

## DERLEME / REVIEW

# PROPOLİS EKSTRAKSİYONUNDA UYGULANAN YEŞİL VE YENİLİKÇİ YÖNTEMLER

## Green and Innovative Methods for Propolis Extraction

Büşra ÇAKIR, Şeyma Meryem YILMAZ, Nihal GÜZEL\*

Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hitit Üniversitesi. Çorum, TÜRKİYE, E-mail: 144260007busra@gmail.com, ORCID No: 0000-0001-9244-9443, E-mail: seymamrym1920@gmail.com, ORCID No: 0000-0003-0397-3281, Yazışma Yazarı / Corresponding author E-mail: nihalguzel@hitit.edu.tr, ORCID No: 0000-0002-2387-9009

Received / Geliş: 29.12.2023

Accepted / Kabul: 12.02.2024

DOI: 10.31467/uluaricilik.1411626

### ÖZ

Propolis, bal arılarının topladıkları bitki nektar, polen ve reçinemsi maddeleri enzimlerle işleyerek oluşturdukları doğal bir üründür. Propolis gıda, sağlık ve kimya gibi birçok farklı sektörde çok fonksiyonlu şekilde kullanılan biyoaktif içeriğince zengin bir maddedir. Ancak ham propolisin suda az çözünen reçinemsi yapısı nedeniyle apolar özellikteki kısımdan biyoaktif kısmın ayrılması oldukça zordur. Bu nedenle propolis ham haliyle tüketilememektedir. Flavonoid ve fenolik asitlerce zengin 300'e yakın bileşen içeren propolisin kimyasal bileşimi iklim, bitki örtüsü ve mevsime göre çeşitlilik göstermektedir. Kimyasal bileşimdeki bu çeşitlilik, propolisin ekstraksiyonu için geliştirilen yöntemlerin de çeşitlenmesine neden olmuştur. Günümüzde bu amaçla geliştirilen yöntemler arasında en çok çevre dostu ve geri dönüşüm olanağı sağlayan ekstraksiyon yöntemleri dikkat çekmektedir. Bu derlemede propolis ekstraksiyonunda kullanılan hem geleneksel hem de yenilikçi yöntemler özellikle ekstraksiyon etkinliği açısından değerlendirilmiştir. Propolis ekstraksiyonunda kullanılan yenilikçi yöntemler değerlendirildiğinde, ultrases destekli ekstraksiyon ve yeşil çözücü ekstraksiyonu yöntemlerinin yüksek ekstraksiyon etkinliği, sürdürülebilirlik ve düşük operasyon maliyeti açısından dikkat çektiği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Ultrasonik Ekstraksiyon, Derin Ötektik Çözücü, Sürdürülebilirlik, Yeşil Kimya

### ABSTRACT

Propolis is a natural product created by honey bees with enzymes by process nectar, pollen, and resinous plant materials. Propolis is rich in bioactive content that is used in a multifunctional way in many different sectors such as health, food, and chemistry. However, propolis cannot be consumed in its raw form due to its resin-like structure which is less soluble in water. Therefore, it is challenging to separate the bioactive part from the apolar part due to the sticky structure of the raw propolis. Propolis has around 300 chemical compounds high in flavonoid and phenolic acids, and its composition varies depending on the climate, flora, and season. For this purpose, sustainable and environment-friendly extraction methods have been developed. In this review, conventional and novel extraction methods have been evaluated particularly in terms of extraction efficiency. Among the novel propolis extraction methods, ultrasound-assisted and green solvent extraction methods have gained great interest in terms of extraction efficiency, sustainability, and low operation cost.

Keywords: Propolis, Ultrasonic Extraction, Deep Eutectic Solvent, Sustainability, Green Chemistry

## DERLEME / REVIEW

### EXTENDED ABSTRACT

**Purpose:** Propolis is a natural resinous product produced by *Apis mellifera* (honey bees). Honey bees collect the extracts from leaves, buds, and barks of trees such as poplar, oak, chestnut, and pine and process them with their enzymes. Propolis is also called bee glue due to its sticky form and is used to close cracks and holes in the hives for insulation and protection. Propolis contains many chemical compounds such as flavonoids, phenolic acids, essential oils, minerals, and vitamins that vary according to herbal source and climate conditions. Due to the great variety of chemical compositions of raw propolis, developing the best approach to obtain high-quality propolis extract might be challenging. Therefore, the optimum extraction condition for propolis obtained by different origins has been investigated in many recent studies. In this review, besides conventional methods, the effectiveness of novel extraction methods such as microwave-assisted extraction, ultrasound-assisted extraction, high pressure, super critic CO<sub>2</sub>, and deep eutectic solvent extraction was evaluated. The advantages and disadvantages of extraction methods are mentioned. Moreover, the studies on their industrial use to produce high-quality propolis extract by cost-effective methods are summarized.

**Discussion:** Extraction methods are closely related to the chemical composition and concentration of propolis extract. Maceration and soxhlet extraction are mostly used conventional methods for propolis extraction. Furthermore, extraction parameters such as particle size, solvent polarity, solid-solvent ratio, extraction temperature, and time affect extraction efficiency. Until today, many solvents (methanol, ethanol, acetone, dichloromethane, hexane, and ethyl acetate) have been used for the conventional extraction of propolis to reach a high bioactive yield. However, the conventional extraction methods are challenging in terms of the need for high purity and large amounts of solvent, difficulty in removing the used solvent, long operation time, high cost, and losses in temperature-sensitive bioactive components due to high-temperature applications. In the last two decades, novel extraction methods have been considered to minimize these disadvantages with the developing technology. These methods are green alternatives to conventional methods due to their environmentally friendly nature (low organic solvent and energy consumption). Ethanol is widely used in green methods since it is a non-toxic solvent that has

advantages for extracting various components such as flavonoids or polyphenols from propolis. Green methods also use different forms of physical power such as ultrasound, microwave, and pressure to decrease solvent consumption. In addition to solvent consumption, the main advantages of many green extraction technologies are reduced extraction time, solvent consumption, and operation costs.

