

**TÜRKİYE’NİN BAZI İLLERİNDEN  
TOPLANAN PROPOLİSLERİN  
ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN  
AKTİVİTELERİ VE BİYOAKTİF  
BİLEŞENLERİNİN TAYİNİ**

**CEREN YAVUZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

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

**TÜRKİYE’NİN BAZI İLLERİNDEN TOPLANAN PROPOLİSLERİN**  
**ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE BİYOAKTİF**  
**BİLEŞENLERİNİN TAYİNİ**

**CEREN YAVUZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**DANIŞMAN**  
**Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK**

**ORDU, 2011**

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

**Bu çalışma jürimiz tarafından 12/Temmuz/2011 tarihinde yapılan sınav ile Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Başkan: Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK**

**Üye: Yrd. Doç. Dr. Tuğba BAYRAK ÖZBUCAK**

**Üye: Yrd. Doç. Dr. Melek ÇOL**

**ONAY:**

**Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.**

**28/Temmuz/2011**

**Doç.Dr. Latif KELEBEKLİ**  
**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

# TÜRKİYE’NİN BAZI İLLERİNDEN TOPLANAN PROPOLİSLERİN ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE BİYOAKTİF BİLEŞENLERİNİN TAYİNİ

## ÖZ

Bu çalışmada, Türkiye’nin Van, Erzurum, Gümüşhane, Ordu, Rize ve Muğla şehirlerinden toplanan etanolik propolis ekstralarının antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve biyoaktif bileşenleri belirlendi.

Etanolik propolis ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri, dört Gram-pozitif bakteri (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*), altı Gram-negatif bakteri (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*), iki maya (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) ve bir küf (*Aspergillus niger*) türü ile disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemine göre test edildi. Propolis ekstraları, Gram-pozitif bakterilere karşı, Gram-negatif bakterilerden ve bakterilere karşı maya ve küflerden daha güçlü aktivite gösterdi. En düşük etki değeri (MIC), antibakteriyal etkiyi belirlemedeki seri sulandırma tekniği kullanılarak belirlendi. Bu bakterilere karşı elde edilen MIC değerleri, 6.25 ile 50 µg/mL arasında değişti.

Etanolik propolis ekstralarının antioksidan aktiviteleri, Demir indirgeyen antioksidan güç (FRAP) yöntemi, Bakır iyonu indirgeyen antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemi ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ile serbest radikal süpürme aktivitesi yöntemiyle belirlendi. Etanolik propolis ekstralarının Toplam fenolik içeriği (TPC), Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. Test sonuçlarına göre, etanolik propolis ekstraları, en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Etanolik propolis ekstralarının biyoaktif bileşenleri GC-MS ile analiz edildi.

Bu çalışmaya göre, etanolik propolis ekstraları, mevcut sentetik antimikrobiyal ve antioksidan ajanlara alternatif olarak kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** Propolis, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, toplam fenolik içerik, GC-MS.

**ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND THE  
DETERMINATION OF BIOACTIVE COMPONENTS OF PROPOLIS  
SAMPLES COLLECTED FROM SOME CITIES OF TURKEY**

**ABSTRACT**

In this study, antimicrobial, antioxidant activities and bioactive components of ethanolic propolis extracts collected from Van, Erzurum, Gümüşhane, Ordu, Rize, and Muğla cities of Turkey were determined.

The antimicrobial activities of ethanolic propolis extracts were tested against four Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*), six Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*), two yeasts (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) and mold (*Aspergillus niger*) by disc diffusion and agar dilution method. Propolis extracts showed more potent activity against Gram-positive than Gram-negative bacteria, and against bacteria than yeasts and mold. Minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using serial dilution technique to determine the antibacterial potency. The MIC values against these bacteria ranged from 6.25 to 50 µg/mL.

The antioxidant activities of ethanolic propolis extracts were determined by Ferric reducing antioxidant power (FRAP) method, Cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method, and free radical scavenging activity with the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Total phenolic content (TPC) of ethanolic propolis extracts were determined by the Folin-Ciocalteu method. According to test results, ethanolic propolis extracts have the highest antioxidant capacity. Bioactive components of ethanolic propolis extracts were analysed by GC-MS.

According to this study, ethanolic propolis extracts can use as alternative for the current synthetic antimicrobial and antioxidant agents.

**Key Words:** Propolis, antimicrobial activity, antioxidant activity, total phenolic content, GC-MS.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlanmasında değerli vakitlerini bana ayırarak çalışmamı özenli bir şekilde yönlendiren Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK'e emeklerinden ve samimiyetinden dolayı teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bana yardımcı olan değerli Ordu Üniversitesi Biyoloji Bölümü akademisyenlerine teşekkür ederim.

Propolis numunelerinin 6 farklı ilden temin edilmesini sağlayan Ordu Arıcılık Enstitüsündeki çalışanlara da başarılarının daim olmasını temenni eder laboratuvar aşamalarında bana yardımcı olan Arş. Gör. Hilal Baki ve Arş. Gör. Deniz Kara'ya teşekkür eder başarılarının devamını dilerim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZ .....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR .....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Propolis Nedir? .....	3
2.2. Propolisin Tarihçesi .....	4
2.3. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Yapısı.....	5
2.4. Propolisin Bitkisel Kaynakları.....	7
2.5. Propolisin Bitki Kaynaklarının Önemi .....	8
2.6. Bal Arılarının Propolis Toplama Davranışları.....	8
2.7. Propolis Üretimi.....	10
2.8. Propolis Üretimini Etkileyen Faktörler.....	11
2.9. Propolisin Arılar Tarafından Kullanımı.....	12
2.10. Propolisin Kullanılır Hale Getirilmesi.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1. Propolisin Örnekleri.....	14
3.2. Propolis Ekstrelerinin Hazırlanması .....	14
3.3. Propolis Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Tayini .....	14
3.3.1. Mikroorganizmalar .....	14
3.3.2. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Propolis Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	15
3.3.3. Propolis Ekstrelerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	16
3.4. Propolis Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	17
3.4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini .....	17
3.4.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	18

3.4.3.CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini .....	20
3.4.4.DPPH radikali temizleme aktivitesi.....	21
3.5. Propolis Örneklerinin GC-MS ile Biyoaktif Bileşenlerinin Tayini .....	21
3.6. İstatistiksel Analizler .....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	23
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
6. KAYNAKLAR .....	47
ÖZGEÇMİŞ .....	52



**SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ**

FeCl <sub>3</sub>	: Demir klorür
FeSO <sub>4</sub>	: Demir sülfat
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	: Sodyum karbonat
AlCl <sub>3</sub>	: Alüminyum klorür
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	: Sodyum karbonat
HCL	: Hidroklorik asit
H <sub>2</sub> O	: Su
TPTZ	: 2,4,6-tripridil-5-tirozinin
Fe <sup>+3</sup> -TPTZ	: Ferrik-tripiridiltriazin
TMCS	: Trimetilklorosilan
BSTFA	: bis (trimetilsilil) trifluoroasetamid
DPPH	: 1, 1- difenil-2-pikrilhidrazil
Cu-neokuprein:	Cu(II) kompleksi
dk	: Dakika
g	: Gram
mL	: Mililitre
mm	: Santimetre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
μ	: Mikron
μl	: Mikrolitre
μM	: Mikromol
N	: Normal
MIK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu

**ŞEKİLLER LİSTESİ**

<b>Şekil 2.1.</b> Çeşitli propolis resimleri .....	3
<b>Şekil 3.1.</b> Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanmış propolislere ait ekstreler .....	14
<b>Şekil 3.2.</b> Gram pozitif bakterilerdeki inhibisyon zonları .....	16
<b>Şekil 3.3.</b> Folin reaktifinin yapısı .....	17
<b>Şekil 3.4.</b> Toplam polifenol standart grafiği.....	18
<b>Şekil 3.5.</b> FRAP standart grafiği.....	19
<b>Şekil 4.1.</b> Van ilinden elde edilen propolis örneğinin GC-MS sonuçları.....	34
<b>Şekil 4.2.</b> Erzurum ilinden elde edilen propolis örneğinin GC-MS sonuçları.....	36
<b>Şekil 4.3.</b> Gümüşhane ilinden elde edilen propolis örneğinin GC-MS sonuçları.....	38
<b>Şekil 4.4.</b> Muğla ilinden elde edilen propolis örneğinin GC-MS sonuçları .....	40
<b>Şekil 4.5.</b> Ordu ilinden elde edilen propolis örneğinin GC-MS sonuçları .....	42
<b>Şekil 4.6.</b> Rize ilinden elde edilen propolis örneğinin GC-MS sonuçları .....	44

**ÇİZELGELER LİSTESİ**

<b>Çizelge 2.1.</b> Propolisin yapısında bulunan maddeler ve oranları .....	5
<b>Çizelge 3.1.</b> Propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar, katalog numaraları ve gram özellikleri .....	15
<b>Çizelge 3.2.</b> CUPRAC yöntemi için deney şartları .....	20
<b>Çizelge 4.1.</b> Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan propolis ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri .....	24
<b>Çizelge 4.2.</b> Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan propolis ekstralarının minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri .....	27
<b>Çizelge 4.3.</b> Türkiye' nin çeşitli illerinden toplanan propolis örneklerinin antioksidan kapasiteleri .....	29
<b>Çizelge 4.4.</b> Van propolisinin kalitatif değerleri .....	35
<b>Çizelge 4.5.</b> Erzurum propolisinin kalitatif değerleri .....	37
<b>Çizelge 4.6.</b> Gümüşhane propolisinin kalitatif değerleri .....	39
<b>Çizelge 4.7.</b> Muğla propolisinin kalitatif değerleri.....	41
<b>Çizelge 4.8.</b> Ordu propolisinin kalitatif değerleri.....	43
<b>Çizelge 4.9.</b> Rize propolisinin kalitatif değerleri.....	45

## 1.GİRİŞ

Günümüzde, gıdalardaki mikroorganizmaları yok etmek için, çeşitli kimyasal ve sentetik maddeler yaygın şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda, kullanılan kimyasal ve sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması, mikroorganizmaların kullanılan antibiyotiklere karşı direnç kazanmaları ve kullanılan bu kimyasal ve sentetik maddelerin güvenli olup olmadığı konusundaki kaygılar, tüketicileri bitkilerden doğal yolla elde edilen ürünleri kullanmaya yönlendirmiştir. Ayrıca son zamanlarda antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklardaki artış, yeni doğal antimikrobiyal bileşenlerin keşfi için yapılan araştırmaları da arttırmıştır (Nostro ve ark., 2000; Nair ve ark., 2005).

Gıda endüstrisinde gıdaların bozulmalarını önlemek amacıyla kullanılan sentetik maddeler, günümüzde son derece ucuzdur. Fakat, bu sentetik maddelerin istenmeyen yan etkilerinin olması ve özellikle de kansere neden olma riski, bu maddelere şüphe ile bakılmasına neden olmuştur. Bu nedenle, özellikle besinlerde doğaya dönüş akımı ile birlikte, sentetik maddelere alternatif doğal madde arayışları hız kazanmıştır (Nair ve ark., 2005).

Bu doğal ürünler arasında en yaygın olarak kullanılanlardan birisi de, arılardan elde edilen ürünlerdir. Arı ürünlerinin tümü birçok hastalıkta, hastalığın ilerlemesinin önüne geçmek ve tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bal arısı ürünlerinin tedavi amacıyla kullanılmasına 'apiterapi' denilmektedir. Apiterapi, arıcılık kadar eskidir (Hamdy ve ark., 1989).

Arıcılık; çevrenin, tarım ve orman ürünlerinin korunmasında ve gelişmesinde polinasyon ile katkısı bulunan önemli bir faaliyettir. Ülkemiz doğal yapı ve nektar kaynakları bakımından çok zengin olup, arıcılık açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Ülkemizde 10.000'in üzerinde doğal çiçekli bitki türü ve bölgesel koşullara uyum sağlayan arı ırkı ve ekotipleri bulunmaktadır. Bitki türlerinde ve arı popülasyonundaki zenginlik, coğrafi bölgelerin iklim ve fauna açısından çok değişik ekolojiler göstermesinden kaynaklanır. (Kumova ve Korkmaz, 2002).

Canlıların varlığı doğrudan veya dolaylı olarak bitkilere bağlı olup, aralarında zamanla güçlü ortak bağlar kurulmuştur. Genellikle bu ortaklık, karşılıklıdır. Buna verilecek en güzel örneklerden birisi, bal arısı ile bitkinin çiçekleri arasındaki ilişkidir. Çiçeklerin tozlaşması için arılara, arıların da beslenmesi için çiçeklere ihtiyaçları vardır.

Dünyada gıda olarak tüketilen maddelerin yaklaşık olarak % 80'i ile % 90'ı bitki türlerinden elde edilmektedir. Bu bitki türlerinden en az % 60'ı arı tarafından döllenebilirlik gereksinimi duyar.

Bal arılarının yeryüzünde yüzyıllardır var oluşu ve evrimsel başarısı dünya üzerinde hemen hemen tüm habitatlara yayılabilen ve uzun yıllar yaşayan türler olmalarını sağlamıştır. Bu başarı; büyük oranda onların ürettiği bal, balmumu, arı zehri, propolis, polen ve arı sütü gibi spesifik ürünlerin kimyasal yapısı, faydalı biyolojik özellikleri ve bu ürünlerin pek çok alanda uygulanabilirliği nedeniyle (Popova ve ark., 2005). Günümüzde, arılardan iki şekilde ürün elde edilmektedir. Bunlar; arı sütü, balmumu ve arı zehri gibi, arının doğrudan vücudundan salgılanan ürünler, diğeri ise bal, polen ve propolis gibi bitkilerden topladığı ve kısmen vücut salgılarını eklediği ürünlerdir.

Araştırmaların çoğu propolisin kimyasal bileşimi, biyolojik aktivitesi, farmakolojik ve tedavi edici özellikleri üzerine odaklanmıştır. Propolis çok eski zamanlardan beri kullanılmakla birlikte propolisle ilgili bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görülmektedir (Silici ve Kutluca, 2005). Bu nedenle, dünyanın farklı coğrafik bölgelerine ait olan propolis örneklerinin kimyasal yapısı ve farmakolojik aktivitelerinin incelenmesi ve belirlenmesi gerekmektedir. Propolisin yapısında bulunan aktif bileşenlerin belirlenmesi için değişik çalışmalarda farklı analitik yaklaşımlar kullanılmıştır (Bankova ve ark., 2000).

Propolisin tıpta kullanımında en büyük sakıncalardan biri; bal arılarının propolis toplama ihtiyacı duydukları dönemde çevrede uygun propolis kaynağı bulamadıklarında asfalt, zift gibi zararlı maddeleri toplayabilmeleridir. Bu nedenle, propolisin kimyasal analizlerle bileşiminin belirlenmesi kaçınılmaz olmaktadır (Bankova ve ark., 2000).

Propolisin içeriği toplandığı bölgedeki bitkilerin içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle, biz de endemik bitki türü bakımından zengin ve arıların propolis kaynağı olarak kullanabileceği farklı bitkilerin yayılış gösterdiği altı ilden temin edilen propolis numunelerini inceledik.

Bu araştırma ile, Türkiye'de bal üretimi ve değeri açısından önemli olan illerimizden Gümüşhane, Van, Ordu, Rize, Muğla, Erzurum'dan toplanan propolislerin kimyasal analizleri antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini ortaya çıkararak bu propolislerin ekonomik olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Propolis Nedir?

Propolis, bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından ağaçların kozalak, yaprak, genç sürgün ve kabuklarından, bitki tomurcuklarından topladıkları çeşitli yağları, polenleri, özel reçine ve mumlu maddeleri kendi metabolik salgılarıyla harmanlayarak oluşturdukları çok kuvvetli antiviral, antibakteriyel, antifungal etkiye sahip reçinemsî bir maddedir (Ghisalberti, 1979).

Bal arıları kovanda propolisi çeşitli amaçlarla kullanarak steril bir ortam sağlamaktadırlar. Arıların patojenik mikroorganizmalara karşı en önemli kimyasal silahı olan propolis, çok eski zamanlardan beri halk sağlığında kullanılmaktadır (Popova ve ark., 2005).

Propolis üretimi için arılar tarafından kullanılan materyal, bitkilerin yara bölgelerinden salgılanan maddeler olabildiği gibi, yapraklardaki lipofilik materyaller ile reçine, müsilaj ve zamk gibi maddeler de olabilmektedir (Crane, 1988).

Arı bitkilerden aldığı bu maddeleri başı ile toraksı arasında bulunan bezlerden salgılamış olduğu aktif enzimlerle karıştırarak kullanır (Ghisalberti, 1979; Marccucci ve ark., 1994).



**Şekil 2.1.** Çeşitli propolis resimleri

Propolis, insan ve veteriner hekimliğinde kullanılan doğal bir üründür. Bununla birlikte, propolisi oluşturan reçinenin farklı bitkilerden toplanıyor olması onun kimyasal yapısının farklılaşmasına neden olmaktadır. Propolisin kimyasal yapısındaki değişkenlik, onun tıp alanında kullanımında ve kalitesinin belirlenmesinde önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu konuda propolis toplanılan kaynağın net olarak takip edilememesi, kimyasal yapısını belirlemede zorluklar yaratmıştır. Bununla birlikte, propolisin biyolojik aktivitesi belirlenirken propolisten izole edilen aktif bileşenlerin

belirlenmesi, söz konusu aktivitenin hangi bileşik ya da bileşik gruplarından kaynaklanabileceği konusunda yorum yapma açısından kolaylık sağlayacaktır. Özellikle, farklı coğrafik bölgelerden elde edilen ve botanik orijini farklı olan propolis örneklerinin kimyasal yapısının aydınlatılmasında fayda vardır. Nitekim, son yıllarda propolisin standart hale gelmesini kolaylaştırmak, dünyanın farklı coğrafik bölgelerinden toplanan propolislerin tiplendirilmesi için çalışmalar yapılmaktadır (Bankova ve ark., 2000).

Propolisi kimyasal bileşiklerine ayırmak oldukça güçtür. Ancak son yıllarda ‘High Performance Liquid Chromatography’ (HPLC), ‘Gas Chromatography and Mass Spectrometry’ (GC-MS) teknikleri kullanılarak propolis içerisinde çok az miktarda bulunan ve organik çözücülerde çözünen 149 bileşik ve 20 iz element tespit edilmiştir. Ayrıca propolisin büyük kısmını oluşturan reçine, polen ve suda veya organik çözücülerde çözünmeyen balmumu gibi kısımların varlığı da tespit edilmiştir. Son 15 yıldır tıpta ve diğer alanlarda bilim adamları tarafından propolisle ilgili çok değerli çalışmalar yapılmaktadır (Bankova ve ark., 2000).

