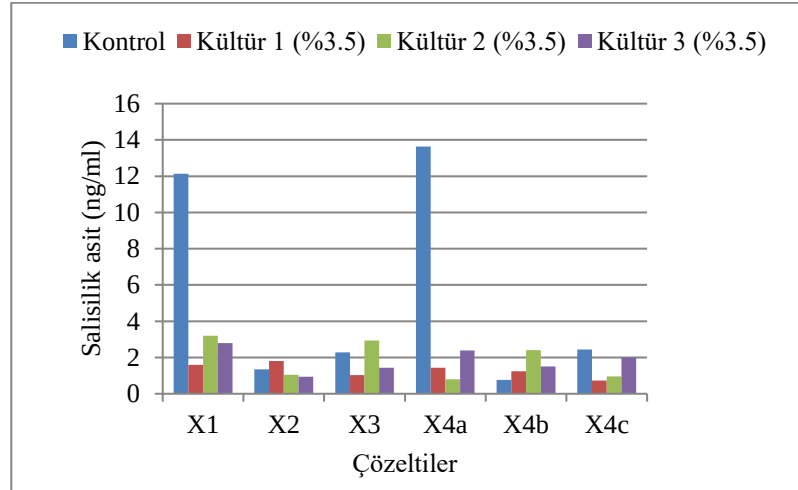
Şekil 4. 55. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin salisilik aside etkisi

Şekil 4.55'te %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı salisilik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 16,88 ng/mL ile en yüksek salisilik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 0,45 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1 ve X4a kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla salisilik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X4b kullanıldığında tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla salisilik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 56. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin salisilik aside etkisi

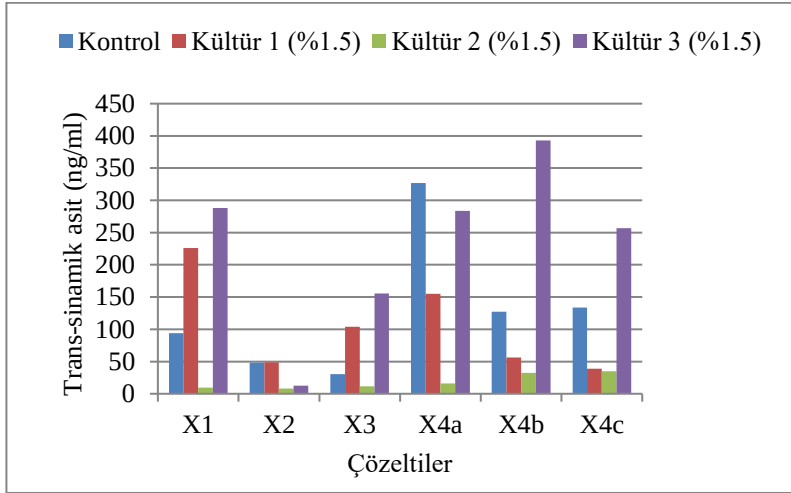
Şekil 4.56’da %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı salisilik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 14,34 ng/mL ile en yüksek salisilik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 0,2 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X4c’nin kullanıldığı 15 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X4a ve X4c kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla salisilik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X4b kullanıldığında tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla salisilik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 57. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin salisilik aside etkisi

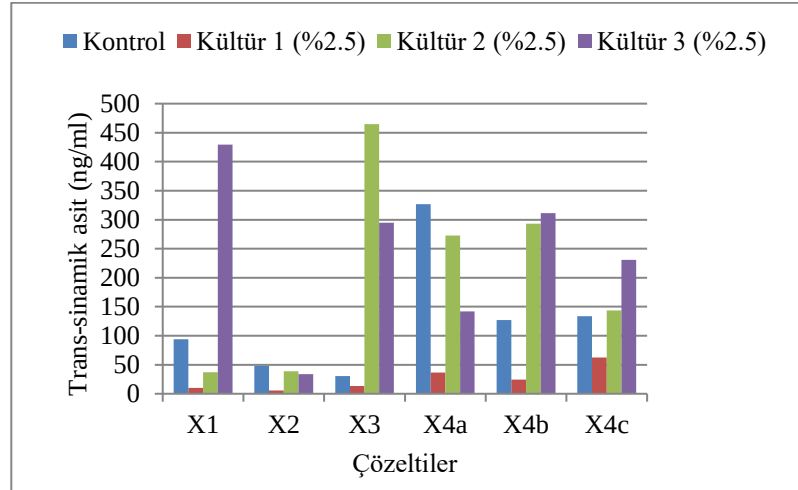
Şekil 4.57’de %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı salisilik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 13,63 ng/mL ile en yüksek salisilik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değeri 0,72 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X4c’nin kullanıldığı 15 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X4a ve X4c kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla salisilik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X4b kullanıldığında tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla salisilik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Salisilik asit ile epikateşin ($r=0,61$), gentisik asit ($r=0,61$), prokatekuik asit($r=0,54$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kontrol grubu ve %3,5 inokùlüm oranı arasında ($p=0,047$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



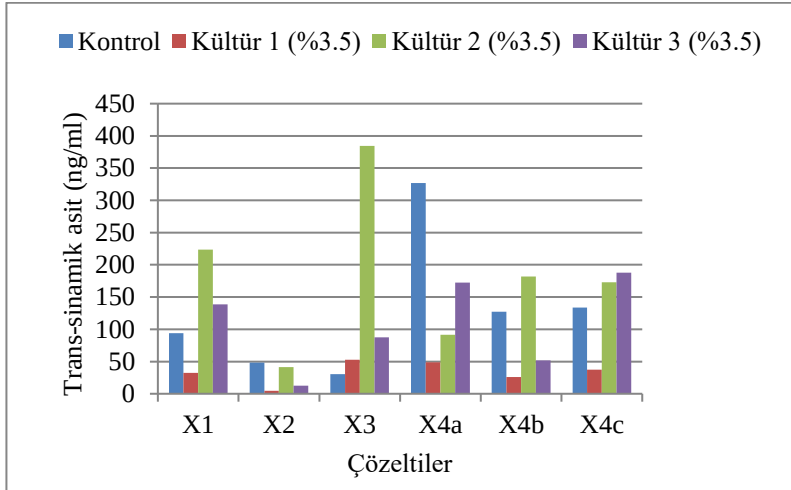
Şekil 4. 58. Propolisin, farklı kùltürler ile %1,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin trans-sinamik aside etkisi

Şekil 4.58’de %1,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekeştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı trans-sinamik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 392,94 ng/mL ile en yüksek trans-sinamik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 8,33 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 1 ve kùltür 2 suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla trans-sinamik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1, X3, X4b ve X4c kullanıldığında kùltür 3 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla trans-sinamik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 59. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin trans-sinamik aside etkisi