**Conclusion:** Many previous studies suggested that green extraction methods are more advanced than conventional extraction methods, particularly in terms of extraction efficiency. The ultrasound-assisted extraction method is superior to many novel methods due to its high extraction efficiency and it prevents degradation of thermolabile compounds during the extraction of propolis. Super critic CO<sub>2</sub> extraction is not a preferred method for propolis extraction due to low extraction efficiency to obtain bioactive rich extract and requires ethanol (1 – 10%) as a co-solvent. Although high-pressure processing has significant advantages in terms of extraction times, special equipment is required. Deep eutectic solvents, novel green solvents, developed in the last decade have demonstrated promising potential for propolis extraction. However, more studies are still necessary to find the optimum way to extract bioactive compounds from different types of propolis, especially for industrial-scale applications.

### GİRİŞ

Bal, polen, arı sütü, propolis gibi pek çok arı ürünü önemli bileşen kompozisyonları nedeniyle, geçmişten günümüze kadar sağlığın korunması ve geleneksel tedavi yöntemlerinde sahip olduğu önemi korumaktadır (Bakkaloğlu ve Arıcı 2019, Kumova vd. 2002, Yıldız 2020). Arı ürünlerinin tamamı doğrudan tüketilebilen özellikte olmadığından bir kısmının işlenerek tüketilmesi gerekmektedir (Bakkaloğlu ve Arıcı 2019). İşlenerek tüketilebilenler sınıfında yer alan propolise ise ilk olarak Antik Yunan yazıtlarında rastlanılmış olup bu isim, propolisin kovanı ve kovan içindeki arıları enfeksiyonlardan koruduğunu keşfetmelerinin ardından verilmiştir (Kumova vd. 2002). Yapılan önceki çalışmalarda, propolis bal arılarının (*Apis mellifera*) kavak, meşe, kestane ve çam gibi ağaçların ve bazı otsu bitkilerin tomurcuk, yaprak, gövde, kabuk gibi bölümlerinden topladıkları özleri enzimlerle işleyerek oluşturdukları reçinemsi doğal bir ürün olarak tanımlanmaktadır (Keskin 2018, Reis vd. 2019, Şenol Yazkan ve Hendek

## DERLEME / REVIEW

Ertop, 2024). Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ise propolisi "iŐçi arıların, kovan içerisindeki besinleri, yavru arıları ve kendilerini çeşitli patojen mikroorganizmalardan (virüs, bakteri, fungus) korumak amacıyla bitkilerin yaprak, gövde, tomurcuk vb. kısımlarından topladığı reçinemsî maddeleri ve bitki nektarlarını, başlarında yer alan salgı bezlerinden salgılanan enzimler ile biyokimyasal değişikliğe uğratarak oluşturdukları, 'arı tutkalı' olarak da adlandırılan ürün" olarak tanımlanmaktadır (TS 12910). Yapışkan formdaki yapısı sebebiyle kovan içine iŐçi arıların yardımıyla boşaltılarak belirli noktalara biriktirilmekte, birikimi gerçekleştirilen ürün ise kovan içi izolasyonunun sağlanması, kovadaki çatlak ve deliklerin kapatılması, hasarlı peteklerin tamiri, kovan giriş deliğinin daraltılması gibi pek çok amaç için kullanılmaktadır (Yavuz vd. 2012). Diğer yandan, propolisin yapışkan formu, balın toplanmasında çalışma şartlarını zorlaştırdığından çıta petekli balın pazarında istenmeyen bir özellik olarak değerlendirilmiş ve arıcılar tarafından arıların üretmesini istemedikleri bir bileşim formuna dönüşmüştür. Ancak, özellikle son yıllarda arıcılık sektöründeki bilinçli üretim ve proses tekniklerinin geliştirilerek sektöre aktarılması özenle yaklaşılacak konular arasında yer almaktadır. Bununla birlikte arıcılarda artan farkındalık, arı ürünleri içerisinde propolisin önemine dikkat çekerek üretim miktarında artışa neden olmuştur (Keskin 2018, Kumova vd. 2002).

Türkiye'nin zengin bitki örtüsü propolis üretiminde uygun ortamı sağlarken, iklim ve bitki örtüsündeki çeşitlilik propolis kalitesi ve toplama kolaylığı üzerine etkili olmaktadır. Bu anlamda Karlıdağ ve Genç (2007) tarafından yapılan çalışmada, ülkemiz açısından sonbahar ve kış aylarında, arıların kovani soğuktan korumak istemeleri nedeniyle, daha kaliteli propolis üretiminin yapıldığı vurgulanmaktadır. Aynı zamanda yaz mevsiminde artan sıcaklıktan dolayı yapışkan bir formda olan propolisin toplanmasının zorlaştığı ve bu nedenle kovan içinde balmumuyla karışma ihtimalinin de arttığı bildirilmektedir. Örneğin, 25-45 °C'de, oldukça yapışkan bir yapıya sahip olan propolisin yapışkan özelliği sıcaklık artışıyla birlikte artmakta ve genellikle 60-70 °C'de sıvı halde bulunmaktadır. 15 °C'den düşük sıcaklıklarda ise propolis genellikle donuk, kırılğan ve sert bir yapıya sahiptir (Krell 1996). İklimsel çeşitlilik ve bunun yanı sıra özellikle bölgedeki bitkisel çeşitlilik ve toplanma zamanı propolisin rengi üzerine etkili olmakta, renk koyu sarıdan kahverengine, kırmızı ve yeşile değişim

gösterebilmektedir (Karlıdağ ve Genç 2007). Kendine özgü keskin ve aromatik bir kokusu olan propolisin kimyasal bileşimi de kovanın konumlandırıldığı çevrenin iklimsel ve coğrafi özellikleri, propolisi oluşturan arının türü, botanik etkenler gibi birçok farklı etkene bağlı olduğu için fazlasıyla değişken ve komplekstir (Escriche ve Juan-Borrás 2018, Özdal vd. 2019). Üç yüzden fazla farklı bileşik içerdiği bildirilen propolisin kimyasal bileşimi, genel olarak %50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel yağ, %5 polen, %5 diğer organik bileşenler ve minerallerden oluşmaktadır (Yucel vd. 2017).

