

**T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİNGÖL İLİNDEN ELDE EDİLEN PROPOLİSLERİN BAZI VERİM
ÖZELLİKLERİ BAKIMINDAN KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖMER DÖNER

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. HAKAN İNCİ**

**İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. BANU YÜCEL**

BİNGÖL-2020

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, her zaman bana yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Banu YÜCEL ve Doç. Dr. Hakan İNCİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yaptığı yönlendirmeler ve katkılarından dolayı değerli hocam Dr. Arş. Gör. Havva Şeyma YILMAZ'a, çalışmalar esnasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Doç. Dr. Aydın Şükrü BENGÜ'ye ve Dr. Öğr. Üyesi Abdullah DALAR'a, bende büyük emekleri olan, benim için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve tezin hazırlanması sırasında gösterdikleri sabır, fedakârlık ve desteklerinden dolayı başta eşim Aysu DÖNER'e, kardeşim Muhammed M. KARAKAYA'ya ve değerli aileme teşekkür ederim.

Son olarak desteklerinden dolayı (Proje No: Pikom-Arı.2019.005) Pilot Üniversite Koordinasyon Merkez Birimi (PIKOM)'a teşekkür ederim.

Ömer DÖNER

Bingöl 2020

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	7
2.1. Propolisin Kimyasal İçeriği ve Propolis Bitki Kaynakları ile İlgili Yapılan Kaynak Çalışmaları.....	7
2.2. Propolis ile İlgili Yapılan Diğer Çalışmalar.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Propolis örnekleri ve Arılıkların Belirlenmesi.....	20
3.1.2. Çalışma Alanının Belirlenmesi ve Tanımlanması.....	20
3.1.2.1. Bingöl İlinin Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı.....	21
3.1.2.2. Genç İlçesi Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı.....	21
3.1.2.3. Karlıova İlçesi Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı.....	21 22
3.1.2.4. Solhan İlçesi Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı.....	22 23
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. Propolis Örneklerinin Toplanması.....	23

3.2.2. Propolis Örneklerinin Muhafaza Edilmesi.....	23
3.2.3. Propolis Ekstraktlarının Kimyasal Analizler İçin Hazırlanması.....	23
3.2.4. Propolis Örneklerinin Kimyasal Analizi.....	24
3.2.4.1. Propolis Ekstraktlarının GC-MS ile Analizi.....	24
3.2.4.2. GC-MS ile Propolis Bileşenlerin Tanımlanması ve Cihaz Metodu..	26
3.2.5. Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	26
3.2.5.1. Toplam fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu).....	26
3.2.5.2. Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) metodu.....	27
3.2.5.3. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) metodu.....	27
3.2.5.4. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi metodu.....	28
3.2.5.5. Demir şelatlama aktivitesi.....	28
3.2.6. Dumas Metodu İle Protein Analizi.....	29
3.2.7. Kül Tayini Metodu.....	29
3.2.8. İstatistiksel Analiz.....	29

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	30
4.1. Protein Düzeyleri.....	30
4.2. Toplam Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri.....	32
4.2.1. Genç Bölgesi Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan aktiviteleri.....	32
4.2.2. Karlıova Bölgesi Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktiviteleri.....	34
4.2.3. Solhan Bölgesi Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan aktiviteleri.....	36
4.2.4. Genç, Karlıova ve Solhan Bölgesi Ortalama Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktiviteleri.....	38
4.3. GC-MS Analizi Bulguları.....	48
4.3.1. Yağ Asitleri Özellikleri.....	49
4.3.1.1. Doymuş Yağ Asitleri Özellikleri.....	49
4.3.1.2. Doymamış Yağ Asitleri Özellikleri.....	51
4.3.2. GC-MS ile Tespit Edilen Diğer Bileşikler.....	55
4.4. Kül Özellikleri.....	59
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	76

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat derece
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi
CAPE	: kafeik asit fenetil ester
ppm	: parts per million
mg	: miligram
g	: gram
kg	: kiligram
km	: kilometre

m	: metre
KB	: Karlıova
SB	: Solhan
GB	: Genç
GB1	: Yaz Konağı köyü
GB2	: Sağgöze köyü
GB3	: Çotla yaylası
KB1	: Kaynarpınar köyü
KB2	: Halifan köyü
KB3	: Kargapazarı köyü
SB1	: Şerafettin yaylası
SB2	: Bozkanat köyü
SB3	: Göksu köyü
ml	: mililitre
γ'	: Birincil gama
γ''	: İkincil gama
δ	: Delta
σ	: Sigma

α	: Alfa
μl	: mikrolitre
dk	: dakika
NaCl	: Sodyum klorür
NaHCO ₃	: Sodyum bikarbonat
BÜMLAB	: Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvar
FAME	: yağ asidi metil esterleri
He	: Helyum
FCR	: Folin-Ciocalteu indirgeme
Nm	: Nanometre
mmol	: Mikromol
FRAP	: Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü
ORAC	: Oksijen radikal absorban kapasitesi
FeCl ₃	: Demir 3 klorür
FeCl ₂	: Demir 2 klorür
TPTZ	: 2,4,6-Tripiridil-s-triazin
AAPH	: 2,2-azobis(2-metilpropionamid) dihidroklorid
DPPH	: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
MES	: 2-morfolinoetanolsülfonik asit
O ₂	: oksijen

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.2.	Bingöl il haritası.....	20
Şekil 3.3.	Propolis ekstraksiyon Şeması.....	25
Şekil 4.1.	Genç, Karlıova, Solhan Bölgelerinden elde edilen propolislerin protein düzeyleri.....	31
Şekil 4.2.	Genç bölgesine ait propolis örneklerinin toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteleri.....	33
Şekil 4.3.	Karlıova bölgesine ait propolis örneklerinin toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteleri.....	35
Şekil 4.4.	Solhan bölgesine ait propolis örneklerinin toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteleri.....	37
Şekil 4.5.	Genç, Karlıova, Solhan bölgelerine ait propolis ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri.....	39
Şekil 4.6.	Genç, Karlıova, Solhan bölgelerine ait propolis örneklerinin doymuş yağ asitleri.....	50
Şekil 4.7.	Genç, Karlıova, Solhan bölgelerine ait propolis örneklerinin doymamış yağ asitleri.....	53
Şekil 4.8.	Genç, Karlıova, Solhan bölgelerine ait propolis örneklerinin kül düzeyleri.....	61

1. GİRİŞ

Bal arılarının evrimsel süreçteki başarısı, yeryüzünde hemen hemen tüm yaşam alanlarına yayılabilmelerini ve uzun yıllar yaşayan türler olmalarını sağlamıştır. Ülkemizde arıcılık sektörü geleneksel bir tarım faaliyeti olarak tarımsal üretime olan katkısı, elde edilen ürünlerin insan tüketimi ve sağlığındaki önemli yerinden dolayı çok uzun yıllardan beri yapılmaktadır. Bal arısı (*Apis mellifera* L.), hayat döngüsü boyunca oluşturduğu değerli ve sağlıklı ürünler ile insanların yaşam kalitesi üzerine yapmış olduğu olumlu katkılardan dolayı ekosistemin en önemli canlılarından biri olmuştur (Popova et al. 2005).

Tarih boyunca insanların sağlıklı ve dengeli beslenmelerinde önemli bir yeri olan arı ürünleri, birçok hastalığın iyileştirilmesinde ya da hastalık sürecinin yavaşlatılmasında kullanılmıştır. Bu medikal özellikleri bakımından tıp ve veteriner alanında alternatif veya destekleyici ürün olarak kullanılmaktadır. Arıcılık sektörünün en yaygın bilinen ve kullanılan ürünü baldır. Arının bal dışında propolis, polen, arı zehri, arı sütü ve bal mumu gibi birçok değerli ürünleri mevcuttur. Fakat bu değerli arı ürünlerinin üretimi ve aynı zamanda buna bağlı olarak tüketimi ülkemizde henüz istenilen düzeye ulaşamamıştır. Bu önemli arı ürünlerinden biri de propolistir (Borba et al. 2015).

Propolis, meşe, çam, kavak, huş, okaliptüs, kestane vb. ağaçlar ile bazı otsu bitkilerin tomurcuk, dal, yaprak ve benzeri kısımlarından bal-arıları tarafından toplanan ve mumla karıştırılarak elde edilen bir maddedir. Kovan içerisinde birçok amaca yönelik kullanılan zambak gibi yapışkan, reçinemsî, kokulu ve rengi koyu sarıdan kahverengiye kadar farklı renklerde olabilen bir maddedir (Borba et al. 2015).

Bal arıları propolisi polen, reçine ve mumsu maddeler ile bazı salgı bezlerinden salgıladığı aktif enzimlerle karıştırıp üretmektedir (Ghisalberti 1979; Marccucci et al. 1994). Propolis işçi arılar tarafından toplanır ve işçi arılar tek seferde ortalama 10 mg propolisi kovana taşıyabilir. Tarlacı arılar bitkinin özsuyunu veya reçinesini parçalar, 3. arka ayağının tibiası üzerinde corbiculate apidae denilen bölgede kovana getirerek propolisi kovanda çalışan işçi arılara aktarır. Kovan içerisinde bulunan işçi arılar propolisi ağızlarında çeşitli enzimler, polen ve bir miktar bal mumu ile birleştirir ve propolisin son halini oluşturur (Simoes et al. 2010).

Bal arıları propolisi kovanda çeşitli amaçlar için üretirler. Propolis, kovandaki delik, yarık ve çatlakların kapatılması, tamir edilmesi, kovan girişinin daraltılması veya kovanın dış ortamdan izole edilmesi, kovana giren zararlı canlıların mumyalanması ve çeşitli arı hastalıklarından koloniyi korumak amacıyla kullanılmaktadır (Kumova vd. 2002). Propolis, kovan içerisindeki hava sirkülasyonunun dengelenmesine, zararlı mikroorganizmaların gelişiminin engellenmesine ve kolonilerin hastalıklardan korunmasına yardımcı olmaktadır. Bu da propolisin kimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Ghisalberti 1979; Kumova vd. 2002). Propolis yapımında kullanılan reçine, bitkilerin patojenlere karşı oluşturduğu savunma mekanizması sonucunda üretilir (Giada 2013). Bal arılarının çeşitli bitki kaynaklarından reçineyi toplaması ise propolisin de koruyucu özelliğinin kaynağını oluşturur (Bankova et al. 2016).

Propolis, ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilmiş ve doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Eski Yunancada propolis kelimesi, pro (ilk ya da savunma), polis (şehir) anlamına gelmektedir ve Yunanlar tarafından ön savunma anlamında kullanılmıştır. Propolis, Mısırlılar tarafından bazı hastalıkların tedavisinde ve ölümlerin mumyalanmasında, Yunanlılar ve Romalılar tarafından ise deri apselerinin iyileştirilmesinde yüzyıllarca ilaç olarak kullanılmıştır (Sforcin et al. 2011). Propolis, medikal amaçlarla binlerce yıldan beri insanlar tarafından bilinen ve kullanılan bir arı ürünüdür. Eski çağlarda Mısırlılar, Yunanlar, Romalılar tarafından yaygın olarak kullanılmıştır. Hipokrat, Herodot, Aristo ve diğer antik dönem filozofları tarafından övgü ile söz edilen propolis, çok eski çağlardan bu yana insanlar tarafından kimi hastalıkların tedavisinde veya hastalıkların etkilerinin azaltılmasında kullanılmıştır. Bir rivayete göre ünlü Yunan filozofu Aristo tarafından bal arılarının çalışma sistemleri saydam kovan

kullanılarak incelemek istenmiş, fakat kovanın koyu renkte mumsu maddeler ile kaplandığı görülmüştür. Bu maddenin propolis olduğu tahmin edilmektedir (Crane 2013). Ayrıca propolis ahşap koruma, vernikleme veya cilalama amacıyla da kullanılmıştır. Propolis kullanılarak cilalanan kemanların 400 yıldan fazla sağlamlığını muhafaza ederek günümüze kadar ulaştığı bilinmektedir. Orta çağda Avrupalı ve Arap hekimler propolisi yaraların, yanıkların tedavisinde ve ağız içi dezenfektanı olarak kullanmışlardır. İnkalar propolisi ateş düşürücü olarak kullanmışlardır. 17. yüzyılda Londra’da ilaç prospektüslerinde propolis resmi ilaç olarak gösterilmiştir. 17. ve 20. yüzyıllar arasında Avrupa’da bu ilaç oldukça popüler hale gelmiştir. Günümüzde ise propolis hastalık tedavilerinde, apiterapide çeşitli şekillerde alternatif bir ürün olarak kullanılmaya devam etmektedir (Castaldo et al. 2002).

Propolisin kimyasal kompozisyonu, toplanılan bölgenin bitki örtüsü ve iklim gibi ekolojik özelliklere bağlı olarak değişmektedir. Bu durum propolisin çeşitliliğine katkı sağlamasına rağmen propolisin belli bir kimyasal standardizasyona sahip olmasını engellemekte ayrıca propolisin kalite kontrolünde bir sorun teşkil etmektedir (Kumova vd. 2002; Bankova 2005). Propolis içeriğinin farklılıklar göstermesinin nedenleri olarak arıların yaptıkları tercihler ve koloninin bulunduğu bölgedeki bitki kaynakları etkilidir (Bankova 2016).

Propolisin kimyasal içeriğinde 300’den fazla bileşen tespit edilmiş fakat bu bileşenlerin yalnızca 180 tanesi tanımlanabilmiştir. Propolis genel olarak %50 oranında reçine, %30 oranında balmumu, %10 oranında yağ, %5 oranında polen ve %5 oranında vitamin, mineral ve basit şekerler içermektedir (Burdock 1998). Propolis anti-bakteriyel, anti-viral, anti-fungal, anti-enflamatuar, anti-ülser, anti-tümör ve immünostimülatör gibi biyolojik aktivitelere sahiptir. Sahip olduğu biyolojik aktivitelerinden ötürü popüler bir ilaç olarak insan ve veteriner sağlığında, apiterapide, kozmetik ve ilaç sanayinde çeşitli amaçlarla kullanılabilir. Bu önemli özellikleri nedeniyle propolis günümüzde yoğurt, meyve suyu, krem, diş macunu, losyon, çaylar vb. değişik formlardaki ürünlerin içeriğine eklenmiş ve aynı zamanda dünya genelinde geniş kullanım alanları bulunan önemli bir arı ürünü haline gelmiştir (Graikou et al. 2016).

Genel olarak propolisin erime noktası 60-69 °C arasındadır (Woo et al. 1997). Düşük sıcaklıklarda sert ve katı halde, 0 °C 'de ise kırılğan özelliğe sahiptir (Burdock 1998). Su ve hidrokarbon çözücülerde düşük, alkollerde ise yüksek oranda çözünme gösterir (Campos 1997). Propolisin toplanmasında hava sıcaklığı önemli rol oynar (Hepburn et al. 1984). Genel olarak sabah erken saatlerde propolis toplama işi başlamalı, saat ilerledikçe ve sıcaklık derecesi arttıkça propolis toplama çalışmaları hızlanmalıdır aksi takdirde propolis toplama işi zorlaşır (Kaal 1992). Kovan başına ortalama propolis miktarı 50 ile 250 g arasındadır fakat bu verimin 600 g'a kadar çıkarılabileceği ileri sürülmektedir. Propolis verimine etki eden faktörler; kullanılan arı ırkının genotipi, gücü, üretim sezonun süresi, bitki florasındaki çeşitlilik ve koloninin propolis toplama davranışları olarak sıralanabilir (Burdock 1998).

Kovandan direk olarak elde edilen propolis bulaşıklık gösterebilir. Üretilen propolisin temizliğini kontrol etmek için sert ve katı haldeki propolis iyice ezildikten sonra bir miktar ılık su ile birlikte cam bir kavanozda iyice çalkalanır, yabancı maddelerin dibe çökmesi sağlanır (Burdock 1998).

Kovandan toplanan propolis dışında bal arılarının sindirilemeyen polen kabukları kullanarak ürettikleri ‘‘Balm’’ olarak adlandırılan bir propolis türü daha vardır. Bu tip propolis arının midesinden elde edilir. Proventrikuluste preslenen polen kabukları oesofagus gelir ve burada tekrar yoğrularak altın yeşili renkte propolis (Balm) elde edilir. Elde edilen bu madde, yavru gözlerinin pürüzlerinin giderilip cilalanmasında, peteklere sertlik kazandırılmasında ve yavru gözlerin iç yüzeylerinin yavru çıkışından sonra dezenfekte edilmesinde kullanılır. Balm'ın rengi zamanla koyulaştığı için yavru yetiştirmede kullanılan gözler zamanla esmerleşir (Genç vd. 2011).

Propolisin bitki kaynaklarının bilinmesi, arı yetiştiricilerinin bölgedeki bitki kaynaklarına hâkim olmaları açısından önemlidir. Eğer arılar çevrelerinde kendilerine uygun bitki kaynakları bulamazlarsa etrafta bulunan boya, zift, asfalt ve mineral yağları vb. istenmeyen maddeleri propolis üretiminde kaynak olarak kullanabilirler. Bu durum propolisin farmakolojik ve medikal kullanımı esnasında çeşitli olumsuzluklara sebebiyet verebilir (Bankova at al. 2000). Propolisin standardizasyonun uygun bir şekilde yapılabilmesi için öncelikle bitki kaynaklarının bilinmesi gereklidir. Bitki kaynağına göre

propolis tipinin kimyasal analizlerle belirlenmesi, kalite kontrolünde ilk basamak olmaktadır. Propoliste önemli bileşiklerin varlığı ve miktarı ile kontaminasyon durumunun belirlenmesi standardizasyon için önemlidir (Bankova 2005; Silici 2008).

Son yıllarda propolis ile ilgili yapılan çalışmalarla birlikte, propolisin önemli özellikleri ve etkileri ortaya konmuştur. Son 20 yıllık süreçte, arıcıların çalışma koşullarını ve bal hasadını zorlaştırması aynı zamanda da petekli balın pazar değerini düşürmesi nedeniyle kolonilerin propolis toplama eğiliminin düşük olması istenen bir özellik idi. Günümüzde ise propolisin dünya ticaretinde ve marketlerde düzenli olarak alınıp satılan bir ürün haline gelmesiyle propolisin ekonomik değeri de yükselmiştir. Propolis, oldukça geniş kullanım alanlarına sahiptir. Propolisin insan sağlığı dışında çimlenmeyi engellediği için yumrulu bitkilerin saklanması, mobilya sanayinde cila maddesi olarak, evcil hayvanların ayak-deri problemlerinin çözümünde ve endometritisin tedavisinde kullanılmaktadır (Kumova vd. 2002).

Propolis çok geniş kullanım alanına sahip olmasına rağmen, propolis üretim teknikleriyle ilgili ülkemizde ve hatta dünyada yapılmış çalışma sayısı çok sınırlıdır. Bilinen yöntemler yalnızca bir tavsiye niteliğinde olup, herhangi bir araştırma sonucuna dayanmamaktadır. Son yıllarda ülkemizde arı sütü ve arı zehri üretimine dönük bazı çabalar ve çalışmalar gözlenirken, propolis üretimi henüz çok yeni bir konudur. Propolisin de en az diğer arı ürünleri kadar değerli bir ürün olduğu yapılan çalışmalarla birlikte ortaya konmuştur. Ülkemizde propolis üretim teknikleri, propolisin muhafazası, propolisin işlenmesi ve kullanım şekli ile ilgili yapılmış çalışmalar yok denecek kadar azdır. Kaliteli bir propolis üretimi için uygun üretim yöntemlerinin mutlaka bilinmesi ve uygulanması gereklidir. (Kutluca vd. 2006).

Çalışma alanı olarak belirlenen Bingöl ili temiz su kaynakları, kirlenmemiş toprakları, geniş mera alanları ve zengin bitki örtüsüne sahip olmasından dolayı arıcılık sektörü için önemli bir merkezdir. Ayrıca bölgede işlenebilen tarım arazisi az olduğu için arıcılık bölge halkı için önemli bir gelir kaynağı teşkil etmektedir. İlin sahip olduğu topografin durum, bitki florasının çarpıcı bir çeşitlilik göstermesine ve arıcılık sezonunun uzun sürmesine olanak sağlamaktadır.

Bu çalışma kapsamında örnekleme metoduna uygun olarak Bingöl ili sınırları içerisinde tespit edilen arılıklardan toplanan numuneler kimyasal ve fiziksel analizle tabi tutulmuştur. Kimyasal analizler aşamasında ise GC-MS ve HPLC teknikleri kullanılarak propolis örneklerinin organik madde içeriği, yağ asitleri ve türevleri, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktiviteleri uçucu bileşenler, kül oranları ve protein oranları tespit edilmiştir. Sonuç olarak elde edilen bulgular literatürle karşılaştırılarak Bingöl ilinin propolis içeriği değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bulguların özellikle Bingöl ve Türkiye propolislerinin standardizasyonun oluşturulmasına aynı zamanda propolisin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi ile ilgili yapılacak çalışmalara önemli bir literatür kaynağı oluşturması hedeflenmiştir. Yapılan bu tez çalışması ile “Bingöl ili ve çevresinden elde edilen propolislerin bazı verim özellikleri bakımından karşılaştırılması” amaçlanmıştır.

1. KAYNAK ÖZETLERİ

Propolis ile ilgili ilk çalışma 1908 yılında propolisin kimyasal içeriği ve özellikleri üzerine yapılmıştır (Helfenberg 1908). Geçtiğimiz 40 yılda propolisin kimyasal içeriği ve kompozisyonu, biyolojik aktivitesi, farmakolojik özellikleri ve tedavi edici etkileriyle ilgili yapılmış birçok çalışma vardır. Bu konuda yapılan ilk kapsamlı çalışma 1978 yılında Ghisalberti tarafından gerçekleştirilmiştir (Ghisalberti 1978). Bu çalışmalardan 20 yıl sonra propolisin biyolojik aktivitesi ve kimyasal yapısına ait değerli bilgiler ortaya konmuştur. Türkiye’de propolis ile ilgili ilk çalışma Sorkun vd. (1994) tarafından propolisin etanol ekstraktlarının tohum çimlenmesi ve gelişimine olan etkisi üzerine gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, Türkiye propolisinin kimyasal içeriği ile ilgili Silici (2003) ve Gençay (2010) tarafından doktora tezleri hazırlanmıştır.

2.1. Propolisin Kimyasal İçeriği ve Propolis Bitki Kaynakları İle İlgili Yapılan Kaynak Çalışmaları

Banskota et al. (2000) Propolis içeriği toplandığı bölgenin topografik durumuna, bölgenin iklimine ve diğer ekolojik koşullara bağlı olarak değiştiğini ve bu yüzden propolis standardizasyonun pek mümkün olmadığını bildirmiştir.

Scheller (1990) çalışmasında propolisin bileşiminde, reçine, mumlu bitkiler, esansiyel yağlar, polen, organik ve mineral maddeler bulunduğunu bildirmiştir.

Schmit (1997) propolisin kimyasal bileşenleri ve bu bileşenlerin biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışma yapmıştır.

