

## Farklı Çözücülerle Propolis Ekstraksiyonunun Toplam Fenolik İçeriği, Antioksidan Kapasite ve Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkileri

Zeynep Bakkaloğlu<sup>1</sup> , Muhammet Arıcı<sup>2</sup> 

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

Geliş Tarihi (Received): 06.07.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 22.10.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [bakkalogluzeynep@gmail.com](mailto:bakkalogluzeynep@gmail.com) (Z. Bakkaloğlu)

☎ 0 212 383 45 72 📠 0 212 383 45 71

### ÖZ

Arıcılıktan elde edilen doğal bir biyolojik ürün olan propolis antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitümoral ve anestezi aktivite dahil olmak üzere birçok yönüyle dikkat çekmektedir. Ayrıca çok düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle sağlık, gıda, kozmetik gibi sanayi dallarında hammadde olarak kullanılmaktadır. Sektörlerin kullanım amacına bağlı olarak ekstrakte edilmesi gereken propolis için farklı çözücüler tercih edilmektedir. Kullanılan çözücülerin farklı olması propolisin fonksiyonel özellikleri üzerine etki etmektedir. Propolisin farklı çözücülerle ekstraksiyonu toplam fenolik bileşen içeriği, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal özelliklerinde farklılıklara neden olmaktadır. Bu derlemede, propolis ekstraktlarında kullanılan farklı çözücüler ve bu çözücülerin propolisin toplam fenolik bileşen, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal üzerine etkileri tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Propolis, Fenolik içerik, Antioksidan kapasitesi, Antimikrobiyal aktivite

### Effects of Propolis Extraction with Different Solvents on Total Phenolic Content, Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity

#### ABSTRACT

Propolis, a natural biological product obtained from beekeeping, attracts attention in many aspects including antibacterial, antifungal, antiviral, antitumoral and anesthetic activity. It is also used as a raw material in health, food and cosmetic industries because of its low toxicity. Different solvents are preferred for the extraction of propolis depending on the intended use of the sectors. The different solvents may have an effect on the functional properties of propolis. Extraction of propolis with different solvents may result in differences in the total phenolic content, antioxidant capacity and antimicrobial properties. In this review, different solvents used in propolis extracts and their effects on the total phenolic content, antioxidant capacity and antimicrobial properties of propolis are discussed.

**Keywords:** Propolis, Phenolic content, Antioxidant capacity, Antimicrobial activity

### GİRİŞ

Fonksiyonel birer gıda ürünü olan bal ve diğer arı ürünleri son yıllar da arıcılığa verilen önemle beraber öne çıkmaktadır. Arı ürünleri; bal, polen ve arı ekmeği gibi doğrudan insan gıdası olarak tüketilen arı sütü, propolis gibi işlenerek insan gıdası olarak tüketilenler ve

arı zehri, bal mumu gibi doğrudan insan gıdası olarak tüketilmeyen olmak üzere üç gruba ayrılabilir [1].

Arıcılık ürünlerinin Çin kitabelerinde ve Mısır'daki yazılı kaynaklarda milattan önce ve sonraki dönemlerde hastalıkların tedavi edilmesinde kullanıldığı belirtilmektedir [2]. Günümüzde ise arıcılık ürünlerinin (bal, polen, propolis, arı ekmeği, arı zehri, bal mumu)

hastalıkların tedavisinde kullanılmasına "Apiterapi" adı verilmektedir [3].

Apiterapi tedavisinde karşımıza çıkan ve arı ürünlerinden biri olan propolis kalp hastalıkları, diyabet, kanser ve enflamasyon (iltihaplanma) faktörleri üzerine önleyici etkiye sahiptir [4]. Propolisin sahip olduğu antimikrobiyal, antioksidan ve antikanserojenik özellikler içerdiği kimyasal bileşenlerden kaynaklanmaktadır [5]. Propolisin kimyasal bileşen içeriği toplandığı bölgedeki yerel floraya bağlı olarak değişim göstermektedir [6]. Propolisin bölgeden bölgeye değişiklik gösteren kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi için birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmalar propolisin kimyasal bileşiminin yanında propolisin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi, antioksidan kapasitesinin tespiti, antikanserojenik çalışmalar ve gıda maddesi olarak tüketilebilirliğinin artırılması üzerine yoğunlaşmaktadır.

Yapılan çalışmalar tıp, kozmetik, ilaç ve gıda gibi farklı sektörlerde katkı sağlamaktadır. Ancak propolis farklı sektörlerde kullanıma uygun olsa da gıda sektöründeki ekstraksiyon işlemleri için kullanılan çözücülerle ilgili kaygı duyulmaktadır. İnsan tüketimine sunulan propolis ekstraktlarında sağlık açısından tehdit oluşturmayacak çözücülerin kullanılması gerekmektedir. Özellikle hamileler ve helal/haram hassasiyeti olan tüketiciler açısından etanol maddesinin propolisin ekstraksiyonunda çözücü madde olarak kullanılması problem oluşturmaktadır.

Propolis ekstraksiyonunda en çok tercih edilen etanolün [7-16] dışında su [17, 18], metanol [19-21], metilen klorür [19], diklorometan [20], hegzan [22], etil asetat [23], aseton [18], zeytinyağı [11],  $\beta$ -siklodekstrin [11], dimetilsülfoksit [18, 24], propilen glikol, etil asetat ve kloroform [25] propolisin ekstraksiyonu için tercih edilen diğer çözücü bileşenlerdir.

