



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**TÜRK PROPOLİSİNİN TİCARİ BİTKİSEL
YAĞLARDA
ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN İNCELENMESİ**

SİBEL KARAKAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Orhan DEĞER

TRABZON-2012

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

19-05-2012

"Sibel KARAKAŞ"

İthaf

Bu yüksek lisans tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan biricik anneme, babama, babaanneme, canım kardeşlerime, her zaman her konuda bana destek olan sevgili eşime ve kızıma ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her zaman desteğini gördüğüm, özellikle bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi ve sonuçların değerlendirilmesi aşamalarında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı öncelikle tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER' e, bilgilerinden faydalandığım ana bilim dalımızın saygıdeğer hocaları Prof. Dr. E. Edip KEHA, Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Doç Dr. Birgül KURAL, Doç. Dr. Ahmet ALVER ve Yrd. Doç. Dr. Fulya B. YÜCESAN' a, yüksek lisans eğitimim süresinde vefat eden değerli hocam Prof. Dr. Ekin ÖNDER' e, tez çalışmamın yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi konusu dahil hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Tuğba Nigar ÇAKIROĞLU' na, malzeme temininde yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Selim DEMİR, Arş. Gör. Ayşegül U. SÜMER ve Yrd. Doç. Ahmet MENTEŞE' ye, katkılarından dolayı Arş. Gör. Diler US' a, her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalındaki bütün arkadaşlarıma, ayrıca her zaman ve her yerde beni destekleyerek bugünlere gelmemi sağlayan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan canım aileme, yüksek lisans yapmam konusu dahil olmak üzere her daim beni destekleyerek gücüme güç katan sevgili eşime ve biricik kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Biyolog Sibel KARAKAŞ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç kapak sayfası	
KABUL VE ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER, FORMÜLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1 Propolis	7
4.1.1 Propolisin Fiziksel Özellikleri ve Muhafaza Koşulları	8
4.1.2 Propolisin Kimyasal Özellikleri ve İçeriği	9
4.1.3 Propolisin Farklı Çözücülerde Ekstraksiyonları	18
4.1.4 Propolis Örneklerinde Belirlenen Bileşik Grupları	19
4.1.5 Propolisin Biyolojik Etkileri	23
4.2 Yağlar ve özellikleri	27

4.2.1 Zeytin Yağı ve Özellikleri	29
4.2.2 Ayçiçek Yağı ve Özellikleri	31
4.2.3 Mısır Yağı ve Özellikleri	32
4.2.4 Fındık Yağı ve Özellikleri	33
5. GEREÇ VE YÖNTEM	35
5.1 Gereçler	35
5.1.1 Araştırmanın Özellikleri	35
5.1.2 Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	35
5.1.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
5.2 Yöntemler	36
5.2.1 Propolis Örneklerinin ve Yağların Temini	36
5.2.2 Propolis Ekstraktlarının Hazırlanması	36
5.2.3 Ekstraktlarda Toplam Polifenol Miktarının Belirlenmesi	37
5.2.4 Ekstraktlarda Toplam Flavonoid İçerik Tayini	41
5.2.5 Ekstraktlarda Demir (Fe⁺³) İndirgeyici Güç Tayini	44
5.2.6 İstatistiksel Analiz	48
6. BULGULAR	49
6.1 Ekstraktlarda Toplam Polifenol İçerik Tayini Sonuçları	49
6.2 Ekstraktlarda Toplam Flavonoid İçerik Tayini Sonuçları	50
6.3 Ekstraktlarda Demir (Fe⁺³) İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları	51
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	52
8. SONUÇLAR	62

8.1 Sonuçlar	62
8.2 neriler	63
9. KAYNAKLAR	64
10. ÖZGEÇMİŞ	72

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Propoliste bulunan temel bileşenler	10
Tablo 2. Propolisin içeriğinin iklim, coğrafik yerleşim ve bitki örtüsüne göre değişimi	11
Tablo 3. Propolisin kimyasal bileşenleri	13
Tablo 4. Propolis ekstraksiyonu için kullanılan çözücüler ve elde edilen bileşenler	18
Tablo 5. Propoliste bulunan bazı flavonoid ve fenolik bileşikler	19
Tablo 6. Propolisin içeriğinde bulunan flavonoid türleri	21
Tablo 7. Propolisin yapısında bulunan bileşiklerin biyolojik aktiviteleri	25
Tablo 8. Çalışmada kullandığımız sıvı yağların içerdikleri yağ asidi çeşidine göre sınıflandırılması	27
Tablo 9. Zeytin yağının özellikleri	29
Tablo 10. Zeytin yağının yağ asidi bileşimi	30
Tablo 11. Ayçiçek yağının özellikleri	31
Tablo 12. Ayçiçek yağındaki yağ asitlerinin dağılımı	32
Tablo 13. Mısır yağının karakteristik özellikleri	32
Tablo 14. Mısır yağının yağ asidi bileşimi	33
Tablo 15. Fındık yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri	33
Tablo 16. Fındık yağının yağ asidi bileşimi	34
Tablo 17. Propolisin ayçiçek yağlı, fındık yağlı, mısır yağlı ve zeytin yağlı ekstraktlarında toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi	38
Tablo 18. Propolisin ayçiçek yağlı, fındık yağlı, mısır yağlı ve zeytin yağlı ekstraktlarında toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi	42
Tablo 19. Propolisin ayçiçek yağlı, fındık yağlı, mısır yağlı ve zeytin yağlı ekstraktlarında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Çalışmada kullanılan propolis örnekleri	7
Şekil 2. Flavonoidlerin yapısı	21
Şekil 3. Önemli bazı flavonoidlerin kimyasal yapıları	22
Şekil 4. Eser metallerin bağlanması durumu	23
Şekil 5. Yağ ekstraktlarının toplam fenol içeriği	28
Şekil 6. Hazırlanan yağlı propolis ekstraktlarının faz ayrımı yapılmadan önce etanol ve DMSO' lu propolis ekstraktları ile yanyana görüntüleri	37
Şekil 7. Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında toplam polifenol içerik tayini için gallik asit standart grafiği	39
Şekil 8. Metanol-Propolis ekstraktında toplam polifenol içerik tayini için gallik asit standart grafiği	40
Şekil 9. Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında toplam flavonoid içerik tayini için standart grafiği	42
Şekil 10. Metanol-propolis ekstraktında toplam flavonoid içerik tayini için kuersetin standart grafiği	43
Şekil 11. Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troloks standart grafiği	46
Şekil 12. Metanol-propolis ekstraktında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troloks standart grafiği	47
Şekil 13. Propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik (Ortalama $\pm$ SD mg GA / g propolis)	49
Şekil 14. Propolisin ayçiçek yağlı, fındık yağlı, mısır yağlı ve zeytin yağlı ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik (Ortalama $\pm$ SD mg K / g propolis)	50

Şekil 15. Propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktlarındaki demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç (Ortalama $\pm$ SD mg T / g propolis) 51

KISALTMA, SİMGE VE FORMÜLLERİN DİZİNİ

Kısaltmalar

AY	Ayçiçek yağı
Hb	Hemoglobin
HCT	Hematokrit
5-FU	5-Florourasil
CAPE	Kafeik asit fenetil ester
DMSO	Dimetil sülfoksit
EEP70	Propolis % 70 lik etanol ekstraktı
FY	Fındık yağı
HL-60	İnsan promyelositik lösemi hücreleri
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
KML-562	Kronik myelositer lösemi hücreleri
MDAMB-435	Melanom hücre serileri
MY	Mısır yağı
ODEP	Propolis yağ ekstraktı
PC-3	Prostat kanseri hücre serileri
PMA	Forbol 12-miristat-13-asetat (phorbol 12-myristate-13-acetate)
PMN	Polimorfo nüklear
SF-295	Glioblastoma hücre serileri
TEAC	Trolox Eguivalent Antioxidant Capacity
VGSC	Voltaj kapılı sodyum kanalları

vb. Ve Benzeri

ZY Zeytin yağı

Simgeler

cP Viskozite

Fe Demir

g Gram

meq/kg Miliequivalent / Kilogram

Mg Magnezyum

mg Miligram

µg Mikrogram

µl Mikrolitre

ml Mililitre

Formüller

Al(NO₃)₃ Alüminyum nitrat

CH₃OH Metanol (Metil alkol, karbinol)

FeCl₃ Demir (III) klorür

H₂O₂ Hidrojen peroksit

H₃P[W₃O₁₀]₄ Fosfotungstik asit

KCH₃COO Potasyum asetat

K₃Fe(CN)₆ Potasyum hekzasiyanoferrat(III)

MTT 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür

Na₂CO₃ Sodyum karbonat

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Disodyum hidrojen fosfat dihidrat

TCA Trikloroasetik asit

1.ÖZET

Türk Propolisinin Ticari Bitkisel Yağlarda Çözünürlüğünün İncelenmesi

Propolis, bal arıları tarafından toplanan reçinemsî bir maddedir. Flavonoidler gibi, fenolik bileşikler propolisin biyolojik aktivitesinden başlıca sorumlu yapılardır. Farklı yapısal özelliklere sahip olan flavonoidler, biyolojik aktivitelerinde önemli çeşitlilikler gösterirler. Propolis ham halde kullanılamaz, bu nedenle çözücülerle yapılan ekstraksiyon ile saflaştırılmalıdır. Farklı çözücüler, farklı bileşenleri çözüp ekstrakte edeceği için propolis ekstraksiyon metodları, propolisin aktivitesini etkileyebilmektedir. İlaç ve kozmetik sanayinde propolis etanol, gliserol, propilen glikol ve yağ olarak dört tip çözücü ile hazırlanarak kullanılır. Yenilebilir bitkisel yağlar, trigliseridler ve yağ asitlerinin propolis için ekstraksiyon çözücüleri olarak kullanılabileceği belirtilmiştir, fakat propolisin yağ ekstraktlarının kimyasal kompozisyonu ve biyolojik aktivitesi ile ilgili veriler çok azdır. Bu çalışmada, çeşitli bölgelerden toplanan Türk propolisinin, Türkiye’de ağırlıklı olarak kullanılan bazı bitkisel yağlar ile ekstraktları hazırlanarak toplam polifenol içerik, toplam flavonoid içerik ve demir indirgeyici güç tayinleri yapılarak, propolisin hangi yağ çeşidinde en iyi çözüldüğünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Propolisi ekstrakte etmek için ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı olmak üzere dört çeşit bitkisel yağ seçilmiştir. Çalışmanın sonucunda propolisin en iyi zeytin yağı içinde çözüldüğü, daha sonra sırasıyla mısır yağı, fındık yağı ve ayçiçek yağında çözüldüğü sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Ayçiçek yağı, ekstraksiyon, fındık yağı, flavonoid, metanol, mısır yağı, polifenol, zeytin yağı

2.SUMMARY

Investigation of Solubility of Turkish Propolis in Commercially Vegetable Oils

Propolis is a resinous substance obtained by honey bees. Phenolic substances including flavonoids are responsible structures from biological activity of propolis. Flavonoids having different structural properties show important diversities for their biologic activities. Propolis are not used as a raw material, therefore it should be purified by extraction with various solvents. Extraction methods for propolis may affect activity of propolis, because different solvents extract different compounds. Propolis are used in drug and cosmetic industries by preparing four types of solvents including ethanol, glycerol, propylene glycol and oil. Edible vegetable oils, triglycerides and fatty acids, were suggested as extraction solvents for propolis. Unfortunately, data about chemical composition and biological activities of propolis oil extracts are few. In the present study, extracts of propolis with edible vegetable oils used in Turkey were prepared, determinations of total polyphenolics, total flavonoids and ferric reducing equivalents were carried out. Major aim was to establish how propolis may be solved the best by oils. Four vegetable oils including sun flower oil, hazelnut oil, corn oil and olive oil were chosen for extraction of propolis. It was concluded that propolis was solved the best in olive oil, and in turn in corn, hazelnut and sunflower oils.

Key words: Sun flower oil, extraction, hazelnut oil, flavonoid, methanol, corn oil, polyphenol, olive oil

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera* L.) ağaç kabuklarından, bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından toplayarak arka bacaklarındaki polen sepetçiklerinde biriktirdiği reçinemsî maddeleri ve bitki öz sularını, baş kısımlarında bulunan salgı bezlerinden salgılanan birtakım enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak balmumu ile karıştırarak kovan içerisinde oluşturdıkları reçinemsî yapışkan, keskin ve güzel kokulu organik bir üründür (1).

Propolis, Eski Yunan'da pro (ön, giriş) ve polis (şehir) kelimelerinin birleşmesinden oluşmakta ve bal arılarının kovan savunması anlamına gelmektedir. Propolis üretmek için arılar, bitkiler tarafından aktif olarak salgılanan maddeleri veya bitkilerin yaralarından sızan maddeleri (yapraklar üzerindeki lipofilik maddeler, müsilajlar, zamklar, reçineler ve lateksler vb.) kullanabilir. Bu madde toplanır toplanmaz tükürük ve enzim salgıları ile zenginleştirilir ve arılar tarafından kovan duvarlarını kaplamak, boşluk ve çatlakları doldurmak ve öldürülen istilacı böceklerin mumyalanmasında kullanılır (2).

Propolis, çok eski zamanlardan beri yoğun olarak kullanılan doğal bir ilaçtır. Mısırlılar, propolisin çok iyi anti-çürük özelliği olduğunu bilmiş ve kadvraları mumyalamak için kullanmışlardır. Propolisin tıbbi özellikleri, Yunan ve Romalı hekimler; Aristoteles, Dioscorides, Pliny and Galen tarafından kabul edilmiştir. İlaç, yara tedavisinde antiseptik ve sikatrizan olarak ve ağız dezenfektanı olarak Ortaçağda ve Arap hekimler arasında sürekli kullanılmıştır. İlaç 17. ve 20. yüzyıl arasında anti-bakteriyel aktivitesi nedeniyle Avrupa'da çok popüler olmuştur (2). Günümüzde ilaç olarak kullanılmasının yanı sıra besin desteği olarak da kullanılmaktadır (3).

Propolisin kaynağını oluşturan bitkiler; kavak (*Populus* spp.), kayın (*Fagus sylvatica*), huş (*Betula alba*), kestane (*Castanea sativa*), atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*), akçaağaç (*Alnus glutinosa*) ve çeşitli koniferlerdir (4).

Propolis üzerinde yapılan çalışmalar, bu maddenin birçok antimikrobiyal özellikler taşıdığını, aynı zamanda insan sağlığı için çok önemli ve gerekli olan vitaminler, mineraller ve elementler ihtiva ettiğini göstermiştir. B1, B2, C ve E vitaminleri ile bakır, kalsiyum, alüminyum, stronsiyum ve vanadium elementlerinin de bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca miristik asit, benzoik asit, benzil alkol, kafeik asit,

vanilin, sinnamik asit, acacetin, kamferid ve izovanilin gibi kimyasal bileşiklerinde bulunduğu tespit edilmiştir (5).

Propolis toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi, propolisin kimyasal yapısını belirlemektedir. Rengi, kokusu ve tıbbi karakteristikleri, sezona ve kaynağa bağılı olarak değişebilmektedir (6).

Geleneksel hekimlikte yaygın olarak kullanılan propolis içeriğı ile mumsu ve reçinemsı madde oranlarının toplandığı bölge ve bitki türüne bağılı olarak değişmesi, sentetik üretiminin imkansızlığı ve patent sorunu gibi sebeplerden dolayı modern tıpta ilaç firmaları tarafından pek tercih edilmemiştir (7). Ancak son yıllarda sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve bu hastalık etmenlerinin ilaçlara karşı dayanıklı hale gelmesi sonucu insanlar yeniden doğal ilaçlara eğilim göstermektedir (7, 8). Bu yönüyle arı ürünleri tıbbın alternatifi değil destekçisi veya tamamlayıcısı olarak önem kazanmaktadır (8).

Günümüzde propolisten üretilen kapsül veya tabletler, çiğnemek ya da içmek için hazırlanmış granül, boğaz pastilleri, sakız gibi ürünleri piyasada bulmak mümkündür. Esmer Dağ Kafkas arıları gibi bazı arı ırklarının propolisi diğer arı ırklarına göre daha aktif topladıkları tespit edilmiştir. Propolisin yoğun olarak toplandığı mevsim, bölgeden bölgeye değişmektedir. Örneğin; İtalya’da bahar ve yaz aylarında, Avrupa’da yaz ortası ve sonbaharda, ülkemizde ise Ege bölgesinde Mart ayında, Orta ve Doğu Anadolu’da Ağustos ve Eylül aylarında toplandığı bildirilmektedir (5).

Propolis antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antitümör, anestezi, sitostatik etki, immünomodülatör, hepatokuruyucu, antimutajenik ve antibiyotik vb. özelliklere sahiptir.(1)

Türk propolisinin antibakteriyel (9), antifungal (10), antioksidan (11), antikarsinojenik (12) gibi çok sayıda biyolojik aktivitesi gösterilmiştir.

Propolis, bal arıları tarafından toplanan reçinemsı bir maddedir ve % 50 reçine (flavonoidler ve fenolik asit türevlerini içeren), % 30 mum, % 10 esansiyel yağlar, % 5 polen ve % 5 değişik organik bileşiklerden oluşmaktadır. Propolis ham halde kullanılamaz. Bu nedenle çözücülerle yapılan ekstraksiyon ile saflaştırılmalıdır. Bu ekstraksiyon sürecinde inert maddeler uzaklaştırılmalı, yararlı etkileri propolisin diğer bileşenlerinden çok daha fazla olan polifenolik kısımlar ise korunmalıdır (13).

Farklı çözücüler, farklı bileşenleri çözüp ekstrakte edeceği için propolis ekstraksiyon metodları, propolisin aktivitesini etkileyebilmektedir. Biyolojik ölçümlerde çok daha yaygın olarak kullanılan ekstraktlar, farklı konsantrasyonlardaki etanol, metanol ve sudur (14).

Propolisin içeriğindeki bileşiklerin çoğu lipofilik bileşiklerdir. Bu bileşikleri etanol kullanarak ekstrakte etmek kolay olduğu için propolisin etanollü ekstraktı iyi bilinmektedir ve bundan dolayı daha cazip hale gelmiştir (15), fakat propolisin etanolik formülasyonlarının, tıbbi nedenlerden dolayı (örneğin diabet hastaları) alkol tüketemeyen kişiler tarafından tüketimini önlemek için insan gıdası olarak kullanılabilen bitkisel yağlar, trigliseridler ve yağ asitlerinin propolis için ekstraksiyon çözücüleri olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (16), buna rağmen propolisin yağ ekstraktlarının biyolojik aktivitesi ve kimyasal bileşimi ile ilgili veriler azdır.

Yağlar dahil olmak üzere farklı çözücülerle hazırlanmış ticari propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini incelenmiş ve yağ ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi geniş bir aralıkta rapor edilmiştir (17).

Propolisin zeytinyağı ekstraktının hakim fenolik asitlerin, ferulik asit ve kumarik asit olduğu ayrıca propolisin yağ ekstraktında başka bir ağırlıklı maddeninde vanilin olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada propolisin yağ ekstraktının, propolisin hammaddesinde bulunan aynı etken maddeleri içerdiği gösterilmiş ve antimikrobiyal aktivite testlerinin çeşitli bakterilere karşı önleyici etkinliği bunu doğrulamıştır (18).

Propolisin kanola yağı ekstraktı ile muamele edilmiş hayvanların hematolojik, biyokimyasal, histopatolojik ve morfolojik analizleri yapılarak toksikolojik açıdan değerlendirilmiş ve yağ ekstraktının etanolik ekstraktı kadar etkili olarak tümör büyümesini inhibe ettiği ortaya koyulmuştur. *In vitro* ölçümlerde yağ ekstraktları ve onların fraksiyonlarının tümör hücrelerini daha iyi inhibe ettiği gösterilmiştir. Propolisin yağ ekstraktlarında LC-MS ve LC-MS/ MS ile 4 fenolik asit ve 3 flavonoid tanımlanmıştır. Propolisin yağ ekstraktında antikanser potansiyeli ispat edilmiş ve yenilebilir bitkisel yağın, doğal propolis için alternatif bir çözücü olabileceğine dikkat çekilmiştir (16).