Propolisin yapısında çeşitli mineral (magnezyum, kalsiyum, potasyum, sodyum, demir) ve vitaminler (B1, B2, B6, C ve E) belirlenmiş olmakla birlikte bunlar minör düzeyde bulunduğundan besin değeri oldukça düşük olarak değerlendirilmektedir (Deblock-Bostyn 1982). Diğer yandan propolis, yüksek antioksidan kapasiteleri nedeniyle sağlık üzerine olumlu etkileri bulunan birçok fenolik bileşeni içermektedir. Yapılan çalışmalar, propolisin önemli bir fenolik kaynağı olduğunu göstermektedir (Tablo 1, Çakır 2022). Fenolik bileşenler genel olarak fenolik asitler ve flavonoidler olarak gruplandırılmaktadır (Bankova 2005). Önceki çalışmalar, fenolik bileşen kompozisyonlarının elde edildiği kaynağa göre değişebileceğini göstermiştir (Tablo 2, Çakır 2022). Örneğin, Çakır ve Güzel (2023) tarafından yapılan çalışmada propoliste bulunan hakim fenolik asitler olarak, ferulik asit (5,31-6,55 mg/g propolis), kafeik asit (3,34-3,73 mg/g propolis), p-kumarik asit (2,63-2,95 mg/g propolis) ve şirincik asit (2,12-2,24 mg/g propolis) belirlenirken, kuersetin (0,14-0,15 mg/g propolis) ve rutin (0,0027-0,0032 mg/g propolis) baskın flavonoidler olarak saptanmıştır. Diğer yandan Oroian vd. (2020a) tarafından yapılan çalışmada, propoliste belirlenen başlıca fenolik bileşenler sırasıyla kamferol (228,8 mg/g propolis), mirisetin (115,5 mg/g propolis) ve luteolindir (27,2 mg/g propolis). Protokateşik asit ise yapılan diğer çalışmalarda (Çakır ve Güzel 2023, Rajan vd. 2021, Sağdıç vd. 2020) belirlenirken bu çalışmada saptanmamıştır. Ham propolisin kendine özgü vaksli ve apolar yapısı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu zorlaştırmaktadır (Yıldız 2020). Ayrıca, ham propolisin pek çok farklı iklim ve bitkisel kaynaktan elde ediliyor oluşu propolise oldukça önemli bir kimyasal bileşen çeşitliliği sağlarken propolis ekstraksiyonu için en iyi yaklaşımın geliştirilmesini de zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, yüksek kalitede ve uygun maliyetli propolis

## DERLEME / REVIEW

ekstraktlarının elde edilebilmesi için özellikle çok sayıda önemli çalışma yürütülmektedir. Bu derlemede geleneksel ve yenilikçi yöntemlerle

gerçekleştirilmiş propolis ekstraksiyonu ve ekstraksiyon koşullarının optimize edildiği çalışmalar özetlenerek tartışılmıştır.

**Tablo 1.** Propolis TPC, TFC ve antioksidan aktivite konsantrasyonları\*

**Table 1.** TPC, TFC and antioxidant activity in propolis \*

	<b>Miktar (Concentration)</b>	<b>Kaynak (References)</b>
<b>TPC</b>	17,34 – 33,44 mg GAE/ g	Gargouri vd. 2019
	12,54 – 253,71 mg GAE/g	Rajan vd. 2021
	79,17 – 174,51 mg GAE/g	Al-Juhaimi vd. 2021
	4,8 – 504,2 mg GAE/g	Oroian vd. 2020a
	134,02 – 327,30 mg GAE/g	Shahbaz vd. 2021
	55,74 – 91,32 mg GAE/g	Andrade vd. 2017
	510 – 575 mg GAE/g	Erdoğan vd. 2011
	43,77 – 97,96 mg GAE/mL	Zainal vd. 2021
	28,48 – 80,24 mg GAE/mL	Keskin vd. 2020
	2,43– 127,31 mg GAE/mL	Sağdıç vd. 2020
<b>TFC</b>	30,89 – 59,45 mg QE/g	Andrade vd. 2017
	41,19 – 70,19 mg QE/g	Al-Juhaimi vd. 2021
	117 – 559 mg CE/100 g	Gargouri vd. 2019
	104 – 40516 mg/L	Sağdıç vd. 2020
	25,09 – 112,49 µg QE/mL	Zainal vd. 2021
<b>Radikal süpürücü etkisi (DPPH)</b>	%37,00 – %88,11	Zainal vd. 2021
	%44,73 – 73,18	Shahbaz vd. 2021
	%17,29 – 53,62	Al-Juhaimi vd. 2021
	4431 – 4663,80 µmol TEAC/g	Andrade vd. 2017
	409,6 – 503,7 mg TEAC/g	Erdoğan vd. 2011
<b>Antioksidan Kapasite (ABTS)</b>	1868,5 – 2913,5 µmol TEAC/100 g	Andrade vd. 2017
	18,652 µmol TEAC/g	Cavalero vd. 2020
	109,76 – 252,9 µmol TEAC/g	Gargouri vd. 2019
	237,7 – 285,3 mg TEAC/g	Erdoğan vd. 2011