Propolis ekstraksiyonunda kullanılan farklı çözücülerin çözücü özellikleri farklı olduğu gibi, propolisin sahip olduğu toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesi gibi özelliklerinin belirlenmesinde farklı sonuçlar elde edilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle derlenen çalışmada propolisin farklı çözücüler kullanılarak ekstrakte edilmesinin ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine olan etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar incelenmiştir.

## PROPOLİS

Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera* L.), ağaçlar ve bitkilerdeki filiz, yaprak, tomurcuk ve kabuk çatlaklarından topladıkları reçineye tükürük enzimleri ( $\beta$ -glukozidaz) ekleyerek elde ettikleri kısmen sindirilmiş ve balmumu ile karıştırılmış bir arı ürünüdür [16, 19, 26, 27]. Propolis, arılar tarafından yuva veya kovadaki delikleri kapatmak, iç duvarları düzleştirmek ve girişi istenmeyen canlılara karşı korumak için kullanılan yapışkan, elastik ve reçineli bir maddedir [15].

Ağaç türlerinden kavak (*Populus spp.*), huş ağacı (*Betula spp.*), kayın (*Fagus sylvatica*), kestane

(*Aesculus hippocastanum*) ve söğüt (*Salix spp.*) arılar tarafından daha çok tercih edilmektedir. Bu tercihler propolisin oluşumunda yer alan bileşenlerin ana kaynağını oluşturmaktadır [28]. Propolisin fitokimyasal bileşimi ağaç türlerine göre değişiklik gösterse de propolisin rengi ve bileşiminde asıl etken coğrafi kökendir [8].

Propolisin içeriğinin temel kaynağı bitkiler, bal arısı metabolizmasından salgılanan maddeler ve propolis oluşumu sırasında ortaya çıkan bileşenler tarafından oluşturulmaktadır [27]. Propolisin genel bileşimine bakıldığında, bitki reçinesi (%50), balmumu (%30), uçucu yağlar (%10) ve polen (%5) içermektedir [20]. Vitamin (B1, B2, B3 ve B6), benzoik asit, yağ asitleri, ketonlar, laktonlar, kinonlar, steroidler, şekerler ve doğal pigmentler (klorofil ve karotenoidler) gibi diğer bileşikler (%5) propolisin bileşiminde az miktarda bulunmaktadır [13].

Propolisin en önemli kimyasal bileşenleri arasında flavonoidler, aromatik asitler, terpenoidler (diterpenoid asitler ve triterpenoidler), yağ asitleri, esterler, fenoller, aldehidler, ketonlar gelmektedir. Fenolik bileşikler ise çoğu zaman ana bileşenler olarak karşımıza çıkar [31-34]. Bu bileşiklerin bazıları (flavonoidler, terpenoidler, aromatik asitler ve bunların esterleri) biyolojik aktivitelerden sorumludur [31, 35-37].

Propolis ve özellikle ekstraktları antibakteriyel [38], antiviral, antifungal, antioksidan [39], anti-inflamatuar [40], antikanserojen [41], anti-alerjik, anti-diyabetik [42], sitostatik, hepatoprotektif etki, fotoprotektif etki, bağıışıklık kazandırıcı ve uyuşturma gibi geniş biyolojik aktiviteleri nedeniyle çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için uzun zamandır kullanılmaktadır [43, 44].

Diş hekimliğinde, kokainden beş kat etkili bir anestezi maddesi olduğu iddia edilmektedir. Ayrıca diş eti iltihabı tedavisinde kullanılmakta, diş macunları ve gargara şeklindeki çözeltiler de kullanıldığı gibi yüz kremleri (güzellik kremleri), merhemler, losyonlar gibi farmasötik ve kozmetik ürünlerinde de kullanılır [26, 27, 45-48]. Dünyadaki birçok bölgede halk ilaçlarında da kullanılan propolis, son yıllarda propolis ekstraktları içeren katkı maddelerinin yiyecek ve içeceklerde kullanılmasıyla piyasada da karşımıza çıkmaktadır [12].

Propolisin Türkiye'deki yıllık üretim miktarı net olarak bilinmemekle birlikte bir kovanda yıllık 300-500 g propolis elde edilmektedir. Türkiye'deki 2017 yılına ait kovan sayısı düşünüldüğünde yıllık propolis üretim miktarı 2 bin 397-3 bin 995 ton arasında değişmektedir. Üretilen bu propolislerin tamamı endüstride kullanılmamakla birlikte endüstrinin kullanımı ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır.

Propolis endüstride ham haliyle kullanılamamaktadır. Ekstraktlarının kullanıldığı endüstride başta etanol olmak üzere su, bitkisel yağ, propilen glikol, gliserol (gliserin) gibi mevzuat kapsamında yer alan diğer çözücülerden faydalanılmaktadır. Endüstri dışında yapılan çalışmalarda ise metanol, eter, kloroform,

aseton, dimetilsülfoksit, hegzan ve diğer organik çözücüler gibi farklı çözücüler kullanılmaktadır [49, 50].

## PROPOLİSİN FARKLI ÇÖZÜCÜLERLE EKSTRAKSİYONU

Propolis ekstraksiyonu propolisin tüketilebilmesi için gerekli olan en birincil işlemdir. Propolisin antioksidan ve fenolik madde ekstraksiyonlarında birçok çözücüden faydalanılmaktadır. Ekstraksiyon işlemiyle beraber propolisin fenolik bileşenlerinin, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin etkinliği artmaktadır. Bu nedenle kullanılan çözücü seçimi ekstraktın özelliklerinin belirlenmesinde etkilidir. Ekstrakte edilen ham propolis çeşitli arı ürünleri ve bitkisel karışımlarla insanların tüketimine sunulmaktadır. Gıda olarak tüketiminin yanı sıra kimya, ilaç, sağlık, kozmetik, mobilya, gıda ambalajlama ve daha birçok alanda kullanımı bulunmaktadır.