Bu çalışmada ana amaç, Türkiye' nin çeşitli bölgelerden toplanan ve günümüzde önemi giderek artan propolisin; ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı

olarak seçtiğimiz dört farklı çözücü ile ekstrakte edilebilirliğini incelemek; içeriğinde bulunan, antioksidan aktivitesinden sorumlu başlıca bileşikler olan polifenoller ve flavonoidlerin hangi çözücü ile muamele edildiğinde ekstraktta en fazla bulunduğunu, dolayısıyla hangi yağ çeşidinde en iyi çözüldüğünü tespit etmektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1 Propolis

Günümüzde giderek artan bir önem kazanan ve doğal bir ürün olan propolis; bal arıları (*Apis mellifera Linneaus*) tarafından bitki ve ağaçların yaprak ve sürgünlerinden toplanan reçine içeren bir karışımdır. Çalışmada kullanılan propolis örnekleri Şekil 1’ de gösterilmiştir. Propolis üretimi için arılar tarafından kullanılan materyal, bitkilerin yara bölgelerinden salgılanan maddeler olabildiği gibi, yapraklardaki lipofilik materyaller ile reçine, müsilaj, zambak gibi maddeler de olabilmektedir. Arılar bu salgıya daha sonra çeşitli enzimler ile polen kaynaklı maddeler de katmaktadırlar (2).

Propolis, sağlık için vücut yoluyla alınması gereken 22 besin desteğini bünyesinde taşıması açısından, son yıllarda mükemmel bir doğal ilaç özelliği olması ile önem kazanmıştır. Propolis çok eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (19, 20). Bugün bu reçineli arı ürünü propolisin antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar, antifungal vb. aktiviteleri rapor edilmiştir ve geniş yelpazede biyolojik aktivitesinden dolayı, dünya çapında kullanılmaya devam etmektedir (21, 22).

Bal arıları propolisi, bal mumuna karıştırarak petek yapımında, kovan duvarlarındaki çatlakların kapatılmasında, kovan girişinin küçültülmesinde kullanırlar. Ayrıca bakteri, mantar ve virüslerle mücadele de etkili olan propolis, kovanda tüm arı popülasyonu için çeşitli enfeksiyonlara karşı koruyucu olarak görev yapmaktadır (19). Bunların yanında olumsuz çevre koşullarından kovayı koruma amacıyla da kullanılmaktadır (23).



Şekil 1. Çalışmada kullanılan propolis örnekleri (Çolak’ tan, 24)

Propolis; çam, meşe, huş, okaliptus, kavak, kestane gibi ağaçlar ve bazı otsu bitkilerin tomurcuk, yaprak ve benzeri kısımlarından bal arıları tarafından toplanan ve mumla karıştırılarak kovan içerisinde bir çok amaca yönelik olarak kullanılan zamk gibi yapışkan, reçinemsî kokulu ve rengi koyu sarıdan kahverengiye kadar değişen bir maddedir. Arı bu maddeyi başı ile toraksı arasında bulunan bezlerden salgılamış olduğu aktif enzimlerle karıştırıp pelet haline getirir. Pelet ön ve orta bacakların yardımıyla ve bacak hareketleri ile arka bacaklardaki polen sepetçğinde paketlenir. Polen sepetçğı yeteri kadar propolis ile doldurulduğunda kovana taşınır. Propolis, genç işçi arılar tarafından 25-30 dakikada boşaltılır ve hemen gerekli yerde kullanılır. İşçi arılar bir seferde ortalama 10 mg propolisi kovana taşıyabilir (25).

İşçi arılar propolisi kovanda değişik amaçlarla kullanırlar. Propolisin asıl rolü arıları hastalıklara karşı korumaktır. Arılar kovan iç duvarlarının her tarafını ince bir tabaka propolis ile mikroorganizmalardan korumak için kaplarlar. Kovan sıcak ve nemli kapalı bir ünite olup, mikroorganizmaların üreyebilmesi için mükemmel bir ortamdır. Propolis nedeniyle kovan, bakteri ve fungustan korunurken, genç larvalar da hastalıktan korunurlar. Arılar, kraliçe arı yumurtalarını bırakmadan önce petek gözlerini propolis ile astarlayarak o bölgenin bakterilerden arınmasını sağlarlar. Herhangi bir zararlı, örneğin fare, böcek, vb. kovana girerse sokularak öldürölür ve daha sonra propolisin koruyucu astarı ile kaplanır. Bu astar zararlının bozulması ile ortaya çıkacak bakteriyel ya da viral enfeksiyonlara karşı koloniyi korur (26). Propolis bir mumyalama maddesidir (3).

Kovan duvarlarının kaplanması, deliklerinin küçöltilmesinin bir nedeni de yavru yetiştirme sırasında hava ve su buhar kaybının azaltılması olduğı ileri sürölmemtedir (26).

Kovan içinde dış atmosferden çok daha az oranda mikroorganizma bulunması, propolisin kimyasal özelliklerini ve önemini göstermektedir (26).

4.1.1 Propolisin Fiziksel Özellikleri ve Muhafaza Koşulları

Propolis 10°C' nin altında sert ve kırılğan, 15°C– 25°C arasında mum kıvamında elastik bir yapı gösterir, 30°C– 40°C' de yumuşayıp yapışkan bir durum alır ve bu durumda özellikle yaz aylarında arıcının çalışmasını güçleştirir. Kovandan alındığı zaman yapışkan ve kendine özgü bir kokusu vardır. Derin dondurucuya konulduğunda hemen katılaşımaktadır (7).

Depolama sırasında kararmakta, güneş ışınlarının etkisiyle elastikiyetini kaybetmektedir. Erime derecesi 80⁰C ile 105⁰C arasında değişir (27).

Propolisin rengi reçinenin kaynağına bağlı olarak sarımsı yeşilden, kırmızı ve koyu kahverengiye kadar değişebildiği gibi şeffaf da olabilmektedir. Fiziksel yapısı serttir, soğukta kırılgan, sıcakta yapışkandır. Propolis toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi, propolisin kimyasal yapısını belirlemektedir. Rengi, kokusu ve tıbbi karakteristikleri, sezona ve kaynağa bağlı olarak değişebilmektedir (19).

Propolis ve ekstraktları hafif koyu renk kapta, karanlıkta, 1°C–12°C’ den az sıcaklıkta depolanmalıdır ve alkol ekstraktlarının daha uzun süre depolanabileceği bildirilmektedir (7).

Üretilen propolisi uzun süreli muhafaza edebilmek için öncelikle sert ve katı halde iken iyice ezilmeli, daha sonra cam kavanoza konup, üzerine ılık su eklenerek iyice karıştırılmalıdır. Yabancı maddeler kavanozun içine çöktükten sonra propolis temizlenmelidir. Bu şekilde işleme tabi tutulan propolis kuru ortamda plastik torba içerisinde bir yıldan daha fazla süre biyolojik değerini kaybetmeden saklanabilmektedir (7).

4.1.2 Propolisin Kimyasal Özellikleri ve İçeriği

Arı yapıştırıcısı olarak da bilinen propolis, arıların yaşadıkları bölgedeki bitkilerden topladıkları kahverengimsi yapışkan bir madde olup kovanlarını kuvvetlendirmeye ve yaşadıkları ortamı aseptik hale getirmeye yaramaktadır. Propolisin bileşimi spesifik bir bölgede bulunan bitkilere göre değişiklik göstermektedir. Propolisin bileşenleri iklim, mevsim, bölge ve yıla bağlı olarak değişmektedir. Dolayısıyla kimyasal formülü sabit değildir (28). Propolis toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi, propolisin kimyasal yapısını belirlemektedir (19).

Şimdiye kadar propolisin bileşenleri olarak, başlıca polifenoller olmak üzere 180 den daha fazla bileşik tespit edilmiştir (2).

Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle % 45-50 reçine, % 30 mum, % 10 esansiyel ve aromatik yağlar, % 5 polen ve % 5 diğer organik bileşiklerden oluşmaktadır (25). Bu organik bileşikler arasında fenolik bileşikler ve

esterleri, flavonoidlerin bütün formları (flavonollar, flavonlar, flavononlar, dihidroflavonollar ve kalkonlar), terpenler, β -steroidler, aromatik aldehytler ve alkoller, sekuiterpenler ve stilben terpenleri bulunur (29). Propoliste bulunan temel bileşenler Tablo 1’ de listelenmiştir.

Balarısı bitki reçinesinin orjinal kompozisyonunu balmumu ve özellikle propolisin toplanması sırasında arı sütü bezinden salgılanan β - glikosidaz ile karıştırarak ve reçineli bileşikler ektrakte ederek değiştirir (30).

Propolisin kimyasal yapısında ağır metallerin ve pestisitlerin olmaması istenmektedir. Propolisin çevresel kirlenme göstergesi olarak incelenebileceği ileri sürülmüştür (31).

Tablo 1. Propoliste bulunan temel bileşenler (Cuesta’ dan, 32)

Bileşenler	Ana Maddeler	Miktarı
Reçine	Flavonoidler	% 45-50
	Terpenler	
	Fenolik asitler ve esterleri	
	Kumarinler	
Mumlar ve yağ asitleri	Arılar veya bitkilerden	% 25-30
	Poliansatüre yağ asitleri	
Esansiyel yağlar	Uçucu bileşenler	% 10
Polenler	Proteinler	% 5
	Serbest aminoasitler	
	Vitaminler (A, B, C, E, PP, vs.)	
Diğer maddeler	Eser element (Cu, Mn, Fe, Zn, Al, Ag, Ca, Mg, Co, vs.)	% 5
	Ketonlar,	
	Laktonlar,	
	Kinonlar,	
	Steroidler,	
	Şekerler	

Propolis; reçine, bitkisel yağlar ve arı mumunun tükürük sekresyonu ile karışımından oluşmakta ve ayrıca amino asitler, mineraller, etanol, A, B kompleks ve E vitaminleri, polen ile bioflavonoidler olarak bilinen son derece aktif biyokimyasal maddeleri içermektedir (33).

Propolisin kimyasal bileşimi, arıların dolaştığı her bir bölgenin bitki örtüsündeki biyolojik çeşitlilikten dolayı büyük ölçüde değişken ve komplekstir (34). Tablo 2’ de, propolis örneklerinin içeriğindeki farklılıklar, iklim, coğrafik bölge ve bitki örtüsüne göre özetlenmiştir.

Tablo 2. Propolisin içeriğinin iklim, coğrafik yerleşim ve bitki örtüsüne göre değişimi (Barlak’ tan, 35).

İklim Türü	Coğrafik Bölge	Yaygın Bitki Türü	Propolis İçeriği
Ilıman Bölge	Avrupa,	Çeşitli Kavak ağacı	Fenolik bileşikler açısından zengindir: Flavonoidler, aromatik asitler ve esterlerini içerir.
	Kuzey Amerika,	türleri(<i>Populus spp</i>)	
	Yeni	yaygın bitki türüdür.	
	Zellanda, Batı Asya	Kavak tomurcuğu, fenolik bileşiklerin zengin bir kaynağıdır.	
Tropikal Bölge		Kavak ağacı yoktur	di- ve triterpenler açısından zengindir. p-kumarik asit, prenillenmiş p-kumarik asit, dihidrosinamik asit içerir. Flavonoidler, bitki aleminde geniş bir şekilde yayıldığı için flavonoid de içerir, fakat az miktardadır. Artepilin C (Brezilya propolisinde)
	Avusturalya,	<i>Clusia minor, Clusia.</i>	
	Güney	<i>Major, Araucaria</i>	
	Amerika,	<i>heterophylla, Baccharis</i>	
	Venezüella, Brezilya	<i>dracunculifolia</i> ve farklı türleri yaygın bitki türleridir	

Propolisin kompozisyonu ve fizikokimyasal özellikleri araştırılmıştır. β -amilaz, pek çok polifenolik bileşenler, flavonlar, flavononlar, fenolik asit ve esterleri ve yağ asitleri içerdiği bulunmuştur. On iki farklı flavonoid; pinosembrin, akasetin, krisin, rutin, kateşin, naringenin, galangin, luteolin, kaemferol, apigenin, mirisetin, ve

kuarsetin, iki fenolik asit; sinnamik asit ve kafeik asit, bir stilben türevi olan resveratrol, kapiller zon elektroforezi ile propolis ekstraktlarında saptanmıştır (3, 36). Kapiller zon elektroforez, propolisin çoğu polifenol bileşenlerinin nicel ve nitel değerlendirilmesinde değerli bir metod olarak kullanılabilir (36). Propolisin kimyasal bileşenleri Tablo 3’de gösterilmektedir.

Propolisin içeriğinde pek çok mineralde bulunmaktadır; mangan, çinko, bakır, kurşun, nikel, kobalt, krom, kalay, kalsiyum, fosfor, potasyum, sodyum, klor, demir, magnezyum, molibden, alüminyum, silisyum, cıva, flor. Mangan ve çinkonun diğer elementlerle karşılaştırıldığında daha fazla miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. Propolisin vitamin içeriği ise düşük olup B1, B2, B6, C, E, nikotinik ve pantotenik asit değişik miktarlarda bulunmaktadır. Ayrıca propolis içerisinde sayıları 8-17 arasında değişen serin, glikol, alanin, triptofan, fenilalanin, lösin, lizin, sistin, histidin, arjinin, prolin ve glutamik asit gibi aminoasitlerde bulunmaktadır (37).

Propolis ilaveten süksinik dehidrojenaz, glukoz-6-fosfataz, adenosin trifosfataz, asit fosfataz gibi bazı enzimleri de içermektedir (3).

Arıların propolisi bitkilerden toplarken tükürük bezlerinden salgılanan maddelerin propolise karıştığına işaret edilmiştir. Bu maddeler ise bazı doymamış yağ asitleri ve 10 hidroksi- 2 dekononiktir. Bu madde arıların mandibular bezlerinden salgılanır ve arı sütünün temel yapı taşıdır; bu maddelerin propolisteki miktarı %7.2’ dir (27).

Brezilya ve Çin propolis örneklerinden 3,5-difenil- 4- hidroksinamik asit ve oktakonasol gibi farklı bileşikler izole edilmiştir (2).

Sinnamik asit, propolisin doğada bulunan aktif bir bileşenidir. Doğal kaynaklardan elde edilen ürünlerden biri olup, çok geniş bir gruba sahip olan flavonoidlerin sentezinde rol oynamaktadır (38).

Tablo 3. Propolisin Kimyasal Bileşenleri (39)

No	Bileşikler
<i>Aromatik bileşikler</i>	
1.	5- fenil- trans, trans- 2,4 pentadienoik asit
2.	5-fenil- trans- 3- pentenoik asit
3.	dodesil kafeat
4.	tetradesinil kafeat
5.	tetradesil kafeat
6.	hekzadesil kafeat
7.	(+) treo- 1- C- kuayasilgliserol
8.	3- [4- hidroksi- 3- (3- oksobut -1- enil)-fenil] akrilik asit
<i>Flavonoidler</i>	
9.	5,7,4'- trihidroksi- 6,8- dimetoksi flavon
10.	Sideritiflavon
11.	mayrisetin- 3,7,4',5'-tetrametil eter
12.	kuersetin- 3,7,3'- trimetil eter
13.	5,6,7- trihidroksi- 3,4'- dihimetoksiflavon
14.	aromadendrine- 4' metil eter
15.	3,5,7- trihidroksi- 6,4- dimetoksiflavon
<i>Prenillenmiş p- kumarikasitler</i>	
16.	3,5- diprenil- 4- hidroksisinnamik asit
17.	3-prenil- 4-dihidro- sinamoyloksisinnamik asit

Tablo 3. Propolisin Kimyasal Bileşenleri (Devam)

No	Bileşikler
18.	2,2,- dimetil- 6- karboksietenil- 2H- 1- benzopiran
19.	9-E-2-dimetil-6-karboksietenil-8-prenil-2H-1-benzopiran
20.	3-prenil- 4- hidroksisinamik asit
21.	3-prenil- 4- (2-metoksipropionil) - sinnamik asit
22.	(E)-3-[2,3-dihidro-2-(1-hidroksi-1-metiletil)-prenil-benzofuran-5-il]-2-propenoik asit
<i>Asetofenon türevleri</i>	
23.	2- [1- metil]- vinil- 5- asetilkumaran
24.	2 1- hidroksimethyl - vinil- 6-asetil- 5- hidroksikumaran
25.	2-[1-asetoksimetil]-vinil-6-asetil-5-hidroksikumaran
<i>Kafeoilkuinik asitler</i>	
26.	3- kafeoilkuinik (klorojenik) asit
27.	4- kafeoilkuinik asit
28.	5- kafeoilkuinik asit
29.	3,5- dikafeoilkuinik asit
30.	4,5- dikafeoilkuinik asit
31.	4,5-dikafeoilkuinik asit metil ester
32.	3,4- dikafeoilkuinik asit
33.	3,4- dikafeoilkuinik asit metil ester

Tablo 3. Propolisin Kimyasal Bileşenleri (Devam)

No	Bileşikler
<i>Lignanlar</i>	
34.	1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,2-bis-[4-[(E)-3-asetoksipropen-1-il]-2-metoksifenoksi} - propan-3-ol asetat
35.	1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-{4-[(E)-3-asetoksipropen-1-il]-2-metoksifenoksi} propan- 1,3- diol- 3-asetat (eritro- ve treo)
36.	3-asetoksimetil-5-[(E)-2-formileten-1-il]-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-7-metoksi-2,3-dihidrobzenofuran
37.	Sesamin
38.	Ascantin
39.	Sesartenin
40.	Yangambin
<i>Diterpenik asitler</i>	
41.	Ent- 17-hidroksi- 3,13-Z-klerodadien -15-oik asit
42.	15- okso - 3,13- Z- kolavadien- 17-oik asit ve onun E-izomeri
43.	kommurik asit
44.	imbrikatoloik asit
45.	izokupressik asit
46.	asetilizokupressik asit
47.	8(17), 13E- labdadien- 15, 19- dioik asit
48.	8(17),13E-labdadien-15,19-dioik asit-15-metil ester
49.	19-okso-8(17),13E-labdadien-15-oik asit

Tablo 3. Propolisin Kimyasal Bileşenleri (Devam)

No	Bileşikler
50.	13-hidroksi-8(17),14-labdadien-19-oik asit
<i>Triterpenler</i>	
51.	β -amirin
52.	Sikloartenol
Uçucu bileşenler <i>Monoterpenler</i> (GC- MS ile)	
53.	α - pinen
54.	β -pinen
55.	Γ - terpinen
56.	Geraniol
57.	Linalil propiyonat
<i>Sesquiterpenler</i>	
58.	Ledol
59.	Spatulenol
60.	İzospatulenol
61.	Palustrol
62.	Laden
63.	Germekren d
<i>Aromatik bileşenler</i>	
64.	Prenylacetophenone
65.	diprenylacetophenone

Tablo 3. Propolisin Kimyasal Bileşenleri (Devam)

No	Bileşikler
66.	3- phenylpropanol
67.	a- methyl benzylalkohol
68.	piperonal
<i>Şeker ve şeker alkolleri</i>	
69.	Ksiloz
70.	Galaktoz
71.	Mannoz
72.	glucuronik asit
73.	Laktoz
74.	Maltoz
75.	Melibioz
76.	Eritritol
77.	Ksilitol
78.	İnositol

4.1.3 Propolisin Farklı Çözücülerde Ekstraksiyonları

Propolisin bileşimi esas olarak bitkinin toplandığı yere, ikincil olarak da ekstraksiyon için kullanılan yöntemle bağlıdır (40), bu nedenle çözücü dikkatle seçilmiş olmalıdır (41). Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan başlıca çözücüler ve elde edilen bileşenleri Tablo 4' te gösterilmektedir.

Tablo-4 Propolis ekstraksiyonu için kullanılan çözücüler ve elde edilen bileşenler (Cowan' dan, 41).

Su	Metanol	Etanol	Kloroform	Diklorometan	Eter	Aseton
Antosiyaninler,	Antosiyaninler,	Taninler,	Terpenoidler,	Terpenoidler,	Alkoloidler,	Flavonollar
Nişastalar,	Terpenoidler,	Polifenoller,	Flavonoidler	Taninler,	Terpenoidler,	
Terpenler,	Saponinler,	Polyacetylenes,		Polifenoller,	Kumarinler,	
Saponinler,	Taninler,	Flavonollar,		Polyacetylenes,	Yağ asitleri	
Terpenoidler,	Xanthoxylane,	Terpenoidler,		Flavonollar,		
Poliipeptidler,	Totarol,	Steroller,		Steroller,		
Lektinler	Quassinoids,	Alkoloidler		Alkoloidler		
	Laktonlar,					
	Flavonlar,					
	Phenones,					
	Polifenoller,					
	Poliipeptidler,					
	Lektinler					

*Koyu renkle yazılan bileşikler yaygın olarak yalnızca tek bir çözücü içinde elde edilmiştir.

