

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRESİ EKLENMİŞ  
ZEYTİNYAĞI BAZLI PROPOLİSİN  
BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan  
Gül ÇELEBİ**

**Danışman  
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2023  
KAYSERİ**



**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRESİ EKLENMİŞ  
ZEYTİNYAĞI BAZLI PROPOLİSİN  
BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ  
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Gül ÇELEBİ**

**Danışman  
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ**

**Ocak 2023  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Gül ÇELEBİ

İmza

İmza

**“Zeytin Yaprağı Ekstresi Eklenmiş Zeytinyağı Bazlı Propolisin Biyoaktivitesinin Belirlenmesi”** adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Hazırlayan**

Gül ÇELEBİ

İmza

**Danışman**

Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

İmza

**Tarımsal Biyoteknoloji ABD Başkanı**

Prof. Dr. Semih YILMAZ

İmza

## TEŞEKKÜR

Bana çalıŐmalarım sűresince her tűrlű yardımı ve fedakârlığı sađlayan, danıŐman hocam sayın Prof. Dr. Sibel SİLİCİ' ye sonsuz teŐekkűrlerimi sunarım. Ayrıca ArŐ. Gör. Ahmet SAY' a tez boyunca verdiđi desteklerine ve her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz teŐekkűrű bir borç bilirim. Bu alıŐmayı FLY-2020-10714 kodu ile maddi olarak destekleyen Erciyes Őniversitesi Bilimsel AraŐtırma Projesi Birimi'ne teŐekkűrlerimi sunarım.

Gűl ÇELEBİ

Ocak 2023, KAYSERİ

# ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRESİ EKLENMİŞ ZEYTİNYAĞI BAZLI PROPOLİSİN BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Gül ÇELEBİ

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2023  
Danışman: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

## ÖZET

Propolis çok sayıda aktif bileşen içermesi ve bu nedenle faydalı biyolojik özellikleriyle öne çıkan popüler bir arı ürünüdür. Günümüze kadar propolisin ekstraksiyonunda farklı çözücüler kullanılmıştır. Bu çözücülerden biri de bitkisel yağlardır. Bitkisel yağlar içerisinde zeytinyağı yüksek biyoaktivitesi ile diğer bitkisel yağlardan öne çıkmaktadır. Bu çalışmada, zeytin yaprağı ekstresi eklenmiş zeytinyağı bazlı propolisin biyoaktivitesi araştırılmıştır. Araştırmada farklı coğrafik orijinli zeytin ağacı yaprakları (*Olea europea* L.) çalışmaya dahil edilmiştir. Uygun şekilde kurutulmuş yapraklar özüt haline getirilerek farklı konsantrasyonlarda zeytinyağı bazlı propolise ilave edilip homojenize edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda zeytinyaprağı eklenmiş zeytinyağı bazlı propolisin toplam fenolik madde miktarı (Folin Ciocalteu metodu), antioksidan (fosfomolibdenum metodu) ve antiradikal (DPPH metodu) aktivitesi analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; en yüksek toplam fenolik madde içeriği %50 konsantrasyonda Bursa (Gemlik ve Trilye) örneklerinde sırasıyla 101.26 mgGAE/ml, 107.83 mgGAE/ml değerleri olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde antioksidan aktivite ve antiradikal aktivitede önemli oranda artış belirlenmiştir. Diğer zeytin yaprağı özütleri eklenen propolis örneklerinin toplam fenolik madde içeriği zeytinyağı bazlı propolise yakın bulunmuştur. Alkol ve kimyasal çözücüler yerine tercih edilen zeytinyağı bazlı propolisin biyoaktivitesinin zeytinyaprağı ekstresi ile artırılacağı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Propolis, zeytin yaprağı, zeytinyağı, biyoaktivite

# DETERMINATION OF THE BIOACTIVITY OF OLIVE OIL BASED PROPOLIS WITH ADDED OLIVE LEAF EXTRACT

Gül ÇELEBİ

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master Thesis, January 2023

Supervisor: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

## ABSTRACT

Propolis is a popular bee product that stands out with its beneficial biological properties and contains many active ingredients. Until today, different solvents have been used in the extraction of propolis. One of these solvents is vegetable oils. Among vegetable oils, olive oil stands out from other vegetable oils with its high bioactivity.

In this study, the bioactivity of olive leaf extract added olive oil-based propolis was investigated. Olive tree leaves (*Olea europea* L.) of different geographical origin were included in the study. Appropriately dried leaves were extracted and added to olive oil-based propolis at different concentrations and homogenized. The total phenolic content (Folin Ciocalteu method), antioxidant (phosphomolybdenum method) and antiradical (DPPH method) activity of olive oil-based propolis with olive leaf added at different concentrations were analyzed. According to the results obtained; The highest total phenolic content was determined to be 101.26 mgGAE/ml and 107.83 mgGAE/ml, respectively, in Bursa (Gemlik and Trilye) samples at 50% concentration. Similarly, a significant increase in antioxidant activity and antiradical activity was determined. The total phenolic content of propolis samples added to other olive leaf extracts was found to be close to olive oil-based propolis. It was concluded that the bioactivity of olive oil-based propolis, which is preferred instead of alcohol and chemical solvents, can be increased with olive leaf extract.

**Keywords:** Propolis, olive leaf, olive oil, bioactivity

## İÇİNDEKİLER

### ZEYTİN YAPRAĞI EKSTRESİ EKLENMİŞ ZEYTİNYAĞI BAZLI PROPOLİSİN BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
KABUL VE ONAY .....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
KISALTMALAR .....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xiii
GİRİŞ .....	1

## 1. BÖLÜM3

### GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI3

1.1. Zeytin.....	3
1.1.1. Zeytin Yan Ürünleri.....	3
1.1.2. Zeytin Yaprağı.....	4
1.1.3. Zeytin Yaprağı Ekstresinin Biyoaktivitesi.....	4
1.1.4. Zeytinyağının Fenolik Bileşik İçeriği .....	6
1.1.5. Zeytinde Yer alan Diğer Biyoaktif Bileşenler.....	6
1.2. Propolis .....	8
1.2.1. Propolis Ekstratları.....	8
1.2.2. Propolis Tipleri ve Biyoaktiviteleri.....	9
1.2.3. Propoliste Yer Alan Ürünlerin Biyoaktivitesi .....	9
1.2.4. Zeytinyağı Bazlı Propolisin Biyoaktivitesi.....	12

## 2. BÖLÜM15

### YÖNTEM VE MATERYAL15

2.1. Örneklerin Temini .....	15
2.2. Reaktifler ve Standartlar.....	15
2.3. Zeytin Yapraklarının Ekstraksiyonu .....	15

2.4 Zeytinyaprağı Özütü Eklenmiş Zeytinyağı Bazlı Propolis Örneklerinin Toplam Fenolik Madde İçeriği.....	16
2.5. Propolisin Antioksidan Aktivitesi.....	17
2.6. Propolisin Antiradikal Aktivitesi.....	17
2.7. İstatistiksel Analiz.....	18

### 3. BÖLÜM19

#### BULGULAR19

3.1. Örneklerin Fenolik Madde içeriği.....	19
3.2. Örneklerin Antioksidan Aktivitesi.....	21
3.3. Örneklerin Antiradikal Aktivitesi.....	23

### 4. BÖLÜM25

#### TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER25

4.1. Tartışma.....	25
4.2. Sonuç ve Öneriler.....	28
KAYNAKÇA.....	30
ÖZGEÇMİŞ.....	44

<b>A1</b>	: Propolis Zeytinyağı Ekstratı
<b>A2</b>	: Propolis Polietilenglikol Zeytinyağı ve Su Ekstratı
<b>ANOVA</b>	: Varyans Analizi
<b>API</b>	: Aktif Farmasötik Bileşen
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>BAP</b>	: Bilimsel Araştırma Projeleri
<b>CAPE</b>	: Kafeik Asit Fenetil Ester
<b>COX-2</b>	: Siklooksijenaz-2
<b>EEP</b>	: Etanolik Olmayan Propolis Ekstraktları
<b>FAB</b>	: Yağ Asidi Biyosentezi
<b>GAE</b>	: Gallik Asit Kalibrasyon Kırvesi
<b>HL-60</b>	: Akut Promyelositik Lösemi Hücre Hattı
<b>HPLC</b>	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>IL-<math>\beta</math></b>	: İnterlökin $\beta$
<b>MAPK</b>	: Protein Kinaz
<b>MMP-10</b>	: Matriks Metalloproteinaz-10
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nükleer Faktör Kappa B
<b>OEP</b>	: Propolis Yağı Ekstratı
<b>P13K/Akt</b>	: Meme Kanseri Hücre Dizini
<b>PEG</b>	: Perkütan Endoskopik Gastrostomi
<b>PI3K/Akt/mTOR</b>	: Fosfoinosid 3-kinaz
<b>PKC</b>	: Protein Kinaz C
<b>SGC-7901</b>	: İnsan Mide Kanseri Hücre Hattı
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SPSS 11.0</b>	: İstatistiksel Yazılım Paketi
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekroz Faktörü $\alpha$
<b>W1</b>	: Propolis Su Ekstratı

**W2** : Propolis Polietilenglikol ve Su Ekstratı



## TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çeşitli zeytin ağaçlarından elde edilen ekstraktlarda bulunan, fenol, flavonoid ve oleuropein oranları.....	4
Tablo 2. Araştırmada Kullanılan Örneklerin Toplam Fenolik Madde, Antioksidan ve Antiradikal Aktiviteleri.....	20



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Oleuropeinin kimyasal yapısı .....	5
Şekil 2.	Ligstrosid aglikonun kimyasal yapısı .....	5
Şekil 3.	Aydın (Memecik) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı .....	13
Şekil 4.	Balıkesir (Gemlik) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı .....	14
Şekil 5.	Bursa (Trilye) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı .....	14
Şekil 6.	Manisa (Domat) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı.....	14
Şekil 7.	Gallik asit kalibrasyon kütvesi. Örnekler köre karşı okunmuş ve toplam fenolik madde miktarları önceden hazırlanmış gallik asit standart eğrisi kullanılarak mg/L olarak hesaplanmış, tabloda mgGAE/ml olarak ifade edilmiştir.....	16
Şekil 8.	Askorbik asit kalibrasyon kütvesi. Örneklerin antioksidan aktivitesi askorbik asit eğrisi kullanılarak mg/L olarak hesaplanmış, mgAAE/ml olarak ifade edilmiştir.....	17
Şekil 9.	ZY, PZE ve % 25 konsantrasyonda zeytinyaprağı eklenmiş örneklerin toplam fenolik madde içeriği ( $p<0.01$ ).....	20
Şekil 10.	ZY, PZE ve %50 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin toplam fenolik madde içeriği.....	21
Şekil 11.	ZY, PZE ve %25 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin antioksidan aktivitesi .....	22
Şekil 12.	ZY, PZE ve % 50 konsantrasyonda zeytinyaprağı eklenmiş örneklerin antioksidan aktivitesi ( $p<0.05$ ) .....	22
Şekil 13.	ZY, PZE ve %25 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin antiradikal aktivitesi .....	23
Şekil 14.	ZY, PZE ve % 50 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin antiradikal aktivitesi .....	24

## GİRİŞ

Günümüzde çoğu hastalığı tedavi etmek için doğal ürünlerin tercih edilmesi gündemde olduğundan doğal ürünler üzerine yapılan çalışmalar yaygınlaşmıştır. Bu doğal ürünlere örnek olarak bağışıklık sistemin uyarıcılarından olan zeytin yaprağı ekstresi ve propolis verilebilir. Zeytin yaprağı özleri, oleuropein ve polifenolik bileşikler gibi önemli bileşikler içerir. Oleuropein, anti-aritmik, spazmolitik, bağışıklık uyarıcı, kardiyoprotektif (düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu engelleyerek), hipotansif, anti-inflamatuar (5-lipoksijenaz enziminin inhibisyonundan sorumlu), hipoglisemik, antiviral, antioksidatif özelliklerinden dolayı sitostatik ve enzim modülatör etkisi bulunmaktadır. Arılar tarafından üretilen ve salgılanan balmumu ile karıştırılan yeşil-kahverengi renkte reçineli bir arı ürünü olan propolis, arıların kovanlarının yapımında, bakımında ve güvenliğinde kullandıkları çok işlevli bir bileşiktir [1]. Propolis ekstraktının 300'den fazla bileşiğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Propolis özü bileşenlerinin ana aktif maddeleri flavonoidler ve fenolik asitlerdir. Polifenolik bileşikler, probiyotik bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların büyümesini etkilemektedir [2,3,4]. Özellikle de gıda patojenlerinin ve gıdayı bozan mikroorganizmaların büyümesini önleyebilirler. Bu aktif ürünler antimikrobiyal, antienflamatuar, antialerjik ve immüno-potansiyelleştirme, vazodilatör ve antitümör etkileri gibi çok sayıda farmakolojik ve biyolojik etkiye sahiptir [5,6].

Günümüze kadar propolisin en çok kullanılan ekstraktı alkol (etil alkol) ile hazırlanmakla birlikte glikol, gliserol gibi farklı kimyasalların çözücü olarak kullanıldığı propolis ekstraktları olmuştur. Ancak çocuklar, kanser ve diyabet hastaları gibi hassas grupların bu ürünleri kullanamaması doğal çözücülerin kullanımını gündeme getirmiştir. Bu nedenle zeytinyağı tek başına önemli biyoaktivitelere sahip bir ürün iken zeytinyağı bazlı propolis sağlık için tercih edilen propolis ürünlerinden biri olmuştur. Bu araştırmada, zeytinyağı bazlı propolisin biyoaktivitesini artırmak için farklı coğrafik

orijinli zeytin ağaçlarından elde edilen zeytinyaprağı ekstrelerinin biyoaktiviteye olan etkisini belirlemek amaçlanmıştır.