Walker (1987) propolisin yapısında 300’den fazla bileşik bulunur. Bu bileşiklerin başlıcaları fenolik bileşikler (flavonoidler ve fenolik asitler), sinamik alkol, benzoik asit ve türevleri, sinamik asit ve türevleri, monoterenler, diterpenler, triterpenler ve sesquiterpenler ile bunların alkol ve benzaldehit türevleri, diğer fenolik asit ve türevleri,

alkoller, ketonlar, heteroaromatik bileşikler, alifatik hidrokarbonlar, mineraller, steroid hidrokarbonlar ve aminoasitlerdir. Bunların yanı sıra steroller, hidrokarbonlar ve uzun zincirli alkoller gibi maddeler de bulunur. Ayrıca stearik, palmitik, nervolik, ekosapentanoik, araşidonik, oleik, linoleik ve linolenik asit propolisten izole edildiği bildirilmiştir.

Scheller (1990) propolisin en temel bileşenleri fenolik bileşikler olup bunların içinde en fazla tespit edilen bileşik grubunun flavanoidler olduğunu belirtmiştir.

Şahinler vd. (2005) Hatay, Adana ve Mersin yöresinden elde edilen propolisleri üzerine yaptıkları çalışmada propolislerin aromatik asitler, terpenoidler, hidrokarbonlar, yağ asitleri, alkoller ve diğer bir çok kimyasal bileşiği içerdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda propolisin anti-bakteriyel, anti-mantar, anti-viral, anti-enflamatuar ve anti-kanser özelliğinden sorumlu bileşikler tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin benzil sinnamate, metil sinnamate, kafeik asit, sinnamil sinnamate sinnamoylgline olduğu belirtilmiştir.

Kartal vd. (2002) Türkiye'nin farklı bölgelerinden (Ankara-Kazan ve Muğla-Marmaris) toplanan propolis örneklerinin GC-MS cihazında analizi ile ilgili yapılan çalışmada Ankara propolislerinde 24 bileşik, Muğla propolislerinde 18 bileşik tespit edilmiştir. Tespit edilen bileşiklerden Ankara'da 8 bileşik ve Muğla'da 2 bileşiğin propolis için yeni bileşik olduğu bildirilmiştir.

Sorkun vd. (2001) Bursa, Erzurum, Gümüşhane ve Trabzon illerinden elde edilen propolis ekstraktlarının kimyasal bileşenleri üzerine bir çalışma yapmıştır. Söz konusu çalışmada Erzurum ilinden elde edilen propolis örneklerinin yüksek oranda aromatik asit, ester ve alkol içerdiği ayrıca diğer illerden elde edilen örneklerden farklı bir yapıda olduğu belirtilmiştir. Bursa ilinden toplanan propolis örneklerinde ise yüksek oranlarda flavavon, aromatik asit esterleri, terpenoid ve keton içeriği bildirilmiştir.

Günümüze kadar propoliste tanımlanan bileşikler ve bunların sayıları tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Propolis'te Tanımlanmış Bileşenler ve Sayıları (Marcucci 1995)

Bileşikler	Tanımlanan Bileşik Sayısı
Flavonoidler	38
Hidroksiflavonlar	27
Hidroksiflavononlar	11
Kalkonlar	2
Benzoik asit ve türevleri	12
Asitler	8
Esterler	4
Benzaldehit türevleri	2
Sinamil ve sinamik asit ve türevleri	14
Alkoller, ketonlar, fenoller	8
Heteroaromatik bileşikler	12
Terpen ve sekuterpen ve türevleri	7
Alifatik hidrokarbonlar	6
Sekuterpen ve triterpen hidrokarbonlar	11
Steroller ve steroid hidrokarbonlar	6
Mineraller	22
Şeker	7
Aminoasitler	24

Aliyazıcıoğlu vd. (2013) Türkiye'nin 10 farklı ilinden elde edilen propolis örneklerinin kimyasal bileşenlerini araştırmıştır. Yapılan çalışmada tüm örneklerin yüksek oranda antioksidan etkinliğe sahip olduğu vurgulanmıştır. Bu etkinliğin ise ferulik asit, kuersetin, kafeik asit, benzoik asit ve kumarik asit gibi yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca vanilik asit, klorogenik asit, epikateşin, rutin, syringic asit ve p-kumarik asit düzeylerinin düşük olduğu bildirilmiştir.

Mercan vd. (2006) Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen propolis ekstraktlarının kimyasal bileşenleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, propolislerin krisin, apigenin, flavonoid, flavanon, naringenin, 3-4-dimetoksisinamik asit ve 9-octadecenoic asit

içerdiğini bildirmiştir. Sonuç olarak farklı kimyasal içeriğe sahip propolislerin farklı antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Bayram vd. (2017) Hakkâri ilinden elde edilen propolis ekstraktlarını GC-MS cihazında ile analiz etmiş, sonuç olarak yörenin propolislerinin yüksek düzeyde hidrokarbon, alifatik asit ve esterleri, karboksilik asit ve esteri, sinamik asit ve esterleri, flavonoid, alkol ve terpen içerdiği bildirilmiştir.

Üzel vd. (2005)'in Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen propolisler üzerine yaptıkları çalışmada; Bursa-Orhangazi, Bartın, Ankara-Mamak ve Trabzon yörelerinden elde edilen propolislerde pinosebrin, pinostrobin, isalpinin, pinobanksin, kuersetin, naringenin, galangin ve krisin gibi flavonoidlerinin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir.

Velikova et al. 2001'in Bursa, İzmir ve Bulgaristan propolisleri üzerine yaptıkları çalışmada söz konusu illerden edilen propolis örneklerinin temel yapısında bulunan flavonoidler, pinosebrin ve pinobanksin bakımından benzerlik olduğu ayrıca İzmir'den elde edilen propolis örneklerinin ise yoğun olarak 3,4-dimetoksisinamik asit içerdiği belirtmişlerdir.

Keskin vd. (2001)'in Marmara bölgesinde üretilen propolislerin üzerine yaptıkları çalışmada Balıkesir ve İstanbul'dan elde edilen propolislerde aromatik bileşikler, yağ asitleri ve seskiterpenler gibi sekonder metabolitlerin yüksek oranda bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Sorkun vd. (2006)'nin Türkiye'nin üç farklı bölgesinden elde edilen 12 propolis örneğinin (Anzer-Rize, Bartın-Sinop, Gümüşhane, Mamak-Ankara, Kazan-Ankara, Kemliye-Erzincan, Mersin, Muğla, Orhangazi-Bursa, Tahta köprü-Bursa, Trabzon, Yalova), Brezilya'dan 4 ve Japonya'dan toplanan 1 örneğin karşılaştırılması üzerine yürüttükleri çalışmada, propolislerin GC-MS ile organik madde içerikleri belirlenmiş, sonuç olarak Türkiye propolislerinin yüksek miktarda aromatik asit ve esterleri ile kafeik asit içerdiği ayrıca Türkiye propolislerinin Brezilya ve Japonya propolislerine göre daha yüksek konsantrasyonda flavanon içerdiği bildirilmiştir

Duran vd. (2011) Bursa ve Hatay illerinden elde edilen propolis örneklerinin sinnamil, sinamat, etil oleat, benzil sinamat, benzen dikarboksilik asit gibi aromatik asit ve esterlerinin yüksek konsantrasyonlarda içerdiği aynı zamanda Hatay propolislerinde krisin ve aromatik esterlerin yüksek oranlarda bulunduğunu bildirilmiştir.

Özan (2006) Propolisin içerdiği mineral maddeler ve elementlerle ilgili yaptığı çalışmada; propolisin kalsiyum, fosfor, potasyum, çinko, demir, mangan, titan, bakır, selenyum, barit, kurşun, nikel, kobalt, vanadyum, krom, kalay (0-110,60 mg/100g), kükürt, sodyum, klor, magnezyum, molibden, alüminyum, silisyum, civa, zirkonyum, flor, antimon içerdiği tespit edilmiştir. Mangan ve çinko oranının diğer elementlere göre daha yüksek miktarlarda olduğu, ayrıca propolisin B1, B2, B6, C, E, nikotinik ve pantotenik asit vitaminlerini içerdiği belirlenmiştir. Propolisin içerdiği vitamin miktarının düşük ve çok değişkenlik gösterebildiği ve propolisin serin, glikol, aspargin ve glutamik asitleri, alanin, triptofan, fenilalanin, levsin, sistin, lizin, histidin, arginin, prolin, trionin vb. yaklaşık 22 tane aminoasidi ihtiva ettiği bildirilmiştir.

Kumova vd. (2002)'nin propolis bitki kaynaklarıyla ilgili yaptıkları çalışmada; balarılarının propolis toplarken *Pinus* spp. (Cam) reçineleri, *Betula* spp. (Huş), *Populus* spp. (Kavak ve türleri), *Aesculus hippocastanum* (Atkestanesi), *Salix* spp. (Soğut), *Alnus* spp. (Kızıl Ağaç), *Abies* spp.(Kökner), *Prunus* spp. (Erik), *Ulmus* spp. (Kara Ağaç), *Quercus* spp. (Meşe), *Fraxinus excelsior* (Dişbudak) gibi önemli bitki türlerini tercih ettiklerini bildirmişlerdir.

Krell (1996) Amerika'da bulunan ağaç reçineleri ile ilgili yapılan bir çalışmada, bazı coğrafi bölgelerde, balarılarının propolis kaynaklarını sabit tercihler yaparak seçtiklerini bildirmiştir.

Wollenweber et al. (1997) Amerika propolisiyle ilgili yaptığı çalışmada bal arılarının bitki kaynağı olarak *Populus* türlerini tercih ettiği ancak *Populus* türlerinin yoğun olarak bulunduğu Arizona'da arıların *Populus* türleri yerine bölgede bulunan diğer bitki kaynaklarından da yararlandığı bildirilmiştir.

Doğan vd. (2012)'nin Bal arılarının propolis kaynağı olarak kullandığı bitkiler üzerine yaptıkları bir araştırmada, en önemli kaynağın kavak, kestane, dişbudak, huş, çeşitli erik

türleri ve söğüt olduğunu bildirmişlerdir. Ancak arıların propolis kaynağı olarak seçtiği bitki kaynaklarının bölgeden bölgeye farklılık gösterebildiği ve en az 67 tür bitkinin propolis kaynağı olduğunu bildirmişlerdir.

Chen at al. (1996) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı orijine sahip propolis örneklerinin farklı biyolojik aktiviteler gösterdiği tespit edilmiştir. Propolis bileşenlerinin; iklim, bitki kaynağı, bölge florası ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişti ifade edilmiştir. Yaygın propolis türleri ve karakteristik özellikleri tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. Yaygın Propolis Türleri ve Karakteristik Özellikleri

Propolis tipi	Coğrafik bölge	Bitki türü	Ana bileşikler
Kavak propolisi	Avrupa, Kuzey Amerika, Asya (tropik olmayan), Avustralya ve Yeni Zelanda	<i>Populus spp.</i> , <i>P. nigra L.</i>	Flavonlar, flavononlar, sinamik asit ve esterleri
Huş propolisi	Rusya ve kutup bölgesi	<i>Betula verrucosa</i>	Flavonlar ve flavonollar
Yeşil propolis	Brezilya	<i>Baccharis spp.</i> , <i>B. dracunculifolia</i>	Prenilatlı <i>p</i> -kumarik asit ve diterpenik asit
Kırmızı propolisi	Küba, Brezilya ve Meksika	<i>Dalbergia spp.</i>	İzoflavonoidler (izoflavonlar, pterokarpanlar)
Akdeniz propolisi	Sicilya, Malta, Yunanistan ve Girit	<i>Cupressaceae</i>	Labdane tip diterpenler
Clusia propolisi	Küba, Venezüella	<i>Clusia spp.</i>	Poliprenilatlı benzofenonlar
Pasifik propolisi	Pasifik Okyanusu Bölgesi (Tayvan, Endonezya) ve Okinawa adaları	<i>Macaranga tanarius</i>	C- prenil- flavonlar

Özan (2006) bal arılarının propolisi toplarken tükürük bezlerinden salgılanan maddelerin propolise karıştığını işaret etmiştir. Bu maddelerin ise bazı doymamış yağ asitleri ve 10 hidroksi-2 dekononik olduğunu bildirmiştir. Arıların bu maddeleri mandibular bezlerinden

salgıladığını, bu maddelerin arı sütünün temel yapı taşı oluşturduğunu, ayrıca bu maddelerin propolisteki miktarının yaklaşık olarak %7,2 olduğu belirtmiştir. Söz konusu propolisin yapısında maddelerin, propolisin mekanik karışımlardan ve bal mumundan arındırıldıktan sonra tespit edildiğini bildirmiştir.

Silici (2005) propolisin süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenzin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içerdiğini belirtmiştir. Akdeniz Bölgesi'nden (Sicilya ve Adriyatik kıyıları) toplanan propolisler tek tip özellik gösterip, temel bileşeni diterpenik asitler iken Brezilya'dan toplanan propolislerde farklı içerikler bulunduğu bildirilmiştir. Farklı bitki türlerinden örnekler alınmış ve *Populus nigra* (karakavak) türündeki birçok bileşiğin, bitki öz suyunda hiçbir değişikliğe uğramadan propolisin yapısına katıldığı belirlenmiştir.

Engür (2007) karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolislerin (Asya, Avrupa, Kuzey Amerika vb.) başlıca bitki kaynağının kavak türleri ve tomurcukları olduğu belirlemiş aynı zamanda çeşitli flavonoidlerini içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri bakımından oldukça zengin olduğu belirlemiştir. Kavak türleri karasal iklim bölgelerinde yaygın olarak bulunmasına karşın tropik ve subtropik bölgelerde yetişmemektedir. Bu sebeple bu bölgelerde balarını başka propolis kaynaklarını tercih etmektedirler. Böylece tropik bölgelerde üretilen propolisin kimyasal yapısının kavak propolisinden tümüyle farklılık gösterdiği bildirilmiştir.

Bankova (2003) Brezilya propolisinin ana kaynağını *Baccaris dracunculifolia* (Cyote brush)'ın oluşturduğunu ve bu propolis tipinde temel kimyasal bileşen sınıfı olarak prenillenmiş p-kumarik asit ve asetofenon türevleri olduğunu saptamıştır. Aynı zamanda kavak propolisinden tamamen farklı olarak diterpenler, lignanlar ve flavonoidler içerdiğini belirlemiştir. Dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde tespit edilen başlıca bileşiklerin; flavon ve flavonoidler, pinosembirin, pinobanksin, organik ve yağ asitleri, kafeik asit, 9-hekzadekanoik asit, sinamik asit, ferulik asit, terpenler, lignanlar, ketonlar, hidrokarbonlu bileşikler olduğunu bildirmiştir.

Kujumgiev et al. (1999) yaptıkları bir çalışmada tropikal bölgelerden elde edilen propolis örneklerinin büyük bir çoğunluğunun CAPE (kafeik asit fenetil ester) bileşiği içermediği saptanmıştır. Bu durumdan dolayı CAPE veya herhangi bir propolis etken maddesi

üzerinden bir standardizasyon yapılamayacağı bildirilmiştir. Ayrıca Avrupa propolislerinde bitki kaynağı olarak kavaktan gelen etken maddenin CAPE bileşiği olduğu saptanmıştır. Böylece propolisin standardizasyonu; farklı bitki türlerine ve kimyasal bileşimlerine göre yapılarak bir standart sonucunda oluşturulabilir. Propolis standardizasyonun yapılabilmesi için, propolisin ihtiva ettiği etken maddelerin belirlenmesi ve kalite kontrolünde de bu maddelerin kullanılmasını gerektiği bildirilmiştir.

2.2. Propolis ile İlgili Yapılan Diğer Çalışmalar

Thomson (1990) propolisin antioksidan özellikleriyle ilgili yaptığı çalışmada biyolojik aktivitelerde önemli bir etmen olan serbest radikallere karşı, içeriğindeki antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler ve ayrıca %5-10 oranında düşük yoğunlukta önemli biyolojik aktiviteye sahip olan uçucu yağların antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir.

Katalinic et al. (2004) propolisin yüksek antioksidan içeriği nedeniyle gıda sanayisinde oksidasyona karşı etkili olabileceği ve insan beslenmesinde katkı maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmiştir.

Özan (2006) propolisin temel komponentinin flavonoidler olduğunu ve propolisin flavonoid yapısının toplandığı bitkiye bağlı olarak bazı farklılıklar gösterebildiğini belirtmiştir. Propoliste bulunan bütün komponentlerden flavonoidlerin %25 düzeyinin üzerinde olduğunu, flavonların serbest radikal temizleme özelliklerinden dolayı antioksidan aktivite gösterip lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve alternatif olarak metal şelat oluşturmalarından ötürü de antioksidant olabileceklerini bildirmiştir.

Güney (2016) tarafından farklı dozlarda propolisin meyveli yoğurtlarda doğal bir koruyucu olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışmada propolisin meyveli yoğurtlarda antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, kimyasal ve duyuşal özelliklere etkisi gözlemlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda; meyveli yoğurt örneklerinde antioksidan aktivitede artış, mikrobiyal gelişimde ise yavaşlama gözlemlenirken, kimyasal ve duyuşal özellikler arasında propolis katkısının önemli bir farklılığa sebep olmadığı bildirilmiştir.

Bernardi et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, İtalya’da farklı konsantrasyonlarda propolisin İtalyan tipi salamda lipit oksidasyonu, mikrobiyal bozulma, pH, renk, su aktivitesi, ağırlık kaybı ve duyuşal özellikler üzerine etkisi gözlemlenmek istenmiştir. Propolisin salamda renk, pH, ağırlık kaybı ve su aktivitesine olumsuz bir etki yapmadığı aynı zamanda depolama süresi boyunca oksidasyonu önlediği ve duyuşal testlerde daha düşük sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir.

Kumrath et al. (2017) tarafından Brezilya’da yapılan bir çalışmada İtalyan tipi salama yapay antioksidan olan bütıl hidroksi tolüen ile propolis katılmış ve antioksidatif etkileri karşılaştırılmıştır. Propolis katılan örneklerde fermentasyon süresi boyunca daha düşük oksidasyon gözlemlendiği bildirilmiştir.

Aly et al. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada farklı konsantrasyonlarda propolis katkısının (250, 500, 1000 ppm) Ras peyniri yüzeyine uygulanmasının *Aspergillus versicolor* türü küfün gelişimi üzerine etkisi araştırılmıştır. 90 günlük olgunlaşma süreci sonunda düşük konsantrasyonlarda propolis katkısının küf gelişimini durdurucu bir etki gösterdiği ancak yüksek konsantrasyonlardaki propolis katkısının küf gelişimini ve toksin üretimini tamamen durdurduğu ve kontrol grubunda küf gelişimine orantılı olarak toksin üretildiği bildirilmiştir.

Ali vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada propolis katkısının yöresel sucukların raf ömrü üzerine etkisi araştırılmıştır. %0,6 düzeyinde propolis ekstraktı ilave edilen örnekler ve kontrol grubu 5°C’ de buzdolabında saklanmış ve bozulma başlangıç süresi gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda bozulma 12. günde başlarken, propolis katkılı sucuklarda ise bozulma başlangıcının 21. güne kadar uzadığı bildirilmiştir.

Jian-xin et al. (2011) tarafından Çin’de yapılan araştırmada; propolis ilave edilen yoğurtların antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışmada propolisin *S. Auerus*, *E. Coli* aynı zamanda *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi bağırsak florasında da bulunan yararlı bakteriler üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Düşük konsantrasyonda propolis katkısının *S. auerus* ve *E. coli* gelişimi üzerine yavaşlatıcı etki gösterirken, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* üzerinde çok düşük düzeyde etki gösterdiği bildirilmiştir.

Koç vd. (2007) tarafından Türkiye’de yapılan bir çalışmada propolis ilave edilen meyve suyu örneklerinin anti fungal aktivitesi araştırılmıştır. 4 farklı meyve suyunda (elma, portakal beyaz üzüm ve mandalina suyu) propolis ve sodyum benzoat ilavesinin farklı küf türleri üzerine etkisi incelenmiş, propolisin küf türleri ve meyve sularında sodyum benzoata göre daha fazla anti fungal etki gösterdiği ifade edilmiştir.

Yang et al. (2017) Çin’de meyve sularının propolisle muamelesine yönelik yaptıkları çalışmada; portakal suyunda kullanılan sodyum benzoat ve potasyum sorbat ile propolisin koruyucu etkisi karşılaştırılmıştır. Portakal suyuna yaklaşık aynı miktarlarda propolis, sodyum benzoat ve potasyum sorbat ilave edilmiş, propolis katkılı örneklerde bakteri gelişiminin önemli ölçüde önlendiği bildirilmiştir.

Sağdıç vd. (2007) Elma suyunda E.coli ve E.coli O157:H7 suşunun gelişimini önlemek amacıyla yaptıkları çalışmada propolis kullanılmıştır. 4 farklı örnek grubu kontamine edilmiş (kontrol, %1, %2 ve %5 propolis katkılı) 4 ve 25°C’ de 18, 24, 48 ve 72. saatlerde mikrobiyal gelişim gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda %2 ve %5 propolis konsantrasyonlu elma suyu örneklerinde önemli bir antimikrobiyal aktivite gözlemlendiği tespit edilmiştir.

Han et al. (1995) Yaptıkları çalışmada propolisin anti mikrobiyal etkisi nedeniyle et ürünlerinde kimyasal koruyucu olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Mizuno (1989) Yaptığı çalışmada gıda paketlenmede germisit ve insektisit etkisi nedeniyle propolis kullanmış ve olumlu sonuçlar alındığını bildirmiştir.

Ghilbershti (1979) Çalışmasında propolis örneklerinin dondurulmuş balıkların raf ömrü üzerinde 2-3 kat daha fazla olumlu etki yaptığını bildirmiştir.

Burdock (1998) Propolisin gıda teknolojisinde ve konservecilik sektöründe kimyasal koruyucu olarak kullanılabildiğini bildirmiştir.

Erkmen vd. (2008) Türk propolisinin, defne ve polenlerinin ilgili patojen mikroorganizmalar (bakteri ve funguslar) üzerinde beslenme ile ilgili antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, antimikrobiyal aktivitenin konsantrasyona bağlı

olduğu aynı zamanda propolis, defne ve uçucu yağların gıda işleme ve muhafazasında biopreservative ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Azevedo et al. (1986) Propolis vücut direncini arttırmak amacıyla günde 30 - 60 mg'a kadar alınabileceğini belirtmiştir. Tedavi edici amaçla, kardiyovasküler sistem ve kan dolaşımı rahatsızlıklarında, kulak, burun, boğaz problemlerinde (boğaz enfeksiyonları, farenjit, larenjit, rinit, sünizit, kulak iltihabı) kullanılabileceğini bildirmiştir.

Perez et al. (1995) Propolisin genel akciğer hastalıklarında, kısmi olarak tüberkülozun tedavisinde, rektum hastalıklarında, oral enfeksiyonlarda (dental hijyen ve ağız kokusunda, dişeti, dil, pamukçuk) üriner sistem rahatsızlıklarında (mesane ve böbrek) ve genital enfeksiyonlarda (erkeklerde prostat problemleri, kadınlarda vajinal trichomoniasis) kullanılabileceğini belirtmiştir.