Ham propolis ahşap, balmumu, polen hatta ölü arılar gibi yabancı maddeler içerir, bu nedenle ekstraktları hazırlamadan önce elimine etmek ve saflaştırmak için propolis örneğinin, makroskobik olarak incelenmesi gerekir. Test işleminde kritik bir adım, çalışmada kullanılacak propolis örneklerinin ekstraksiyonudur. Ekstraksiyon için kullanılan çözücüler genellikle metanol ve etanol gibi alkollerdir (31).

Propolisin sulu ekstraktı, sıvı etanol ekstraktı ya da yarı katı ekstraktı dahil olmak üzere çeşitli formları kullanılabilir. Propolis çok farklı kimyasal bileşimlere sahip olsa da antifungal, antibakteriyel ve diğer çeşitli aktivitelerinin benzer olması şaşırtıcı bir gerçektir. Propolisi ekstrakte etmek için, parafin, balmumu, hayvansal yağ ve katı maddeler ile iyi karışabilir olması gibi olumlu özellikleri nedeniyle zeytinyağı propolis için alternatif bir çözücü olarak gösterilmiştir. Yağ propolisten gelen biyoaktif

bileşenleri ekstrakte edebilme yeteneğindedir. Zeytin yağı, kozmetik ve farmasötik preparatların üretiminde hem yardımcı madde hem de aktif madde olarak kullanılır (18).

Çeşitli çalışmalarla propolisin etanolik özütünün; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, antioksidan, lokal-anestetik ve immünostimülatör özellikler gösterdiği tespit edilmiştir(17).

4.1.4 Propolis Örneklerinde Belirlenen Bileşik Grupları

Propolis de bulunan ana kimyasal maddeler; flavonoidler, fenolikler ve çeşitli aromatik oluşumlardır. Bunların yanısıra B kompleks vitaminleri, mineraller ve iz elementler diğer önemli bileşenlerdir (42). Propoliste bulunan bazı flavonoid ve fenolik bileşikler Tablo 5’de gösterilmektedir.

Tablo 5. Propoliste bulunan bazı flavonoidler ve fenolik bileşikler (Çolak’ tan, 24)

Flavonlar	Flavonoller	Flavononlar	Dihidro Flavoneller	Sinnamik asit türevleri	Diğerleri
Apigenin	Kaempferol	Pinosembrin	Pinobanksin	Ferulik asit	11-Farnesol (seskiterpen)
Akasetin	Kaempferid	Sakuranetin	Pinobanksin 3-asetat	Kafeik asit	β- karyofilen (terpenoid)
Baisetin	Galangin	İsosakuranetin	Pinobanksin 7- metileter	<i>p</i> -Kumarik asit	Terpinkol (terpenoid)
Krisin	İsohamnetin				Benzoik asit
Luteolin	Ramnetin				Syringaldehit (diterpenikasit)
Tektokrisin	Mirisetin				Protocate huikasit (benzoik asit türevi)
	Fisetin				Vanillin (benzaldehit türevi)
	Rutin				

Propolis sırasıyla polifenoller, flavonoidler (ana maddesidir), fenolik asit ve bunların esterleri, kafeik asit ve bunların esterleri, fenolik aldehytler ve ketonların birçok karışımını içerir (43).

4.1.4.1 Fenolik bileşikler (Polifenoller)

Fenolik veya polifenol terimi kimyasal olarak kısaca, sahip olduğu aromatik halkada çeşitli fonksiyonel gruplara (esterler, metil esterler, glikozitler vb.) ilaveten hidroksil grubu taşıyan madde olarak tanımlanır. Fenol kendisi de doğal bir üründür ama çoğu fenolik bileşik iki veya daha fazla sayıda hidroksil grubu taşır (44).

Fenolik bileşiklerin en önemlileri sinnamil alkol, sinnamik asit, vanilin, benzil alkol, benzoik asit, kafeik asit ve ferulik asitlerdir (45). Yaygın olarak bitkilerde bulunurlar ve antioksidan aktiviteleri dahil birçok biyolojik etkileri olduğu rapor edilmiştir (46). Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (47).

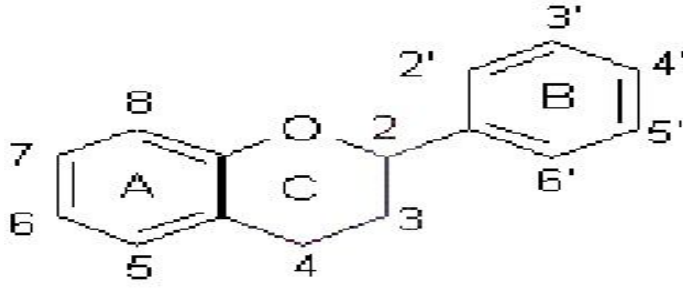
Propolis ağırlıklı olarak flavonoidler olmak üzere çok çeşitli fenolik bileşikler içerir. Flavonoid ve diğer fenolik madde içeriğinin, kanser ve kalp hastalığı gelişimini önleyici bir rol oynadığı öne sürülmüştür (46).

Fenolik bileşikler; gıda maddelerinin görünüş, tat ve lezzet gibi tüketim açısından önemli olan kalite özellikleri üzerine etkileri ve doğal antioksidan olarak insan sağlığı üzerine olumlu etkileri nedeniyle önemli bileşenlerdir (47).

4.1.4.2 Flavonoidler

Flavonoidler, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan polifenolik bileşiklerin bir grubudur (43). Flavonoidler gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerdir. Yaklaşık 6500 farklı flavonoid bilinmektedir (47). Flavonoidlerin yapısı Şekil 2’ de gösterilmektedir.

Flavonoidlerin karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (C6- C3- C6) yapısındadır. Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir(47).



Şekil 2. Flavonoidlerin yapısı (48)

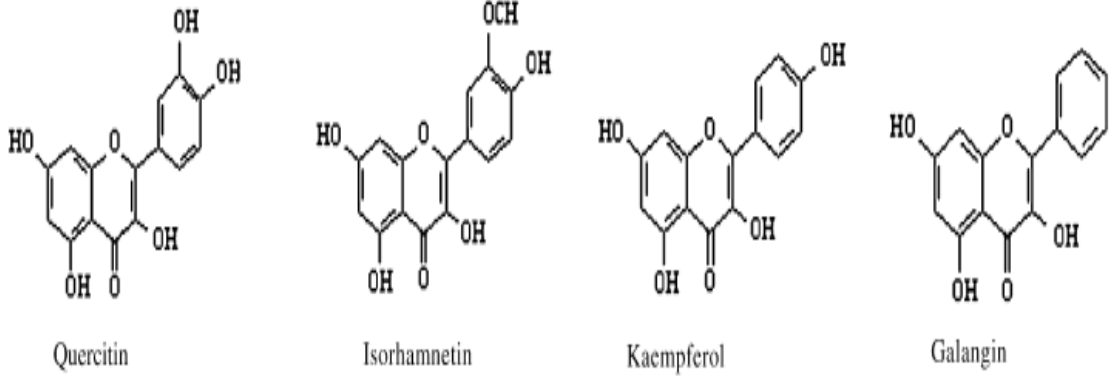
Flavonoidler, memelilerin birçoğunda düşük toksisite göstermekte ve bazıları kılcal damar bütünlüğünü devam ettirmek için ilaç olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadırlar (49). Ayrıca aldoz, redüktaz ve ksantin oksidaz gibi inhibe edici enzimlerdir. Flavonoidler güçlü antioksidanlardır ve serbest radikal süpürme yeteneğine sahiptirler. Birçok antialerjik ve antiviral etkiye sahiptirler ve bazılarının kardiyovasküler mortaliteye karşı koruma sağladığı bilinmektedir (49, 50). İn vitro ortamda çeşitli kanser hücre serilerini inhibe ettikleri ve deney hayvanlarında tümör gelişimini azalttıkları gösterilmiştir (49).

Geniş kapsamlı kullanım alanına sahip olan flavonoidlerin sentetik üretimi günümüzde gerçekleştirilmediğinden, elde edilmeleri için tek kaynak flavonoid içeren bitkilerdir. Bu nedenle yeni flavonoid kaynaklarının açığa çıkarılması, flavonoidlerin elde edilmesi, özelliklerinin belirlenmesi ve kullanım alanlarının genişletilmesi güncel ve önemli problemlerdendir (45). Tablo 6' da propolisin içeriğinde bulunan flavonoid türleri verilmiştir.

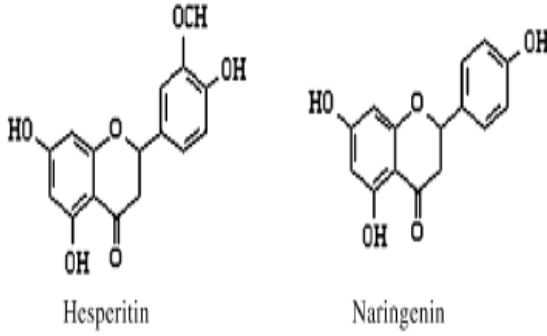
Tablo 6. Propolisin içeriğinde bulunan flavonoid türleri (Barlak' dan, 35)

Flavonoid Türü	Bileşik
Flavonoller	Kuersetin, kaempferol, galangin, fisetin
Flavononlar	Pinosembrin, naringin, hesperidin
Flavonlar	Apigenin, acacetin, krisin, luteolin

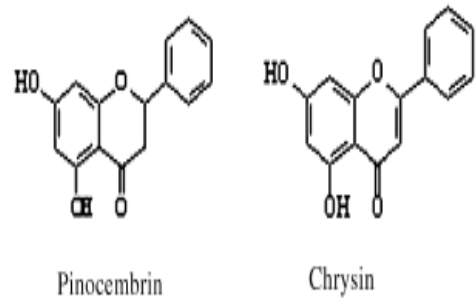
FLAVONOLS



FLAVANONS



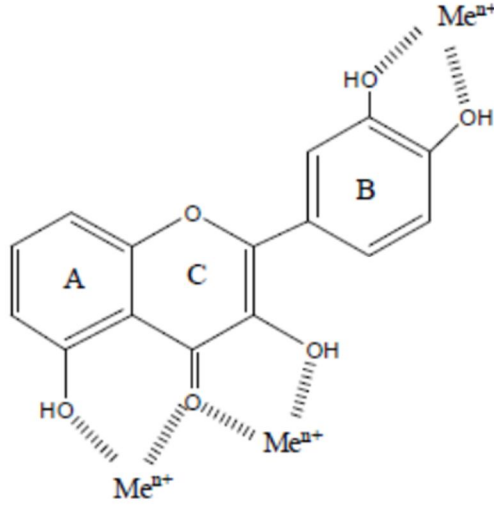
FLAVONES



Şekil 3. Önemli bazı flavonoidlerin kimyasal yapıları (51)

Flavonoidler gibi fenolik bileşikler de propolisin biyolojik aktivitesinden başlıca sorumlu olan yapılardır (52). Farklı yapısal özelliklere sahip olan flavonoidler biyolojik aktivitelerinde önemli çeşitlilikler gösterir (53). Şekil 3’de propolisin içeriğinde bulunan bazı flavonoid türlerinin kimyasal yapıları verilmiştir.

Propoliste bulunan flavonoidler, esas itibari ile antioksidan aktiviteden sorumludurlar (45). Antioksidan özellik gösteren flavonoidler, serbest radikal toplayıcı özellik göstermektedir. Hidrojenlerin ayrılmasıyla oluşan flavonoid radikalleri, ortamdaki eser metallerle şelat halka oluşturarak kararlı duruma geçerler. Bu durum Şekil 4. ‘de gösterilmiştir (50).



Şekil 4. Eser metallerin flavonoidlerde bağlandığı yerler (50)

Antioksidanların, antioksidan kapasitelerini belirlemek için kabul edilen Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (Trolox Eguivalent Antioxidant Capacity, TEAC), antioksidanların çalışma şartlarındaki 1 mM derişimine eşdeğer troloks derişimi olarak tarif edilir(50).

Propolisin tedavi edici etkilerinin içerdiği flavonoidlere bağlı olduğu ifade edilmektedir (27).

4.1.5 Propolisin Biyolojik Etkileri

Propolisin tıbbi özellikleri, tarihsel olarak çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Yıllar boyunca propolis, insanlar tarafından değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (19). Propolisin yapısında bulunan bazı bileşiklerin biyolojik aktiviteleri Tablo 7’ de gösterilmiştir.

Propolisin biyolojik etkisi, polifenoller, flovonoid aglikonları, fenolik asit ve onların esterleri, kafeik asit ve onların esterleri, fenolik aldehytler ve ketonlar onların doğal biyoaktif kimyasalları olarak atfedilmiştir (54). Yaygın bir görüşe göre flavonoidlerin biyolojik aktiviteleri, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu etki gösterme yetenekleriyle ilişkilidir (55).

Kafeik asit fenil esteri (CAPE), kanser hücrelerinin radyasyon duyarlılığı ve apoptoz metastazı gibi birçok ilginç biyolojik özellikleri ile propolisin biyolojik olarak aktif bileşenlerindendir (29).

Propolis ekstraktı tedavisinden sonra antikor üretimi, T lenfosit uyarımı, periferall lenfosit proliferasyonu ve fagositoz yüzdesinin arttığı rapor edilmiştir (43).

Propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal, antiparazitik, antioksidan, antiinflatuar, sitotoksik, kondroprotektif, antitümöral, antiülseratif ve immünomodulator özellikleri rapor edilmiştir (27).

Propolisin etanol ekstraktları, birçok insan patojenik mantarları, virüsler ve gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir (30).

Propolis, normal hücrelerin faaliyetlerinin kötü hücreler tarafından engellenmesini önlemede kullanılır. Özellikle üst solunum yolları ve orta kulak enfeksiyonlarında, ağız yaralarında, mide gastrit ve on iki parmak bağırsağı ülserinde tedavi edici özellik gösterir. Propolis vücut fonksiyonları için gerekli bakterilere zarar vermeden enfeksiyonlara karşı, virüs öldürücü ve bakteri saldırılarını önleyici olarak insan ve hayvanlar üzerinde etkili olmaktadır (8).

Üzerinde henüz yeterli araştırma yapılmamış olmakla birlikte, propolisin fitoöstrojenik olarak etkili olabileceği ve östrojen reseptörleri ile etkileşime girebilme yeteneklerine bağlı olarak, östrojen yetersizliği durumunda gelişen kalp damar hastalıkları, osteoporozis gibi bozukların kısmen düzelmesinde etkili olabileceği, aynı zamanda menopo ve antropoz sonrası uygulanabilen hormon replasman tedavilerinin korkulan yan etkileri olan meme ve prostat kanserlerinden korunmaya karşı alternatif bir uygulama olabileceği de belirtilmektedir (56).

Klinik araştırmalar propolisin, % 70' lik alkolde eriyen diğer kısımlarının antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında bu ilaçların etkisini arttırdığı, anestejik, antioksidatif etki gösterdiği, ikinci derecede yanıkların tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği, çimlenmeyi engellediği ve güçlü bir antiseptik olduğunu belirlemiştir (8).

Tablo 7. Propolisin yapısında bulunan bazı bileşiklerin biyolojik aktiviteleri (8, 57)

Flavonoidler; kılcal damarların geçirgenliğini azaltma, antimikrobiyal, ateş düşürücü, antioksidan, anti-kanama
Krizin; tümör hücrel toksitesi, anti- <i>Helicobacter pylori</i>
Apigenin; gastrik ülserin iyileştirilmesi
Acacetin; ateş düşürücü
Kuersetin; histamin aktivitesi, anti-viral, kılcal damarların güçlendirilmesi, anti-tümöral aktivite, spazmolitik
Kaempferide; spazmolitik, anti- <i>Mycobacterium phlei</i> , mikroorganizmaların asit direncine karşı
Ermanin; anti-mikotik
Galangin; bakteriyostatik aktivite, anti-mikrobiyal ve anti-mikotik, anti- <i>H. pylori</i>
Pinobanksin; anti-mikrobiyal , anti-fungal ve anti-mikotik
Pinostrobin; lokal anestezi
3',4'- dihidroksiflavanoidler; kılcal damarların güçlendirilmesi
Pektolinarinenin; spazmolitik
Luteolin; anti-viral, gastrik ülserin iyileştirilmesi, antitümöral
Artepillin C; anti-tümöral etki; anti lösemik etki
Eridiktol; akut kalp yetmezliğini önleyici etki
Ferulik asit; anti-bakteriyel etki, anti-kanama, kollajenik etki
İsoferulik asit; anti- <i>Staphylococcus aureus</i>
Pinosembrin; antimikrobiyal
Benzoik asit; bakteriyostatik ve bakterisit etki, balzamik ve antiseptik
Sinnamik asit; anti- <i>S. Aureus</i>
p-kumarik asit benzil ester; anti-mikrobiyal ve anti-mikotik
Kafeik asit; anti-viral, anti-bakteriyel aktivite, ateş düşürücü, antitümöral
Prenil kafeat; gizli kontak allerjen
Kafeik asit fenetil ester (CAPE); anti-tümöral aktivite, antimikrobiyal, antiviral, antioksidan, antifungal, antienflamatuar
Pinosembrin; antimikrobiyal, antifungal
Metil kafeat; tümör inhibisyonu
Uçucu bileşikler (eterik yağlar); anti-mikrobiyal, ateş düşürücü

Propolisin deride yara iyileşmesi, yanıklar, iltihabi yaralar, cilt inflamasyonları ve diğer deri hastalıklarında tedavi edici etkisinin de bulunduğu belirtilmiş ve yara iyileşmesinden sorumlu olan en önemli içeriğinin flavonoidler ve fenolik asit bileşikleri olduğu bildirilmiştir (1).

Propolisin anestezi etkisinin, içinde bulunan esansiyel yağlardan kaynakladığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar bu anestezi etkilerin kokain ve prokainden daha güçlü olduğunu göstermiştir (45)

Propolisin 1 mg' ı, yaklaşık olarak 20 mg Penisilin' e denk gelmektedir (58). Bugüne kadar rastlanan en güçlü doğal antibiyotiktir (20).

Propolis ateşli hastalıklarda ateş düşürücü, yaraların iyileşmesinde hücre yenileyicisi olarak kullanılmaktadır (5). Ayrıca propolis vücudun allerjik reaksiyonlarla başa çıkmasına yardımcı olmak için gereken histamin ve serotonin maddelerinin ana kaynağıdır (33).

Propolis kırık iyileşmesini hızlandırdığı ve kemik kalitesini arttırdığı gösterilmiştir (57).

Propolis son zamanlarda sağlığı geliştirmek ve hastalıkları önlemek için yiyecek ve içecekler içinde kullanılmaktadır (59). Günümüzde krem, merhem, losyon, jel, sprey, şurup, tablet, şampuan, losyon, diş macunu, kapsül, propolis tentürü, kozmetik ürünler şeklinde piyasalarda bulunabilmektedir (2).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda propolis eksraktının toksik etkisinin bulunmadığı, propolisin % 0,5-1' lik sulu çözeltilerinde akut ve kronik solunum hastalıklarında aerosol olarak başarılı şekilde kullanıldığı belirtilmektedir (5).

Propolisin düşük dozlarda güvenilir olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, günde 15 gramın üstündeki dozlarda yan etkiler görülebilmektedir. Çok sık karşılaşılan yan etkiler deri ve mukoza irritasyonları gibi allerjik reaksiyonlardır. Egzema, ürtiker ve astım hastalarının tedavisinde kullanırken dikkatli olunmalıdır (2).

Normalden daha yüksek alımlarda propolisin insanlar ve hayvanlar için tehlikeli olabileceği vurgulanmaktadır. Balıklar üzerinde yapılan bir çalışmada yüksek oranda

(0.02- 0.03 g propolis/ L) uygulanan propolisin eritropoiezisi inhibe ederek eritrosit, Hb ve HCT değerlerinde azalmaya neden olduğunu, ancak daha düşük oranlarda ise immunostimulant etkili olabileceğini belirtilmiştir. Ancak propolisin belirtilen bu toksik etkilerini destekleyen literatürde fazla veriye rastlanmamıştır (60).

4.2 Yağlar ve Özellikleri

Yağlar hidrojen, karbon ve oksijen moleküllerinden oluşan organik bileşiklerdir. Kimyasal özellikleri bakımından çok farklı ve geniş bir heterojen bileşikler grubunu kapsarlar (60).