Çözücü seçimi ekstraksiyon işleminde hızı etki eden en önemli parametrelerden biridir [51, 53]. Propolisin ekstrakte edilmesinde daha büyük dipol momente sahip olması nedeniyle en çok kullanılan çözücü etanoldür [4, 8-13, 15, 16, 54]. Etanol ekstraksiyon aşamasında tek başına kullanılabilirdiği gibi etanol-su gibi farklı karışım oranlarıyla da ekstraksiyonda kullanılmaktadır [11, 17].

Etanol ekstraksiyonunun basit ve etkili bir metot olmasına rağmen propolisin sahip olduğu koku ile birleşen alkol kokusunun yoğunluğu, kozmetik ve ilaç sektöründe kullanımını kısıtlamaktadır. Aynı zamanda etanol ekstraktı, göz rahatsızlıkları, kulak, burun ve boğaz iltihapları ve pediatri gibi bazı hastalıkların ya da alkol intoleransı olan kişilerin tedavisinde kullanılması için uygun değildir. Bu sebeple alkol bazlı olmayan etkili bir ekstraksiyon tekniğine ihtiyaç duyulmaktadır.

Su [17, 18], metanol [19-21], metilen klorür [19], diklorometan [20], hegzan [22], etil asetat, aseton [18], zeytinyağı [11], β-siklodekstrin [11], dimetilsülfoksit [24], propilen glikol [25], gliserol [50] ve kloroform propolisin ekstraksiyonu için tercih edilen diğer çözücü bileşenlerdir. Ayrıca bu çözücü bileşenler arasında yapılan metanol-metilen klorür veya metanol-su gibi oransal birleşmelerin yapılması çözücülerin etkinliği artırılarak ekstraksiyon iyileştirilmektedir [19].

Su, etanol, zeytinyağı, propilen glikol ve gliserol (gliserin) dışındaki çözücüler araştırmalarda kullanılsa da mevzuatta yer almadığı için ekstrakte edilen propolisler tüketiciye sunulamamaktadır. Bunun nedeni mevzuat dışındaki çözücülerin insan sağlığına uygun olup olmamasıyla ilgili yeterli çalışmaların yapılmamış olmasıdır.

Mevzuatta yer alan çözücülerden su, yeterli oranda propolis içerisindeki biyoaktif bileşenleri çözemediği için tercih edilmemektedir. Bu nedenle su ile yapılan ekstraksiyonun etkinliğinin artırılması için farklı yöntemlerin (ultrases, mikrodalga) uygulandığı çalışmalar yürütülmektedir. Etanol, propilen glikol ve gliserinde alkol türevi çözücülerdir. Alkollü ekstraktlar, alkolün hem insan sağlığına zararlı olması (tahriş edici,

mutajenik ve karsinojenik) hem de tüketicilerin dini hassasiyetlerinden dolayı tercih edilmemektedir. Propolis ekstraksiyonunda endüstride en çok etanol tercih edilmesinin sebebi daha fazla biyoaktif çözmesidir.

Son dönemde etil alkole ikame olarak dimetilsülfoksit düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda etanole en yakın biyoaktif bileşen çözünürlüğünün dimetilsülfoksite ait olduğu tespit edilmiştir. Ancak mevzuatta yer almaması ve dimetilsülfoksitli propolis ekstraktlarının sahip olduğu yan etkilerin (cilt, solunum yolları ve gözlerde tahriş) gıda ile alımlarındaki etkilileri belirlenmemesi kullanımını sınırlandırmaktadır.

Kullanılacak olan çözücüler tercih edilirken ekstraktın işleneceği son ürün göz önünde bulundurulmalıdır. Özellikle sağlık ve gıda sektöründe gliserol ve su gibi toksik olmayan çözücülerin propolisin ekstraksiyonunda kullanımı daha uygun bulunmaktadır. Çözücüler dışında ekstraksiyon işleminde özellikle de endüstride kullanılması beklenen uygulamalarda zaman önemli bir kriterdir. Bu nedenle zaman kaybını önlemek için ekstraksiyon öncesi katı fazın hazırlanması, difüzyon hızı, sıcaklık, çözücü seçimi ve katı materyalin nemi belirlenmesi gereken ve ekstraksiyon hızına etkileyen faktörlerdir [56].

Değişik çözücülerin ekstraksiyonda kullanımı propolisin içindeki farklı bileşenleri, farklı miktarlarda çözeceği için propolisin ekstraktlarının kalitatif ve/veya kantitatif içerikleri farklı olacaktır. Bu farklılıklar propolisin toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal özellikleri üzerinde etkili olmaktadır.

## PROPOLİSTE FARKLI ÇÖZÜCÜLERİN TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN İÇERİĞİNE ETKİSİ

Fenolik bileşenler propolisin fonksiyonel özelliklerinden sorumlu olan etken maddelerden bir tanesidir. Propolisin toplam fenolik içeriğinin belirlenmesinde bugüne kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır. Birçoğu etanol kullanılarak yapılan bu çalışmalarda Brezilya'nın kuzeydoğu bölgesinden toplanan kahverengi, yeşil ve kırmızı propolislerin etanolik çözeltilerinde sırasıyla 55.74, 90.55, 91.32 mg GAE/ g propolis fenolik içerik tespit edilmiştir [57].