Morales et al. (1997) Yaptıkları çalışmada; propolisin dermatolojide, kesiklerde, yaralarda birinci ve ikinci dereceden yanıklarda, soğuk ısırmaları (parmak, yüz ve kulakta), mayasıl, nasır, çıban, egzamada, sedef hastalığında, mantar hastalıklarında, zona hastalığında, derideki renk bozulmalarında kullanılabildiği belirtilmiştir.

Ghisalberti (1979) Propolisin dermatolojik hastalıkların tedavi sürecine etkisi ile ilgili çalışma yapmıştır. 50 hasta üzerinde yaptığı çalışmada acriflavine hydrochoride, arnica ekstratı (dağ tütünü ekstraktı), borik asit karışımından hazırlanan ve Peru balsamı olarak bilinen bir pomat kullanılmıştır. Kontrol grubunda toplam 213 günde iyileşen hastalığın, propolis uygulanan grupta ise 96 günde tedavi edildiğini bildirmiştir. Propolisin romatizmal hastalıklarda, arpacık gibi çeşitli yangı tiplerinde tedavi amacıyla kullanılabildiği bildirmiştir

Morales et al. (1997) Yaşları 1-92 arasında değişen 114 erkek ve 115 kadın üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda, propolisin yara ve yanıkları 11 günde, mikrobik yaraları ise 17,5 günde tamamen iyileştirdiğini ve ayrıca ülser tedavisinde 36 günde %67 oranında bir gelişme olduğu bildirilmiştir.

Krell (1996) Propolisin cildi nemlendirme, yenileme, kırıksıklıkları giderme ve anti bakteriyel özelliklerinden dolayı kozmetik sanayinde, kremlerde, çeşitli losyonlarda

kullanılabileceğini belirtmiştir. Ayrıca %2'lik propolisin genel olarak merhemlerin antibakteriyel etkilerini artırdığını bildirmiştir.

Scheller (1990) Propolis spreyleri veya merhemlerinin kronik vajinitis, serviks uteri lezyonları gibi genital hastalıkların tedavisinde lokal olarak kullanılabileceği belirtmiştir. Ayrıca propolisin anestetik etkisinin bulunduğu, bu etkinin de propolisin içerdiği esansiyel yağlardan kaynaklandığı bildirmiştir.

Santos et al. (2002) Yaptıkları çalışmada propolisin ağız bakterilerine karşı oldukça etkili olduğunu, plak oluşumunu engellediğini ve ayrıca propolisin bazı antibiyotiklere kıyasla daha etkin olduğu bildirmiştir.

Kumova vd. (2002) Propolisin Beriberi, deri ülseri, ağız yaraları, diş ağrısı, mide ülseri, böbrek bozuklukları, diyabet, kemik erimesi, nefes darlığı, sedef, iyi huylu tümör, bronşit, Parkinson, ikinci derece yanıklar, uçuklar gibi hastalık ve rahatsızlıkların tedavisinde kullanılabileceğini bildirmiştir

Abdel-Rahman et al. (2013) Propolisin hayvan yem formülasyonlarında katkı maddesi olarak kullanılmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada; tavuk ve ördeklere verilen propolis katkılı yemlerin büyümeyi hızlandığı, vücut ağırlığını olumlu etkilediği ve yemden yararlanmayı arttırdığı bildirilmiştir.

Duran (2007) Propolisin kimyasal bileşenleri ve bazı aktiviteleri ile ilgili Flavonoidler (antimikrobiyal etki, ateş düşürücü, antioksidant, kılcal damarların geçirgenliğinin azaltılması, kanama durdurucu), Krizin (Tümör hücrel toksisite, Anti-*Helicobacter pylori*), Apigenin (Gastrit ülserin iyileştirilmesi), Acacetin (Ateş düşürücü) Kuersetin (Anti viral, kılcal damar güçlendirici, anti-tümöral aktivite, spazmolitik), Kaempferol-7,4'-dimetil eter ve Ermanin (Anti fungal etki), Galanjin (Bakteriostatik aktivite, Anti bakteriyel ve anti fungal etki), Pinosembrin (Bakteriyostatik aktivite, anti fungal, anti mikrobiyal aktivite, *in-vitro* ve harici kullanım, lokal anestetik, anti-*Helicobacter pylori* aktivitesi), Ferulik asit (Anti bakteriyel etki, aglutinant etki, kollojenik etki), Isoferulik asit(*Staphylococcus aureus*'a karşı etkinlik), Benzoik asit(Bakteriostatik ve bakterisite etki, balzamik ve antiseptik aktivite), Sinnamik asit(*Staphylococcus aureus*'a karşı

etkinlik), p-Kumarik asit benzil ester(Antimikrobiyal ve anti fungal aktivite), Kafeik asit(Anti viral, bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmalar üzerine anti bakteriyel aktivite, ateş düşürücü özellik), Kafeik asit fenetil ester(Anti-tümoral aktivite) gibi etkiler gösterdiği bildirilmiştir.

Hay et al. (1990) Propolisin faydalı özelliklerinin yanı sıra toksik ve alerjik özellikleri de araştırılmıştır. Propolis kullanan kişilerde zehirlenme belirtisine rastlanmadığı ve bazı alerjik reaksiyonların bulunmadığı bildirilmiştir.

Callejo et al. (2001) Propolis kullanım dozajı ile ilgili yaptıkları bir araştırmada; düşük dozlarda propolis kullanımının güvenli olduğu ancak 15g/gün dozajdan fazla kullanıldığında ise ciltte ve mukoz membranlarda irritasyonlara neden olan alerjik yan etkilerinin görüldüğü bildirilmiştir.

Castaldo et al. (2002) Astım hastalarının, ısırğan otuna hassas ve egzamalı kişilerin tedavisinde kullanılırken çok dikkatli olunması gerektiğini vurgulamıştır.

Ernst (2002) farelerde medyan letal doz 2-7,3 g/kg iken yetişkin insanda propolis güvenli seviyesi 70 mg/gün olduğunu belirtmiştir. Gebelerde ve emzirenlerde propolis kullanımının etkinliği ya da yan etkileri hakkında herhangi bir bilgi bulunmadığı bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Propolis örnekleri ve Arılıkların Belirlenmesi

Tez çalışmasının ana materyalini Bingöl ili sınırları içerisinde yer alan Solhan, Genç ve Karlıova ilçelerinden elde edilen propolisler oluşturmıştır. Tez çalışmasında kullanılan propolisler Bingöl Arıcılar birliğine bağlı aktif arıcılık yapan üreticilerden temin edilmiştir. Çalışma numuneleri propolis toplama eğilimi yüksek olan Kafkas arısı ve genotiplerinin kullanıldığı kolonilerden elde edilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında örnekleme metoduna uygun olarak Bingöl ili sınırları içerisinde belirlenen bölgelerden elde edilen propolis örneklerinin kimyasal içerikleri tespit edilip ve bazı özellikler bakımından karşılaştırılmıştır.

3.1.2. Çalışma Alanının Belirlenmesi ve Tanımlanması

Bingöl ili için tarımsal üretimin mihenk taşlarından birisi arıcılık sektörüdür. Yapılan tez çalışması kapsamında Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Bingöl ili ve sınırları içerisinde yer alan Solhan, Genç ve Karlıova ilçeleri çalışma alanı olarak belirlenmiştir. Çalışma alanını temsil eden harita Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Bingöl İl Haritası

3.1.2.1. Bingöl İlinin Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı

Bingöl ili Doğu Anadolu Bölgesi'nin Yukarı Fırat bölümünde yer alan 38°27' ve 40°27' doğu boylamlarıyla 41°20' ve 39°54' kuzey enlemleri arasında bulunmaktadır. Bingöl ili doğuda Muş, kuzeyde Erzincan ve Erzurum, batıda Tunceli ve Elazığ, güneyde ise Diyarbakır ili ile komşudur. (Anonim 2016a). Doğu Anadolu'nun en zengin orman alanlarına sahip olan illerden biri olan Bingöl'de ağaç türü olarak meşenin meydana getirdiği ormanlar yaygındır. Bu ormanlar 1900 m. Yüksekliğe kadar yayılış gösterir. İlin toplam arazisi 812,537 hektar olup bu arazinin kullanım durumu; %7,28'i tarım arazisi, %27,92'si orman, %10.25'i ağaçlandırma alanı, %51'i mera, %2,2'si çayır ve % 1,3'ü diğerleridir. İldeki başlıca yaylalar Bingöl Yaylası, Şerafettin Yaylaları, Genç'te Çötele (Çotla) Yaylası, Karlıova'da Hırhal ve Çavreş Yaylası, Kiğı'da Kiğı Yaylası ve Dağın Düzü Yaylaları, Adaklı'da Kârer Yaylası'dır. (Anonim 2016b).

3.1.2.2. Genç İlçesi Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı

Genç (GB) Murat Nehri vadisinde 1712 km²lik alan üzerinde kurulmuş olup kuzeyinde Bingöl merkez, doğusunda Solhan ilçesi, güneyinde Diyarbakır iline bağlı Kulp-Lice-Hani ilçeleri, batısında ise Elazığ iline bağlı Arıcak- Palu ilçeleriyle çevrelenmiştir. İlçenin toplam sınır uzunluğu 194 km, deniz seviyesinden yüksekliği ise 1125 metredir. Genç ilçesi dağlık ve engebeli bir arazi yapısına sahip olup, belli başlı dağları doğuda Akçakara, batıda Akdağlar, güneyde ise Koz dağlarıdır. Bu dağların büyük bir kısmı ormanlarla kaplı olup, orman örtüsü bakımından Bingöl'ün en zengin ilçeleri arasındadır. (Anonim 2016a).

3.1.2.3. Karlıova İlçesi Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı

Karlıova (KB) ilçesi, Doğu Anadolu Bölgesinin Yukarı Fırat Bölümünde bulunmaktadır. Bingöl merkez ilçesinin kuzeydoğusunda bulunan saha, kabaca doğu - batı doğrultusunda uzanış gösteren ve çoğunlukla 3000 m yüksekliğindeki dağların (Karagöl Dağları 3057 m, Bingöl Dağı 3193 m, Şeytan Dağları 2.839 m, Şerafettin Dağları 2388 m) orta kesiminde yer alır. Genel olarak yükseltisi 1900 metreyi aşan, yüksek düz alanların geniş yer kapladığı yöre, aynı zamanda birkaç akarsuyun (Peri Suyu, Göynük Çayı, Murat Nehri) kaynaklarını aldığı higrografik sınır olma özelliğine de sahiptir. İlçenin yüzölçümü

1311 km²'dir. Bunun il yüzölçümüne oranı %16,60'dır. İlçenin deniz seviyesinden yüksekliği 1940 metredir. İl merkezinden uzaklığı ise 70 km'dir(Anonim 2016a).

3.1.2.4. Solhan İlçesi Coğrafi Konumu ve Topografik Yapısı

Solhan (SB), doğusunda Muş, batısında Bingöl il merkezi, kuzeyinde Karlıova ve Varto, güneyinde de Diyarbakır ve Genç ilçesi ile çevrelenmiştir. İstanbul-İran transit yolu üzerinde olup, Bingöl İl'ine 60 km. uzaklıktadır. İlçenin yüzölçümü 1114 km²'dir. Bunun il yüzölçümüne oranı %13,71'dir. İlçenin deniz seviyesinden yüksekliği 1395 olup Doğu Anadolu Bölgesi'nin yüksek yayları üzerinde bulunmaktadır. İlçe topraklarının büyük bölümünü engebeli alanlar ve meralar oluşturmaktadır. Güneydoğu Torosların devamı niteliğindeki dağlar ilçenin güney sınırlarından geçmektedir. Bölgedeki dağların yüksekliği 2000 m'yi geçer. İlçe topraklarının bir bölümü lav örtüsüyle kaplıdır. Bu engebeli arazi üzerinde bulunan dağların en önemlileri Şerafetin Dağları'dır. İlçenin kuzeyini tamamen kaplayan Şerafetin Dağları'nın en yüksek noktalarını; 2388 m yükseklikteki Esentepe ve 2675 m yükseklikteki Şahin tepe oluşturmaktadır. Bu dağlar arasında geniş meralar yer almaktadır. (Anonim 2016a).

İlçenin en önemli akarsuyu Murat Nehri'dir. İlçe dışında ise Buğlan Çayı, Baz Deresi, Masala Deresi önemli akarsularıdır. İlçenin önemli yaylaları ise; Şerafetin, Ağması Çevkani, Kuçekan, Kandil ve Kabak Yaylalarıdır. (Anonim 2016a).

3.2. Yöntem

3.2.1. Propolis Örneklerinin Toplanması

Propolis örnekleri Genç(GB), Karlıova(KB) ve Solhan(SB) ilçelerinde belirlenen aralıklardaki kovanlardan toplandı. Her ilçede 3 farklı aralık belirlendi. Belirlenen aralıklar sırasıyla şu şekildedir. Genç ilçesinden Yaz Konağı köyü(GB1), Sağgöze köyü(GB2), Çotla yaylası(GB3), Karlıova ilçesi Kaynarıpınar köyü(KB1), Halifan köyü(KB2), Kargapazarı köyü(KB3), Solhan ilçesi Şerafettin yaylası(SB1), Bozkanat köyü(SB2), Göksu köyü(SB3) olarak belirlendi. Belirlenen kovanlardan popülasyonu temsil edecek şekilde her aralıktan 3'er adet propolis numunesi toplandı. Propolis örnekleri kovan giriş-çıkışlarından, kovan dip tahtasından, uçuş deliklerinden ve kovan kapakları arasındaki boşluklardan ıspatula yardımıyla kazınarak elde edildi. Propolisler 2019 yılı kasım-aralık

aylarında toplandı. Propolis örneklerinin toplandığı bölgeler ve rakımları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Propolis Örneklerinin Toplandığı Bölgeler ve Rakımları

Çalışma Bölgesi	Rakım (m)
Yaz Konağı köyü(GB1)	1645 m
Sağgöze köyü(GB2)	1723 m
Çotla yaylası(GB3)	2346 m
Kaynarpınarköyü(KB1)	1630 m
Halıfan köyü(KB2)	1797 m
Kargapazarı köyü(KB3)	1672 m
Şerafettin yaylası(SB1)	2544 m
Bozkanat köyü(SB2)	1915 m
Göksu köyü(SB3)	1865 m

3.2.2. Propolis Örneklerinin Muhafaza Edilmesi

Elde edilen propolis örnekleri toplandıkları bölgelere göre gerekli etiketlemeler yapıldıktan sonra kimyasal analizler aşamasına kadar -80 °C dondurucuda muhafaza altına alındı.

3.2.3. Propolis Ekstraktlarının Kimyasal Analizler İçin Hazırlanması

Propolis örneklerinin kimyasal içeriklerinin belirlenmesi aşamasında örnek hazırlanması işlemi için şu yöntemler uygulandı.

1. Toz haline getirilen propolis örnekleri tartılarak üzerine üç katı kadar etil alkol eklendi ve karıştırıldı.
2. Hazırlanan karışım +4°C’deki buzdolabında yaklaşık bir ay süre ile bekletildi ve bu süre içerisinde propolisin iyi bir şekilde çözünmesi için günlük olarak karıştırma işlemi yapıldı.

3. Bir ay süre sonunda buzdolabından alınan karışım hot-plate üzerinde 35°C’de 5 saat süre ile karıştırıldı
4. Bu süre sonunda tamamen homojen hale gelen karışım dışta Whatman 1 içte Whatman 4 olacak şekilde huniye yerleştirilip filtre kâğıtlarından süzüldü ve işlem iki kez tekrarlandı.
5. Elde edilen ekstraktan 1,5 ml alınarak kuruyuncaya kadar buharlaştırıldı.
6. Kurutma işlemi sonucunda elde edilen kalıntı 75 µl kuru pyridine ve 50 µl bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) ile 80-100°C’de 20 dk ısıtma işlemine tabi tutuldu.
7. Son aşamada ekstraktan 1,0 µl alınarak GC-MS’e akıtma yapıldı (Velikova et al. 2000).

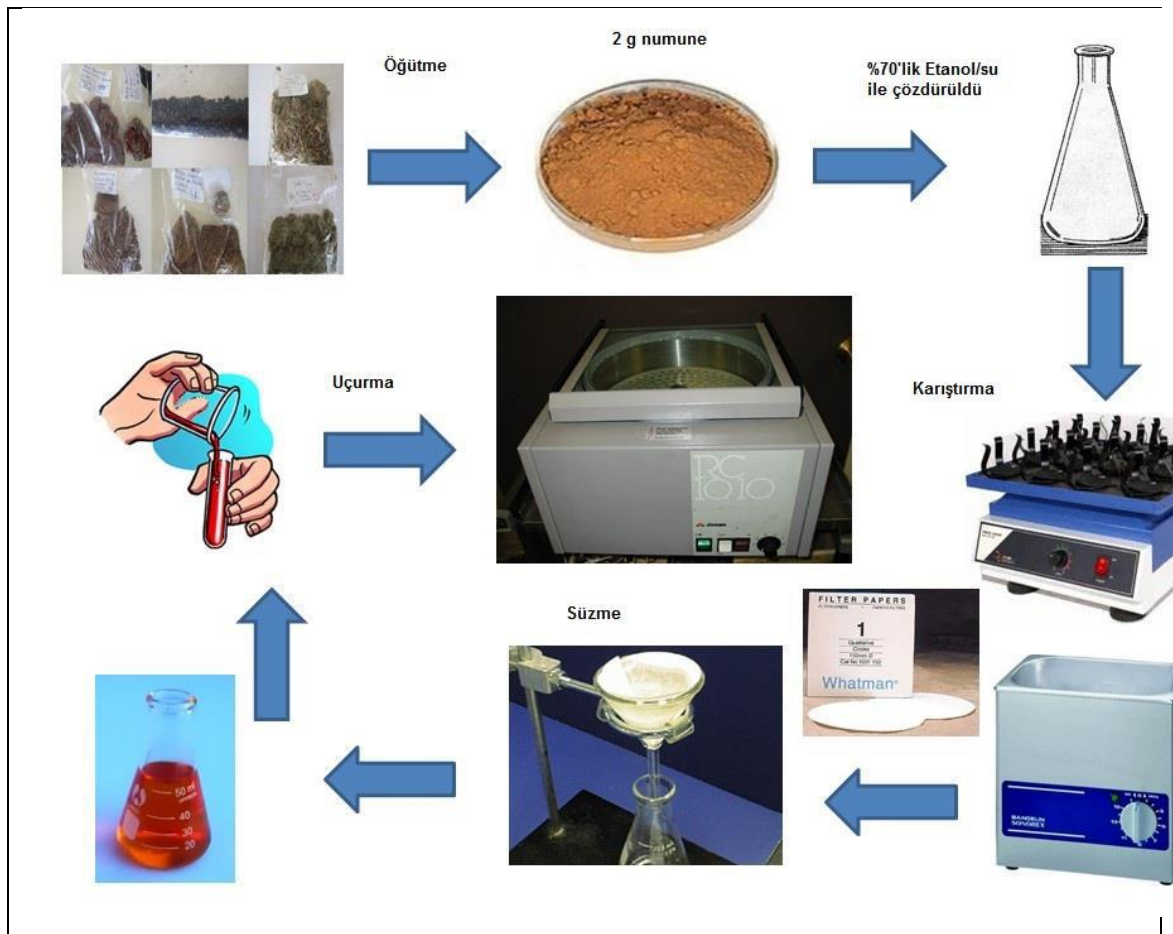
3.2.4. Propolis Örneklerinin Kimyasal Analizi

Propolis örneklerinin kimyasal analizleri aşamasında GC-MS (Mass Spectrometry - Gas Chromatography) teknikleri kullanılarak propolis içerisinde az miktarda bulunan ve organik çözücülerde çözünen bileşikler, yağ asitleri ve türevleri, bazı uçucu bileşenler tespit edilmiştir.

3.2.4.1. Propolis Ekstraktlarının GC-MS ile Analizi

Ekstrakte edilen propolis örneklerinin lipid ekstraksiyonu için Hara ve Radin (1978) yöntemi revize edilerek kullanıldı. Dondurulan ham propolis örneklerinden yaklaşık 2 gr tartıldı ve güçlü bir öğütücüde öğütülüp yüzey alanı arttırıldı. Propolis örneği homojenizatörde 10.000 rpm de 30 sn ile 10 mL hekzan/izopropanol (3:2) içerisinde parçalandı ve 5000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Üst kısım alınıp, süzülerek deney tüplerine kondu. Yağ asitlerinin GC’de bakılabilmesi için türevlendirilmesine ihtiyaç vardır. Metil esterleri ile türevlendirme sıklıkla tercih edilmektedir. Bu amaçla, Christie (1990) metodu pratik ve yüksek verimli olduğu için tercih edildi. Bu metoda göre: metil esteri hazırlamak için üstte hazırlanan lipid ekstraktı 30 mL kapaklı tüplere alındı. Üzerine %2 lik metanolik sülfürik asitten 5 mL eklenip vortekslendi. Bu karışım 50 °C’lik etüvde 15 saat metillenmesi için bekletildi. 15 saat sonunda tüpler çıkarılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 mL %5lik NaCl eklenerek vortekslendi. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri (FAME), 5 mL hekzan ile ekstrakte edildi ve hekzan fazı üstten

pastör pipeti ile alınarak 5 mL %2'lik NaHCO_3 ile muamele edilmiştir. Fazların ayrılması için 1-2 saat bekletildi. Daha sonra metil esterlerini ihtiva eden karışımın çözücüsü 45°C de azot altında uçurularak ve deney tüplerinin altındaki yağ asitleri 1 mL hekzan ile çözülerek GC viallerine alınarak GC-MS cihazında analiz edilmiştir. GC-MS analizi ile Bingöl ilinden elde propolislerin uçucu bileşenleri ve yağ asitleri tespit edilmiştir. GC-MS analizi Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvar (BÜMLAB) 'da yapılmıştır. Analiz işlemleri en az 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Propolis ekstraksiyon şeması şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Propolis Ekstraksiyon Şeması

3.2.4.2. GC-MS ile Propolis Bileşenlerin Tanımlanması ve Cihaz Metodu

GC-MS yöntemiyle propolisin yapısında bulunan uçucu bileşikler, yağ asitleri tespit edildi. GC-MS cihazının kromatografik şartları şöyledir: Agilent marka 7890A/ 5970 C model GC-MS cihazı (USA) ve SGE Analytical BPX90 100m x 0.25 mm x 0.25 um kolon (Australia) kullanıldı. Sıcaklık programı, 120 °C den başlayarak 250 °C ye kadar kademeli olarak ısıtıldı ve toplam süre 40 dk olarak ayarlandı. Sıcaklık programı şöyledir; 120 °C den 250 °C ye kadar 5 °C /dk hızla ısınacak ve 14 dk bu sıcaklıkta beklenicek ve toplam süre 40 dk olarak ayarlanmıştır. Otosampler örneği çekmeden önce ve kolona verdikten sonra 5 kez kendini hekzan ile yıkamıştır. Enjeksiyon hacmi 1 uL ve split oranı 25:1, solvent delay time 12 dakika, taşıyıcı gaz He olarak seçildi ve akışı 1 mL/dk olarak sabit gaz akışı ayarlanınca H₂ akışı 35 mL/dk, kuru hava akışı 350 mL/dk, N₂ 20.227 mL/dk otomatik olarak program tarafından ayarlandı. GC-MS sonuçları cihazın hafızasında bulunan Wiley ve NIST kütüphaneleri ile karşılaştırılarak tespit edilmiştir.