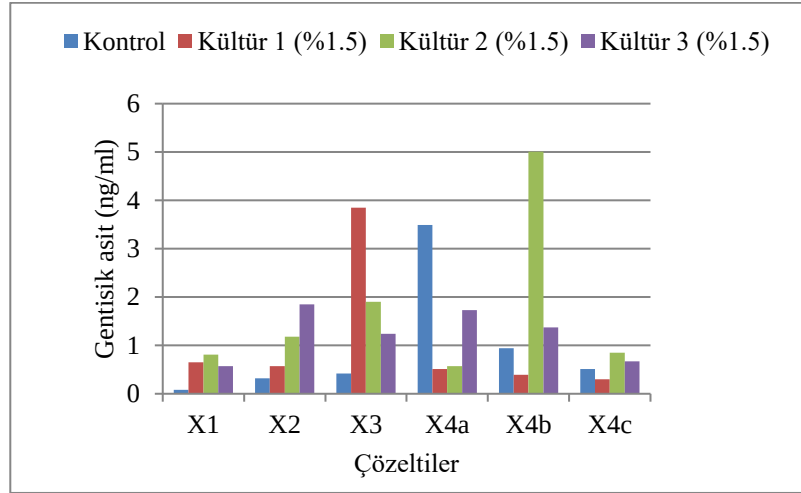
Şekil 4.59’da %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı trans-sinamik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 464,60 ng/mL ile en yüksek trans-sinamik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 5,43 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2 ve X4a kullanılan örneklerde kültür 1 ve kültür 2 suşlarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla trans-sinamik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1, X3, X4b ve X4c kullanıldığında kültür 3 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla trans-sinamik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 60. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin trans-sinamik aside etkisi

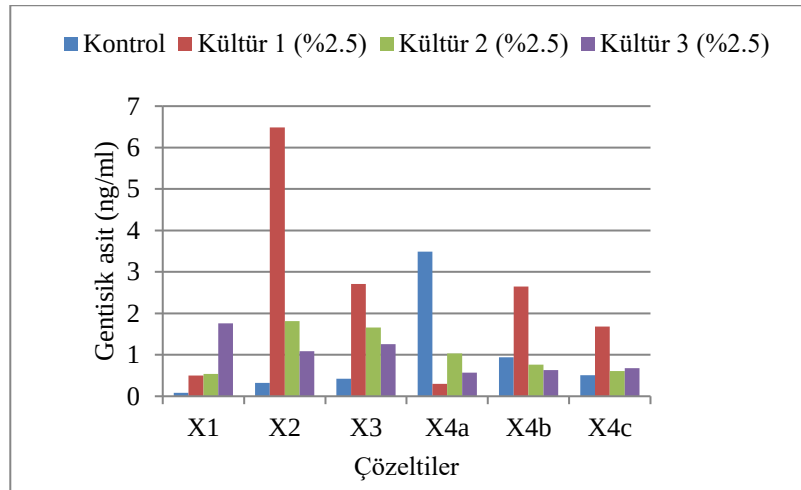
Şekil 4.60'ta %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı trans-sinamik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 384,39 ng/mL ile en yüksek trans-sinamik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kùltür 2 suşunun ve çözücü olarak X3'ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değıer 4,58 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 1 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kùltür 1 suşunda, kontrol grubu örneklerine kıyasla trans-sinamik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X3 kullanıldığında kùltür 1 suşunda kontrol grubu örneklerine kıyasla trans-sinamik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Trans-sinamik asit ile kafeik asit ($r=0,86$), kaemferol ($r=0,67$), ferulik asit ($r=0,35$), kuersetin ($r=0,73$), parakumarik asit ($r=0,72$), vanilik asit ($r=0,51$), DMAE kafeik asit ($r=0,53$), CAPE ($r=0,62$), elajik asit ($r=0,74$), naringenin ($r=0,91$), 4-hidroksi benzoik asit ($r=0,39$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kùltür 1 suşu ve kùltür 2 suşu arasında ($p=0,034$), kùltür 1 suşu ve kùltür 3 suşu arasında ($p=0,000$) anlamlı farklar tespit edilmiştir. X1 çözücüsü ve X2 çözücüsü arasında ($p=0,020$), X3 çözücüsü ve X2 çözücüsü suşu arasında ($p=0,004$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



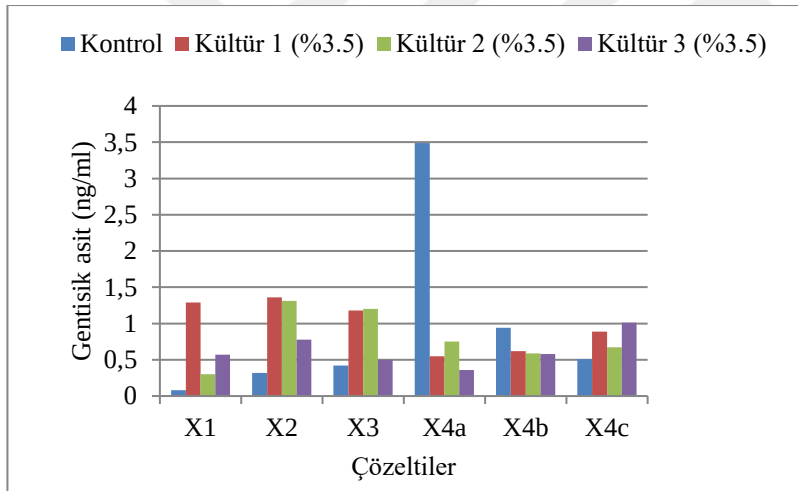
Şekil 4. 61. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerin gentisik aside etkisi

Şekil 4.61’de %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözümler ve ultrasonik uygulamaya bağlı gentisik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 5,10 ng/mL ile en yüksek gentisik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözümleri olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 0,08 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözümleri olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözümleri olarak X4a, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kültür 1 suşunda, kontrol grubu örneklerine kıyasla gentisik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözümleri olarak X2 kullanıldığında tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla gentisik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 62. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin gentisik aside etkisi

Şekil 4.62’de %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı gentisik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 6,49 ng/mL ile en yüksek gentisik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 0,08 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X2, X3, X4b ve X4c kullanılan örneklerde kültür 1 suşunda, kontrol grubu örneklerine kıyasla gentisik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X4a kullanıldığında tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla gentisik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

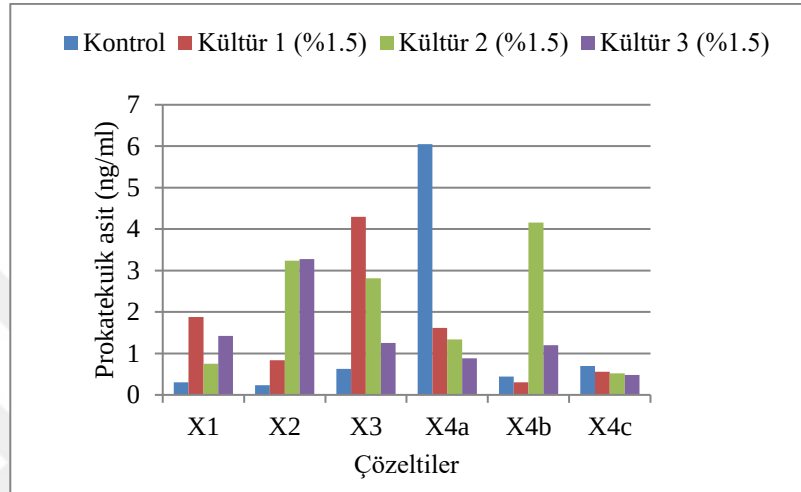


Şekil 4. 63. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin gentisik aside etkisi

Şekil 4.63’te %3,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı gentisik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 3,49 ng/mL ile en yüksek gentisik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a’nin kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 0,08 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a ve X4b kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla gentisik asit miktarının azaldığı