## 2.2.Propolisin Tarihçesi

İlk kez yunanlı yazarlar tarafından kullanılan propolis kelimesi; **pro-** savunma, ve **polis**, şehir anlamına gelen iki kelimenin birleşmesinden meydana gelmiştir. Böylece şehrin, yani arı kovanın, savunulması anlamında kullanılmıştır. Ünlü Yunan filozofu Aristo, arıların çalışmasını saydam kovan kullanarak incelemek istemiş, ancak kovanın koyu renkte mumsu maddeler ile kaplanarak kovanın saydamlığını yitirdiğini bildirmiştir. Günümüzde, bu maddenin propolis olduğu tahmin edilmektedir. Eski yunan yazıtları bu maddeyi iltihaplanan yaralar ve çürükler için kullanılan kür olarak tanımlarken Roma’da yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın yapımında pratisyenler tarafından yaygın olarak kullanılmıştır. Kısaca propolis, eski yunanda doğal bir antibiyotik olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Propolis, İbranice eski vasiyetnamelerde ‘tzori’ olarak geçmektedir ve telepatik özellikleri ile anılmaktadır. Avrupa’daki 12. yy kayıtları propolisin medikal preparatlarının; ağız ve yara enfeksiyonlarının tedavisi ve diş sağlığı için kullanımından bahsetmektedir ([http://www.sayallar.com/polonen\\_web/propolis.htm](http://www.sayallar.com/polonen_web/propolis.htm)).

Geleneksel hekimlikte yaygın olarak kullanılan ve Hipokrat, Herodot, Aristo ve diğer antik dönem bilginleri tarafından övgü ile söz edilen propolis, çok eski çağlardan

bu yana insanlar tarafından ya çeşitli hastalıkların tedavisinde, ya da hastalığın etkilerinin azaltılmasında kullanılmıştır.

Propolisın vazelinle karıştırılarak hazırlanan merhemlerinin Boer savaşları sırasında kullanıldığı ve yaraları iyileştirdiği belirtilmektedir. Propolis, Mısır Uygarlığında ölümlerin mumyalanmasında kullanılmaktadır. Hipokrat propolisın deri ülserlerinin ve sindirim sisteminin tedavisinde de kullanıldığını söylemiştir. Anadolu’da geleneksel olarak insanlarda ve çiftlik hayvanlarında sık görülen ayak ve deri problemlerinde, yaraların ve çıbanların iyileştirmesinde kullanıldığı bildirilmektedir. Arılar propolisi milyonlarca, insanlarsa binlerce yıldır kullanmaktadır. İnsanlık için bu reçinemsî yapının keşfedilen yararları, henüz çok azdır ([http://www.sayallar.com/polonen\\_web/propolis.htm](http://www.sayallar.com/polonen_web/propolis.htm)).

### 2.3. Propolisın Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

Propolis reçineli ve yapışkan bir madde olup, rengi kaynağına ve depolama süresine bağlı olarak sarı-yeşilden koyu kahverengiye kadar değişebilmektedir. Soğukta sert ve kırılğan, sıcakta ise yumuşak ve yapışkan bir yapısı vardır.

**Çizelge 2.1.** Propolisın yapısında bulunan maddelerin oranları (Silici, 2003).

Madde	Miktar
Balzam ve Reçine	% 50-70
Bitki mumu	% 30-50
Bitki poleni	% 5-10
Temel yağlar	% 10
Organik madde ve mineraller	%5

Propoliste bulunan başlıca mineraller; kalsiyum, magnezyum, iyot, çinko, potasyum, mangan, kobalt, bakır, demir ve sodyum’dur. Başlıca vitaminler ise; A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, C ve E vitaminleridir (Deblock-Bostyn, 1982; Debuyser, 1983).

Araştırmacılar, propolisın süksinikdehidrogenaz, glukoz 6-fosfataz, adenozin trifosfataz ve asit fosfataz gibi, enzimler içerdiğini de belirtmişlerdir. Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika’yı içeren sıcak bölgede, farklı kavak tomurcuklarının tomurcuk salgıları propolisın ana kaynağını oluşturmaktadır. Bu bölgedeki örneklerin kaynağı benzer kimyasal bileşimi ile karakterize edilmiştir. Fenoliklerin ana bileşenleri;



flavonoid aglikonlar, aromatik asitler ve onların esterleridir. Propolis toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi propolisin kimyasal yapısını belirlemektedir. Propolisin bileşimi, toplandığı alanın bitki örtüsüne bağlıdır. Ayrıca, propolisin toplanma sezonu da, aynı bölgeden toplanan propolisin kimyasal yapısını etkileyebilmektedir. Örneğin; Akdeniz Bölgesi'nden (Sicilya ve Adriyatik kıyıları) toplanan propolis tek tip özellik gösterip, temel bileşeni diterpenik asitler iken, Brezilya'da farklı tipte propolis tanımlanmıştır. Karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisin (Asya, Avrupa, Kuzey Amerika vb.) başlıca kaynağının kavak bitkisi tomurcukları olduğu belirlenirken, bu propolisin çeşitli flavonoidlerini içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Kavak ağacı, karasal bölgelerde yaygın olarak gözlenirken, tropik ve subtropik bölgelerde yetişmemektedir. Bu sebeple, bu bölgelerde bal arıları, doğal olarak başka propolis kaynaklarını tercih etmektedirler. Böylece, tropik bölgelerde üretilen propolisin kimyasal yapısı kavak propolisinden tümüyle farklı olmaktadır. Örneğin; Brezilya propolisinin ana kaynağı *Baccharis dracunculifolia*'dır ve bu propolis tipinde temel kimyasal bileşik sınıfı, kumarik asit ve asetofenon türevleri olup, kavak tipi propolisten tamamen farklı olarak diterpenler, lignanlar ve flavonoidler içerdiği belirlenmiştir. Son yıllarda dikkat çeken Küba propolisinin ana bileşeni ise, poliizoprenillenmiş benzofenonlardır ve Küba propolisini Avrupa ve Brezilya propolislerinden farklı kılmaktadır. Ayrıca, *Clusia minor*, *Cl. major* (Guttiferae), *Araucaria heterophylla* ve farklı *Baccharis* türlerinin Venezuela ve Brezilya'dan toplanan propolisin en önemli kaynakları olduğu bildirilmiştir. Bu bitkilerin tropikal propolislerde daha önce rapor edilen proprenillenmiş benzofenonlar ve çeşitli diterpenler içerdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, klerodan-tipi ve çeşitli labdan-tipi diterpenoidler karasal iklim propolislerinde bulunamamıştır. Flavonoidler ise tropikal propolislerde de belirlenmiştir. Tropikal bölgelerden toplanan propolisin karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisten farklı kimyasal yapı göstermesinin nedeni, vejetasyon farklılığıdır (Silici, 2003).

Propolisin farmakolojik yönden değerli olması, günümüzde tıbbi preparatlarının hazırlanması ve antibakteriyel ve antiviral yönden değerli olması, içerisinde bulunan sekonder metabolitler sayesinde. Bu metabolitler arasında; fenolik asitler (kafeik asit ve sinnamik asit) ve esterleri, ketonlar, fenolikaldehitler, flavonlar ve Flavonoidler (pinosembrin, pinobanksin, akasetin, krisin, rutin, kateşin, naringenin,

galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirisetin, kuarsetin), terpenler ve terpenoidler, aromatik asit ve esterleri, aminoasitler, alkoller, aldehitler, alifatik asit ve esterleri ve bazı hidrokarbonlar sayılabilir (Nagy ve ark., 1985).

İncelenen literatür bilgileri ışığında dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde tespit edilen flavon ve flavonoidler; pinosembrin, pinobanksin, organik ve yağ asitleri, kafeik asit, 9-hekzadekanoik asit, sinnamik asit, ferulik asit, terpenler, lignanlar, ketonlar, hidrokarbonlu bileşiklerdir (Bankova ve ark., 2000).

#### **2.4.Propolisin Bitkisel Kaynakları**

Propolis çok eski zamanlardan beri kullanılsa bile, propolis hakkında klinik çalışmalarla ispatlanmış bilgiye ihtiyaç vardır. Son 40 yıl boyunca propolisin kimyasal kompozisyonu, biyolojik aktivitesi, farmakolojisi ve tedavi edici kullanımları hakkında çok sayıda yayın yapılmıştır (Sorkun, 2000).

Ghisalberti (1979), propolisin kimyasal yapısının yeterince bilinmemesi sebebiyle tıpta tavsiye edilemeyeceğini ifade etmiştir. Bu nedenle temel problem, propolisin toplama bölgesine bağlı olarak kimyasal kompozisyonundaki önemli değişikliklerdir. Çünkü farklı ekosistemlerdeki farklı bitki salgıları propolis kaynağı olabilmektedir. Son yıllarda propolis ve içeriğine olan ilgi artmış; yapısı, farmakolojik özellikleri ve ticari değeri konusundaki çalışmalar devam etmiştir. 1900'lerde propolisin kaynağı üzerinde çalışmalar yapılmış ve propolisin birden çok kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise propolisin; genellikle, çam (*Pinus* spp.) reçineleri, huş (*Betula* spp.), kavak (*Populus* spp.), atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*), söğüt (*Salix* spp.), kızılgağaç (*Alnus* spp.), göknar (*Abies* spp.), erik (*Prunus* spp.), karaağaç (*Ulmus* spp.), meşe (*Quercus* spp.) ve dışbudaktan (*Fraxinus excelsior*) elde edildiği ve propolisin bileşiminin bitki kaynağına bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir. Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'nın tropik olmayan bölgeleri gibi, karasal iklime sahip bölgelerde kavak (*Populus* spp.) türleri propolisin başlıca kaynağıdır, ancak kavağın yetişmediği yerlerde arılar başka propolis kaynağı aramaktadırlar. Örneğin Rusya'da Huş ağaçları (*Betula verrucosa*), Brezilya'da *Baccharis* türleri propolisin kaynağı olabilmektedir. Bu durumda kavak ağacından elde edilen propolisin temel kimyasal bileşikleri; flavonoid aglikonlar, hidroksisinamik asitler ve onların esterleri olurken, huş ağacından elde edilen propoliste flavonoid aglikonlar, *Baccharis* spp.'den elde edilen propoliste p-kumarik asitin karbon

prenilenmiş türevleri önemli aktif bileşikler olarak görülmektedir (Bankova ve ark., 2000).

### **2.5. Propolisin Bitki Kaynaklarının Önemi**

Propolisin toplanabileceği bitki kaynaklarının bilinmesi, bilimsel yönünün yanında kimyasal standardizasyonun oluşturulması açısından da önem taşımaktadır. Propolis örnekleri HPLC ve GC-MS yöntemleri kullanılarak bitki kaynakları karşılaştırmalı olarak kolay bir şekilde karakterize edilebilmektedir. Bu yöntemler, bitki kaynağında bulunan bitki salgılarının kalitatif kompozisyonunu ortaya çıkarmaktadır. Örneğin propolisin kaynağı kavak ise; flavonoid aglikonlar, hidroksisiamik asitler ve esterlerinin karışımından oluştuğu ortaya çıkmaktadır.

Propolisin bitki kaynağı, arı yetiştiricilerinin arıların uçuş alanında yoğun olarak bulunan bitkileri bilmeleri açısından önem taşımaktadır. Arılar çevreden propolis toplayamadıkları zaman çeşitli boya, asfalt ve mineral yağları içeren maddeleri propolis gibi kullanmak amacıyla toplamak zorunda kalırlar. Arıların bu toplama davranışı içerisine sokulması propolisin farmakolojik kullanımını tehdit etmektedir.

### **2.6. Bal Arılarının Propolis Toplama Davranışları**

Propolis toplanması bal arılarını uğraştıran en zor işlemlerden biridir. Arılar propolisi genellikle ağaçların üst kısımlarından toplama eğiliminde olduklarından onların bu davranışını gözlemlemek oldukça zordur. Arılar bitkilerin tomurcuk ve sürgünlerinde bulunan reçineli, zamksız sızıntıyı arka ayakları ve üst çenelerini kullanarak almakta ağızlarında nemlendirerek yumuşatmaktadır. Bu sırada arılar ağızlarından salgıladıkları bazı enzimleri de katarak pellet haline getirdikleri propolisin biyolojik değerini artırmaktadır. Pelet haline getirilen propolis ön ve arka bacaklarının yardımı ile arka bacaklardaki polen sepetçisinde paketlenmektedir. Arının iki bacağı ile taşıyabileceği propolis yükünün depolanması, yaklaşık 15-16 dakika sürmekte ve propolis polen sepetçisi ile kovana taşınmaktadır. Kovanın içi görevini yapan işçi arılar, kovana propolis yüküyle dönen arılardan propolisi ısırıp çekmek suretiyle küçük parçalar halinde koparırlar ve kullanacakları yere özenle bastırarak yapıştırırlar. Arılar kovanın herhangi bir yerini kaplamak amacı ile kullanılan propolisin içine bir miktar bal mumu da karıştırırlar. Propolis yükünden bir parça koparan arı, propolis topağına

vurarak geri kalan parçayı tekrar düzgün hale getirir. Propolis yükünün tamamen boşaltılması, kovan içinde kullanımına ve propolis yükü getiren işçi sayısına bağlı olarak bir ile birkaç saat arasında değişmektedir. Bu işçi arı topladığı propolisi kovan içine 30 dakikada boşaltmaktadır (Bankova ve ark., 1982).

Burada dikkat çekici olan nokta, propolis taşıyıcısı olan arının inşaat işine karışmaması ve bu işle uğraşan arkadaşlarının yükünü almalarını beklemesidir. Arı kolonilerindeki her üyenin belli bir işi vardır. Herkes kendi işiyle ilgilenir, sadece bir iş aksadığında diğer arılar aksayan işlere destek olur. Bu nedenle, arı propolisi hem toplayıp hem yamamakla veya mumyalamakla, hem de mumyaladığını dışarı taşımakla uğraşmaz. Kovandaki işçi arıların tümü bu işlerin her birini yapabilecek yeteneklere sahip olsalar da, sadece kendi işlerini en iyi şekilde yapıp, diğer işleri de o konuda görevlendirilmiş arkadaşlarına bırakırlar (Kumova ve Korkmaz, 2002).

Propolis yalnızca sıcak günlerde ve günün sıcak saatlerinde toplanıldığı için, propolis yükünü boşaltan arı, zamanı yeterli olursa tekrar propolis toplamaya yönelmektedir. Propolis petek ören, larvaları besleyen, petek gözlerini dezenfekte eden, mum salgılayan ve genelde koloni yönetiminden sorumlu 12-21 günlük tarlacı işçi arılar tarafından toplanarak hemen gerekli yerler için kullanılmaktadır (Kumova ve Korkmaz 2002).

Propolis yaz aylarında 08.00 ila 19.00 saatleri arasında, ilkbahar ve sonbahar aylarında havaların güzel olduğu günlerde toplanılmaktadır. Nektar kıtlığı olan dönemlerde propolis toplayıcılar, diğer arılara yardımcı olmak amacıyla nektar toplamaya yönelirler. Çevre koşulları düzelince propolis toplayıcılar tekrar esas görevlerine dönerler. Propolis yüküyle kovana dönen arılar, nektar taşıyan arılar gibi kovana geldiklerinde petekler üzerinde dans ederler. Mesajı iletmeye yönelik yapılan bu dans, nektar kaynağını bildiren danslar kadar anlamlı değildir (Bankova ve ark., 1982).

Propolis toplama mevsimi bölgeden bölgeye, ekolojik koşullara göre değişmektedir. Nektar akımının yoğun olduğu dönemlerde arıların propolis toplama eğilimi azalmaktadır. Arıların propolisi toplama zamanı İtalya'da bahar ve yaz ayları, Doğu ve Batı Avrupa'da yaz ortası ve sonbahar, Amerika Birleşik Devletleri'nde yaz ve yaz sonu olmaktadır. Ülkemizde, Ege Bölgesinde Mart ayında, Orta ve Doğu Anadolu'da Ağustos ve Eylül aylarında arılar tarafından yoğun olarak toplanıldığı belirlenmiştir (Kumova ve Korkmaz 2002).

Propolis verimi koloni başına 10-300 g arasında değişmekte, ancak propolis toplama davranışları ekolojik koşullar, arı türü ve ırkı, orman kaynakları gibi faktörlere bağlı olarak 600 g'a kadar çıkabilmekte, fakat verimin bu faktörler yanında tuzak tiplerine de bağlı olduğu bildirilmektedir (Bankova ve ark., 1982).

## 2.7. Propolis Üretimi

Arılar propolisi kovanda yoğun olarak dip tahtasına, uçuş deliği arkasına ve örtü tahtaları arasına biriktirmektedirler. Ancak dip tahtası ve uçuş deliği arkasına biriktirilen propolis, içerisine mum kırıntısı ve artık maddelerin karışması nedeniyle saf değildir. Propolisi en temiz toplama metodu, kovanların üzerine konan propolis tuzaklarının kullanılmasıdır (Kumova ve Korkmaz, 2002).

Tuzaklar esasen bölmeler veya kovan duvarındaki çatlaklara benzeyen küçük delikleri içeren levhalardır. Arılar levhalardaki boşlukları kapatmaya çalışmakta ve böylece tuzakları propolisle doldurmaktadırlar. Arıcı, koloni yönetimi içerisinde bal ve polen gibi diğer ürünlerin üretimini etkilemeden balmumu ile karışmamış, kirlenmemiş propolis üretebilmelidir (Kumova ve Korkmaz, 2002). Propolis üretimi için hazırlanmış plastik, naylon ya da metalden yapılmış, üzerinde arının geçemeyeceği genişlikte yarıklar bulunan ve örtü tahtası yerine konulan iç kapaklar kullanılmaktadır. Macaristan'da bu amaçla plastik kapakların yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Kovanın üst kısmına monte edilen üretim kapakları, yarıkları yeterince propolis ile dolduğunda alınıp derin dondurucuda dondurulur. Sertleşerek kırılğan bir yapı kazanan propolis, kapağa uygulanan basit bükme hareketleri ile ayrılır (Kumova ve Korkmaz, 2002).