3.2.5 Antioksidan Aktivite Çalışmaları

3.2.5.1. Toplam fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu)

Propolis ekstraktlarının Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü Dalar ve ark. (2012)'nın metoduna göre belirlenmiştir. Saf su ile seyreltilmiş propolis ekstraktlarından 25 µl, 96 havuzlu mikrotabluya eklendikten sonra, üzerine daha önceden saf su ile seyreltilmiş (1:10 h/h) Folin-Ciocalteu reaktif solüsyonundan 125 µl eklendi ve 3 dakika süreyle çalkalayıcıda bekletilmiştir. Bunu müteakip, askorbik asit tashihi/düzeltilmesi (ekstredeki askorbik asit değerinin, total indirgeme değerinden düşülmesi) için, spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, mikrotabluya 125 µl Na₂CO₃ eklendi ve 12 dakika süreyle çalkalayıcıda bekletildi. 600 nm'de absorbans ölçümü yapıldıktan sonra, Gallik asit standart eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, propolis ekstraktlarındaki Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü, mg Gallik asit eşdeğeri/g kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır. Analiz işlemleri en az 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.2. Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) metodu

Propolis ekstralarının ferrik indirgeme kapasitelerinin belirlenmesi işlemi, Dalar ve ark. (2012)'nin metoduna göre yürütülmüştür. Öncelikli olarak; 300 mmol/l'lik asetat tamponundan 10 ml, 20 mmol/l'lik FeCl_3 'ten 10 ml ve 10 mmol/l'lik TPTZ solüsyonundan 1 ml içeren FRAP reaktif solüsyonu hazırlandı. FRAP reaktif solüsyonunda kullanılan kimyasal maddeler aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır.

- Asetat tamponu: 1 litre ultra saf suya, 3.1 g sodyum asetat ve 16 ml asetik asit eklendi ve pH'ı 3.6'ya ayarlandı.
- TPTZ (2,4,6-Tripiridil-s-triazin) solüsyonu: 10 ml hidroklorik aside, 31.2 mg TPTZ eklendi.

Saf su kullanılarak seyreltilen propolis ekstralarından 10 µl, 96 havuzlu mikrotablaya eklendikten sonra üzerine 200 µl FRAP reaktif solüsyonu eklendi ve 15-20 saniye kadar çalkalayıcıda bekletildi. 8 dakika inkübasyon işleminden sonra, spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Propolis ekstralarının total indirgeme kapasitesi, Fe^{2+} 'nin standart eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, µmol Troloks eşdeğeri/g olarak hesaplanmıştır. Analiz işlemleri en az 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.3. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) metodu

Oksijen radikali süpürme kapasitesinin belirlenmesi işlemi, Dalar ark. (2012)'nin metoduna göre gerçekleştirilmiştir. İlk olarak; fosfat tamponu (75 mM, pH:7.0) kullanılarak, floresin (120 nM) ve AAPH [(2,2-azobis(2-metilpropionamid) dihidroklorid)] (360 mM) hazırlandı. 96 havuzlu mikrotablaya, kontrol ve fosfat tamponu ile seyreltilmiş propolis ekstraksiyonlarından 20 µl eklendi ve +37 °C'ye ayarlanmış bir floresens spektrofotometreye yerleştirildi. Daha sonra, 120 µl floresin mikrotablaya eklendi. Buna müteakip, 20 µl AAPH mikrotablaya eklendi ve floresens ölçümleri başlatıldı. Floresens sıfırlanmaya ve kinetik eğri oluşturuluncaya kadar dakikada bir floresens (eksitasyon dalga boyu 495 nm ve emisyon dalga boyu 515 nm) ölçümleri kaydedildi. Kinetik eğrinin altındaki bölge hesaplandı ve kontrol örneği kullanılarak standardize edildi. Tüm ölçümler en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Propolis ekstralarının oksijen radikal absorbans kapasiteleri Troloks'un standart eğrisi kullanılarak, µmol Troloks eşdeğeri/g ekstre olarak belirlenmiştir.

3.2.5.4. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi metodu

DPPH radikali süpürme aktivitesi Konczak ve ark. (2003)'nın metoduna göre yürütülmüştür. Özetle, 150 µl 0.1 M 2-morfolinoetanolsülfonik asit (MES) buffer (pH 6.0) içeren mikrotabluya, liyofilize bitki ekstrelerinden alınan solüsyon (75 µL) eklendikten sonra, 75 µL DPPH solüsyonu eklenerek total hacim 300 µl'ye tamamlandı. Uygun bir biçimde çalkalanan solüsyon, 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra DPPH radikalinin absorbandsındaki düşüş spektrofotometre yardımıyla 520 nm'de ölçüm yapıldı. Liyofilize ekstrelerin DPPH radikalini indirgeme kapasiteleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. DPPH Radikali İnhibisyon Aktivitesi (%) = [(Kontrol absorbandsı – Ekstrenin absorbandsı) / Kontrol absorbandsı] × 100. Propolis örneklerinin DPPH inhibisyon etkisi IC50 (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) (mg/ml) hesaplanarak tespit edildi. Tüm ölçümler en az 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.5. Demir şelatlama aktivitesi

Metal şelatlama aktiviteleri Dinis ve ark. (1994) tarafından belirlenen metota göre belirlenmiştir. Propolis örneklerinin değişik konsantrasyonlarındaki ekstrelerinin her birinden 1'er ml alındı ve 0.05 ml'lik 2 mmol'lik FeCl₂ solüsyonuna eklendi. Reaksiyon, 5 mmol'lik 0.2 ml ferrozine (C₂₀H₁₃N₄NaO₆S₂) eklenmesiyle başlatıldı. Toplam hacim kullanılan çözücü ile 5 ml'ye tamamlandıktan sonra çözelti hızlı bir şekilde karıştırılıp, 10 dk. oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra 562 nm'de absorbands değerleri okundu. Kör için 0.05 ml FeCl₂ üzerine toplam hacim 4 ml olacak kadar çözücü eklendi. Tüm ölçümler en az 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Demir şelatlama aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (AK - A1) / AK \times 100 \quad (AK : \text{Kontrol Absorbansı}, A1 : \text{Numune Absorbansı}) \quad (3.1)$$

3.2.6. Dumas Metodu ile Protein Analizi

Dumas metodu ile protein analizinde Gerhardt marka Dumaterm model (made in Germany) cihaz kullanılmıştır. Dumas yöntemi ekstraksiyon yapmaya gerek duyulmadan, çok az miktarda örnek miktarı ile hızlı ve güvenilir bir protein analizine imkân verdiği için gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Bu yöntemde propolis örnekleri homojenize edildikten sonra ince elekten geçirildi ve yaklaşık 50 mg tartıldı. Tin foil içerisine alınarak cihazın yakma ünitesine atıldı ve burada O₂ ile 1200 °C de yakıldı. Gaz fazına geçen bileşikler çeşitli filtrelerde tutulur, He tarafından taşınan N₂ termal iletkenlik dedektörü tarafından ölçülür. Tespit edilen % N₂ miktarı, protein faktörü ile çarpılarak örnekteki % protein kantitatif olarak tespit edilmiştir.

3.2.7. Kül Tayini Metodu

Kuru (yakma) kül tayini yönteminin temel ilkesi özel bir kül yakma kabına tartılan belli bir miktar örneğin kurutulmasının ardından bir kül fırınında (CARBOLITE ELF 11/6B) 600 °C’de karbon içermeyen üniform bir kül rengi elde edilinceye kadar yaklaşık 6-8 saat yakılmıştır. Yanma sonunda geride kalan kül hassas terazide tartılarak miktarı saptanmıştır. Bu sıcaklıkta su ve diğer uçucu bileşenler buharlaşır, organik maddeler havanın oksijeni ile yanar. Yakma işlemi bittikten sonra örnekler desikatörde soğutulur ve sabit tartıma gelmesi beklenmiş ve tekrar tartılarak kül miktarı belirlenmiştir.

Hesaplanma:

$$\% \text{ Kül: } (\text{Dara} + \text{Kül}) - \text{Dara} / \text{Dara} + \text{Örnek} - \text{Dara} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel hesaplamalar, SPSS 11.0 Windows için istatistiksel yazılım paketi kullanılarak yapılmıştır. Aritmetik ortalama ve verilerin standart sapmaları hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar, tek yönlü varyans analizi (tek yönlü ANOVA) prosedürü ile P<0,05’e göre değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılıklar Duncan testi kullanılarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Protein Düzeyleri

Bu araştırma Bingöl ili Genç, Karlıova, Solhan bölgelerinden elde edilen propolislerin bazı verim özellikleri bakımından karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Deneme süresince Bingöl ilinde farklı bölgelerden elde edilen propolislere ait protein düzeyleri (%), ortalama değerleri, standart hataları ve önem kontrolleri sırasıyla tablo 4.1’de verilmiştir.

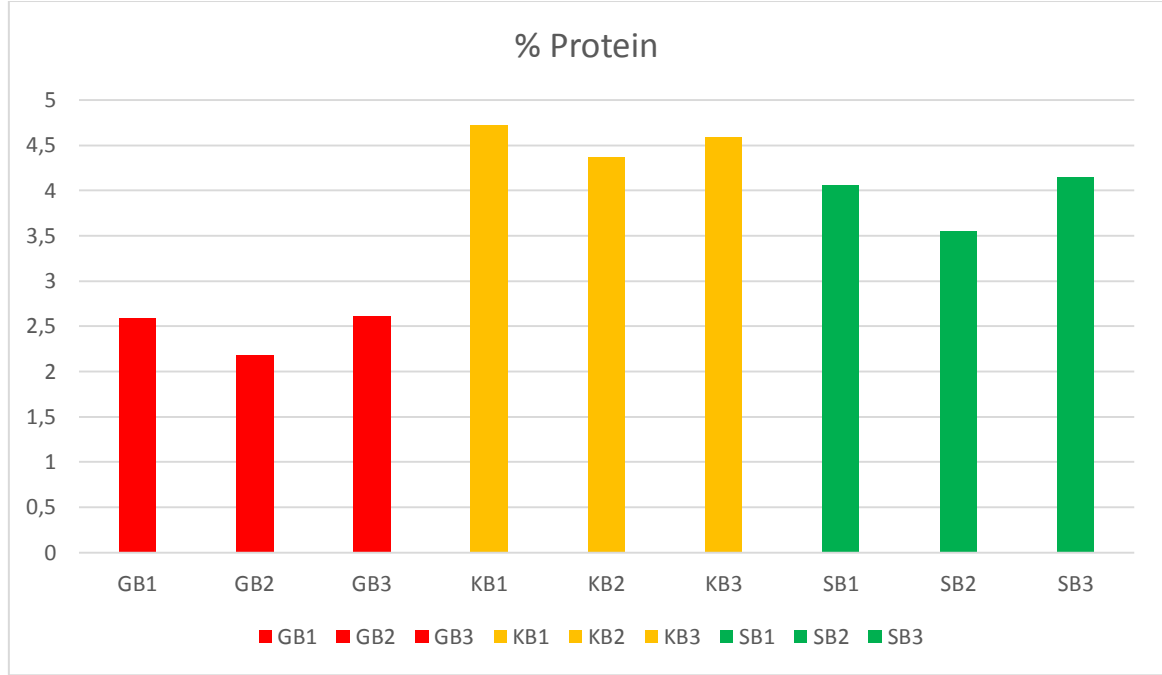
Tablo 4.1. Genç, Karlıova, Solhan Bölgelerinden Elde Edilen Propolislerin Protein Düzeyleri

Bölge	n	Protein değeri(%)	Önem Derecesi(P)
GB1	3	2,59±0.14a	Önz
GB2	3	2,18±0.14b	*
GB3	3	2,61±0.14a	Önz
KB1	3	4,73±0.10c	Önz
KB2	3	4,37±0.10d	*
KB3	3	4,59±0.10c	Önz
SB1	3	4,06±0.18e	Önz
SB2	3	3,55±0.18f	*
SB3	3	4,15±0.18e	Önz
Genel ort.		3,64±0.14	

a, b, c,d,e,f: Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. n: Tekerrür sayısı, P: Önem düzeyi, : Önemsiz, *: P<0,05.

Tablo 4.1’in incelenmesinde Genç, Karlıova, Solhan bölgelerinden elde edilen propolislere ait protein düzeyleri sırasıyla 2,59±0.14, 2,18±0.14, 2,61±0.14, 4,73±0.10, 4,37±0.10, 4,59±0.10, 4,06±0.18, 3,55±0.18, 4,15±0.18 (%) olarak tespit edilmiştir. Genç bölgesi protein düzeylerine ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde GB1 ve GB3 bölgelerine ait ortalamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılığın olmadığı,

GB2 bölgesi ortalamasının diğer bölge ortalamalarına oranla önemli ($P < 0,05$) olduğu tespit edilmiştir



Şekil 4.1. Genç, Karlıova, Solhan Bölgelerinden Elde Edilen Propolislerin Protein Düzeyleri

Karlıova bölgesi protein düzeylerine ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde KB1 ve KB3 bölgelerine ait ortalamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılığın olmadığı, KB2 bölgesi ortalamasının diğer bölge ortalamalarına oranla önemli ($P < 0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

Solhan bölgesi protein düzeylerine ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde SB1 ve SB3 bölgelerine ait ortalamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılığın olmadığı, SB2 bölgesi ortalamasının diğer bölge ortalamalarına oranla önemli ($P < 0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

Protein oranlarına ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde Bölgelere ait ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur.

Elde edilen bulgulara incelendiğinde Bingöl iline ait protein değeri $\%2,18 \pm 0,14$ - $4,73 \pm 0,10$ arasında değişen oranlarda bulunmuştur. Ortalama protein değeri $\%3,64 \pm 0,14$ olarak hesaplanmıştır. Protein düzeyi en düşük bölge GB2, en yüksek bölge KB1 bulunmuştur. Propolisin protein oranıyla ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Elde edilen bulgular daha sonradan yapılacak olan çalışmalara literatür kaynağı olacağı düşünülmektedir.

4.2. Toplam Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri

Bu araştırma Bingöl ili Genç, Karlıova, Solhan yörelerinden elde edilen propolislerin bazı verim özellikleri bakımından karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Deneme süresince Bingöl ilinde farklı bölgelerden elde edilen propolislere ait toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/g propolis) ve antioksidan aktivitelerine ait ortalama değerleri, standart hataları ve önem kontrolleri sırasıyla aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

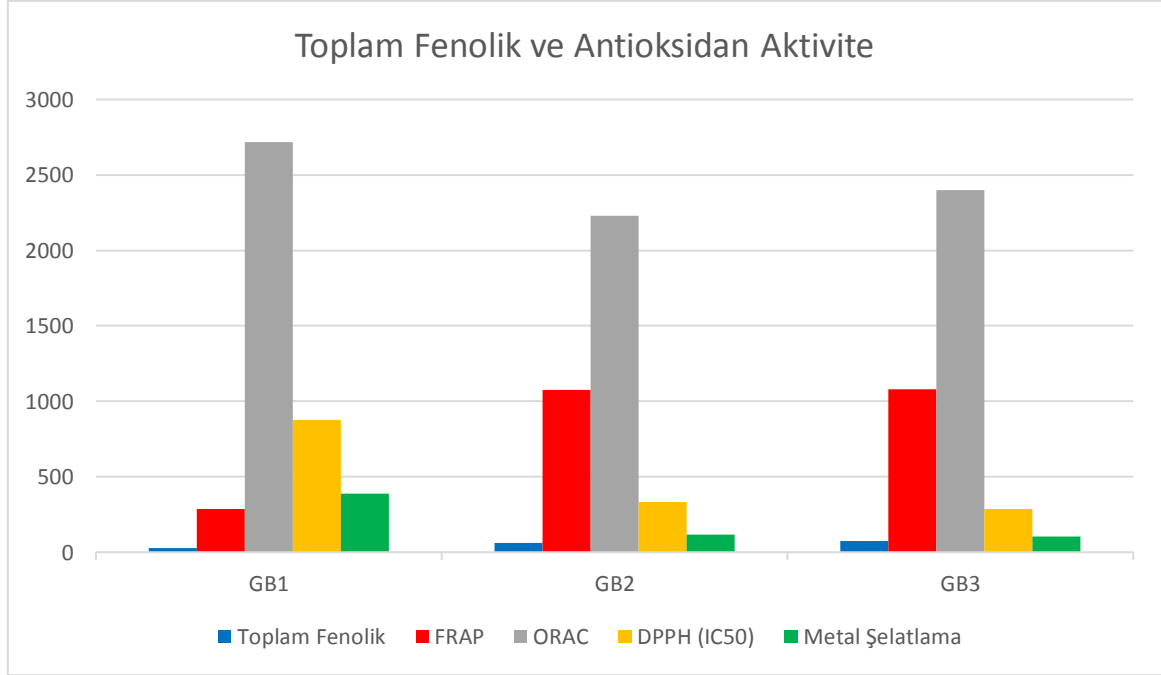
4.2.1. Genç Bölgesi Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktiviteleri

Deneme süresince Genç bölgesinden elde edilen propolislere ait toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerine ait ortalama değerleri, standart hataları ve önem kontrolleri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Genç Bölgesine Ait Propolis Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri

Bölgeler	n	Total fenolik (Folin-Ciocalteu) ¹	Ferric indirgeme gücü(FRAP) ²	Oksijen radikal absorbands kapasitesi(ORAC) ³	DPPH radikal süpürme aktivitesi ⁴	Metal şelatlama aktivite ⁴
GB1	3	25.1±0.6a	287±9a	2716±186a	874±28a	387±1a
GB2	3	61.1±4.9b	1074±42b	2288±124b	332±24b	115±8b
GB3	3	73.5±5.1c	1079±42b	2398±64b	287±18c	102±9b
Önem	3	*	*	*	*	*

Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir. ¹ mg Gallik asit eşdeğeri / g ekstre, ² μ mol Fe ²⁺ /g ekstre, ³ μ mol Troloks eşdeğeri /g ekstre, ⁴ IC₅₀-yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu (μ g ekstre /ml). n:tekrür sayısı ÖNZ: Önemsiz, *: P<0,05.



Şekil 4.2. Genç Bölgesine Ait Propolis Ekstraktlarının Total Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri

Genç bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait toplam fenolik madde miktarı, Ferric indirgeme gücü, Oksijen radikal absorban kapasitesi (μ mol Trolox/g propolis), DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) radikal süpürme aktivitesi ve Metal şelatlama aktivitesine ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde GB1 bölgesinde sırasıyla 25.1 ± 0.6 mg GAE/g propolis, 287 ± 9 μ mol Trolox/g propolis, 2716 ± 186 μ mol Trolox/g propolis, 874 ± 28 μ g propolis /ml ve 387 ± 14 μ g propolis /ml, GB2 bölgesinde 61.1 ± 4.9 mg GAE/g propolis, 1074 ± 42 μ mol Trolox/g propolis, 2288 ± 124 μ mol Trolox/g propolis, 332 ± 24 μ g propolis /ml ve 115 ± 8 μ g propolis /ml ve GB3 bölgesinde 73.5 ± 5.1 mg GAE/g propolis, 1079 ± 42 μ mol Trolox/g propolis, 2398 ± 64 μ mol Trolox/g propolis, 287 ± 18 μ g propolis /ml ve 102 ± 9 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur. Genç bölgesi toplam fenolik miktarı incelendiğinde gruplara ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu, Ferric indirgeme gücüne ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde GB1 bölgesine ait ortalamanın GB2 ve GB3 e ait ortalamalar arasındaki farkı istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), GB2 ve GB3 arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Oksijen radikal absorban kapasitesi bakımından grup ortalamaları incelendiğinde GB1 bölgesine ait ortalamanın GB2 ve GB3 e ait ortalamalar arasındaki farkı istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), GB2 ve GB3 arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu görülmüştür. DPPH radikal süpürme aktivitesi bakımından ortalamalar incelendiğinde GB1, GB2, GB3 bölgelerine ait ortalamalar

arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesi bakımından ortalamalar incelendiğinde GB1 bölgesine ait ortalamanın GB2 ve GB3 e ait ortalamalar arasındaki farkı istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), GB2 ve GB3 arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu görülmüştür. Genç bölgesi toplam fenolik madde miktarı 25.1 ± 0.6 - 73.5 ± 5.1 mg GAE/g propolis, Ferric indirgeme gücü 287 ± 9 - 1079 ± 42 μ mol Trolox/g propolis, Oksijen radikal absorbands kapasitesi 2288 ± 124 - 2716 ± 186 μ mol Trolox/g propolis, DPPH radikal süpürme aktivitesi 287 ± 18 - 874 ± 28 μ g propolis /ml ve Metal şelatlama aktivitesi 102 ± 9 - 387 ± 14 μ g propolis /ml değerleri arasında bulunmuştur.

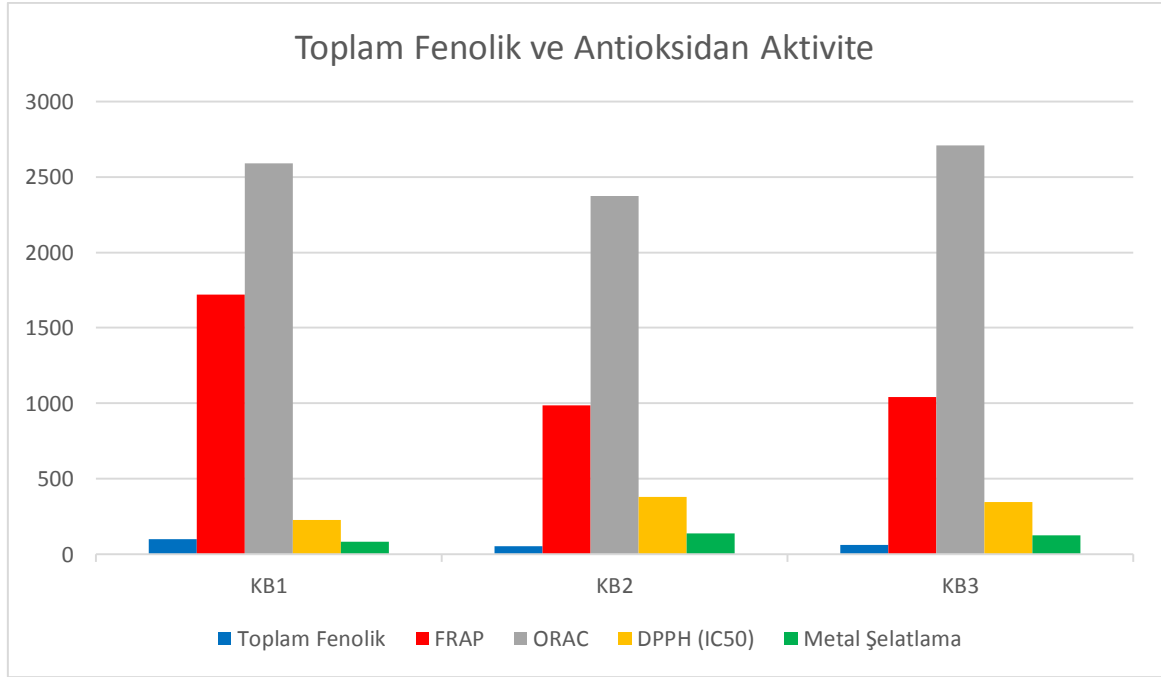
4.2.2. Karlıova Bölgesi Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktiviteleri

Deneme süresince Karlıova bölgesinden elde edilen propolislere ait toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerine ait ortalama değerleri, standart hataları ve önem kontrolleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Karlıova Bölgesine Ait Propolis Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri

Bölgeler	n	Toplam fenolik ¹	Ferric indirgeme gücü(FRAP) ²	Oksijen radikal absorbands kapasitesi(ORAC) ³	DPPH radikal süpürme aktivitesi	Metal şelatlama aktivite
KB1	3	$99.9 \pm 5.0a$	$1719 \pm 28a$	$2589 \pm 17a$	$225 \pm 17a$	$80 \pm 5a$
KB2	3	$52.1 \pm 2.0b$	$984 \pm 20b$	$2374 \pm 50b$	$381 \pm 23b$	$138 \pm 7b$
KB3	3	$59.8 \pm 2.1c$	$1039 \pm 29c$	$2711 \pm 20c$	$345 \pm 11bc$	$124 \pm 6bc$
Önem derecesi(P)		*	*	*	*	*

Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir. ¹ mg Gallik asit eşdeğeri/ g ekstre, ^{2,3} μ mol Trolox eşdeğeri /g ekstre, ⁴ IC₅₀-yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu (μ g ekstre /ml). n:tekrür sayısı ÖNZ: Önemsiz, *: $P < 0,05$.