\*Çakır 2022'den adapte edilmiştir. TPC: Toplam Fenolik Konsantrasyonu, TFC: Toplam Flavonoid Konsantrasyonu, GAE: Gallik Asit Eşdeğeri, QE: Kuersetin Eşdeğeri, TEAC: Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi

\*Adapted from Çakır 2022. TPC: Total Phenolic Concentration, TFC: Total Flavonoid Concentration, GAE: Gallic Acid Equivalent, QE: Quercetin Equivalent, TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

## DERLEME / REVIEW

**Tablo 2.** Propolis fenolik bileşen kompozisyonu\*

**Table 2.** Phenolic composition of propolis extract\*

Fenolik Bileşen Kompozisyonu (Phenolic composition)	Miktar (Phenolic content)	Kaynak (References)
<b>Flavonoid</b>		
Apigenin	0,09 – 13,4 mg/g	Hu vd. 2022, Oroian vd. 2020a, Pellati vd. 2013
Krisin	4,06 – 161,7 mg/g	Hu vd. 2022, Oroian vd. 2020a, Pellati vd. 2013
Epigallokateşin	0,33 – 3,39 mg/g	Rajan vd. 2021
Galangin	0,57 – 16,3 mg/g	Hu vd. 2022, Pellati vd. 2013
Isorhamnetin	0,29 – 23 mg/g	Hu vd. 2022, Oroian vd. 2020a
Kamferol	0,03 – 12,21 mg/g	Hu vd. 2022, Rajan vd. 2021
Kateşin	0,04 – 2,33 mg/g	Rajan vd. 2021
Kuersetin	0,06 – 12,4 mg/g	Oroian vd. 2020a, Rajan vd. 2021
Miristin	2,32 – 295 µg/mL	Bozkuş vd. 2021, Sağdıç vd. 2020
Naringenin	2,00 – 959µg/mL	Bozkuş vd. 2021, Sağdıç vd. 2020
Pinobanksin	0,37 – 7,8 mg/g	Hu vd. 2022, Pellati vd. 2013
Pinocembrin	2,51 – 25 mg/g	Hu vd. 2022, Pellati vd. 2013,
Rutin	0,11 – 75,6 mg/g	Oroian vd. 2020a, Rajan vd. 2021
<b>Fenolik asit</b>		
4-OH Benzoik Asit	43,17 mg/kg	Shahbaz vd. 2021
Ferulik Asit	3 – 1561 mg/L	Sağdıç vd. 2020
Gallik Asit	0,03 – 0,440 mg/g	Rajan vd. 2021, Rebiai vd. 2021
İsoferulik Asit	0,34 – 3 mg/g	Pellati vd. 2013
Kafeik Asit	0,04 – 21,66 mg/g	Hu vd. 2022, Oroian vd. 2020a, Rebiai vd. 2021
Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE)	2,3 – 13,1 mg/g	Pellati vd. 2013
Klorojenik Asit	0,07– 19,35 mg/g	Hu vd. 2022, Rajan vd. 2021
m-Kumarik Asit	1,33 – 13,57 mg/kg	Shahbaz vd. 2021
p-Kumarik Asit	1,21 – 271,7 mg/g	Oroian vd. 2020a, Rajan vd. 2021
Protokateşik Asit	0,06 – 0,52 mg/g	Rajan vd. 2021
Transsinamik Asit	37 – 3532 mg/L	Sağdıç vd. 2020
Vanilik Asit	12,67 – 26,81 mg/kg	Shahbaz vd. 2021

\*Çakır 2022'den adapte edilmiştir. \*Adapted from Çakır 2022.

### Propolis Ekstraksiyon Yöntemleri

#### Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemleri

Propolisin geleneksel ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan yöntemler maserasyon ve soxhlet ekstraksiyonudur (Trusheva vd. 2007). Ekstrakte edilen biyoaktif bileşenin kompozisyonu ve konsantrasyonu, ekstraksiyon metodunun yanı sıra seçilen solvent konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklık ve süresi, partikül büyüklüğü, katı solvent oranı gibi parametrelerle de yakından ilişkilidir (Oroian vd. 2020b). Bu nedenle bugüne kadar propolisten biyoaktif bileşenlerin elde edilmesinde dimetil sülfoksit (Netíková vd. 2013), metanol, etanol, aseton, diklorometan, heksan, etil asetat gibi pek çok solvent kullanılmıştır (Sambou vd. 2020). Ancak etanol-su karışımı, diğer organik solventlerle kıyaslandığında toksisitesinin düşük olması ve daha yüksek ekstraksiyon etkinliğine sahip olması

nedenleriyle propolis biyoaktif bileşenlerinin ekstraksiyonunda en çok kullanılan solventtir (Escrache ve Juan-Borrás 2018). Diğer yandan yüksek saflıkta ve çok miktarda solvent gereksinimi, kullanılan solventin uzaklaştırılma zorluğu, uzun operasyon süresi ve maliyeti, yüksek sıcaklık uygulamaları nedeniyle sıcaklığa duyarlı biyoaktif bileşenlerde meydana gelen kayıplar geleneksel yöntemlerin en önemli dezavantajlarıdır. Bu dezavantajların minimize edilmesi için gelişen teknoloji ile beraber farklı ekstraksiyon yöntemleri üzerinde durulmaktadır (Şengül ve Topdaş 2019). Propolisin ekstraksiyonunda geleneksel yöntemlere alternatif olarak kullanılan yöntemler; çevreye verilen zararın minimumda tutulması sebebiyle yeşil teknikler olarak da adlandırılmaktadır (Yıldız 2020). Yeşil tekniklerin güvenilir olması, daha az kimyasal kullanılması, düşük enerji harcanması, kirliliğin en aza indirgenebilir olması, zaman kaybı

## DERLEME / REVIEW

oluşturmaması, yenilenebilir hammadde kullanımına olanak sağlaması son yıllarda gıda teknolojileri açısından tercih edilme nedenleri arasında gösterilmektedir (Şengül ve Topdaş 2019).

### Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Mikrodalga destekli ekstraksiyon (ME), yüksek frekanslı (300 GHz – 300 MHz) elektromanyetik dalgalar yardımıyla materyalden bir sıvı içinde çözünebilir maddelerin ekstraksiyonu şeklinde tanımlanabilen yeni bir tekniktir (Şengül ve Topdaş 2019). Bu teknikte çözgen seçimi oldukça önemli bir parametre olup çözgenin mikrodalga ışımasını absorblama düzeyi, analitin çözücüdeki çözünürlüğü ve çözücünün materyalin içeriğindeki bileşenlerle etkileşimi dikkate alınmalıdır (Büyüktuncel 2012). Pellati vd. (2013) ham propolisten fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunda solvent konsantrasyonunun (%60 – 90 etanol:su) yanı sıra süre (10 – 20 dak.) ve sıcaklık (80 – 120 °C) parametrelerinin ekstraksiyon verimi üzerine etkilerini araştırmıştır. Yapılan bu çalışmada, fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu için en uygun solventin %80 etanol olduğu belirlenirken ekstraksiyonun 106 °C'de 15 dakika süresince gerçekleştirilmesi önerilmektedir. Hamzah ve Leo (2015) tarafından ME ile gerçekleştirilen propolis ekstraksiyonunda ise katı: solvent oranı, mikrodalga gücü ve sıcaklık parametreleri için optimum koşulları belirlemiştir. Çalışma sonuçları 115 °C sıcaklıkta 1:5 katı solvent oranı ve 300 W mikrodalga gücü ile gerçekleştirilen ekstraksiyonun verim açısından uygulanabilir olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda ME diğer ekstraksiyon yöntemleri ile de ekstraksiyon verimliliği açısından karşılaştırılmıştır. Oroian vd. (2020b), propolis ekstraksiyonunu geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden olan maserasyon ve mikrodalga ile gerçekleştirmiştir. Maserasyona kıyasla (%91) ME ile daha yüksek ekstraksiyon verimine (%96) ulaşıldığını belirlemiştir. Ayrıca geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla ME ile gerçekleştirilen ekstraksiyonda operasyon süresi kısılırken solvent gereksiniminin de azaldığı belirlenmiştir (Hamzah ve Leo 2015, Pellati vd. 2013). Ekstraksiyon süresi ve çözücü kullanımını azaltması gibi avantajların yanı sıra ME gıda proseslerinde düşük maliyetli olması ve ekipmanların küçüklüğü gibi avantajlara da sahiptir (Cravotto vd. 2008).

### Ultrases Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Ultrasonik ses uygulamaları yüksek ve düşük enerjili olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Düşük enerjili

ultrasonik uygulamalarda kullanılan referans; 1 W/cm<sup>2</sup>'den düşük ses yoğunluğu ve 100 kHz'den yüksek frekansken, yüksek enerjili ultrasonik uygulamalarda kullanılan referans ise 1 W/cm<sup>2</sup>'den yüksek ses yoğunluğu ve 18-100 kHz'den daha düşük frekans aralığı olarak belirlenmiştir (Cavuldak vd. 2016). Yüksek frekanslı düşük enerjili ultrasonik uygulamalar gıdanın yapısında kimyasal ve fiziksel etkileşimler meydana getirmediği için fizikokimyasal özelliklerinin tespitinde kullanılmaktadır. Düşük frekanslı yüksek enerjili ultrasonik uygulamalarda ise gıdanın yapısında kimyasal ya da fiziksel değişimler meydana gelmekte ve hedeflenen bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılabilir (Oroian vd. 2020a). Yapılan ultrases destekli ekstraksiyon (UE) çalışmalarında fenolik bileşen içeriği bakımından daha zengin propolis ekstraktı elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle yapılan çalışmalarda ekstraksiyon etkinliği üzerine etkili olabilecek katı: solvent oranı, çözücü konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklık ve süresi gibi çeşitli parametrelerin optimize edilmesi üzerinde durulmuştur (Tablo 3).

Çalışmalarda genellikle çözücü olarak etanolün farklı konsantrasyonları kullanılırken dimetilsülfoksit, propilen glikol vb. çözücüler de ekstraksiyon solventi olarak seçilmiştir. Katı solvent oranı (1:9 – 1:300) ve sıcaklık (25 – 75 °C) gibi optimize edilmek istenen parametrelerde çok sayıda çalışmada oldukça geniş bir aralıkta değerlendirilmiştir. Ekstraksiyon süresi olarak neredeyse her çalışmada farklı süreler seçilirken minimum 2 – 3 dakika, maksimum 60 dakika süren ultrases uygulamaları bulunmaktadır. Örneğin Cavalero vd. (2020), propolis ekstraksiyonunu düşük sıcaklıkta ( $\leq 25$  °C), 1:35 katı solvent oranında %90 etanol çözeltisi kullanılarak 20 dakika süresince ultrases uygulayarak gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada elde edilen propolis ekstraktında antioksidan aktivite (18,652  $\mu$ mol TEAC/g, DPPH) ve toplam fenolik madde miktarı (3462,4 mg GAE/g) da belirlenmiştir. Oroian vd. (2020a) ise propolisin ultrasonik ekstraksiyonunda ultrasonik genlik, sıcaklık, çözücü konsantrasyonu ve süre parametreleri değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada optimum koşulların belirlenmesinde ekstraktın içerdiği toplam fenolik madde miktarı (459,9 mg GAE/g), flavonoid konsantrasyonu (220,6 mg QE/g), ve balsam içeriği (%1,95) dikkate alınmıştır. Çalışma sonuçlarına göre propolisin ultrasonik ekstraksiyonu için %100 ultrasonik amplitüde, %70 solvent konsantrasyonu, 58 °C sıcaklık ve 30 dakika en uygun koşullar olarak belirlenmiştir. Ultrases, kullanıldığı bazı sistemlerde