Izgaralı örtü tahtası, plastik veya naylondan hatta metalden de yapılabilmektedir. Elek tipi örtü tahtasının propolisle kapatılması ve toplanması uzun bir zaman gerektirdiğinden, bu tip tuzakla bir mevsimde ancak 56-70 g'a kadar propolis toplanabileceği, fakat ürünün saf ve iyi kalitede olacağı ifade edilmektedir. Bununla birlikte, tuzaklar arıların propolisle dolduracağı yeterli miktarda boşluklar içermeli ve daha fazla propolis dolmasını sağlamak için de konik bir yapıya sahip olmalıdır (Kumova ve Korkmaz, 2002). Üretim tuzakları yöreye göre değişmekle birlikte, Haziran başından Ekim sonuna kadar kovanda takılı tutulabilmektedir.

Örtü tipi tuzakların kullanılması halinde propolis oluşumunu teşvik eden hava sirkülasyonu ve ışığın girişini sağlamak için biraz açıklıkları bulunan kapaklarla

üzerinin kapatılması gerekmektedir. Geliştirilmiş bu tuzak tiplerinden başka tuzak kullanmaksızın kovan kapakları altından propolisi kazıyarak da toplamak mümkündür. Bu amaçla, kovan kapaklarının birkaç gün arayla birkaç milimetre yükseltilecek oluşan aralıkların arılar tarafından propolisle kapatılması sağlanmaktadır. Böylece birkaç hafta sonra kapak altında birikmiş olan propolis dikkatlice kazınarak alınmaktadır (Kumova ve Korkmaz, 2002).

Yazın toplanan propolis yapışkan olacağından içine daha fazla miktarda balmumu karışacaktır. Sonbahar aylarında toplanan propolisin balmumu içeriği daha az olacağından rengi parlak olacaktır (Ghisalberti ve ark., 1978; Bankova ve ark., 1992).

Bununla birlikte, daha güvenli bir sınıflandırma yapabilmek için propolis hasat edilmeden önce balmumu öncelikle alınmalı ve propolise karışması önlenmelidir. Toplanan propolis kağıt üzerine toz halinde serilmeli ve yabancı artıklar bir cımbızla ayıklanmalıdır. Propolis kesinlikle ısıtılmamalı ve ufalanmamalıdır. Eğer sert ve kırılabilir bir yapıya sahipse elenebilir (Kumova ve Korkmaz, 2002).

Arıcılar, propolisi kovandan kazıyarak toplar. Bu toplama işlemini genellikle kovadaki balı hasat ettikten sonra yaparlar. Toplama sırasında propolise bir miktar mum karıştırılır. Propolis işlenmek üzere fiçilerin içerisinde işletmelere gönderilir ve önce değerlendirilmeye alınır. Eğer çok fazla mum ihtiva ediyorsa, yıkanmak için soğuk suya konur, böylece propolise karışmış mumlar giderilebilir. Genellikle kalan propolis paslanmaz çelikten yapılmış kafesler üzerinde açık havada kurutulur (Kumova ve Korkmaz, 2002).

## 2.8. Propolis Üretimini Etkileyen Faktörler

Propolis üretimini etkileyen başlıca faktörler arasında şunları sayabiliriz:

**a.İklim:** Arıların propolisi yumuşatıp, koparması ve kovana taşınması için dış çevre koşullarının propolis toplamak için uygun sıcaklık ve nemde olması gerekir.

**b.Arı Türü ve Irkı:** Bal arısı türlerinden *A. florea*, *A. cerana* ve *A. dorsata* ırkları propolis toplamazlar. Bal arısı ırklarından *A. mellifera carnica* (Karniyol) arısının petek gözlerinin steril edilmesinde çok az propolis kullandığı ve bu durumda peteklerin daha temiz ve beyaz renkte kaldığı belirlenmiştir. *A. mellifera caucasica* (Kafkas) arısının propolis toplama eğilimi oldukça fazla olup, sonbahar mevsiminde kovan girişini arıların geçebileceği ölçüde küçük bir aralık bırakılarak tamamen propolis ile kapatılmaktadırlar.

**c.Bitki Kaynağı:** Bitkilerin genellikle dallarını korumak için salgıladığı yapışkan, reçineli madde dal üzerinde kaplama biçiminde görülür. Propolisi toplayan arılar çok farklı bitki tür ve çeşitlerinden salgılanan bu propolisi toplamaktadırlar.

**d.Üretim ve Pazarlama:** Propolisin sentetik olarak üretiminin olmaması, patent sorunu, eğitimsiz arıcıların arıcılık yapması, bal, polen ve arı sütü, arı ürünlerinde olduğu gibi etkin bir pazarlama ağının yeterli düzeyde bulunmaması ve gelir kaynağı olarak arıcıların ve özel firmaların isteklerini karşılayamaması gibi nedenler propolis üretiminin yaygınlaşmasını önlemektedir.

## 2.9. Propolisin Arılar Tarafından Kullanımı

Arılar, propolisi kovanda değişik amaçlarla kullanırlar. Arılar propolisi kovan iç yüzeyinin kaplanmasını, yarık ve çatlakların kapatılmasını, peteklerin kenarlarının sertleştirilip onarılmasını, yaz sonunda çerçevelerin bağlanmasını, kovan giriş deliğinin kolaylıkla savunacakları duruma getirilmesini, petek gözlerinin ana arı yumurtlamadan önce temizlenip cilalanmasını sağlamak amacıyla kullanmalarının yanında bazen kovanın dip tahtasında propolisi merdiven gibi kullanarak çerçevelere kadar çıkmak amacıyla kullanırlar (Gargia-Viguera ve ark., 1993).

Kovan duvarlarının kaplanmasının, deliklerinin küçültülmesinin bir nedeninin de yavru yetiştirme sırasında hava ve nem kaybının azaltılması olduğu tahmin edilmektedir. Nitekim propolis kovan içi nemini belli bir düzeyde tutarak şiddetli yağışlardan sonra kovanda oluşacak aşırı rutubetten kovayı korur. Bakteriler, funguslar ve virüslerin kovan içerisinde üremesini engelleyerek genç larvaları da hastalıklardan korur. Arılar kovanda hastalıkların yayılmasına izin vermezler. Bu nedenle 50.000 cm<sup>3</sup>'den daha az bir alanda 35-37°C kovan sıcaklığı ve %70 nispi nem, 60.000–80.000 arasında arısı olan bir kovan düşünüldüğünde, mikroorganizmaların üremesi için çok mükemmel bir ortam oluşturmaktadır. Fakat propolisin koruyucu özelliğinden dolayı bu hastalık etmenleri üreme imkânı bulamamaktadırlar. Kovanda açıklıkları ve çatlakları kapatmak amacıyla kullanmaları yanında mumyalamada da propolisi kullanırlar. Herhangi bir zararlı kovana girdiğinde, hemen arılar tarafından öldürülerek dışarı atılır. Ancak fare, salyangoz, kertenkele, kurbağa gibi davetsiz misafirler öldürüldükten sonra kovan dışına atılmadıklarında arılar tarafından propolisle kaplanır. Böylece bu mumya zararının bozulmasıyla ortaya çıkan bakteriyel veya viral enfeksiyonlara karşı koloniyi korur (Brumfitt ve ark., 1990).

Kovan içinde dış atmosferden çok daha az oranda mikroorganizma bulunması, propolisin kimyasal özelliklerini ve önemini göstermektedir. Propolisteki uçucu unsurların varlığı kovan içindeki mikroorganizma popülasyonunun çevreden daha az olmasını açıklamaktadır. Nektar ve polen toplayan işçi arılar kovan dışında çeşitli mikroorganizmalardan etkilenebilmektedir. Ayrıca kovan cidarının propolisle kaplanması sayesinde de istilacı karıncalar kovana girmeye çalışınca kaygan yüzeyden dolayı işçi arılar tarafından kolayca kovana dışına atılabilmektedir.

Ayrıca sıcaklığın çok yüksek olduğu bazı volkanik arazilerde (İtalya'nın güneyindeki Salerno arazileri gibi) peteklerin erimemesi için, petek ham maddesi olan bal mumuna reçine ekleyerek bal mumunun dayanıklılığını artırdıkları da gözlenmiştir.

### **2.10. Propolisin Kullanılır Hale Getirilmesi**

Birçok analitik metot propolisin bileşenlerinin tanımlanması ve ayrılması için kullanılır (Bankova ve ark., 1982).

Çok sayıda kimyevi maddeden yapılmış propolisin içindekileri birbirinden ayırmak oldukça zordur. Onun için propolis önce alkolde çözülür, çözünen maddeler alkolde geçtikten sonra alkol uzaklaştırılır. Alkolde çözünen şekline 'propolis balsamı' adı verilir. Mumlu kısım alkolde çözülmez. Propolisin en yaygın üretildiği ülke Brezilya olmakla beraber, Çin, Tayland Avustralya ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde önemli miktarda üretilmektedir.

Kovandan alınan propolis hamdır ve saflaştırılarak kullanılması gerekir. Propolis suda az çözünür. Ham propolisin en pratik çözücüsü %96'lık etanoldür. Ancak %95'lik alkolde de büyük ölçüde çözünür. Eğer propolisin içindeki mum az ise, propolis doğrudan doğruya %95'lik etil alkol içerisinde çözünür. Böylece arıların kopmuş vücut parçaları, tahta yongaları ve diğer yabancı maddeler giderilir (Ghisalberti, 1979). Tıbbi amaçlı kullanımlarda %70'lik etanolde hazırlanmış çözelti kullanılırken, kimyasal analiz amaçlı %99'luk etanol gerekmektedir.



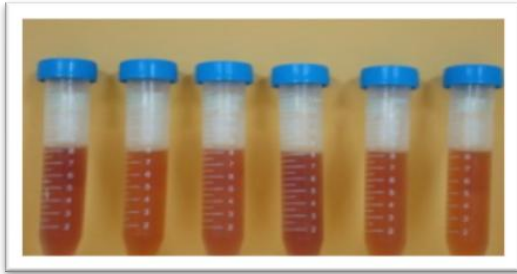
### 3.MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1.Propolis Örnekleri

Propolis örnekleri, ülkemizin farklı floraya sahip olan Van, Erzurum, Gümüşhane, Ordu, Rize ve Muğla illerinde arıcılık yapan arıcılardan 2009 yılı Ağustos, Eylül ve Ekim aylarında temin edilmiştir.

#### 3.2. Propolis Ekstrelerinin Hazırlanması

Propolis ekstreleri, Holopainen ve ark., (1988)'nin metodu esas alınarak hazırlandı. Kuru halde iyice ufalanmış olan örneklerden 20'şer g tartılarak 1/5 oranında ayrı ayrı karanlık şişeler içerisine konuldu. Ardından çözücü olarak belirlenen % 95'lik etil alkolden 100'er mL alınarak şişelere ilave edildi. Hazırlanan şişeler, +4°C'de iki gün süre ile bekletildi. Oluşan ekstreler; önce kaba filtre ile, daha sonra da 45µ'luk membran filtre ile süzüldü. Daha sonra ekstrelerin etil alkolü 50°C'de evaporatörde uzaklaştırıldı. Vakum motoru olarak Rocker 500 kullanıldı. Konsantrasyonu belirlenen ekstreler kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edildiler (Şekil.3.1).



Şekil. 3.1. Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanmış propolislere ait ekstreler

#### 3.3.Propolis Ekstrelerinin Aktimikrobiyal Aktivitelerinin Tayini

##### 3.3.1.Mikroorganizmalar

Çalışmamızda, propolis numularının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan bakteriler, mayalar ve küf örnekleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivitelerinin tespitinde kullanılan mikroorganizmalar, katalog numaraları ve gram özellikleri

<b>Mikroorganizma</b>	<b>Katalog Numarası</b>	<b>Gram Özelliği</b>
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC®10876	Gram (+)
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC®313124	Gram (+)
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC®7677	Gram (+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC®25923	Gram (+)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC®25922	Gram (-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC®13883	Gram (-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC®27853	Gram (-)
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC®14028	Gram (-)
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC®25931	Gram (-)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC®27729	Gram (-)
<i>Candida albicans</i>	ATCC®10231	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC®9763	-
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC®9642	-

### **3.3.2.Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Propolis Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi**

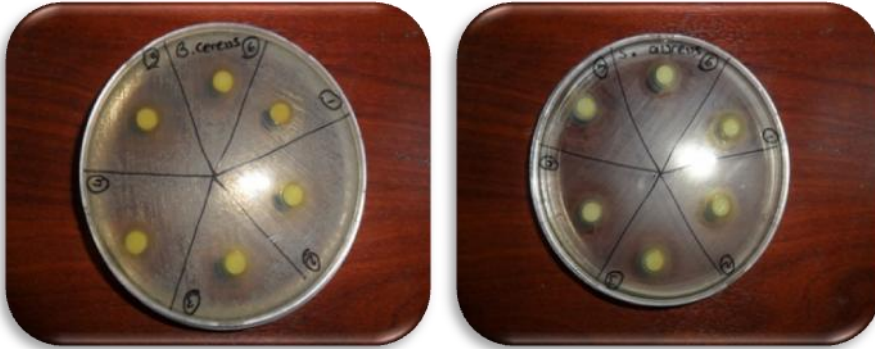
Antimikrobiyal aktivite, Ertürk (2006)'ün agar dilisyon ve disk difüzyon yöntemine göre tayin edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kullanılan agar dilisyon ve disk difüzyon yönteminde; bakteriler için Mueller Hinton Agar (Oxoid, CM0337), mantarlar ve fungus için Saboraud Dextrose Agar (Oxoid, CM0041) besiyerleri kullanılmıştır. Minimum inhibisyon konsantrasyonlarının belirlenmesinde ise, yukarıda belirtilen agar besiyerleriyle birlikte, ¼ oranında Tris Buffer (Amresco, E553) kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan besiyerleri, öncelikle otoklavda (Nüve OT 4060) (1,5 atmosfer basınç ve 121°C'de, 15 dk süreyle) sterile edildi ve 45-50°C'ye kadar soğuması beklendi. Daha sonra yarı katı agar besiyerleri otoklavdan alınarak, 10 cm çapındaki steril petri kutularına steril pipetler yardımıyla, her petri kutusuna 20 mL

kadar besiyeri dağıtıldı. Düz bir tezgah üzerinde bırakılan besiyerlerinin homojen bir şekilde dağıtılması sağlanarak, petri kutularındaki besiyerlerinin donması sağlandı.

Çizelge 3.1’de verilen ve 24 saat öncesinde derin dondurucudan çıkarılan ve 25°C’deki etüvde bırakılarak çözülmeleri sağlanan bakteri, maya ve küf örnekleri alınarak katılaştan agar üzerine swap yöntemi ile ekildi. Stok bakteri, maya ve küf örnekleri, tekrar derin dondurucuya konuldu. Daha sonra, her petri kutusuna 6 adet boş disk hafifçe bastırılarak eşit mesafelerde yerleştirildi ve 6 farklı ilden temin edilen propolis ekstrelerinden alınan 15’er mL, her petri kutusundaki kendi diski üzerine teker teker damlatıldı. Bütün bu ekim işleri sırasında, steril güvenlik kabini olarak Esco Airstream kullanıldı. Ekim işlemleri tamamlandıktan sonra, bakteri ekili petri kutuları 37±0.1°C’de 24 saat süreyle, maya ve fungus ekili petri kutuları ise, 25±0.1°C’de 48 saat süreyle iki farklı etüvde (Nüve EN 500) inkübe edildiler. Süre sonunda besiyerleri üzerinde oluşan inhibisyon zonları, bir cetvel yardımıyla mm olarak ölçüldü (Şekil 3.2). Denemeler üçer kez paralel olarak tekrarlandı ve elde edilen üç verinin aritmetik ortalaması alındı.



Şekil 3.2. Gram pozitif bakterilerdeki inhibisyon zonları

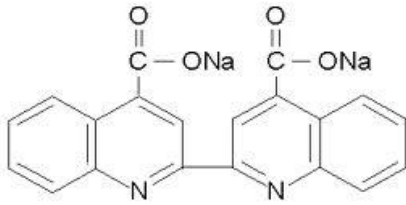
### 3.3.3. Propolis Ekstrelerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite değerleri belirlenen propolis örneklerinin etki ettiği minimum inhibisyon konsantrasyonları, agar dilüsyon metoduna göre 24 gözlü hücre kültür kaplarında, örneklerin farklı konsantrasyonları (10-5-2,5-1,25-0,625 µg/mL) hazırlanarak, mikroorganizmalara olan etkisi değerlendirildi (Vanden Berghe ve Vietinck, 1996).

### 3.4. Propolis Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

#### 3.4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

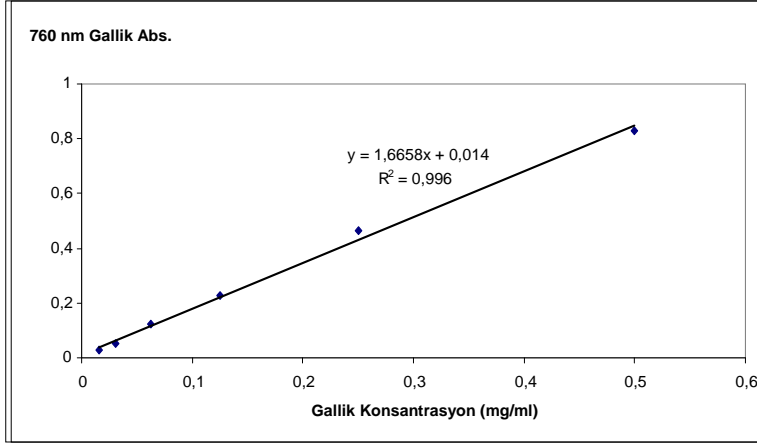
Propolis ekstrlerinin toplam çözülebilir fenolik madde miktarı, Slinkard ve Singleton (1977)'in geliştirdiği Folin-Ciocalteu metoduna göre tayin edilmiştir. Bunun için 20 µL propolis ekstresi alınarak 680 µL saf su ile karıştırıldı. Daha sonra 400 µL 0.5 N Folin-Ciocalteu reaktifi karışıma ilave edildi ve hemen karıştırıldı. 3 dk beklendikten sonra 400 µL, %10'luk sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ilave edildi, karıştırıldı ve karışım oda sıcaklığında 2 saat süreyle bekletildi. Karışımın belli bir renk oluşumu gözlemlendikten sonra 760 nm dalga boyunda, saf suya karşı absorbans değerleri bir spektrofotometrede okunarak belirlendi.