Şekil 4.3. Karlıova Bölgesine Ait Propolis Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri Grafiği

Karlıova bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait toplam fenolik madde miktarı, Ferric indirgeme gücü, Oksijen radikal absorbans kapasitesi, DPPH radikal süpürme aktivitesi ve Metal şelatlama aktivitesine ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde KB1 bölgesinde sırasıyla 99.9 ± 5.0 mg GAE/g propolis, 1719 ± 28 μ mol Trolox/g propolis, 2589 ± 17 μ mol Trolox/g propolis, 225 ± 17 μ g propolis /ml ve 80 ± 5 μ g propolis /ml, KB2 bölgesinde sırasıyla 52.1 ± 2.0 mg GAE/g propolis, 984 ± 20 μ mol Trolox/g propolis, 2374 ± 50 μ mol Trolox/g propolis, 381 ± 23 μ g propolis /ml, 138 ± 7 μ g propolis /ml ve KB3 bölgesinde sırasıyla 59.8 ± 2.1 mg GAE/g propolis, 1039 ± 29 μ mol Trolox/g propolis, 2711 ± 20 μ mol Trolox/g propolis, 345 ± 11 μ g propolis /ml ve 124 ± 6 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur. Karlıova bölgesi toplam fenolik miktarı incelendiğinde gruplara ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0.05$) olduğu, Ferric indirgeme gücüne ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde KB1, KB2, KB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Oksijen radikal absorbans kapasitesi bakımından grup ortalamaları incelendiğinde KB1, KB2, KB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. DPPH radikal süpürme aktivitesi bakımından ortalamalar incelendiğinde KB1, KB2, KB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesi bakımından ortalamalar

incelendiğinde KB1, KB2, KB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Karlıova bölgesi toplam fenolik madde miktarı 52.1 ± 2.0 - 99.9 ± 5.0 mg GAE/g propolis, Ferric indirgeme gücü 984 ± 20 - 1719 ± 28 μ mol Trolox/g propolis, Oksijen radikal absorbands kapasitesi 2374 ± 50 - 2711 ± 20 μ mol Trolox/g propolis, DPPH radikal süpürme aktivitesi 225 ± 17 - 381 ± 23 μ g propolis /ml ve Metal şelatlama aktivitesi 80 ± 5 - 138 ± 7 μ g propolis /ml değerleri arasında bulunmuştur.

4.2.3. Solhan Bölgesi Toplam Fenolik Madde Miktarı Ve Antioksidan Aktiviteleri

Deneme süresince Solhan bölgesinden elde edilen propolislere ait toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerine ait ortalama değerleri, standart hataları ve önem kontrolleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

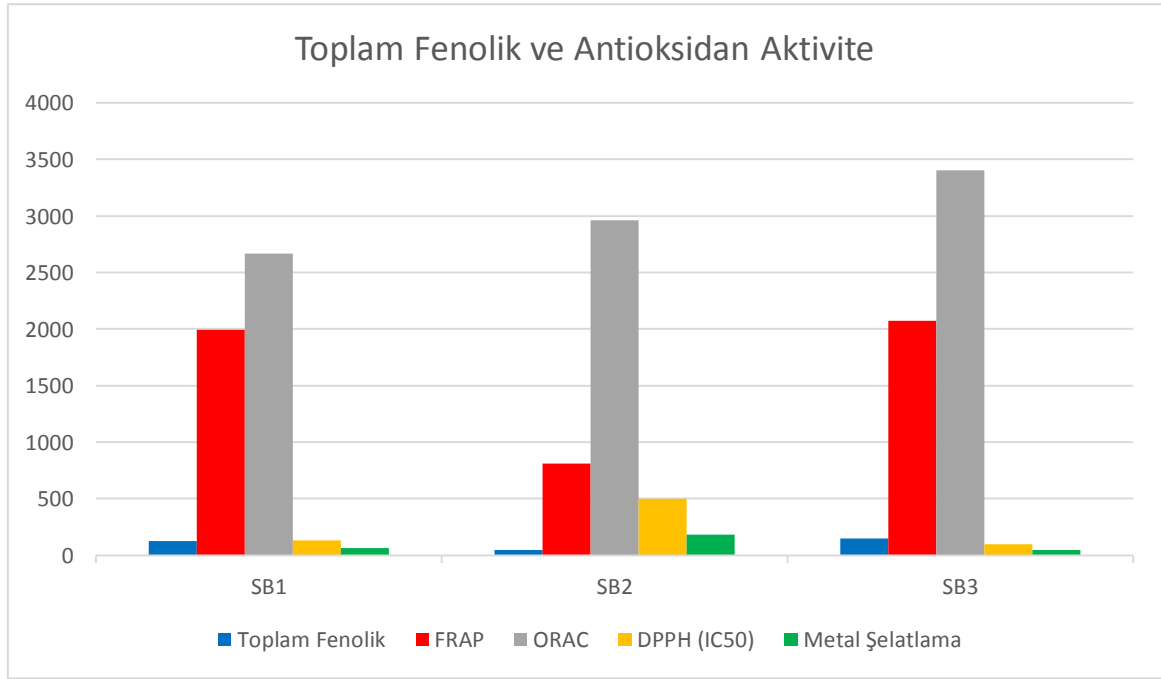
Tablo 4.4. Solhan Bölgesine Ait Propolis Ekstraktlarının Total Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri

Bölgeler	n	Toplam fenolik ¹	Ferric indirgeme gücü (FRAP) ²	Oksijen radikal absorbands kapasitesi(ORAC) ³	DPPH radikal süpürme aktivitesi ⁴	Metal şelatlama aktivite
SB1	3	$127.5 \pm 7.3a$	$1996 \pm 114a$	$2669 \pm 58a$	$134 \pm 9a$	$62 \pm 4a$
SB2	3	$45.3 \pm 1.2b$	$809 \pm 35b$	$2963 \pm 155b$	$502 \pm 21b$	181 ± 8
SB3	3	$150.4 \pm 12.5c$	$2071 \pm 71a$	$3405 \pm 175c$	$98 \pm 7c$	$49 \pm 5c$
Önem derecesi (P)		*	*	*	*	*

Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir. 1 mg Gallik asit eşdeğeri/g ekstre, 2 μ mol Fe 2+ /g ekstre, 3 μ mol Troloks eşdeğeri /g ekstre, 4 IC50-yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu (μ g ekstre /ml). n:tekerrür sayısı ÖNZ: Önemsiz, *: $P < 0,05$

Solhan bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait toplam toplam fenolik madde miktarı mg GAE/ g propolis, Ferric indirgeme gücü μ mol Trolox/g propolis, Oksijen radikal absorbands kapasitesi μ mol Trolox/g propolis, DPPH IC50 radikal süpürme aktivitesi μ g propolis /ml ve Metal şelatlama aktivitesine ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde SB1 bölgesinde sırasıyla 127.5 ± 7.3 mg GAE/ g propolis,

1996±114 μ mol Trolox/g propolis, 2669±58 μ mol Trolox/g propolis, 134±9 μ g propolis /ml ve 62±4 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur. SB2 bölgesinde sırasıyla 45.3±1.2 mg GAE/ g propolis, 809±35 μ mol Trolox/g propolis, 2963±155 μ mol Trolox/g propolis, 502±21 μ g propolis /ml, 181±8 olarak bulunmuştur. SB3 bölgesinde sırasıyla 150.4±12.5 mg GAE/ g propolis, 2071±71 μ mol Trolox/g propolis, 3405±175 μ mol Trolox/g propolis, 98±7 μ g propolis /ml ve 49±5 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.4. Solhan Bölgesine Ait Propolis Ekstraktlarının Total Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri Grafiği

Solhan bölgesi toplam fenolik miktarı incelendiğinde SB1, SB2, SB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Ferric indirgeme gücüne ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde SB2 bölgesine ait ortalamasının SB1 ve SB3 e ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), SB1 ve SB3 bölgeleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Oksijen radikal absorbans kapasitesi bakımından grup ortalamaları incelendiğinde SB1, SB2, SB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. DPPH radikal süpürme aktivitesi bakımından ortalamalar incelendiğinde SB1, SB2, SB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesi bakımından ortalamalar incelendiğinde SB1, SB2, SB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$)

olduğu bulunmuştur. Solhan bölgesi toplam fenolik madde miktarı 45.3 ± 1.2 - 150.4 ± 12.5 mg GAE/g propolis, Ferric indirgeme gücü 809 ± 35 - 2071 ± 71 μ mol Trolox/g propolis, Oksijen radikal absorbans kapasitesi 2669 ± 58 - 3405 ± 175 μ mol Trolox/g propolis, DPPH radikal süpürme aktivitesi 98 ± 7 - 502 ± 21 μ g propolis /ml ve Metal şelatlama aktivitesi 49 ± 5 - 181 ± 8 μ g propolis /ml değerleri arasında bulunmuştur.

4.2.4. Genç, Karlıova ve Solhan Bölgesi Ortalama toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktiviteleri

Deneme süresince Bingöl ili Genç, Karlıova, Solhan yörelerinden elde edilen propolislere ait toplam fenolik madde miktarları, ortalama değerleri, standart hataları ve önem kontrolleri Tablo 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.5. Genç, Karlıova ve Solhan bölgesi Propolis Ekstraktlarının Ortalama Total Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri

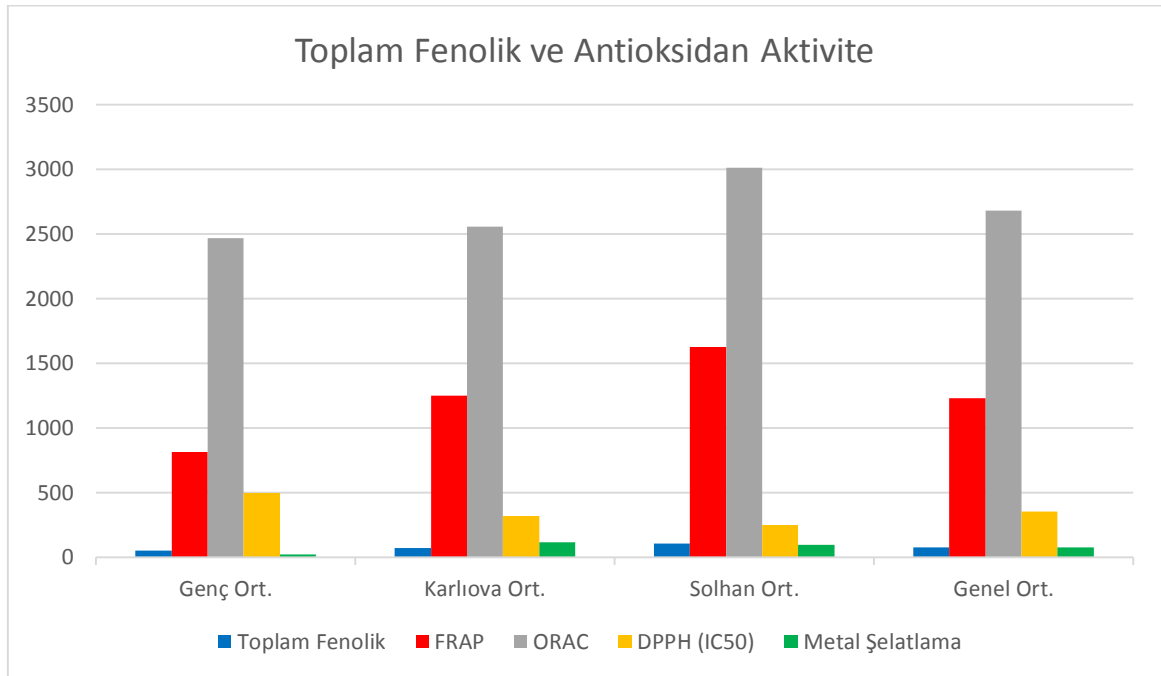
Bölgeler	n	Toplam fenolik ¹	Ferric indirgeme gücü (FRAP) ²	Oksijen radikal absorbans	DPPH SC50 radikal süpürme	Metal şelatlama aktivitesi ⁴
Genç ort.	3	$53.25 \pm 3.53a$	$813.3 \pm 30.3a$	$2467.3 \pm 124.6a$	$497.7 \pm 23.3a$	$21.7 \pm 10.3a$
Karlıova ort.	3	$70.6 \pm 3.03b$	$1247.3 \pm 25.6b$	$2558 \pm 29a$	$317 \pm 17b$	$114 \pm 6b$
Solhan ort.	3	$107.7 \pm 7.c$	$1625.3 \pm 73.3c$	$3012.3 \pm 129.3b$	$244.6 \pm 12.3c$	$97.3 \pm 5.6c$
Bingöl ili ort.	3	77.18 ± 4.52	1228.6 ± 43.6	2679.2 ± 94.3	353.1 ± 17.53	77.66 ± 70.43
Önem Derecesi(P)		*	*	*	*	*

Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

1 mg Gallik asit eşdeğeri/ g ekstre, 2 μ mol Fe 2+ /g ekstre, 3 μ mol Troloks eşdeğeri /g ekstre, 4 IC50-yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu (μ g ekstre /ml). n:tekrür sayısı ÖNZ: Önemsiz, *: P<0,05.

Tablo 4.5’in incelenmesinde sırasıyla Genç, Karlıova, Solhan bölgelerinden elde edilen propolis örneklerine ait ortalamalar sırasıyla toplam fenolik madde miktarı mg GAE/g propolis, Ferric indirgeme gücü μ mol Trolox/g propolis, Oksijen radikal absorbans kapasitesi μ mol Trolox/g propolis, DPPH IC50 radikal süpürme aktivitesi μ g propolis

/ml ve Metal şelatlama aktivitesine ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç bölgesinde sırasıyla 53.25 ± 3.53 mg GAE/g propolis, 1357.1 ± 56.9 μ mol Trolox/g propolis, 2467.3 ± 124.6 μ mol Trolox/g propolis, 497.7 ± 23.3 μ g propolis /ml, 21.7 ± 10.3 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur. Karlıova bölgesinde sırasıyla 70.6 ± 3.03 mg GAE/g propolis, 2082.2 ± 42.5 μ mol Trolox/g propolis, 2558 ± 29 μ mol Trolox/g propolis, 317 ± 17 μ g propolis /ml, 114 ± 6 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur. Solhan bölgesinde sırasıyla 107.7 ± 7 mg GAE/g propolis, 2721.2 ± 13.4 μ mol Trolox/g propolis, 3012.3 ± 129.3 μ mol Trolox/g propolis, 244.6 ± 12.3 μ g propolis /ml, 97.3 ± 5.6 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur.



Şekil 4.5. Genç, Karlıova ve Solhan bölgesi Propolis Ekstraktlarının Ortalama Total Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri Grafiği

Bingöl ili toplam fenolik miktarı incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Ferric indirgeme gücüne ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Oksijen radikal absorban kapasitesi bakımından grup ortalamaları incelendiğinde Solhan bölgesine ait ortalama ile Genç ve Karlıova'ya ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), Genç ve Karlıova bölgeleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. DPPH radikal süpürme aktivitesi bakımından ortalamalar

incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesi bakımından ortalamalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur.

Propolislerin antioksidan aktiviteleri birbirine bağlı 5 farklı metod kullanılarak tespit edilmiştir. Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu (FCR) metodu, toplam antioksidan aktivitesi Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) yöntemi, Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) yöntemi, radikal süpürme yeteneği ise DPPH IC_{50} -yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu yöntemi ve Metal şelatlama aktivitesi yöntemleri ile tayin edilmiştir.

Çalışmada propolis ekstraktlarının toplam fenolik madde analizi Folin-Ciocalteu (FCR) metoduna göre yapılmıştır. Fenolik bileşenlerin spektrofotometrik tayininde en yaygın olarak kullanılan metoddur. Toplam fenolik madde miktarı propolis ekstraktları için en önemli parametrelerden biridir. Folin-Ciocalteu metodunda kalibrasyon için referans maddesi olarak gallik asit kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarlarına ait bulgular gallik asit standardına göre tayin edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarlarına ait sonuçlar mg GAE/g propolis Gallik asit eş değeri olarak verilmiştir. Borrelli et al. (2002) propolisin içerdiği fenolik bileşenler, flavonoidler, aminoasitler, terpenler, steroidler, aldehitler ve ketonlar sayesinde antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Propolisin antioksidan kapasitesi nektarın kaynağı olan bitkiye, mevsim, çevresel faktörler, toprak yapısı ve iklim gibi birkaç faktöre bağlı olarak değişkenlik gösterebildiğini belirtmiştir (Cowan 1999). Propolis bileşimi bitki kaynağına, mevsime, bölgeye, koloniye, rakıma ve vejetasyona göre değişebilmektedir. Bu nedenle her propolisin kimyasal kompozisyonları farklılıklar gösterebilmektedir (Oruç vd. 2017 Karlıdağ vd. 2019).

Çalışma Bingöl ilinin 3 farklı yöresinden elde edilen propolis örnekleriyle yapılmıştır. Bingöl ili Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerinden elde edilen propolislere ait ortalama değerler Tablo 4.5'te verilmiştir. Çalışmaya ait bulgular incelendiğinde Bingöl ili fenolik madde miktarının 25.1 ± 0.6 - 150.4 ± 12.5 mg GAE/g propolis değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bölge ortalamalarına göre toplam fenolik madde miktarı sırasıyla SB3 150.4 ± 12.5 mg GAE/g propolis ve SB1 127.5 ± 7.3 mg GAE/g propolis bölgelerinde en

yüksek, GB1 25.1 ± 0.6 mg GAE/g propolis ve SB2 45.3 ± 1.2 mg GAE/g propolis bölgelerinde ise en düşük değerlerde bulunmuştur. Bingöl iline ait ortalama toplam fenolik madde miktarı ise 77.18 ± 4.52 mg GAE/g propolis olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistiksel analiz sonucu propolis örneklerinin toplam fenolik madde miktarının istatistiki olarak anlamlı farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Buna göre en yüksek fenolik madde miktarına sahip propolis örneği ile en düşük fenolik madde miktarına sahip propolis örnekleri arasında yaklaşık olarak 6 kat fark olduğu hesaplanmıştır. Bunun nedenin vejetasyondan kaynaklandığı söylenebilir. Araştırma bulguları incelendiğinde farklı yörelerden elde edilen propolis örneklerinin toplam fenolik içerikleri farklılık gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca aynı bölgeden fakat farklı aralıklardan toplanan propolis örneklerinin de toplam fenolik madde miktarları arasında anlamlı olarak farklılık olduğu görülmüştür.

Propolisin toplam fenolik içeriğinin belirlenmesinde bugüne kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır. Keskin vd. (2020) Anadolu'nun farklı illerinden toplanan propolis örneklerinin kimyasal karakterizasyonu üzerine yaptıkları çalışmada toplam fenolik madde miktarının 28 mg GAE/mL ile 80 mg GAE/mL arasında değiştiğini bildirmiştir. Özdal vd. (2019) yaptıkları bir çalışmada Anadolu'nun farklı bölgelerinden elde edilen propolislerin toplam fenolik madde miktarının 2748 mg GAE/100 g ile 19969 mg GAE/100 g arasında değiştiği bildirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmamızda kullanılan değerler cinsinden ifade edildiğinde 27.28 mg GAE/g propolis ile 199.69 mg GAE/g propolis olarak dağılım göstermektedir. Keskin vd. (2018) yaptıkları çalışmada Anadolu propolislerinin toplam fenolik madde miktarının ham propolis için 16.13 - 178.34 mg GAE/g arasında değiştiğini bildirmiştir. Aliyazıcıoğlu vd. (2012) yaptıkları çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 10 adet propolis örneğinin toplam fenolik madde miktarlarının 115-210 mg GAE/g propolis arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Sarıkaya vd. (2009) iki adet Türk propolisiyle yaptıkları çalışmada propolis örneklerinin toplam fenolik madde içeriğini 313-476 mg GAE/g propolis olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Ahn et al. (2007) yaptıkları çalışmada Hindistan'dan elde edilen propolislerinin 159-269 mg GAE/g propolis arasında değişim gösterdiğini belirlemişlerdir. Dünyanın 16 farklı bölgesinden toplanan propolis örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarının en düşük Tayland bölgesinde 31 mg GAE/ g propolis ve en

yüksek Çin bölgesinde 299 mg GAE/ g propolis arasında değiştiğini bildirmişlerdir (Kumazawa et al. 2004). Mohammadzadeh et al. (2007) yaptıkları çalışmada İran'ın üç farklı bölgesinden toplanan propolis örneklerinin toplam fenolik madde miktarının 30,8 mg GAE/g propolis ve 84,60 mg GAE/g propolis arasında değiştiğini bildirmiştir. Brezilya'nın güneybatısından toplanan propolislerin etanollü ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri 5.294-50.41 mg GAE/g propolis aralığında bulunmuştur (da Silva et al. 2018). Brezilya'nın kuzeydoğu bölgesinden toplanan kahverengi, yeşil ve kırmızı propolislerin etanolik çözeltilerinde sırasıyla 55.74, 90.55, 91.32 mg GAE/ g propolis fenolik içerik tespit edilmiştir (Andrade et al. 2017).