Brezilya'nın güneybatısından toplanan propolislerin etanolü ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri 5.294-50.41 mg GAE/g propolis aralığında bulunmuştur [16]. Dünya üzerindeki diğer ülkeler incelendiğinde; Meksika bölgesinden toplanan propolislerin etanolü ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşen içeriği 314 mg GAE/g propolis [58], Türkiye bölgesinden toplananların 124.6 ve 180.89-270.22 mg GAE/g propolis [59,60], Yunanistan bölgesinden toplananların 110.2-181.0 mg GAE/g propolis [4] ve Azerbaycan bölgesinden toplananların 10.94-79.23 mg GAE/g propolis [61] olduğu tespit edilmiştir.

Farklı bölgelerden toplanan propolislerin toplam fenolik bileşen içeriğindeki farklılıkların ortaya çıkması propolisin çeşidi (kırmızı, yeşil, kahverengi), toplandığı bölgenin

coğrafi konumu, iklimi ve bitki örtüsünden kaynaklandığı söylenebilir. Ancak aynı propolis örnekleri kullanılarak farklı çözücülerle yapılan çalışmada Türk propolisinin DMSO'lu ekstraktındaki toplam polifenol içeriği (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), gliserollü (88.00±7.75 mg GA / g propolis) ve sulu (19.67±0.29 mg GA / g propolis) ekstraktlarında olmak üzere farklı bulunmuştur [50].

Litvanya yöresinden toplanan propolisler etanol, su ve zeytinyağı gibi farklı çözücülerle ekstrakte edilmiş ve sonuçlar sırasıyla 12.7, 1.6 ve 0.5 mg/mL GAE olarak hesaplanmıştır [62]. Bonvehi ve Gutierrez'in yaptığı çalışmada propolislerin ekstraksiyonunda etanol ve propilen glikol kullanılmıştır. Alınan sonuçlarda etanollü ekstraktın toplam fenolik içeriği (21–34 g/100 g) propolilen glikollü ekstraktın toplam fenolik içeriğinden (20–30.3 g/100g) fazla çıkmıştır [63].

Bütün bu çalışmalar incelendiğinde propolis ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerin propolisin toplam fenolik bileşen içeriğinde farklılıklara neden olduğu belirlenmiştir. Etanolün propolis ekstraksiyonundaki etkinliğinin yüksek olduğu görülen çalışmalarda DMSO'nun etkisi de dikkat çekmektedir.

### PROPOLİSTE FARKLI ÇÖZÜCÜLERİN ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Propolis en yaygın bilinen ve en çok araştırılan özelliklerinden biri olan antioksidanların miktarı farklı testlerle ölçümlenmektedir. Propolis antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) radikal yakalama yöntemi, ABTS, FRAP (ferric reducing antioxidant power) ve CUPRAC (total antioxidant potential assay using a Cu(II) complex as an oxidant) olmak üzere farklı metotlar tercih edilmiştir.

Farklı antioksidan kapasitesi belirleme yöntemlerinin propolis etanollü ekstraktlarının üzerine etkileri incelendiği bir çalışmada DPPH yönteminde 1230.7 µmol Trolox/g, ABTS yönteminde 1223 µmol Trolox/g ve FRAP yönteminde 2694.87 µmol Trolox/g değerleri elde edilmiştir [64]. Aynı propolis örnekleri kullanılarak farklı yöntemlerin kullanılması sonucu ortaya çıkan değerler propolis antioksidan kapasitesi hakkında paralel bir fikir verse de sayısal olarak değişiklikler görülmektedir.

Antioksidan kapasitesi belirleme yöntemlerinden bir diğeri olan CUPRAC yöntemi kullanılarak propolis etanollü ekstraktının değerlendirildiğinde ise sonuçlar 2.57-4.15 µmol Trolox/g [60] olarak hesaplanmıştır. Propolis etanollü ekstraktları üzerine DPPH yöntemi kullanılan bazı çalışmalarda antioksidan kapasitesi 11.68-275.2 µmol Trolox/g [16] ve 4431-4663 µmol Trolox/g [57] olarak bulunmuştur. Propolis etanollü ekstraktları üzerine ABTS yöntemi kullanılan çalışmalar incelendiğinde antioksidan kapasitelerinin 560-1430 µmol Trolox/g [63], 19.03-875.4 µmol Trolox/g [16], 1184.66-1400.86 µmol Trolox/g [29] ve 1868-2913 µmol Trolox/g [57] olduğu tespit edilmiştir.

Propolis antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerin aynı fakat sonuçların farklı olması propolise bağlı (çeşidi, toplandığı bölgenin coğrafi konumu, iklimi ve bitki örtüsü) nedenlerden kaynaklanmaktadır. Propoliste aynı çözücü (etanol) kullanılarak değerlendirme yapıldığında yöntemlere ve propolis çeşidine bağlı olarak farklılıkların olduğu tespit edilmiştir.

Bonvehí ve Gutiérrez [63]'in yaptığı çalışmada DPPH yöntemi kullanılarak propolis etanollü ve propilen glikollü ekstraktlarının antioksidan kapasitesi mg askorbik asit/gram (AsA/g) cinsinden belirlenmiştir. Sonuçlara göre propolis etanollü ekstraktının antioksidan kapasitesi (148–291 mg AsA/g) propilen glikollü ekstraktının antioksidan kapasitesinden (108–210 mg AsA/g) yüksek çıkması önem arz etmemektedir. Aynı çalışmada ABTS ve FRAP yöntemleri kullanılmıştır. Etanollü ekstraktların ABTS ve FRAP yöntemi ile elde edilen sonuçları sırasıyla 560–1.430 µmol Trolox/g, 2.312–4.669 µmol Fe<sub>2</sub><sup>++</sup> sülfat/g, propilen glikollü ekstraktların sonuçlarından 420–940 µmol Trolox/g, 1.573–4.271 µmol Fe<sub>2</sub><sup>++</sup> sülfat/g önemli ölçüde farklı çıkmıştır.