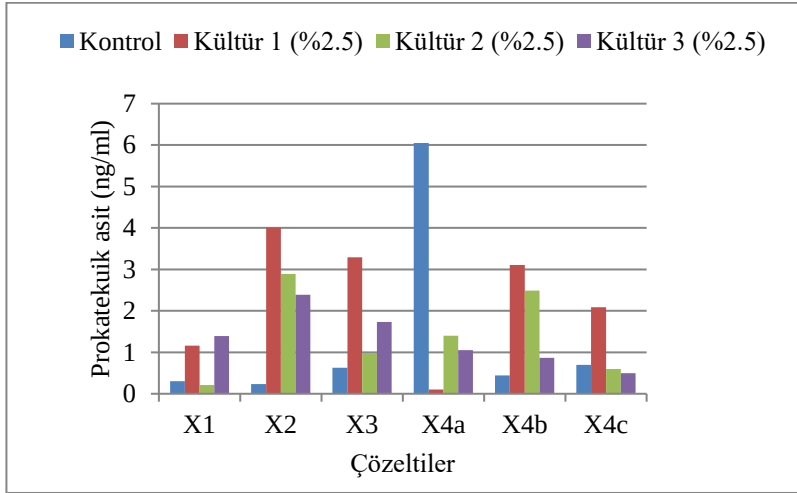
tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1 ve X2 kullanıldığında tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla gentisik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Gentisik asit ile epikateşin ($r=0,68$), salisilik asit ($r=0,61$), prokatekuik asit ($r=0,78$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.



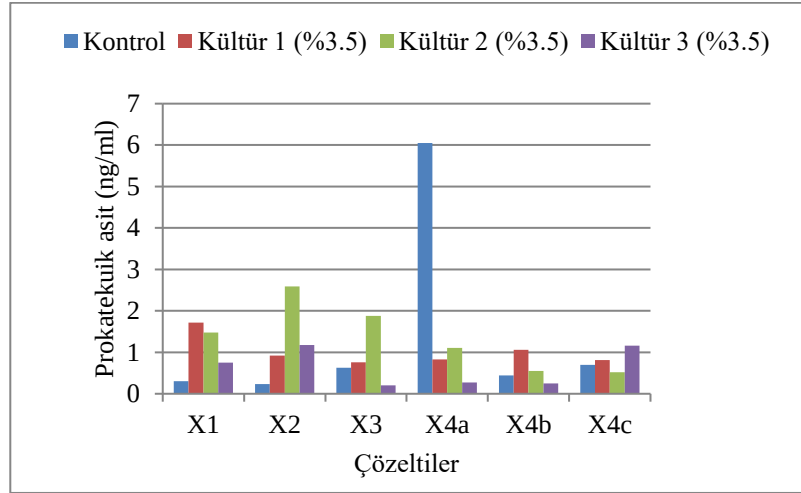
Şekil 4. 64. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin prokatekuik aside etkisi

Şekil 4.64'te %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı prokatekuik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 6,05 ng/mL ile en yüksek prokatekuik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 0,23 ng/mL olarak kontrol grubunda ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a ve X4c kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla prokatekuik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1 ve X2 kullanıldığında tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla prokatekuik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 65. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin prokatekuik aside etkisi

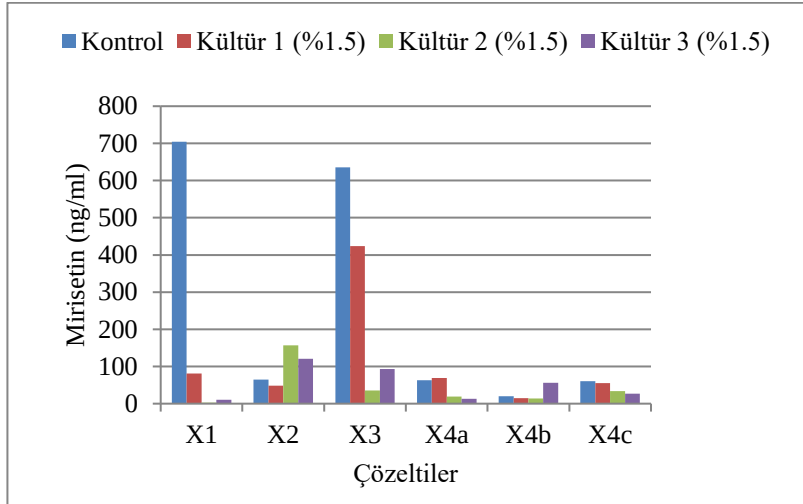
Şekil 4.65'te %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı prokatekuik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 6,05 ng/mL ile en yüksek prokatekuik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a'nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değer 0,10 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X2'nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla prokatekuik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1 ve X2 kullanıldığında tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla prokatekuik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 66. Propolisin, farklı kùltürler ile %3,5 inokùlüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin prokatekuik aside etkisi

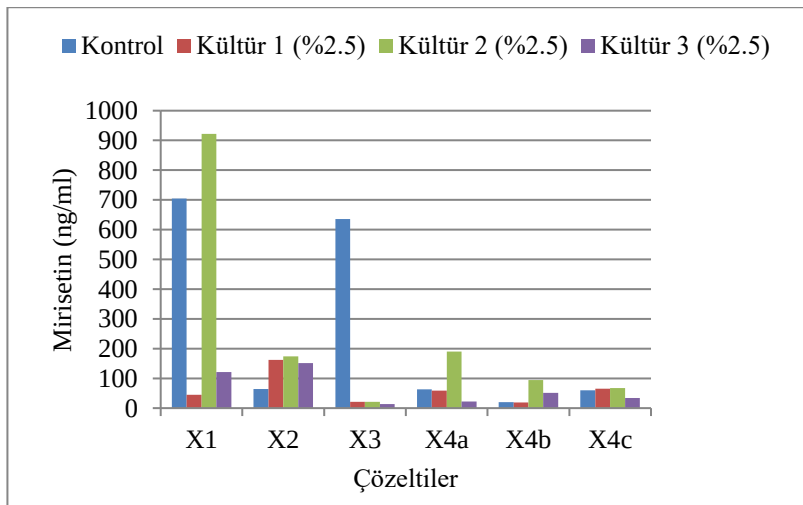
Şekil 4.66’da %3,5 inokùlüm oranları ile farklı kùltürler ile gerçekteştirilen biyotransformasyonun ve kùltür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağı prokatekuik asit içeriğindeki değışimi göstermektedir. 6,05 ng/mL ile en yüksek prokatekuik asit miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X4a’nın kullanıldığı 5 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnek iken en düşük değıer 0,20 ng/mL olarak biyotransformasyonda kùltür 3 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4a kullanılan örneklerde tüm kùltür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla prokatekuik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X1 ve X2 kullanıldığında tüm kùltür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla prokatekuik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Prokatekuik asit ile epikateşin ($r=0,74$), salisilik asit ($r=0,54$), gentisik asit ($r=0,78$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.