Araştırmamızda elde edilen bulgular yapılan çalışmalarla kıyaslandığında sonuçların farklılık göstermesi beklenen bir durumdur. Türkiye ve dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen propolislerin toplam fenolik madde miktarlarına ait bulgular incelendiğinde bulduğumuz sonuçların daha önceden yapılan çalışmalarda değerler arasında olduğunu ve çalışmamızda elde edilen bulguların literatürle uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Aynı yöreden toplanan örneklerin kimyasal yapısı ve biyolojik aktivitelerindeki farklılıkların arıların konumlandırıldığı alanlardaki vejetasyon farklılıklarından kaynaklandığı söylenebilir. Propolis örneklerinin kimyasal konsantrasyonlarının farklı değerlerde bulunmasının nedenleri olarak toplandığı bölgenin vejetasyonuna, florasına ve rakımına bağlı olarak değiştiğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Ayrıca propolislerin toplandığı bölgeler birbirlerine benzer coğrafik ve topoğrafik özellikler göstermelerine rağmen farklı sonuçlar bulunmuştur. Çünkü aynı kovan içerisindeki farklı toplama yerlerinin değişik miktarlarda polen ve reçine içeriğine sahip olduğu daha önceden yapılan çalışmalarda belirtilmiştir ve buna paralel olarak propolislerin elde edildikleri bölgeler kadar kovanlardaki toplanma yöntemlerinin, toplanma yerlerinin ve üretim şekillerinin oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Propolis, içeriğindeki aktif bileşiklerin miktarına ve çeşitliliğine bağlı olarak değişen birçok önemli biyolojik aktivitede rol oynamaktadır. Fenolik bileşikler, propolisin biyo-aktif özelliklerinden sorumlu olan önemli bir etken maddedir. Buna bağlı olarak propolisin antioksidan aktivite özelliklerinin büyük bir kısmı fenolik maddelerden kaynaklanmaktadır. Yüksek fenolik içerik miktarı yüksek antioksidan aktiviteyi ifade ederken, aynı zamanda da yüksek biyolojik aktivite anlamına gelmektedir. Düşük fenolik içerik ise düşük antioksidan aktiviteyi ve aynı zamanda düşük biyolojik aktivite anlamına gelmektedir (Slinkard et al. 1977). Buna göre yüksek

antioksidan aktivite sırasıyla SB3 ve SB1 bölgelerinde, düşük antioksidan aktivite ise GB1 ve SB2 bölgeleri göstermiştir. Bu çalışma Bingöl iline ait farklı propolis örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri literatürdeki propolis çalışmalarıyla karşılaştırıldığında, fenolik madde miktarı bakımından çok zengin olmadığı bulundu. Bununla birlikte kullanılan yöntemler ve propolis ekstraktlarının farklılığı da bu sonuçları etkilemektedir.

Propolis ekstraktlarının antioksidan kapasitesiyle ilgili kullanılan birçok yöntem vardır. Toplam antioksidan kapasitesi belirleme yöntemlerinden biri olan Ferric indirgeme antioksidan gücü yöntemi yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Benzei ve Strain tarafından geliştirilmiştir. FRAP testi olarak da adlandırılan test toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesinde en iyi sonuç veren metotlardan biridir. Bu yöntemde demir (III)'in indirgenme kapasitesi yoluyla antioksidanlarının toplam miktarı tayin edilmektedir (Apak vd. 2004). Çalışılan propolis örneklerine ait FRAP değerlerinin oldukça farklı antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve değerlerin 287 ± 40 - 2071 ± 40.11 μ mol Trolox/g propolis arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Ferric indirgeme antioksidan gücü metoduna göre yüksek FRAP değeri yüksek antioksidan aktiviteyi, düşük FRAP değeri ise düşük antioksidan aktiviteyi göstermektedir. Toplam fenolik içeriği yüksek örneklerinin yüksek FRAP değerine sahip olduğu ve buna bağlı olarak yüksek antioksidan aktivite gösterdiği daha önceki çalışmalardan da bilinmektedir. Bulgular incelendiğinde en düşük antioksidan aktivite gösteren bölge GB1 bölgesi 287 ± 40 μ mol Trolox/g propolis, en yüksek antioksidan aktivite gösteren bölge 2071 ± 71 μ mol Trolox/g propolis SB3 bölgesi olduğu anlaşılmaktadır. FRAP değerleri ortalaması 1228.6 ± 43.11 μ mol Trolox/g propolis olarak bulunmuştur. Metodla ilgili literatür bilgilerinden ve bulgularımızdan yola çıkarak yüksek fenolik madde miktarına sahip örneklerin yüksek, düşük fenolik madde miktarına sahip örneklerin düşük antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. Buna ek olarak kullanılan metod ile elde ettiğimiz verilerin birbiriyle uyum içerisinde olduğunu destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivitesi arasında pozitif bir ilişki olduğu görülmüştür. Demir (III) kompleksinin indirgenmesi tekniğine dayanan yöntem, FRAP değerinin yüksekliği antioksidan kapasiteyle doğrudan ilişkilidir.

Propolisin antioksidan aktivitesiyle ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. Keskin vd. (2020) Anadolu'nun farklı illerinden toplanan propolis örneklerinin antioksidan aktiviteleri FRAP metoduna göre belirledikleri çalışmada örneklerin antioksidan değerlerinin 53 ile 155 $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{mL}$ aralığında değişen antioksidan kapasiteye sahip oldukları belirlemiştir.

Farklı antioksidan kapasitesi belirleme yöntemlerinin propolisin etanollü ekstraktlarının üzerine etkileri incelendiği bir çalışmada ABTS yönteminde 1223 $\mu\text{mol Trolox/g}$ ve FRAP yönteminde 2694.87 $\mu\text{mol Trolox/g}$ değerleri elde edilmiştir (Skaba et al. 2013). Bonvehí et al. (2011) yaptığı çalışmada Etanollü ekstraktların ABTS ve FRAP yöntemleri elde edilen sonuçları sırasıyla 560–1.430 $\mu\text{mol Trolox/g}$, 2.312–4.669 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ sülfat/g, propilen glikollü ekstraktların sonuçlarından 420–940 $\mu\text{mol Trolox/g}$, 1.573–4.271 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ sülfat/g önemli ölçüde farklı çıkmıştır.

Yapılan çalışmalarda kullanılan antioksidan aktivitesi belirleme yöntemleri farklılık göstermektedir. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar yapılan çalışmalarla kıyaslandığında sonuçların farklılık göstermesi beklenen bir durumdur. Propolisin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin farklı olması, kullanılan propolis ekstraktlarının farklı olması ve antioksidan aktivitesiyle ilgili kullanılan standart eş değerlerin farklı olması sonuçların farklı değerlerde bulunmasına neden olmaktadır. Farklı yöntemlerin kullanılması sonucu ortaya çıkan değerler propolisin antioksidan kapasitesi hakkında paralel bir fikir verse de sayısal olarak değişiklikler görülmektedir. Propoliste aynı çözücü (etanol) kullanılarak değerlendirme yapıldığında yöntemlere ve propolisin çeşidine bağlı olarak farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Propolisin antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerin aynı fakat sonuçların farklı olması propolisin çeşidi, toplandığı bölgenin coğrafi konumu, iklimi, vejetasyonu, bal arısı genotipleri ve bitki kaynaklarındaki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmada Bingöl ili farklı bölgelerinden elde propolis örneklerinin DPPH (2,2diphenyl 1-picrylhydrazyl) yöntemi ile toplam radikal süpürme kapasiteleri belirlenmiştir. DPPH radikali diğer yöntemlere göre nispeten uzun ömürlü, kolay, ucuz, kısa sürede sonuç vermesi ve ticari olarak satın alınabilen bir serbest oksijen radikali olduğu için serbest radikal temizleme aktivitesi tayininde en sık kullanılan yöntemlerdendir. Serbest

radikaller ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllere denir. Serbest radikalleri ortamdaki kaldıran veya oluşumunu engelleyen her tür molekül antioksidan olarak tanımlandığından radikal temizleme aktivitesi dolaylı olarak antioksidan aktiviteyi de yansıtır. Çalışmada radikalın %50' sini (IC_{50} $\mu\text{g/ml}$) temizleyen madde miktarları tespit edilmiştir. Dolayısıyla DPPH derişimini yarıya düşüren numune içeriği $\mu\text{g/mL}$ cinsinden IC_{50} değeri olarak tayin edilir.

Elde edilen bulgulara göre DPPH radikal süpürme kapasitesi IC_{50} değerleri 98 ± 7 - 874 ± 28 μg propolis /ml arasında bulundu. Bingöl iline ait ortalama IC_{50} değeri 353.11 μg propolis /ml olarak hesaplanmıştır. Bu yöntemle göre yüksek IC_{50} değeri düşük radikal temizleme yeteneği ve düşük IC_{50} değeri ise yüksek radikal temizleme yeteneği aktivitesini yansıtmaktadır. Buna göre en yüksek radikal süpürme kapasitesine sahip bölge SB3 98 ± 7 μg propolis /ml en düşük radikal süpürme kapasitesine sahip bölge GB1 874 ± 28 μg propolis /ml olarak bulunmuştur.

DPPH radikal süpürme aktivitesi ile toplam fenolik madde ve FRAP aktiviteleri arasındaki ilişki incelendiğinde her iki parametre ile negatif bir ilişki olduğu görülmüştür. Yüksek fenolik madde miktarı yüksek antioksidan aktivite ve yüksek serbest radikal temizleme aktivitelerini işaret etmektedir. Kısaca DPPH radikal temizleme aktivitesinin de fenolik madde miktarı ile doğru orantılıdır.

Elde edilen bulgular incelendiğinde toplam fenolik madde miktarı en yüksek SB3 bölgesi 150.4 ± 12.5 mg GAE/g propolis bulunmuştur. SB1 bölgesi aynı zamanda en yüksek antioksidan aktivite 2071 ± 71 μmol Trolox/g propolis ve en yüksek radikal süpürme yeteneğine DPPH IC_{50} 98 ± 7 μg propolis /ml sahip bölge olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı en düşük bölge GB1 25.1 ± 0.6 mg GAE/g propolis bulunmuştur. GB1 bölgesi aynı zamanda en düşük antioksidan aktivite 287 ± 40 μmol Trolox/g propolis ve en düşük radikal süpürme yeteneğine (IC_{50}) 874 ± 28 μg propolis /ml sahip bölge olarak tespit edilmiştir. Elde etimiz sonuçlara göre yüksek toplam fenolik madde miktarına ait örnekler yüksek antioksidan aktivite ve aynı zamanda yüksek radikal süpürme yeteneğine sahip oldukları gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular literatürle kıyaslandığında DPPH IC_{50} radikal süpürme aktivitesi bakımından yüksek olduğu görülmüştür.

Propolisin DPPH yöntemi ile serbest radikal süpürme yeteneğinin test edildiği birçok çalışma vardır. Erdoğan (2010) Türkiye'nin farklı yörelerinden Bingöl(BG), Rize(RZ), Tekirdağ(TK), Van(VN) elde edilen propolis örneklerinin; radikal süpürme kapasitelerinin ve toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmada DPPH testlerine göre dört ilin radikal süpürme kapasiteleri kıyaslandığında, sırasıyla 497.8 ± 10.7 ve 503.7 ± 1.6 mg Trolox/g propolis olan Bingöl ve Rize yörelerinin en yüksek olduğu belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı ile DPPH SC50 paralellik göstermiştir.

Bonvehí et al. (2011) yaptığı çalışmada DPPH yöntemi kullanılarak propolisin etanollü ve propilen glikollü ekstraktlarının antioksidan kapasitesi mg askorbik asit/gram (AsA/g) cinsinden belirlenmiştir. Sonuçlara göre propolisin etanollü ekstraktının antioksidan kapasitesi (148–291 mg AsA/g) propilen glikollü ekstraktının antioksidan kapasitesinden (108–210 mg AsA/g) yüksek çıkması önem arz etmemektedir.

Yavuz (2011) Antioksidan kapasitesi belirleme yöntemlerinden bir diğeri olan CUPRAC yöntemi kullanılarak propolisin etanollü ekstraktının ise sonuçlar 2.57 - 4.15 μmol Trolox/g olarak hesaplamıştır.

Propolisin etanollü ekstraktları üzerine DPPH yöntemi kullanılan bazı çalışmalarda antioksidan kapasitesi 11.68 - 275.2 μmol Trolox/g (da Silva et al. 2018) ve 4431 - 4663 μmol Trolox/g (Andrade et al. 2017) olarak bulunmuştur. Propolisin etanollü ekstraktları üzerine ABTS yöntemi kullanılan çalışmalar incelendiğinde antioksidan kapasitelerinin 560 - 1430 μmol Trolox/g 19.03 - 875.4 μmol Trolox/g, 1184.66 - 1400.86 μmol Trolox/g (Osés et al. 2016) ve 1868 - 2913 μmol Trolox/g (Andrade et al. 2017) olduğu tespit edilmiştir.

Farklı antioksidan kapasitesi belirleme yöntemlerinin propolisin etanollü ekstraktlarının üzerine etkileri incelendiği bir çalışmada DPPH yönteminde 1230.7 μmol Trolox/g, ABTS yönteminde 1223 μmol Trolox/g ve FRAP yönteminde 2694.87 μmol Trolox/g değerleri elde edilmiştir (Skaba et al. 2013). Aynı propolis örnekleri kullanılarak farklı yöntemlerin kullanılması sonucu ortaya çıkan değerler propolisin antioksidan kapasitesi hakkında paralel bir fikir verse de sayısal olarak değişiklikler görülmektedir.

Elde edilen bulgular incelendiğinde bizim bulduğumuz sonuç ile yapılan çalışmalardaki değerler arasında rakamsal farklılıklar gözlemlenmiştir. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar yapılan çalışmalarla kıyaslandığında sonuçların farklılık göstermesi beklenen bir durumdur. Farklı yöntemlerin kullanılması sonucu ortaya çıkan değerler propolisin antioksidan kapasitesi hakkında paralel bir fikir vermektedir. Yapılan çalışmalarda her bölgenin propolisinin içerisinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı farklı olduğu ayrıca buna bağlı olarak antioksidan aktivitesinin ve toplam süpürme yeteneğinin farklı olduğu belirlenmiştir. Bunun temel sebebinin toplanılan bölgenin vejetasyonu ve botanik orijinlerinin farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir.(Bankova et al. 2014) Bulduğumuz sonuçlar literatür çalışmalarıyla kullanılan birimler cinsinden farklı olsa bile elde edilen veriler bakımından uyumlu bulunmuştur.

Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC) yöntemi başlangıçta Ghiselli et al. (1995) ve Glazer (1990) tarafından çalışılmıştır. Daha sonra Cao et al. (1993) tarafından geliştirilmiştir ORAC yöntemi peroksil radikalının antioksidan inhibisyonunu ölçer. Bu yöntemde peroksil radikali floresans özellik gösteren bir molekülle (prob) floresans olmayan bir ürün oluşturmak üzere reaksiyona girer.

Elde edilen bulgular incelendiğinde Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC) değerleri 2288 ± 124 - 3405 ± 175 μ mol Troloks /g propolis arasında değiştiği bulunmuştur. Bu metoda göre yüksek Troloks değeri yüksek radikal absorban kapasitesi anlamına gelir. ORAC değeri en yüksek bölge SB3 bölgesi en düşük bölge ise GB2 bölgesi olmuştur. ORAC yöntemi Propolis örneklerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesiyle ilgili daha önceden yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Metal şelatlama aktivitesi, metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirir ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler.

Elde edilen bulgulara göre Metal şelatlama aktivitesi 49 ± 5 - 387 ± 14 μ g propolis /ml olarak bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesini etkileyen en önemli özellik, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan fonksiyonel gruplara ve bu fonksiyonel grupların pozisyonuna ve bulunma miktarına bağlıdır. Örneklerin şelatlama aktivitesindeki

farklılık, fenolik madde miktarlarının farklı olmasının yanı sıra, farklı yapı ve pozisyonlardaki fenolik madde gruplarına sahip olmaları ile açıklanabilmektedir. Metal şelatlama aktivitesi yöntemi propolis örneklerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesiyle ilgili daha önceden yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Sonuç olarak bu çalışma ile Bingöl ilinden elde edilen propolis örneklerinin toplam fenolik madde miktarı ve bununla paralel olarak antioksidan aktivitelerine ait değerler incelenmiştir. Elde edilen en önemli bulgu farklı bölgelerden elde edilen propolis örneklerinin farklı toplam fenolik madde miktarına, Ferrik indirgeme antioksidan gücü, DPPH radikal süpürme aktivitesi, Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC), Metal şelatlama aktivitesine sahip olmasıdır. Farklılıklara neden olan faktörler vejetasyon dönemi, rakım, örneklerin toplanma zamanı, arıların yaptığı bitki tercihleri, propolisin kovan içerisinde toplandığı yer, kullanılan arı genotipindeki farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir. Detaylı kimyasal analiz yapılmadığı için örneklerin botanik orijinlerinin farklılığı konusunda yorum yapılamamıştır. Ancak propolisin kimyasal yapısının ve buna bağlı olarak biyoaktivitesinin değişken olduğu bilinen bir gerçektir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda propolisin detaylı kimyasal analizinin yapılarak muhtemel bitki kaynakları hakkında öneride bulunmak ve biyoaktivite farklılıklarını coğrafik farklılıklar yanında botanik orijine göre de yorumlayabilmektir.

4.3. GC-MS Analizi Bulguları

Bingöl iline ait GC-MS sonucuna göre toplam 59 bileşik tespit edilmiştir. Elde edilen bileşiklerden 10 tanesi yağ asidi, 49 bileşik ise uçucu bileşen olarak bulunmuştur. Elde edilen uçucu bileşenler farklı miktarlarda bulunmakla birlikte aynı yöreye ait örneklerde bile aynı bileşenlerin varlığı tespit edilememiştir.

4.3.1.Yağ Asitleri Özellikleri

4.3.1.1. Doymuş Yağ Asitleri Özellikleri

Bu araştırma Bingöl ilinden elde edilen propolislerin bazı verim özellikleri bakımından karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Deneme süresince Bingöl ili Genç, Karlıova, Solhan bölgelerinden elde edilen propolislere ait doymuş yağ asitleri oranları, standart hataları ve önem kontrolleri sırasıyla aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4.6. Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine Ait Propolis Örneklerinin Doymuş Yağ Asitleri Sonuçları

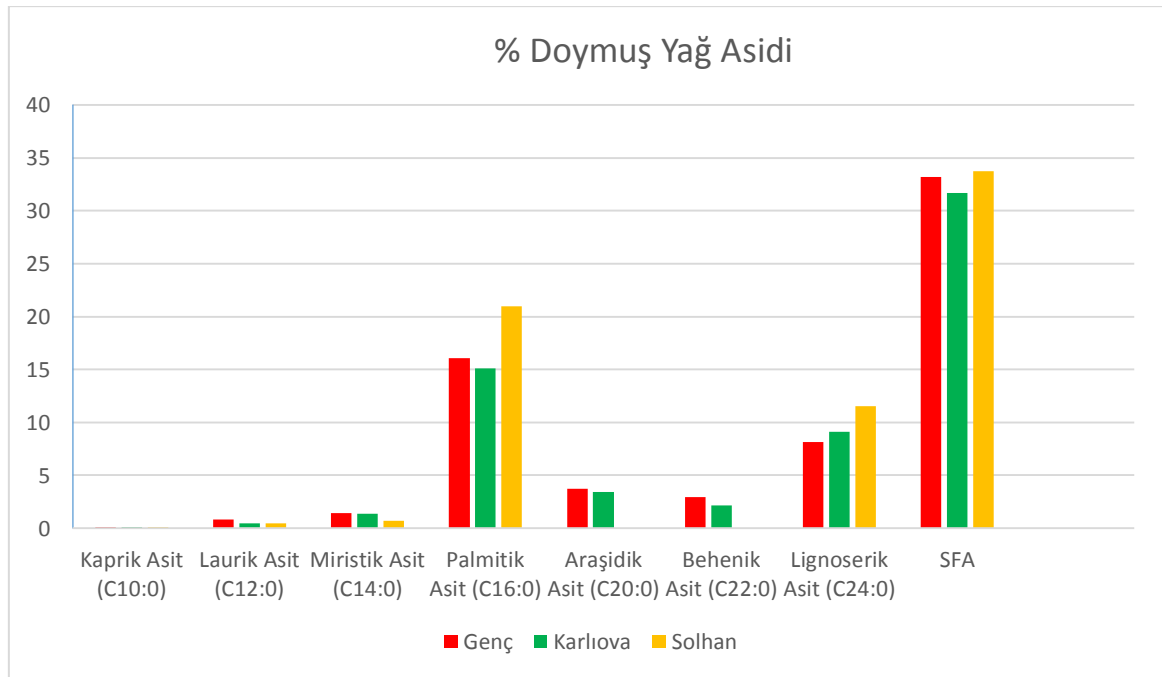
Yağ Asitleri		n	RT	Genç	Karlıova	Solhan	Önem Derecesi(P)
Kaprik Asit	C10:0	3	28.217	0,08±0.02a	0,09±0.03a	0,07±0.01a	onz
Laurik asit	C12:0	3	33.247	0,8±0.39	0,45±0.02	0,43±0.16	onz
Miristik asit	C14:0	3	38,682	1,4±0.27a	1,39±0.36a	0,72±0.21b	*
Palmitik Asit	C16:0	3	44,084	16,08±0.63a	15,07±1.05a	20,97±2.25b	*
Araşidik asit	C20:0	3	52,987	3,75±1.89a	3,45±1.78a	-----	onz
Behenik asit	C22:0	3	56,621	2,96±0.93a	2,16±1.17a	-----	onz
Lignoserik asit	C24:0	3	59,745	8,13±0.39a	9,09±0.82a	11,53±1.21b	*
Toplam doymuş yağ asitleri(SFA)	%	3		33,2±4.52a	31,7±5,23a	33,72±3.84a	

a, b, c: Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. n: Tekerrür sayısı, P: Önem düzeyi, ÖNZ: Önemsiz, *: P<0,05.

Tablo 4.6'nın incelenmesinde sırasıyla Genç bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait doymuş yağ asitleri oranları sırasıyla Kaprik Asit (C10:0) 0,08±0.02, Laurik asit (C12:0) 0,8±0.39, Miristik asit (C14:0) 1,4±0.27, Palmitik Asit (C16:0) 16,08±0.63,

Araşidik asit (C20:0), Behenik asit (C22:0) $8,13 \pm 0.39$, Lignoserik asit (C24:0) $8,13 \pm 0.39$ mg/g ve Toplam doymuş yağ asitleri (SFA) miktarı $33,2 \pm 4.52$ (%) olarak bulunmuştur. Karlıova bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait doymuş yağ asitleri oranları sırasıyla Kaprik Asit (C10:0) $0,09 \pm 0.03$, Laurik asit (C12:0) $0,45 \pm 0.02$, Miristik asit (C14:0) $1,39 \pm 0.36$, Palmitik Asit (C16:0) $15,07 \pm 1.05$, Araşidik asit (C20:0) $3,45 \pm 1.78$, Behenik asit (C22:0) $2,16 \pm 1.17$, Lignoserik asit (C24:0) $9,09 \pm 0.82$ ve Toplam doymuş yağ asitleri (SFA) miktarı $\%31,7 \pm 5,23$ olarak bulunmuştur.