## DERLEME / REVIEW

tek başına yeterli olurken bazılarında ısı ve/veya basınç gibi işlemlerle kombine edilerek kullanılmaktadır. Bu kombine sistemlere termosonikasyon (ultrases – sıcaklık), manosonikasyon (ultrases – basınç), manotermosonikasyon (ultrases – sıcaklık – basınç) uygulamaları örnek olarak verilebilmektedir (Knorr vd. 2004). Çakır ve Güzel (2023) tarafından yapılan çalışmada ise propolis ekstraksiyonu termosonikasyon ile gerçekleştirilerek optimum ekstraksiyon için model geliştirilmiştir. Bu çalışmada UE parametreleri olarak etanol konsantrasyonu (%50 – 100), sıcaklık (30 – 70 °C), süre (10 – 50 dak) ve katı solvent oranı (1:100 – 1:300 g/mL) seçilmiştir. UE ile gerçekleştirilen ekstraksiyonun etkinliği geleneksel yöntemle gerçekleştirilen ekstraksiyon (%75 etanol, 50 °C, 1:200 g/mL katı solvent oranı ve 24 saat ekstraksiyon süresi) etkinliği ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda

geleneksel yöntemle elde edilene kıyasla UE ile optimum koşullarda (90% etanol, 51 °C, 32 dakika ve 1:300 g/mL katı solvent oranı) gerçekleştirilen propolis ekstraktında daha yüksek oranda toplam fenolik madde (252,74 mg GAE/g), flavonoid (222,32 mg CE/g), antioksidan aktivite (1,43 mmol TEAC/g) ve balsam konsantrasyonu (%71,99) içerdiği belirlenmiştir. Gargouri vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada da propolis ekstraksiyonu için UE ve geleneksel yöntem antioksidan ve antimikrobiyal etkinlik açısından kıyaslanmış ve propolisin ultrasonik ekstraktının etkinliğinin daha yüksek olduğu değerlendirilmiştir. Sambou vd. (2020) ise propolis ekstraksiyonunda geleneksel, ME ve UE yöntemlerini kullanarak ekstraktların antiradikal aktivitelerini karşılaştırmıştır. Çalışma sonucunda ise UE yöntemiyle elde edilen propolis ekstraktlarının enyüksek antiradikal aktiviteye (IC50 = 48 µg/mL) sahip olduğunu belirlemiştir.

**Tablo 3.** Ultrases destekli propolis ekstraksiyonu parametreleri

**Table 3.** Ultrasound assisted extraction parameters

Katı-Solvent Oranı (Solid:Solvent Ratio)	Sıcaklık (°C) (Temperature, °C)	Süre (dk) (Time, min)	Çözücü Konsantrasyonu (Solvent Concentration)	Kaynak (References)
1:9	—	30	%70 etanol	Sorucu 2015
1:10	75	40	%60 etanol	Acun ve Gül 2021
1:9	—	30	%70 etanol	Sariyev vd. 2019
1:9	—	15	%70 etanol	Nyandwi 2017
1:10	20 – 22	60	%70 etanol	Uçak 2018
1:15	—	20	%80 etanol	Gargouri vd. 2019
2:15	35	60	%70 etanol	Andrade vd. 2017
1:10	58 – 60	2 – 3	%70 etanol, %100 DMSO, %100 propilen glikol	Bakkaloglu vd. 2021

Ultrasonik ses dalgalarının mekanik aktivitesi, solventin dokulara doğru olan dağılımını hızlandırarak hücre duvarı parçalanmasını ve hücre içi bileşenlerin çözücüye kolayca geçmesini sağlamaktadır. Ayrıca ortama ses salınımıyla birlikte salınan yüksek enerji sayesinde mekanik enerji

arttırılarak ısı ve kütle transferi hızlandırılmaktadır (Cavalero vd. 2019, Cavuldak vd. 2016, Oroian vd. 2020a). Bu sayede UE sonucunda pek çok bileşen için geleneksel yöntemlere kıyasla daha yüksek ekstraksiyon etkinliği değerleri belirlenmiş ve gıda endüstrisinde daha çok uygulama alanı bulmuştur.

## DERLEME / REVIEW

Özellikle yeşil ve yenilikçi teknikler olarak gösterilen mikrodalga, yüksek hidrostatik basınç destekli ekstraksiyon ve süper kritik akışkan ekstraksiyonu gibi ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında, ultrasesin kullanım kolaylığı ve cihazın daha düşük maliyetli olması da avantaj sağlamaktadır. Ultrasesin, ekstraksiyon ve ayırma süreçlerinde karışmayan fazlar arasında kütle transferi sağladığı ve homojenizasyona yardımcı olduğu bilinmektedir. Son araştırmalar, ultrases destekli ekstraksiyon yönteminin çözücü kullanımını azaltması, düşük sıcaklıklarda çalışma kolaylığı sağlayarak bazı aktif bileşiklerin termal bozunmasını önlemesiyle daha kısa sürelerde birçok bileşiğin ekstraksiyonunu sağladığını göstermektedir (Cavalero vd. 2019, Oroian vd. 2020a).