**Şekil 3.3.** Folin reaktifinin yapısı

Standart grafiği elde etmek için, öncelikle metil alkol yardımıyla konsantrasyonu 1mg/mL olan stok gallik asit çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltiden alınan 20, 40, 60, 125, 250 ve 500 µL gallik asit 680 µL saf su ile karıştırıldı, daha sonra 400 µL, 0.5 N Folin-Ciocalteu reaktifi karışıma ilave edildi ve hemen karıştırıldı. Üç dk beklendikten sonra, 400 µL %10'luk sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) karışıma ilave edildi, karıştırıldı ve karışım oda sıcaklığında 2 saat bekletildi. Karışımlarda belli bir renk oluşumu gözlemlendikten sonra 760 nm dalga boyunda, saf suya karşı absorbans değerleri bir spektrofotometrede okunarak belirlendi. Bu işlem üç kere tekrar edildi ve absorbans değerlerinin aritmetik ortalamaları alınarak standart grafiğimiz elde edildi (Çizelge 3.2).

Grafik üzerinde verilen formülden yararlanılarak propolis ekstrindeki toplam fenolik içerik belirlendi. Bu formülde 'y' numunenin absorbans değerini, 'x' ise numunenin konsantrasyonunu ifade etmektedir. Bu değerler formüle yerleştirildiğinde elde edilen sonuç, numunedeki toplam polifenol içeriğini (mg/mL olarak) vermektedir.



Şekil 3.4. Toplam polifenol standart grafiği

### 3.4.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Propolis ekstralarının toplam flavonoid içeriği, FRAP ( $\text{Fe}^{+3}$  indirgenme kuvveti) metoduna göre tayin edildi. Bu yöntemin esası; antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu, oksidan olarak kullanılan ferrik-tripiridiltriiazin ( $\text{Fe}^{+3}$ -TPTZ) kompleksindeki (+3) değerli demir atomunun (+2) değerli, renkli ferro ( $\text{Fe}^{+2}$ ) formuna indirgenmesine dayanmaktadır. Bu yöntem ile,  $1 \text{ mmol.L}^{-1}$  demir sülfata ( $\text{FeSO}_4$ ) eşdeğer, ferrik indirgeme yeteneğine sahip antioksidanların konsantrasyonu belirlendi.

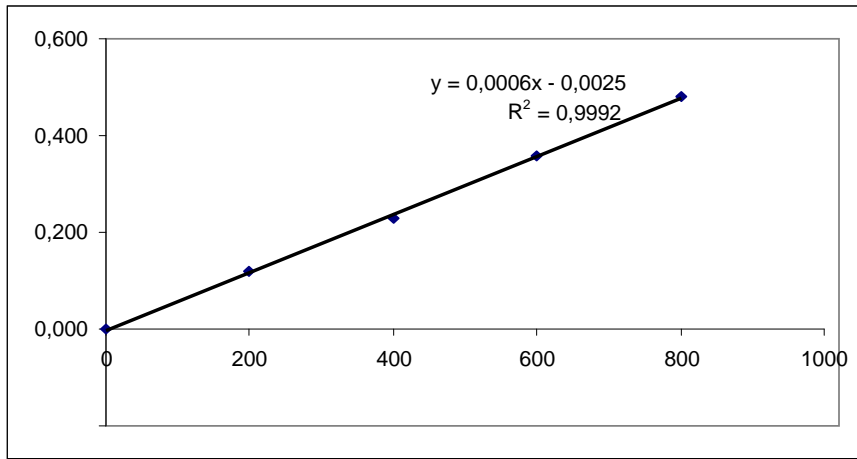
Standart olarak kullanılan Troloks ve  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 'tan ayrı ayrı olmak üzere değişen konsantrasyonlarla 0. ve 4. dk 593 nm'de, köre karşı okumalar gerçekleştirildi. Elde edilen veriler ışığında kalibrasyon grafiği çizildi (Çizelge 3.3). Hazırlanan stok troloks çözeltileri belirli oranlarda etil alkolle seyreltilerek küçük tüplere konuldu. 500-250-125-62,5-37,25  $\mu\text{M}$  olacak şekilde 2 mL hazırlandı.

Konsantrasyonları bilinen numunelerden 100'er  $\mu\text{L}$  alınarak 3 mL FRAP reaktifi ile muamele edildi. 593 nm'de 0. ve 4. dakikalarda absorbans ölçümü yapıldı. Çizilen kalibrasyon grafiğinden yararlanarak numunelerin FRAP değerleri bulundu.

Pipetleme yapıldı, saf suya karşı okuma gerçekleştirildi ve köre karşı okunarak etil alkolden gelen absorbans değerleri belirlendi. Daha sonra standartlara geçildi. Ayrı ayrı seyreltilerek hazırlanan troloks standartları 100  $\mu\text{L}$  olacak şekilde küvet içerisine pipetlendi, akabinde 3 mL Frap Reaktifi ilave edildi. Cihaz kapağı hemen kapatılarak 0. dk absorbans değeri ölçüldü. Daha sonra aynı küvetin 4. dk absorbans değeri okundu. Bütün bu işlemler diğer konsantrasyonlardaki standartlar ve numuneler için de yapıldı. (4. dk absorbans - 0.dk absorbans) formülünden ortaya çıkan absorbans birim sonuçları not

edildi. Standartın sonuçlarından absorbansa karşı konsantrasyon grafiği çizildi (Çizelge 3.3.). Numunelerin (4. dk absorbans - 0. dk absorbans) formülünden ortaya çıkan absorbans birim sonuçları, grafikteki verilen formülde 'y' değerinin yerine konuldu ve konsantrasyonlar yani 'x' değerleri bulundu. Bulunan konsantrasyon sonuçları, numunenin  $\mu\text{M}$ 'lık troloks eşdeğer sonuçlarını ifade etmektedir.

Son olarak, elde edilen toplam polifenol ve FRAP değerleri ile aralarındaki korelasyon katsayısı belirlendi.



**Şekil 3.5.** FRAP standart grafiği

Propolis ekstralarının FRAP metoduna göre, toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal maddeler ve hazırlanışları aşağıda verilmiştir:

**40 mM HCl:** %37'lik 340  $\mu\text{L}$  HCl, destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

**10 mM TPTZ :** 7.8083 mg TPTZ, 2.5 mL 40 mM HCl'de çözüldü.

**20 mM FeCl<sub>3</sub>:** 324.4 mg FeCl<sub>3</sub>, distile suyla 100 mL'ye tamamlandı.

**1000  $\mu\text{M}$  Askorbik Asit ( $M_A$ :176.1 g/mol):** 17.61 mg askorbik asit destile suyla 100 mL'ye tamamlandı. 500, 250 ve 100  $\mu\text{M}$ 'lık konsantrasyonlar, distile su ile seyreltilerek kullanıldı.

**1000  $\mu\text{M}$  Troloks ( $M_A$ :250.3 g/mol):** 25.31 mg troloks etil alkolle 100 mL'ye tamamlandı. 500, 250 ve 100  $\mu\text{M}$ 'lık konsantrasyonlar, etanolle seyreltilerek kullanıldı.

**1000  $\mu\text{M}$  FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O ( $M_A$ :278 g/mol):** 27,8 mg FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O distile suyla 100 mL'ye tamamlandı. 500, 250 ve 100  $\mu\text{M}$ 'lık konsantrasyonlar, distile su ile seyreltilerek kullanıldı.

**Asetat Tamponu (pH 3.6, 300 mM):** 0.775 g NaCH<sub>3</sub>COO.3H<sub>2</sub>O (sodyum asetat trihidrat) ve 4 mL glasiyal asetik asit distile suyla 250 mL'ye tamamlandı.

**FRAP Reaktifi, 25 mL Asetat Tamponu:** 2.5 mL TPTZ, 2.5 mL FeCl<sub>3</sub> karıştırılarak hazırlandı.

### 3.4.3. CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidan aktivite, Apak ve ark. (2004) tarafından geliştirilen CUPRAC (bakır (II)-neocuprain kromofor) metoduna göre tayin edildi. Bu metotta, kararlı bir reaktif olan, hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara cevap veren CUPRAC oksidan olarak kullanıldı. Çizelge 3.4'te verilen pipetlemeler yapıldıktan sonra, deney tüpleri karıştırıldı ve 60 dk sonra tanığa karşı ve 450 nm'de absorbans değerleri okundu. CUPRAC metodunda Troloks'un molar absorblama katsayısı  $\epsilon=1.67 \times 10^{-4}$  L/mol.cm olduğundan Troloks için kalibrasyon eğrisi orjinden geçer. Buna göre, reaksiyon karışımındaki Troloks'a eşdeğer numune konsantrasyonu hesaplandı. Çözücüden ve numuneden gelen renklilik absorbansını belirleme ve bunları numune absorbansından çıkarma adına tanık (deney) denemeler yapıldı.

**Çizelge 3.2.** CUPRAC yöntemi için deney şartları

	Numune	Renk Tanığı	Tanık <sub>met</sub>
<b>10 mM CuCl<sub>2</sub></b>	1 mL		1 mL
<b>7,5 mM Neocuproine (alkolik)</b>	1 mL		1 mL
<b>NH<sub>4</sub>Ac tamponu (1 M, pH 7.0)</b>	1 mL		1 mL
<b>Numune</b>	x mL	x mL	
<b>Damıtık su</b>	(1,1-x) mL		(1,1-x) mL
<b>Metanol</b>			x mL
<b>Damıtık su</b>		(4,1-x) mL	

Eğer bir ekstre (başlangıç hacmi,  $V_{cup}$ ), 'm' gram materyalden hazırlanmış, analiz öncesi 'r' kat seyreltilmiş, seyreltilmiş ekstreten analiz için ' $V_s$ ' hacminde alınmış, deney sonunda renk oluşumu için ' $V_f$ ' son hacmine tamamlandıktan sonra ' $A_f$ ' değerinde bir absorbans elde edildiyse, numunenin Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi,

$$\text{Antioksidan Kapasite (mmol TR/g)} = (A_f / \epsilon_{TR}) \cdot (V_f / V_s) \cdot r \cdot (V_{cup} / m)$$

formülünden hesaplandı.

#### 3.4.4. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini

Propolis ekstralarının DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali temizleme aktivitesi, Cuendet ve ark., (1997)'nin metodu kullanılarak tayin edildi. DPPH radikali, ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup, 517 nm dalga boyunda maksimum absorban değerini vermektedir. Antioksidan madde veya maddelerle muamele edildiğinde, DPPH'den kaynaklanan mor rengin şiddeti azalarak absorban değerlerinin düşmesine neden olmaktadır. Dolayısıyla DPPH derişimini yarıya düşüren numune içeriği  $\mu\text{g/mL}$  cinsinden 'IC<sub>50</sub>' olarak tayin edilir. IC<sub>50</sub> değeri ne kadar düşükse antioksidan kapasite o kadar yüksektir.

Denemelerimizde satın alınan bu radikalın 100  $\mu\text{M}$ 'lık metanolik çözeltisi kullanıldı. Elde edilen ekstralar değişik konsantrasyonlarda hazırlandı. Eşit hacimde (750  $\mu\text{L}$ ) DPPH ve numune çözeltileri karıştırılıp oda sıcaklığında 50 dk bekletildi. Süre sonunda DPPH'ın maksimum absorban değerini verdiği 517 nm dalga boyunda bir spektrofotometrede okundu. Tanık olarak DPPH çözeltisi ve numunenin çözüldüğü çözücü kullanıldı. Bulunan absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek IC<sub>50</sub> değerleri  $\text{mg/mL}$  cinsinden hesaplandı.

IC<sub>50</sub>, radikal miktarını yarıya indiren numune konsantrasyonudur. IC<sub>50</sub> değerinin bulunması için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gerekir. Bu nedenle çalışmalarda 6 farklı konsantrasyonda ölçüm yapıldı. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonu hazırlanıp absorban ölçümleri yapıldı ve absorbanlar konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Maksimum absorbanın yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı, IC<sub>50</sub> değerini vermektedir. IC<sub>50</sub> değeri,  $\text{mg/mL}$  veya  $\text{mM}$  gibi birimlerle ifade edilmektedir.

#### 3.5. Propolis Örneklerinin GC-MS ile Biyoaktif Bileşiklerinin Tayini

Bir  $\text{mg}$  propolis ekstresi %1 trimetilklorosilan (TMCS) içeren beherde, 50  $\mu\text{L}$  piridin 75  $\mu\text{L}$  bis (trimetilsilil) trifluoroasetamid (BSTFA) ile 80°C'de 20 dk reaksiyona bırakılarak gaz kromatografında incelenmek üzere hazır hale getirilmiştir. Daha sonra, 1  $\mu\text{L}$  numune GC-MS'e enjekte edilerek analiz edilmiştir. Analiz Agilent 5890 Gaz Kromatograf, 5972 Kitle Spektrometresi ile yapılmış olup; 23 m uzunluk, 0.25 mm çap, 0.5  $\mu\text{m}$  film kalınlığında kapillar kolon kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak, 0.7  $\text{mL/dk}$  akış hızında helyum gazı kullanılmıştır. Propolisin analizinde başlangıç kolon sıcaklığı



100°C (5 dk) olup, son sıcaklık 310°C ye çıkarılmıştır. Analiz sonucu belirtilmiş olan pik değerleri referans kütüphanesi ile tanımlanmıştır (Popova ve ark., 2005).

### **3.6. İstatistiksel Analizler**

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS for Windows (ver.15.0) software paket programı kullanılarak yapıldı. İki den fazla grubun karşılaştırılmasında Varyans Analizi (One-way ANNOVA) kullanıldı. Gruplar arasında fark çıktığında Tukey HSD testi uygulandı. Değerlendirmelerde 0.05 güven sınırı esas alındı.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika ile Batı Asya'da dominant propolis kaynağının kavak (*Populus*) tomurcuk salgıları olduğu, dünyanın diğer bölümlerinde ise, huş ağacı (*Betula*), karaağaç (*Ulmus*), çam (*Pinus*), meşe (*Quercus*), söğüt (*Salix*) ve akasyanın (*Acacia*) propolis kaynağı olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Bankova ve ark., 2000). Türkiye, çok geniş alanda çok çeşitli bitki türlerinin yayılış gösterdiği flora açısından çok zengin bir ülkedir (Davis,1988). Ülkemizde yayılış gösteren ve arıların propolis kaynağı olarak kullandıkları çok çeşitli bitki türleri oldukça geniş alanlarda yayılış göstermektedirler. Bu durum, o bölgedeki propolislerin kimyasal bileşimini doğrudan etkilemektedir. O nedenle, biz bu çalışmada farklı floraya sahip altı ilden toplanan propolis örneklerinin antimikrobiyal, antioksidan özelliklerini test etmek ve biyolojik olarak aktif bileşiklerini belirlemek istedik. Türkiye'de arıların propolis kaynağı olarak kullandıkları başlıca bitkilerden; Van'da kavak (*Populus*) ve söğüt (*Salix*), Erzurum'da kavak (*Populus*) ve söğüt (*Salix*), Gümüşhane'de kavak (*Populus*), söğüt (*Salix*) ve çam (*Pinus*), Ordu'da çam (*Pinus*) ve kavak (*Populus*), Rize'de çam (*Pinus*) ve söğüt (*Salix*) ve Muğla'da çam (*Pinus*) ve sığla (*Liquidamber*) ağaçları yayılış göstermektedir (Davis, 1988).

Güçlü antimikrobiyal aktivitesinden dolayı, doğal antibiyotik olarak bilinen propolis ile yapılan çalışmalarda, propolisin antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi gözlemlenmiştir (Ghisalberti, 1979; Vanhaelen ve Vanhaelen, 1979; Pepeljnjak ve ark., 1981, 1982; Pápay ve ark., 1985; Kawai ve Konishi ve ark., 1987; Toth ve Papay ve ark., 1987; Okonenko ve ark., 1988; Petri ve ark., 1988; Rosenthal ve ark., 1989; Brumfitt ve ark., 1990; Cuéllar ve ark., 1990; Soboleva ve ark., 1990; Dimov ve ark., 1991; Dobrowolski ve ark., 1991; Kujumgiev ve ark., 1993; Ventura Coll ve ark., 1993; Langoni ve ark., 1994; Woisky ve ark., 1994).

Türkiyenin altı ilinden toplanan propolislerin etil alkol ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri, agar difüzyon metoduna göre, 4 gram pozitif (*B. cereus*, *Cl. perfringens*, *L. monocytogenes* ve *St. aureus*), 6 gram negatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *Sh. sonnei*, *Y. enterocolitica*) bakteri, 2 maya (*C. albicans*, *Sc. cerevisiae*) ve bir fungus (*A. niger*) üzerinde test edilmiştir (Çizelge 4.1).

Antimikrobiyal aktivite tayini sonucunda, propolis ekstralarının funguslara kıyasla, bakterilere karşı daha fazla etkili oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri

Örnekler	Mikroorganizmalar** ve inhibisyon çapları (mm)												
	B.c. (Ort.±S.H.)*	Cl.p. (Ort.±S.H.)*	L.m. (Ort.±S.H.)*	St.a. (Ort.±S.H.)*	E.c. (Ort.±S.H.)*	K.p. (Ort.±S.H.)*	P.a. (Ort.±S.H.)*	S.t. (Ort.±S.H.)*	Sh.s. (Ort.±S.H.)*	Y.e. (Ort.±S.H.)*	C.a. (Ort.±S.H.)*	Sc.c. (Ort.±S.H.)*	A.n. (Ort.±S.H.)*
%70 etanol	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Van	13.33±0.33 c	9.00±0.00 b	18.33±0.33 d	15.33±0.33 c	15.33±0.33 c	9.00±0.00 c	15.33±0.33 d	6.67±0.33 b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a	10.00±0.00 c	11.33±0.33 c
Erzurum	11.33±0.33 b	10.00±0.00 c	20.33±0.33 e	16.67±0.33 d	16.67±0.33 d	0.00±0.00 a	11.33±0.33 b	14.67±0.33 d	10.00±0.00 b	14.67±0.33 d	0.00±0.00 a	9.00±0.00 b	9.00±0.00 b
Gümüşhane	11.33±0.33 b	16.67±0.33 e	19.00±0.00 d	18.33±0.33 e	18.33±0.33 e	8.00±0.00 b	0.00±0.00 a	14.67±0.33 d	13.33±0.33 c	18.33±0.33 f	0.00±0.00 a	15.33±0.33 e	18.33±0.33 f
Ordu	17.33±0.33 d	10.00±0.00 c	18.33±0.33 d	19.00±0.00 e	13.33±0.33 b	10.00±0.00 d	15.33±0.33 d	16.67±0.33 e	10.00±0.00 b	11.33±0.33 c	13.33±0.33 c	10.00±0.00 c	19.00±0.00 g
Rize	20.33±0.33 e	12.00±0.00 d	12.00±0.00 b	16.33±0.33 d	15.33±0.33 c	14.67±0.33 g	0.00±0.00 a	13.33±0.33 c	15.33±0.33 d	7.00±0.00 b	15.33±0.33 d	14.67±0.33 e	14.67±0.33 d
Muğla	11.33±0.33 b	9.00±0.00 b	16.33±0.33 c	16.33±0.33 d	19.00±0.00 e	9.00±0.00 c	14.33±0.33 c	13.33±0.33 c	10.00±0.00 b	0.00±0.00 a	10.00±0.00 b	13.33±0.33 d	15.33±0.33 e
Ampicilin	27.00±0.00 g	TE	25.00±0.00 f	11.33±0.33 b	15.33±0.33 c	13.33±0.33 f	27.00±0.00 f	22.00±0.00 f	TE	15.33±0.33 e	TE	TE	TE
Cephazolin	23.00±0.00 f	TE	32.00±0.00 g	TE	16.67±0.33 d	11.33±0.33 e	24.00±0.00 e	23.00±0.00 g	15.33±0.33 d	15.33±0.33 e	TE	TE	TE
Nystatin	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	15.33±0.33 d	15.33±0.33 e	TE

\*Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark, istatistiksel olarak önemsizdir, p>0.05.