## 1. BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

#### 1.1. Zeytin

Akdeniz ülkelerinde yetişen zeytin ağaçları (*Olea europaea* L.), hem yağ hem de tıbbi bileşikler üretmek için tercih edilmektedir. Son yıllarda, zeytin biyofenollerinin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri bilimsel olarak kanıtlanmıştır [7,8]. Zeytin (*Olea europaea* L.), Oleaceae familyasına ait küçük bir ağaçtır. Dünyanın tropikal ve sıcak ılıman bölgelerine özgüdür ve bilinen en eski kültür bitkilerinden biridir. Buna bağlı olarak da zeytin ağacı, zeytinyağı üretimi için elzem bir kaynak olarak Akdeniz bölgesinde ticari olarak önemlidir [9]. Zeytin ağaçları dünyada genellikle doğu Akdeniz havzasının kıyı bölgelerinde, güneydoğu Avrupa, Batı Asya, Arap Yarımadası, Hindistan ve Asya ve Kuzey Afrika'nın komşu kıyı bölgelerinde ve Hazar Denizi'nin güney ucundaki Kuzey İran'da yayılış göstermektedir [10,11].

#### 1.1.1. Zeytin Yan Ürünleri

Zeytin ağaçlarından ve zeytinyağı ekstraktlarından elde edilen yan ürünler genellikle "zeytin yan ürünleri" olarak bilinmektedir [12]. Hem zeytin ağacı yetiştiriciliği hem de zeytin işleme endüstrisinden birçok yan ürün elde edilmektedir. Ancak bunların çoğunun pratik uygulamaları bulunmamaktadır. Zeytin yaprağı, zeytinyağı endüstrilerinde kalıntı olarak bol miktarda bulunur. "Zeytin yaprağı" terimi hem zeytin ağaçlarının budanması hem de hasat ve zeytinlerin temizlenmesinden elde edilen yaprak ve dalların karışımını ifade etmektedir [12]. Zeytin yaprağı, zeytinyağı ekstraksiyonu için toplanan zeytinlerin ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır [13]. Bunların çoğu hayvan yemi olarak kullanılmakta veya budamadan sonra toplanan fazla dallar basitçe yakılmaktadır [13,14].

### 1.1.2. Zeytin Yaprağı

Zeytin yaprağı, fenolik bileşikler gibi katma değeri yüksek ürünlerin yararlı bir kaynağı olarak kullanılabilen ucuz bir hammadde olarak kabul edilmektedir [15]. Zeytin yapraklarında bulunan çok sayıda fenolik bileşik, dünya çapındaki araştırmacıların da ilgisini çekmiştir. Hayvanlar ve insanlarla yapılan birçok çalışmada, yüksek antioksidan kapasite [16,17], antihipertansif [18], kolesterol düşürücü [19], kardiyoprotektif [20], anti-inflamatuvar [21] ve tedavide yardımcı olarak birçok yararlı sağlık etkisi bildirmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktlarındaki başlıca fenolik bileşikler oleuropein, hidroksitirozol, verbascoside, apigenin-7-glikozid ve luteolin-7-glikozid'dır [22,23]. Aşağıda yer alan Tablo 1'de zeytin ağaç çeşitleri ve içeriklerinde yer alan aktif maddelerin oranları verilmiştir.

Tablo 1. Çeşitli zeytin ağaçlarından elde edilen ekstraktlarda bulunan, fenol, flavonoid ve oleuropein oranları [24]

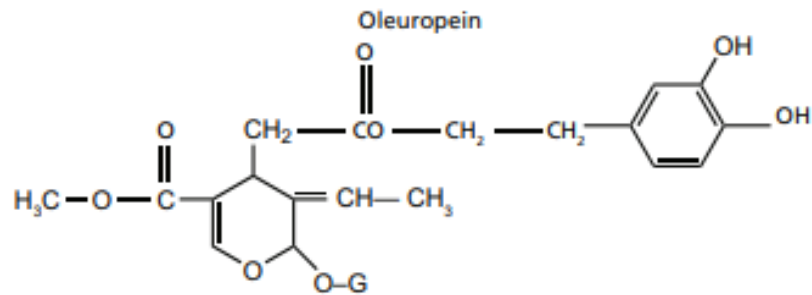
Zeytin varyeteleri	Toplam fenolik madde (mgGAE/g)	Toplam flavonoid mg/g	Oleuropein mg/g
Gerboua (Tunus)	142.21	125.64	45.02
Limouni (Tunus)	144.19	120.88	52.20
Chetoui (Tunus)	102.32	94.03	57.24
Chemlali (Tunus)	99.71	82.74	47.42
Sevillane (İspanya)	73.05	56.75	30.76
Lucques (Fransa)	106.80	97.74	52.12
Rosicola (İtalya)	91.90	76.01	48.48
Meski (İtalya)	110.03	91.32	52.63

### 1.1.3. Zeytin Yaprağı Ekstresinin Biyoaktivitesi

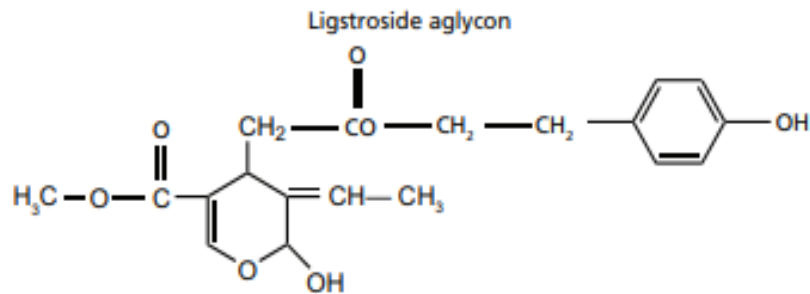
Zeytinyağının zeytin yaprağı, zeytin yaprağı ekstresi ve ana sekoiridoid bileşik (oleuropein) ile zenginleştirilmesiyle ilgili çalışmalar literatürde yer almaktadır [25]. Zeytin yaprağı ekstreleri son zamanlarda diyet ürünü olarak pazarlanmaktadır [15]. Yapılan çalışmalar, zeytin yaprağı ekstraktının hayvanlarda kan basıncını düşürme [26] ve koroner arterlerdeki kan akışını artırma [27], aritmiyi hafifletme ve bağırsak kas spazmlarını [16] önleme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca yapraklar,

biyoaktif bileşiklerin önemli ölçüde alınmasına izin vererek, infüzyonlarda kullanılabilir. Son yıllarda gıda maddelerinde, gıda katkı maddelerinde ve fonksiyonel gıda maddelerinde kullanılmak üzere zeytin yaprağı ekstraktına olan talep artmıştır [28].

Gıdaların biyoaktif bileşenleri olarak doğal antioksidanlara artan bir ilgi vardır. Meyve ve sebzelerden zengin diyetlerin kardiyovasküler hastalıklara ve bazı kanserlere karşı koruyucu etkileri kısmen antioksidanlara bağlanmıştır [16]. Oleuropeinin obezite üzerindeki etkisi, özellikle enerji metabolizması ve yağlanma ile ilgili fizyolojik ve moleküler yolun önemli modülasyonunda da incelenmiştir. Çalışmalar, zeytinyağı ekstraktlarının sağlık yararlarının, bazı fenolik bileşiklerin ve bunların oleuropein, verbascoside, ligstroside, tirosol ve hidrositrosol gibi türevlerinin biyoyararlanımı nedeniyle antioksidan özellikleriyle bağlantılı olduğunu göstermektedir [14,16,29].



Şekil 1. Oleuropeinin kimyasal yapısı



Şekil 2. Ligstrosid aglikonun kimyasal yapısı

#### 1.1.4. Zeytinyağının Fenolik Bileşik İçeriği

Zeytinyağının fenolik bileşiklerin içeriği açısından rafine edilmiş yağların önemli bir polifenol içeriğine sahip olmadığını belirtmek gerekir. Yüksek kaliteli zeytinyağının duyuusal ve antioksidan özelliklerinden sorumlu olan fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarına ilişkin veriler her zaman uyum içinde değildir. Bu yüzden uygun bir analitik metodolojinin olmaması, zeytinyağının fenolik bileşiklerinin kantitatif değerlendirmesindeki yanlışlıkların ana nedenidir. Şu anda, zeytinyağı polifenol içeriğini değerlendirmek için en yaygın yöntemlerden biri Folin–Ciocalteu kolorimetrik testi ve sıvı kromatografisidir [30]. Zeytin ve yağın kalitesi oleuropein miktarı ve hidrolitik ürünlerinden etkilenir [31]. Buna karşılık, yağın fenolik bileşik içeriği ekim yerine, iklime, çeşide ve zeytinlerin hasat anındaki olgunlaşma düzeyine bağlıdır [32,33]. Bu kuralın bazı istisnaları olsa bile, seviyeleri genellikle zeytinlerin aşırı olgunlaşmasıyla azalmaktadır [34,35].

Sıcak iklimlerde yetiştirilen zeytinler, daha hızlı olgunlaşmalarına rağmen, fenoller açısından daha zengin yağlar üretirler [36]; ayrıca zeytinyağının fenolik içeriği üretim sürecinden etkilenir. Oleuropein, hem bu formda hem de aglikon olarak zeytinyağında bulunan ana polifenoldür. Doğada zeytin ağacının meyvesinde büyüme aşamasında net ağırlığın %14'üne kadar birikir [37]; aksine zeytin yeşile döndükçe miktarı azalır. Son olarak, antosiyaninlerin varlığı nedeniyle zeytin koyu kahverengiye döndüğünde, oleuropein konsantrasyonundaki azalma daha belirgin hale gelir. Meyve olgunlaşmasının ilk aşamalarında ve yeşil çeşitlerde oleuropein içeriğinin siyah zeytine göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [38].

Zeytinyağındaki fenolik bileşiklerin konsantrasyonu, çeşitli faktörlerin karmaşık etkileşiminin bir sonucudur. Zeytinin çeşidi, olgunlaşma seviyesi, iklim ve ekstraksiyon işleminden de etkilenmektedir [38].

#### 1.1.5. Zeytinde Yer alan Diğer Biyoaktif Bileşenler

Bunlardan biri olan tokoferoller bilinen sekiz "E-vitamin"den alfa-homolog, toplam tokoferol içeriğinin %90'ını oluşturur.  $\beta$ -tokoferol,  $\delta$ -tokoferol ve  $\gamma$ -tokoferol homologları için düşük miktarlar rapor edilmiştir [9,39]. Hidroksiterpenik asitler ve triterpen dialkollerini eritrodiol ve uvaol biyoaktif bileşiklerdir. Farmakolojik

potansiyelleri için yapılan çalışmalar inflamasyon, kanser, kardiyovasküler patoloji ve vazorelaksasyona odaklanmaktadır [40,41].

Zeytin ve zeytinyağı biyoaktif maddeleri, skualen, tokoferoller, steroller ve triterpenik bileşikler gibi yağın sabunlaşmayan kısmında bulunan polar olmayan biyoaktif maddeler ve genellikle karakterize edilen polar fenolik bileşikler olarak iki kategoriye ayrılabilir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu veya katı faz ekstraksiyonu ile elde edilen fraksiyonda bulunan bileşenler “zeytinyağı polifenolleri” adlandırılırsa da polar fraksiyon bileşiklerinin çok azı polifenollerdir [42].

Polifenoller, doğrusal bir üç karbon zinciri ile birleştirilmiş iki benzen halkası içerir. Bu tanıma göre sadece apigenin ve luteolin gibi flavonoidler polifenollerdir. Ancak bu bileşikler zeytinyağında sadece eser miktarda bulunur. Zeytinyağı polar fenollerinin geri kalanı (hidroksitirozol, tirozol, hidroksitirozol ve tirozole bağlı dialdehydik dekarboksilmetil elenolik asit formları, glikozitler ve aglikonlar, lignanlar ve fenolik asitler) polifenol değildir. Polar olmayan fenoller olan başka bir fenol sınıfından, tokoferollerden farkı vurgulamak için bunları zeytinyağı biyoaktif fenolleri veya zeytinyağı polar fenolleri olarak karakterize etmek daha doğru olmaktadır [42].

Zeytinyağı, yağın stabilitesine, antioksidan kapasitesine, acılığına ve keskinliğine katkıda bulunan ve önemli biyolojik özelliklere sahip olan fenolik bileşikler de dahil olmak üzere bazı küçük bileşenler içerir. Yayınlanmış araştırma çalışmaları ve devam eden çalışmalar genişletilir ve sonuçları daha spesifik diyet önerileri yapmak için kullanılabilir. Bunlar, zeytinyağı fenolik fraksiyonunun kardiyovasküler hastalık yüküne karşı koymadaki etkinliğini dikkate alabilir. Zeytin ve zeytinyağı fenolleri üzerine araştırmaları geciktiren ana faktörlerden biri, kimyasal yapılarının önemli çeşitliliği ve karmaşıklığıdır. Bu nedenle, yeni yaklaşımlar, gıda kimyası, biyokimya, farmakoloji ve diğer biyolojik bilimler dahil olmak üzere çeşitli disiplinlerdeki geçmiş ve gelecekteki deneylerin sonuçlarını bütünleştirmeyi ve başlıca bireysel fenollerin ve diğer biyoaktif maddelerin çoğunu çeşitli kronik hastalıklara karşı yeni ajanlar olarak doğrulamayı amaçlamalıdır [43,44].

## 1.2. Propolis

Propolis, sağlığa sayısız etkisi nedeniyle eski çağlardan beri halk hekimliğinde kullanılan en bilinen bal arısı ürünlerinden biridir. Günümüzde, aktif farmasötik bileşenler (API'ler) olarak kullanılabilen çeşitli ekstraktların üretimi için başlangıç hammaddesi olarak da kullanılmaktadır. Ham propolis, bal arıları tarafından çoğunlukla farklı bitki türlerinin çiçek ve yaprak tomurcuklarından toplanan doğal ve yapışkan formda bulunan bir üründür.

Genel olarak propolis, bitki reçineleri ve uçucu yağlar, balmumu ve polenden oluşur. Propoliste tanımlanan organik bileşiklerden bazıları polifenoller, terpenler, esterler, amino asitler, vitaminler, mineraller ve şekerlerdir [45,46]. Bitki materyali, arı kovanının bölmelerine dahil edilmeden önce, özellikle tükürük olmak üzere, bal arısının sindirim sistemi ile temas ettiğinden, propolis, hayvan kaynaklı bir ürün olarak kabul edilmektedir. Bal arıları, propolisi öncelikle ahşap duvarlardaki ve kovanın diğer kısımlarındaki çatlakları kapatarak ve balmumu peteklerinin yapısını güçlendirerek bir termo izolasyon malzemesi olarak kullanılmaktadır. Ek olarak, koloni düzeyinde toplu sosyal bağışıklığın önemli bir parçasıdır [47].