Yağlar oda sıcaklığında katı formda iseler katı yağlar, sıvı formda iseler sıvı yağlar olarak tanımlanırlar. Katı ve sıvı yağlar, gliserol ve yağ asitlerinden oluşan trigliseritlerin hakim olduğu bileşikler grubudur. Bu bileşikler suda çözünmediği halde pek çok organik çözücüde çözünürler (5).

Geniş anlamda yağlar, kloroform, metanol, hekzan, benzen, dietil eter gibi organik çözücülerde kolayca çözülebilme özelliğinde olan yağ asidi ve türevleri, steroidler, terpenler, karotenoitler, safra asitleri gibi maddeleri bulundurur (60).

Bitkisel yağlar, önemli esansiyel yağ asitlerini içermelerine karşın yapılarında kolesterol içermezler. Vücutta yapılamayan ve mutlaka dışardan alınması gerekli olan oleik, linoleik ve linolenik asit gibi doymamış ve esansiyel yağ asitleri, bitkisel yağların bünyesinde fazla oranda yer alırlar (61).

Yağ asitlerinden karbon zincirleri, çifte bağ içermeyenlere doymuş yağ asitleri, çifte bağ içerenlere doymamış (ansatüre) yağ asitleri denir. Doymamış yağ asitleri ise tekli doymamış (monoansatüre) ve çoklu doymamış (poliansatüre) yağ asitleri olarak ikiye ayrılırlar (Tablo 8). Monoansatüre yağların yapıları bir çift bağ içerir, poliansatüre yağların yapıları ise iki ya da daha fazla çift bağ içerir (62).

Tablo 8. Çalışmada kullandığımız sıvı yağların içerdikleri yağ asidi çeşidine göre sınıflandırılması (62)

Monoansatüre yağ asitleri (omega- 9)	Poliansatüre yağ asitleri (omega-6)
Zeytin yağı	Mısırözü yağı
Fındık yağı	Ayçiçek yağı

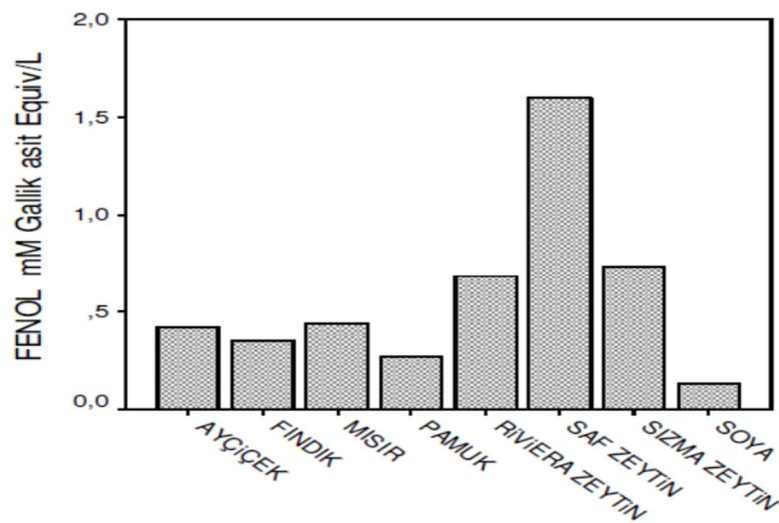
Kimyasal yapıları arasında küçük farklılıklar olmasına rağmen monoansatüre ve poliansatüre yağlar, HDL-kolesterolü artırarak ve LDL-kolesterolü düşürmeye yardımcı olarak kalp sağlığı geliştirme ile bağlantılıdır. Kalp hastalıklarına karşı korunmak için doymuş ve trans yağlar yerine monoansatüre ve poliansatüre yağlar içeren besinler tercih edilmesi yararlı olabilir (62).

Bitkisel yağlar; serbest yağ asitleri, fenolik bileşikler, tokoferoller, steroller, stanoller, fosfolipidler, mumlar, skualen ve diğer hidrokarbonlar gibi bileşikler, az miktarda içerirler (63).

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, günlük kalori alımının % 20 sini monoansatüre yağların, % 10 kadarını ise poliansatüre yağların oluşturmasını önerir (62).

Fenolik bileşiklerin, bütün bitkisel yağların poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif stabilitesi için çok önemli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, doğal antioksidanlar bakımından zengin yemeklik yağlar, kronik hastalıkların riskini azaltmada rol oynayabilirler (63).

Yağ ekstraktlarında bulunan polifenol miktarlarının ölçülmesi sonucunda en fazla miktarda polifenol, saf zeytin yağında tespit edilmiştir. Bunu sızma zeytin yağı, riviera zeytin yağı, mısır yağı, ayçiçek yağı, fındık yağı, pamuk yağı ve en az olarak soya yağında olduğu tespit edilmiştir (64). (Şekil 5)



Şekil 5. Yağ ekstraktlarının toplam fenol içeriği (Güzel'den, 64)

Fındık yağı zeytin yağı ile benzer yapıda yağ asidi içerdiğinden zeytin yağına alternatif olabileceği ve bununda ötesinde fındık yağının yapısındaki tokoferol içeriğinden dolayı güneş ışığından zeytin yağına oranla daha az etkilendiği, buna ilaveten fındık yağının serbest radikal toplama lak fazının daha uzun olduğu ve bu özelliklerinden dolayı fındık yağının sağlık açısından büyük öneme sahip olduğu belirtilmiştir (64).

Saf zeytin yağı, sızma zeytin yağı, riviera zeytin yağı, mısır yağı ve ayçiçek yağının hem toplam antioksidan kapasitelerinin hem de toplam fenol içeriklerinin fındık yağından fazla olduğu tespit edilmiştir. Bundan dolayı saf zeytin yağı, sızma zeytin yağı, riviera zeytin yağı, mısır yağı ve ayçiçek yağının fındık yağından sağlık açısından daha fazla yarar sağlayacağı düşünülmüştür (64).

4.2.1 Zeytin yağı ve Özellikleri

Zeytin yağı, zeytin ağacının meyvesi olan zeytin tanesinin normal iriliğini aldığı ve yağ oluşumunun en yüksek seviyeye ulaştığı dönemde hasat edilerek çeşitli fiziksel işlemler uygulanarak elde edilen yağdır (65).

Zeytin yağının bileşiminde, birçok fonsiyonel gruplara sahip bileşikler bulunmaktadır. Bu gruplardan fenolik bileşikler zeytin yağında minör bileşikler olup, doğal zeytin yağının kalitesini tayin ederken göz önünde bulundurulması gereken önemli faktörlerdendir. Çünkü bu bileşikler yağın oksidatif bozulması ve tadın parametreleri için kısmen sorumludurlar. Fenolik bileşikler ve miktarı, zeytin çeşidine, meyve olgunluğuna, zeytinin depolanma koşullarına, yağ elde etme sistemleri ve yağın depolama koşulları gibi birçok faktöre bağlıdır (66). Zeytin yağına ait bazı özellikler Tablo 9’ da gösterilmiştir.

Tablo 9. Zeytin yağının özellikleri (67)

Kırılma indisi, nD 20°C	1,4677 - 1,4700
İyot sayısı	78 - 88
Sabunlaşma sayısı, mg KOH/ g	184 - 196
Sabunlaşmayan madde, g/ kg, en çok	15

Polifenoller, zeytin yağının lezzeti ile bağlantılı bileşenlerin önemli bir sınıfını oluştururlar. Fenolik bileşiklerin zeytin yağındaki miktarı, 300 mg/ kg’ı aştığı zaman acı

bir tada sebep olduğu ifade edilmektedir (47). Fenol içeriğine bağlı olarak zeytinyağının acılığının şiddeti daha yüksek veya daha düşük olabilir (66).

Zeytin yağının kimyasal yapısının, bir yıldan diğerine ve birçok analitik parametrenin üretim alanları arasında değiştiğini saptamışlardır (68). Zeytin yağı, farmasötik ve kozmetik preparatların üretiminde, yardımcı bir ürün olarak kullanılır (69).

Doğal zeytin yağını diğer bitkisel yağlardan ayıran en önemli özelliği, karakteristik rengi, tadı ve aroması yanında minimum işlem ile elde edilir olmasıdır. Günümüzde tüketicilerin doğal ürünlere yönelmiş olduğu göz önünde bulundurulursa, doğal zeytin yağının mükemmel organoleptik ve besinsel kalitesi ile gittikçe artan bir düzeyde tercih edildiği bilinen bir gerçektir (70). Tablo 10’ da zeytin yağının yağ asiti bileşimi gösterilmiştir.

Tablo 10. Zeytin yağının yağ asiti bileşimi (70)

Yağ asiti	Miktarı (%)
Palmitik asit	7.5- 20
Stearik asit	0.5-5.0
Oleik asit	55-83
Palmitoleik asit	0.3-3.5
Linoleik asit	3.5-21
Linolenik asit	≤ 1,0
Araşidik asit	≤ 0,6
Gadoleik/ eikosenoik asit	≤ 0,4

Zeytin yağı, vücut için önemli bir gereksinim olan fakat vücut tarafından sentezlenemeyen temel yağ asitleri ile sadece yağda eriyebilen bazı temel vitaminlerin (A, D, E, K) kaynağıdır. Kalp ve damar hastalıklarında temel risk faktörü olan ve damar tıkanıklığına yol açan LDL-kolesterolü azaltırken, yararlı ve koruyucu konumdaki HDL-kolesterol miktarını değiştirmez. Bu özelliğinden dolayı, kalp sağlığı açısından oldukça önemlidir ve ayrıca kan damarlarındaki pıhtılaşma riskini de azalttığı belirtilmiştir (71).

Ülser ve gastrit gibi mide hastalıklarına, midedeki asitlik seviyesini düşürdüğü için iyi gelir. Safra taşı oluşma riskini azaltır ve taşların erimesine yardımcı olur. Ayrıca

bağırsak hareketlerini düzenleyici bir etkisi de vardır. Diğer yağlara kıyasla en dengeli kimyasal kompozisyona sahip olduğundan dolayı kemik gelişimine yardımcı olur. Zeytin yağı %75– 80 civarlarında oleik asit gliserinleri taşır. Oleik asit, insan sütündeki en önemli yağ asididir ve bebeğin sinir dokularının gelişiminde temel bir işleve sahiptir. Doku yaşlanmasını önler ve yaşlanmanın, beyinin işletim sistemindeki yıpranmalara karşı yardımcıdır. İçerdiği tokoferol-E vitamini sebebiyle de yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır (71).

4.2.2 Ayçiçek Yağı ve Özellikleri

Ayçiçek yağı, yağ oranı % 39- 45 arasında değişen ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinin tohumlarından presleme, özütleme vb. işlemlerden geçirildikten sonra rafinasyona tabi tutularak elde edilen, berrak, sıvı halde ve yağ asitlerinin yapısını değiştirmek amacıyla esterleştirilmemiş bir yağdır. Ayçiçek yağının bazı özellikleri Tablo 11’ de gösterilmiştir. Ayçiçek yağı, % 15 doymuş yağ ve % 85 doymamış yağ asidi içermektedir (72). Ayçiçek yağındaki yağ asitlerinin dağılımı Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Ayçiçek yağının özellikleri (73)

Renk	Açık sarı
Dansite (20 °C)	0,9142-0,9199
Kırılma indisi (20°C)	n_{D25} : 1,472-1,474 n_{D40} : 1,466-1,468
Viskozite (20 °C)	61,6-63,4
İyot indisi	125-136
Sabunlaşma indisi	188-194
Asitlik indisi	0.6
Sabunlaşmayan madde	% 1.5' in altında
Peroksit sayısı	10.0 (meq/ kg)

Tablo 12. Ayçiçek yağındaki yağ asitlerinin dağılımı (74)

Yağ asiti	Ayçiçek yağı(%)	Ayçiçek yağı (%) (yüksek oleik asitli)
Palmitik asit	4.0-7.6	2.6-5.0
Stearik asit	2.1-6.5	2.9-6.2
Oleik asit	14.0-71.8	75-90.7
Linoleik asit	18.7-74.0	2.1-17
Araşidik asit	0.1-0.5	0.2-0.5
Eikosenoik asit	0.3	0.1-0.5
Behenik asit	0.3-1.5	0.5-1.6

4.2.3 Mısır Yağı ve Özellikleri

Mısır yağı, Graminae familyasından *Zea mays* mısır tanelerinin rüşeyminden, ezicilerle ve çözücü ekstraksiyonu elde edilen bitkisel bir yağdır. Mısır tohumu sadece %5 yağ içermektedir, bu nedenle mısır yağı doğrudan mısır tohumundan üretilmemektedir. Bunun yerine, bir takım tekniklerle taneden ayrılan mısır rüşeymi tercih edilmektedir. Rüşeym, tahılın yeni bir başka bitki oluşturmak üzere çimlenebilir yeteneğe sahip olan embriyosunu oluşturmaktadır (75). Mısır yağına ait bazı özellikler Tablo 13’ de gösterilmiştir.

Tablo 13. Mısır yağının karakteristik özellikleri (76)

Özgül ağırlık, 25°C	0,915-0,920
Kırılma indisi, 25°C	1,470-1,474
İyot sayısı	103-128
Sabunlaşma sayısı	187-193
Sabunlaşmayan madde miktarı, %	1,1-2,0

Ayrıca mısır yağı koenzim Q içeren nadir yağlardan biridir. Yağın çabuk bozulup, acılaşmasını önleyen koenzim Q bileşeni mısır yağında 200 mg/ kg miktarında bulunur. Ayrıca mısır yağında başta fenolik bileşikler olmak üzere antioksidan etkisi olan birçok madde bulunmaktadır (76).

Mısır yağının yağ asiti kompozisyonu; tohum çeşidine, iklim koşullarına ve yetiştirme sezonuna bağlı olarak farklılık göstermektedir. Soğuk bölgelerde, Birleşmiş Milletler’ de üretilen mısır yağının, %59.8 oranında linoleik asit içeriği ile, en yüksek çoklu doymamış yağ asitine sahip olduğu bilinmektedir (77). Mısır yağının yağ asiti bileşimi Tablo 14’ de gösterilmiştir.

Tablo 14. Mısır yağının yağ asiti bileşimi (77)

Yağ Asiti	Miktarı (%)
Palmitik asit	8,0-12,0
Stearik asit	2,0-5,0
Oleik asit	19,0-49,0
Linoleik asit	34,0-62,0
Linolenik asit	1,0-1,8
Araşidonik asit	0-1,0

4.2.4 Fındık Yağı ve Özellikleri

Fındık ham yağı, fındık meyvesinden fiziksel işlemler ve ekstraksiyonla elde edilen, kimyasal işlem görmemiş, oleik esaslı bitkisel bir yağdır. Diğer bitkisel yağlara oranla oleik esaslı, yani tek çifte bağ yapısında olması sebebi ile vücutta parçalanması ve sindirimi kolay, erime noktası düşük ve bilinen bütün sıvı yağlara göre oksitlenme ve acılaşma süreleri de daha uzundur. Fındık yağına ait bazı özellikler Tablo 15’ de gösterilmiştir.

Tablo 15. Fındık yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri (77)

Yoğunluk (20°C) [g/ cm ³]	0,912
Kırılma indeksi (20 °C) [nD]	1,469
Viskozite (20 °C) [cP]	78
İyot İndisi	85
Sabunlaşma sayısı [mg KOH/ kg]	191

Fındık ve fındık yağı, E vitamininin bilinen en iyi kaynağıdır. Bu vitaminin kalp kası ve diğer kasların sağlığı ve üreme sisteminin normal çalışması için gereklidir. Ülkemizde yaygın olan kansızlığa karşı koruyucu etki oluşmasını veya oluştuktan sonra onları etkisiz hale getirerek kanser hastalığına karşı korumasını da alyuvarların parçalanmasını önleyerek sağlar. Ayrıca, çift bağlı doymamış yağ asidinin az olması

vücutta özellikle kalp dokularındaki hücrelerin korunmasını sağlamaktadır (77). Fındık yağının yağ asiti bileşimi Tablo 16’ da gösterilmiştir.

Tablo 16. Fındık yağının yağ asiti bileşimi (78)

Yağ Asiti	Miktarı
Palmitoleik Asit	1,15
Stearik Asit	2,67
Oleik Asit	71-91
Linoleik Asit	5,70-22,20
Araşidik Asit	0,10
Palmitik Asit	4,32-8,89

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1 Gereçler

5.1.1 Araştırmanın Özellikleri

Çalışmaya 06-03-2011 tarihinde başlandı ve 05-04-2012 tarihinde bitirildi. Araştırmanın bütün basamakları Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında deneysel olarak yapıldı ve kullanılan bitkisel yağlar dışında araştırmada kullanılan tüm cihaz ve malzemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarından temin edildi. Kullanılan bitkisel yağlar ise 05-03-2011 tarihinde Trabzon ilinde bulunan bir marketten temin edilerek market poşetinde taşındı ve karanlıkta muhafaza edildi.

5.1.2 Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Çalkalayıcı inkübatör (Biolab SHEL Lab Shaking Incubator), etüv (Gallenkamp Plus Oven), hassas terazi (METTLER TOLEDO AB204-S), manyetik karıştırıcı (Termal), mikrosantrifüj (Thermo Electron Corporation IEC Micromax Microcentrifuge), mikrolekt okuyucu (Molecular Devices Versa max microplate reader), pH metre (Hanna Instruments), santrifüj (Eppendorf Centrifuge 5810), termomikser (Eppendorf 1,5 ml Thermomixer Comfort), vorteks (IKA genius 3), blendır, otomatik pipetler (Socorex Acura 825 autoclavable 100-1000 µL, 10-100µL, 1-10 µL), çoklu otomatik pipetler (Socorex Acura 855 autoclavable 40-350 µL, 5-50 µL), mavi pipet ucu (200-1000 µL), sarı pipet ucu (0-200 µL), beher, balon joje, cam pipet, cam şişe gibi çeşitli cam malzemeler, piset, eppendorf tüpler (1.5 ml), falkon tüpler (15 ml ve 50 ml), kurutma kağıdı, magnetik bar, tüp sporu, parafilm, rende, kurutma kağıdı, huni, 96' kuyucuklu pleytler ve buzdolabı (+4 °C).

5.1.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Gallik asit (G7384) ve Demir (III) klorür (Fe₃Cl) (F7134) (Sigma, Germany).

Potasyum hekzasiyanoferrat (III) (K₃Fe(CN)₆) (13746-66-2) ve Sodyum karbonat (Na₂CO₃) (13098) (Lancaster, England).

Folin& Ciocalteu's fenol reaktifi, 2N (F9252, Sigma- Aldrich, USA).

Aluminyum nitrat nonahidrat ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (06274), Kuersetin dihidrat (83370) ve Troloks (($\pm$)-6-Hydroxy- 2,5,7,8- tetramethylchromane- 2 -carboxylic acid) (56510) (Fluka, Switzerland).

Potasyum asetat (KCH_3COO) (K32043020), Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (K1305445), Disodyum hidrojen fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (K16290176), Metanol (Merck, Germany).

Trikloroasetik asit (AB119247) (ABCR, Karlsruhe, Germany).

Etanol (Sigma, Germany).

pH metre kalibrasyon çözeltileri (4.01, 7.00, 9.18) ve saf su.

5.2 Yöntemler

5.2.1 Propolis Örneklerinin ve Yağların Temini

Propolis numuneleri Türkiye'nin çeşitli yörelerinden toplanarak temin edildi. Propolisler kullanılıncaya kadar -20°C de muhafaza edildi.

Yemeklik bitkisel yağ olarak piyasada satılan ayçiçek yağı (Emek, Bursa), fındık yağı (Çotanak, Ordu), mısır yağı (Kristal, Bornova), ve sızma zeytin yağı (Tariş, İzmir) Trabzon ilinde bulunan bir marketten temin edildi.