Solhan bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait doymuş yağ asitleri oranları sırasıyla Kaprik Asit (C10:0) $0,07 \pm 0.01$, Laurik asit (C12:0) $0,43 \pm 0.16$, Miristik asit (C14:0) $0,72 \pm 0.21$, Palmitik Asit (C16:0) $20,97 \pm 2.25$, Araşidik asit (C20:0) 0, Behenik asit (C22:0) 0, Lignoserik asit (C24:0) $11,53 \pm 1.21$ ve Toplam doymuş yağ asitleri (SFA) miktarı $\% 33,72 \pm 3.84$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.6. Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine Ait Propolis Örneklerinin Doymuş Yağ Asitleri grafiği

Bingöl ili Kaprik Asit (C10:0) miktarına ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Bingöl ili Laurik asit (C12:0) miktarına ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait

ortalamlar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Bingöl ili Miristik asit (C14:0) miktarına ait ortalamlar ve standart hatalar incelendiğinde Solhan bölgesine ait ortalama ile Genç ve Karlıova'ya ait ortalamlar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), Genç ve Karlıova bölgeleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Bingöl ili Palmitik Asit (C16:0) miktarına ait ortalamlar ve standart hatalar incelendiğinde Solhan bölgesine ait ortalama ile Genç ve Karlıova'ya ait ortalamlar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), Genç ve Karlıova bölgeleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur.

Bingöl ili Araşidik asit (C20:0) miktarına ait ortalamlar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamlar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Bingöl ili Behenik asit (C22:0) miktarına ait ortalamlar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamlar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Bingöl ili Lignoserik asit (C24:0) miktarına ait ortalamlar ve standart hatalar incelendiğinde Solhan bölgesine ait ortalama ile Genç ve Karlıova'ya ait ortalamlar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), Genç ve Karlıova bölgeleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Bingöl ili Toplam doymuş yağ asitleri(SFA) miktarına ait ortalamlar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamlar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur.

Bingöl ili doymuş yağ asitleri kompozisyonu GC-MS analizi sonucunda belirlenmiştir. elde edilen bulgulara göre Kaprik Asit (C10:0) değeri en yüksek $0,09 \pm 0,03$ mg/g Karlıova bölgesinde, Laurik asit (C12:0) değeri en yüksek $0,8 \pm 0,39$ Genç bölgesinde, Miristik asit (C14:0) $1,4 \pm 0,27$ genç bölgesinde, Palmitik Asit (C16:0) $20,97 \pm 2,25$ Solhan bölgesinde, Araşidik asit (C20:0) $3,75 \pm 1,89$ Genç bölgesinde, Behenik asit (C22:0) $2,96 \pm 0,93$ genç bölgesinde, Lignoserik asit (C24:0) $11,53 \pm 1,21$ Solhan bölgesinde ve Toplam doymuş yağ asitleri(SFA) $33,72 \pm 3,84$ mg/g olarak bulunmuştur.

4.3.1.2. Doymamış Yağ Asitleri Özellikleri

Bu araştırma Bingöl ilinden elde edilen propolislerin bazı verim özellikleri bakımından karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Deneme süresince Bingöl ili Genç, Karlıova,

Solhan bölgelerinden elde edilen propolislere ait doymamış yağ asitleri oranları, standart hataları ve önem kontrolleri sırasıyla aşağıdaki tabloda verilmiştir.

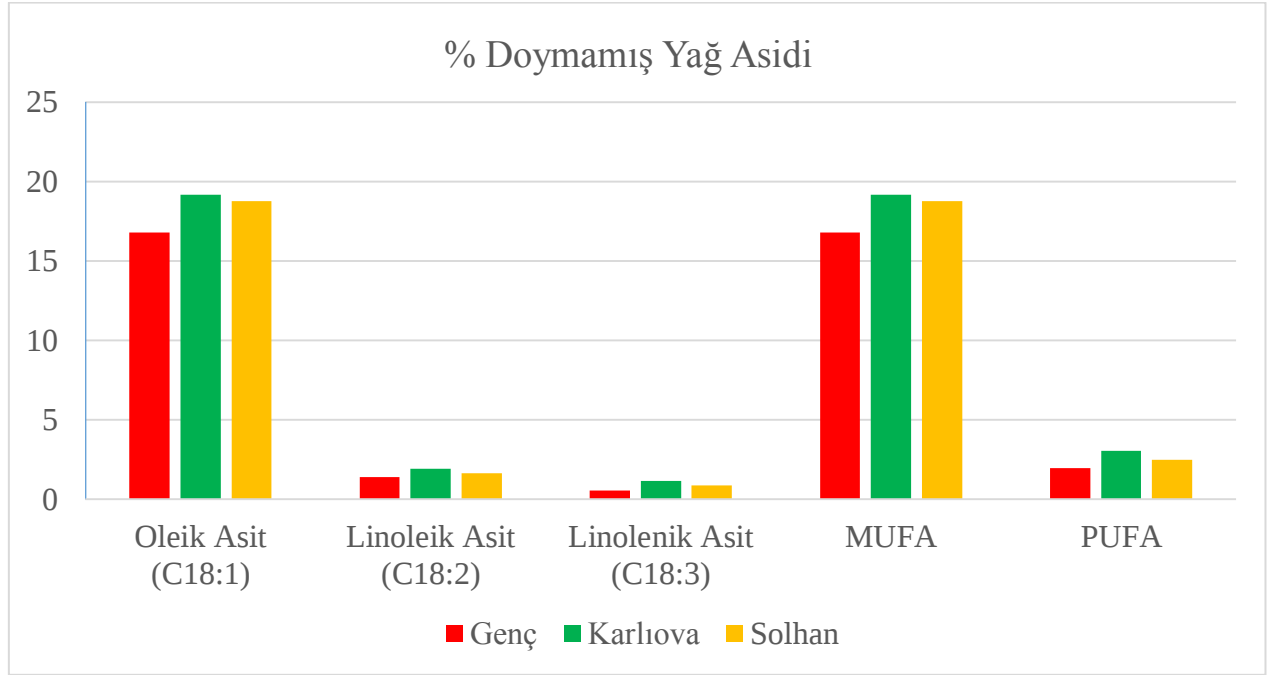
Tablo 4.7. Genç, Karlıova ve Solhan Bölgelerine Ait Propolis Örneklerinin Doymamış Yağ Asitleri Sonuçları

Yağ Asitleri		n	RT	Genç	Karlıova	Solhan	Önem Derecesi(P)
Oleik asit	C18:1	3	49,217	16,77±2.5a	19,16±2.99a	18,76±0.9a	onz
Linoleik asit	C18:2	3	50,206	1,4±0.78a	1,92±0.21a	1,62±0.27a	onz
Linolenik asit	C18:3	3	51,62	0,54±0.31a	1,14±0.12b	0,86±0.06c	*
Toplam Tekli Doymamış Yağ Asit(MUFA)	%	3		16,77±2.5a	19,16±2.99a	18,76±0.9a	onz
Toplam Çoklu Doymamış Yağ Asidi(PUFA)	%	3		1,94±1.09a	3,06±0.33a	2,48±0.33b	*

a,b, c: Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. n: Tekerrür sayısı, P: Önem düzeyi, ÖNZ: Önemsiz, *: P<0,05.

Tablo 4.7'in incelenmesinde sırasıyla Genç bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait doymamış yağ asitleri oranları ve standart hataları sırasıyla Oleik asit (C18:1) 16,77±2.5, Linoleik asit (C18:2) 1,4±0.78, Linolenik asit (C18:3) 0,54±0.31, Toplam Tekli Doymamış Yağ Asit(MUFA) 19,16±2.99, Toplam Çoklu Doymamış Yağ Asidi(PUFA) %1,94±1.09 olarak bulunmuştur. Karlıova bölgesinden elde edilen propolis örneklerine ait doymamış yağ asitleri oranları ve standart hataları sırasıyla Oleik asit (C18:1) 19,16±2.99, Linoleik asit (C18:2) 1,92±0.21, Linolenik asit (C18:3) 1,14±0.12, Toplam Tekli Doymamış Yağ Asit(MUFA) 16,77±2.5, Toplam Çoklu Doymamış Yağ Asidi(PUFA) %3,06±0.33 olarak bulunmuştur. Solhan bölgesinden elde edilen propolis

örneklerine ait doymamış yağ asitleri oranları ve standart hataları sırasıyla Oleik asit (C18:1) $18,76 \pm 0.9$, Linoleik asit $1,62 \pm 0.27$, Linolenik asit (C18:3) $0,86 \pm 0.06$, toplam tekli doymamış yağ asit(MUFA) $18,76 \pm 0.9$, toplam çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) $2,48 \pm 0.33$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.7. Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine Ait Propolis Örneklerinin Doymamış Yağ Asitleri grafiği

Bingöl ili Oleik asit (C18:1) miktarına ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Bingöl ili Linoleik asit (C18:2) miktarına ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Bingöl ili Linolenik asit (C18:3) miktarına ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın önemli ($P < 0,05$) olduğu bulunmuştur. Bingöl ili Toplam Tekli Doymamış Yağ Asit(MUFA) miktarına ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine ait ortalamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Bingöl ili toplam çoklu doymamış yağ asit(PUFA) miktarına ait ortalamalar ve standart hatalar incelendiğinde Solhan bölgesine ait ortalama ile Genç ve Karlıova'ya ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), Genç ve Karlıova bölgeleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur.

Bingöl ili Solhan, Genç ve Karlıova bölgelerinden elde edilen propolis örnekleri GC-MS ile analiz edilmiştir. GC-MS analizi sonucuna göre 10 adet yağ asidi tespit edilmiştir. Bunlardan 7 doymuş yağ asidi, 3 doymamış yağ asidi olarak tespit edilmiştir. Araşidik asit (C20:0), Behenik asit (C22:0) Genç ve Karlıova bölgesinde tespit edilirken Solhan bölgesinde tespit edilememiştir. Elde edilen bulgulara göre yağ asitleri değerleri, doymuş yağ asitleri (tekli/çoklu) ve doymamış yağ asitleri şeklinde Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te verilmiştir.

Elde edilen bulgular incelendiğinde doymuş yağ asitleri bölge ortalamaları bakımından incelendiğinde $33,72 \pm 3.84$ % ile Solhan $33,2 \pm 4.52$ Genç bölgesinde tespit edilmiştir. Doymuş Yağ asitleri bölge ortalamalarına göre önemsiz bulunmuştur. Bulgulara göre en düşük oranda bulunan doymuş yağ asidi Kaprik Asit C10:0 $0,07 \pm 0.01$ % Solhan bölgesinde, en yüksek oranda bulunan doymuş yağ asidi ise Palmitik Asit C16:0 $20,97 \pm 2.25$ yine Solhan bölgesinde tespit edilmiştir.

Doymamış yağ asitleri bölge ortalamaları bakımından incelendiğinde Toplam Tekli Doymamış Yağ Asit(MUFA) değeri 18,23 % , toplam doymuş yağ asidi (PUFA) 2,49% olarak hesaplanmıştır. Bulgulara göre en düşük oranda bulunan doymamış yağ asidi Linolenik asit (C18:3) $0,54 \pm 0.31$, Oleik asit (C18:1) $19,16 \pm 2.99$ olarak bulunmuştur.

Dıǧrak vd. (1995) Elazığ propolisiyle yaptıkları çalışmada 8 adet yağ asidi tespit etmiştir. Yağ asitlerini sırasıyla Kaprik Asit (0,74), pentadecanoic asit (0,30), Palmitik Asit (9,6), Stearik asit (2,72), Linoleik asit (0,42), Araşidonik asit (1,26), eicosapentaoneik asit (2,60), nervonik asit % 15,8 olarak tespit etmiştir. Yaptığımız çalışmayla karşılaştırsak bizim bulduğumuz yağ asidi sayı ve yüzde olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımız literatürle uyum içerisindedir.

Shakya1 et al. (2018) Ürdün propolisiyle ilgili yaptığı çalışmada palmitik asit %44,5, araşidik asit (%7,4), stearik asit (%5,4), Linoleik asit (%3,1), kaprilik asit (%2,9), lignoserik asit (%2,6), *cis*-11,14-eicosadienoik asit (20:2Δ11-14*cis* 2,4%), palmitoleik asit (1.5%), *cis*-11-eicosenoic acid(%1,2), α-linolenik asit (18:3Δ9-12-15*cis* %1,1), *cis*-

13,16-docosadienoik acid(22:2 Δ 13-16*cis*, %1 olarak tespit etmiştir. Yaptığımız çalışmayla karşılaştırsak yağ asitleri kompozisyonu ve oranları bakımından farklılıklar görülmüştür. Farklı yağ asidi kompozisyonun coğrafik faktörler, iklim, mevsim ve bitki kaynaklarındaki farklılıklardan kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Türkiye propolisinin yağ asitleri ile yapılan benzer çalışmalarda Caprinic acid 0.02, Lauric acid 0.33 Şahinler vd. (2005), Palmitik Asit 0.33-2.39, Stearik Asit 0.11-1.23 Kuru vd. (2007), Oleik Asit 0.63-1, α -Linoleik asit 0.4, 9-Octadecanoik asit 0.36-2.12, 2.12-0.36, Behenik asit %1,88-1,02 Silici vd. (2005) olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmadaki bulgular literatürle uyumludur.

4.3.2. GC-MS ile Tespit Edilen Diğer Bileşikler

Tablo 4.8. GC-MS İle Tespit Edilen Bileşikler

Aromatik, fenolik, yağ asitleri ve esterleri	RT	Genç(%)	Karlıova (%)	Solhan (%)
2-Propenoic Acid	65.118	0,26	1,2	1,52
Benzoic Acid	31.782	0,38	-	-
Hexacosanoic Acid	63.007	3,28	-	4,9
Hexadecanoic Acid	25.553	5,87	5,96	-
Benzeneprepanoic Acid		-	0,25	-
12-Octadecanoic Acid	68.208	0,2	5,85	-
Azelaic Acid	47.077	-	0,16	-
Naphtalene Carboxylic Acid	47.054	1.15	-	-
Methyl Cinnamate	46.093	0,89	0,77	0,58
Acetic Acid	19.371	0,31	0,21	0,43

Tablo 4.8. (Devamı)

Methyl p-methoxycinnamate	31.235			1,27
9-Methoxy Bicyclo	37.910	-	-	0,79
6-Trimethyl-4H-	57.782	-	-	5,68

Cyclopent				
Aldehitler, Karboksilik asitler ve hidrokarbonlar				
Eicosane	31.622	0,06	0,12	0,16
Docosane	37.115	0,44	0,38	0,41
Heneicosane	18.267	1,58	1,13	-
Nonacosane	60.758	4,27	-	-
Tetracosane	19.359	0,55	0,7	0,86
Trionsane	57.262	4,2	4,1	4,82
Pentacosane	25.516	1,62	1,8	2,01
Benzaldehyde	39.621	0,28	0,29	0,17
9-Tricosane	65.152	1,1	-	0,17
4-Propyl Benzaldehyde	39.661	-	0,24	0,17
Propyl Benzaldehyde	39.627	0.35	-	-
Undecane	18.287	0,28	0,27	0,29
Pentadecane	31.135	0,38	-	0,60
tetradecane	19.394	0,45	0,4	0,42

Tablo 4.8. (Devamı)

octadecane	37.057	0,19	0.29	0,51
hexadecane	31.198	0,05	0,36	-
Nonadecane	23.994	0,67	0,93	0,65

tridecane	34.139	0,12	0,15	-
decane	24.012	1,55	1,38	1,38
İsopropyl Hexadeconoate	19.365	1,2	1,35	1,38
17-Pentatriacontene	66.640	6,67	5,24	5,08
Tetratriacontone	41.286	-	0,02	-
6-dimethyl decane	13.683	-	0,12	-
2-Hydroxy cyclopenta decanone	66.543	-	-	5,56
Cholestan-3-one	69.804	-	0,08	-
Pyridine-3- carboxamide	46.842	-	-	0,1
Terpenler ve Terpenoidler				
Eudesmol alpha	46.825	0,13	0,42	0,24
Eudesmol beta	47.437	-	0,28	-
1H-Cycloprop[e]azulene	36.205	0,37		
δ-kadinen	36.199	-	-	0,54
Alkoller ve Ketonlar				

Tablo 4.8. (Devamı)

13-Tetradecen-1-ol acetate	61.828	-	0,12	-
13-Octadecenal	61.839	-	1,42	-

3-Nonadecane diol	66.686	-	1,73	-
-------------------	--------	---	------	---

Bingöl ili propolislerinin kimyasal analizler aşamasında GC-MS teknikleri kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre 49 adet önemli bileşik tespit edilmiştir. Tespit edilen bileşik grupları aromatik asitler- fenolik asitler- yağ asitleri ve esterleri, aldehitler, karboksilik asitler ve hidrokarbonlar, terpenler ve terpenoidler, alkoller ve ketonlar olarak bulunmuştur. Tespit edilen bileşik sayıları ve oranları bölgeden bölgeye farklılıklar göstermektedir. 17 adet bileşik tüm bölgelerde bulunmuştur. Geri kalan 32 bileşik farklı bölgelerde ve farklı oranlarda tespit edilmiştir. Aromatik asitler- fenolik asitler- yağ asitleri ve esterleri grubunda 14 adet bileşik tespit edilmiştir. Benzyl cinnamate, Methyl Cinnamate, 12-Octadecanoic Acid Hexacosanoic Acid, Hexadecanoic Acid ve 2-Propenoic Acid bu grupta tespit edilen önemli bileşiklerdir. Aldehitler, Karboksilik asitler ve hidrokarbonlar grubunda 25 adet bileşik tespit edilmiştir. Eicosane, Benzaldehyde, Propyl Benzaldehyde, 17-Pentatriacontene bu grupta tespit edilen önemli bileşiklerdir. Terpenler ve Terpenoidler grubunda Eudesmol alpha, Eudesmol beta, 1H-Cycloprop[e]azulene, δ -kadinen gibi 4 adet önemli bileşik tespit edilmiştir. Alkoller ve Ketonlar grubunda phenol, 13-Tetradecen-1-ol acetate, 13-Octadecenal, 3-Nonadecane diol olarak 4 adet bileşik tespit edilmiştir. Tespit edilen bileşenler daha önceki çalışmalarda bulunan bileşiklerdir. GC-MS ile propolis kimyasal bileşenleri ile ilgili çok fazla yapılmış çalışma vardır.

Gülgen (2016) yüksek lisans tezinde Bingöl iline ait propolis uçucu yağ ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler arasında yüksek oranda α -bisabolol (%9,44), β -karyofillen (%7,77), tetradekanoik asit (%7,66), farnesil aseton (%7,17), (%5,47) ve heptadekan (%3,28) bileşenlerinin varlığını tespit etmiştir. Bu çalışmada tespit edilen bileşikler bizim yaptığımız çalışmadaki sonuçlardan farklı profilde bileşenler elde edilmiştir.

Melliou et al. (2007) Yunanistan'ın propolisinin uçucu yağ ekstraktlarında 94 adet uçucu yağ bileşeni tespit etmiştir. İçeriğinde uçucu yağ bileşenleri olarak junipen, α -pinen, manoil oksit, trans- β -terpineol, α -eudesmol, n-dekanal, guaial, δ -kadinen, α -muurolene, sedrol, bileşenlerinin varlığı gözlenmiş ve bu bileşenlerin bulunma yüzdelerinin bölgeler içerisinde farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca farklı bölgelerden temin edilen propolis örneklerinin uçucu yağ ekstraktlarının önemli bir kısmını α -pinen uçucu bileşeninin oluşturduğunu bildirmiştir.

Ioshida et al. (2010) Brezilya propolisleri uçucu yağ ekstraktları üzerine yaptıkları çalışma sonucunda %18,3 oranında α -pinen uçucu bileşeninin varlığını bildirmiştir.

Silici (2003) bildirişine göre, Artvin propolis örneğindeki 9-oktadekenoik asit, miristik asit, heksadakenoik, benzoik asit ve heptadekan, Bursa propolis örneğinde miristik asit ve benzoik asit, Hatay propolis örneğindeki 9-oktadekenoik asit, benzoik asit, benzil sinamat ve oktadekan, Kayseri propolis örneğindeki heksadakenoik asit ve benzoik asit, Yozgat propolis örneğindeki benzoik asit, İzmir propolis örneğindeki benzoik asit ve miristik asit ile Adana propolis örneğindeki miristik asit yoğun olarak bulunduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmalar ve yaptığımız çalışmadan elde edilen bulgular karşılaştırıldığında Bingöl propolisi bazı bileşikler bakımından benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte bölgeler arasında kimyasal bileşiklerin bireysel benzerlikleri yanında genelde farklı kimyasal bileşikler içerdiği gözlenmiştir. Bu farklılıklar propolis örneklerinin farklı iklim ve farklı bitki örtülerine sahip coğrafik bölgelerden alınmasından kaynaklanmaktadır.

Elde edilen bulgular ve literatür bilgilerinden yola çıkarak farklı bölgelerden temin edilen propolis örneklerinin içerik bakımından farklılıklar göstermesi şaşırtıcı bir durum değildir. Çünkü propolisin bileşimi bitki kaynaklarına, toplandığı bölgeye, arıcıların toplama tekniklerine bağlı olarak değişebilmektedir (Uzel vd. 2005; Bankova et al. 2014; Oruç vd. 2017).

4.4. Kül Özellikleri

Bu araştırma Bingöl ilinden elde edilen propolislerin bazı verim özellikleri bakımından karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Deneme süresince Bingöl ili Genç, Karlıova, Solhan bölgelerinden elde edilen propolislere kül düzeyleri, standart hataları ve önem kontrolleri sırasıyla tablo 4.9’da verilmiştir.

Tablo 4.9. Genç, Karlıova ve Solhan Bölgelerine Ait Örneklerinin Kül Düzeyleri

Bölge	n	Kül oranı (%)	Önem Derecesi(P)
GB1	3	3,28±0.07a	*

GB2	3	1,76±0.14b	*
GB3	3	2,23±0.1c	Önz
KB1	3	2,22±0.24c	Önz
KB2	3	3,36±0.09d	*
KB3	3	4,29±0.49e	*
SB1	3	3,47±0.08d	Önz
SB2	3	3,5±0.06d	Önz
SB3	3	2,62±0.21e	*

a, b, c,d,e: Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. n: Tekerrür sayısı, P: Önem düzeyi, ÖNZ: Önemsiz, *: $P < 0,05$.

Tablo 4.9'un incelenmesinde elde edilen kül düzeyleri sırasıyla $3,28 \pm 0,07$, $1,76 \pm 0,14$, $2,23 \pm 0,1$, $2,22 \pm 0,24$, $3,36 \pm 0,09$, $4,29 \pm 0,49$, $3,47 \pm 0,08$, $3,5 \pm 0,06$, $2,62 \pm 0,21$ olarak tespit edilmiştir. Kül oranlarına ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde bölgelere ait ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur.

Genç bölgesi kül düzeylerine ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde GB2 bölgesine ait ortalama ile GB1 ve GB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur.



Şekil 4.8. Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerine Ait Propolis Örneklerinin Kül Düzeyleri grafiği

Karlıova bölgesi kül düzeylerine ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde KB1 bölgesine ait ortalama ile KB2 ve KB3 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur.

Solhan bölgesi kül düzeylerine ait elde edilen sonuçlar incelendiğinde SB3 bölgesine ait ortalama ile SB1 ve SB2 bölgelerine ait ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$), SB1 ve SB2 bölgeleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmada Bingöl iline ait propolis örneklerinin kül düzeyleri % kül olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bulgulara göre kül düzeyleri %1,76–4,29 olarak bulunmuştur.