Ham propolisin biyoaktif molekül profili, coğrafî ve botanik kökene, mevsime, arıların genetiğine ve çevresel faktörlere göre değişmektedir [48,49]. Toplanan propolisin kalitesi ve miktarı, bitki çeşitliliğine ve mevcudiyetine, toplama kaynağına ve süresine, arıcıların teknik ve uygulamalarına ve ayrıca çevre sağlığına bağlıdır [50,51]. Doğrudan çerçevelere ve çatı altına veya bir kovanın yan taraflarına yerleştiren özel toplayıcı tuzaklar, propolisin kirlenmeden çıkarılmasını sağlayan yaygın olarak kullanılan hasat yöntemleridir. Toplanan propolis, esnetilerek veya fırçalanarak donmuş ağlardan çıkarılır [52].

### 1.2.1. Propolis Ekstratları

Propolis ekstraktlarının kimyasal profili ayrıca ekstraksiyon solventi tipine, solvent oranına ve ekstraksiyon prosedürlerine de bağlı olacaktır. Genel olarak propoliste tanımlanmış 500'den fazla biyoaktif molekül vardır ve bunların çoğu ikincil bitki metabolitleridir [53]. Bu moleküllerin birçoğunun antioksidan, anti-inflamatuar,

antimikrobiyal, immünomodülatör, antitümör, antiülser ve yara iyileştirici etkileri bulunmaktadır [54,55].

Propolis ekstraktında yer alan aktif ürünlerden olan polifenoller oldukça çeşitli grupları vardır. Propolisin hem aktif farmasötik bileşen (API) hem de diğer potansiyel API'lerin biyolojik aktivitesi üzerine yapılan çalışmalar olsa da bu konuda hala eksik noktalar olduğu görülmüştür. Buna bağlı olarak da propolisin aktivitesi, aktif bileşiklerinin ekstraksiyonuna bağlı olmasından dolayı farmasötik araştırma ve geliştirmede uygulamaları için gerekli iyileştirmeler yapılmaya devam etmektedir [47].

### 1.2.2. Propolis Tipleri ve Biyoaktiviteleri

Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'da en bol bulunan propolis türü, kavak propolisidir. Kavak propolisi flavonlar açısından zengindir, flavanonların yanında fenolik asitler ve bunların esterleri de bulunmaktadır [48]. Rusya'dan gelen huş ağacı propolisi de flavonlar ve flavonoller açısından zengindir ancak kavak propolisinden farklı bir tiptedir [48]. Propolis kaynağına göre içerdiği aktif bileşenler değişim göstermektedir. Örneğin, Brezilya'dan gelen yeşil propolisin birincil kaynağı *Baccharis spp.*, özellikle *B. dracunculifolia*'dır. Bu tip, yeşil propolis belirteçleri olarak kullanılan artepillin C 3,5-diprenil-4-hidroksisinnamik asit; [3] ve 3-prenilsinnamik asit alil ester [4] gibi diterpenoidler ve prenile edilmiş fenilpropanoidler bakımından zengindir.

Farklı biyoaktif moleküllere sahip çok sayıda propolis türü nedeniyle botanik kökene karşılık gelen kimyasal profile uygun standardizasyon önerilmektedir [48]. Kavak tipi propolis için, kavak tipi propolis özütünün tanımlanması ve standardizasyonu için kafeik asit, ferulik asit ve esterleri gibi markör bileşikler kullanılmaktadır [47].

### 1.2.3. Propoliste Yer Alan Ürünlerin Biyoaktivitesi

Propolisin kimyasal bileşimindeki ve dolayısıyla biyolojik aktivitesindeki farklılıklar, türü ve coğrafi kökeni ile ilişkilidir. Bununla birlikte, propolis karmaşık bir karışım olmasına rağmen, esas olarak bitki kaynaklı maddelerden elde edilen flavonoidler, fenolik asitler ve eterler ana polifenol bileşikleridir [56]. Bir çoğu, kaempferol gibi, büyüme ve gelişme için gerekli 300'den fazla metalloenzimin kofaktörü olan çinkoya bağlanır ve antikanser aktiviteye sahip çok etkili radikal kompleksler oluşturmaktadır

[57]. Polifenoller, NADPH ve ksantin oksidaz [58] gibi serbest radikal üreten enzimleri inhibe eder veya süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz [59,60] gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür. Protein kinaz C (PKC) regülasyonu yoluyla birçok hastalık durumu için antioksidan aktivite ve alaka düzeyini daha fazla detaylandırmıştır [61]. Antikanser aktivitesinde polifenolün hedefi, fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)/Akt/mTOR sinyal yolunu düzenleyerek bir hücre döngüsünün meydana gelmesidir [62]. Ayrıca transkripsiyon faktörü nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) [63], siklooksijenaz-2 (COX-2), mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'ler), TNF- $\alpha$  üretimi, interlökin-1 gibi proinflamatuvar faktörleri de inhibe etmektedirler [57].

Antimikrobiyal aktiviteleri, bakterilere, virüslere ve mantarlara karşı doğrudan etkilerinden biyofilmler gibi mikrobiyal virülans faktörlerinin baskılanmasına kadar uzanır. Birçoğu, çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalara karşı çeşitli antibiyotiklerle sinerjik olarak hareket etmektedirler [64].

Propoliste yer alan flavonlardan biri olan krisinin çok sayıda farmakolojik etkisi tanımlanmaktadır. Krisin'in organ koruyucu (örn. nöroprotektif, nefroprotektif ve kardiyoprotektif) eylemlerinin temeli, redoks-aktif transkripsiyon faktörü NF- $\kappa$ B'nin baskılanmasıdır [65]. Ayrıca TNF- $\alpha$  [66] ve IL- $\beta$ 'nın azaltılması gibi antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri de bulunmaktadır. Ayrıca matriks metalloproteinaz-10 (MMP-10), epitelyalden mezenkimal geçişe ve PI3K/Akt sinyal yolunu modüle ederek insan üçlü negatif meme kanseri hücrelerinin metastatik potansiyelini de engeller [67]. Krisin'in antimikrobiyal aktivitesi araştırma odağında daha az olmasına rağmen, krisin viral replikasyonu inhibe ettiği için bir miktar potansiyeli olduğu düşünülmektedir [68]. Buna karşılık, sentetik türevleri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'da yağ asidi biyosentezini (FAB) inhibe etmektedir [69].

Propoliste yer alan flavonlardan bir diğeri olan galangin ise NF- $\kappa$ B ve PI3K/AKT sinyal yolunu inhibe ederek inflamasyonu baskılamaktadır [70,71]. Antimetastatik aktivitesine PKC/ERK sinyal yolu [72] ve ERK1/2 fosforilasyonu [73,74] aracılık etmektedir. Galangin ve kersetin (propoliste de çok bol) antiproliferatif aktivitesi, apoptozun kaspaz-8/Bid/Bax aktivasyonunu içeren mitokondriyal yol yoluyla indüklendiği insan mide kanseri hücre hattında (SGC-7901) gösterilmiştir [75]. Propolisten izole edilmiş galangin ayrıca test edilmiş ve çoklu dirençli bakterilere karşı bakterisidal aktiviteyi

ifade etmektedir. Bakterilerin sitoplazmik membranı, potasyum kaybına ve bakteri hücrelerinin agregasyonuna neden olarak bütünlüğünü bozduğu için galanginin aktivitesi için hedef bölgedir [76,77].

Brezilya propolisinin kafeik asidi ve etanolik özütü, makrofajlarda p38 MAPK, JNK1/2 ve NF- $\kappa$ B gibi LPS ile indüklenen sinyal yollarını bastırdığı görülmüştür [78].

Kökene ve bileşimi ne olursa olsun, propolis özleri antioksidan özelliği gösterse de farklı etki mekanizmaları bulunmaktadır. Brezilya kırmızı propolisinin özütü, Nrf2-ARE hücre içi antioksidan yolunu aktive ederek ROS oluşumunu ve sitotoksititeyi bastırdığı gösterilmiştir [79]. Propolis ekstraktları mayalara, mantarlara, virüslere, bakterilere ve hatta parazitlere karşı aktiftir ve *Streptococcus* ve *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. faecalis* gibi Gram pozitif bakterilere ve *Candida* türlerinin mayalarına karşı en etkili olanı olduğu gösterilmiştir [80,81]. Antimikrobiyal aktivitede genellikle bakteriyel membran geçirgenliğini artıran, membran potansiyelini bozan, ATP üretimini azaltan ve bakteriyel hareketliliği azaltan polifenoller propoliste yer almaktadır [45]. Propolisteki polifenollerin aktivitesi, fenolik bileşenlerin bir arada etkileşimleri düşünülmelidir henüz tanımlanmamış diğer bileşikler de polifenollerin aktivitesini ve stabilitesini etkileyebileceği düşünülmektedir [82,83].

Bununla birlikte propolisdeki en önemli problem içeriğindeki polifenollerin biyoyararlanımı sorunudur [84]. Biyoyararlanımı etkileyecek ilgili faktör, yapılan çalışmalara göre propolis ekstraksiyonu ve standardizasyon yöntemidir [85]. Propolise (karışım ve bileşenler) ait farmakolojik bilgi arttıkça, ekstrakt hazırlama teknolojileri de artmaktadır. İlginç bir şekilde, propolis içeriği ekstraksiyona bağlı olarak değişse de, farklı ekstraktların biyolojik aktiviteleri karşılaştırılabilmektedir. Çeşitli çözücülerde ve sıvı ve katı formlarda çözünen propolisin, aynı ham maddeden üretildiğinde benzer bir kimyasal bileşime sahip olduğunu, toplam polifenol içeriğinde farklılıklar olduğunu ancak karşılaştırılabilir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [86]. Ekstrakt kimyasal profilinin solvent oranına ve ekstraksiyon prosedürlerine bağımlılığını bildirmiştir [87]. Maserasyon en yüksek miktarda aromatik asit verirken, mikrodalga destekli ekstraksiyon en yüksek flavonoidlerin ekstraksiyonuna yol açmıştır. Bununla birlikte, bu farklılıklar antimikrobiyal aktiviteyi önemli ölçüde etkilemediği görülmüştür [87].

#### 1.2.4. Zeytinyağı Bazlı Propolisin Biyoaktivitesi

Bitkisel yağlar, apolar çözücülerdir. Bu yağlar, propolis ekstraksiyonunda apolar bölgedeki bileşenler için iyi çözücü özellikleri gösterir. Bu anlamda zeytinyağı, kanola yağı, palm yağı, soya fasulyesi yağı, keten tohumu yağı ve bazı bitkisel yağların kullanıldığı ve biyoaktivitenin farklı düzeylerde belirlendiği bilimsel çalışmalar mevcuttur [88,89]. Bitkisel yağlarda hazırlanan propolislerde de zeytinyağı başta olmak üzere bitkisel yağ ekstraktları, uçucu yağ ekstraktları, çoklu alkollerin ekstraktları (gliserol, glikol vb.) ile daha az kullanılan içeceklerde bekletme, sirke gibi ürünlerde çözme, değişik sıvı karışımlarında demleme ve/veya bütün bunların kombinasyonları mevcuttur [90].

Propolisin bitkisel yağlarda uygun yöntemlerle çözülmesi, farklı endüstrilerdeki kullanılabilirliği ve kullanılan solventin ek faydaları nedeniyle sağlık açısından oldukça önemlidir. Farklı bitkisel yağlarla ekstrakte edilen propolis antimikrobiyal, antitümöral, anksiyolitik ve antidepresan gibi biyolojik aktiviteleri bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Örneğin Brezilya propolisinin yağ ekstraktının in vitro ve in vivo antitümöral özelliklere sahip olduğunu gösteren bir çalışmada, yağ ekstraktının tümör büyümesini inhibe etmede alkol ekstraktı kadar etkili olduğu kanıtlanmıştır [72]. Benzer bir çalışma, yağ ve etanolik ekstraktların HL-60 hücrelerine karşı antiproliferatif etkisini göstermiştir [91]. Başka bir araştırmada; propolisin yağ ekstraktının (OEP) merkezi sinir sistemi üzerinde uyarıcı, anksiyolitik ve antidepresan etkileri olduğu ve bu nedenle OEP'nin anksiyete ve depresyon tedavisinde terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği önerilmiştir [92].

Zeytinyağı bazlı propolis ekstraktlarının kalitatif bileşiminin karşılaştırılması, daha düşük polariteye sahip zeytinyağı ilavesi kullanılarak daha farklı bileşiklerin ekstrakte edilebileceğini göstermektedir. PEG ilavesi ve yüksek sıcaklığın etkisi, ekstraktlardaki toplam fenolik bileşik miktarını istatistiksel olarak önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. HPLC analizi, bu yöntemin fenolik asitlerin başarılı bir şekilde ekstraksiyonuna olanak tanıdığını göstermektedir [47]. Etanolik olmayan propolis ekstraktlarının yeterli miktarda fenolik bileşiğe sahip olduğunu, ancak Brezilya propolisinin kanola ve soya fasulyesi yağı özlerinin, etanol-su özlerinden daha düşük antiradikal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [93]. Hindistan cevizi yağı ve zeytinyağı ile Endonezya Trigona

iğnesiz arı propolis özleri, etanol özlerinden daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [94].

Farklı şekilde hazırlanmış etanolik olmayan propolis ekstraktlarının radikal süpürme aktivitesi spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Birçok makalede sunulan veriler, EEP'nin radikal süpürücü aktivitesinin, polifenolik bileşiklerin, özellikle flavonoidlerin toplam içeriği ile ilişkili olduğunu göstermektedir [95,96].

Zeytinyağı ekstraktı yapımında etanol dışında solventler de kullanılmıştır. Farklı çözücüler içeren ticari propolis özleri üzerinde çalışılmış ve yağ preparasyonunun geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca gliserin solüsyonu gram-pozitif bakterilere çok az inhibisyon göstermiştir; etanol ve propilen glikol çözeltileri, mayalara karşı iyi aktivite göstermiştir [97]. Litvanya propolisinin su, gliserol, makrogol 400 (polietilen glikol 400) ile ekstraksiyonu denenmiş ve toplam fenolik madde konsantrasyonu açısından değerlendirildiğinde, en iyi neticenin sulu makrogol ve sulu makrogol artı sodyum sitrat çözeltileri olduğu gösterilmiştir [98]. Bitkisel yağların yeşil Brezilya propolisinin ekstraksiyonu için etkili olduğu ortaya çıkmış, ekstraktlar in vitro ve in vivo olarak iyi bir antitümör etki göstermiştir [99].