5.2.2 Propolis Ekstraktlarının Hazırlanması

Derin dondurucuda -20°C ' de dondurulan doğal propolis rendelendi ve tekrar -20°C ' de donduruldu. Rendelenen propolis blendırda toz haline getirildi ve toz haline getirilen propolis hassas terazide 0.5' er g tartılıp 50 ml' lik beş ayrı falkon tüpüne aktarıldı. Her bir falkon tüpe 20' şer ml saf haldeki ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı, zeytin yağı ve metanol ilave edilerek beş ayrı çözücü ile muamele edilen propolis örnekleri vortekslendi ve ardından çözünmesi için çalkalayıcı inkübatöre konularak 60°C ' de 150 rpm' de 24 saat boyunca sürekli çalkalanarak inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra propolis ekstraktları 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi ve süzgeç kağıdı kullanılarak süzüldü. Böylece 25 mg/ ml' lik ayçiçek yağı, fındık yağı,

mısır yağı, zeytin yağı ve metanollü stok propolis ekstraktları hazırlanmış oldu. Hazırlanan yağlı propolis ekstraktları Şekil 6’da gösterilmiştir

Hazırlanan yağlı ekstraktların faz ayrımı için, dört falkon tüp alındı ve öncelikle ayrı ayrı tüplere 5’ er ml ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı, zeytin yağı propolis ekstraktları konuldu, daha sonra herbir falkon tüpüne 5’ er ml metanol eklendi ve 20 dakika vortekslendi. Ardından 2500 rpm de 10 dk santrifüj edilerek üstteki süpernatant kısımları alındı, yağ fazı böylece ayrılmış oldu ve çalışmada bu süpernatant kısımları kullanıldı. Çalışma boyunca propolis ekstraktları buzdolabında +4 °C’ de ve karanlıkta muhafaza edildi.



Şekil 6. Hazırlanan yağlı propolis ekstraktlarının faz ayrımı yapılmadan önce etanol ve DMSO’ lu propolis ekstraktları ile yanyana görüntüleri

5.2.3 Ekstraktlarda Toplam Polifenol Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktların toplam polifenol miktarı, modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu spektrofotometrik metoduna göre belirlendi. Metod, fosfotungstik asitin ($H_3P[W_3O_{10}]_4$) bazik çözeltide fosfotungstik mavisine indirgenmesi esasına dayanır. Oluşan fosfotungstik mavisinin absorbanşı, aromatik fenolik grupların sayısı ile orantılıdır ve toplam polifenol miktarının belirlenmesi için standart olarak gallik asit kullanılır (79).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

- % 20' lik Na_2CO_3 Çözeltisinin Hazırlanışı: 10 g Na_2CO_3 tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 50 ml' ye tamamlandı.
- 1:10 Folin-Ciocalteu Reaktifinin Hazırlanışı: 1 ml 2 N Folin-Ciocalteu reaktifi, 9 ml saf su eklenerek 1:10 oranında seyreltilti. Tayin öncesi hazırlanarak, taze olarak kullanıldı.
- Standartların Hazırlanışı : 0.01 g gallik asit 1 ml saf su ile çözülerek 10 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' lik gallik asit standardı elde edildi. Bundan 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' lik standart hazırlanarak saf su ile çözülmüş 150, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 ve 1.5625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' lik gallik asit standartları meydana getirildi.

Deneyin Yapılışı

Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktları (elde edilen süpernatantlar) (A) ve körleri 1:50 oranında metanol ile seyreltilti.

Tablo 17' deki pipetlemeler 96 kuyucuklu mikropleytlerde yapıldı.

Tablo 17. Propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktlarında toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi

	Kör	Numune	Standart
AY/ FY/ MY/			
ZY/ Su/ Metanol	12.5 μl	-	-
AY' lı/ FY' lı/ MY' lı/	-	12.5 μl	-
ZY' lı ekstraktlar			
Standart	-	-	12.5 μl
1:10 Folin-Ciocalteu Reaktifi	62.5 μl	62.5 μl	62.5 μl
% 20' lik Na_2CO_3	125 μl	125 μl	125 μl

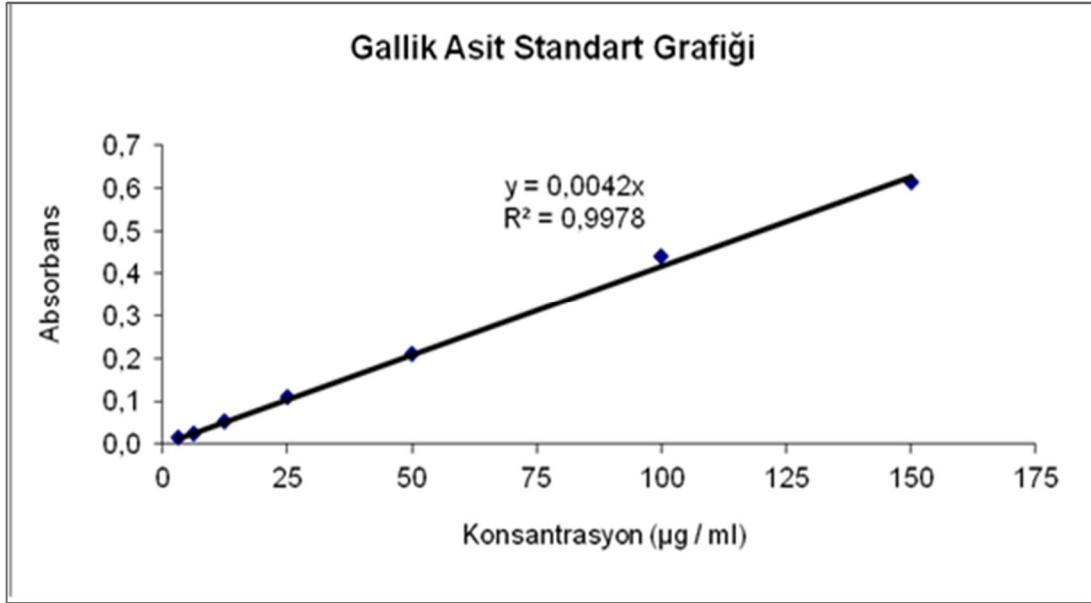
Oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika inkübe edildi.

700 nm' de mikropleyt okuyucuda absorbans ölçüldü.

*AY: Ayçiçek yağı, FY: Fındık yağı, MY: Mısır yağı, ZY: Zeytin yağı

*AY' lı: Ayçiçek yağı, FY' lı: Fındık yağı, MY' lı: Mısır yağı, ZY' lı: Zeytin yağı propolis ekstraktları

Sonuçlar gallik asit standart grafiğinden yararlanılarak $\mu\text{g/ml}$ cinsinden hesaplandı. Aşağıdaki bağıntı kullanılarak mg gallik asit/ g propolis şekline dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı ($n = 3$).

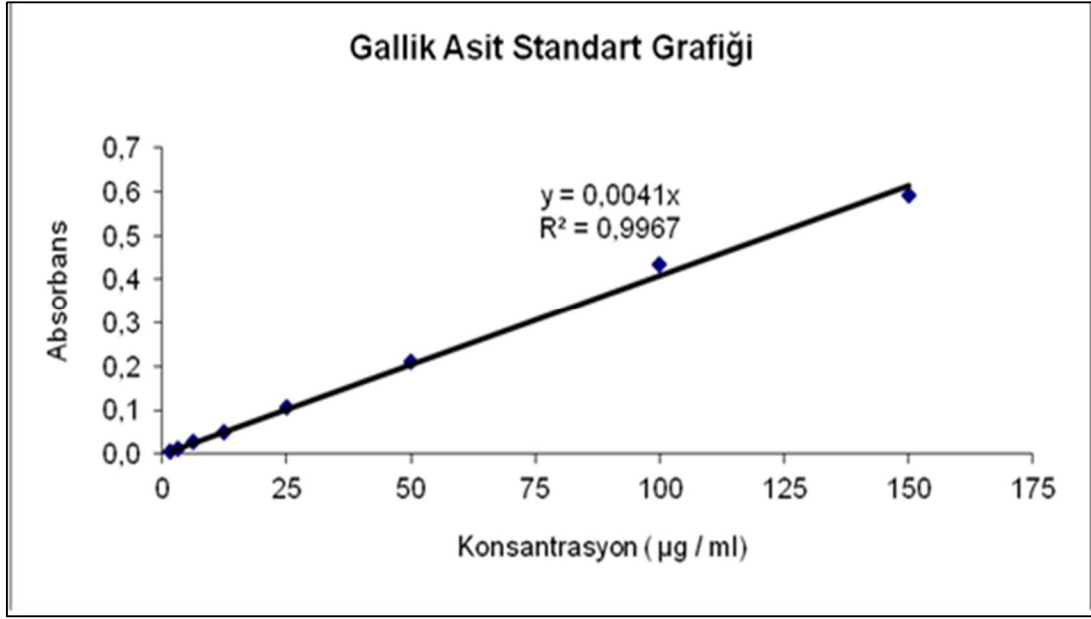


Şekil 7. Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında toplam polifenol içerik tayini için gallik asit standart grafiği

Propolisin metanollü ekstraktı (B) ve körü 1:50 oranında metanol ile seyreltilti.

Tablo 17' deki pipetlemelerde olduğu gibi kör olarak metanol ve su, numune olarak propolis-metanol ekstraktı kullanıldı. Diğer pipetlemeler aynen uygulandı.

Sonuçlar gallik asit standart grafiğinden yararlanılarak $\mu\text{g/ ml}$ olarak hesaplandı. mg Gallik asit/ g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı ($n = 3$).



Şekil 8. Metanol-Propolis ekstraktında toplam polifenol içerik tayini için gallik asit standart grafiği

Net absorbans = Ortalama absorbans – Kör absorbansı

Toplam polifenol miktarı (mg gallik asit/ g propolis):

Net absorbans	Dilüsyon katsayısı (50)
----- x -----	
Standart grafiğindeki x' in katsayısı	25

Çalışmamızda yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında toplam polifenol içerik tayini standart grafiğindeki x in katsayısı Şekil 7' ye göre 0.0042, metanol-propolis ekstraktında toplam polifenol içerik tayini standart grafiğindeki x' in katsayısı ise Şekil 8' e göre 0.0041 olarak bulundu. Buradaki 25 rakamı 25 mg/ ml' lik propolis ekstraktından dolayıdır.

Propolisin metanollü ekstraktının toplam polifenol içeriğinden (B), yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarının toplam polifenol içeriği (A) çıkarılarak propolisin yağ ekstraktlarının toplam polifenol içeriği hesaplandı.

Propolisin Yağ Ekstraktlarının Toplam Polifenol İçeriği=B-A

5.2.4 Ekstraktlarda Toplam Flavonoid İÇerik Tayini

Ekstraktların toplam flavonoid içeriği, Alüminyum klorür kolorimetrik metodu ile belirlenmiştir. Metodun prensibi, $AlCl_3$ 'ün flavonlar ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil grupları ile asitte kararlı kompleksler oluşturması esasına dayanmaktadır. Buna ek olarak, $AlCl_3$, flavonoidlerin A- veya B- halkalarının orto-dihidroksil grupları ile kompleks oluşturur (80). Bu metoda göre standart olarak kuersetin kullanılır (81).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

- % 80' lik Etanol Çözeltisinin Hazırlanışı: 80 ml' lik saf etanolün hacmi saf su ile 100 ml' ye tamamlandı.
- % 10' luk $Al(NO_3)_3$ Çözeltisinin Hazırlanışı: 2.5 g $Al(NO_3)_3$ tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 25 ml'ye tamamlandı.
- 1 M KCH_3COO Çözeltisinin Hazırlanışı: 2.454 g KCH_3COO tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 25 ml' ye tamamlandı.
- Standartların Hazırlanışı : 0.01 g kuersetin 802 µl saf etanol ile çözülerek hacmi saf su ile 1000 µl' ye tamamlandı. 10 000 µg/ ml' lik kuersetin standardı elde edildi. Hazırlanan 10 000 µg/ ml' lik kuersetin standardından, 1000 µg/ml' lik standart hazırlanarak % 80' lik etanol ile çözülmüş 100, 75, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 ve 1.5625 µg/ml' lik kuersetin standartları meydana getirildi.

Deneyin Yapılışı

Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktları (elde edilen süpernatantlar) (A) ve körleri 1:20 oranında metanol ile seyreltildi.

Tablo 18' deki pipetlemeler 96 kuyucuklu mikroyetlerde yapıldı.

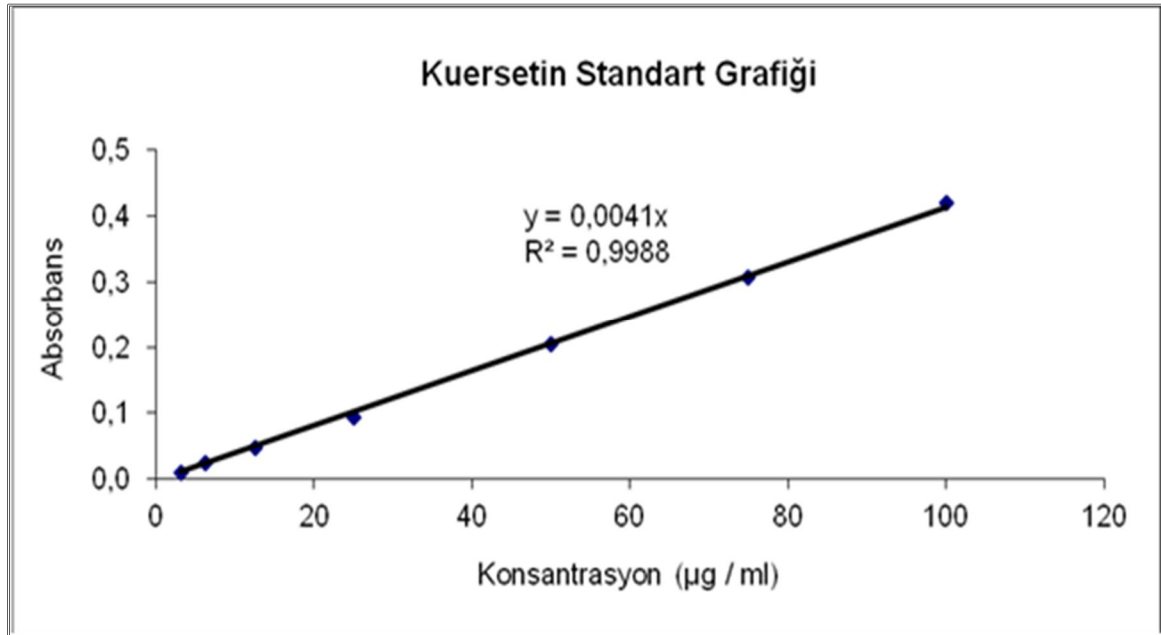
Tablo 18. Propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktlarında toplam flavonoid içeriğin belirlenmesi

	Kör	Numune	Standart
% 80' lik Etanol/ AY/ FY/ MY/ ZY /Metanol/ Su	20 µl	-	-
AY' lı/ FY' lı/ MY' lı/ ZY' lı ekstraktlar	-	20 µl	-
Standart	-	-	20 µl
% 80' lik Etanol	172 µl	172 µl	172 µl
% 10' luk Al(NO ₃) ₃	4 µl	4 µl	4 µl
1 M KCH ₃ COO	4 µl	4 µl	4 µl
Oda sıcaklığında, karanlıkta 40 dakika inkübe edildi.			
415 nm' de mikropleyt okuyucuda absorbans ölçüldü.			

*AY: Ayçiçek yağı, FY: Fındık yağı, MY: Mısır yağı, ZY: Zeytin yağı

*AY' lı: Ayçiçek yağı, FY' lı: Fındık yağı, MY' lı: Mısır yağı, ZY' lı: Zeytin yağı propolis ekstraktları

Sonuçlar kuersetin standart grafiğinden yararlanılarak µg/ ml olarak hesaplandı. mg Kuersetin/ g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı (n = 3).

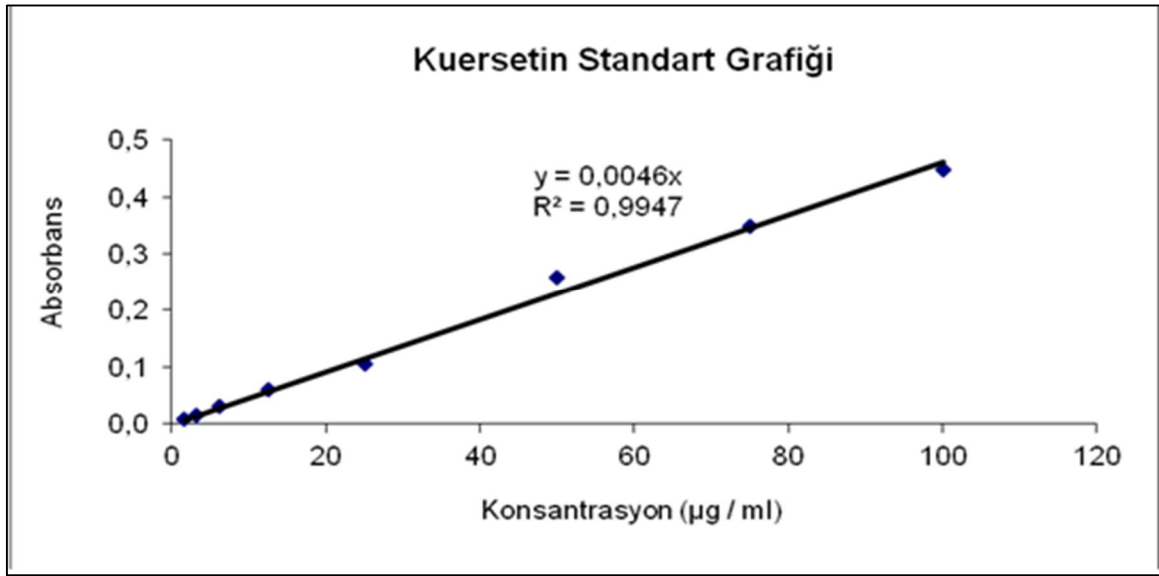


Şekil 9. Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında toplam flavonoid içerik tayini için standart grafiği

Metanol-propolis ekstraktları (B) ve körleri 1:20 oranında metanol ile seyreltildi.

Tablo 18’ da ki pipetlemelerde olduğu gibi kör olarak %80 lik etanol, metanol ve su; numune olarak propolis-metanol ekstraktı kullanıldı. Diğer pipetlemeler aynen uygulandı.

Sonuçlar kuersetin standart grafiğinden yararlanılarak $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak hesaplandı. mg Kuersetin/ g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı ($n = 3$).



Şekil 10. Metanol-propolis ekstraktında toplam flavonoid içerik tayini için kuersetin standart grafiği

Net absorbans = Ortalama absorbans – Kör absorbansı

Toplam flavonoid miktarı (mg kuersetin/ g propolis):

$$\frac{\text{Net absorbans}}{\text{Dilüsyon katsayısı (20)}} \times \text{Standart grafiğindeki } x' \text{ in katsayısı} = 25$$

Çalışmamızda yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında toplam flavonoid içerik tayini standart grafiğindeki x' in katsayısı Şekil 9’ a göre 0.0041, metanol-propolis ekstraktında toplam flavonoid içerik tayini standart grafiğindeki x' in

katsayısı ise Şekil 10' a göre 0.0046 olarak bulundu. Buradaki 25 rakamı 25 mg/ ml' lik propolis ekstraktından dolayıdır.

Propolisin metanollü ekstraktının toplam flavonoid içeriğinden (B), yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarının toplam flavonoid içeriği (A) çıkarılarak propolisin yağ ekstraktlarının toplam flavonoid içeriği hesaplandı.

Propolisin Yağ Ekstraktlarının Toplam Flavonoid İçeriği=B-A

5.2.5 Ekstraktlarda Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç Tayini

Antioksidanlar gibi indirgen maddelerin varlığı Fe^{+3} -ferrisiyanür kompleksinin Fe^{+2} ye indirgenmesine neden olmaktadır. Bu metotta, test edilen örneğin indirgenme gücüne bağlı olarak test çözeltisinin rengi sarıdan yeşile döner. Oluşan yeşil renk 700 nm' de maksimum absorbands verir ve artan absorbands artan indirgenme kuvvetini gösterir (82). Bu metoda göre standart antioksidan bileşik olarak troloks kullanılır (83).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

- 0.2 M pH: 6.6 Fosfat Tamponu Hazırlanışı: 2.137 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ve 1.121 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ tartılarak karıştırıldı. Saf su eklenerek 90 ml' ye kadar çözüldü. Daha sonra pH' sı 6.6' ya ayarlanarak hacmi saf su ile 100 ml' ye tamamlandı.
- % 1' lik $K_3Fe(CN)_6$ Çözeltisinin Hazırlanışı : 1 g $K_3Fe(CN)_6$ tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- % 10' luk TCA Çözeltisinin Hazırlanışı : 5 g TCA tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 50 ml' ye tamamlandı.
- % 0.1' lik $FeCl_3$ Çözeltisinin Hazırlanışı : 0.1 g $FeCl_3$ tartıldı, saf su ile çözülerek hacmi 100 ml' ye tamamlandı.
- Standartların Hazırlanışı : 0.001 g troloks 1 ml saf etanol ile çözülerek 1000 $\mu g/ ml'$ lik troloks standardı elde edildi. Hazırlanan 1000 $\mu g/ ml'$ lik standarttan saf etanol ile çözülmüş 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.813, 3.906, 1.953 ve 0.977 $\mu g/ ml'$ lik troloks standartları hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktları (elde edilen süpernatantlar) (A) ve körleri 1:100 oranında metanol ile seyreltildi.