Silici (2008) yaptığı çalışmada kavak propolisinin kül oranını %2,71, kestane propolisinin kül oranını %3,66 ve okaliptüs propolisinin kül oranını %2,45 olarak bulmuştur. Cunha at al. (2004) 6 Brezilya propolisinin kimyasal özelliklerini inceledikleri araştırmalarında örneklerin kül içeriğinin %2,5-4,59 olarak bulmuşlardır. Brezilya’da Sao Paulo Devlet Arıcılar Birliği standartlarına göre propoliste maksimum kül içeriğinin %5 civarında olması gerektiği bildirilmiştir. Teixeira at al. (2005) Brezilya’nın değişik bölgelerinden topladıkları propolis örneklerinde kül içeriğini %1,87–7,16 olarak bulmuşlardır. Yine aynı ülkeden araştırmacılar Popova at al. (2004) Brezilya propolisi için kül içeriğini %3,10 olarak tespit etmişlerdir. Elde edilen bu sonuçlar ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalarla uyum içerisindedir. Yapılan çalışmalar bizim elde ettiklerimiz sonuçlarla aynı değildir. Bunun en önemli sebeplerinden biri propolisin coğrafik ve botanik orijinindeki farklılıklardan kaynaklandığını söyleyebiliriz. Kül oranının düşük çıkması organik maddenin fazla, yüksek çıkması organik madde içeriğinin düşük olması anlamına gelmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Bingöl ili Genç, Karlıova ve Solhan bölgelerinden elde edilen 9 adet propolis örneğinin bazı özelliklerden bakımından incelenmiş olup, elde edilen sonuçlar ve bazı öneriler aşağıda sıralanmıştır.

1. Toplam fenolik madde miktarlarına ait en düşük değer 25.1 ± 0.6 mg GAE/g propolis GB1 bölgesinde, en yüksek değer 150.4 ± 12.5 mg GAE/g propolis SB3 bölgesinde tespit edildi. Bingöl ili ortalama toplam fenolik miktarı 77.18 ± 4.52 mg GAE/g propolis olarak tespit edilmiştir.
2. İncelenen tüm propolis örneklerinin toplam fenolik madde miktarları birbirinden farklı bulunmuştur.
2. Yaygın olarak kullanılan ve en iyi sonuç veren toplam antioksidan kapasitesi belirleme yöntemlerinden biri olan Ferrik indirgeme antioksidan gücü yöntemine göre tayin edildi. FRAP değerleri en düşük 287 ± 9 μ mol Troloks /g propolis GB1 bölgesinde, en yüksek 2071 ± 71 μ mol Troloks /g propolis SB3 bölgesinde tespit edildi. Antioksidan kapasitesi ortalama 1228.6 ± 43.11 μ mol Troloks /g propolis olarak bulundu. Bingöl ilinden elde edilen propolislerin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.
3. Propolis örneklerinin DPPH radikal süpürme yeteneği en yüksek 98 ± 7 μ g propolis /ml SB3 bölgesinde, en düşük 874 ± 28 μ g propolis /ml GB1 bölgesinde tespit edildi. Ortalama DPPH IC₅₀ değeri 353.11 μ g propolis /ml olarak hesaplanmıştır. Bingöl ili propolislerinin yüksek radikal süpürme yeteneğine sahip oldukları bulunmuştur.
4. Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) yöntemi ile tayin edildi. Bingöl iline ait ORAC değerleri en düşük 2288 ± 124 μ mol Troloks /g propolis GB1

bölgesinde, en yüksek $3405 \pm 175 \mu \text{ mol Troloks /g propolis SB3}$ bölgesinde tespit edilmiştir.

5. Metal şelatlama aktivitesi en düşük $49 \pm 5 \mu \text{g propolis /ml GB1}$ bölgesinde, en yüksek 387 ± 14 $49 \pm 5 \mu \text{g propolis /ml SB3}$ bölgesinde bulunmuştur.
6. Bingöl iline ait kül değerleri %1,76 – 4,29 arasında değiştiği tespit edilmiştir.
7. Bingöl iline ait protein oranları %2,18- 4,73 arasında değiştiği tespit edilmiştir.
8. GS-MS analizi ile 59 adet bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden 10 adet yağ asidi ve 49 adet diğer bileşikler olarak tespit edilmiştir.
9. Sonuç olarak propolis içeriğinin çok değişken olduğu ve değişkenliklerin iklim, vejetasyon, bitki kaynakları, toprak yapısı ve bal arılarının yaptığı tercihlerden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.
10. Başarılı Propolis standardizasyon çalışmalarının yapılabilmesi bitki kaynaklarının çok iyi bilinmesi gerekiyor. Propolis içeriği birçok faktöre bağlı değişmekle birlikte en çok etkilendiği faktör bal arılarının propolisi toplarken yapmış oldukları bitki kaynaklarıdır. Farklı propolis türleri (kavak, meşe, çam vb.) içerik bakımından farklıdır.
11. Sonuç olarak propolisin kimyasal bileşiminin çok karmaşık bir yapıya sahip olduğu ve toplandığı bölgenin bitki florasına ve toplama sezonuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.
12. Bingöl ilinden elde edilen propolislerle ilgili detaylı bir çalışmaya rastlanılamadı. Bu çalışmanın Bingöl ve Türkiye propolisleriyle ilgili yapılacak standardizasyon çalışmalarına katkı sağlaması ve ayrıca bundan sonra yapılacak olan literatür çalışmalarına kaynak olması amaçlanmıştır.

13. Bingöl ili arıcılık sektörü açısından önemli bir yere sahiptir. Bölgede işlenebilen tarım arazisi yok denecek kadar az olduğundan arıcılık bölge halkı için önemli bir gelir kaynağı oluşturmaktadır. Sürdürülebilir bir arıcılık yapmak için bal dışındaki diğer arı ürünlerinin üretim teknikleri bilinmeli ve uygulanmalıdır.

KAYNAKLAR

Abdel-Rahman MA, Mosaad GM (2013) Effect of propolis as additive on some behavioural patterns, performance and blood parameters in muscovy broiler ducks. *Journal of Advanced Veterinary Research* 3: 64-68

Ahn MR, Kumazawa S, Usui Y, Nakamura J, Matsuka M, Zhu F, Nakayama T (2007) Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chem.* 101(4): 1383-1392

Ali FH, Kassem GM, Atta-Alla OA (2010) Propolis as a natural decontaminant and antioxidant in fresh oriental sausage. *Veterinari Italiana* Apr-Jun;46(2):167-72

Aliyazicioglu R, Güven S, Menteşe A (2011) Serum anti-carbonic anhydrase anti bodies and oxidant-antioxidant balance in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*, Bucharest, Romania p.142

Aliyazicioglu R, Şahin H, Ertürk O, Ulusoy E, Kolaylı S (2013) Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. *International Journal of Food Properties* 16: 277-287

Aly S, Elewa N (2007) The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *Journal of Dairy Research* 74(1): 74-78

Andrade JKS, Denadai M, de Oliveira CS, Nunes ML, Narain N (2017) Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International* 101: 129-138

Anonim 2016a. Bingöl Belediyesi Resmi İnternet Sayfası. [http:// www.bingol.bel.tr/](http://www.bingol.bel.tr/), (Erişim tarihi: 01.02.2016)

Anonim 2016b. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Meteoroloji Genel Müdürlüğü İnternet Sayfası, [http://www.mgm.gov.tr/tahmin/ il-ve-ilceler.aspx?m=BINGOL](http://www.mgm.gov.tr/tahmin/il-ve-ilceler.aspx?m=BINGOL), (Erişim tarihi: 02.02.2016)

Azevedo IBS, Sampaio RF, Montes JC, Contreras RLL (1986) Tratamento de escaras de decubito com propolis. *Rev Bras Enferm* 39: 7-33

Bankova V (2005) Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of ethnopharmacology* 100(1-2): 114-117

Bankova V, Djulgerov AI, Popov S, Evstatieva L, Kuleva L (1991) A study on the origin of Bulgarian propolis. *Apiacta* 23(1): 13–17

Bankova V, Gergana BK, Popov S, Sforcin JM, Cunha Funari SR (1998) Seasonal variations of chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie* 29: 361-367

Bankova V, Nikolova N, Marcucci M (1998) A new lignan from Brazilian propolis. *Journal Apical Abstract.* volume:51 issue. 9-10 p.324-98

Bankova V, Popova M, Trusheva B (2016) New emerging fields of application of propolis. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 35(1): 1-11

Bankova V, Popova S, Bocari G, Haxhialushi E (1997) Phenolic composition of Albanian propolis. *Journal Apical Abstract.* volume:3 issue: 4 p. 297-97

Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, Tezuka Y, Awale S, Midorikawa K, Matsushige K, Kadota S (2002) Antiproliferative activity of the Netherlands Propolis and its active principles in cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology* 80: 67-73

Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, Midorikawa K, Matsushige K, Message D, Huertas AAG, Kadota S (2000) Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and Chine. *Journal of Etnopharmacology* 72: 239-246

Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S (2001) Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy research* 15(7): 561-571

Bernardi S, Favaro-Trindade CS, Trindade MA, Balieiro JCC, Cavenaghi AD, Contrera-Castillo CJ (2013) Italian-type salami with propolis as antioxidant. *Italian Journal Food Science* 25(40): 433-440

Bogdanov S, Bankova V (2012) The Propolis Book. *Bee Product Science* 1: 1-15

Bonvehí JS, Gutiérrez AL (2011) Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *Journal of the American Oil Chemists Society* 88(9): 1387-1395

Borba RS, Klyczek KK, Mogen KL, Spivak M (2015) Seasonal benefits of a natural propolis envelope to honey bee immunity and colony health. *Journal of Experimental Biology* 218: 127-324

Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Lanaro A, Russu A, Capasso F, Lalenti A, (2002) Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 73(1): 53-63

Burdock GA (1998) Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical toxicology* 36(4): 347-363

Callejo A, Armentia A, Lombardero M, Asensio T (2001) Propolis, a new bee-related allergen. 56(6): 579

Campos MG, Cunha A, Markham KR, Lensky Y, Mizrahi A (1997) *Bee Products Chemical Composition and Application in Bee-Pollen Composition, Properties, and Applications*, Plenum Press, New York 93-100

Cao GH, Alessio HM, Cutler RG (1993) Oxygen-radical absorbency capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biology and Medicine* 14: 303-11

Castaldo S, Capasso F (2002) Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73: 1-6

Chen PC, Wong G (1996) Honey bee propolis: prospects in medicine. *Bee World* 77: 8–15

Cowan MM (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 564-82

Crane EE (2013) *The world history of beekeeping and honey hunting*, Routledge Taylor and Francis Group, New York 483-551

Cunha B, Ildenize BS (2004) Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *J. Braz. Chem. Soc.* 15: 6-964

da Silva C, Prasniewski A, Calegari MA, de Lima VA, Oldoni TL (2018) Determination of total phenolic compounds and antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis using ATR–FT-IR spectroscopy and chemometrics. *Food Analytical Methods* 11(7): 2013-2021

Dalar A, Türker M, Konczak I (2012) Antioxidant capacity and phenolic constituents of *Malva neglecta* Wallr. and *Plantago lanceolata* L. from Eastern Anatolia Region of Turkey. *Journal of Herbal Medicine* (2): 42-51

Dığrak M, Yılmaz Ö, Çelik S, Yıldız S (1995) Propolisteki yağ asitleri ve antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar. *Gıda* 20(4): 249-255

Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida MLM (1994) Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch Biochem Biophys* 315: 161-69

Dobrowolski J.W, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Nagvi SA, Dandiya P.C (1991) Antibacterial, antifungal, antiamebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal Ethnopharmacology* 35: 72-82

Doğan N, Hayođlu İ (2012) Propolis ve kullanım alanları. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 16(3): 39-48

Duran GG (2007) In-vitro koşullarda propolisin antibakteriyal, antifungal ve leyişmanyasidal etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay tez no: 179938 s. 2-10

Duran N, Muz M, Culha G, Duran G, Özer B (2011) GC-MS analysis and antileishmanial activities of two Turkish propolis types. *Parasitology research* 108(1): 95-105

El-Neney BAM, Awadşenn N B, Eid YZ (2016) The use of bee propolis as a source of natural additives to improve the productive performance and immune system of local chickens. 9th International Poultry Conference 7 – 10 November, Hurghada, Red Sea – Egypt

Engür T (2007) Kayseri Propolisinin Kimyasal Yapısı ve Standardizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri tez no: 177714 s. 14-21

Erkmen O, Özcan MM (2008) Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. *Journal of Medicinal Food*. 11(3): 587-592

Ernst E. (2002) Herbal medicinal products during pregnancy: are they safe? *BJOG* 109(3): 227-35

Fearnley J (2001) Bee propolis: natural healing from the hive, Souvenir press, London

Genc F, Dodoloğlu A (2011) Arıcılığın temel esasları. Ders notu Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 931, Ziraat Fakültesi Yayın No: 341

Ghisalberti EL (1979) Propolis: a Review. Bee World 60: 59–84

Ghiselli A, Serafini M, Maiani G, Azzini E, Ferroluzzi AA (1995) Fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. Free Radic Bio Medical 18: 29-36

Giada MDLR (2013) Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power in oxidative stress and chronic degenerative diseases-a role for antioxidants. 4: 87-112

Glazer AN (1990) Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species. Method Enzymol 186: 161-8

Graikou K, Popova M, Gortzi O, Bankova V, Chinou I, (2016) Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type?. LWT - Food Science and Technology 65: 261-267

Gülbahar O, Öztürk G, Erdem N, Kazandı AC, Kokuludağ A (2005) [Psoriasiform contact dermatitis due to propolis in a beekeeper](#) 94(4): 509-511

Gülgen S (2016) Anadolu propolislerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonu ve *in vitro* antikanser özelliklerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi, Malatya Tez no: 424351 s.10-28

Güney F (2016) Bazı propolis özütlerinin meyveli yoğurtların biyokimyasal, fizikokimyasal ve raf ömrü üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu Üniversitesi Tez no: 336590 s.8-17

Han SK, Park HK (1995) A study on the preservation of meat products by natural propolis: effect of EEP on protein change of meat products. Korean Journal Of Animal Science 37(5): 551–557

Hay KD, Greig DE (1990) Propolis allergy: a cause of oral mucositis with ulceration. 70(5): 584-586

Hepburn HR, Kurstjens M (1984) On the strength of Propolis (Bee Glue). Naturwissenschaften 71: 591–592

- Hepşen İF, Tilgen F, Er H (1996) Propolis: tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. *Turgut Özalp Tıp Merkezi Dergisi* 3(4): 386-391
- Ioshida MDM, Young, MCM, Lago JHG (2010) Chemical composition and antifungal activity of essential oil from Brazilian propolis. *Journal Essential Oil-Bearing Plants*.13: 633–637
- Jian-xin G, Hai-ying C, Zhao-yun L (2011) The influence of propolis on bifidobacteria and lactobacillus in yogurt. *Chinese Journal of Disinfection* 2011-02
- Jolly V. (1978) Propolis varnish for violins. *Bee World* 59: 158-161
- Kaal J (1992) Propolis. *Honey and Bees* 9–43
- Katalinic V, Radic S, Ropac D, Mulic R, Katalinic A (2004) Antioxidative activity of propolis from Dalmatia (Croatia). *Acta medica Croatica: casopis Hravatske akademije medicinskih znanosti* 58(5): 373–376
- Keskin M, Kolaylı S (2018) Standardization of propolis is it possible? *Uludağ Arı Dergisi* 18(2): 101-110
- Keskin N, Hazir S, Baser KHC and Kürkçüoğlu M (2001) Antibacterial activity and chemical composition of Turkish propolis. *Zeitschrift fur naturforschungC* 56(11/12): 1112-1115
- Keskin Ş, Yatanaslan L, Karlıdağ S (2020) Anadolu'nun farklı illerinden toplanan propolis örneklerinin kimyasal karakterizasyonu (Chemical characterization of propolis samples collected from different provinces of Anatolia). *Uludağ Arı.Dergisi* 20(1): 81-88
- Koç AN, Silici S, Sarigüzel FM, Sağdıç O (2007) Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology Biotechnology* 45(1): 57–61
- Konczak I, Yoshimoto M, Hou DX, Terahara N, Yamakawa O (2003) Potential Chemopreventive Properties of Anthocyanin-rich Aqueous Extracts from in vitro Produced Tissue of Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) *Journal Agricultural Food Chemistry* 51: 5916-22
- Koru O, Toksoy F, Açikel CH, Tunca YM, Baysallar M, Güçlü AU, Akça E, Tüylü AO, Sorkun K, Tanyuksel M (2007) In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe* 13(3): 140-145

Krell R (1996) Value-added products from beekeeping. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. FAO Agricultural Services Bulletin No: 124

Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S (1999) Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of ethnopharmacology* 64(3): 235-240

Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T (2004) Antioxidant activity of propolis of geographic origins. 84(3): 329-339

Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G (2002) Propolis: An important bee product. *Uludag Bee Journal* 2: 10-24

Kunrath CA, Savoldi DC, Mileski JPF, Novello CR, Alfaro AT, Marchi JF, Tonial IB (2017) Application and evaluation of propolis, the natural antioxidant in Italian-type salami. *Brazilian Journal Food Technology* 20:16-35

Kutluca S (2003) Propolis üretim yöntemlerinin koloni performansı ve propolisin kimyasal özellikleri üzerine etkileri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum Tez no: 131565 s.34-42

Melliou E, Stratis E, Chinou I (2007) Volatile constituents of propolis from various regions of Greece – Antimicrobial activity. *Food Chemistry* 103: 375–380.

Mercan N, Kivrak I, Duru ME, Katircioglu H, Gülcan S, Malcı S, Acar G, Salih B (2006) Chemical composition effects onto antimicrobial and antioxidant activities of propolis collected from different regions of Turkey. *Annals of Microbiology* 56: 373-378

Mizuno M (1989) Food packaging materials containing propolis as a preservative. Japanese Patent No. JP 01 243 974 (89 243 974) p. 5

Mohammadzadeh S, Shariatpanahi M, Hamed M, Ahmadvaniha R, Samadi N, Ostad SN (2007) Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chemistry* 103: 1097–1103

Morales WF, Garbarino JL (1997) Clinical evaluation of a new hypoallergic formula of propolis in dressings. In: Mizrahi A, Lensky Y(Eds), *Bee products: Properties, Application and Apitherapy*. New York 101-105

Osés SM, Pascual-Maté A, Fernández-Muiño MA, López-Díaz TM, Sancho MT (2016) Bioactive properties of honey with propolis. *Food Chemistry* 196:1215-1223

Özan F, (2006) Propolis'in kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas Tez no: 196276 s.24-36

Özdağ T, Ceylan FD, Eroğlu N, Kaplan M, Olgun, EO, Çapanoğlu E (2019) Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. Food Research International 122: 528–536

Park JS, Woo KS (1997) The usage and composition of propolis added cosmetics in Korea. In Mizrahi, A, Lensky, Y.(Eds), Bee Products Properties, Applications, and Apitherapy. Plenum Press, New York 121-124

Patricio E, Cruz-Lopez L, Maile R, Tentschert J, Jones G, Morgan E (2002) The propolis of stingless bees: terpenes from the tibia of three Frieseomelitta species. Journal of Insect Physiology 48: 249-254

Perez ES, Botell ML, Perezstuart O, Castillo BB (1995) Vaginal parasites and acute cervicitis lokal treatment with propolis. Revista Cubana de Enfermeria 11(1):51-6. Product Research 19: 183–188

Popova M, Bankova [V](#), Butovska D, Petkov V, [Boryana](#) ND, Sabatini AG, Marcazzan GL, Bogdanov S (2004) Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. Phytochemical Analysis 15: 235-240

Popova MP, Bankova VS, Bogdanov S, Tsvetkova I, Naydenski C, Marcazzan GL, Sabatini AG (2007) Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. Apidologie 38(3): 306-311

Ring A (1995) Antiviral complex of flavonoids from propolis in the treatment of herpes infections journal of alternative and complementary medicine January 23: 35-44

Sağdıç O, Silici S, Yetim H (2007) Fate of escherichia coli and e. coli O157:H7 in apple juice treated with propolis extract. Annals of Microbiology 57(3): 345-348

Santos FA, Bastos EMA, Uzeda M, Carvalho MAR, Farias LM, Moreira ESA, Schmit JO (1997) Bee products: Chemical composition and application,. In: Mizrahi A, Lensky Y (Eds). Bee products: properties, applications and apitherapy. New York, Plenum Press 269: 213-220

Sarıkaya AO, Ulusoy E, Öztürk N, Tunçel M, Kolaylı S (2009) Antioxidant Activity and Phenolic Acid Constituents of Chestnut (*Castania Sativa* Mill.) Honey And Propolis. J. Food Biochem. 33(4): 470–481

Scheller (1990) Plantorigins of propolis: A report of work at Oxford. *Bee World* 71(3): 107-118

Schmidt JO, Buchmann SL (1992) Other products of the hive. *The hive and honey bee*, Dadant and Sons Hamilton Illinois 928-977 p.

Sforcin JM, Bankova V (2011) Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology* 133: 253-260

Shakya¹ AK, Katekhaye S, Oriquat GA, Naik RR, Paradkar A, Fearnley H, Fearnley J (2018) Fatty acid analysis and biological activity of Jordanian propolis. *Journal of Apitherapy and Nature* 1(3): 33-33

Simoës-Ambrosio L, Gregorio L, Sousa J, Figueiredo-Rinhel A, Azzolin A, Bastos J, Lucisano-Valim Y (2010) The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green propolis on the oxidative metabolism of neutrophils. *Fitoterapia* 81: 1102-1108

Silici S (2003) Propolisin bazı antimikrobiyel ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim dalı, Adana Tez no: 135754

Silici S, Kutluca S (2005) Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *J. Ethnopharmacol* 99(1): 69-73

Skaba D, Morawiec T, Tanasiewicz M, Mertas A, Bobela E, Szliszka E, Makita Y (2013) Influence of the toothpaste with Brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 215391

Slinkard K, Singleton VL (1977) Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55

Şahinler N, Kaftanoglu O (2005) Natural product propolis: chemical composition. *Nat. Prod. Res.* 19(2): 183-18

Teixera W, Negri G, Message D (2005) Plant origin of green propolis bee behavior, plant anatomy and chemistry. *Oxford University Journal* 2(1): 85-92

Ting PT, Silver S (2004) Allergic contact dermatitis to propolis. *J Drugs Dermatol* 3: 685-686

Toretı VC, Sato HH, Pastore GM, Park YK (2013) Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. Evidence-Based ID no: 697390

Uzel A, Öñçağ Ö, Çoğulu D, Gençay Ö (2005) Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiological research 160(2): 189-195

Uzel A, Sorkun K, Öñçağ Ö, Çoğulu D, Gençay Ö, Salih B (2005) Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiological Research 160: 189-195

Walker P, Crane E (1987) Constituents of propolis. Apidologie 18: 327-334

Wollenweber E, Buchmann SL (1997) Feral honey bees in the Sonoran Desert: Propolis sources other than poplars (*Populus* spp.). Zeitschrift für Naturforschung C 52(7-8):530-535

Yang W, Wu Z, Huang ZY, Miao X (2017) Preservation of orange juice using propolis. Journal of Food Science and Technology -Mysore- 54(11): 1-9