\*\*Mikroorganizmalar: Cl.p.: *Clostridium perfringens*, K.p.: *Klebsiella pneumoniae*, E.c.: *Escherichia coli*, L.m.: *Listeria monocytogenes*, St.a.: *Staphylococcus aureus*, Y.e.: *Yersenia enterocolitica*, P.a.: *Pseudomonas aeruginosa*, S.t.: *Salmonella typhimurium*, Sh.s.: *Shigella sonnei*, B.c.: *Bacillus cereus*, C.a.: *Candida albicans*, Sc.c.: *Saccharomyces cerevisiae*, A.n.: *Aspergillus niger*, TE: Test edilmedi.

Marcucci ve ark. (2001) yapmış oldukları çalışmada, propolisin antimikrobiyal aktivitesinin gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğunu bulmuştur. Yapılan bu çalışma bizim çalışmamızı da desteklemektedir (Çizelge 4.1). Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi, gram pozitif bakteri olan *St. aureus* ve *B. cereus*'un geniş bir zon oluşturduğu gözlenmiştir.

Castaldo ve Capasso (2002) yapmış oldukları çalışmada, propolis örneklerinin gram pozitif (*Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp.) ve gram negatif (*E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*) bakterilerinin antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini destekledi. Yapılmış olan bu çalışma, bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Valdez Gonzales ve ark. (1985) yapmış oldukları çalışmada, 28 etil alkol ile hazırlanan propolisin ekstresinin *Streptococcus* ve *Bacillus*'un suşlarının büyümesini engellediğini gözlemişlerdir. Bu nedenle propolis geniş spektrumlu antibiyotik olarak kabul edilmektedir. Propolisin % 70'lik alkolde eriyen diğer kısımları antibiyotiklerle beraber kullanıldığında anestezi ve antioksidatif etki yaptığı, bu etkilerin propolisin anestezi bileşikleri olan alkolde eriyen esansiyel yağ asitleri olduğu ve bu özellikleri sayesinde propolisin kokain ve prokainden daha güçlü bir anestezi olduğu belirtilmiştir. Propolisin bağışıklık sistemini önemli derecede güçlendirdiği ve hastalıkları önlemede önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Greenway ve ark., 1990).

Grange ve Davey (1990) yapmış oldukları çalışmada, etil alkolle hazırlanan alkolle hazırlanmış propolis ekstresinin *E. coli*'nin büyümesini engellediğini, fakat *K. pneumoniae* üzerinde herhangi bir etki göstermediğini gözlemişlerdir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, propolis numuneleri *E. coli* üzerinde geniş bir inhibisyon zonu oluştururken, *K. pneumoniae* üzerinde 5 ilden elde edilen propolis numunelerinin etkili olduğu gözlenmiştir, fakat inhibisyon zonlarının çapı geniş değildir. *P. aeruginosa*'nın sadece 4 ilden elde edilen numunelerinde geniş bir inhibisyon zonu gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Millet-Clerc ve ark. (1987) yapmış oldukları çalışmada, propolisin *Trichophyton* ve *Microsporium*'a karşı önemli bir antifungal aktivite gösterdiğini bildirdi. Propolis ile bazı antifungal ilaçların kombinasyonları, *C. albicans* mayasının etkilerini azalttı (Millet-Clerc ve ark., 1987). Lisa ve ark., (1989) yapmış olduğu çalışmada, 17 patojen fungusaya karşı propolisin %10' luk etil alkol ekstresinin antifungal aktivite gösterdiğini buldu. Propolisin etil alkol ekstresi, dermatofit testlerinde de etkili oldu (Lisa ve ark.,

1989). *In vitro* testlerde, propolis %5 ve %10'luk konsantrasyonlarının *Trichophyton verrucosum*'un büyümesini engellediği gözlenmiştir. Ayrıca, propolisin antifungal aktivitesi diğer bazı funguslarda da *in vitro* olarak gözlendi (La Torre ve ark., 1990).

Kafeik asit gibi fenoliklerin influenzaya karşı zayıf bir etkiye sahip olduğu bulunmasına rağmen adenovirüsler polio ve parainfluenza virüslerine karşı çok daha duyarlı olduğu bulunmuştur (Vanden Berge ve ark., 1986).

Propolisin antibakteriyel aktivitesi, içeriğinde bulunan esterler, aromatik asitler ve flavonoidlere bağlıdır (Debuyser, 1983; Meresta ve Meresta, 1985/1986). Propolisin içeriği elde edildiği bölgenin bitki kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Dolayısıyla içeriğinde bulunan kalitatif ve kantitatif değerleri de değişmektedir. Bazı bakteriler üzerindeki inhibisyon zonlarının değişmesinde bu durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Burdock (1998) yapmış olduğu çalışmada; propolisin sahip olduğu antimikrobiyal kapasitesinin; içerisinde bulunan aromatik asit ve esterlerin mevcudiyetinden kaynaklandığını bulmuştur. Cushine ve Lamb (2005) yapmış oldukları çalışmada, propolisin içerisinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olan galagin adı verilen bir flavonoidin mevcudiyetini bildirdiler.

Propolisdeki antimikrobiyal etki yaratan madde grupları ve bunların etki mekanizması tam olarak ortaya konulamamıştır. Ancak antimikrobiyal etkinin temelde reçine veya tomurcuk içindeki flavonoidler, aromatik asitler ve esterlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Ghisalberti, 1979). Bu gruplar içinde antimikrobiyal etkiye sahip maddelerin başlıcaları ise; kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik benzil ester ve kafeik asit esterleri'dir. Antimikrobiyal etki mekanizmasının çok kompleks olduğu ve bunun fenolik maddelerle diğer maddelerin sinerjistik etki yaratmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Park ve ark., 1998). Antimikrobiyal etki propolisin elde edildiği kaynağa, kimyasal kompozisyonuna, etken maddelerin konsantrasyonuna ve etken madde arasında değişiklik göstermektedir.

Türkiyenin 6 farklı ilinden temin edilen propolis örneklerinin etil alkolda hazırlanmış ekstrelerinin minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIK), agar difüzyon metoduna göre, 4 gram pozitif (*B. cereus*, *Cl. perfringens*, *L. monocytogenes* ve *St. aureus*), 6 gram negatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *Sh. sonnei*, *Y. enterocolitica*) bakteri, 2 maya (*C. albicans*, *Sc. cerevisiae*) ve bir fungus (*A. niger*) üzerinde belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2.** Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan propolis ekstralarının minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri (µgr/mL)

	B.c.	Cl.p.	L.m.	St.a.	E.c.	K.p.	P.a.	S.t.	Sh.s.	Y.e.	C.a.	Sc.c.	A.n.
Van	≥25	≥25	≥6.25	≥12.5	≥12.5	≥50	≥12.5	≥25	≥50	≥12.5	≥50	≥25	≥25
Erzurum	≥12.5	≥25	≥6.25	≥6.25	≥12.5	≥50	≥25	≥12.5	≥25	≥12.5	≥50	≥25	≥25
Gümüşhane	≥25	≥25	≥6.25	≥6.25	≥12.5	≥25	≥50	≥12.5	≥25	≥12.5	≥50	≥25	≥12.5
Ordu	≥6.25	≥25	≥6.25	≥12.5	≥25	≥25	≥12.5	≥12.5	≥25	≥12.5	≥12.5	≥25	≥6.25
Rize	≥6.25	≥25	≥25	≥6.25	≥12.5	≥12.5	≥50	≥12.5	≥12.5	≥12.5	≥12.5	≥12.5	≥12.5
Muğla	≥25	≥25	≥12.5	≥12.5	≥6.25	≥25	≥12.5	≥12.5	≥25	≥12.5	≥25	≥12.5	≥12.5

\*\*Mikroorganizmalar: Cl.p.: *Clostridium perfringens*, K.p.: *Klebsiella pneumoniae*, E.c.: *Escherichia coli*, L.m.: *Listeria monocytogenes*, St.a.: *Staphylococcus aureus*, Y.e.: *Yersenia enterocolitica*, P.a.: *Pseudomonas aeruginosa*, S.t.: *Salmonella typhimurium*, Sh.s.: *Shigella sonnei*, B.c.: *Bacillus cereus*, C.a.: *Candida albicans*, Sc.c.: *Saccharomyces cerevisiae*, A.n.: *Aspergillus niger*, TE: Test edilmedi.

Ekstrelerin MIK değerleri 6.25 ile 50 µgr/mL arasında değişmektedir (Çizelge 4.2). Ekstreler, mikrobiyal aktiviteye bağlı olarak, bakteriler üzerinde maya ve küflere nazaran daha az MIK değeri içermektedirler, dolayısı ile daha etkilidirler (Çizelge 4.2). Gram pozitif bakterilerde (tablodaki, ilk dört sütun), gram negatiflere göre daha az MIK değerlerine sahiptir (Çizelge 4.2).

Son yıllarda doğal ürünler tüketiciler tarafından giderek dikkat çekmeye başladı. Besinlerin önemli özelliklerinden biri; kardiyovasküler, kanser ve diyabet gibi bazı hastalıkların engellenmesine katkı sağlayan antioksidan özelliklere sahip olmasıdır (Ames ve ark., 1993; Gutteridge ve Holliwell, 1994).

Propolis; içerdiği aminoasit, fenolik asit, flavonoid, terpen, steroid, aldehit ve ketonlar sayesinde antioksidan aktivite gösterir (Borrelli ve ark., 2002). Propolisin antioksidan kapasitesinin; nektarın kaynağı olan bitki, mevsim, çevresel faktörler, toprak tipi ve iklim gibi birkaç faktöre bağlı olduğunu bildirildi (Cowan, 1999).

Propolis ektrelerinin antioksidan aktiviteleri birbirine bağlı dört yöntem kullanılarak test edilmiştir: a) Ekstrelerin toplam fenolik içeriği, folin yöntemine göre, b) toplam flavonoid içeriği, FRAP yöntemine göre, c) toplam antioksidan kapasiteleri CUPRAC testi ile ve d) radikal temizleme yeteneği ise DPPH yöntemi ile tayin edilmiştir.

Antioksidan aktivite belirlemede çalışılan toplam polifenol ve FRAP değeri saptama sonuçlarına göre, etanol ile hazırlanan propolis numuneleri yüksek antioksidan etki göstermiştir (Çizelge 4.3). Borelli ve ark. (2002) yapmış olduğu çalışmada, propolisin içerdiği aminoasit, fenolik asit, flavonoid, terpen, steroid, aldehit ve ketonlar sayesinde antioksidan etki gösterdiğini ileri sürmüştür.

Doğal ürünlerde olduğu gibi propoliste de antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiklerin çoğunluğunu fenolik maddelerin cinsi ve miktarı belirlemektedir. Toplam fenolik madde miktarı, Folin yöntemine göre tayin edildi (Slinkard ve Singleton, 1977). Bu teste göre; yüksek fenolik madde miktarı yüksek antioksidan aktiviteyi göstermektedir. Toplam fenolik madde miktarının ölçümünde kullanılan teste göre Folin reaktif fenolik asitler, flavanoidler, flavanoller, antosiyaninler gibi tüm fenolik yapıya sahip bileşikler ile renkli kompleks oluşturduğundan suda eriyebilen fenolik ve polifenolik tüm ajanların toplam miktarı tespit edilmiştir. Erzurum ve Gümüşhane ilinden toplanan propolis örneklerinin en yüksek toplam fenolik madde miktarına sahip

olduğu ve Rize iline ait propolisin en düşük toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu bulundu.

**Çizelge 4.3.** Türkiye'nin değişik illerinden toplanan propolis örneklerinin antioksidan kapasiteleri

Örnekler	Toplam Polifenolik İçerik (mg GAE/g) (Ort.±S.H.)*	Toplam Flavonoid İçeriği (mg QEs/100g) (Ort.±S.H.)*	Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC mM Trolox/g) (Ort.±S.H.)*	DPHH IC <sub>50</sub> (mM) (Ort.±S.H.)*
Van	227.57±1.23 b	1.10±0.01 b	2.63±0.04 a	0.032±0.001 c
Erzurum	270.22±4.22 c	1.54±0.01 d	3.95±0.05 c	0.023±0.002 b
Gümüşhane	269.85±3.12 a	1.68±0.01 e	4.15±0.05 d	0.033±0.001 c
Ordu	225.41±3.25 b	1.25±0.01 c	2.86±0.01 b	0.028±0.002 b
Rize	180.89±2.15 a	0.78±0.01 a	2.57±0.01 a	0.028±0.002 b
Muğla	219.09±5.51 b	1.37±0.01 c	2.77±0.05 b	0.008±0.002 a

\*Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark, istatistiksel olarak önemsizdir, p>0.05.

Propolisin tıbbi etki açısından antibakteriyel, antiviral, antiseptik, antifungal ve antibiyotik özellik taşıdığı yapılan bilimsel çalışmalarla belirlenmiştir. Propolisin bu anestetik ve antioksidatif etkisi canlılar için büyük önem taşımaktadır. Propolisin yapısında bulunan ve büyük önem taşıyan flavonoidler ve terpenler oldukça kuvvetli antioksidan ve antisteril etkili bileşiklerdir (Kumova ve Korkmaz, 2002). Organik çözücüler içerisinde çözünen bileşik gruplarından flavanoidler en önemli grubu oluşturmaktadırlar. Flavanoidler, bitkilerin hemen her kısmında ve çok sayıda bulunan pigment içeren maddelerdir. Bazı flavanoidler arının tükürük salgılarına karışan enzimlerle değişikliğe uğramaktadır. Flavanoidlerin bazıları çok değişik bakteri türlerine etkili olmaktadır. Flavanoidlerin kalp-damar sistemi üzerine olumlu etkileri olduğu, kan dolaşımını düzenlediği, kılcal damar çatlamlarını azalttığı, mide mukozasını ülserle karşı koruduğu, mide yaralarını küçülttüğü, iç salgı sistemini düzenlediği ve halsizliğe karşı olumlu etkisi olduğu belirlenmiştir (Kumova ve Korkmaz, 2002).



Propolislerde bulunan toplam flavanoid madde miktarı ise kuersetin standardı kullanılarak  $AlCl_3$  testine göre tayin edildi. Bu teste göre, en yüksek flavanoid içeren propolis örneklerinin yine Erzurum ve Gümüşhane iline ait örnekler olduğu belirlendi. Flavanoid miktarları toplam fenolik madde miktarının çok düşük bir kısmını (yaklaşık %1'ini) oluşturmaktadır. Ancak flavanoller birer fenolik madde olduklarından, antioksidan olarak aktif maddelerdendir.

Çalışmada toplam antioksidant kapasitesinin belirlenmesinde bakır indirgeme/antioksidan kapasite veya kısa adı CUPRAC olarak adlandırılan test kullanıldı. Bu test son yıllarda FRAP (demir (III) indirgeme antioksidan test) gibi çok yaygın kullanılan bir test olup polar örneklerin toplam antioksidan kapasitesinin ölçümünde kullanılmaktadır (Apak ve ark., 2004).

Yöntem; örneklerde bulunan antioksidan etkili maddelerin Cu (II) kompleksinin (CU-neokuprein) Cu (I)'e indirgemesine dayanmaktadır ve ne kadar fazla Cu (I) oluşursa, örnek o kadar yüksek antioksidant kapasiteye sahiptir. Standart antioksidant olarak sentetik bir antioksidan madde olan Troloks kullanıldı ve yüksek CUPRAC değeri yüksek aktiviteyi yansıtır. Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi CUPRAC metoduna göre en yüksek toplam antioksidan aktivite Erzurum ve Gümüşhane illerinden elde edilen propolis numunelerinde gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan 4 farklı test arasında korelasyon olup olmadığına bakıldığında ise yüksek fenolik madde içeriğine sahip örneklerin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlendi ( $r^2=0.91$ ).

Serbest radikaller ve diğer oksidatif ajanların çoğu canlıdaki toksin mekanizmasının işleyişinde büyük önem arzederler (Nagai ve ark., 2001). Bu radikaller, canlıdaki karbohidratlar, proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllere etki ederek onların bütünlüğünü bozarlar (Diplock ve ark., 1994).

Oksijenin neden olduğu zararlara karşı hücrenin kendi koruma sistemlerinin önemi iyi bilinmektedir. Canlı organizmaların dokuları tokoferol, askorbik asit ve polifenol gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler ve peroksidaz, katalaz, superoksidaz, dismutaz gibi başlıca antioksidatif enzim sistemleri sayesinde, oksidatif zararlara karşı kendini korumaktadır. (Nagai ve ark., 2001).