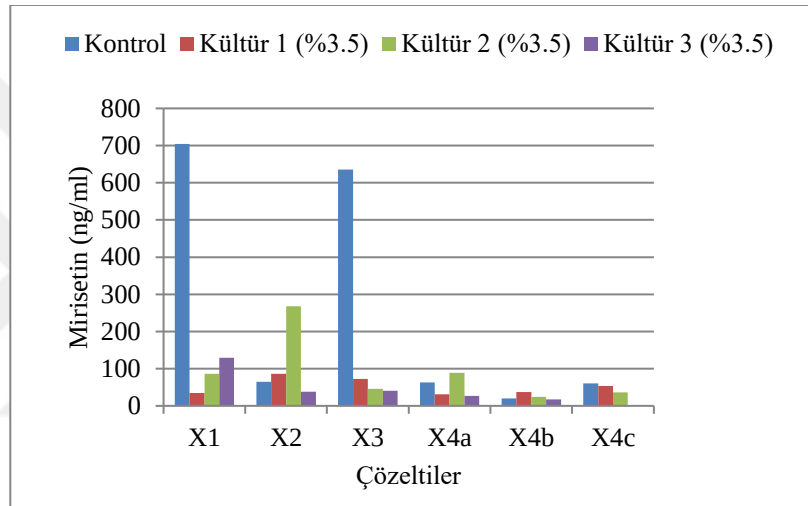
Şekil 4. 67. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin mirisetine etkisi

Şekil 4.67’de %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı mirisetin içeriğindeki değişimi göstermektedir. 704,22 ng/mL ile en yüksek mirisetin miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 3,11 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X3 ve X4c kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla mirisetin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 68. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin mirisetine etkisi

Şekil 4.68’de %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı mirisetin içeriğindeki değişimi göstermektedir. 921,86 ng/mL ile en yüksek mirisetin miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 13,89 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2 kullanıldığında tüm kültür gruplarında kontrol grubu örneklerine kıyasla mirisetin miktarının arttığı tespit edilmiştir.

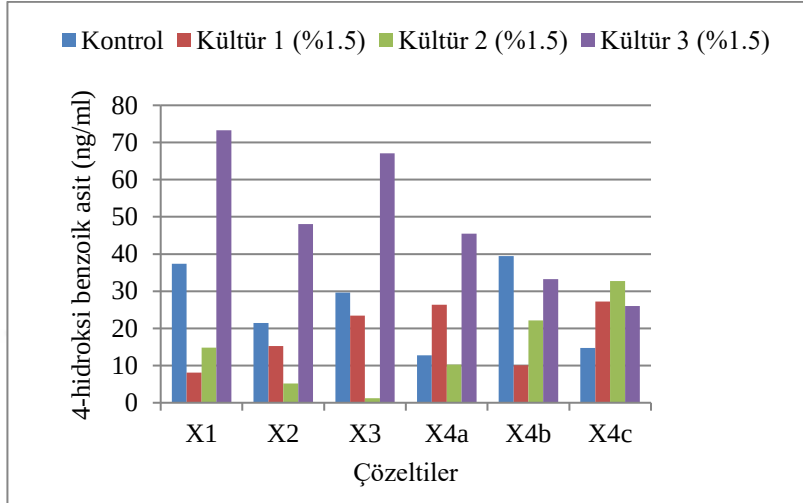


Şekil 4. 69. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin mirisetine etkisi

Şekil 4.69’da %3,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı mirisetin içeriğindeki değişimi göstermektedir. 704,22 ng/mL ile en yüksek mirisetin miktarına sahip örnek kontrol grubunda ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 17,78 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X4b’nin kullanıldığı 10 dk ultrasonik uygulama uygulanan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X1, X3 ve X4c kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla mirisetin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

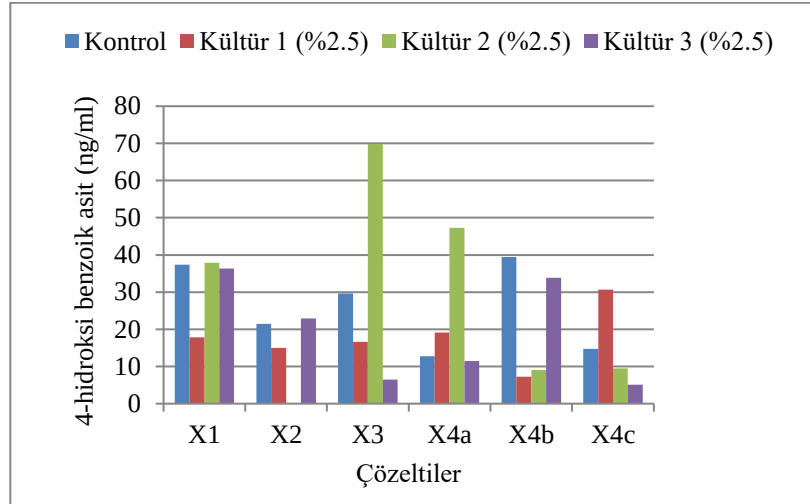
Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kontrol grubu ve kültür 1 suşu arasında ($p=0,020$), kontrol grubu ve kültür 3 suşu arasında ($p=0,009$) anlamlı

farklar tespit edilmiştir. X1 çözücüsü ve X3 çözücüsü arasında ($p=0,026$) anlamlı farklar tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve %1,5 inokülüm oranı arasında ($p=0,017$), kontrol grubu ve %3,5 inokülüm oranı arasında ($p=0,009$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.



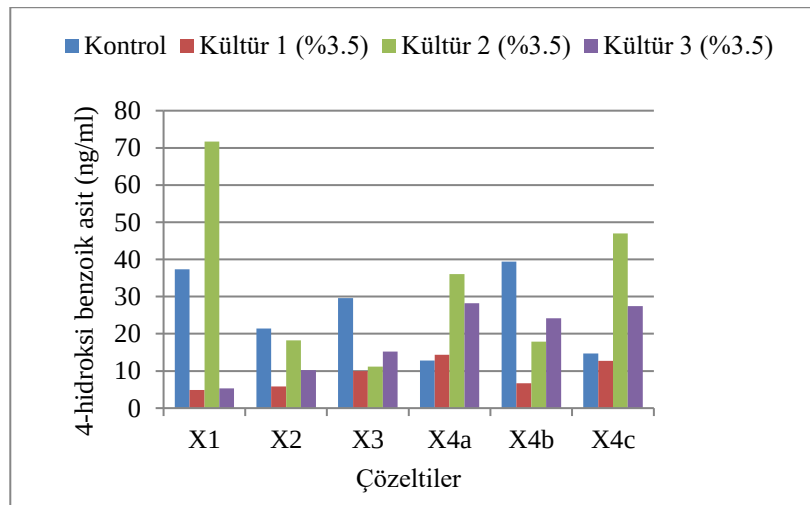
Şekil 4. 70. Propolisin, farklı kültürler ile %1,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözücülerin 4-hidroksi benzoik aside etkisi

Şekil 4.70’te %1,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı 4-hidroksi benzoik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 73,30 ng/mL ile en yüksek 4-hidroksi benzoik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 3 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 1,26 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X3’ün kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X4b kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla 4-hidroksi benzoik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 71. Propolisin, farklı kültürler ile %2,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerin 4-hidroksi benzoik aside etkisi

Şekil 4.71’de %2,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözümler ve ultrasonik uygulamaya bağlı 4-hidroksi benzoik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 69,84 ng/mL ile en yüksek 4-hidroksi benzoik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözümleri olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 0,2 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözümleri olarak X2’nin kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözümleri olarak X4b kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla 4-hidroksi benzoik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 72. Propolisin, farklı kültürler ile %3,5 inokülüm oranı ile biyotransformasyonunda kullanılan çözümlerin 4-hidroksi benzoik aside etkisi

Şekil 4.72’de %3,5 inokülüm oranları ile farklı kültürler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonun ve kültür içermeyen kontrol grubu örneklerinin, farklı çözücüler ve ultrasonik uygulamaya bağlı 4-hidroksi benzoik asit içeriğindeki değişimi göstermektedir. 71,70 ng/mL ile en yüksek 4-hidroksi benzoik asit miktarına sahip örnek biyotransformasyonda kültür 2 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnek iken en düşük değer 4,90 ng/mL olarak biyotransformasyonda kültür 1 suşunun ve çözücü olarak X1’in kullanıldığı ultrasonik uygulama uygulanmayan örnekte saptanmıştır. Çözücü olarak X2, X3 ve X4b kullanılan örneklerde tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla 4-hidroksi benzoik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çözücü olarak X4a kullanılan tüm kültür gruplarında, kontrol grubu örneklerine kıyasla 4-hidroksi benzoik asit miktarının arttığı tespit edilmiştir.