### Süper Kritik CO<sub>2</sub> Ekstraksiyon Yöntemi (SC-CO<sub>2</sub>)

Süper kritik akışkan, bir gaz ve sıvı arasındaki maddenin ara formunda bulunmaktadır. Sıvılar gibi yoğunluk ve çözünme gücü özelliğine sahipken gazlar gibi difüzyon, viskozite ve yüzey gerilimi özelliklerine de sahiptirler (Azmir vd. 2013). Süper kritik (SC) ekstraksiyon sistemlerinde akışkan olarak genellikle CO<sub>2</sub> kullanılmaktadır. Süper kritik akışkan olarak CO<sub>2</sub>'nin kullanımı güvenli, düşük maliyetli, proses sırasında oksidasyonu önlemesi ve yeniden üretilebilir olması nedenleriyle tercih edilmektedir (Bankova vd. 2021). CO<sub>2</sub> polar olmayan yapıda olduğundan polar olan analitiklerin ekstraksiyonu için genellikle küçük miktarlarda metanol, etanol ve diklorometan gibi modifikatör eklemesi yapılmaktadır (Büyüktünel 2012). Süper kritik akışkanların sahip olduğu bu özellikler dolayısıyla ekstraksiyon işleminde iyi bir çözücü olma potansiyeli taşımaktadırlar. Propolisin SC ekstraksiyonunda optimum koşulların belirlenmesi için gerçekleştirilen bir çalışmada, yardımcı çözügen olarak seçilen etanol konsantrasyonu (%0, 1, 2, 4), sıcaklık (31,7, 40 ve 50 °C) ve basıncın (250, 350 ve 450 bar) etkisi incelenmiştir. Çalışmada en yüksek etanol konsantrasyonunun (%4) biyoaktif bileşen verimi açısından propolis ekstraksiyonunda en etkin konsantrasyon olduğu belirlenirken SC-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonunun 40 °C ve 350 bar basınçta uygulanması önerilmektedir (Reis vd. 2020). De Zordi vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, propolis ekstraksiyonu sırasında uygulanan basınç ve sıcaklığın flavonoid konsantrasyonu üzerine doğrusal ya da ikinci dereceden etkili olmasına karşın, ekstraksiyon süresinin minör düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak SC-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu,

diğer yöntemlerle gerçekleştirilen propolis ekstraksiyon metotları ile kıyaslandığında ekstraksiyon etkinliğine önemli bir katkısının olmadığı belirlenmiştir (Machado vd. 2015). Antioksidan bileşenlerin seçiciliği açısından değerlendirildiğinde de geleneksel yöntemle gerçekleştirilen (%80 etanol, 70 °C, 30 dak.) propolis ekstraksiyonunun SC ekstraksiyonuna (350 bar, 50 °C, 60 dak ve %1 etanol ilavesi) kıyasla daha etkin olduğu belirlenmiştir (Devequi-Nunes vd. 2018). Propolisin SC-CO<sub>2</sub>, maserasyon ve ultrases destekli ekstraksiyonu sonucu, SC-CO<sub>2</sub> yöntemi ile fenolik bileşiklerin geri kazanımı en düşük düzeyde gerçekleşmiştir. Buna karşın bu yöntemler içerisinde antioksidan aktivite üzerine olumsuz etkisi olmaksızın zaman açısından en verimli yöntem olarak ultrases destekli ekstraksiyon önerilmektedir (Barrientos Lezcano vd. 2023). Benzer şekilde, de Zordi vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada da propolisin SC-CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyonu flavonoid içeriği bakımından UE ile karşılaştırılmış ve UE'nun propolis için daha iyi bir yöntem olduğu bildirilmektedir. Sonuç olarak, propolis ekstraksiyonu için SC-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu düşük polaritesi ve yardımcı çözügen ihtiyacı nedeniyle diğer pek çok avantajına rağmen tercih edilen yöntemler arasında yer almamaktadır (Bankova vd. 2021).

### Yüksek Basınç Ekstraksiyon Yöntemi

Yeni ve çevreci ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan basınçlı sıvı ekstraksiyonu, gelişmiş çözücü ekstraksiyonu, yüksek basınçlı çözügen ve hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu olarak da adlandırılmaktadır (Nieto vd. 2010). Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu 20,3 MPa'a kadar çıkabilen yüksek basınçlar ve 40 – 200 °C arası sıcaklıklarda kapalı bir ortamda gerçekleştirilmektedir (Erdoğan vd. 2011). Bu işlem yüksek sıcaklık ve basınç kullanılarak çözücünün gıdaya daha hızlı nüfus etmesi ve bileşenlerin ayrışması prensibine dayanmaktadır. Bu sayede daha az miktarda solvent kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Kullanılan yüksek sıcaklık; Van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve dipol çekim gibi analit-örnek matriksi etkileşimlerinin bozulmasına neden olarak ekstraksiyon veriminin artmasını sağlamaktadır (Richter vd. 1996). Sıcaklık kullanımı moleküller arasındaki adhezyon ve kohezyon kuvvetleri ile desorpsiyon için gerekli olan aktivasyon enerjisinin azaltılmasını sağlar (Büyüktünel 2012). Fakat kullanılan yüksek sıcaklık bileşen yapısında bozulmalara neden olabilmektedir. Erdoğan ve arkadaşları (2011),