Çakıroğlu [50]'nun ABTS yöntemi kullanarak yaptığı çalışma incelendiğinde propolis DMSO'lu ekstraktının toplam antioksidan kapasitesinin (248.50±5.10 mmol T / 100 g propolis), etanollü (233.08±1.99 mmol T / 100 g propolis), gliserollü (159.82±5.73 mmol T / 100 g propolis), asetonlu (157.52±11.06 mmol T / 100 g propolis) ve sulu (15.38±5.39 mmol T / 100 g propolis) ekstraktlarındaki toplam antioksidan kapasitesinden daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Elde edilen bu verilere göre propolis ekstraktında kullanılan farklı çözücüler propolis antioksidan kapasitesi üzerinde etkili olmaktadır.

Yapılan araştırmalar neticesinde propolis antioksidan kapasitesinin belirlenmesi üzerinde en etkili çözücünün DMSO ve en etkili yöntemin ABTS olduğu saptanmaktadır. Antioksidan kapasitesi belirleme yönteminde DMSO'dan sonra en etkili çözücü etanoldür. Etanol ve DMSO diğer çözücülerle kıyaslandığında antioksidan kapasitesi değerleri üzerinde önemli ölçüde farklılıklara yol açmaktadır.

### PROPOLİSTE FARKLI ÇÖZÜCÜLERİN ANTIMİKROBİYAL AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİ

Propolis antimikrobiyal özellikleri ilk çağlardan günümüze kadar bilinmekte, kullanılmakta ve araştırılmaktadır. Propolis çeşitli bakteri, mantar, virüs ve diğer mikroorganizmalar üzerine etkisi ile ilgili çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmaların özellikler tıp, diğer hekimliği ve eczacılık alanında kullanıma uygun propolis üretimine dikkat çektiği görülmektedir. Bu nedenle propolis ekstraksiyonunda kullanılacak olan çözücü maddenin insan sağlığı açısından risk oluşturmaması gerekmektedir.

Propolis antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda etanol [65-73], su [28, 62, 73] metanol [18, 25], DMSO [24, 74], kloroform, etil asetat, propilen

glikol, zeytinyağı [62], aseton ve hegzan çözücü olarak kullanılmıştır [16, 18, 25].

Propolisin en çok kullanılan etanollü ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerine bakıldığında periodontal hastalıkların temel taşı olan *Porphyromonas gingivalis*'e [65], gastrit, ülser ve mukoza ile ilişkili pek çok gastrointestinal sistemle ilgili hastalıklara neden olan *Helicobacter pylori* üzerine [68] etkili olduğu görülmektedir.

Yapılan birçok çalışmada propolisin etanollü ekstraktlarının *Bacillus cereus* [73], *Bacillus subtilis* [71], *Escherichia coli* [16], *Enterobacter aerogenes*, *Micrococcus luteus*, *Fusarium oxysporium* [70], *Staphylococcus aureus* [16, 69, 71], *Pseudomonas aeruginosa* [16,71], *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* [16, 71], *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces fragilis*, *Rhodotorula rubra*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella enteridis* [66], *Listeria monocytogenes* [66], *Streptococcus mutans* [73], *Streptococcus salivarius*, *Bacillus licheniformis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium diphtheria*, *Streptococcus pyogenes*, *Branhamella catarrhalis* ve *Cryptococcus neoformans* üzerine antimikrobiyal aktiviteleri incelemiştir [18, 62, 67, 72]. Yapılan çalışmalarda etanollü propolis ekstraktlarının kullanılan test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu tespit edilmiştir.

Propolis örneklerinin konsantrasyona bağlı olarak, gram-pozitif bakterilere karşı önemli düzeyde antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilirken, gram-negatif bakterilere karşı sınırlı düzeyde aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca *Staphylococcus aureus*'un çok düşük konsantrasyonlarda dahi propolis ( $6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) tarafından inhibe edildiği belirlenmiştir [30].

Kubiliene ve ark. [62] yaptığı çalışmada propolisin etanol, su ve zeytinyağlı ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini karşılaştırmıştır. Yapılan çalışma sonucunda sulu ve zeytinyağlı ekstraktların antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Etanollü propolis ekstraktları ise önemli antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Arslan ve ark. [25] ise farklı çözücülü propolis ekstraktlarının *Streptococcus mutans* üzerine *in vitro* antimikrobiyal etkisini araştırmıştır. Kullandığı altı çözücünden (etanol, metanol, etil asetat, propilen glikol, kloroform ve hegzan) *S. mutans* üzerine en iyi inhibitör etkiyi metanol ve etil asetat ekstraktları göstermiştir.

Türkiye'nin Ordu ilinden toplanan propolis örneklerinin aseton, etil asetat, kloroform, etanol, metanol, dimetil sülfoksit ve su ile ekstraksiyonunun antimikrobiyal ve antifungal etkileri Ertürk ve ark. [18] tarafından incelenmiştir. On beş türe ait mikroorganizma üzerine yapılan çalışmada etanol, aseton, etil asetat ve metanol kullanılan ekstraktlar *S. mutans*, *L. monocytogenes*, *M. luteus*, *B. licheniformis* ve *C. albicans*'a karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. Dimetil sülfoksitli propolis ekstraktı bazı test mikroorganizmalarına karşı

zayıf aktivite göstermiştir. Sulu propolis ekstraktı *S. mutans* hariç tüm patojenlere karşı etkili olmamıştır. Propolise en duyarlı mikroorganizma gram negatif grubundan *E. coli* ve gram pozitif grubundan *S. mutans* olmuştur. En az duyarlı organizma *S. Salivarius* olmuştur.