4-hidroksi benzoik asit ile kafeik asit ($r=0,43$), kuersetin ($r=0,30$), parakumarik asit ($r=0,26$), vanilik asit ($r=0,29$), elajik asit ($r=0,40$), naringenin ($r=0,42$), trans-sinamik asit ($r=0,39$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Elde edilen verilere LSD testi uygulanmıştır. Kültür 1 suşu ve kültür 3 suşu arasında ($p=0,019$) anlamlı farklar tespit edilmiştir.

Propolisin ekstraksiyonunda seçilen ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan çözücüler kritik bir öneme sahiptir. Çözücü olarak en yaygın kullanılan etanol dışında duyuşal açıdan getirdiğı bazı sınırlamalar nedeniyle etanolik olmayan çözücü kullanımı tercih edilmektedir. (Kubiliene et al., 2015; Pietta et al., 2002). Ancak etanole alternatif olarak su kullanımının biyoaktif maddelerin miktarını azalttığı rapor edilmiştir (Mello et al. 2010; Moura et al. 2011). Kubiliene et al., (2015), propolisin polietilen glikol ile ekstraksiyonunda toplam fenolik bileşik içeriğinin artmasına katkı sağladığını belirtmişlerdir. Çalışmada her bir fenolik bileşen üzerinde kullanılan etanol, polietilen glikol ve su çözümlerinin farklı etkileri olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılan kültürler, inokülasyon oranı ve ultrason uygulamasına göre değişmekle beraber, kafeik asit (1741,32 ng/mL) , ferulik asit (7007,14 ng/mL), DMAE kafeik asit (1743,53 ng/mL), CAPE (1474,32 ng/mL), klorojenik asit (226,16 ng/mL), pelargonin (389,10 ng/mL), epikateşin (3,5 ng/mL), salisilik asit (16,88 ng/mL) ve prokatekuik asitin (6,05 ng/mL) en yüksek değerlerine çözücü olarak su kullanıldığında; kaemferol (1301,23 ng/mL), kuersetin (871,07 ng/mL), rutin (22,39), parakumarik asit (803,37 ng/mL), vanilik asit (337,11 ng/mL), elajik asit (157,44 ng/mL), naringenin (157,44 ng/mL), trans-sinamik asit (464,60 ng/mL),

mirisetin (921,86 ng/mL) ve 4-hidroksi benzoik asitin (73,30 ng/mL) en yüksek değerlerine çözücü olarak etanol kullanıldığında; mirisetinin (6,49 ng/mL) ise en yüksek değerine çözücü olarak polietilen glikol kullanımında ulaşılmıştır.

Trusheva et al. (2007), çözücü olarak etanol kullanarak, 300 W ultrason-destekli ekstraksiyonun farklı çözücü propolis oranlarında toplam fenolik bileşik miktarı üzerine başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Yeo ve ark., ultrason-destekli ekstraksiyonda, daha az enerji harcanarak dolayısıyla propolisin ısıdan daha az etkileneceğini vurgulamışlardır. Ayrıca ultrason-destekli ekstraksiyonun uzun bir endüstriyel geçmişi olduğu için daha kolay uygulanabileceğini rapor etmişlerdir (Yeo et al., 2015). Çalışmada her bir fenolik bileşen üzerinde 5 dk, 10 dk ve 15 dk süre ile uygulanan 300 W ultrason uygulamasının farklı etkilileri olduğu tespit edilmiştir. Özellikle 5 dk uygulanan ultrason uygulamasında çoğu fenolik bileşende en iyi sonuçlara ulaşılmıştır. Elde edilen sonuçlar sadece ultrason uygulamasının etkisinin görülmesinin amacıyla kullanılan kültürlerden bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Tüm ultrason uygulama sürelerinde kafeik asit, kaemferol, ferulik asit, parakumarik asit, DMAE kafeik asit, CAPE, elajik asit, naringenin, pelargonin, trans-sinamik asit, gentisik asit ve prokatekuik bileşiklerinin miktarı artmıştır ancak en iyi sonuçlara 5 dk ultrason uygulama süresi ile ulaşılmıştır. Ultrason uygulama süresi arttığında bu bileşiklerin değerlerinin 5 dk ultrason uygulamasına göre azaldığı tespit edilmiştir. Rutin, klorojenik asit ve mirisetin bileşiklerinde ise ultrason uygulaması bileşiklerin değerlerinin azalmasına neden olarak olumsuz bir etki yaratmıştır. Kuersetin, epikateşin ve salisilik asit bileşiklerinde sadece 5 dk ultrason uygulaması olumlu bir etki yaratmıştır, ultrason uygulama süresi arttığında ise ultrason uygulanmayan örneklerle kıyasla bileşiklerin değerleri azalmıştır. Vanilik asit ve 4-hidroksi benzoik asitte ise en iyi sonuçlara 10 dk süre ile uygulanan ultrasonda ulaşılmıştır.

Gardana ve et al. (2012), *Lactobacillus helveticus* 'un propolisteki kafeik asit ve sinamik asit esterleri miktarını azalttığını rapor etmiştir. Yıldırım ve ark. (2018), *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 suşunun ise kafeik asit ve sinamik asit esterleri dışındaki fenolik bileşiklerin miktarının azaltılmasında daha etkili olduğunu vurgulamışlardır. DMAE kafeik asit, CAPE ve prokatekuik asitte ise en yüksek değerlere kültür kullanılmayan kontrol grubu örneklerinde ulaşılmıştır. Kafeik asit esterleri arasında yer alan DMAE kafeik asit ve CAPE bileşenlerinin azalmasında laktik asit bakterilerinin etkili olduğu ortaya çıkmıştır, sonuçlar önceki çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. Her bir fenolik bileşen üzerinde biyotransformasyonda *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2, *Lactobacillus plantarum*

ATCC® 8014 ve *Lactobacillus plantarum* Visbyvac şuşlarının ve inokülüm oranlarının farklı etkileri olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılan çözücüler ve ultrason uygulamasına göre değışmekle beraber kaemferol, kuersetin, paramkumarik asit ve elajik asitin en yüksek değerlerine *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2 suşunun %1,5 inokülüm oranında; rutin ve gentisik asitte ise %2,5 oranında kullanılmasıyla ulaşılmıştır. Biyotransformasyonda *Lactobacillus plantarum* *ATCC® 8014* suşunun %1,5 oranında kullanılması ile epikateşin ve salisilik asitte; %2,5 oranında kullanılması ile kafeik asit, trans-sinamik asit ve mirisetinde ve %3,5 oranında kullanılması ile klorojenik asitte en yüksek değerlere ulaşılmıştır. Biyotransformasyonda *Lactobacillus plantarum* Visbyvac suşunun %1,5 oranında kullanılması ile 4-hidroksi benzoik asitte ve %2,5 oranında kullanılması ile vanilik asit, naringenin ve pelargonin bileşiklerinde en yüksek değerlere ulaşılmıştır.