DPPH ticari olarak satın alınabilen tek radikal olup, doğal örneklerin serbest radikal temizleme aktivitelerinin ölçümünde yaygın olarak kullanılan bir testtir. DPPH etanolik veya metanolik ortamda mor menekşe rengine sahip bir ajan olup 517 nm'de absorban oluşturur. Antioksidant madde varlığında ise renk kaybolur.  $SC_{50}$  değeri,

radikalin %50'sini temizleyen madde miktarıdır. Bu değer, ne kadar düşük olursa aktivite o kadar yüksektir. Çalışmada en düşük SC<sub>50</sub> değerine sahip propolisin Muğla yöresine ait propolis olduğu bulundu. Muğla yöresi çam balı üretiminde Türkiye'nin % 70'ini karşılamaktadır. Muğla propolisi ise çam propolisinin yüksek olma ihtimalinin olduğu bir propolistir. Çalışmaya göre toplam fenolik madde miktarı ve CUPRAC yöntemi ile DPPH aktivitesi arasında ters orantı bulunmaktadır ( $r^2 = -0.7$ ). Yani fenolik madde miktarı yüksek olmasına rağmen Erzurum ve Gümüşhane propolislerinin DPPH radikali temizleme yeteneği düşüktür. Buna benzer durum literatürde de mevcuttur (Aliyazicioğlu ve ark., 2011). Muğla iline ait propolisde bulunan etkin bir fenolik madde DPPH radikalini diğerlerinden daha fazla temizlemiştir. Ancak bu fenolik maddenin hangi madde olduğu ve nereden geldiğini belirlemek için propolis örneklerinin fenolik kompozisyonunun aydınlatılması ve tek tek aktivite testlerinin yapılması gerekmektedir.

Propolis, polifenoller (flavonoid, aglikonlar, fenolik asitler ve onların esterleri, fenlik aldehytler, alkoller ve ketonlar), seskuiterpen kinonlar, kumarinler, steroidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir. Dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinden 160'dan fazla bileşik tanımlanmış ve bu bileşikler propolisin botanik ve coğrafik orijinine göre değişmektedir (Greenway, 1990).

Organik çözücülerde çözünen önemli diğer bir grubu sinamik asit ve türevleri oluşturmaktadır. Bunlardan fülerik asit, gram (+) ve gram (-) bakterilerine karşı güçlü antibiyotik özelliği göstermekte, pıhtılaşmayı hızlandırarak yaraları hızla iyileştirmekte, cilt rahatsızlıklarında merhem şeklinde kullanımının çok olumlu sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur. Tropik propolislerde bulunmayan kafeik asitin, antimikotik ve antiviral etkilerinin yanında kuesertin ve luteolin maddeleri ile birlikte kansere karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Klinik araştırmalar, propolisin %70'lik alkolde eriyen diğer kısımlarının antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında bu ilaçların etkisini arttırdığını, anestezi ve antioksidatif etki gösterdiğini, ikinci dereceden yanıkların tedavisinde olumlu sonuçlar verdiğini, çimlenmeyi engellediğini ve antiseptik olduğunu ortaya çıkarmıştır. Propolis içerisinde bulunan kafeik asit başta olmak üzere bazı bileşiklerin özellikle uçuk ve grip etmeni gibi virüs türleri üzerinde etkili olduğu; kafeik asitin antitümör özellik taşıdığı ve bu nedenle akciğer kanserine karşı etkili olduğu bulunmuştur. Diş macunlarına %1-10 oranında propolis çözeltileri eklenmesi normal

koşullarda oluşan ağız mikrofolarasını 2 saatten 6 saate çıkarmaktadır. Arı propolisi virüslere karşı oldukça etkilidir. Propolis içerisinde bulunan bioflavonoid protein örtüsünü tutar ve içine kilitlenen virüslerin enzim salgılamasını ve çoğalmasını önler. Özellikle üst solunum yolları ve orta kulak enfeksiyonlarında, ağız yaralarında, mide, gastrit ve oniki parmak bağırsağı ülserinde tedavi edici özellik gösterir. Propolis vücut fonksiyonu için gerekli bakterilere zarar vermeden enfeksiyonlara karşı, virüs öldürücü ve bakteri saldırılarını önleyici olarak insan ve hayvanlar üzerinde etkili olmaktadır. Propolisin içerdiği bioflavonoidin iltihaplara karşı etkili olduğu ve vücudun güçlenmesinde önemli bir rol oynadığı Avrupa'da yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Kumova ve Korkmaz 2002). Propolisin düzenli ve sürekli alınması durumunda sindirim, solunum ve dolaşım sisteminde ve tüm vücutta hastalık etmenlerine karşı (patojenlere) etkin bir savunma sistemi gerçekleştirdiği belirlenmiştir.

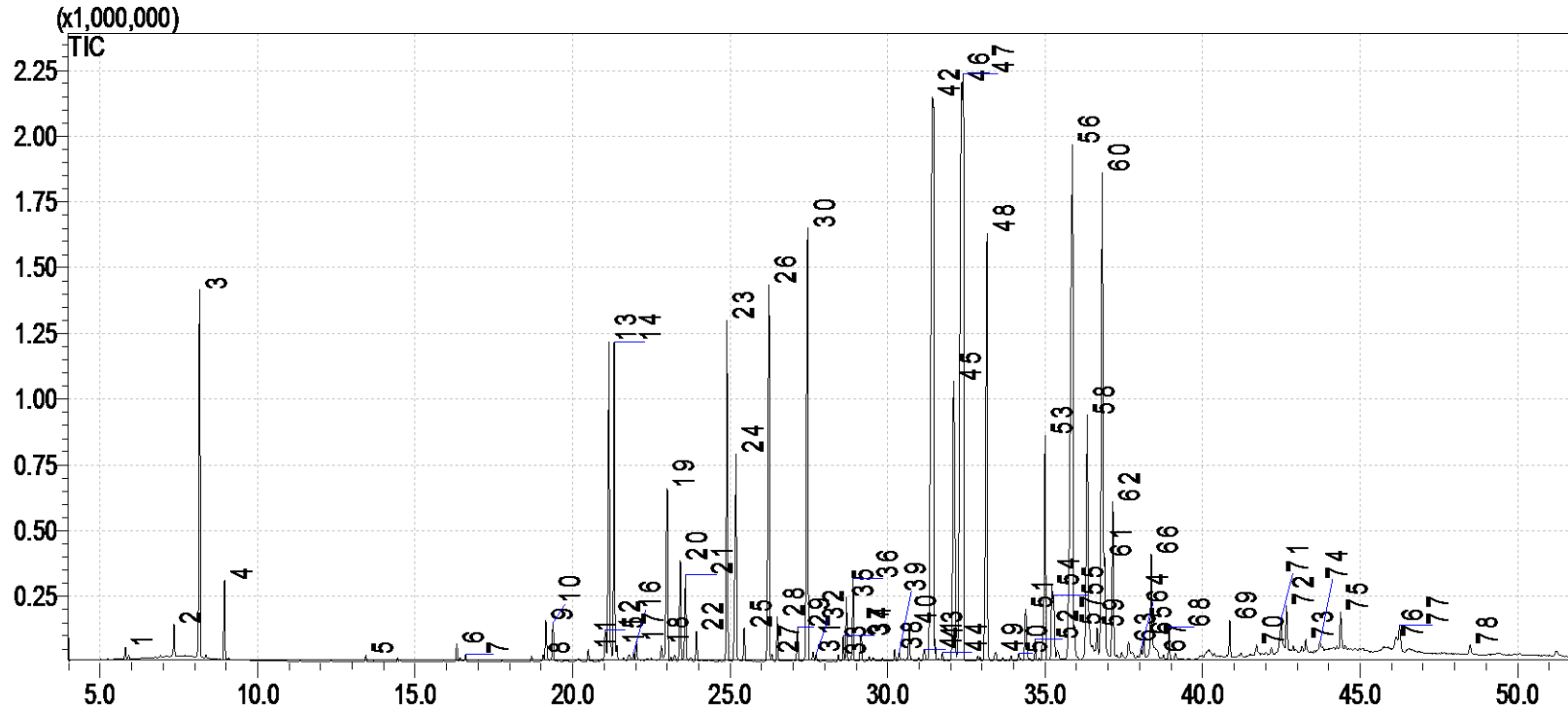
Propolis, histamin ve serotonin kaynağı olarak vücudun herhangi bir alerjiye karşı mücadelesi için gereklidir. Histamin ve serotonin doku hormonları olup direkt hücrelerde kalır. Alerji yapan madde hücre dışında kendisini bağladığında, bu iki madde alerjik reaksiyona neden olmaktadır. Yapılması gereken bu maddelerin sızıntısını engellemektir ve bu da propoliste bulunan bioflavonoidin alınması ile gerçekleşmektedir. Propolis üzerine yapılan bu araştırma sonuçları, insanların bal arılarına olan ilgisini arttırmaktadır (Kumova ve Korkmaz 2002).

Bulgaristan'ın iki farklı bölgesinden topladıkları propolis örneklerini GC/MS ile incelendiğinde, 15 fenolik asit (bunların 7 si propolis için yeni), 2 keton, 8 fenolik asit esterleri (propolis için yeni), 6 flavonon ve 2 flavanol tanımlamıştır (Bankova ve Naturforsch, 1987).

Bonvehi ve Naturforsch, (1994) propolisin bakteriyostatik etkisini inceledikleri araştırmalarda metanol ile özütledikleri Brezilya propolis örneğinde toplam fenolik madde miktarını %10.10 (spektrofotometrik olarak), reçine miktarını ise % 47.60 (m/m) tespit etmişlerdir.

Literatürdeki verilerle kıyaslandığında çalışma sonucunda elde ettiğimiz sonuçların farklılık gösterme nedeninin propolisin temin edildiği bölgeden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızın bir diğer amacı da, propolis numunelerin kimyasal kompozisyonuydu. Bu kimyasal analiz sonuçlarına baktığımızda her yörenin propolis numunesi farklı madde içeriği göstermiştir. Propolis numunelerinin içerdiği bu değişik maddelerden dolayı çeşitli bakteriler ve funguslar üzerine farklı antibakteriyal

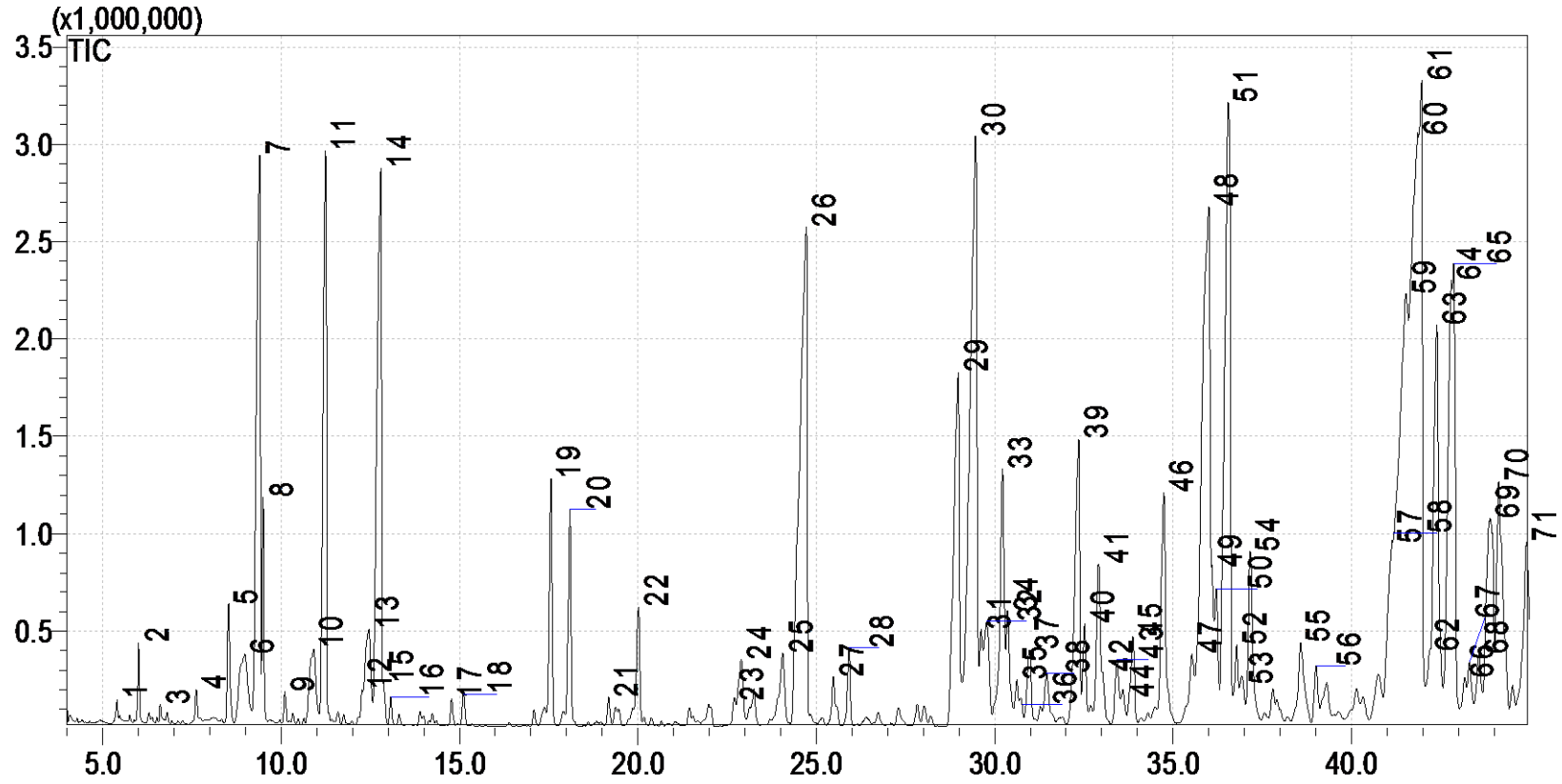
ve antifungal aktivite göstermiştir. Ayrıca propolis numunelerinin içermiş olduğu fenolik ve diğer bileşiklerden dolayı farklı antitoksidan aktivite göstermiştir. Çalışmamızın genelinde propolis numunelerinin biyolojik aktivitelerini ortaya çıkarmak için yapılan her bir deneyin sonuçlarını etkileyen propolis içeriklerinde kimyasal analizler ile ortaya konulması bu çalışmanın diğer bir önemli yanıdır.



Şekil 4.1. Van ilinden elde edilen propolis numunelerinin GC-MS sonuçları

**Çizelge 4.4.** Van propolisinin kalitatif değerleri

VAN PROPOLİSİ	Pik No	Ret Time (dak.)	% TIC
Esterler			
methacrylic acid hexyl ester	1	5.800	0.08
1H-Indole,6 methoxy TMS ester	20	23.417	0.89
Cinnamic acid, 3,4-dimetoxy TMS ester	24	23.183	0.87
Hexadeconic acid TMS ester	25	25.442	0.28
Silane TMS ester	28	26.500	0.37
Oleic acid TMS ester	35	28.692	0.55
9,12-Octadecadienoic acid TMS ester	49	33.425	0.10
Monopalmitin TMS ester	54	35.217	0.74
Octadeonic acid, 2,3-bis TMS ester	65	38.133	0.20
silicone oil	78	48.492	0.10
Organik ve Yağ Asitler			
Benzoate	2	7.342	0.25
Butanedioic acid	4	8.950	0.60
Cinnamic acid	12	21.042	0.33
2-Keto-D-GLUCONİC ACİD STMS	13	21.150	2, 95
Octadeconic acid	37	29.158	0.28
3-acetyloxycaffeate	39	30.367	0.08
3-methyl-2-butenyloferulate	43	31.508	0.11
Alkol ve Terpenler			
Farnesol 1TMS	36	28.900	0.73
Keton ve Hidrokarbonlar			
3,7-Diox-2,8-disilanonane	3	8.158	2, 89
Cyclopropane	5	13,433	0.05
2,5-dimethylbenzene	6	16.317	0.14
D-fructose	14	21.317	2, 17
beta- D-Galactofuranoside	16	21.933	0.06
Sorbose 5 TMS	15	21.400	0.12
Alfa-D-Glucopyranose	19	23.000	2, 01
Glukoz 5 TMS	23	24.900	2, 67
3-metylheptene	27	26.325	0.07
chalcone	50	34.158	0.06
Sukroz-octa TMS	60	36.808	6, 11
Eicosamethylcyclodecasiloxane	72	42.667	0.55
Diğer Bileşikler			
Ferulic acid TMS eter	26	26.233	3, 89
1H-Purin -6- amine	52	34.692	0.16
1H-Imidazole-4-carboxamide	62	37.150	1, 66