Farklı propolis orijinlerinin ve propolis özütlerin elde edilmesinde farklı çözücülerin kullanılması propolisin antimikrobiyal aktivitesini etkileyebilmektedir. Sonuç olarak bu araştırmalar propolisin antimikrobiyal aktivitesinin propolis türlerine, propolis dozuna ve tüm mikrobiyal organizmalar için ekstraksiyon çözücülerine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

## SONUÇ

Sağlık açısından insan hayatına sayısız katkısı bulunan ve doğal bir ürün olan propolisin tüketimi için ekstraksiyonu şarttır. Propolisin ekstraksiyonunda kullanılacak olan çözücünün seçimi kullanım amacına göre farklılık göstermektedir. İnsan sağlığı için tıp, diş hekimliği, eczacılık ve gıda alanında kullanılacak olan ekstraktların sağlık açısından risk içermemesi ve en yüksek fonksiyonel özellikleri muhafaza etmesi gerekmektedir. Bu nedenle yapılan araştırma sonucunda propolisin ekstraksiyonunda en çok etanolün çözücü olarak tercih edildiği görülmektedir. Ancak yapılan birçok çalışmada fonksiyonel özelliklerin ortaya çıkmasında oldukça etkili olan propolisin insan sağlığını tehdit eden yanları bulunmaktadır.

Propolisin ekstraksiyonunun ele alındığı diğer çalışmalarda ise etanole alternatif olarak DMSO gösterilmektedir. DMSO, propolisin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesini olumlu anlamda etkilemektedir. Ancak antimikrobiyal özellikleri açısından etanolün kadar geniş bir spektruma etki etmediği gözlemlenmiştir.

Propolisin ekstraksiyonunda diğer çözücüler kıyaslanacak olursa su ve zeytinyağı kullanılarak elde edilen ekstraktlar en zayıf fonksiyonel özelliklere sahiptir. Aseton, metanol, etil asetat ve kloroform gibi kimyasal çözücüler arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir.

Propolisin ekstraksiyonuna yönelik çözücülerin irdelendiği bu çalışmada propolisin ekstraksiyonu için farklı çözücülerin denenmesi veya varolan çözücülerin etkinliğinin nasıl artırılmasına yönelik araştırmalar bundan sonra yapılması planlanan adımlar olarak ortaya çıkmaktadır. Bu araştırmalar yapılırken kullanılacak olan çözücünün sağlık açısından riskleri de göz önünde bulundurulmalıdır.

## KAYNAKLAR

- [1] Şahinler, N. (2000). Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(1-2), 139-148.
- [2] Sangeeta, Kumar, N.R., Virdi, J.K. (2018). Role of propolis in attenuating arsenic toxicity in rat testes.