5. GENEL SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, propolisteki fenolik bileşikler üzerine farklı çözücülerin (etanol, polietilen glikol ve su); farklı inokülüm oranlarının (%1,5, %2,5, %3,5); farklı kültürlerin (*Lactobacillus plantarum* İŞLG-2, *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 ve *Lactobacillus plantarum* Visbyvac) ve ultrason uygulamasının (5 dk, 10 dk ve 15 dk) etkileri değerlendirilmiştir.

Fenolik bileşenler üzerinde biyotransformasyonda kullanılan *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2, *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 ve *Lactobacillus plantarum* Visbyvac şuşlarının ve farklı inokülüm oranlarının farklı etkileri olduğu tespit edilmiştir. *Lactobacillus plantarum* İŞLG-2 şuşunun özellikle kaemferol, kuersetin, parakumarik asit, elajik asit, rutin ve gentisik asitte; *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 şuşunun epikateşin, salisilik asit, kafeik asit, trans-sinamik asit, mirisetin ve klorojenik asitte; *Lactobacillus plantarum* Visbyvac şuşunun ise 4-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, naringenin ve pelargonin bileşiklerine etkili olduğu tespit edilmiştir. *Lactobacillus plantarum* Visbyvac şuşunun % 1,5 inokülüm oranında ultrason uygulamasıyla birlikte kullanıldığında farklı antioksidan aktivite yöntemlerinde ve toplam fenolik bileşik miktarında artış sağlaması nedeniyle antioksidan aktivite ve toplam fenol arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Bununla birlikte biyotransformasyonda etanol, PEG ve su çözücülerinin seçiminin kritik bir öneme sahip olduğu tespit edilmiştir. Fenolik bileşik gruplarından özellikle fenolik asitlerde çözücü olarak su kullanıldığında ve flavonollerde çözücü olarak etanol kullanıldığında en yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Polietilen glikol kullanımında ise tüm kültür gruplarında ve inokülüm oranlarında üç yöntemle gerçekleşen antioksidan aktivitede artış sağlamıştır. Ayrıca ultrason-destekli ekstraksiyon kullanımının uygulama süresine göre değişmekle birlikte fenolik bileşikler üzerinde etki yarattığı sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmanın sonucunda, fenolik bileşenler üzerinde çözücülerin, kültürlerin ve ultrason uygulamasının etkileri değişmekle birlikte, farklı biyotransformasyon koşullarında kullanılan her bir parametrenin fenolik bileşenler üzerinde kalitatif olarak bir etki yarattığı görülmektedir. Biyotransformasyona tabii tutulan örnekler, kültür içermeyen kontrol grubu ile kıyaslandığında fenolik bileşiklerin miktarında farklılıklar yarattığı ortaya çıkmıştır. Bu çalışma ile laktik asit bakterilerinin kompleks fenolik bileşik içeriğe sahip olan propolis üzerinde etki ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Propolisin önemli bir kısmını oluşturan ve yararlı

biyolojik aktivite göstermesinden sorumlu olan fenolik bileşiklerin biyotransformasyonundan sonra elde edilen materyalin fenolik bileşik miktarına ve antioksidan aktivitesine göre sınıflandırılıp eczacılıkta, tıpta ve gıda endüstrisinde kullanılmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M. A., Tahir, M., Ansari, M. J., Ghramh, H. A., Adgaba, N., and Dash, C. K.,** 2018, Composition and functional properties of propolis (bee glue): a review, *Saudi Journal of Biological Sciences*, *In Press*.
- Bankova, V. S., de Castro, S. L., and Marcucci, M. C.,** 2000, Propolis: recent advances in chemistry and plant origin, *Apidologie*, 31(1), 3-15 pp.
- Bankova, V.,** 2005a, Chemical diversity of propolis and the problem of standardization, *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 114-117 pp.
- Bankova, V.,** 2005b, Recent trends and important developments in propolis research, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 29-32 pp.
- Bankova, V., Popova, M., and Trusheva, B.,** 2016, New emerging fields of application of propolis, *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 35(1), 1-11 pp.
- Banskota, A. H., Tezuka, Y., and Kadota, S.,** 2001, Recent progress in pharmacological research of propolis, *Phytotherapy Research*, 15(7), 561-571 pp.
- Barthelmebs, L., Diviés, C., and Cavin, J. F.,** 2001, Molecular characterization of the phenolic acid metabolism in the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum*, *Le Lait*, 81(1-2), 161-171 pp.
- Benzie, I. F., and Strain, J. J.,** 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76 pp.
- Blois, M. S.,** 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181(4617), 1199 pp.
- Borba, R. S., Klyczek, K. K., Mogen, K. L., and Spivak, M.,** 2015, Seasonal benefits of a natural propolis envelope to honey bee immunity and colony health, *Journal of Experimental Biology*, 218(22), 3689-3699 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Burdock, G. A.**, 1998, Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis)", *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347-363 pp.
- Castro, C., Mura, F., Valenzuela, G., Figueroa, C., Salinas, R., Zuñiga, M.C., Torres, J.L., Fuguet, E. and Delporte, C.**, 2014, Identification of phenolic compounds by HPLC-ESI-MS/MS and antioxidant activity from Chilean propolis. *Food Research International*, 64, 873-879 pp.
- Cavin, J. F., Andioc, V., Etievant, P. X., and Divies, C.**, 1993, Ability of wine lactic acid bacteria to metabolize phenol carboxylic acids, *American Journal of Enology and Viticulture*, 44(1), 76-80 pp.
- Ciafardini, G., Marsilio, V., Lanza, B., and Pozzi, N.**, 1994, Hydrolysis of oleuropein by *Lactobacillus plantarum* strains associated with olive fermentation, *Applied and Environmental Microbiology*, 60(11), 4142-4147 pp.
- Cuesta, A., Rodríguez, A., Esteban, M. A., and Meseguer, J.**, 2005, In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses, *Fish & Shellfish Immunology*, 18(1), 71-80 pp.
- Cuesta-Rubio, O., Frontana-Uribe, B. A., Ramírez-Apan, T., and Cárdenas, J.**, 2002, Polyisoprenylated benzophenones in Cuban propolis; biological activity Of Nemorosone §, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(3-4), 372-378 pp.
- Cuesta-Rubio, O., Piccinelli, A. L., and Rastrelli, L.**, 2012, Tropical propolis: recent advances in chemical components and botanical origin. Medicinal plants: Biodiversity and drugs. 1st ed. New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, 209-240 pp.
- Curiel, J. A., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Farris, G. A., Gobbetti, M., and Rizzello, C. G.**, 2015, Lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of *Myrtus communis* berries, *Microbial Cell Factories*, 14(1), 67 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- De Groot, A. C.**, 2013, Propolis: a review of properties, applications, chemical composition, contact allergy, and other adverse effects, *Dermatitis*, 24(6), 263-282 pp.
- Dündar, E., ve Yıldırım, H. K.**, Propolisin çeşitliliğine etki eden faktörler, *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 10(2), 61-66 pp.
- Escriche, I., and Juan-Borrás, M.**, 2018, Standardizing the analysis of phenolic profile in propolis, *Food Research International*, 106, 834-841 pp.
- Fritsch, C., Heinrich, V., Vogel, R.F., Toelstede S.**, 2016, Phenolic acid degradation potential and growth behavior of lactic acid bacteria in sunflower substrates, *Food Microbiology*, 57, 178-186 pp.
- Galeotti, F., Maccari, F., Fachini, A., and Volpi, N.**, 2018, Chemical composition and antioxidant activity of propolis prepared in different forms and in different solvents useful for finished products, *Foods*, 7(3), 41 pp.
- Gardana, C., and Simonetti, P.**, 2011, Evaluation of allergens in propolis by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25(11), 1675-1682 pp.
- Gardana, C., Barbieri, A., Simonetti, P., Guglielmetti S.**, 2012, Biotransformation strategy to reduce allergens in propolis, *Appl. Environ. Microbiol*, 78 ,4654–4658 pp.
- Gardana, C., Barbieri, A., Simonetti, P., Guglielmetti, S.**, 2012, Biotransformation strategy to reduce allergens in propolis, *Applied and Environmental Microbiology*, 78(13), 4654-4658 pp.
- Ghisalberti, E. L.**, 1979, Propolis: a review. *Bee world*, 60(2), 59-84 pp.
- Giada, M. D. L. R.**, 2013, Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power, in oxidative stress and chronic degenerative diseases-A role for antioxidants, *InTechOpen*, 87-112 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gury, J., Barthelmebs, L., Tran, N. P., Divies, C., and Cavin, J. F.,** 2004, Cloning, deletion, and characterization of PadR, the transcriptional repressor of the phenolic acid decarboxylase-encoding padA gene of *Lactobacillus plantarum*, *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2146-2153 pp.
- Hegazy, M.E.F., Mohamed, T.A., ElShamy, A.I., Abou-El-Hamd, H.M., Mahalel, U.A., Reda, E.H., Shaheen, A.M., Tawfik, W.A., Shahat, A.A., Shams, K.A. and Abdel-Azim, N.S.,** 2015, Microbial biotransformation as a tool for drug development based on natural products from mevalonic acid pathway: a review, *Journal of Advanced Research*, 6(1), 17-33 pp.
- Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G., and Hu, F. L.,** 2014, Recent advances in the chemical composition of propolis, *Molecules*, 19(12), 19610-19632 pp.
- Jolly, V. G.,** 1978, Propolis varnish for violins, *Bee World*, 59(4), 158-161 pp.
- Kachouri, F., and Hamdi, M.,** 2004, Enhancement of polyphenols in olive oil by contact with fermented olive mill wastewater by *Lactobacillus plantarum*, *Process Biochemistry*, 39(7), 841-845 pp.
- Ketel, W. V., and Bruynzeel, D. P.,** 1992, Occupational dermatitis in an accordion repairer, *Contact Dermatitis*, 27(3), 186-207 pp.
- Krell, R.,** 1996, Value-added products from beekeeping, *Food & Agriculture Organization*, 124.
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., Kubilius, R., Kasparaviciene, G., and Savickas, A.,** 2015, Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 156 pp.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., and Popov, S.,** 1999, Antibacterial, antifungal and antiviral activity of