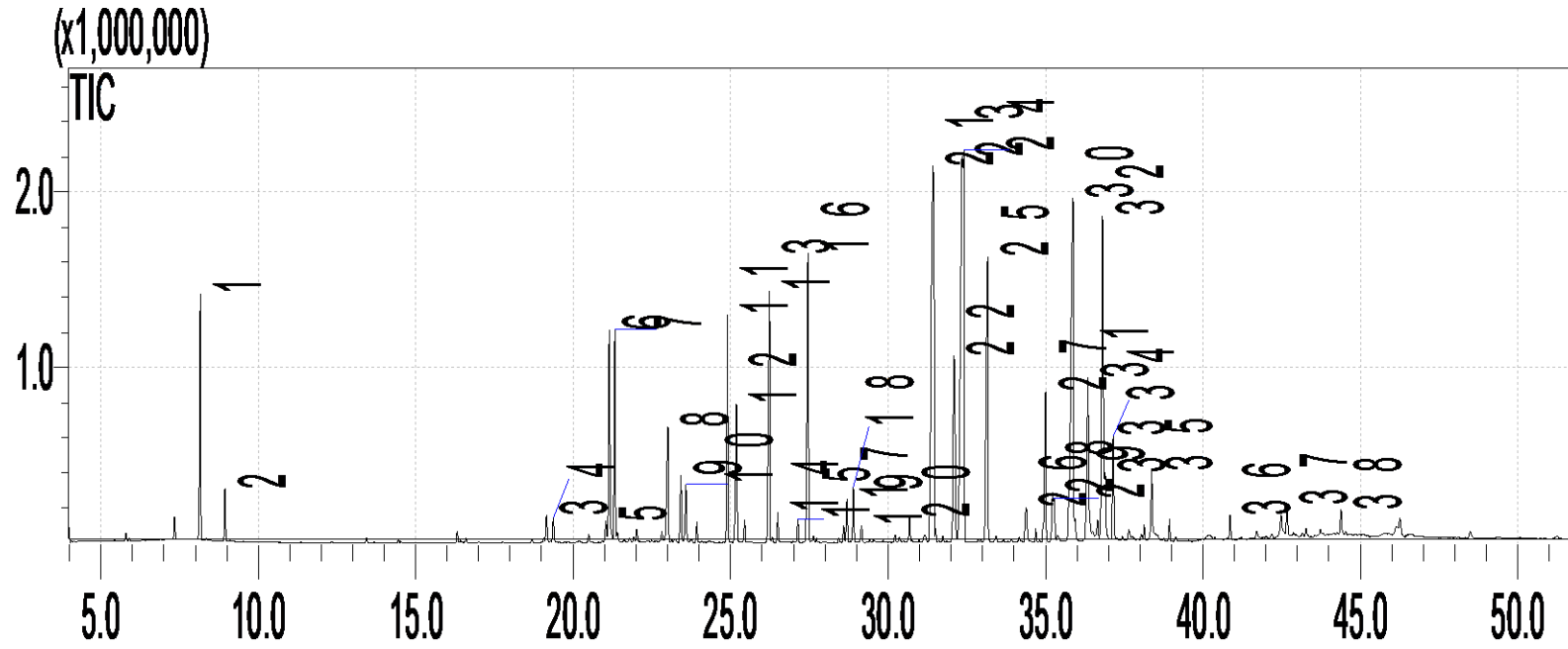


Şekil 4.2. Erzurum ilinden elde edilen propolis numunelerinin GC-MS sonuçları

Çizelge 4.5. Erzurum propolisinin kalitatif değerleri

ERZURUM PROPOLİSİ	Pik No	Ret Time (dak)	% TIC
Esterler			
Ethanedioic acid TMS ester	1	5.392	0.05
Octanoic acid TMS ester	9	10.100	0.10
Butanedioic acid bis TMS ester	14	12.792	4, 41
Benzenepropanoic acid TMS ester	19	17.558	1, 19
Decanoic acid TMS ester	22	20.008	0.57
2- Propenoic acid, 3- phenyl- TMS ester	26	24.717	6, 47
Dodecanoic acid TMS ester	37	30.975	0.45
2- Propenoic acid TMS ester	38	31.450	0.22
Cinnamic acid, m- methoxy TMS ester	57	41.133	1, 30
Cinnamic acid, p- methoxy TMS ester	59	41.533	6, 36
Cinnamic acid, 3,4-dimethoxy TMS ester	69	43.883	2, 27
Organik ve Yağ asitleri			
2- Propenoic acid	3	6.608	0.04
Butanoic acid	4	7.617	0.09
Ethyl succinate 1TMS	8	9.492	0.70
Nonanoic acid 1TMS	17	14.775	0.10
Undecenoic acid 1TMS	21	19.175	0.11
7- Hydroxyoctanoic acid 2TMS	27	25.483	0.15
Urocanic acid per TMS	29	28.975	3, 44
Benzoik acid	31	29.625	0.47
Keton ve Hidrokarbonlar			
Silane	2	6.000	0.23
3,7-Dioxa-2,8- disilanonane	10	10.908	0.72
alfa Amorphene	23	22.683	0.14
25-trimethylsilyoxy-4-cholesten-3-one	48	36.000	6, 92
Eremophil-1(10)-ene	50	36.217	0.60
D-Fruktose	63	42.392	3, 29
Alkol ve Terpenler			
Silanol	6	8.975	1.00
A-Terpineol	12	12.258	0.13
delta- Cadinol	32	29.775	0.80
Agarupsirol	34	30.358	0.48
1-Pentın-4-ol	35	30.767	0.07
alfa-Bisabolol	39	32.358	2, 29
Farnesol	41	32.917	1, 02
Diğer Bileşikler			
Silane TMS ether	5	8.517	0.51
Benzaldehyde	18	15.108	0.13
Isopropyl 2-benzyl-2-propenyl ether	28	25.917	0.34
2-Furanacetaldehyde	56	39.008	0.29

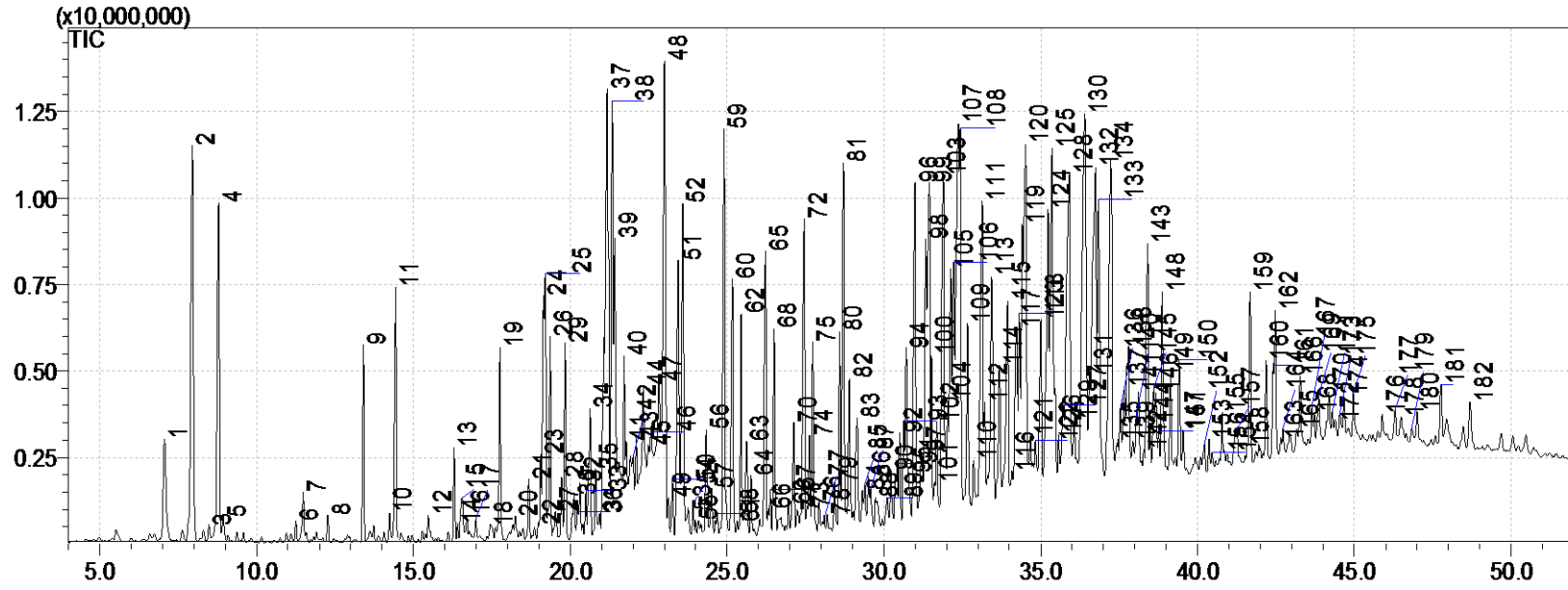




Şekil 4.3. Gümüşhane ilinden elde edilen propolis numunelerinin GC- MS sonuçları

**Çizelge 4.6.** Gümüşhane propolisinin kalitatif değerleri

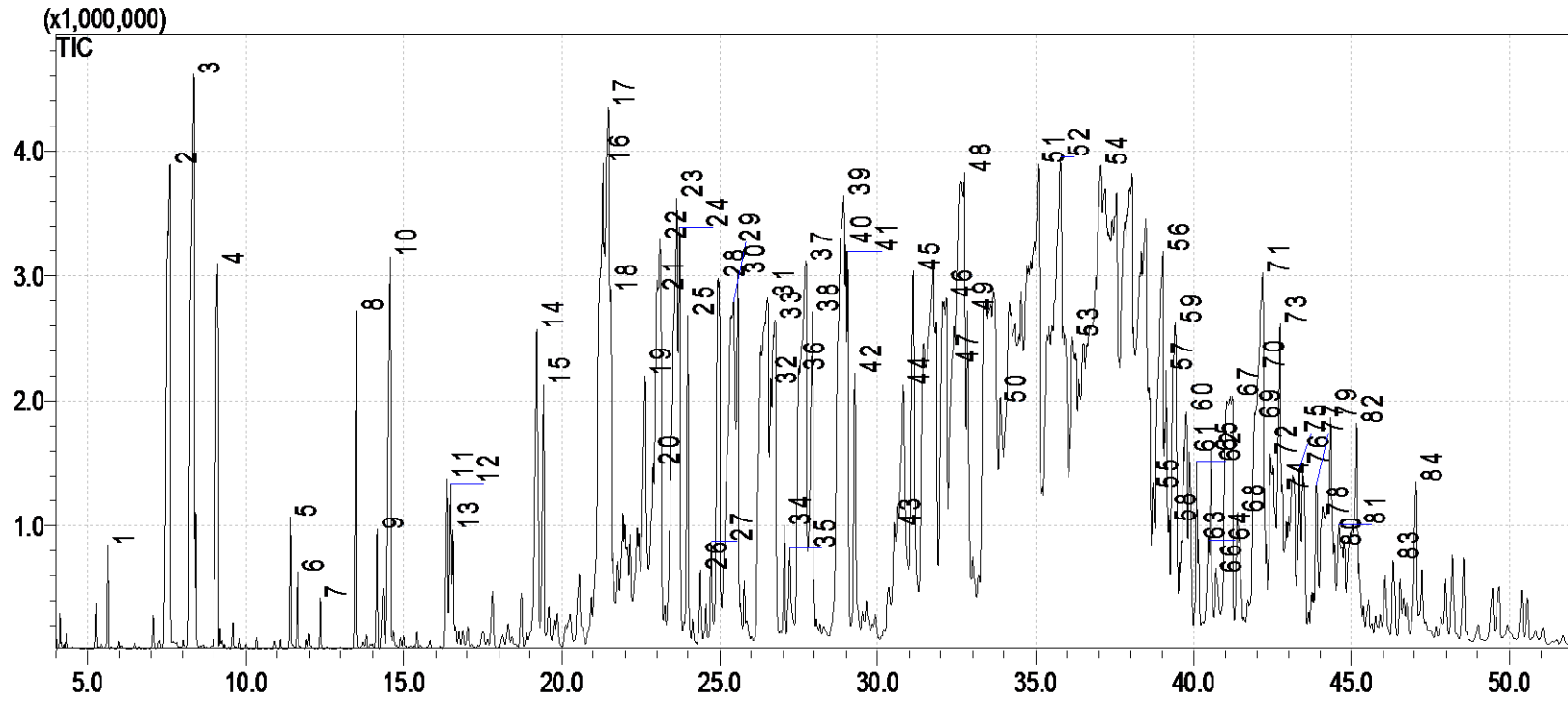
GÜMÜŞHANE PROPOLİSİ	Pik No	Ret Time(dak.)	% TIC
Esterler			
Butanedioic acid bis TMS ester	2	8.950	0.63
Cinnamic acid, p-methoxy TMS ester	5	21.042	0.33
1H-Indole	9	23.417	0.95
Cinnamic acid, 3,4-dimethoxy TMS ester	12	25.183	2, 33
Oleic acid TMS ester	17	28.692	0.59
Octadecanoic acid TMS ester	19	29.158	0.28
Hexadecanoic acid, 2,3- bis TMS ester	28	35.217	0.80
Organik ve Yağ asitleri			
2-Keto-D-Gluconic acid 5 TMS	6	21.150	3, 15
Keton ve Hidrokarbonlar			
3.7-Dioxa-2,8-disilanonane	1	8.158	3, 09
Silane	3	19.150	0.36
D-Fructose	7	21.317	2, 89
alfa- D-Glucopyranose	8	23.000	2, 09
Glucose 5TMS	11	24.900	2, 85
Sucrose-octa TMS	32	36.808	6, 55
Eicosamthyl cyclodecasiloxane	37	42.667	0.44
Alkol veTerpenler			
Farnesol 1TMS	18	28.900	0.78
Diğer Bileşikler			
Ferulic acid TMS ether	15	26.233	4, 13
1H-İmidazole-4-carboxamid	34	37.150	1, 75
1H-Purin-6-amine	36	40.858	0.33



Şekil 4.4. Muğla ilinden elde edilen propolis numunelerinin GC-MS sonuçları

Çizelge 4.7. Muğla propolisinin kalitatif değerleri

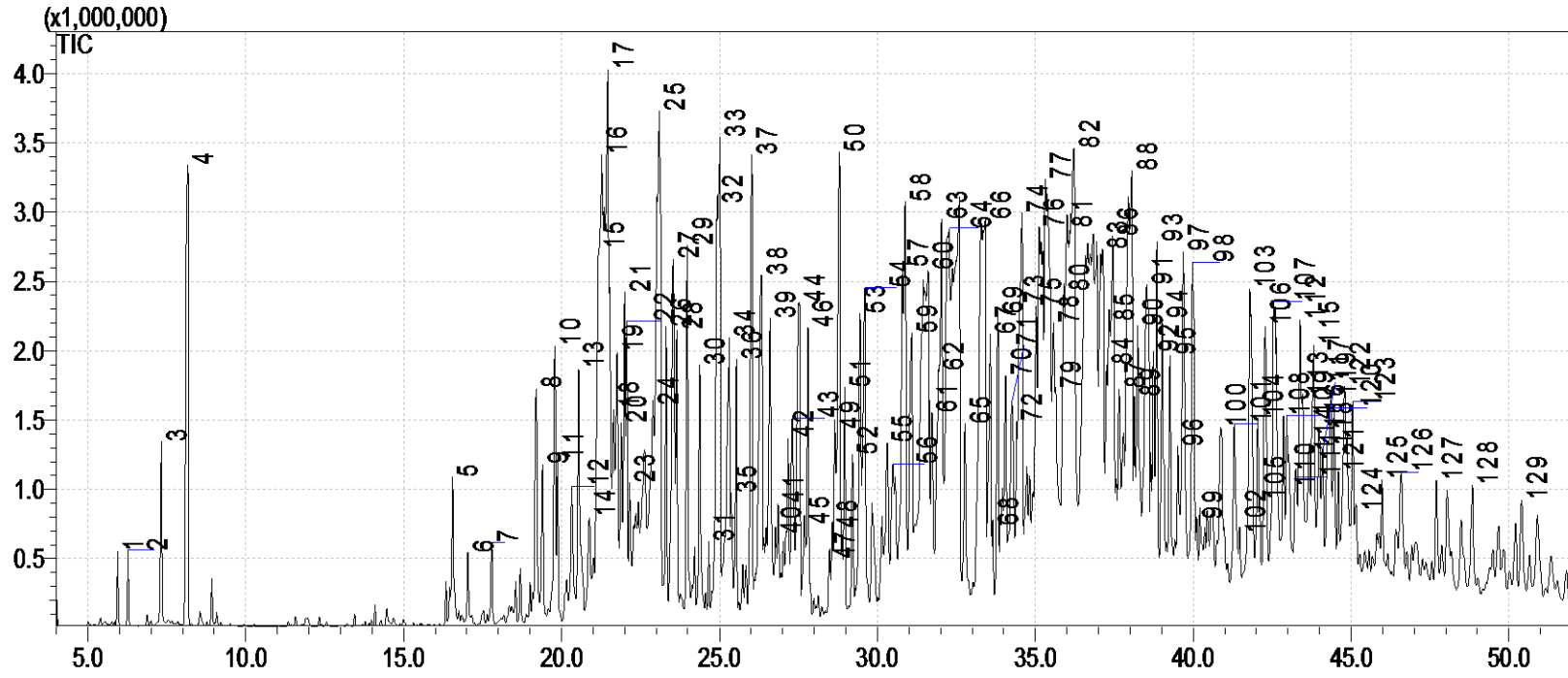
MUĞLA PROPOLİSİ	Pik No	Ret Time (dak.)	% TIC
Esterler			
Butanedioic acid bis TMS ester	4	8.783	1, 59
Benzenepropanoic acid TMS ester	6	11.250	0.07
Butanedioic acid TMS ester	9	13.408	0.63
2-propenoic acid TMS ester	11	14.433	0.93
Dodecanoic acid TMS ester	17	16.992	0.05
Cinnamic acid TMS ester	51	23.442	1, 27
Cinnamic acid, 3,4- dimethoxy TMS ester	60	25.175	1, 13
9H-Carbozole	61	25.308	0.04
Hexadecanoic acid TMS ester	62	25.450	0.66
9-Octadecenoic acid ethyl ester	75	27.733	0.66
Octadecenoic acid ethyl ester	78	28.192	0.05
Oleic acid TMS ester	81	28.708	1, 52
Octadecenoic acid TMS ester	83	29.150	0.61
Tetracosanoic acid TMS ester	147	38.758	0.11
Organik ve Yağ asitleri			
3-Hydroxycapric acid 2 TMS	8	12.267	0.09
Urocanic acid per-TMS	13	16.300	0.27
D-Glucuronic acid	58	24.692	0.09
Prosta-5,13-dien-1-oic acid	63	25.617	0.42
Benzyl cinnamate	67	26.375	0.10
9,12-octadecadienoic acid	80	28.583	0.64
Cinnamyl cinnamate	84	29.317	0.15
Abietic acid 1 TMS	96	30.992	1, 63
Dehydroabietic acid 1 TMS	103	31.892	1, 93
Lupeyl acetate	180	47.000	0.10
Methyl commate	182	47.683	0.20
Keton ve Hidrokarbonlar			
3,7-Dioxa-2,8-disilanonane	2	7.950	2, 22
Benzaldehyde	10	14.233	0.10
D-Ribopyranose	18	17.433	0.16
silane	21	18.675	0.18
2-Furanacetaldeyde	28	19.725	0.22
beta-DL-Arabinopyranose	32	20.308	0.18
Gulose	35	20.808	0.21
D-Fructose	37	21.175	3, 22
beta-D-Galactofuranose	42	22.000	0.23
Allose per TMS	48	23.000	2, 46
Arabinofuranose	57	24.500	0.17
Andostra-1,4-dien-3-one	109	32.667	0.73
O-Pentakis-Quercetin	169	43.867	0.21
Alkol ve Terpenler			
Silanol	3	8.467	0.12
A-Terpineol	5	8.933	0.10
Alfa-Bisabolol	19	17.758	0.65
Arabitol 5 TMS	22	18.967	0.05
D- glucitol	55	24.000	0.03
Diğer Bileşikler			
Tetradecanamide	47	22.825	1, 08
Ferulic acid TMS ether	49	23.125	0.07
Caffeic acid TMS ether	72	27.458	1, 38