- International Journal for Science and Advance Research in Technology*, 4(1), 820-824.
- [3] Atik, A., Gümüþ, T. (2017). Propolisin gıda endüstrisinde kullanım olanakları. *Akademik Gıda*, 15(1), 60-65.
- [4] Kasiotis, K.M., Anastasiadou, P., Papadopoulou, A., Machera, K. (2017). Revisiting Greek propolis: chromatographic analysis and antioxidant activity study. *PLoS one*, 12(1), e0170077.
- [5] Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J., Perez-Alvarez J.A. (2008). Functional properties of honey, propolis and royal jelly. *Journal of Food Science*, 73(9), 117-124.
- [6] Bankova, V., Decastro, S.L., Marcucci, M.C. (2001). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3-15.
- [7] Noureddine, H., Hage-Sleiman, R., Wehbi, B., Fayyad-Kazan, A.H., Hayar, S., Traboulssi, M., ElMakhour, Y. (2017). Chemical characterization and cytotoxic activity evaluation of Lebanese propolis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 298-307.
- [8] Kasote, D.M., Pawar, M.V., Bhatia, R.S., Nandre, V.S., Gundu, S.S., Jagtap, S.D., Kulkarni, M.V. (2017). HPLC, NMR based chemical profiling and biological characterisation of Indian propolis. *Fitoterapia*, 122, 52-60.
- [9] Graikou, K., Popova, M., Gortzi, O., Bankova, V., Chinou, I. (2016). Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type? *LWT-Food Science and Technology*, 65, 261-267.
- [10] de Lima, G.G., de Souza, R.O., Bozzi, A.D., Poplawska, M.A., Devine, D.M., Nugent, M.J. (2016). Extraction method plays critical role in antibacterial activity of propolis-loaded hydrogels. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(3), 1248-1257.
- [11] Taddeo, V.A., Epifano, F., Fiorito, S., Genovese, S. (2016). Comparison of different extraction methods and HPLC quantification of prenylated and unprenylated phenylpropanoids in raw Italian propolis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 129, 219-223.
- [12] Trusheva, B., Trunkova, D., Bankova, V. (2007). Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. *Chemistry Central Journal*, 1(1), 13.
- [13] Yang, W., Wu, Z., Huang, Z.Y., Miao, X. (2017). Preservation of orange juice using propolis. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3375-3383.
- [14] Bayram, N.E. (2018). Major constituents of different propolis samples. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 45(4), 581-584.
- [15] Thamnopoulos, I.A.I., Michailidis, G.F., Fletouris, D.J., Badeka, A., Kontominas, M.G., Angelidis, A.S. (2018). Inhibitory activity of propolis against *Listeria monocytogenes* in milk stored under refrigeration. *Food Microbiology*, 73, 168-176.
- [16] da Silva, C., Prasniewski, A., Calegari, M.A., de Lima, V.A., Oldoni, T.L. (2018). Determination of total phenolic compounds and antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis using ATR-FT-IR spectroscopy and chemometrics. *Food Analytical Methods*, 11(7), 2013-2021.
- [17] Cottica, S.M., Sabik, H., Antoine, C., Fortin, J., Graveline, N., Visentainer, J.V., Britten, M. (2015). Characterization of Canadian propolis fractions obtained from two-step sequential extraction. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 609-614.
- [18] Ertürk, Ö., Yavuz, C., Sıralı, R. (2014). The antimicrobial activity of propolis from Ordu province of Turkey. *Mellifera*, 14(27-28), 11-16.
- [19] Segueni, N., Khadraoui, F., Rhouati, S. (2017). Volatile compounds as propolis characterization markers. In *Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration*, November, Springer, 1271-1273.
- [20] Ghamdi, A.A., Bayaqoob, N.I., Rushdi, A.I., Alattal, Y., Simoneit, B.R., El-Mubarak, A.H., Al-Mutlaq, K.F. (2017). Chemical compositions and characteristics of organic compounds in propolis from Yemen. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 1094-1103.
- [21] Bakdash, A., Almohammadi, O.H., Taha, N.A., Abu-Rumman, A., Kumar, S. (2018). chemical composition of propolis from the Baha Region in Saudi Arabia. *Czech Journal of Food Science*, 36(2), 00-10.
- [22] Mohtar, L.G., Rodríguez, S.A., Nazareno, M.A. (2017). Comparative analysis of volatile compound profiles of propolis from different provenances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(9), 3409-3415.
- [23] Kapare, H., Lohidasan, S., Sinnathambi, A., Mahadik, K. (2019). Standardization, anticarcinogenic potential and biosafety of Indian propolis. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 10, 81-87.
- [24] Netiková, L., Bogusch, P., Heneberg, P. (2013). Czech ethanol-free propolis extract displays inhibitory activity against a broad spectrum of bacterial and fungal pathogens. *Journal of Food Science*, 78(9), 1421-1429.
- [25] Arslan, S., Perçin, D., Silici, S., Er, Ö. (2010). Farklı çözücülerle hazırlanan propolis özütlerinin mutans streptokoklar üzerine in vitro antimikrobiyal etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19(1), 68.
- [26] Ghisalberti E.L. (1979). Propolis: a review. *Bee World*, 60, 59-84.
- [27] Marcucci, M.C. (1995). Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83-99.
- [28] Hazem, A., Pitică-Aldea, I.M., Popescu, C., Matei, L., Dragu, D., Economescu, M., Lupuliasa, D. (2017). The antiviral/virucidal effects of alcoholic and aqueous extracts with propolis. *Farmacia*, 65(6), 868-876.
- [29] Osés, S.M., Pascual-Maté, A., Fernández-Muiño, M.A., López-Díaz, T.M., Sancho, M.T. (2016). Bioactive properties of honey with propolis. *Food Chemistry*, 196, 1215-1223.
- [30] Suleman, T., Van Vuuren, S., Sandasi, M., Viljoen, A.M. (2015). Antimicrobial activity and chemometric modelling of South African propolis. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 981-990.