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

propolis of different geographic origin, *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), 235-240 pp.

Kumova, U., Korkmaz, A., Avci, B. C., and Ceyran, G., 2002, Propolis: an important bee product, *Uludag Bee Journal*, 2, 10-24 pp.

Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., and Krol, W., 2013, Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.

Kutluca, S., Genç, F., ve Korkmaz, A., 2006, Propolis. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi, Samsun, 57 s.

Madeira Junior, J. V., Teixeira, C. B., and Macedo, G. A., 2015, Biotransformation and bioconversion of phenolic compounds obtainment: an overview, *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1), 75-81 pp.

Marcucci, M. C., 1999, Chemical Composition, Plant Origin and Biological Activity of Brazilian Propolis”, *Current Topics in Phytochemistry*, 2, 115-123 pp.

Marcucci, M. C., 1995, Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2), 83-99 pp.

Martinotti, S., and Ranzato, E., 2015, Propolis: a new frontier for wound healing?, *Burns & Trauma*, 3(1), 9 pp.

Mello, B. C., Petrus, J. C. C., and Hubinger, M. D., 2010, Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration, *Journal of Food Engineering*, 96(4), 533-539 pp.

Monroy, Y. M., Rodrigues, R. A., Rodrigues, M. V., Sant’Ana, A. S., Silva, B. S., and Cabral, F. A., 2017, Brazilian green propolis extracts obtained by conventional processes and by processes at high pressure with supercritical carbon dioxide, ethanol and water, *The Journal of Supercritical Fluids*, 130, 189-197 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Monti, M., Bertt, E., Carminati, G., and Cusini, M.,** 1983, Occupational and cosmetic dermatitis from propolis, *Contact Dermatitis*, 9(2), 163-163 pp.
- Moura, S.A.L.D., Negri, G., Salatino, A., Lima, L.D.D.C., Dourado, L.P.A., Mendes, J.B., Andrade, S.P., Ferreira, M.A.N.D. and Cara, D.C.,** 2011, Aqueous extract of Brazilian green propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- Oruç, H. H., Sorucu, A., ve Aydın, L.,** 2014, Propolisin sağlık açısından önemi, kalitesinin belirlenmesi ve türkiye açısından irdelenmesi, *Uludag Bee Journal*, 14(1), 35-43 pp.
- Park, Y. K., Alencar, S. M., and Aguiar, C. L.,** 2002, Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2502-2506 pp.
- Paviani, L. C., Fiorito, G., Sacoda, P., and Cabral, F. A.,** 2013, April, Different solvents for extraction of Brazilian green propolis: Composition and extraction yield of phenolic compounds. In *III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias, Colombia*, 1-7 pp.
- Petrova, A., Popova, M., Kuzmanova, C., Tsvetkova, I., Naydenski, H., Muli, E., and Bankova, V.,** 2010, New biologically active compounds from Kenyan propolis, *Fitoterapia*, 81(6), 509-514 pp.
- Pietta, P. G., Gardana, C., and Pietta, A. M.,** 2002, Analytical methods for quality control of propolis, *Fitoterapia*, 73, 7-20 pp.
- Popova, M. P., Bankova, V. S., Bogdanov, S., Tsvetkova, I., Naydenski, C., Marcazzan, G. L., and Sabatini, A. G.,** 2007, Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin, *Apidologie*, 38(3), 306-311 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O., and Bankova, V.,** 2005, Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition, *Phytomedicine*, 12(3), 221-228 pp.
- Pulido, R., Bravo, L., and Saura-Calixto, F.,** 2000, Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3396-3402 pp.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C.,** 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237 pp.
- Rodríguez, H., Curiel, J.A., Landete, J.M., de las Rivas, B., de Felipe, F.L., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J.M. and Muñoz, R.,** 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132(2-3), pp.79-90.
- Rodríguez, H., de las Rivas, B., Gómez-Cordovés, C., and Muñoz, R.,** 2008a, Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*, *Food chemistry*, 107(2), 664-670 pp.
- Rodríguez, H., Landete, J. M., de las Rivas, B., and Muñoz, R.,** 2008b, Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748T, *Food Chemistry*, 107(4), 1393-1398 pp.
- Santos-Buelga, C., and González-Paramás, A. M.,** 2017, Phenolic composition of propolis, In *Bee Products-Chemical and Biological Properties*, Springer, Cham, 99-111 pp.
- Sforcin, J. M., and Bankova, V.,** 2011, Propolis: is there a potential for the development of new drugs?, *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 253-260 pp.
- Silici, S.,** 2010, Turkish propolis: chemical constituents, *Mellifera*, 10(19).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Silici, S., Ünlü, M. and Vardar-Ünlü, G.,** 2007, Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(12), 1797-1803 pp.
- Slinkard, K., and Singleton, V. L.,** 1977, Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55 pp.
- Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., and Bruni, A.,** 1996, Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents, *Phytotherapy Research*, 10(4), 335-336 pp.
- Trusheva, B., Popova, M., Naydenski, H., Tsvetkova, I., Rodriguez, J. G., and Bankova, V.,** 2004, New polyisoprenylated benzophenones from Venezuelan propolis, *Fitoterapia*, 75(7-8), 683-689 pp.
- Trusheva, B., Trunkova, D., and Bankova, V.,** 2007, Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study, *Chemistry Central Journal*, 1(1), 13 pp.
- TS 12910,** “Arıcılık-Arı Tutkalı (Propolis)”, [http://www.balmer.com/Files/files/dokumanlar/tse-standardi-ts-12910---ari-tutkali-propolis/TSE%20%20Standard%C4%B1%20%20Ar%C4%B1%20Tutkal%C4%B1%20\(propolis\).pdf](http://www.balmer.com/Files/files/dokumanlar/tse-standardi-ts-12910---ari-tutkali-propolis/TSE%20%20Standard%C4%B1%20%20Ar%C4%B1%20Tutkal%C4%B1%20(propolis).pdf) (2003) (Erişim tarihi:31 Mayıs.2019)
- Villano, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C.,** 2007, Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical, *Talanta*, 71(1), 230-235 pp.
- Wagh, V. D.,** 2013, Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials, *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013.
- Walker, P., and Crane, E.,** 1987, Constituents of propolis, *Apidologie*, 18(4), 327-334 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yeo, K. L., Leo, C. P., Chan, D. J. C.,** 2015, Ultrasonic enhancement on propolis extraction at varied pH and alcohol content, *Journal of Food Process Engineering*, 38(6), 562-570 pp.
- Yıldırım, H. K., Canbay, E., Öztürk, Ş., Aldemir, O., and Sözmen, E. Y.,** 2018, Biotransformation of propolis phenols by *L. plantarum* as a strategy for reduction of allergens, *Food Science and Biotechnology*, 27(6), 1727-1733 pp.