Şekil 4.5. Ordu ilinden elde edilen propolis numunesinin GC-MS sonuçları

**Çizelge 4.8.** Ordu propolisinin kalitatif değerleri

ORDU PROPOLİSİ	Pik No	Ret Time (dak.)	% TIC
Esterler			
Butanedioic acid bis TMS ester	4	9.100	1, 62
Benzenepropanoic acid TMS ester	5	11.408	0.25
Dodecanoic acid TMS ester	7	12.350	0.09
Butanedioic acid TMS ester	8	13.500	0.96
2-Propenoic acid, 3-phenyl TMS ester	10	14.575	1, 68
Hexadecanoic acid ethyl ester	26	24.392	0.17
Cinnamii acid,3,4-dimethoxy TMS ester	29	25.442	3, 92
Hexadecanoic acid TMS ester	30	25.583	1, 01
9-Octadecenoic acid ethyl ester	38	27.925	1, 48
Oleic acid TMS ester	39	28.925	4, 61
Octadecanoic acid TMS ester	42	29.275	0.77
Eicosanoic acid TMS ester	49	32.842	0.87
Organik ve Yağ asitleri			
Urocanic acid per-TMS	11	16.375	0.53
Benzoik acid	13	16.550	0.21
2-Keto-D-Gluconic acid 5TMS	16	21.300	3, 38
Abietic ACİD 1TMS	45	31.125	1, 69
Dehydroabietic acid 1TMS	46	32.167	2, 69
Keton ve Hidrokarbonlar			
Silane	1	5.633	0.15
3,7-Dioxa-2,8-disilanonane	3	8.350	3, 86
D-Fructose	17	21.458	0.61
alfa-DL-Arabinopyranose	19	22.633	0.95
D-Mannopyranose	25	23.992	0.85
Galactopyranose	28	24.950	1, 95
Sucrose-octa TMS	54	37.058	0.36
Alkol ve Terpenler			
Silanol	2	7.592	2, 99
Erythritol per- TMS	9	14.158	0.28
Xylitol 5 TMS	21	23.000	1, 64
D-Glucitol	22	23.108	1, 56
Inositol	34	27.050	0.22
Diğer Bileşikler			
Ferulic acid TMS ether	31	26.517	4, 69
Caffeic acid TMS ether	36	27.492	2, 73



Şekil 4.6. Rize ilinden elde edilen propolis numunesinin GC-MS sonuçları

**Çizelge 4.9.** Rize propolisinin kalitatif değerleri

RİZE PROPOLİSİ	Pik No	Ret Time (dak.)	% TIC
Esterler			
Cinnamic acid TMS ester	27	23.533	1, 57
Cinnamic acid,3,4-dimethoxy TMS ester	34	25.308	0.80
Hexadecanoic acid TMS ester	36	25.533	0.50
9-Octadecenoic acid ethyl ester	46	27.800	0.61
Oleic acid TMS ester	50	28.800	1, 71
Octadecanoic acid TMS ester	52	29.208	0.36
Organik ve Yağ asitleri			
Benzoic acid	5	16.550	0.30
2-Keto-D-Gluconic acid 5TMS	16	21.275	1, 27
Eicosanoic acid	109	42.958	0.42
Lupeyl acetate	128	48.842	0.34
Keton ve Hidrokarbonlar			
Disilaneonadecane	1	5.942	0.13
Butane	2	6.267	0.13
Mannose	6	16.550	0.30
2-Furanacetaldehyde	8	19.192	0.70
Silane	9	19.392	0.39
Dihydroxyacetone	12	20.325	0.30
Arabinofuranose	13	20.542	0.52
Gulose	14	20.875	0.26
D-Fructose	17	21.467	3, 86
Glucuronic lactone	18	21.642	0.56
Glucoyranose	20	21.892	0.40
Glucofuranoside	21	21.992	0.71
L-Altrose	22	22.058	0.50
Fructose 5TMS	23	21.158	2, 19
D-Galactose	25	23.092	2, 73
D-Glucose	32	24.917	1, 95
Sucrose octaTMS	75	35.025	0.53
Maltose octa TMS	84	37.250	0.30
Alkol ve Terpenler			
Silanol	3	7.325	0.38
Alfa Bisbolol	7	17.783	0.16
Inositol	30	24.375	0.67
D-Glucitol	31	24.658	0.12
Farnesol	43	27.292	0.57
2,3-Butandiol	89	38.133	0.24
Diğer Bileşikler			
Ferulic acid TMS ether	38	26.333	1, 44
Caffeic acid TMS ether	44	27.517	1, 44



## 5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, bal arılarının bal, polen, arı sütü gibi ürettiği ve kendi işleri için kullandığı aynı zamanda birçok dünya ülkesinde ekonomik değeri olan doğal bir madde olan propolisin ülkemizde de değerlendirilmesine farklı bir çalışma yönüyle katkı sağlamaktır. Propolisin içeriği, o bölgedeki floranın çeşitliliğine bağlı olarak değişir. Bu nedenle, Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki, yani değişik floralarından elde edilen, propolis numunelerinin, antimikrobiyal, antitoksidan ve kimyasal kompozisyonunu incelemeyi amaçladık ve kayda değer sonuçlar aldık. Fakat alınan bu sonuçlar ve yapılan bu çalışmalar daha ileri düzeyde özellikle antiviral yönünden incelenmelerle genişletilmelidir. Bununla beraber ülkemiz bal üretimi bakımından dünyada önde gelen ülkelerden bir tanesidir fakat aynı şekilde diğer arı ürünlerinin arı sütü, polen ve propolisin değerlendirilmesi ve üretimi açısından bu başarı görülmemektedir. Bu çalışmayla propolisin içerdiği madde veya maddelerden dolayı bir antiviral özelliğinin olup olmadığı ve propolisin bu alanda da bir ilaç hammadresi olarak değerlendirilmesi bundan sonraki çalışmalarda yapılmalıdır. Propolis belirli ölçülerde çeşitli çalışmalarla değerlendirilme yoluna gidilecektir. Bu çalışma ve diğer yapılan çalışmalar ile Türkiye'de propolis kullanım alanlarının artmasıyla üretimin daha da önem kazanması, bilinçli yapılması ve bu alanda yeni teknolojilerin geliştirilmesiyle daha etkili ürünlerin elde edilmesi sağlanabilir. Ülkemizde yetiştirilen her ürün gibi bundan böyle ekonomik değeri olan ve boş yere atılan bu doğal üründe değerlendirilmelidir.

Dünyada çok önemli bir bal üretim merkezi olarak görülmemize karşın maalesef diğer arı ürünlerinde bu başarıdan söz etmek mümkün değildir. Ülkemizde bu ürünün daha çok göz önüne çıkarılması için kesinlikle bilimsel çalışmaların artması gereklidir.

Propolis insan sağlığı açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Propolis hem geleneksel hem de modern hekimlikte kullanılan doğal bir antibiyotiktir. Günümüzde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve hastalık etmenlerinin bu ilaçlara karşı direnç kazanması insanları doğal ilaç olarak bilinen ürünlerin tüketimine yönlendirmiştir. Propolis tıbbi bitkilerden üretilen ürünlerden farklı olarak olağanüstü değişken bir yapı göstermektedir. Bu açıdan da bakıldığında propolisin kullanılmasını yaygınlaştırmalıyız.

## 6.KAYNAKLAR

- Aliyazicioglu, R., Guven, S., Mentese, A., 2011. Serum Anti-Carbonic Anhydrase II Antibodies and Oxidant-Antioxidant Balance in Pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*, Bucharest, Romania, 142.
- Ames, B.M., Shingenaga. M.K., Hagen. T.M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc Natl Acad Sci, USA* 90; 7915-22.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., 2004. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, *J Agric Food Chem*, 52, 7970-7981.
- Bankova, V.S., Popov, S.S., Marekov, N.L., 1982. High performance liquid chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *J Chromatogr*, 242, 135-143.
- Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S., Marekov, N., 1987. GC-MS study of the propolis phenolic constituents. *Z Naturforsch*, 42, 147-151.
- Bankova, V., Marcucci, M., Castro, S., 2000. Propolis recent advances in chemistry and plant origin, *Apidologie*, 31, 3-15.
- Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S., 1992. Propolis produces in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. *Apidologie*, 23, 79-85.
- Bonvehi, S. J., Coll, F., Jord, R., 1994. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian própolis, *Biosci Biotechnol Biochem Z. Naturforsch*, 58: 945-946.
- 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. *Fitoterapla*, 73(1), 53-63.
- Burdock, G.A., 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol*, 36, 347-63.
- Brumfitt, W., Hamiton-Miller, J.T.M., Franklin, I., 1990. Antibiotic activity of natural products: 1. Propolis. *Microbios*, 62, 19-92.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbial Rev*, 12, 564-82.
- Cuellár, A.C., Hernández, N.M.R., Pérez, J.M., 1990. Nueva estructura antimikrobiana del propóleo colectado en Cuba. *Rev Cubana Farm*, 24, 51-58

- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., Dyatmiko W., 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80 (4).
- Cushine, T.P.T., Lamb, A.L., 2005. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *J ethnopharmacol*, 101, 243-8.
- Crane, E., 1988. *Beekeeping: Science, Practice and World Recourses*. Heinemann, London.
- Davis, P.H. (Eds.) Mill, R.R., Tan, K., 1988. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Suppl., Vol. 10*, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Deblock-Bostyn, G., 1982. L' Albeille et ses produits. *Bull soc Pharm Lille*, 38, 181-203.
- Debuyser, E., 1983. *La propolis. Docteur en Pharmacie Thesis, Université de Nantes, France*, 82 pp.
- Diplock, A.T., Rice, C.A., Burdon, R.H., 1994. Is there a significant role for lipid peroxidation in the causation of malignancy and for antioxidants in cancer prevention. *Cancer Res*, 54, 1952-6.
- Dimov, V., Ivanovska, N., Bankova, V., Nikolov, N., Popov, S., 1991. Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function. *Apidologie*, 22, 155-162.
- Dobrowolski, J.W., Vohora, S.B., Sharma, K., Shah, S.A., Naqvi, S.A.H., Dandiya, P.C., 1991. Antibacterial, antifungal antimoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J ethnopharmacol*, 35, 77-82.
- Ertürk, Ö., 2006. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia*, 61(3), 275-278.
- Gargia-Viguera, C., Ferreres, F., Tomás-Berberán, F.A., 1993. Study of Canadian propolis by GS-MS and HPLC. *Z Naturforsch*, 48C, 731-735.
- Ghisalberti, E.I., Jefferies, P.R., Lanteri, R., Matisons, J., 1978. Constituents of propolis. *Experientia*, 34, 157-158.
- Ghisalberti, E.I., 1979. Propolis: a review. *Bee World*, 60, 59-84.
- Greenaway, W., Scaysbrook, T., Whatley, F.R., 1990. The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. *Bee World*, 71, 107-118.

- Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B., 1994. Free radicals antioxidants in aging and disease; fact or fantasy. In; Gutteridge JMC, Halliwell B, editors. Antioxidants in nutrition, healthy, and disease. Oxford, U.K: Oxford Univ Press, p 111-35.
- Hamdy, M.H., El- Banby, M.A., Khakifa, K.L., Gad, E.M., Hassanein, E.M., 1989. The Antimicrobial Effect of Honey in The Management of septic wounds, Forut International Conferance on Apiculture in Tronical Climates, Cairo, International Bee Research Association, London, 61-67.
- Holopainen, M., Jabordar, L., Seppanen-Laukso, T., Laakso, I., Kauppinen, V. 1988. Antimicrobial Activity of Some Finnish Ericaceous plants, Acta Pharmaceutia Fennica, 97, 197-20.
- ([http://www.sayallar.com/polonen\\_web/propolis.htm](http://www.sayallar.com/polonen_web/propolis.htm), 01.Ekim.2010).
- Kawai, Y., Konishi, H., 1987. Antimicrobiyal activity of propolis and its application to cosmetics. Frangrance J, 15, 29-33 (in Japanese).
- Kujumgiev, A., Bankova, V., Ignatova, A., Popov, S., 1993. Antibacterial activity of propolis, some of its components and their analogs. Pharmazie, 48,785-786.
- Kumova, U., Korkmaz, A., 2002. Önemli bir arı ürünü ‘Propolis’. Uludag Bee Journal, 11-22.
- Langoni, H., Domingues, P.F., Funari, S.R.C, Chande, C.G., Neves, I.R., Listoni, F.J.P. 1994. *Prototheca zopfii* as mastitis in cows agent. Clinical and therapeutical trials. Proc IV Iberolatinamerican Meeting Apic, Ministerio de Agricultura, Ganaderia y Recursos Renovables, Rio Cuarto, Argentina, 219-221 (in Portuguese).
- La Torre, A., Guccione, M., Imbroglini, G., 1990. Indagine preliminare sull azione di prepariti a base di propoli nei confronti di *Botytis cinerea* Pers della fragola Apicoltura, 6,169-177.
- Lisa. M., Leifertova, I., Baloun, J., 1989. Fungistatic effect of propolis. Folia Pharm Univ Carol, 13,29-44; Chem Abstr (1991) 114,225558K.
- Marcucci, M.C., Salatino, M.L.F., Salatino, A., Lopes, C.M.A., 1994. Chemical and biological studies of Brazilian propolis. Proc IV Iberolatinamerican Meeting Apic, Ministerio de Agricultura, Ganaderia y Recursos Renovables, Rio Curato, Argentina, 193-196 (in Portuguese).
- Marcucci, M.C., Ferreres, F., Garc a-Viguera, C., Bankova, V.S., De Castro, S.L., Dantas, A.P., Valente, P.H.M., Paulino, N., 2001. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. J Ethnopharmacol, 74, 105-12.

- Millet-Clerc, J., Michel, D., Simeray, J., Chaumont, J.P., 1987. Étude préliminaire des propriétés fongistatiques de la propolis comparées à celles de quelques produits commerciaux. *Plant Med Phytother*, 21, 3-7.
- Meresta, L., Meresta, T., 1985/1986. Antibacterial activity of flavonoid compounds of propolis, occurring in Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pualawy*, 28-29, (1-4), 61-63.
- Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H., Suzuki, N., 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly and propoli. *Food Chem*, 75, 237-40.
- Nagy, E., Pápay, V., Litkei, G., Dinya, Z., 1985. Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoids components of propolis and *Populi gemma* by the GC/MS method. In: *Flavonoids and Bioflavonoids* (L Farkas, M Gábor, F Kallay, eds), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 233-240.
- Nair, M.K.M., Vasudevan P., Venkitanarayanan, K., 2005. Antibacterial Effect of Black Seed Oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 16, 395-398.
- Nostro, A., Germano, M.P., D'Angelo, V., Marino, A., Canatelli, M.A., 2000. Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity. *Letters in Applied Microbiology*, 30, 379-384.
- Okenenko, L.B., 1988 *Salmonella* infections and propolis. *Zdravookhr Kaz*, 1, 55-57 (in Russian).
- Pápay, V., Soltész, M., 1985. Pharmacological activities of fractions and isolated compounds of Hungarian propolis and *Populli gemma*. *Proc30th int Congr Apiculture Nagoya, Japan, Apimodia, Bucharest, Romania*, 465-468.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Abreu, J.A.S., Ikegaki, M., Cury, J.A., Rosalen, P.L., 1998. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Current Microbiology*, 36, 24-28.
- Pepelinjak, S., Jalsenjak, I., Maysinger, D., 1981. influence of microencapsulated propolis extract on *Bacillus subtilis* strain IP-5832. *Acta Pharm Jugosi*, 31, 27-32.
- Pepelinjak, S., Jalsenjak, I., Maysinger, D., 1982 Growth inhibition of *Bacillus subtilis* and composition of various propolis extracts. *Pharmazie*, 37, 884-885.
- Popova, M., Silici, S., Kaftanoğlu, O., Bankova, V., 2005. Antibacterial Activity of Turkish Propolis And Its Qualitative And Quantitative Chemical Composition, *Phytomedicine*, 12, 221-228,
- Rosenthal, C., Tamarin, R., Samish, S., Elad, D., 1989. Demonstration on the inhibitory effect of propolis on microbial strains, *Proc XXXIInd Int Congr Apiculture Rio Janeiro, Brazil, Apimondia, Bucharest, Romania*, 224.

- Silici, S., Kutluca, S., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 69-73.
- Silici, S., 2003. Propolisin bazı antimikrobiyal ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Ana bilim dalı, Adana, 86, 69-73.
- Slinkard, K., Singleton, V.L., 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
- Soboleva, V.A., Kholupyak, I.Y., Kabachnyi, G.I., Vysochanskya, N., Rogozhin, B.A., 1990. Comparison of the antibacterial and antiinflammatory activities of soft dosage forms with different bases. *Farm Zh (Kiev)*, 5, 68-69 (in Ukrainian).
- Sorkun, K., 2001. Determination of chemical composition of turkish propolis. *Z. Naturforsch* 56c, 666-668.
- Tóth, L., Pápay, Y., 1987. Propolis and its medicinal properties. *Egész Munka*, 34, 325- 329 (in Hungarian).
- Valdez, Gonzales, G., Hernandez, N.M.R., Vera, C.M., 1985. Estudio comparativo de la acción antimikrobiana del propóleos con antibióticos y desinfectantes convencionales. *Cienc Tec Agric, Apiculture*, 1, 23-36.
- Vanden, Berghe, D.A., Vlietinck, A.J., Van, Hoof, L., 1996. Plant products as potential antiviral agents. *Bull Inst Pasteur*, 84, 101-147.
- Vanhaelen, M., Vanhaelen-Fastré, R., 1979. Propolis II. Identification par chromatographies haute-performance (liquide, gas-liquide et sur couches minces) des constituants. *Bioautographie des chormatogrammes des composés antibactériens. J Pharm Belg*, 34, 317-328.
- Ventura, Coll, F., Bonvehi, J.S., Jordá, R.E., 1993. Propriedades fisico-químicas, composición y actividades bacteriostáticas de los propóleos producidos en China en el ámbito dietético. *Proc 33 rd int Congr Apiculture Beijing, China*,
- Woisky, R.G., Geisbretch, A., Salatino, A., 1994. Antibacteriyal activity of a formulation prepared with propolis from *A mellifera* L. *Proc IV Iberolatinamerican Meeting Apic, Ministerio de Agriculture, Ganderia y Recursos Reovables, Rio Cuarto, Argentina*, 30, 19-21 (in Portuguese).

**ÖZGEÇMİŞ****Genel Bilgiler**

Adı Soyadı : Ceren YAVUZ  
Doğum Yeri : Kelkit/ GÜMÜŞHANE  
Doğum Tarihi : 08.07.1985  
Medeni Hali : Bekar  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

**Eğitim Durumu**

Lise : İzmir Nevvar Salih İşgören Lisesi(2000-2003)  
Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ordu Fen- Edebiyat  
Fakültesi (2004-2008)  
Vekil Öğretmenlik : Urla Avni Kaya Kokucu İlköğretim okulu ve Balıklıova  
İlköğretim okulu Fen ve Teknoloji Öğretmenliği (2008-2009)  
Yüksek Lisans : Ordu Üniversitesi (2009-2011)

**İletişim Bilgileri**

Tel Cep : 0 533 232 83 21  
e-mail : cerennyavuz@hotmail.com