- [31] Bankova, V., De Castro, S., Marcucci, M. (2000). Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3–15.
- [32] Chen, Y.W., Wu, S.W., Ho, K.K., Lin, S.B., Huang, C.Y., Chen, C.N. (2008). Characterization of Taiwanese propolis collected from different locations and seasons. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 412–419.
- [33] Kumazawa, S., Nakamura, J., Murase, M., Miyagawa, M., Ahn, M.R., Fukumoto, S. (2008). Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*, 95, 781–786.
- [34] Popova, M., Chen, C.N., Chen, P.Y., Huang, C.Y., Bankova, V. (2010). A validated spectrophotometric method for quantification of prenylated flavanones in Pacific propolis from Taiwan. *Phytochemical Analysis*, 21, 186–191.
- [35] Barros, M.P., Sousa, J.P., Bastos, J.K., Andrade, S.F. (2007). Effect of Brazilian green propolis on experimental gastric ulcers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 567–571.
- [36] Kumazawa S., Hamasaka T., Nakayama T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84, 329–339.
- [37] Yang, H., Huang, Z., Huang, Y., Dong, W., Pan, Z., Wang, L. (2015). Characterization of Chinese crude propolis by pyrolysis–gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 113, 158–164.
- [38] Yadav, H., Mungara, P., Jivrajani, M., Nivsarkar, M., Anandjiwala, S. (2012). TLC-densitometric quantification of negundoside, ursolic acid, eugenol, lupeol, and  $\beta$ -sitosterol using HPTLC from vitex negundo leaves. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 35(11), 1565–1584.
- [39] Piccinelli, A.L., Mencherini, T., Celano, R., Mouhoubi, Z., Tamendjari, A., Aquino, R.P., Rastrelli, L. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of Algerian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(21), 5080–5088.
- [40] Moura, S.A.L., Negri, G., Salatino, A., Lima, L.D.C., Dourado, L.P.A., Mendes, J.B. (2009). Aqueous extract Brazilian propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 18, 1–9.
- [41] Wang, R., Ding, S., Zhao, D., Wang, Z., Wu, J., Hu, W. (2016). Effect of dehydration methods on antioxidant activities, phenolic contents, cyclic nucleotides, and volatiles of jujube fruits. *Food Science and Biotechnology*, 25(1), 137–143.
- [42] Kang, L.J., Lee, H.B., Bae, H.J., Lee, S.G. (2010). Antidiabetic effect of propolis: reduction of expression of glucose-6-phosphatase through inhibition of Y279 and Y216 autophosphorylation of GSK-3 $\alpha/\beta$  in HepG2 cells. *Phytotherapy Research*, 24(10), 1554–1561.
- [43] de Castro, P.A., Savoldi, M., Bonatto, D., Malavazi, I., Goldman, M.H., Berretta, A.A. (2012). Transcriptional profiling of *Saccharomyces cerevisiae* exposed to propolis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 194.
- [44] Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 4.
- [45] Ayala F, Lembo G, Nappa P, Balato N. (1985). Contact dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis*, 12, 181–182.
- [46] Bankova V.S., Popov S.S., Marekov N.L. (1983). A study on flavonoids of propolis. *Journal of Natural Products*, 46, 471–474.
- [47] Bjorkner B.E. (1994). Industrial airborne dermatoses. *Dermatology Clinics*, 12, 501–509.
- [48] Dobrowolski J.W., Vohora S.B, Sharma K., Shah S.A., Naqvi S.A.H., Dandiya P.C. (1991). Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 77–82.
- [49] Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chemical Toxicology*, 36, 347–363.
- [50] Çakıroğlu, T.N. (2010). Çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [51] Li, Y., Skouroumounis, G.K., Elsey, G.M., Taylor, D.K. (2011). Microwave- assistance provides very rapid and efficient extraction of grape seed polyphenols. *Food Chemistry*, 129(2), 570–576.
- [53] Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri. *I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 209–242.
- [54] Noureddine, H., Hage-Sleiman, R., Wehbi, B., Fayyad-Kazan, A.H., Hayar, S., Traboulssi, M., El Makhour, Y. (2017). Chemical characterization and cytotoxic activity evaluation of Lebanese propolis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 298–307.
- [56] Takeuchi, T.M., Pereira, C.G., Braga, M.E.M., Marostica, M.R., Leal, P.F., Meireles, M.A.A. (2008). Low pressure solvent extraction, microwave assisted, and ultrasound from condimentary plant. In: *Extracting Bioactive Compounds for Food Products*. CRC Press, 137–218.
- [57] Andrade, J.K.S., Denadai, M., de Oliveira, C.S., Nunes, M.L., Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International*, 101, 129–138.
- [58] Rivera-Yañez, N., Rodriguez-Canales, M., Nieto-Yañez, O., Jimenez-Estrada, M., Ibarra-Barajas, M., Canales-Martinez, M.M., Rodriguez-Monroy, M.A. (2018). Hypoglycaemic and antioxidant effects of propolis of Chihuahua in a model of experimental diabetes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 4360356, <https://doi.org/10.1155/2018/4360356>.
- [59] Turan, I., Demir, S., Misir, S., Kilinc, K., Mentese, A., Aliyazicioglu, Y., Değer, O. (2015). Cytotoxic effect of Turkish propolis on liver, colon, breast,

- cervix and prostate cancer cell lines. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(5), 777-782.
- [60] Yavuz, C. (2011). Türkiye'nin bazı illerinden toplanan propolislerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve biyoaktif bileşenlerinin tayini. Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- [61] Maden Çalışkol, M. (2013). Azerbaycan yöresine ait propolis örneklerinin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [62] Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilionis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 156.
- [63] Bonvehí, J.S., Gutiérrez, A.L. (2011). Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(9), 1387-1395.
- [64] Skaba, D., Morawiec, T., Tanasiewicz, M., Mertas, A., Bobela, E., Szliszka, E., Makita, Y. (2013). Influence of the toothpaste with Brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 215391, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/215391>.
- [65] Yoshimasu, Y., Ikeda, T., Sakai, N., Yagi, A., Hirayama, S., Morinaga, Y., Nakao, R. (2018). Rapid bactericidal action of propolis against *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Dental Research*, 97(8), 928-936.
- [66] Temiz, A., Şener, A., Tüylü, A.Ö., Sorkun, K., Salih, B. (2011). Antibacterial activity of bee propolis samples from different geographical regions of Turkey against two foodborne pathogens, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes*. *Turkish Journal of Biology*, 35(4), 503-511.
- [67] Duman, S. (2010). Çanakkale (Türkiye) ilinde toplanan propolis örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- [68] Karabulut E. (2011). Propolisin etanolik ekstresinin *Helicobacter pylori* ye karşı antimikrobiyal etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- [69] Apaydın, H. (2015). Propolisin hazır çorbalardan izole edilen *Staphylococcus aureus* üzerine inhibisyon etkisi Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- [70] Türk, M.U. (2017). Ege bölgesinde üretilen propolislerin kimyasal yapısı ve anti fungal aktivitesi. Yüksek Lisans Tezi. Uşak Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Uşak.
- [71] Choi, Y.M., Noh, D.O., Cho, S.Y., Suh, H.J., Kim, K.M., Kim, J.M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT-Food Science and Technology*, 39(7), 756-761.
- [72] Kartal, M., Yıldız, S., Kaya, S., Kurucu, S., Topçu, G. (2003). Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(1), 69-73.
- [73] Monroy, Y. M., Rodrigues, R.A., Rodrigues, M.V., Sant'Ana, A.S., Silva, B.S., Cabral, F.A. (2017). Brazilian green propolis extracts obtained by conventional processes and by processes at high pressure with supercritical carbon dioxide, ethanol and water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 130, 189-197.
- [74] Piotrowski, M., Pituch, H., Obuch-Woszczatyński, P. (2018). Antimicrobial effects of propolis on *Clostridium difficile* strains belonging to the different PCR-ribotypes. In *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, sectio C-Biologia*, 71(2), 33.