Deney modifiye edilerek spektrofotometrik kuvvetler yerine Tablo 19’ da ki pipetlemelerin ilk altı aşaması 1,5 ml’ lik ependorflarda, sonraki aşamalar ise 96 kuyucuklu mikropleytlerde yapıldı (84).

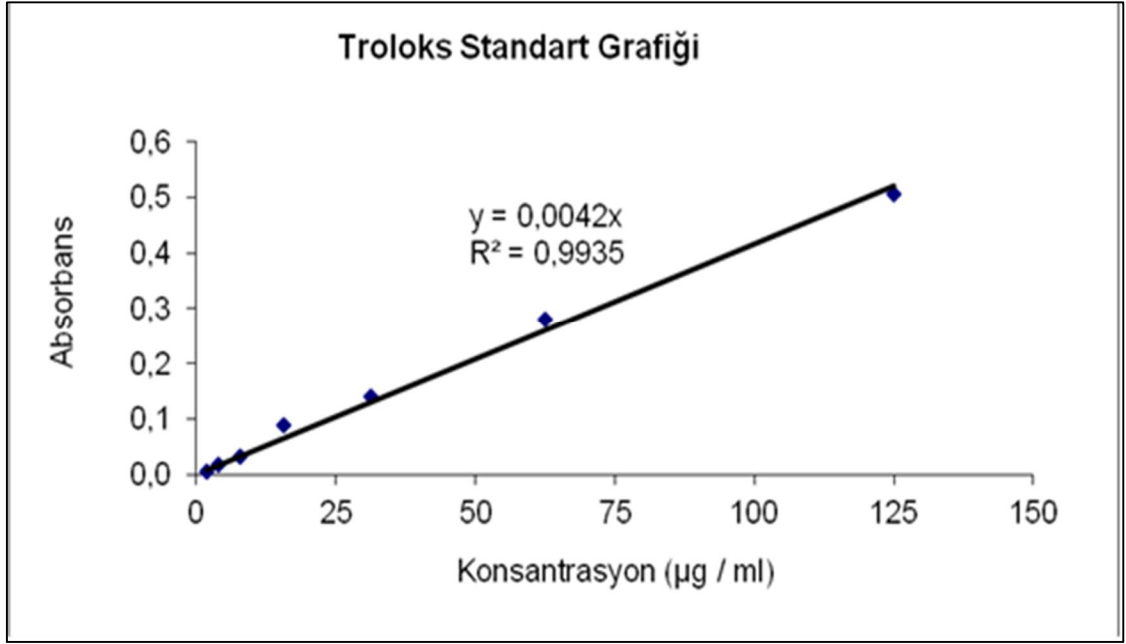
Tablo 19. Propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktlarında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini

	Kör	Numune	Standart
AY/ FY/ MY/ ZY/			
Etanol/ Metanol	40 µl	-	-
AY’lı/ FY’lı/	-	40 µl	-
MY’ lı/ ZY’ lı ekstraktlar			
Standart	-	-	40 µl
0.2 M pH: 6.6 Fosfat Tamponu	100 µl	100 µl	100 µl
% 1’ lik $K_3Fe(CN)_6$	100 µl	100 µl	100 µl
50 °C’ de 20 dakika inkübe edildi ve soğutuldu			
% 10’ luk TCA	100 µl	100 µl	100 µl
3000 g’ de 10 dakika santrifüj edildi.			
Üstteki fazlardan 100’ er µl alınarak 96 kuyucuklu mikropleyte aktarıldı.			
Saf su	100 µl	100 µl	100 µl
% 0.1’ lik $FeCl_3$	20 µl	20 µl	20 µl
Oda sıcaklığında, karanlıkta 5 dakika inkübe edildi.			
700 nm’ de mikropleyt okuyucuda absorbans ölçüldü.			

*AY: Ayçiçek yağı, FY: Fındık yağı, MY: Mısır yağı, ZY: Zeytin yağı

*AY’ lı: Ayçiçek yağı, FY’ lı: Fındık yağı, MY’ lı: Mısır yağı, ZY’ lı: Zeytin yağı propolis ekstraktları

Sonuçlar troloks standart grafiğinden yararlanılarak µg/ml olarak hesaplandı. mg Troloks / g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı (n = 3).



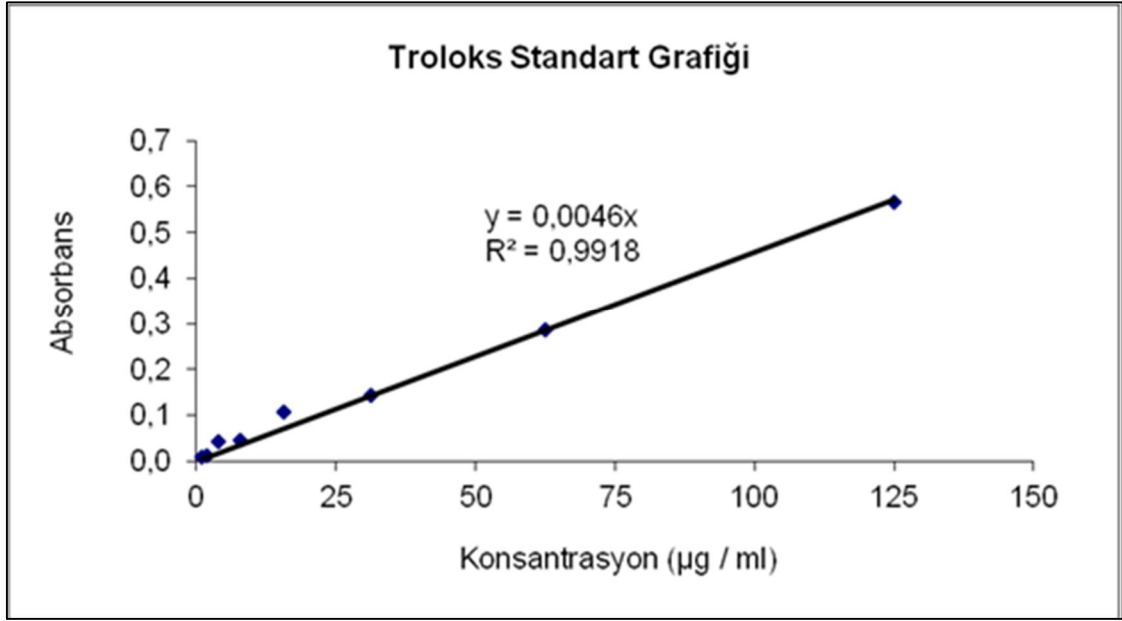
Şekil 11. Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troloks standart grafiği

Metanol-propolis ekstraktı (B) ve körü 1:100 oranında metanol ile seyreltilti.

Yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında olduğu gibi Tablo 19' da ki pipetlemelerde ilk altı aşaması 1,5 ml' lik ependorflarda, sonraki aşamalar ise 96 kuyucuklu mikropleytlerde yapıldı(84).

Tablo 19' da ki pipetlemelerde olduğu gibi kör olarak %80 lik etanol, metanol ve su; numune olarak propolis-metanol ekstraktı kullanıldı. Diğer pipetlemeler aynen uygulandı (84).

Sonuçlar troloks standart grafiğinden yararlanılarak $\mu g / ml$ olarak hesaplandı. mg Troloks / g propolis şekline aşağıdaki hesaplamayla dönüştürüldü. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlandı ($n = 3$).



Şekil 12. Metanol-propolis ekstraktında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini için troloks standart grafiği

Net absorbans = Ortalama absorbans – Kör absorbansı

Ekstraktlardaki Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç (mg troloks/ g propolis):

Net absorbans	Dilüsyon katsayısı (100)
----- x -----	
Standart grafiğindeki x' in katsayısı	25

Çalışmamızda yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini standart grafiğindeki x' in katsayısı Şekil 11' ye göre 0.0042, metanol-propolis ekstraktında demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini standart grafiğindeki x' in katsayısı ise Şekil 12' ye göre 0.0046 olarak bulundu. Buradaki 25 rakamı 25 mg/ml' lik propolis ekstraktından dolayıdır.

Propolisin metanollü ekstraktının demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücünden (B), yağlardan ayrılmış metanol-propolis ekstraktlarının demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücü (A) çıkarılarak propolisin yağ ekstraktlarının demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücü hesaplandı.

Propolisin Yağ Ekstraktlarının Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Gücü =B-A

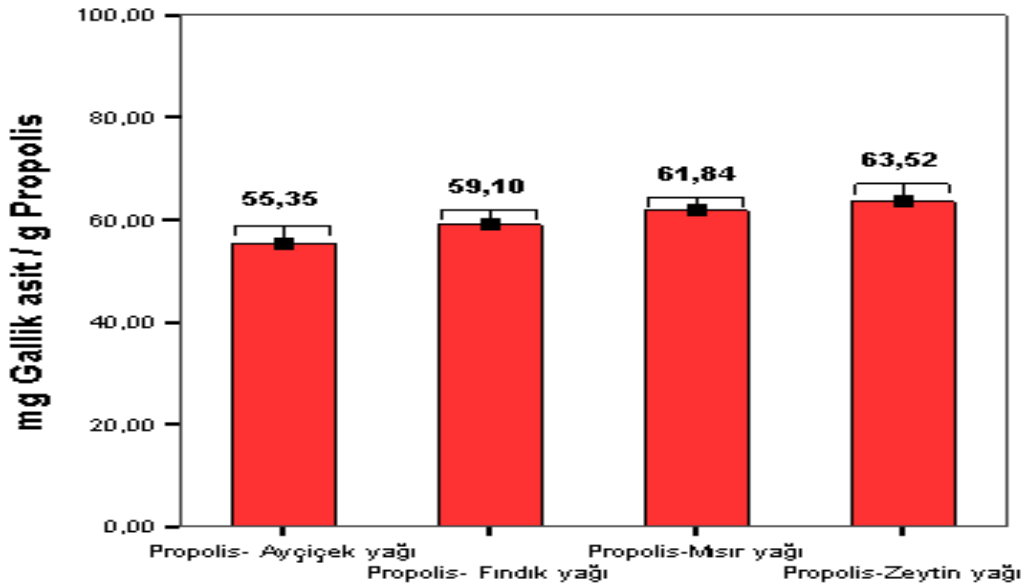
5.2.6 İstatistiksel Analiz

Elde edilen değerler, aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{x} \pm S.D$) olarak ifade edildi. Veriler SPSS 11.3 (Statistical Package for the Social Sciences) bilgisayar paket programına aktarılarak, istatistiksel değerlendirmeler yapıldı. Gruplar arasındaki ilişkinin ortaya konulabilmesi için veriler tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) ile değerlendirildi ve bu analiz sonuçlarına göre anlamlı çıkan gruplar arasında post-hoc Tukey analizleri kullanıldı. Toplam polifenol içerik, toplam flavonoid içerik ve demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç bakımından zeytin yağı, fındık yağı, mısır yağı ve ayçiçek yağı propolis ekstraktları arasında karşılaştırma yapıldı ve $p < 0.05$ olanlar anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1 Ekstraktlarda Toplam Polifenol İçerik Tayini Sonuçları

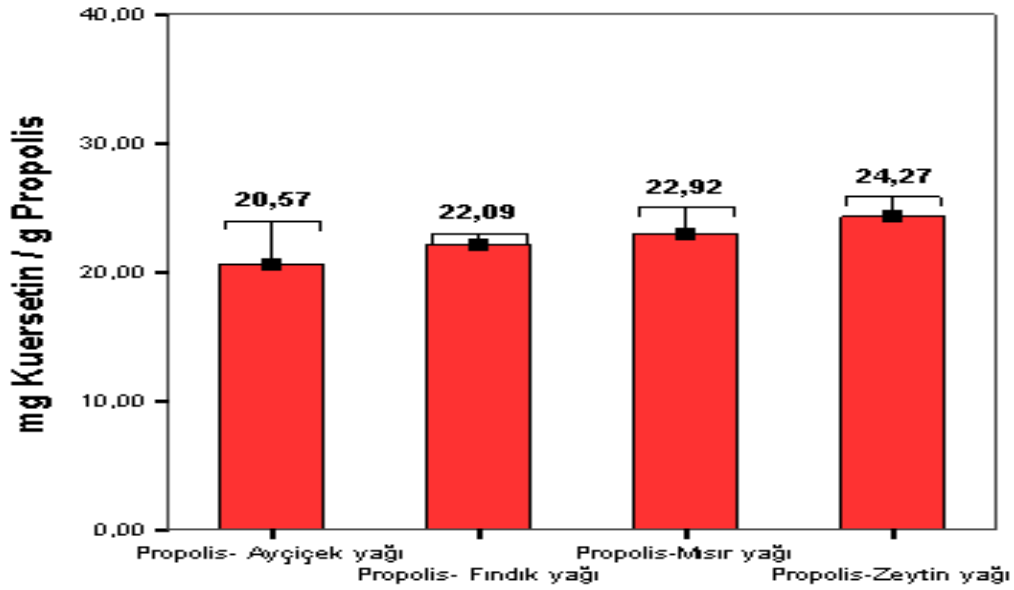
Propolisin zeytin yağlı ekstraktında toplam polifenol içeriği (63.52 ± 3.46 mg GA / g propolis), mısır yağlı (61.84 ± 2.56 mg GA / g propolis), fındık yağlı (59.10 ± 2.93 mg GA / g propolis) ve ayçiçek yağlı (55.35 ± 3.50 mg GA / g propolis) ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriğinden daha fazla bulundu. Ancak istatistiksel olarak yapılan analiz sonuçları ($F=3.203$, $p=0.093$) propolisin zeytin yağlı, mısır yağlı, fındık yağlı ve ayçiçek yağlı ekstraktlarının toplam polifenol içerik değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterdi. Ekstraktlarda toplam polifenol içerik sonuçları Şekil 13' de verilmiştir. Grafikte verilen değerler, ortalama $\pm$ standart sapma (SD) değerleridir.



Şekil 13. Propolisin ayçiçek yağlı, fındık yağlı, mısır yağlı ve zeytin yağlı ekstraktlarındaki toplam polifenol içerik (Ortalama $\pm$ SD mg GA / g propolis) miktarları

6.2 Ekstraktlarda Toplam Flavonoid İçerik Tayini Sonuçları

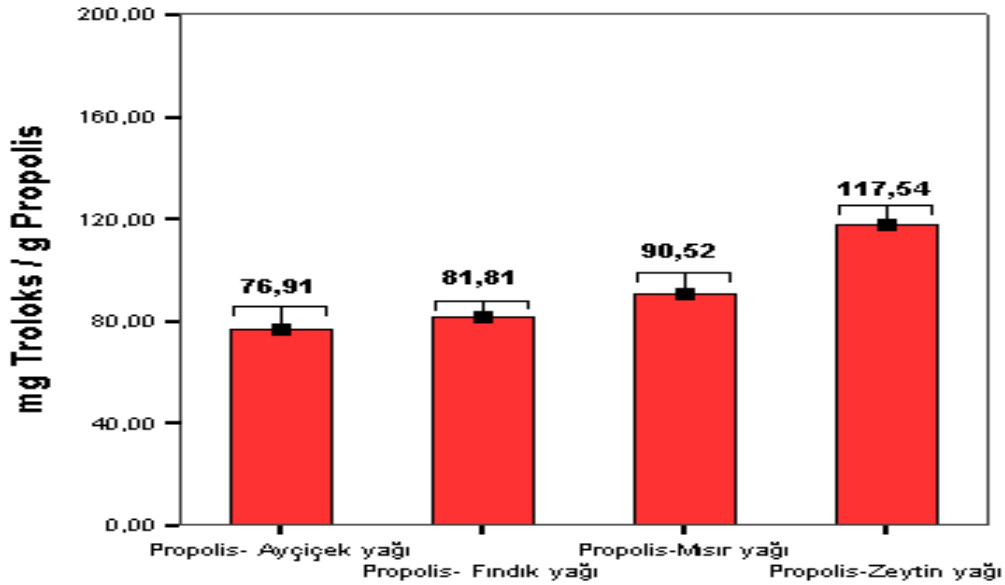
Propolisin zeytin yağlı ekstraktındaki toplam flavonoid içeriği (24.27 ± 1.54 mg K / g propolis), mısır yağlı (22.92 ± 2.13 mg K / g propolis), fındık yağlı (22.09 ± 0.86 mg K / g propolis) ve ayçiçek yağlı (20.57 ± 3.40 mg K / g propolis) ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriğinden daha fazla bulundu. Propolisin mısır yağlı (22.92 ± 2.13 mg K / g propolis) ve fındık yağlı (22.09 ± 0.86 mg K / g propolis) ekstraktlarının toplam flavonoid içeriği birbirine yakın değerler gösterdi. Propolisin ayçiçek yağlı, fındık yağlı, mısır yağlı ve zeytin yağlı ekstraktlarının arasında toplam flavonoid içeriği bakımından çok büyük farklar bulunmadı ve istatistiksel olarak yapılan analiz sonuçları ($F=1.493$, $p=0.288$) propolisin zeytin yağlı, mısır yağlı, fındık yağlı ve ayçiçek yağlı ekstraktlarının toplam flavonoid içerik değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterdi. Ekstraktlarda toplam flavonoid içerik sonuçları ekil 14' de verilmiştir. Grafikte verilen değerler, ortalama $\pm$ standart sapma (SD) değerleridir.



Şekil 14. Propolisin ayçiçek yağlı, fındık yağlı, mısır yağlı ve zeytin yağlı ekstraktlarındaki toplam flavonoid içerik (Ortalama $\pm$ SD mg K / g propolis) miktarları

6.3 Ekstraktlarda Demir (Fe^{+3}) İndirgeyici Güç Tayini Sonuçları

Propolisin zeytin yağı ekstraktının demir indirgeyici gücü (117.54 ± 7.88 mg T / g propolis), mısır yağı (90.52 ± 8.42 mg T / g propolis), fındık yağı (81.81 ± 6.32 mg T / g propolis) ve ayçiçek yağı (76.91 ± 8.82 mg T / g propolis) ekstraktlarındaki demir indirgeyici güçten daha yüksek bulundu. İstatiksel olarak yapılan analiz sonuçları ($F=11.808$, $p=0.010$) propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktları arasında demir indirgeyici güç bakımından anlamlı bir fark olduğunu gösterdi ve anlam seviyesini belirlemek için Tukey testi uygulandığında, propolisin zeytin yağı ile ayçiçek yağı ve zeytin yağı ile fındık yağı ekstraktlarının demir indirgeyici güç değerleri arasındaki farkın istatiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Ekstraktlarda demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayini sonuçları Şekil 15’ de verilmiştir. Grafikte verilen değerler, ortalama $\pm$ standart sapma (SD) değerleridir.



Şekil 15. Propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktlarındaki demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç (Ortalama $\pm$ SD mg T / g propolis) miktarları

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Propolis, çok eski zamanlardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Mısırlılar ölülerini mumyalamak için propolisin anti-çürük özelliğinden yararlanmıştır. Propolis, Yunan ve Romalı hekimler tarafından bir antiseptik ve sikatrizan ajan olarak kullanılmıştır. İnkalar, anti-ateş düşürücü bir ajan olarak propolisi kullanılmıştır ve 17. yüzyılda Londra farmakopelerde, resmi bir ilaç olarak propolis listelenmiştir. Kullanımı popüler bir ilaç olarak bugün de devam etmektedir, saf olarak ya da kozmetikte diğer doğal ürünler ile birlikte ve doğal besinlerin bileşenleri olarak bulunur (31).

Son yıllarda farklı coğrafik bölgelerden gelen çok sayıda örneğin analizinde, propolisin kimyasal bileşiminin oldukça değişken olmasına neden olduğunu ortaya koymuştur. Propolisin kimyasal çeşitliliğini bitki kökeni belirler. Propolisin kimyasal bileşimi, toplanma yerindeki yerel flora özgüllüğüne ve bu nedenle bölgenin coğrafik ve iklim özelliklerine bağlıdır (85). Propolisin koku, renk, yapı ve kimyasal bileşimi gibi parametreler farklı kaynaklardan toplanmasından kaynaklanır. Genellikle toplanma yerindeki bitki çeşitliliğine bağlı olarak polifenoller, terpenler, steroidler ve mumlar gibi çeşitli kimyasal bileşikler içerir (30).