Tüm bunlar biyoyararlanım ve biyoaktiviteyi arttırmak için propolis ekstraksiyon teknolojisini geliştirmek ve doğrulamak için daha fazla araştırma yapılması gerektiğini göstermektedir



Şekil 3. Aydın (Memecik) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı



Şekil 4. Balıkesir (Gemlik) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı



Şekil 5. Bursa (Trilye) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı



Şekil 6. Manisa (Domat) yöresi zeytin ve zeytin yaprağı

## 2. BÖLÜM

### YÖNTEM VE MATERYAL

#### 2.1. Örneklerin Temini

Zeytin ağacının yaygın olarak yetiştirildiği 4 farklı yöreden ve 5 farklı zeytin ağacı cinsinden yapraklar toplanmıştır; Balıkesir (Gemlik), Balıkesir (Ayvalık), Manisa (Domat), Bursa (Gemlik), Bursa (Trilye), Aydın (Memecik). Örnekler temin edildikten sonra yıkanmış ve 35 °C fırında kurutma işlemi uygulanmıştır. Zeytinyağı ve zeytinyağı bazlı propolis Erciyes Teknopark'ta yer alan Nutral Therapy firmasından temin edilmiştir.

#### 2.2. Reaktifler ve Standartlar

Kimyasallar; 2,2-difenil pikrilhidrazil (DPPH), amonyum molibdat, sodyum fosfat, sülfürik asit, gallik asit, askorbik asit ve Folin-Ciocalteu reaktifleri Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) ten temin edilmiştir. Kullanılan diğer tüm kimyasallar ve solventler analitik saflıktadır.

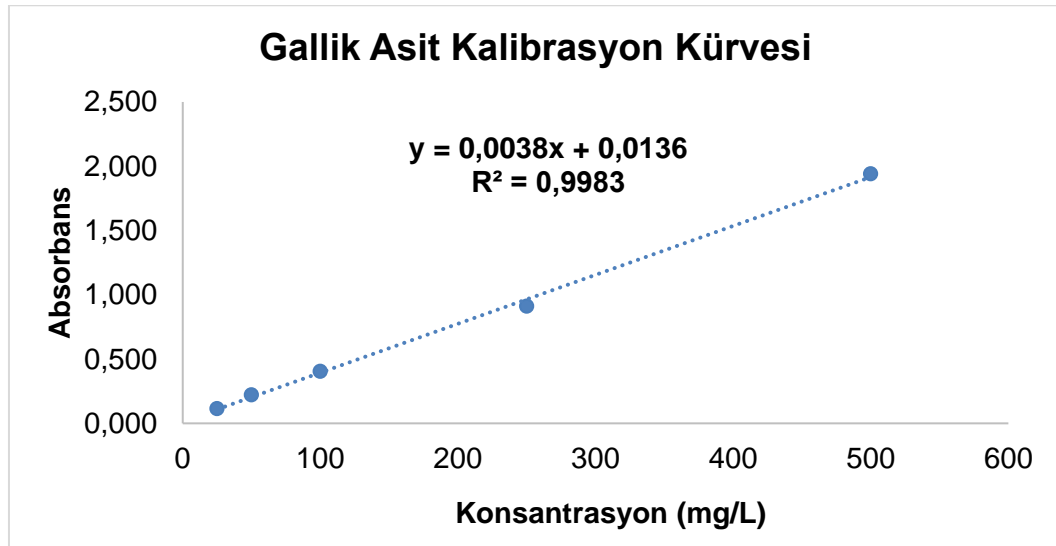
#### 2.3. Zeytin Yapraklarının Ekstraksiyonu

Zeytin yaprakları kurutulduktan sonra toz haline getirilmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon, 25 °C'de 50 Hz frekanslı bir ultrasonik banyoda gerçekleştirilmiştir. Bunun için, 500 mg kurutulmuş ve öğütülmüş yaprak ve 10 mL %80 EtOH ile bir erlenmayer şişesine ağzı kapalı bire şekilde banyoya yerleştirilmiş ve 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra karışım 5000 g'de 25 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra, süpernatant Whatman No 1 filtresinden süzölmüş ve biyokimyasal ölçümler için analiz edilene kadar -20 C'de saklanmıştır. Döner buharlaştırıcıda çözücü

uzaklaştırıldıktan sonra %25 ve %50 konsantrasyonda (25 mg/100 ml ve 50 mg/100 ml) zeytinyağı bazlı propolise homojen bir şekilde karıştırılmıştır.

#### 2.4 Zeytinyaprağı Özütü Eklenmiş Zeytinyağı Bazlı Propolis Örneklerinin Toplam Fenolik Madde İçeriği

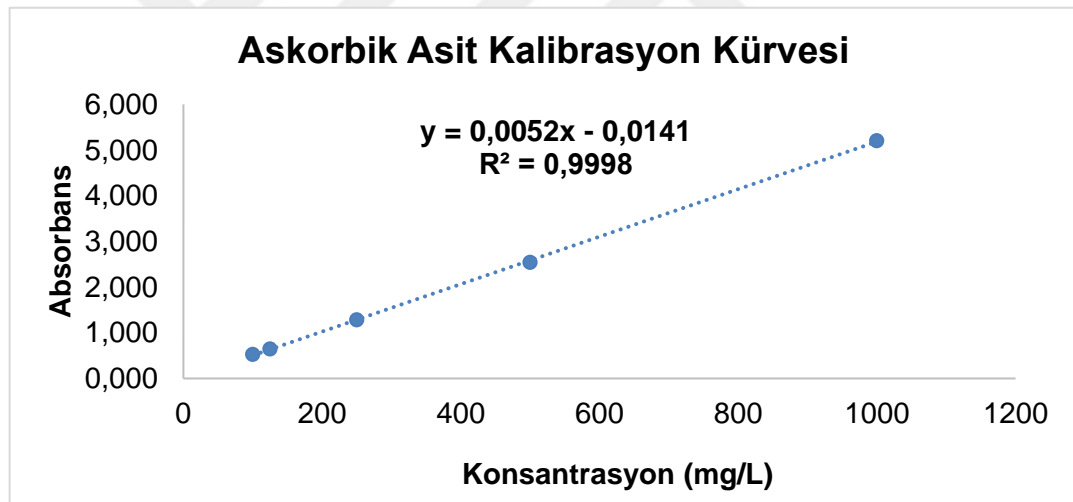
Çalışmada kullanılan propolisin toplam fenolik madde içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiş ve spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir [100]. Zeytinyağı bazlı propolisten 1 ml tartılarak, 4 mL (1:4 oranında 4 kat seyreltilmiş) metanol (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ile tamamlanmıştır. Elde edilen karışım vorteksle karıştırılarak iyi erimesi sağlanmıştır. Bu işlemlerin sonrasında hazırlanan solüsyon Whatman No. 1 (Sigma Aldrich, Darmstadt Germany) kağıdından filtre edilmiştir. Propolis örnekleriyle yapılan çalışma 5 tekrar olacak şekilde dizayn edilmiştir. 40 µL stok propolis örneği hazırlanmış ve 2400 µL distile su, 200 µL sulandırılmamış Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Darmstadt Germany) reaktifi, 600 µL sodyum karbonat (%20 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Merck Millipore KGaA, Darmstadt, Germany) eklenmiştir. İlave işlemlerin sonunda tekrar 760 µL'lik distile su ilave edilmiştir. Elde edilen çözeltinin absorbansı spektrometrede (Varian Cary, United State) 765 nm dalga boyunda okutulmuştur.



Şekil 7. Gallik asit kalibrasyon kırvesi. Örnekler köre karşı okunmuş ve toplam fenolik madde miktarları önceden hazırlanmış gallik asit standart eğrisi kullanılarak mg/L olarak hesaplanmış, tabloda mgGAE/ml olarak ifade edilmiştir.

## 2.5. Propolisin Antioksidan Aktivitesi

Örneklerinin antioksidan kapasiteleri fosfomolibden metoduyla belirlenmiştir [101]. Propolis örnekleri 1 g tartılarak üzerine 9 mL metanol eklenmiştir. Çözelti vorteks ile karıştırılarak tamamen erimesi sağlanmıştır. Daha sonrasında solüsyon Whatman No. 1 (Sigma Aldrich, Darmstadt Germany) kâğıdından filtre edilerek geçirilmiştir. Sodyum fosfat ve amonyum molibdat bir mezürde saf su yardımıyla çözdürülmüş ve üzerine tartılan sülfürik asit yavaş yavaş eklenmiştir. Stok örnekten 400 µL örnek sıvı bölüntüsü 4 ml reaktif solüsyon ile (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) karıştırılıp, standa dizilerek 95°C su banyosunda (Julabo®, Seelbach/Germany) 90 dakika boyunca bekletilmiştir. Reaksiyon suda soğutulduktan sonra elde edilen örneklerin absorbansı 695 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunmuştur.



şekil 8. Askorbik asit kalibrasyon kırvesi. Örneklerin antioksidan aktivitesi askorbik asit eğrisi kullanılarak mg/L olarak hesaplanmış, mgAAE/ml olarak ifade edilmiştir.

## 2.6. Propolisin Antiradikal Aktivitesi

Propolis ekstraktlarının serbest oksijen temizleme aktiviteleri bazı değişiklikler yapılarak DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) metodu kullanılarak belirlenmiştir [102]. Propolis numuneleri 1 g tartılmış ve 4 mL (1:4 oranında 4 kat seyreltilmiş) metanol (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ile tamamlanmıştır. Tamamlama işleminde sonra numuneler vorteks ile karıştırılarak iyice erimesii sağlanmıştır. Homojen solüsyon Whatman No. 1 (Sigma Aldrich, Darmstadt Germany) kağıdından filtre

edilerek geçirilmiştir. Propolis örneklerinin hazırlanması çalışma içerisinde 5 tekrar yapılacak şekilde planlanmıştır. DPPH reaktifinden (Sigma Aldrich, Darmstadt Germany) 0.0049 g tartılmış ve 20 mL metanol ile çözdürülmüştür. Çözme işleminden sonra tekrar metanol ile 125 ml ye tamamlanmıştır. Propolis numunelerinden 100 µL, DPPH reaktifinden ise 3900 µL alınarak karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat bekletilerek absorbsanları 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunmuştur.

## **2.7. İstatistiksel Analiz**

Araştırma sonucunda elde edilen tüm veriler için SPSS 16.0 (Statistical Package for the Social Sciences) Software paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler için Aritmetik Ortalama ( $\bar{x}$ ) verileri birbiri ile karşılaştırarak, gruplar arasında fark olup olmadığı öğrenilmek istendiği için; standart hata ( $S\bar{x}$ ) kullanılmış; değişkenlere ait veriler Shapiro-Wilk normallik testi ile belirlenip parametrik ve bağımsız değişkenlere ait veriler tek yönlü ANOVA testi ile analiz edilmiştir. Tek yönlü ANOVA testinde varyans homojenitesi gösteren bu veriler için Post-hoc Tukey testi kullanılmıştır. Bağımsız iki örneklemin karşılaştırılması için varyans homojenitesi gösteren verilerde independent-T test kullanılmıştır. Tüm istatistiksel testler için anlamlılık düzeyi  $\alpha = 0.05$  olarak belirlenmiştir.

## 3. BÖLÜM

### BULGULAR

#### 3.1. Örneklerin Fenolik Madde içeriği

Araştırmada kullanılan tüm örneklerin toplam fenolik madde içeriği 38.38-107.83 mgGAE/ml arasında değişiklik göstermiştir. % 50 konsantrasyonda zeytin yaprağı özütü eklenen propolis örnekleri ile eklenmemiş propolis ve zeytinyağı örneklerinin toplam fenolik madde içeriği arasında istatistiki olarak önemli farklılık tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Balıkesir (Gemlik ve Ayvalık), Manisa (Domat), Bursa (Gemlik ve Trilye), Aydın (Memecik) örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla  $90.83\pm 1.44$  (mgGAE/ml),  $93.76\pm 6.43$  (mgGAE/ml),  $98.33\pm 5.57$  (mgGAE/ml),  $101.26\pm 6.50$  (mgGAE/ml),  $107.83\pm 2.2$  (mgGAE/ml),  $82.60\pm 5.0$  (mgGAE/ml) olduğu tespit edilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği Bursa (Gemlik ve Trilye) örneklerinde belirlenmiştir. Diğer zeytin yaprağı özütleri eklenen propolis örneklerinin toplam fenolik madde içeriği zeytinyağı bazlı propolise yakın bulunmuştur.