TEŞEKKÜR

Tezimin bütün aşamalarında bilgi ve deneyimini benimle paylaşan, yol gösteren ve bilimsel bakış açımın gelişmesinde çok büyük katkısı bulunan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hatice KALKAN YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Eser Y. SÖZMEN'e, Burak DURMAZ'a ve Hikmet MEMMEDOV'a teşekkür ederim. Yüksek lisans tezim boyunca desteğini esirgemeyen ve yardımlarıyla beni yönlendiren Tarık ÇAM'a ve Güler SÖZGEN'e, enerjisiyle beni sürekli motive eden, destekleyen ve bana güç veren sevgili arkadaşlarım Dicle Dilara AKPINAR'a ve Emin EMİRLEROĞLU'na teşekkür ederim. Her zaman yanımda olan ve beni destekleyen canım kardeşim Fatma DÜNDAR'a, bugünlere gelmemde bana en büyük desteği sağlayan annem Hatice DÜNDAR'a ve babam Ramazan DÜNDAR'a, her zaman yanımda olan halam Semra AKKOÇ'a teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans tezi 116Z223 nolu proje kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

23 / 08 / 2019

İmzası

Ezgi DüNDAR

ÖZGEÇMİŞ

05.07.1991 tarihinde Ankara’da doğdu. İlk ve orta öğretimini 2005 yılında Beytepe İlköğretim Okulu’nda ve lise öğretimini 2009 yılında Ayrancı Anadolu Lisesi’nde Ankara’da tamamlanmıştır. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2016 yılında mezun olmuştur. Aynı yıl Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Biyoteknoloji Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başlamıştır.

EKLER

Tablo 1. Çözücü etkisi

Variable	Analysis of Variance Marked effects are significant at $p < ,05000$						
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F
Kafeik asit(ng/ml)	2235834	2	1117917	11259157	57	197529	5,65951
Kaemferol (ng/ml)	551470	2	275735	3081554	57	54062	5,10031
Ferulik Asit (ng/ml)	41500571	2	20750286	114158031	57	2002772	10,36078
Quercetin(ng/ml)	136880	2	68440	1877224	57	32934	2,07811
Rutin (ng/ml)	9	2	5	831	57	15	0,31347
Parakumarik asit(ng/ml)	375163	2	187581	1470844	57	25804	7,26939
Vanilik Asit (ng/ml)	17703	2	8851	264802	57	4646	1,90529
DMAE-Kafeik asit (ng/ml)	1439405	2	719703	4914313	57	86216	8,34767
CAPE	1615775	2	807887	3543249	56	63272	12,76842
Klorojenik Asit (ng/ml)	21969	2	10984	82733	57	1451	7,56776
Ellagic Asit(ng/ml)	7054	2	3527	57746	57	1013	3,48131
Naringenin (ng /ml)	36403	2	18201	112878	57	1980	9,19114
Pelargonin (ng/ml)	1232	2	616	193244	57	3390	0,18174
Epikateşin (ng ml)	2	2	1	46	57	1	0,94000
Salisilik Asit (ng/ml)	10	2	5	932	57	16	0,31785
trans sinamik asit(ng/ml)	126550	2	63275	768875	57	13489	4,69085
Gentisik Asit (ng/ml)	5	2	2	72	57	1	1,85830
Prokatekoik asit(ng/ml)	6	2	3	82	57	1	2,22775
Mirisetin (ng/ml)	151119	2	75560	1515700	57	26591	2,84152
4-Hidroksi Benzoik Asit(ng/ml)	1060	2	530	17447	57	306	1,73220

Tablo 2. İnokülüm etkisi

Variable	Analysis of Variance Marked effects are significant at $p < ,05000$						
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F
Kafeik asit(ng/ml)	578346	3	192782	12916646	56	230654	0,835805
Kaemferol (ng/ml)	366476	3	122159	3266548	56	58331	2,094223
Ferulik Asit (ng/ml)	16209727	3	5403242	139448874	56	2490158	2,169839
Quercetin(ng/ml)	189419	3	63140	1824684	56	32584	1,937775
Rutin (ng/ml)	106	3	35	734	56	13	2,691295
Parakumarik asit(ng/ml)	64805	3	21602	1781201	56	31807	0,679142
Vanilik Asit (ng/ml)	44036	3	14679	238468	56	4258	3,447021
DMAE-Kafeik asit (ng/ml)	1127372	3	375791	5226346	56	93328	4,026575
CAPE	703018	3	234339	4456005	55	81018	2,892425
Klorojenik Asit (ng/ml)	5486	3	1829	99215	56	1772	1,032221
Ellagic Asit(ng/ml)	5851	3	1950	58949	56	1053	1,852755
Naringenin (ng /ml)	5264	3	1755	144018	56	2572	0,682222
Pelargonin (ng/ml)	242	3	81	194234	56	3468	0,023289
Epikateşin (ng ml)	3	3	1	45	56	1	1,085386
Salisilik Asit (ng/ml)	76	3	25	866	56	15	1,644820
trans sinamik asit(ng/ml)	24836	3	8279	870589	56	15546	0,532511
Gentisik Asit (ng/ml)	5	3	2	72	56	1	1,276108
Prokatekoik asit(ng/ml)	6	3	2	83	56	1	1,314244
Mirisetin (ng/ml)	200295	3	66765	1466524	56	26188	2,549460
4-Hidroksi Benzoik Asit(ng/ml)	499	3	166	18008	56	322	0,517485