Propolis, patojen mikroorganizmalara karşı arıların en önemli kimyasal silahı olduğundan insanlar tarafından çok eski zamanlardan beri ilaç olarak kullanılmaktadır. Balkan Devletlerinde hala en sık kullanılan ilaçlardan biridir (86). Bu sebeple propolis, son 30 yıldır yoğun bir şekilde farmakolojik ve kimyasal çalışmaların konusu olmuş durumdadır (85).

Propolisin insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri, bin yıl önce kabul edilmiştir. Antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar ve antioksidan biyolojik aktivitelerini içeren çok geniş bir kullanım alanı vardır (2).

Günümüzde toplumun bilinçlenmesiyle, sağlıklı yaşam için dengeli beslenmeye verilen önem artmaktadır. Tüketilen gıdaların çeşitliliğinin yanı sıra, doğal ve yeterli miktarda alınması gerekmektedir. Bu nedenle, insan sağlığı üzerine olumlu etkileri bulunan ve fonksiyonel besin maddeleri olarak bilinen besinlere olan talep artmaktadır (75). Son zamanlarda, propolis sağlığı geliştirmek ve hastalıkları önlemek için yiyecek ve içecekler içinde kullanılmaktadır (35).

Doğal ürünler, yeni ilaç keşfi için umut verici bir kaynaktır. Son yıllarda, propolisin kompozisyonu ve biyolojik özelliklerini ele alan birçok eser, bu arı ürünü üzerine araştırmacıların ilgisini ortaya çıkardığı gibi yeni ilaç geliştirmek için de iyi bir potansiyel olduğu açıklamıştır (31).

Propolisin bileşiminin çeşitlilik göstermesi, medikal uygulamalarında ve standardizasyonunda problem oluşturmaktadır. Bu nedenle propolis ile yapılacak olan biyolojik çalışmalar, o propolisin bitkisel kaynaklarının ve kimyasal bileşiminin belirlenmesi ile gerçekleştirilmelidir (14). Hatta uygun standardizasyon ile lisanslı bir ilaç üretilebilir ve tescil edilebilir. Fakat bu kolay değildir ama yapılması mümkündür ve yapılabilir. Propolis, bir arı (anlamı hayvansal) ürünü olarak kabul edilir, bitkisel bir ürün değildir, bu yüzden propolisin bitkisel ilaç olarak tescili için hukuki bir sorunu vardır (31).

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı' nda Trabzon ilinden toplanan propolis ve polen örnekleri ile daha önce çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Gerigelmez ve Çolak yaptıkları çalışmalar ile polenin sulu ve PBS' lu, propolisin ise DMSO' lu ekstraktlarının HL-60 miyeloid hücre serilerinde kaspaz-3 aktivitesini farklı oranlarda arttırarak kanser hücrelerini apoptoza sürüklediği flowsitometrik analizler sonucu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmalarda 0.25-0.50 mg/ml' lik DMSO' lu propolis ekstraktlarının HL-60 kanser hücrelerinde hem apoptoza hem de differansiasyona sebep olduğu bildirilmiştir (87, 88). Aliyazıcıoğlu ve arkadaşlarının KML-562 kanser hücrelerini kullanarak yaptıkları bir çalışmada ise polen ve propolisin DMSO ekstraktlarının konsantrasyona bağlı olarak solunumsal patlamayı inhibe ettiği flowsitometrik analizlerle belirlenmiş, ayrıca polen ve propolis ekstraktlarının bu etkiyi antioksidan özellikleri ile gerçekleştirdiği savunulmuştur (89).

Barlak tarafından yapılan bir çalışmada ise solunumsal patlama sonrası propolisin DMSO' lu ekstraktlarının PMN lökositlerinden PMN elastaz salınımına etkisi incelenerek, solunumsal patlamanın uyarıldığı PMA' lı örneklerde propolis konsantrasyonu arttıkça hem PMN elastaz salınımı hem de solunumsal patlamanın azaldığı, PMA' sız örneklerde ise PMN elastaz salınımının propolis ekstraktı ilave edilmeyenlere göre bir miktar azaldığı, ancak solunumsal patlamada bir farklılık

olmadığı tespit edilmiştir. Bu sayede propolisin antiinflammatuar aktiviteye sahip olduğu teyit edilmiştir (90).

Çolak tarafından yapılan başka bir çalışmada polen ve propolisin DMSO' lu ve sulu ekstraktlarının PC-3 prostat kanseri hücre serilerinde voltaj kapılı sodyum kanalları (VGSC) Nav 1.5 ve Nav 1.7 α izoformlarının mRNA ekspresyonlarını değişik oranlarda baskıladığı ve antimetastatik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, en yüksek baskılanmanın 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' lik polenin DMSO' lu ekstraktları ile (% 55.98 oranı ve % 53.31 oranında), en düşük baskılanmanın ise 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ' lik propolisin sulu ekstraktları ile (% 18.01 oranı ve % 22.58 oranında) olduğu saptanmıştır (24).

Barlak tarafından propolis ekstraktlarının prostat kanser hücre serilerinin proteomisine etkisinin incelendiği bir başka çalışmada ise propolisin DMSO' lu ekstraktının sulu ekstraktına göre polifenol, flavonoid içeriği ve antioksidan potansiyeli açısından daha zengin olduğu belirlenerek, propolisin 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyondaki DMSO' lu ve sulu ekstraktı ile yapılan MTT testi sonucunda hücre canlılığını sırasıyla % 50 ile 24.5 ve % 33.3 ile 17.7 arasında düşürdüğü ve dolayısıyla antioksidan potansiyeli daha düşük olan sulu ekstraktın daha fazla sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçta propolisin DMSO' lu ve sulu ekstraktlarının antioksidan aktivite beraberinde PC-3 hücrelerinin proteomunda değişikliğe sebep olarak, prostat kanseri hücre serileri üzerinde sitotoksik ve antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (35).

Demir tarafından yapılan çalışmada propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde H_2O_2 ile uyarılmış DNA hasarı üzerine etkisi comet assay yöntemi ile araştırılmış ve propolisin etanolik ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde, H_2O_2 kaynaklı DNA hasarını engellediği ve antigenotoksik aktiviteye sahip olabileceği sonucuna varılmıştır (91).

Propolisin biyolojik aktivitesinin esas sorumlusu flavonoidler gibi fenolik bileşiklerdir. Flavonoidler aynı zamanda antioksidan aktiviteden sorumludurlar. Bu bileşenlerin antioksidan aktivitesi esas olarak onların radikal süpürücü etkisine dayanır. Flavonoidlerin antibakteriyel, antiviral, antiinflammatuar, antialerjik ve vazodilatör

aktivitelerde dahil olmak üzere biyolojik aktivitelerini geniş bir yelpazede gösterdikleri bildirilmiştir. (92)

Son zamanlarda, günlük beslenmeye propolis çözeltileri eklenmesi, serbest radikallerin neden olduğu ateroskleroz, diyabet ve kanser gibi hastalıkların en büyük sebeplerinden biri olan oksidatif hasara karşı koruyucu rolü açısından dünya çapında önem kazanmıştır (30).

Miguel ve arkadaşları yaptıkları çalışmada propolisin üç tip ekstraktında (hidro-alkolik, metanolik ve sulu) dihidroflavonollar, flavanonlar, flavonollar ve fenoller bulunmuştur. Propolisin sulu ekstraktının, fenolik bileşikleri ekstrakte etmek için metanol ve su-etanol ekstraktlarından daha az etkili olduğu gösterilmiştir. Hidroalkolik ekstraktlar dihidroflavonollar, flavanonlar ve toplam fenollerin anlamlı olarak daha yüksek miktarlarda olduğu gösterilmiştir. Sadece flavonlar ve flavonolların içeriği metanolik ekstraktlarda daha fazla olduğu gösterilmiştir (93).

Metanol (Metil alkol, karbinol) CH_3OH moleküler formülüne sahip, en basit yapıli alkoldür. Saf metanol 1 atm' de 64.6 derecede kaynayan akışkan bir sıvı olup, parlak olmayan mavimsi bir alevle yanar. Bütün organik çözücülerde her oranda çözünür. Çok az miktardaki metanol dahi canlı organizma için zehirdir. Kalıcı yaralar, bozukluklar meydana getirir. 25 gram metanol içilirse insanlarda körlüğe neden olur (94).

Propolis ham halde kullanılamaz. Bu nedenle çözücülerle yapılan ekstraksiyon ile saflaştırılmalıdır. Bu ekstraksiyon sürecinde inert maddeler uzaklaştırılmalı, yararlı etkileri propolisin diğer bileşenlerinden çok daha fazla olan polifenolik kısımlar ise korunmalıdır (13).

Farklı çözücüler, farklı bileşenleri çözüp ekstrakte edeceği için propolis ekstraksiyon metodları, propolisin aktivitesini etkileyebilmektedir. Biyolojik ölçümlerde çok daha yaygın olarak kullanılan ekstraktlar, farklı konsantrasyonlardaki etanol, metanol ve sudur (14).

Propolis suda çok az çözünür. Genellikle alkolde (etanol, metanol) ve çok az miktarda hidrokarbonlarda çözünür. Eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen %95' lik alkolde büyük ölçüde çözünmektedir (27).

İlaç ve kozmetik sanayinde propolis etanol, gliserin, propilen glikol ve yağ olarak dört tip çözücü ile hazırlanarak kullanılır (17). Propolisin yağ ekstraktlarının kimyasal kompozisyonu ve biyolojik aktivitesi ile ilgili veriler azdır (16).

Çakıroğlu, çalışmasında çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünü incelemiş ve sonuçta propolisin su, etanol, DMSO, gliserol ve aseton olarak belirlenen beş çözücü ile ekstrakte edilmesinden sonra toplam polifenol ve flavonoid içerik ve antioksidan yöntemler beraberinde en iyi DMSO' da, daha sonra sırasıyla etanol, aseton ve gliserolde, en az suda çözündüğü kanaatine varmış ve yapılan HPLC analizleriyle de bu sonuçları desteklemiştir. Hücre serileriyle birlikte DMSO' lu ekstraktların kullanılması uygun iken hayvan ve insanlara ise gliserollü ve sulu ekstraktların verilmesinin daha uygun olabileceği görüşüne varmıştır. Yine aynı çalışmada liyofilize edilerek hazırlanan ekstraktlar kullanılmış ve normal ekstraktlarla arasında miktar bakımından çok fazla farklılık gözlenmediğini, liyofilize edilerek hazırlanan ekstraktlarda da en iyi çözünmenin DMSO' da, daha sonra etanolde ve son olarak da suda gerçekleştiği belirlemiştir. Dolayısıyla propolisi bu üç çözücüde normal şekilde çözmek ile liyofilize ettikten sonra çözmek arasında çok büyük fark olmadığı sonucuna varmıştır (95).

Propolisin etanolik formülasyonlarının, şeker hastalığı gibi tıbbi nedenlerden alkol tüketemeyen kişiler tarafından tüketimi önlenmelidir. Yeni metotlar veya etanol dışındaki propolis ekstraktları için birçok patent alınmıştır. Bu patentlerde propolisin ekstraksiyon çözücüsü olarak yenilebilir bitkisel yağlar, trigliserid ve yağ asitlerinin kullanıldığı bildirilmiştir (16).

Yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak propolisin su ve etanol ekstraktları üzerinedir. Literatürde etanol, canlılar için kullanılabilecek ve propolisi en iyi ekstrakte edici madde olarak gösterilmektedir. Fakat şeker hastaları, hamileler, çocuklar, karaciğer hastaları vb. kişiler için alkol tüketimi sakıncalıdır.

Hayvan ve insanlarda canlılar için zararsız olmasından dolayı su ve gliserolün kullanılabileceği belirtilmiştir (95). Fakat gliserolde bir alkol olduğundan alkol kullanımı sakıncalı olan kişilerde propolisin su ekstraktının kullanımı daha doğru olacaktır. Bitkisel yağlar propolisi sudan daha iyi ekstrakte ederse, alkol kullanması sakıncalı olan kişilerde propolisi yağlarla ekstrakte ederek gıda takviyesi, ilaç vb. olarak daha etkili ve güvenilir bir şekilde kullanımını sağlayabiliriz.

Fenolik bileşiklerin, bütün bitkisel yağların poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif stabilitesi için çok önemli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca doğal antioksidan bakımından zengin yemeklik yağlar kronik hastalıkların riskini azaltmada rol oynayabilir (63).

Bitkisel yağlar; serbest yağ asitleri, fenolik bileşikler, tokoferoller, steroller, stanoller, fosfolipidler, mumlar, skualen ve diğer hidrokarbonlar gibi bileşikleri, az miktarda içerirler (63).

Güzel' in yaptığı çalışmada yağ ekstraktlarında bulunan polifenol miktarlarının ölçülmesi sonucunda en fazla miktarda polifenol, saf zeytin yağında tespit edilmiştir. Bunu sızma zeytin yağı, riviera zeytin yağı, mısır yağı, ayçiçek yağı, fındık yağı, pamuk yağı ve en az olarak soya yağında olduğu tespit edilmiştir (64).

Tek bir propolis bileşeninin total ekstraktından daha büyük bir aktiviteye sahip olmadığı bu nedenle propolisin genel biyolojik özelliklerinin kendi bileşenlerinin doğal karışımından dolayı olduğu ileri sürülmektedir (14). Bu nedenle çalışmamızda, kullandığımız ekstraktların bileşenlerini tek tek izole edip her birinin ayrı ayrı etkisini incelemek yerine, total ekstraktı kullanmayı tercih ettik.

Propolisin zeytin yağlı ekstraktındaki toplam polifenol içeriği, flavonoid içeriği ve demir indirgeyici gücü, propolisin mısır yağlı, fındık yağlı ve ayçiçek yağlı ekstraktlarındaki toplam polifenol ve flavonoid içeriğinden, demir indirgeyici güçten daha fazla bulundu. Propolisin yağlı ekstraktları, istatistiksel olarak analiz edildiğinde toplam polifenol ve flavonoid içerikleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı görüldü, bu durumda aralarında fark yoktur demiyoruz, çünkü fark vardır fakat istatistiksel olarak ciddiye alınacak bir fark değildir. Propolisin yağlı ekstraktlarının demir indirgeyici güçleri istatistiksel olarak analiz edildiğinde ise zeytin yağlı ile ayçiçek yağlı ve zeytin yağlı ile fındık yağlı arasında anlamlı farklar bulunmuştur.

Yağlar, kloroform, metanol, hekzan, benzen, dietil eter gibi organik çözücülerde kolayca çözülebilmek özelliğindedir (60). Propolisin yağ ekstraktlarını spektrofotometrik olarak direkt ölçemediğimiz için ekstraktları seyreltmeyi tercih ettik, bunun için öncelikle kloroform ve hekzan kullandık, fakat bu maddelerin kimyasal özelliklerinden dolayı mikroplyet ile temas ettiğinde pleytte tahribat yaparak beyaz bir renk aldıklarını gördük. Ardından metanol kullanarak seyreltmeye çalıştığımızda bulanık bir renk aldı, bu şekilde spektrofotometrik olarak ölçüm yapılamayacağı için bu yöntemden de vazgeçtik. Daha sonra yağ ve metanol fazını ayırma esasına dayanan başka bir yöntem kullandık, bu yöntemde göre üstteki süpernatant kısmını kullanarak analizlerimizi gerçekleştirdik. Literatürde propolisi çözmek için metanol kullanılabileceği belirtilmiştir yani metanolün kendisi de propolisi ekstrakte edecektir, bu nedenle propolisin yağ ekstraktlarının metanol fazına geçen (süpernatant) kısmının toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici güç değerleri bulundu ve propolisin metanol ekstraktının toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici güç değerlerinden çıkarılarak propolisin yağ ekstraktlarının toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici gücü bulundu.

Literatürde propolisin farklı bitkisel yağlardaki çözünürlüğünün incelenmesi konusunda herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar direkt olarak herhangi bir literatür ile karşılaştırılamadı.

Propolisin zeytin yağı, mısır yağı, fındık yağı ve ayçiçek yağı ekstraktlarındaki toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici güç bakımından, Çakıroğlu tarafından yapılan çalışmada (95) kullanılan propolisin DMSO' lu, etanollü, asetonlu, gliserollü ve sulu ekstraktlarıyla karşılaştırıldığında; zeytin yağı (63.52 ± 3.46 mg GA / g propolis), mısır yağı (61.84 ± 2.56 mg GA / g propolis), fındık yağı (59.10 ± 2.93 mg GA / g propolis) ve ayçiçek yağı (55.35 ± 3.50 mg GA / g propolis) ekstraktlardaki toplam polifenol içeriğinin propolisin DMSO' lu (141.17 ± 9.99 mg GA / g propolis), etanollü (122.67 ± 6.37 mg GA / g propolis), asetonlu (100.00 ± 8.49 mg GA / g propolis) ve gliserollü (88.00 ± 7.75 mg GA / g propolis) ekstraktlarından daha düşük, sulu (19.67 ± 0.29 mg GA / g propolis) ekstraktından yüksek bulundu. Toplam flavonoid içeriği bakımından propolisin zeytin yağı (24.27 ± 1.54 mg K / g propolis), mısır yağı (22.92 ± 2.13 mg K / g propolis), fındık yağı (22.09 ± 0.86 mg K

/ g propolis) ve ayçiçek yağı (20.57 ± 3.40 mg K / g propolis) ekstraktları propolisin DMSO' lu (55.25 ± 6.63 mg K / g propolis), etanollü (47.79 ± 8.66 mg K / g propolis) ve asetonlu (47.25 ± 6.43 mg K / g propolis) ekstraktlarından düşük, sulu (1.30 ± 0.12 mg K / g propolis) ekstraktından yüksek, gliserollü (23.32 ± 1.91 mg K / g propolis) ekstraktına ise yakın değerler göstermişlerdir. Demir (Fe⁺³) indirgeyici güç bakımından propolisin zeytin yağı (117.54 ± 7.88 mg T / g propolis), mısır yağı (90.52 ± 8.42 mg T / g propolis), fındık yağı (81.81 ± 6.32 mg T / g propolis) ve ayçiçek yağı (76.91 ± 8.82 mg T / g propolis) ekstraktları, propolisin DMSO' lu (273.78 ± 11.62 mg T / g propolis), etanollü (236.89 ± 13.92 mg T / g propolis), asetonlu (221.33 ± 14.11 mg T / g propolis) ve gliserollü (141.78 ± 18.97 mg T / g propolis) ekstraktlarından düşük, sulu (26.22 ± 8.57 mg T / g propolis) ekstraktından ise yüksek değerler bulundu.

Güzel bitkisel yağlarla yaptığı çalışmada, sızma zeytin yağının toplam fenol içeriğini 85 µg/ ml olarak bulmuştur (64). Bizim en yüksek toplam fenol içeriği tespit ettiğimiz propolisin sızma zeytin yağı ekstraktında ise toplam fenol içeriği 1500 µg/ ml olarak bulundu. Bu durumda zeytin yağı propolis ekstraktının toplam fenol içeriğinin, sızma zeytin yağının toplam fenol içeriğinden yaklaşık 18 kat daha fazla olduğu sonucuna vardık.

Tosi, Donini, Romagnoli ve Bruni, yağlar dahil olmak üzere farklı çözücülerle hazırlanmış ticari propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Yağ ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi geniş bir aralıkta rapor edilmiştir (17).

Ramanauskiene ve Inkeniene, propolisin zeytin yağı ekstraktının hakim fenolik asitlerin ferulik asit ve kumarik asit olduğu ve propolisin yağ ekstraktında başka bir ağırlıklı maddeninde vanilin olduğunu göstermiştir. Yine aynı çalışmada propolisin yağ ekstraktının propolisin hammaddesinde bulunan aynı etken maddeleri içerdiği gösterilmiş ve antimikrobiyal aktivite testlerinin çeşitli bakterilere karşı önleyici etkinliği bunu doğrulamıştır (18).