Çalışmada, % 25 konsantrasyonda Balıkesir (Gemlik ve Ayvalık), Manisa (Domat), Bursa (Gemlik ve Trilye), Aydın (Memecik) örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla  $71.56\pm 5.10$  mgGAE/ml,  $64.82\pm 1.53$  mgGAE/ml,  $67.40\pm 1.92$  mgGAE/ml,  $69.80\pm 0.34$  mgGAE/ml,  $68.45\pm 0.37$  mgGAE/ml,  $64.19\pm 0.39$  mgGAE/ml olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada %25 konsantrasyonda zeytinyaprağı eklenen zeytinyağı bazlı propolis örnekleri ile zeytinyağı ve zeytinyağı bazlı propolis örneklerinin toplam fenolik madde içeriği arasında istatistiki olarak önemli farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Tablo 2. Araştırmada Kullanılan Örneklerin Toplam Fenolik Madde, Antioksidan ve Antiradikal Aktiviteleri

Örnek	Coğrafik orijin-cins	TFM (mgGAE/ml)	AOA (mgAAE/ml)	ARA (mg/ml)
Zeytinyağı	Aydın	38.38±3.56 <sup>a</sup>	36.54±1.09 <sup>a</sup>	0.92±0.18 <sup>a</sup>
PZE	Aydın	51.6±0.04 <sup>ab</sup>	37.80±0.14 <sup>a</sup>	1.06±0.05 <sup>ab</sup>
% 50				
PZE+ZYÖ1	Balıkesir (Gemlik)	90.83±1.44 <sup>bc</sup>	50.06±0.24 <sup>b</sup>	1.20±0.01 <sup>b</sup>
PZE+ZYÖ2	Balıkesir (Ayvalık)	93.76±6.43 <sup>bc</sup>	49.98±0.30 <sup>b</sup>	1.21±0.02 <sup>b</sup>
PZE+ZYÖ3	Manisa (Domat)	98.33±5.57 <sup>bc</sup>	50.19±0.16 <sup>b</sup>	1.17±0.06 <sup>b</sup>
PZE+ZYÖ4	Bursa (Gemlik)	101.26±6.50 <sup>c</sup>	50.82±1.30 <sup>b</sup>	1.09±0.02 <sup>ab</sup>
PZE+ZYÖ5	Bursa (Trilye)	107.83±2.2 <sup>c</sup>	51.35±0.89 <sup>b</sup>	1.13±0.04 <sup>ab</sup>
PZE+ZYÖ6	Aydın (Memecik)	82.60±5.0 <sup>bc</sup>	49.16±0.30 <sup>b</sup>	1.19±0.01 <sup>b</sup>
<i>p</i>		0.001	0.004	0.001
% 25				
PZE+ZYÖ1	Balıkesir (Gemlik)	71.56±5.10	44.05±2.63	1.07±0.02
PZE+ZYÖ2	Balıkesir (Ayvalık)	64.82±1.53	36.55±1.65	1.00±0.06
PZE+ZYÖ3	Manisa (Domat)	67.40±1.92	38.64±0.83	0.92±0.02
PZE+ZYÖ4	Bursa (Gemlik)	69.80±0.34	39.68±0.10	0.99±0.06
PZE+ZYÖ5	Bursa (Trilye)	68.45±0.37	38.58±1.77	1.05±0.05
PZE+ZYÖ6	Aydın (Memecik)	64.19±0.39	36.09±0.67	0.98±0.01
<i>p</i>		0.086	0.180	0.332

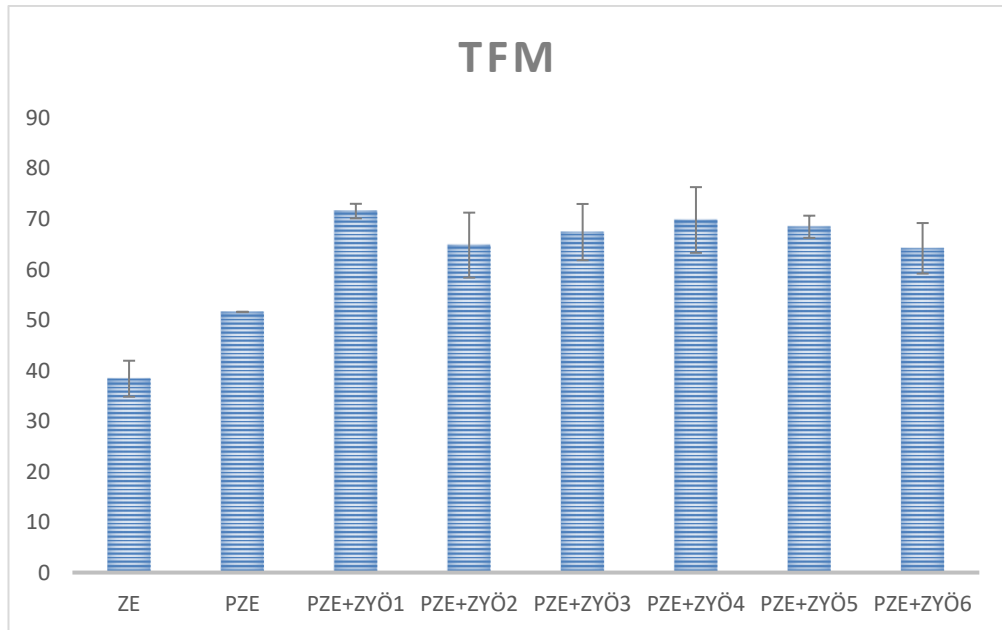
PZE: propolisin zeytinyağı ekstraktı

ZYÖ: Zeytinyağı özütü

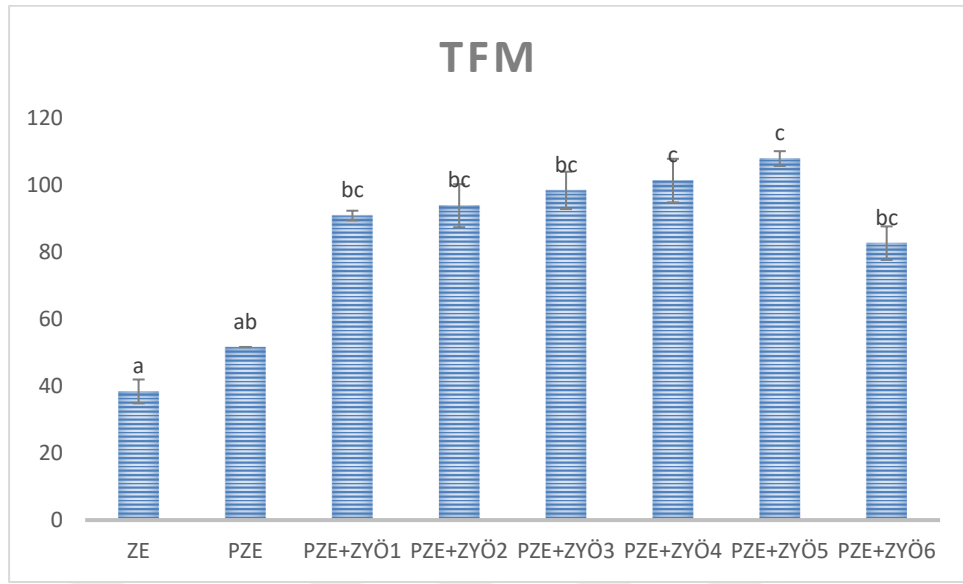
Değerler, üç tekrarın ortalama ± standart hatasıdır.

TFM: Toplam fenolik madde AOA: Antioksidan aktivite

ARA: antiradikal aktivite (DPPH inhibitör konsantrasyonu)



Şekil 9. ZY, PZE ve % 25 konsantrasyonda zeytinyağı eklenmiş örneklerin toplam fenolik madde içeriği (p<0.01)



Şekil 10. ZY, PZE ve %50 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin toplam fenolik madde içeriği

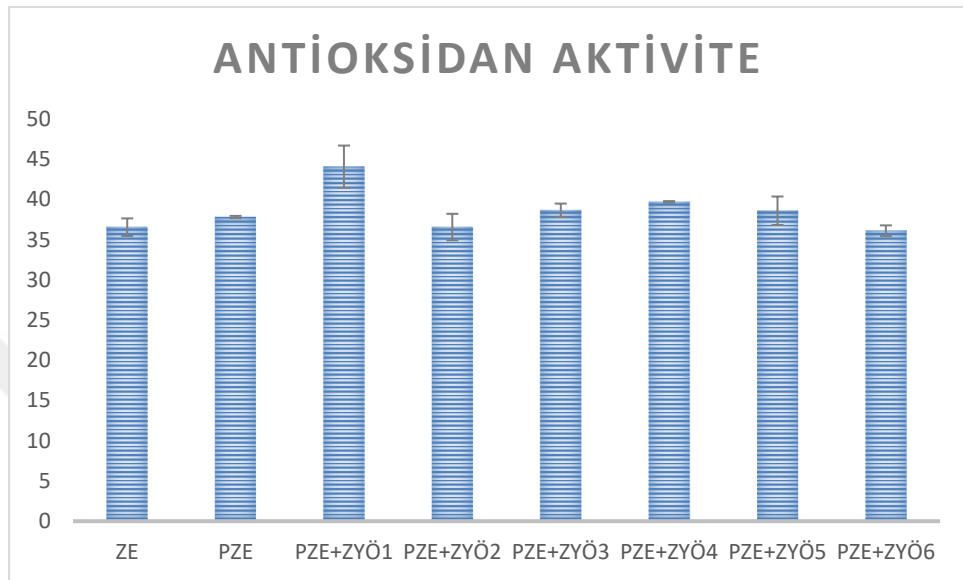
### 3.2. Örneklerin Antioksidan Aktivitesi

Çalışmamızda yer alan zeytin yapraklarında elde edilen zeytinyağ bazlı propolis örneklerinin bulunan antioksidan aktivite bulguları Tablo 2’de yer almaktadır.

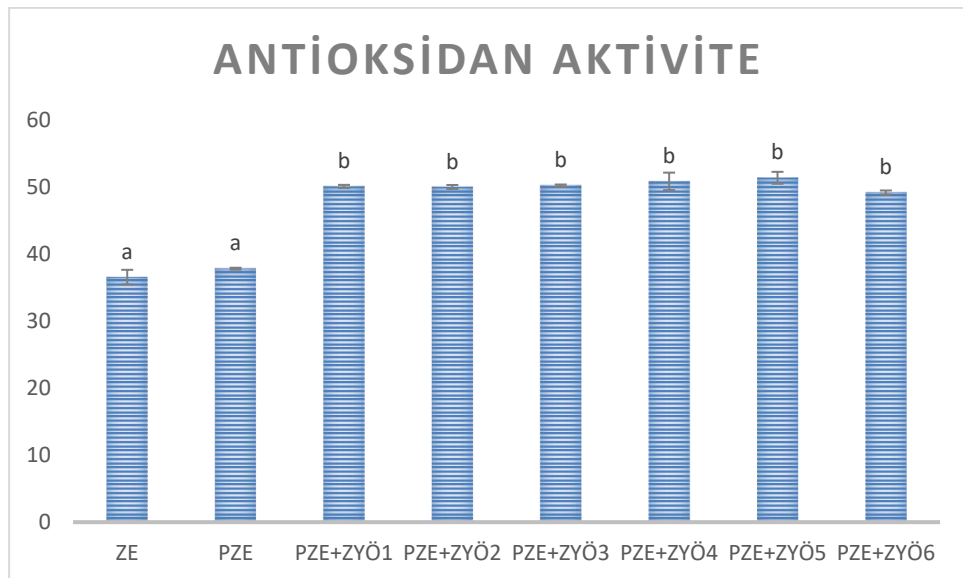
Yapılan analizde bulunan sonuçlara göre zeytin yapraklarından elde edilen özütün %25 konsantrasyon ile eklendiğinde Balıkesir (Gemlik ve Ayvalık), Manisa (Domat), Bursa (Gemlik ve Trilye), Aydın (Memecik) örneklerinin antioksidan aktivite içerikleri sırasıyla  $44.05 \pm 2.63$  mgAAE/ml,  $36.55 \pm 1.65$  mgAAE/ml,  $38.64 \pm 0.83$  mgAAE/ml,  $39.68 \pm 0.10$  mgAAE/ml,  $38.58 \pm 1.77$  mgAAE/ml,  $36.09 \pm 0.67$  mgAAE/ml olduğu tespit edilmiştir. Zeytin yapraklarından elde edilen özütün %50 konsantrasyon ile eklendiğinde ise toplam antioksidan miktarları; Balıkesir (Gemlik ve Ayvalık), Manisa (Domat), Bursa (Gemlik ve Trilye), Aydın (Memecik) örnekler sırasıyla  $50.06 \pm 0.24^b$  mgAAE/ml,  $49.98 \pm 0.30$  mgAAE/ml,  $50.19 \pm 0.16$  mgAAE/ml,  $50.82 \pm 1.30$  mgAAE/ml,  $51.35 \pm 0.89$  mgAAE/ml,  $49.16 \pm 0.30$  mgAAE/ml, olduğu belirlenmiştir.

En yüksek antioksidan aktivite %25 konsantrasyondaki Balıkesir (Gemlik)  $44.05 \pm 2.63$  mgAAE/ml ile elde edilirken, en düşük düzeydeki antioksidan aktivite ise %25 konsantrasyondaki Aydın (Memecik)  $36.09 \pm 0.67$  mgAAE/ml örneğinde tespit edilmiştir.

Zeytin yapraklarından elde edilen özüt %50 konsantrasyon ile eklendiğinde ise en yüksek antioksidan aktivite Bursa (Trilye)  $51.35 \pm 0.89$  mgAAE/ml ile elde edilirken, en düşük antioksidan aktivite Aydın (Memecik)  $49.16 \pm 0.30$  mgAAE/ml örneğinde bulunmuştur.



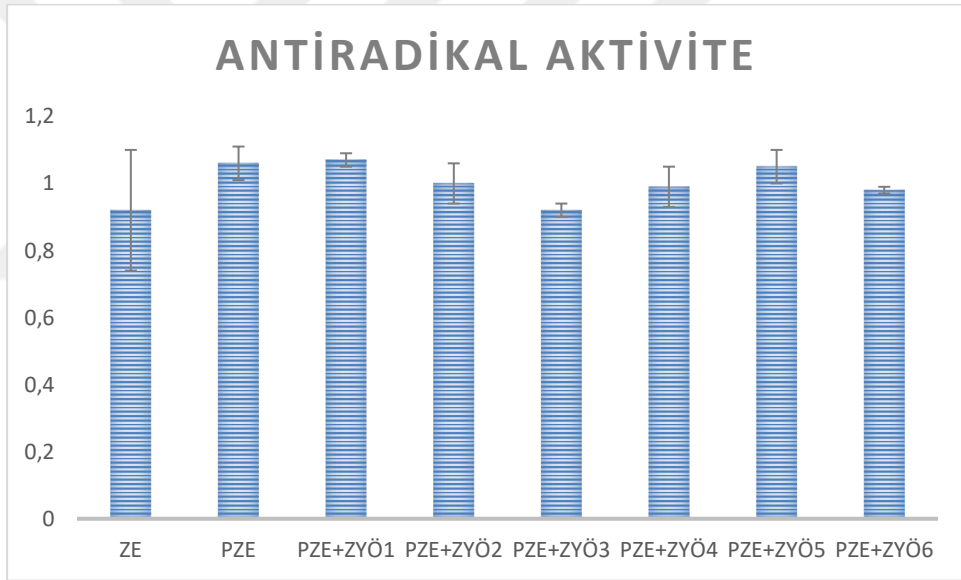
Şekil 11. ZY, PZE ve %25 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin antioksidan aktivitesi



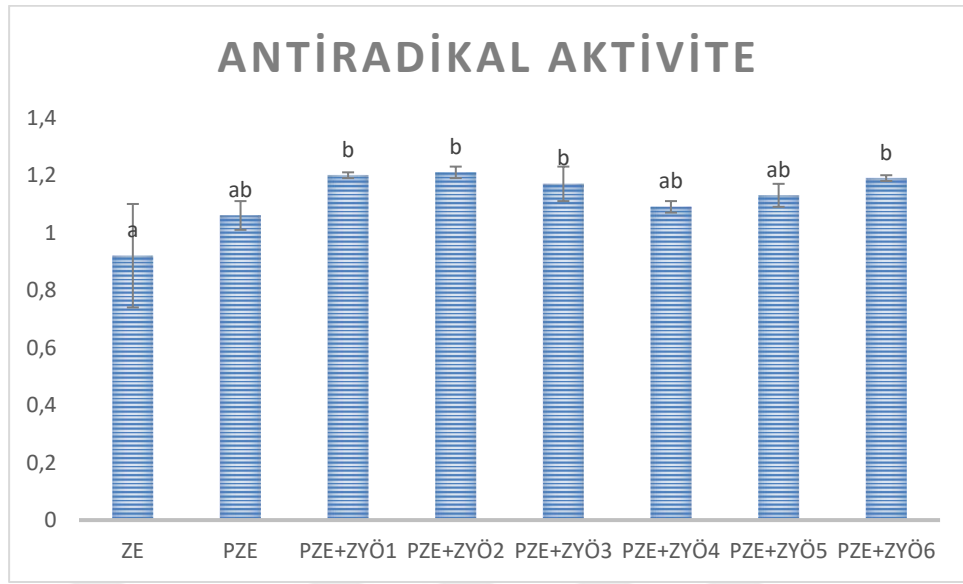
Şekil 12. ZY, PZE ve % 50 konsantrasyonda zeytinyaprağı eklenmiş örneklerin antioksidan aktivitesi ( $p < 0.05$ )

### 3.3. Örneklerin Antiradikal Aktivitesi

Yapılan analizde bulunan sonuçlara göre zeytin yapraklarından elde edilen özütün %25 konsantrasyon ile eklendiğinde Balıkesir (Gemlik ve Ayvalık), Manisa (Domat), Bursa (Gemlik ve Trilye), Aydın (Memecik) örneklerinin antiradikal aktivite içerikleri sırasıyla  $1.07 \pm 0.02$  mg/ml,  $1.00 \pm 0.06$  mg/ml,  $0.92 \pm 0.02$  mg/ml,  $0.99 \pm 0.06$  mg/ml,  $1.05 \pm 0.05$  mg/ml,  $0.98 \pm 0.01$  mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Zeytin yapraklarından elde edilen özütün % 50 konsantrasyon ile eklendiğinde ise antiradikal aktiviteleri; Balıkesir (Gemlik ve Ayvalık), Manisa (Domat), Bursa (Gemlik ve Trilye), Aydın (Memecik) örnekleri sırasıyla  $1.20 \pm 0.01$  mg/ml,  $1.21 \pm 0.02$  mg/ml,  $1.17 \pm 0.06$  mg/ml,  $1.09 \pm 0.02$  mg/ml,  $1.13 \pm 0.04$  mg/ml,  $1.19 \pm 0.01$  mg/ml olduğu belirlenmiştir.



Şekil 13. ZY, PZE ve %25 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin antiradikal aktivitesi



*Şekil 14.* ZY, PZE ve % 50 konsantrasyonda zeytin yaprağı eklenmiş örneklerin antiradikal aktivitesi

En yüksek antiradikal aktivite % 25 konsantrasyondaki Balıkesir (Gemlik)  $1.07 \pm 0.02$  mg/ml ile elde edilirken, en düşük düzeydeki antiradikal aktivite ise % 25 konsantrasyondaki Manisa (Domat)  $0.92 \pm 0.02$  mg/ml örneğinde tespit edilmiştir.

Zeytin yapraklarından elde edilen özüt %50 konsantrasyon ile eklendiğinde ise en yüksek antiradikal aktivite Balıkesir (Ayvalık)  $1.21 \pm 0.02$  mg/ml ile elde edilirken, en düşük antiradikal aktivite Bursa (Gemlik)  $1.09 \pm 0.02$  mg/ml örneğinde bulunmuştur.

## 4. BÖLÜM

### TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

#### 4.1. Tartışma

Farklı bitkisel yağlar ile ekstrakt edilen propolisin biyokaktivitesinin yüksek olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Ancak ürün miktarı kullanılan çözücünün özelliğine göre değişmektedir. Buna bağlı olarak Endonezya bölgesinde yapılan bir çalışmada arılardan elde edilen propolisin farklı kimyasallar ile ekstraksiyonu yapılmış, en yüksek ürün verimi etanol ekstraktında en düşük düzeydeki ürün verimi ise zeytinyağı ekstraktından elde edildiği görülmüştür [103]. Güney Amerika ülkesi olan Brezilya'da yağ ekstraktlı propolisinin *C. albicans*'a karşı antifungal etki gösterdiği tespit edilmiştir [104]. Litvanya 'da ise propolisin zeytinyağı ekstraktında ferulik asit, kumarik asit ve vanilin bileşiklerinin yüksek miktarda olduklarını ve böyle bazı mantar ve bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi olduğu bulunmuştur [105].

Zeytinyağı ekstraktlı propolis ile yapılan bir klinik araştırmadaysa ballı propolis zeytinyağı ekstraktının kullanılmasının oral mukozite efektif olduğu bulunmuştur [106]. Brezilya'da yapılan farklı bir çalışmada ise bitkisel yağ ekstraktlı propolisin in-vitro ve in-vivo antitümöral özellikleri olduğu gösterilmiş ve çalışmada tümör gelişiminin önlenmesinde etkili olabildiği ortaya koyulmuştur. Başka bir araştırmada, HL-60, MDA-MB-435 ve SF-295 hücre hatları ile çalışılmış ve bu hücre hatlarında propolisin yağ ve etanol alkol bazlı ekstraktların antiproliferatif etkisi olduğu gösterilmiştir [107]. Buna benzer bir çalışmadaysa propolisin yağ ekstraktının merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olduğu bundan dolayı anksiyete ve depresyon tedavisinde kullanılabileceği ilan edilmiştir. İran'da ise propolisin zeytinyağı ekstraktı üzerine arı sütü ile bal ilave

edilmiş ve diyabetli deney farelerinden yara iyileşmesini oldukça kısa sürede iyileştirdiği görülmüştür [108].

Bu çalışmamızda zeytinyağı özütünün yüksek antioksidan ve antiradikal özellikte olduğu belirlenmiştir. Propolisin toplam fenolik madde içeriği, propolisin toplandığı yere ve zamanına, ekstrak yöntemine ve son olarak da çözücüye bağlı farklılık göstereceği ve bununla beraber yüksek biyoaktivite içerdiği birçok çalışmada ispat edilmiştir. Ülkemizde yer alan propolisin kavak tipi olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [109]. Kavak tipi propolisin alkol bazlı ekstraktında ve su ekstraktında farklı fenolik birleşikler olduğu belirlenmiştir [110]. Zeytinyağı ekstraktlı Türk propolisinin HPLC ile yapılan bir çalışmada oldukça fazla miktarda Kafeik asit fenetil ester (CAPE) bulunmuştur. CAPE; propolisin temel bileşenlerinden dir ve lipofilik özellik taşımaktadır. CAPE anti-oksidan, antiviral, immunomodülatör, antimikrobiyal, anti-invaziv ve antikarsinojen bir bileşiktir [111]. Yapılan birçok çalışmada CAPE'nin kan ve kemik iliği, göğüs, pankreas, rektum, prostat, böbrek ve mesane gibi birçok kansere karşı etkili olduğu bulunmuştur [112]. Ayrıca antioksidan ve anti-enflamatuvar özellikleri de çalışmalarda gösterilmiştir [113].

Propolisin zeytinyağı ile olan ekstraktındaki biyoaktivitesini inceleyen çalışma sayısı oldukça az sayıdadır. Bir çalışmada propilen glikol, alkol ve zeytinyağının solvent olarak kullanılmıştır. Propolis su ekstraktı (W1) oda sıcaklığında, propolis polietilenglikol ve su ekstraktı (W2) 70° C de, propolis zeytinyağı ekstraktı (A1) oda sıcaklığında, propolis polietilenglikol zeytinyağı ve su ekstraktı (A2) 70 C de ekstraste edilmiştir. Ekstraksiyon işlemlerinin sonunda yapılan analizde fenolik madde içeriği W1'de 1.6, W2'de 10.7, A1'de 0.5, A2'de 9.5 mg/L GAE olduğu bulunmuştur [114]. Yaptığımız çalışmada ise farklı zeytin yapraklarından elde edilen zeytinyağı bazlı propolisin toplam fenolik madde içeriği %25 konsantrasyonda 0,6-0,7 mg/L GAE arasında iken, % 50 konsantrasyonda 0,8-1,1 mg/L GAE arasında olduğu bulunmuştur. Ek olarak zeytin yaprağı özütü eklenmiş propolis konsantrasyon miktarı yükseldikçe fenolik madde içeriğininde buna bağlı olarak yükseldiği belirlenmiştir.

Propolisin zeytinyağı ekstraktında fazla oranda fenolik madde içeriği elde edebilmek için uygun ekstraksiyon yöntemi belirlemek önemlidir. Sonuç olarak propolisin ekstraksiyonunda propolisin özellikleri olduğu kadar çözücünün, ekstraksiyon süresinin

ve çevresel koşulların toplam fenolik madde içeriği miktarını etkilemektedir. Litvanya propolisiyle yapılan bir araştırmada 25<sup>0</sup>C’de 5 saat ile elde edilen zeytinyağı bazlı propolisin ekstraktının diğer ekstraktlar ile karşılaştırıldığında daha az fenolik maddeye sahip olduğu ve daha düşük seviyede antiradikal aktivite’ye sahip olduğunu bulmuşlardır [115]. Nitekim propolis üretiminde bal arısının önemini araştıran bir çalışmada üç farklı bal arısı türü tarafından toplanan propolisin kimyasal karakterizasyonu ve antibakteriyel aktivitesi belirlenmiştir [116]. Çalışmada Kafkas arısının topladığı propolis örneğinin diğer arılar tarafından propolis örneklerinden çok daha fazla antimikrobiyal özellik gösterdiğini tespit edilmiştir. [116]. Farklı bir araştırmada ise farklı bölgelerden toplanan Türk propolisinin fitokimyasal özellikleri ve antibakteriyel aktivitesi çalışılmış ve propolisin bitkisel kaynaklarının *Populus alba*, *Populus tremuloides* ve *Salix alba* olduğu belirlenmiştir [109].

Zeytinyağı akdeniz ülkelerinde çok önemli bir yere sahiptir. Sızma zeytinyağında bulunan antioksidan aktivitesi ile ilgili birçok çalışma literatürde yer almaktadır [117,118,119]. Doğal zeytinyağı çok sayıda fenolik bileşik, karoten ve E vitamini gibi antioksidan özellikte bileşiklere sahiptir [118]. Türkiye’de üretilen işlem görmemiş zeytinyağının antimikrobiyal, antioksidan, anti-enflamatuar, vasoprotektifgibi insan için faydalı çok sayıda özellikleri ispatlanmıştır [119].

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Ticari olarak satın alınan rivyera, rafine ve sızma zeytinyağlarında fenolik madde içeriği sırasıyla; 600.38, 566.42 ve 911.98 mg GAE/100 g yağ olarak tespit edilmiştir. Burada en yüksek içeriğe sahip zeytinyağı, işlem görmemiş olan sızma zeytinyağı çeşitidir. Sızma zeytinyağını takiben rivyera zeytinyağı ve rafine zeytinyağı benzer aralıklarda fenolik madde içeriğine sahip olarak tespit edilmiştir [120].

Yapılan başka bir çalışmada Ayvalık, Gemlik, Edremit, Memecik ve Tavşan Yüreği cinsi zeytinlerin yapraklarındaki toplam fenolik madde içerik aralıkları sırasıyla şöyledir; 19.95 mgGAE/ml – 26.58mgGAE/ml, 9.66 mgGAE/ml – 35.34 mgGAE/ml, 9.17mgGAE/ml–22.99mgGAE/ml,9.656mgGAE/ml–23.47mgGAE/ml,14.72 mgGAE/ml22.03mgGAE/ml [122]. Çalışmamızda toplam fenolik madde içeriklerine PZE+ZYÖ örneklerinden yaptığımız analizlerde %50 konsantrasyonda bulduğumuz sonuçlar 82.6–107.8 mgGAE/ml arasında çıkmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkarak

eklediğimiz zeytin yaprağı özütlerinin toplam fenolik madde içeriğine olumlu katkısının olduğu görülmüştür.

Çeşitli çözücü yöntemlerle ekstrakte edilen zeytin yaprağının fenolik içeriklerini ve bileşimlerini değerlendirmek ve çeşitli radikal temizleme sistemleri kullanarak antioksidan aktivitelerini daha da belirlemek için yapılmış bir çalışmada toplam flavonoid ve fenolik içeriklerin önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür [123]. Bu sonuçlar, zeytin yaprağının önemli miktarda oleuropein ve fenolikler içerdiğini, antioksidan kapasite için önemli faktörler olduğunu ve farklı ekstraksiyon yöntemleriyle büyük ölçüde değiştirilebildiğini göstermektedir. Çalışmada zeytin yaprağının, zeytinyağı ve meyvelere kıyasla önemli bir biyoaktif fenolik bileşik kaynağı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, uygun ekstraksiyon yöntemlerinin belirlenmesi, tarımsal atık olan zeytin yaprağından bu tür biyoaktif bileşenlerin verimini artırmak için önemli bir adımdır [123]. Yaptığımız çalışmada bulduğumuz sonuçlarda da gördüğümüz zeytin yapraklarının antioksidan ve fenolik madde açısından oldukça değerli olduğudur.

Ayrıca çalışmamızda, eklenen zeytin yaprağı özütünün konsantrasyonunun artmasıyla toplam fenolik maddenin de artması beklenmiş ve genel anlamda sonuçlarda böyle çıkmıştır. Bununla birlikte araştırmamızda farklı yörelerden ve cinslerden zeytin ağaçlarına ait zeytin yaprakları kullanmamızı açıklar nitelikte zeytin yaprağının toplam fenolik madde miktarına çevresel etmenlerin yanısıra coğrafik orijin ve ağaç cinsinin de etkili olduğunu söyleyebiliriz.