Carvalho ve arkadaşları çalışmalarında propolisin yağ ekstraktının antitümör etkisini değerlendirmişlerdir ve propolisin yağ ekstraktının SF-295 hücre serilerinde etanollü ekstraktan daha fazla antikanser potansiyeline sahip olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca yağlı propolis ekstraktının etanolik ekstraktan daha yaygın sitotoksik etkilerinin

olduğu, etanollü ekstrakta benzer maddeler içerdiği ve yağlı propolis ekstraktlarının tümör hücrelerini daha iyi inhibe ettiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada propolis yağ ekstraktı bileşimine bakılmış ve 3,4- dihidroksi- 5-prenil-sinamik asit, dihidrokaempferide, 3-prenil-4-hidroksisinnamik asit , (E)-3 - {-4-hidroksi-3-[(E) - 4 - (2,3-dihidrosinamoyloksi)-3-metil-2-butenil]-5-prenilfenil}-2-propenoikasit, isosakuranetin, kaempferide ve Artepillin C olarak dört fenolik asit ve üç flavonoid tanımlanmış ve bunların dışında propolis yağ ekstraktında bilinmeyen bazı iyonlar kaldığını belirtmişlerdir ve propolis yağ ekstraktının kimyasal kompozisyonunu belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu sonucuna varmışlardır. Yine aynı çalışmada Sarkoma 180 tipinin tahlilinde pozitif kontrol olarak kullanılan 5-FU ile bütün propolis ekstraktlarının aynı inhibisyon oranını göstererek farelerde tümör büyümesini inhibe ettiğini, ancak propolis ekstraktlarının yan etkilerinin daha az olduğunu ispat etmişlerdir. Kanser hastalarının tedavisinde radyasyon ve kemoterapi risklerinden biri lökopeni gelişimidir ki bu enfeksiyon riskini oldukça arttırır. Bu çalışmada 5-FU tedavisiyle lökopeni görülmüş fakat EEP70 ve ODEP tedavisinde lökopeni görülmediğini ortaya koymuşlardır (16).

Kanola yağı ve kuru ODEP ile elde edilen propolis ekstraktının lösemi (HL- 60), melanom (MDAMB- 435) ve glioblastoma (SF- 295) kanser hücrelerine karşı etanol ekstraktından daha iyi bir sonuç (EEP70) göstermiştir (16).

Çalışmalarda propolis etanollü ekstraktı çok yaygın olarak kullanılmasına rağmen, yağlı ekstraktı ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Propolis yağ ekstraktları için kullanılan yağlar arasında zeytin yağı ve kanola yağı vardır, fakat bizim çalışmamızda kullandığımız fındık yağı, mısır yağı ve ayçiçek yağı ile ilgili bir çalışma ilk kez yapılmıştır.

Flavonoidler yağlı ekstraktlarda etanol, DMSO ve asetona nazaran daha düşük bulunmasına rağmen, diğer ekstraktların hazırlandığı çözücüler de saf olarak kullanıldığından ve bitkisel yağlar ile çözülen propolis örneklerinin canlılar açısından zararlı olmaması, ancak diğer örneklerin saf halde kullanılmasının zararlı oluşu nedeniyle sağlık için yapılan çalışmaların yağlı ekstraktla yapılması daha doğru olacağı açıktır.

Zeytin yağı ile fındık yağı, yağ asidi bakımından benzer yapıda olmasına rağmen propolisin zeytin yağlı ve fındık yağlı ekstraktlarıyla yapılan analizler sonucunda, demir indirgeyici güçleri arasında anlamlı bir fark olduğu, yağ asidi içeriği bakımından benzer yapıda olan ayçiçek yağı ve mısır yağının propolis ekstraktları arasında ise anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varıldı.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı olarak dört çözücü ile ekstrakte edilmesi sonucunda toplam polifenol ve flavonoid içerik ve antioksidan aktivite en iyi zeytin yağında, daha sonra sırasıyla mısır yağı ve fındık yağında, en az ise ayçiçek yağında çözüldüğü kanaatine varılmıştır.

8. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

8.1 Sonuçlar

1. Trabzon' un çeşitli yörelerinden toplanan propolisin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytin yağı ekstraktlarında toplam polifenol, toplam flavonoid ve demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayinleri yapıldı. Yapılan çalışmada propolisin zeytin yağı ekstraktındaki toplam polifenol içeriği, flavonoid içeriği ve demir indirgeyici gücün propolisin mısır yağı, fındık yağı ve ayçiçek yağı ekstraktlarındaki toplam polifenol ve flavonoid içeriğinden, demir indirgeyici gücünden daha zengin olduğu bulundu.
2. Ekstraktların polifenol içeriği, flavonoid içeriği ve demir (Fe^{+3}) indirgeyici güç tayinlerinden yola çıkarak, çalışmamızda kullandığımız yağlar arasında hangi yağda en iyi çözündüğü konusunda bir sıralama yapılırsa; en iyi zeytin yağında, daha sonra mısır yağı ve fındık yağı, son olarak da ayçiçek yağında çözündüğü belirlendi.
3. Propolisin yağlı ekstraktları istatistiksel olarak analiz edildiğinde, toplam polifenol ve flavonoid içerikleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı görüldü. Propolisin yağlı ekstraktlarının demir indirgeyici güçleri istatistiksel olarak analiz edildiğinde ise zeytin yağı ile ayçiçek yağı ve zeytin yağı ile fındık yağı arasında anlamlı farklar bulundu.

8.2 Öneriler

1. Yeni yapılacak araştırmalarda propolisin yağ ekstraktlarında, ince tabaka kromatografisi (TLC), gaz kromatografisi (GC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), HPLC-kütle spektrometrisi (HPLC- MS) veya kapiller elektroforez (CE) gibi değişik analitik yaklaşımlar kullanılarak ekstraktlarda bulunan aktif bileşikler belirlenebilir.
2. Propolisin kimyasal içeriğinin belirlenmesi, yapılacak olan çeşitli çalışmalarda propolisin standardizasyonunu sağlayacaktır. Bu sayede propolisin içerdiği özel bileşikler ve bunlarla ilişkili olan biyolojik aktiviteler de tespit edilebilecektir.
3. Propolisin su ve gliserol ekstraktı gibi toksik olmayan çözücülerle olan ekstraktlarına alternatif olarak yağ ekstraktları, özellikle kullandığımız diğer yağlara göre polifenol içeriği, flavonoid içeriği ve demir (Fe^{+3}) indirgeyici gücü daha fazla olan zeytin yağı in vivo çalışmalarda kullanılabilir.
4. Diyabet, karaciğer hastalığı gibi hastalıklara sahip olup, tıbbi açıdan alkol tüketmesi sakıncalı olan kişiler, ayrıca hamileler ve çocuklarda propolisin yağlı ekstraktları kullanılabilir.
5. Ülkemiz arıcılığında çok özellikli bir madde olan propolis genellikle atıl ürün durumundadır. Bu değerli ürünün kullanımının yaygınlaştırılması sağlanmalı ve bu konuda yapılacak bilimsel çalışmalara desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Bozkurt AF (2010). Farklı düzeylerde propolis uygulamalarının farelerde lipid peroksidasyonu (MDA) ile bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
2. Castaldo S, Capasso F (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73: 1–6.
3. Silici S, Kaftanoglu O (2003). Antimicrobial analysis of propolis samples from different regions in Turkey. *U Bee J* 3: 16-8.
4. Silici S, Kutluca S (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *J Ethnopharmacol* 99: 69-73.
5. Aksoy Z, Dıgırak M (2006). Bingöl yöresinde toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Fen ve Müh Bil Dergisi* 18 (4): 471-478.
6. Burdock GA (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 36: 347-363.
7. Kutluca KS, Genç F (2007). Farklı balarası (*Apis mellifera*) ırk ve yöntemleri ile üretilen propolis örneklerinin reçine miktarları. *U Arı Drg* 52-57.
8. Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G (2002). Önemli bir arı ürünü: propolis. *U Arı Drg* 10-23.
9. Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V (2005). Antibacterial activity of Turkish propolis and qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine* 12: 221-228.
10. Koç AN, Silici S, Ayangil D, Ferahbaş A, Çankaya S (2005). Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* by using a microdilution assay. *Mycoses* 48: 205-210.
11. Orhan H, Marol S, Hepsen iF, Şahin G (1999). Effects of some probable antioxidants on seleniteinduced cataract formation and oxidative stress related parameters in rats. *Toxicology* 139: 219-232.
12. Bazo AP, Rodrigues MAM, Sforcin JM, Camargo JLV, Ribeiro LR, Salvadori DMF (2002). Protective action of propolis on the rat colon carcinogenesis. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 22: 183–194.

13. Pietta PG, Gardana C, Pietta AM (2002). Analytical methods quality control of propolis *Fitoterapia* 73 Suppl 1, 7–20.
14. Sforcin JM (2007). Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol* 113: 1-14.
15. Nakajima Y, Shimazawa M, Mishima S, Hara H (2007). Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions. *Life Sciences* 80: 370-377.
16. Carvalho AA, Finger D, Machado CS, Schmidt EM, Costa PM, Alves APNN, Moraes TMF, Queiroz MGR, Quinaia SP, Rosa MR., Santos JMT, Pessoa C, Moraes MO, Costa-Lotufo LV, Sawaya ACHF, Eberlin MN, Torres YR (2011). In vivo antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. *Food Chem* 126: 1239-1245.
17. Tosi B, Donini C, Romagnoli C, Bruni A (1996). Antimicrobial activity of some commercial extract of propolis prepared with different solvent. *Phytother Res* 10: 335-336.
18. Ramanauskiene K, Inkeniene AM (2011). Propolis oil extract: quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity. *Nat Prod Res* 25 (15): 1463-1468.
19. Ghisalberti EL, Jefferies PR, Lanteri R, Matisons J (1978). Constituents of propolis. *Experientia* 34: 157-158.
20. Ghisalberti EL (1979). Propolis a review. *Bee World* 60: 59-84.
21. Burdock GA (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 36: 347-363.
22. Marcucci MC, Ferreres F, Garcia-Viguera C, Bankova VS, Castro SL, Dantas AP, Valente PHM, Paulino N (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol* 74:105-112.
23. Bankova VS, Castro SL, Marcucci, MC (2000). Propolis; recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3-15.
24. Çolak M (2009). Arı poleni ve propolisin metastatik insan prostat kanseri hücre serilerinde voltaj kapılı sodyum kanalları ekspresyonu üzerine etkisi. Doktora Tezi, K.T.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
25. Karaman İ (2009). Propolisin kırık iyileşmesi ve oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Kayseri.

26. Tekeli A (2007). Etlik civciv rasyonlarında doğal büyüme uyarıcı olarak bitkisel ekstraktların ve propolisin kullanım olanakları. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
27. Kafadar İH (2009). Deneysel septik artrit modelinde eklem kıkırdağı hasarı üzerine intraartiküler uygulanan propolisin etkileri. Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri.
28. Uzel A, Sorkun K, Onçağ O, Coğulu D, Gençay O, Salih B (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol Res* 160: 189-195.
29. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez JA (2008). Functional properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *J Food Sci* 73: 117-124.
30. Bonvehi JS, Gutierrez AL (2011). Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *J Am Oil Chem Soc* 88: 1387-1395.
31. Sforcin JM, Bankova V (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol* 133: 253-260.
32. Cuesta A, Rodriguez A, Angeles Esteban M, Meseguer J (2005). In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. *Fish & Shellfish Immunology* 18: 71-80.
33. Ozalp Ş (2007). Kitosan ve propolis içeren yeni geliştirilmiş diş macunlarının diş dokuları üzerine etkilerinin ve biyomekanik özelliklerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
34. Liberio SA, Pereira ALA, Araujo MJAM, Dutra RP, Nascimento FRF, Monteiro-Neto V, Ribeiro MNS, Goncalves AG, Guerra RNM (2009). The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *J Ethnopharmacol* 125: 1-9.
35. Barlak Y (2009). Türk propolisi ekstraktlarının prostat kanser hücre serilerinin proteomikine etkisi. Doktora Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
36. Volpi N (2004). Separation of flavonoids and phenolic acids from propolis by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis* 25 (12): 1872-1878.
37. Kutluca S, Genç F, Korkmaz A (2006). Propolis. Samsun Tarım İl Müdürlüğü.
38. Biray C, Gündüz C, Yılmaz B, Şahin F, Topçuoğlu N (2006). Propolis ve etken maddeleri olan kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve sinamik asitin, insan T hücreli

akut lenfoblastik lösemi hücre dizisi (CCRF-CEM)' de sitotoksik ve apoptotik etkinliğinin değerlendirilmesi. Ege Tıp Drg., 45 (2): 83 - 92.

39. Bankova VS, Castro SL, Marcucci MC (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3-1.
40. Maccucci MC (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26: 83-99.
41. Cowan MM (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 564-582.
42. Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K, Salih B (2002). Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chem* 78: 213-217.
43. Ziaran HR, Rahmani HR, Pourreza J (2005). Effect of dietary oil extract of propolis on immune response and broiler performance. *Pakistan J Biol Sci* 8 (10): 1485-1490.
44. Agrawal AD (2011). Pharmacological activities of flavonoids: a review. *IJPSN*, 4 (2): 1394-1398.
45. Demirkıran O (2005). *Hypericum montbretii* Spach. bitkisindeki fenolik bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanması. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
46. Buratti S, Benedetti S, Cosio MS (2007). Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta*, 71: 1387-1392.
47. Kahkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954-3962.
48. Ergüzel ET (2006). Quercetin (3, 3', 4',5,7- penta hidroksiflavon)'in bakır (II) ve çinko (II) komplekslerin kararlılık sabitlerinin tayini. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
49. Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D (1993). Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutrition and Cancer* 20 (1): 21-29.
50. Nizamlioğlu NM, Nas S (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Teknolojik Araştırmalar* 5 (1): 20-35.

51. Elik M, Serdaroğlu G, Ozkan R (2007). Mirisetin ve kuersetin bileşiklerinin antioksidan etkinliklerinin DFT yöntemiyle incelenmesi. *Fen Bil Derg* 28 (2): 53-65.
52. Yousef MI, Salama AF (2009). Propolis protection from reproductive toxicity caused by aluminium chloride in male rats. *Food and Chem Toxicol* 47: 1168-1175.
53. Heo MY, Sohn SJ, Au WW (2001). Anti-genotoxicity of galangin as a cancer chemopreventive agent candidate. *Mutation Research* 488: 135-150.
54. Orsolic N, Basic I (2003). Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. *J Ethnopharmacol* 84: 265-273.
55. Russo A, Longo R, Vanella A (2002). Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 73: 21-29.
56. Ozan F (2006). Propolisin kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
57. Song YS, Jin C, Jung KJ, Park EH (2002). Estrogenic effect of ethanol and ether extract of propolis. *J Ethnopharmacol* 82: 89-95.
58. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Propolis> (ET: 23.04.2012).
59. Park YK, Alencar SM, Aguiar CL (2002). Botanical origin and chemical composition of brazilian propolis. *J Agric Food Chem* 50: 2502-2506.
60. Yılmaz H (2008). Beymelek Lagünü' ne giren bazı migrator balıkların yağ asidi bileşiminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
61. Babayan VK (1989). Sense and Nonsense About Fats in the Diet. *Food Tech* No: 180 Deerfield, ill.
62. Aydın A (2004). "Sağlığımız ve omega-3 yağ asitleri", Sağlıkta ve Hastalıkta Beslenme Sempozyum Dizisi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, s. 181-189 Kasım 2004.
63. Siger A, Nogala-Kalucka M, Lampart- Szcapa E (2008). The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J Food Lipids* 15: 137-149.
64. Güzel S (2005). Gıda olarak tüketilen çeşitli sıvı yağların toplam antioksidan aktivitelerinin ve toplam fenol içeriklerinin in vitro ölçülmesi. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.

65. Bakırlioğlu D (2006). Avrupa Birliği'ndeki önemli zeytinyağı ihracatçıları ve Türkiye. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sosyal Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
66. Skevin D, Rade D, Strucelj D, Mokrovack Z, Nederal S, Bencic D (2003). The influence of variety and harvest time on the bitterness and phenolic compounds of olive oil. Eur. J Lipid Sci Techno 105: 536-541.
67. <http://www.gidahatti.com/mevzuat/tebligler/yag/TS341yemeklikzeytinyagistandardi.pdf> (ET: 25.04.2012).
68. Salvador MD, Aranda F, Gomez-Alonso S, Fregapane G (2003). Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. Food Chem 80: 359-366.
69. Paiva-Martins F, Gordon MH, Gameiro P (2003). Activity and location of olive oil phenolic antioxidants in liposomes. Chem Phys Lipids 124: 23-36.
70. <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2010-35.html> (ET: 26.04.2012).
71. http://www.hammaddeler.com/index.php?option=com_content&view=article&id=2270&Itemid=249 (ET: 26.04.2012).
72. http://www.hammaddeler.com/index.php?option=com_content&view=article&id=2709&Itemid=277 (ET: 26.04.2012).
73. <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2012-29.html> (ET: 26.04.2012).
74. Karasan S (2010). Mısır yağından konjuge linoleik asit üretiminin optimizasyonu ve üre fraksiyonlama yöntemi ile zenginleştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
75. Tosun A, Ozkal N (2000). Helianthus türlerinin kimyasal içeriği ve biyolojik etkileri. Ankara Ecz Fak Derg 29(2): 49-74.
76. Süzen HF (2009). Mısır yağı ile kudret narı yağ asitleri karışımının asidolizi ile yapılandırılmış yağ üretimi ve optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
77. http://www.hammaddeler.com/index.php?option=com_content&view=article&id=2564&Itemid=264 (E.T: 26.04.2012).
78. <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2012-29.html> (E.T: 26.04.2012).
79. Horzic D, Komes D, Belscak A, Ganic KK, Ivekovic D, Karlovic D(2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. Food Chem 115: 441-448.

80. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food and Drug Analysis* 10 (3): 178-182.
81. Lin JY, Tang CY (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem* 101: 140-147.
82. Moreira L, Dias LG, Pereira JA, Estevinho L (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chem Toxicol* 46: 3482-3485.
83. Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamed M, Amanzadeh Y, Ebrahimi SES, Ostad SN (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chem* 103: 729-733.
84. Singh R, Singh S, Kumar S, Arora S (2007). Studies on antioxidant potential of methanol extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. *Food Chem* 103: 505-511.
85. Bankova V (2005). Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM* 2 (1): 29-32.
86. Fokt H, Pereira A, Ferreira AM, Cunha A, Aguir C (2010). How do bees prevent hive infections? The antimicrobial properties of propolis. *Formatex* 481-493.
87. Çolak M (2003). Miyeloid kanser hücre serilerinde propolis ekstraktlarının kaspaz-3 aktivitesi üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
88. Gerigelmez AY (2003). Miyeloid kanser hücre serilerinde polen ekstraktlarının kaspaz-3 aktivitesi üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
89. Aliyazıcıoğlu Y, Değer O, Ovalı E, Barlak Y, Hosver I, Tekelioglu Y, Karahan SC (2005). Effects of turkish pollen and propolis extracts on respiratory burst for K-562 cell lines. *International Immuno* 5: 1652-1657.
90. Barlak Y (2003). Türk propolisi ekstraktlarının solunumsal patlama sonrası PMN lökositlerden PMN elastaz salınımına etkisi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
91. Demir S (2010). Propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde H₂O₂ ile uyarılmış DNA hasarı (genotoksisite) üzerine etkisinin comet assay yöntemi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

92. Mani F, Damasceno HCR, Novelli ELB, Martins EAM, Sforcin JM (2006). Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. J Ethnopharmacol 105: 95-98.
93. Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD (2010). Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. Food and Chem Toxicol 48: 3418-3423.
94. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Metanol> (E.T: 27.04.2012).
95. Çakıroğlu TN (2010). Çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER:

T.C. Kimlik No: 66478081842

Soyadı, Adı: KARAKAŞ SİBEL

Uyruğu: TÜRK

Doğum tarihi ve yeri: 1980 RİZE

Medeni hali: EVLİ

Telefon:0530 8839080

E-Posta: biyologg@hotmail.com

Yazışma adresi: Atatürk Caddesi Tuzcuzade Apartmanı Kat:7 Daire:26 RİZE

EĞİTİM BİLGİLERİ:

Derece	Mezun olduğu kurumun adı	Mezuniyet yılı
Yükseklisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2012
Lisans	Atatürk Üniversitesi	2004
Lise	Rize Lisesi	1997

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ:

Görevi	Kurum	Süre
1.Stajyer	Rize 82. Yıl Devlet Hastanesi	3ay
2.Stajyer	İstinye Devlet Hastanesi	2,5ay
3.Biyolog	Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi	5 yıl

YABANCI DİL: İngilizce

HOBİLER: Trakking, yüzme, kitap okuma, seyahat etme, müzik dinleme, tenis, sinema, tiyatro, voleybol...