## **4.2. Sonuç ve Öneriler**

Sonuç olarak propolis su ile ekstraksiyon edildiğinde propolisin aktif bileşenlerinin suda çözünürlüğün düşük olmasından kaynaklı fenolik içerikleri etanol ile ekstraksiyon işlemine göre 10 kat düşük olduğu gösterilmiştir [121]. Bundan dolayı araştırmalar farklı ve kimyasal olmayan doğal çözücüler arama noktasına yönelmiştir. Araştırmaların sonucunda propolisin bitki kaynaklı yağlar ile çözülmesi ve yağda çözünebilir fenolik bileşiklerin yüksek biyolojik aktiviteleri dikkat çekmiştir. Bu çalışma ile özellikle alkol ekstraktına göre toplam fenolik madde içeriği daha düşük olduğu çeşitli bilimsel çalışmalarla gösterilen propolisin zeytinyağı ekstraktının bu değerinin zeytinyaprağı ekstraktı eklenerek artırılmasının mümkün olduğunu gösterdik. Bunun için farklı

coğrafik orijine sahip ve farklı ağaç çeşitleri ile eklenen konsantrasyonun da bunda etkili olacağını belirledik.



## KAYNAKÇA

1. Talas, Z.S. and Gulhan, M.F. 2009. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 72(7): 1994-1998.
2. Al-Azzawie, H.F. and Alhamdani, M.S. 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. **Life Sciences**. 78(12): 1371-1377.
3. Lee-Huang, S.; Zhang, L.; Huang, P.L.; Chang, Y. and Huang, P.L. 2003. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. **Biochemical Biophysical Res Commun**. 307(4): 1029-1037.
4. Ranalli, A.; Contento, S.; Lucera, L.; Di Febo, M.; Marchegiani, D.; Di Fonzo, V. 2006. Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). **Food Chemistry**. 54(2): 434-440.
5. De Castro, S.L. 2001. Propolis: Biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. **Annual Review of Biomedical Sciences**. 3: 49-83.
6. Šegvić Bubić, T.; Boban, J.; Grubišić, L.; Trumbić, T.; Radman, M.; Perčić, M. and Čot Rakovac, R. 2013. Effects of propolis enriched diet on growth performance and plasma biochemical parameters of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under acute low temperature stress. **Aquaculture Nutrition**. 19(6):877-885.
7. Tuck, K.L., Hayball, P.J. 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. **J Nutr Biochem**. 13:636–644.
8. De Leonardis, A., Aretini, A., Alfano, G., Macciola, V., Ranalli, G. 2008. Isolation Of A Hydroxytyrosol-Rich Extract From Olive Leaves (*Olea Europaea* L.) And Evaluation Of Its Antioxidant Properties And Bioactivity. **European Food Research And Technology**. 226:653–659.
9. Boskou, D. 1996. Olive oil: chemistry and technology. **American Oil Chemists Society**. 2:288.

10. Somova, L.I., Shode, F.O., Ramnanan, P., Nadar, A. 2003. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *Africana* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**. 84:299–305.
11. Parvaiz, M., Hussain, K., Shoaib, M., William, G., Tufail, M., Hussain, Z., Gohar, D., Imtiaz, S. 2013. A review: therapeutic significance of olive (*Olea europaea* L; oleaceae family). **Global Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 7(3):333–336.
12. Molina-Alcaide, E., Yáñez-Ruiz, D.R. 2008. Potential use of olive by-products in ruminant feeding: a review. **Animal Feed Science and Technology**. 147:247–264.
13. Herrero, M., Temirzoda, T.N., Segura-Carretero, A., Quirantes, R., Plaza, M., Ibañez, E. 2011. New possibilities for the valorization of olive oil by-products. **Journal of Chromatography A**. 1218:7511–7520.
14. Sebolt-Leopold, J.S., Herrera, R. 2004. Targeting the mitogen activated protein kinase cascade to treat cancer. **Nature Reviews Cancer**. 4:937–947.
15. Briante, R., Patumi, M., Terenziani, S., Bismuto, E., Febbraio, F. 2002. *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50:4934–4940.
16. Benavente-Garcia, J., Castillo, J., Lorente, A., Ortuno, A., Del Rio, J.A. 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**. 68:457–462.
17. Soni, M.G., Burdock, G.A., Christian, M.S., Bitler, C.M., Crea, R. 2006. Safety assessment of aqueous olive pulp extract as an antioxidant or antimicrobial agent in foods. **Food and Chemical Toxicology**. 44:903–915.
18. Susalit, E., Agus, N., Effendi, I., Tjandrawinata, R.R., Nofiarny, D., Perrinjaquet-Mocchetti, T. 2011. Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: comparison with Captopril. **National Library Of Medicine**. 18:251–258.

19. Jemai, H., El Feki, A., Sayadi, S. 2009. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. **Journal Of Agricultural Food Chemistry**. 57(19):8798–8804.
20. Wang, L., Geng, C., Jiang, L., Gong, D., Liu, D., Yoshimura, H., Zhong, L. 2008. The anti-atherosclerotic effect of olive leaf extract is related to suppressed inflammatory response in rabbits with experimental atherosclerosis. **European Journal of Nutrition**. 47(5):235–243.
21. Khalatbary, AR., Zarrinjoei, GR. 2012. Anti-inflammatory effect of oleuropein in experimental rat spinal cord Trauma. **Iranian Red Crescent Medical Journal**. 14(4):229–234.
22. Santiago-Mora, R., Casado-Diaz, A., De Castro, M.D., Quesada Gomez, J.M. 2011. Oleuropein enhances osteoblastogenesis and inhibits adipogenesis: the effect on differentiation in stem cells derived from bone marrow. **Osteoporos International**. 22(2):675–684.
23. Goldsmith, C.D., Vuong, Q.V., Stathopoulos, C.E., Roach, P.D., Scarlett, C.J. 2014. Optimization of the aqueous extraction of phenolic compounds from olive leaves. **Antioxidants**. 3:700–712.
24. Salah, M.B., Abdelmelek, H., Abderraba, M. 2012. Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. **Medicinal Chemistry**. 2(5):107–111.
25. Erbay, Z., Icier, F. 2010. The importance and potential uses of olive leaves. **Food Reviews International**. 26:319–334.
26. Samuelsson, G. 1951. The blood pressure lowering factor in leaves of *Olea europaea*. **Farmaceutisk Revy**. 15:229–239.
27. Zarzuelo, A., Duarte, J., Jimenez, J., Gonzales, M. 1991. Utrilla Vasodilator effect of olive leaf. **Planta Medica**. 57:417–419.
28. Massei, G., Hartley, S.E. 2000. Disarmed by domestication? Induced responses to browsing in wild and cultivated olive. **Oecologia**. 122:225–231.
29. Savournin, C., Baghdikian, B., Elias, R., Dargouth-Kesraoui, F., Boukef, K., Balansard, G. 2001. Rapid high-performance liquid chromatography analysis

for the quantitative determination of Oleuropein in *Olea europaea* leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49:681.

30. Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M., Miniati, E. 1992. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 40(9), 1571-1576.
31. Limiroli, R., Consonni, R., Ottolina, G., Marsilio, V., Bianchi, G., Zetta, L. 1995. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR characterization of new oleuropein aglycones. **Journal of the Chemical Society**. (12), 1519-1523.
32. Cinquanta, L., Esti, M., Notte, E. L. 1997. Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. **Journal of the American oil chemists' society**. 74(10), 1259-1264.
33. Visioli, F., Galli, C. 1998. Olive oil phenols and their potential effects on human health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46(10), 4292-4296.
34. Monteleone, P., Catapano, F., Fabrazzo, M., Tortorella, A., Maj, M. 1998. Decreased blood levels of tumor necrosis factor-alpha in patients with obsessive-compulsive disorder. **Neuropsychobiology**. 37(4), 182-185.
35. Gutiérrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A., Albi, M. A. 1999. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on the different components involved. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 47(1), 121-127.
36. Visioli, F., Galli, C. 1998. Olive oil phenols and their potential effects on human health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46(10), 4292-4296.
37. Amiot, M. J., Fleuriet, A., Macheix, J. J. 1986. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 34(5), 823-826.
38. Cinquanta, L., Esti, M., Notte, E. L. 1997. Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. **Journal of the American oil chemists' society**. 74(10), 1259-1264.

39. Ben-Hassine, K., Taamalli, A., Ferchichi, S., Mlaouah, A., Benincasa, C., Romano, E., Hammami, M. 2013. Physicochemical and sensory characteristics of virgin olive oils in relation to cultivar, extraction system and storage conditions. **Food research international**. 54(2), 1915-1925.
40. Rodriguez-Rodriguez, R., Perona, J. S., Herrera, M. D., Ruiz-Gutierrez, V. 2006. Triterpenic compounds from “orujo” olive oil elicit vasorelaxation in aorta from spontaneously hypertensive rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54(6), 2096-2102.
41. Valero Muñoz, M., Martín Fernández, B., Ballesteros, S., de la Fuente, E., Quintela, J. C., Lahera, V., De las Heras, N. 2014. Protective effect of a pomace olive oil concentrated in triterpenic acids in alterations related to hypertension in rats: Mechanisms involved. **Molecular nutrition and food research**. 58(2), 376-383.
42. Boskou, D. 2015. Olive fruit, table olives, and olive oil bioactive constituents. In *Olive and olive oil bioactive constituents*. 1-30.
43. Baldioli, M., Servili, M., Perretti, G., Montedoro, G. F. 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. 73(11), 1589-1593.
44. Kalogeropoulos, N., Tsimidou, M. Z. 2014. Antioxidants in Greek virgin olive oils. **Antioxidants**. 3(2), 387-413.
45. Ahangari, Z., Naseri, M., Vatandoost, F. 2018. Propolis: Chemical Composition and Its Applications in Endodontics. **Iranian Endodontic Journal**. 13, 285–292.
46. Przybyłek, I., Karpinski, T.M. 2019. Antibacterial Properties of Propolis. **Molecules**. 24, 2047.
47. Šuran, J., Cepanec, I., Mašek, T., Radić, B., Radić, S., Tlak Gajger, I., Vlainić, J. 2021. Propolis extract and its bioactive compounds—From traditional to modern extraction technologies. **Molecules**. 26(10), 2930.
48. Bankova, V. 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**. 100, 114–117.

49. Do Nascimento, T.G., dos Santos Arruda, R.E., da Cruz Almeida, E.T., dos Santos Oliveira, J.M., Basílio-Júnior, I.D., de Moraes Porto, I.C.C., Sabino, A.R., Tonholo, J., Gray, A., Ebel, R.E. 2019. Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study. **Scientific Reports**. 9, 18293.
50. Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B. 2006. Plant Sources of Propolis: An Update from a Chemist's Point of View. **Natural Product Communications**. 1, 1023–1028.
51. Souza, E.A., Zaluski, R., Veiga, N., Orsi, R.O. 2016. Effects of Seasonal Variations and Collection Methods on the Mineral Composition of Propolis from *Apis mellifera linnaeus* Beehives. **Brazilian Journal of Biology**. 76, 396–401.
52. Galeotti, F., Maccari, F., Fachini, A., Volpi, N. 2018. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Propolis Prepared in Different Forms and in Different Solvent Useful for Finished Products. **Foods**. 7, 41.
53. Huang, S., Zhang, C.P., Wang, K., Li, G.Q., Hu, F.L. 2014. Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. **Molecules**. 19, 19610–19632.
54. Banskota, A.H., Tezuka, Y., Kadota, S. 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytotherapy Research**. 15, 561–571.
55. Sforcin, J.M., Bankova, V. 2011. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs?. **Journal of Ethnopharmacology**. 133, 253–260.
56. Kasprzak, M.M., Erxleben, A., Ochocki, J. 2015. Properties and applications of flavonoid metal complexes. **RSC Advances**. 5, 45853–45877.
57. Tu, L.Y., Pi, J., Jin, H., Cai, J.Y., Deng, S.P. 2016. Synthesis, characterization and anticancer activity of kaempferol-zinc (II) complex. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**. 26, 2730–2734.
58. Lin, H.C., Tsai, S.H., Chen, C.S., Chang, Y.C., Lee, C.M., Lai, Z.Y., Lin, C.M. 2008. Structure-activity relationship of coumarin derivatives on xanthine

- oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. **Biochemical Pharmacology**. 75, 1416–1425.
59. Farines, V., Monje, M.C., Telo, J.P., Hnawia, E., Sauvain, M., Nepveu, F. 2004. Polyphenols as superoxide dismutase modulators and ligands for estrogen receptors. **Analytica Chimica Acta**. 513, 103–111.
60. Li, Y.B., Cao, Z.X., Zhu, H. 2006. Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. **Pharmacological Research**. 53, 6–15.
61. Das, J., Ramani, R., Suraju, M.O. 2016. Polyphenol compounds and PKC signaling. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1860, 2107–2121.
62. Mirza-Aghazadeh-Attari, M., Ekrami, E.M., Aghdas, S.A.M., Mihanfar, A., Hallaj, S., Yousefi, B., Safa, A., Majidinia, M. 2020. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway by polyphenols: Implication for cancer therapy. **Life Sciences**. 255, 117481.
63. Kim, H.H., Bae, Y., Kim, S.H. 2013. Galangin attenuates mast cell-mediated allergic inflammation. **Food and Chemical Toxicology**. 57, 209–216.
64. [64]. Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. 23, 174–181.
65. Zhang, Z., Li, G., Szeto, S.S., Chong, C.M., Quan, Q., Huang, C., Cui, W., Guo, B., Wang, Y., Han, Y. 2015. Examining the neuroprotective effects of protocatechuic acid and chrysin on in vitro and in vivo models of Parkinson disease. **Free Radical Biology and Medicine**. 84, 33–343.
66. Hermenean, A., Mariasiu, T., Navarro-Gonzalez, I., Vegara-Meseguer, J., Miutescu, E., Chakraborty, S., Perez-Sanchez, H. 2017. Hepatoprotective activity of chrysin is mediated through TNF- $\alpha$  in chemically-induced acute liver damage: An in vivo study and molecular modeling. **Experimental and Therapeutic Medicine**. 13, 1671–1680.
67. Yang, B., Huang, J., Xiang, T., Yin, X., Luo, X., Huang, J., Luo, F., Li, H., Li, H., Ren, G. 2014. Chrysin inhibits metastatic potential of human triple-negative

- breast cancer cells by modulating matrix metalloproteinase-10, epithelial to mesenchymal transition, and PI3K/Akt signaling pathway. **Journal of Applied Toxicology**. 34, 105–112.
68. Wang, J., Zhang, T., Du, J., Cui, S., Yang, F., Jin, Q. 2014. Anti-Enterovirus 71 Effects of Chrysin and Its Phosphate Ester. *Plos One*. 9, e89668.
  69. Li, H.X., Wang, Z.C., Qian, Y.M., Yan, X.Q., Lu, Y.D., Zhu, H.L. 2017. Design, synthesis, and biological evaluation of chrysin derivatives as potential FabH inhibitors. **Chemical Biology and Drug Design**. 89, 136–140.
  70. Fu, Q., Gao, Y., Zhao, H., Wang, Z., Wang, J. 2018. Galangin protects human rheumatoid arthritis fibroblast like synoviocytes via suppression of the NF  $\kappa$ B/NLRP3 pathway. **Molecular Medicine Reports**. 18, 3619–3624.
  71. Lu, H., Yao, H., Zou, R., Chen, X., Xu, H. 2019. Galangin Suppresses Renal Inflammation via the Inhibition of NF- $\kappa$ B, PI3K/AKT and NLRP3 in Uric Acid Treated NRK-52E Tubular Epithelial Cells. *BioMed Research International*. 3018357.
  72. Chien, S.T., Shi, M.D., Lee, Y.C., Te, C.C., Shih, Y.W. 2015. Galangin, a novel dietary flavonoid, attenuates metastatic feature via PKC/ERK signaling pathway in TPA-treated liver cancer HepG2 cells. *Cancer Cell International*. 15.
  73. Lei, D., Zhang, F., Yao, D., Xiong, N., Jiang, X., Zhao, H. 2018. Galangin increases ERK1/2 phosphorylation to decrease ADAM9 expression and prevents invasion in A172 glioma cells. **Molecular Medicine Reports**. 17, 667–673.
  74. Cao, J., Wang, H., Chen, F., Fang, J., Xu, A., Xi, W., Zhang, S., Wu, G., Wang, Z. 2016. Galangin inhibits cell invasion by suppressing the epithelial-mesenchymal transition and inducing apoptosis in renal cell carcinoma. **Molecular Medicine Reports**. 13, 4238–4244.
  75. Xu, Y.X., Wang, B., Zhao, X.H. 2017. In vitro effects and the related molecular mechanism of galangin and quercetin on human gastric cancer cell line (SGC-7901). **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**. 30, 1279–1287.

76. Pepeljnjak, S., Kosalec, I. 2004. Galangin expresses bactericidal activity against multiple-resistant bacteria: MRSA, Enterococcus spp. and Pseudomonas aeruginosa. **FEMS Microbiology Letters**. 240, 111–116.
77. Cushnie, T.P., Lamb, A.J. 2006. Assessment of the antibacterial activity of galangin against 4-quinolone resistant strains of Staphylococcus aureus. **Phytomedicine** 13, 187–191.
78. Búfalo, M.C., Ferreira, I., Costa, G., Francisco, V., Liberal, J., Cruz, M.T., Lopes, M.C., Batista, M.T., Sforcin, J.M. 2013. Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF- $\kappa$ B and MAPK activation in macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**.149, 84–92.
79. Hotta, S., Uchiyama, S., Ichihara, K. 2020. Brazilian red propolis extract enhances expression of antioxidant enzyme genes in vitro and in vivo. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. 84, 1820–1830.
80. Kosalec, I., Pepeljnjak, S., Bakmaz, M., Vladimir-Knezević, S. 2005. Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products. *Acta Pharmaceutica*. 55, 423–430.
81. [81]. Tlak Gajger, I., Pavlović, I., Bojić, M., Kosalec, I., Srećec, S., Vlainić, T., Vlainić, J. 2017. The components responsible for the antimicrobial activity of propolis from continental and Mediterranean regions in Croatia. **Czech Journal of Food Sciences**. 35, 376–385.
82. Vasconcelos, N.G., Croda, J., Simionatto, S. 2018. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: **Microbial Pathogenesis**. 120, 198–203.
83. Quan, T.H., Benjakul, S., Sae-Teaw, T., Balange, A.K., Maqsood, S. 2019. Protein–polyphenol conjugates: Antioxidant property, functionalities and their applications. **Trends in Food Science and Technology**. 91, 507–517.
84. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 79, 727–747.

85. Curti, V., Zaccaria, V., Tsetegho Sokeng, A.J., Dacrema, M., Masiello, I., Mascaro, A., D'Antona, G., Daglia, M. 2019. Bioavailability and In Vivo Antioxidant Activity of a Standardized Polyphenol Mixture Extracted from Brown Propolis. **International Journal of Molecular Sciences**. 20, 1250.
86. Galeotti, F., Maccari, F., Fachini, A., 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.
87. Masek, A., Chrzescijanska, E., Latos, M., Kosmalska, A. 2019. Electrochemical and spectrophotometric characterization of the propolis antioxidants properties. **International Journal of Electrochemical Science**. 14(2), 1231-1247.
88. Finger, D., Machado, C. S., Torres, Y. R., Quináia, S. P., Thomaz, A. C. G., Gobbo, A. R., Eberlin, M. N. 2013. Antifungal Bioassay Guided Fractionation of an Oil Extract of Propolis. **Journal of Food Quality**. 36(5), 291-301.
89. Abdulrhman, M., Samir Elbarbary, N., Ahmed Amin, D., Saeid Ebrahim, R. 2012. Honey and a mixture of honey, beeswax, and olive oil–propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized controlled pilot study. **Pediatric Hematology And Oncology**. 29(3), 285-292.
90. Shahin, S. E., Eleraky, W. A., Elgamal, M. F., Hassanein, E. I., Ibrahim, D. 2019. Effect of Olive Leaves and Propolis Extracts on Growth Performance, Immunological Parameters and Economic Efficiency using Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Zagazig Veterinary Journal**. 47(4), 447-458.
91. Artajo, L. S. 2006. Phenolic Compounds: Their Role during Olive Oil Extraction and in Flaxseed–Transfer and Antioxidant Function. A thesis submitted to the Faculty of Agronomical Engineer of the University of Lleida in partial fulfillment of the requirements of the degree of Doctorate of Philosophy. Lleida Spain.
92. Buriol, L., Finger, D., Schmidt, E. M., Dos Santos, J. M. T., Da Rosa, M. R., Quináia, S. P. E., Torres, Y. R. 2009. Chemical Composition and Biological Activity of Oil Propolis Extract: An Alternative To Ethanolic Extract. **Química Nova**. 32(2), 296-302

93. Schmidt, E. M., Stock, D., Chada, F. J. G., Finger, D., Christine Helena Frankland Sawaya, A., Eberlin, M. N., Torres, Y. R. 2014. A comparison between characterization and biological properties of Brazilian fresh and aged propolis. *BioMed Research International*. 2014.
94. Carnevali, O., de Vivo, L., Sulpizio, R., Gioacchini, G., Olivotto, I., Silvi, S., Cresci, A. 2006. Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. ***Aquaculture***. 258(1-4):430-438.
95. Cho, C.Y. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. ***Finfish Nutrition and Fishfeed Technology***. 2: 239-247.
96. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official Methods of Analysis: Changes in Official Methods of Analysis Made at the Annual Meeting. Supplement (Vol. 15)
97. Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., Bruni, A. 1996. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. ***Phytotherapy research***. 10(4), 335-336.
98. Kubilienė, L. 2011. The influence of technological processes on extraction of chemical compounds of Propolis. ***Sveikatos Mokslai/Health Sciences***. 21(2 (74)), 105.
99. Carvalho, A. A., Finger, D., Machado, C. S., Schmidt, E. M., da Costa, P. M., Alves, A. P. N. N., Torres, Y. R. 2011. In vivo antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. ***Food Chemistry***. 126(3), 1239-1245.
100. Singleton, V. and Rossi, J. 1965. Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. ***American Journal of Enology and Viticulture***. 16, 144-158.
101. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269, 337-341.

102. Gyamfi, M.A., Yonamine, M., Aniya, Y. 1999. Free-Radical Scavenging Action Of Medicinal Herbs From Ghana: *Thonningia Sanguinea* On Experimentally-Induced Liver Injuries. 32(6): 661-667.
103. González-Correa, J.A., Navas, M.D., Muñoz-Marín, J., Trujillo, M., FernándezBolaños, J., De La Cruz, J.P. 2008. Effects of hydroxytyrosol and hydroxytyrosol acetate administration to rats on platelet function compared to acetylsalicylic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56:(17) 7872–7876.
104. Finger, D., Machado, C.S., Torres, Y.R. 2013. Antifungal bioassayguided fractionation of an oil extract of propolis. **Journal Food Quality**. 36:291-301.
105. Marquede, F.D., Oliveira, A.R.M., Bonato, P.S., Lara, M.G., Fonseca, J.V. 2006. Propolis extract release evaluation from topical formulations by chemiluminescence and HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 41 (2-3): 461-468.
106. Abdulrhman, M., Elbarbary, N.S., Amin, D.A., Ebrahim, R.S. 2012. Honey and a Mixture of Honey, Beeswax, and Olive Oil–Propolis Extract in Treatment of Chemotherapy-Induced Oral Mucositis: A Randomized Controlled Pilot Study. **Journal Pediatric Hematology and Oncology**. 29:(3).
107. Buriol, L., Finger, D., SchmidtE.M., Santos, J., Rosa, M.R., Quináia, S.P., Torres, Y.R., Santa, H.S., Pessoa, C., Moraes, M.O., Costa-Lotufo, L.V., Ferreira, P.M., Frankland Sawaya, A.C., Eberlin, M.N. 2009. Chemical composition and biological activity of oil propolis extract: An alternative to ethanolic extract. *Química Nova São Paulo*. 32:(2).
108. Rashidi Ali, N., Nafees, S., Hasan, S.K., Sultana, S. 2013. Amelioration of Renal Carcinogenesis by Bee Propolis: A Chemo Preventive Approach. **Toxicology International**. 20(3): 227–234.
109. Silici, S., Ünlü, M., Vardar-Ünlü, G. 2007. Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions. **World Journal Microbiology and Biotechnology**. 12:1797- 1803.

110. Boisard, S., Le Ray, A. M., Gatto, J., Aumond, M. C., Blanchard, P., Derbre, S. 2014. Chemical composition, antioxidant and anti-AGEs activities of a French poplar type propolis. **Journal Agricultural Food Chemistry**. 62:1344–1351.
111. Wang, X., Stavchansky, S., Bowman, P.D., Kerwin, S.M. 2006. Cytoprotective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and catechol ring-fluorinated CAPE derivatives against menadione-induced oxidative stress in human endothelial cells. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. 14(14):4879–4887.
112. Xiang, D., Wang, D., He, Y., Xie, J., Zhong, Z., Li, Z. 2006. Caffeic acid phenethyl ester induces growth arrest and apoptosis of colon cancer cells via the  $\beta$ -catenin/T-cell factor signaling. **Anticancer Drugs**. 17:753–762.
113. Mirzoeva, O.K., Sud'ina, G.F., Pushkareva, M.A., Korshunova, G.A., Sumbatian, N.V., Varfolomeev, S.D. 1995. Lipophilic derivatives of caffeic acid as lipoxygenase inhibitors with antioxidant properties. *Bioorganicheskaia Khimiia*. 21:(2)143-151.
114. Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., Kubilius, R., Kasparaviciene, G., Savickas, A. 2015. Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. **BMC Complementary Alternative Medicine**. 15:156.
115. Coelho, L. G., Bastos, E. M., Resende, C. C., Paula e Silva, C. M., Sanches, B. S., de Castro, F. J. 2007. Brazilian green propolis on *Helicobacter pylori* infection. A pilot clinical study. **Helicobacter**. 12:572–574.
116. Silici, S., Kutluca, S. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **Journal of ethnopharmacology**. 99(1), 69-73.
117. Baldioli, M., Servili, G., Perretti, G., Montedoro, F. 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. **Journal Of the American Oil Chemists' Society**. 73:(11)1589-1593.
118. Waterman, E., Lockwood, B. 2007. Active Components and Clinical Applications of Olive Oil. **Alternative Medicine Review**. 12:4331-342.

119. Visioli, F., Caruso, D., Grande, S., Bosisio, R., Villa, M., Galli, G., Sirtori, C., Galli, C. 2004. Virgin Olive Oil Study (VOLOS): vasoprotective potential of extra virgin olive oil in mildly dyslipidemic patients. **European Journal of Nutrition**. 44(2):121-127.
120. Şahin, N.S. 2019. Farklı Çözücülerle Hazırlanan Propolis Özütləri İle Propolis Ticari Ürünlerinin Biyoaktivitesinin Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 64.
121. Matta, V.M., Moretti, R.H., Cabral, L.M. 2004. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. **Journal of Food Engineering**. 61(3): 477-482.
122. Özcan, M.M., Fındık, S., AlJuhaimi, F., Ghafoor, K., Babiker, E. E., Adiamo O. Q. 2019. The effect of harvest time and varieties on total phenolics, antioxidant activity and phenolic compounds of olive fruit and leaves. **J Food Sci Technol**. 56(5):2373–2385.
123. Lee, O., Lee, B., Lee, J., Lee, H., Son, J., Park, C., Shetty, K., Kim, Y. 2009. Assessment Of Phenolics-Enriched Extract And Fractions Of Olive Leaves And Their Antioxidant Activities. 100(3): 6107-6113.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı:** Gül ÇELEBİ  
**Uyruğu:** Türkiye (T.C)

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji ABD	Devam ediyor.
Lisans	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Gıda Mühendisliği	2011
Lise	Bingöl YDA Lisesi, Bingöl	2006

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2016-Halen	Milli Eğitim Bakanlığı	Öğretmen
2013-2015	Karpet Tarım Ürünleri	Kalite Kontrol ve Üretim Sorumlusu
2011-2013	Avrupalı Namlı Gıda A.Ş	Kalite Kontrol ve Üretim Sorumlusu

### YABANCI DİL

İngilizce