## DERLEME / REVIEW

propolis ekstraksiyonunda basınçlı sıvı ekstraksiyonu yöntemiyle gerçekleştirmiş ve fenolik bileşenleri %97 – 99 oranında elde ettiklerini bildirmiştir. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonundan farklı olarak yüksek hidrostatik basınç uygulamaları da propolis ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Bu yöntemde yüksek hidrostatik basınç (100 – 800 MPa) gıda matrisine daha kısa sürede solvent girişi sağlayarak ekstraksiyon verimini artırırken süreyi kısaltmaktadır (Bankova vd. 2021). Xi ve Shouqin (2007) tarafından yapılan çalışmada propolis ekstraksiyonu oda sıcaklığında uygulanan yüksek basınç (500 MPa) ile gerçekleştirilmiş ve ekstraksiyon etkinliği geleneksel yöntemlerle kıyaslanmıştır. Bu çalışma propolis ekstraksiyonunda yüksek basınç uygulamalarının uzun süren (4 h – 7 gün) geleneksel yöntemlere kıyasla çok daha kısa sürede (1 dak) benzer etkinlik düzeyine ulaşabileceğini göstermiştir. Hem yüksek hidrostatik basınç uygulamaları hem de hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu propolis ekstraksiyonunda süre açısından büyük avantaj sağlasa da her iki yöntemde de özel ekipmanlara ihtiyaç duyulmaktadır (Bankova vd. 2021).

### Derin Ötektik Solvent Ekstraksiyon Yöntemi

Son yıllarda, çevre kirliliğini azaltmayı ve verimi daha düşük maliyetlerle artırmayı amaçlayan, süper kritik akışkanlar, yüksek basınç, ultrases ve mikrodalga gücünün kullanıldığı pek çok yeni ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemlerin pek çoğu propolis ekstraksiyonu için de kullanılarak etkinlikleri yapılan çalışmalarla değerlendirilmiştir. Uygulanan bu yöntemlerde ise ana veya yardımcı çözügen olarak genellikle etanol kullanılmıştır. Ancak son yıllarda kimyasal kullanımında azalmaya gidilip çevre dostu, geri dönüşüm olanaklı ve yenilenebilir çözücü arayışı artmıştır. Bu alanda sürdürülen çalışmalarda yeşil çözücü olarak da adlandırılan derin ötektik solventler (DÖS) ön plana çıkmıştır (Aydın vd. 2021). Derin ötektik solventler, belli oranlarda karıştırılıp, çözücülüğe ve kendi bileşenlerinden daha düşük erime noktasına sahip homojen karışımlar olarak tanımlanmaktadır (Dai vd. 2013). Bu çözücüler toksik olmayan hidrojen bağı alıcısı (HBA) (kuaterner amonyum, tetrakilamonyum ve fosfonyum tuzları) ve hidrojen bağı verici (HBV) (asitler, alkoller, aminler ve karbonhidratlar) özelliğe sahip iki bileşenden oluşmaktadır (Zhang vd. 2018). Derin ötektik solventlerin etkinliğindeki en önemli parametreler kullanılan bileşenlerin yanı sıra su miktarı, viskozite ve yoğunluktur (Palos-Hernández vd. 2022). Bazı çalışmalar, suyun DÖS'lerin

kimyasal yapısı için önemli bir etken olduğunu ve hidrojen bağı alıcısı ile hidrojen bağı vericisinin etkileşimini güçlendirdiğini bildirmektedir (Ma vd. 2018). Diğer yandan su miktarındaki artış DÖS'in yoğunluğunda ve viskozitesinde azalmaya neden olmakta ve böylece bağların etkisini azaltıp DÖS'in etkinliğini düşürebildiği de yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Bi vd. 2020, Mbous vd. 2017). Propolis ekstraksiyonunda derin ötektik solventler genellikle UE ve ME gibi yeni ekstraksiyon yöntemleriyle birlikte kullanılmış ve ekstraksiyon etkinliğinin arttığı görülmüştür (Koutsoukos vd. 2019). Propolis ekstraksiyonunda farklı derin ötektik solventlerin etkinliği etanol (%70) ile karşılaştırılmıştır. DÖS'ler içerisinde etanole en yakın sonuç, propilen glikol ve sitrik asit (1:4) ile hazırlanan DÖS ile elde edilmiştir (Trusheva vd. 2019). Benzer şekilde Funari vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada da farklı derin ötektik çözücüler kullanılmıştır. Bu çalışmada ise kolin ve propilen glikol (1:1) ile hazırlanan derin ötektik solventin propolis ekstraksiyonunda kullanılabilir en etkili solvent olduğu bildirilmektedir. Literatürde farklı kaynaklardan elde edilen propolisler için farklı derin ötektik solventlerin etkinliği belirlenmekle birlikte yapılan çalışmalarda DÖS'lerin genel olarak etkinliği yüksek yeşil bir solvent olduğu vurgulanmaktadır.

### Sonuç

Ham haliyle tüketilemeyen ve birçok faydası kanıtlanmış bir ürün olan propolisin hem gıda bilimi hem de endüstrisi bakımından önemli bir potansiyelinin olduğu değerlendirilmiştir. Bu bakımdan propolisten yüksek verim sağlanabilmesi amacıyla ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilmesi gereklidir. Ekstraksiyon işleminde kullanılan solventin seçimi ise ekstraksiyonu verimliliği açısından oldukça önemli bir parametredir. Propolis ekstraksiyonunda genellikle kullanılan etanol:su karışımlarının yanısıra kullanılan yeşil solventler de ekstraksiyonu verimliliği açısından gelecek vadetmektedir. Ham propolisin kimyasal özelliklerinin önemli derecede etkili olduğu ekstraksiyon verimi ve ürün stabilizasyonu üzerine, seçilen ekstraksiyon yönteminin yanı sıra kullanılan metodun da etkisi bulunmaktadır. Bugüne kadar kullanılmış olan geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin zaman ve fazla miktarda çözücü gerektirdiği de bilinmektedir. Bu sebeple günümüzde yeşil ekstraksiyon teknikleri giderek popülerlik kazanmaktadır. Çağımız problemleri haline gelen çevre kirliliği ve fazla tüketim gibi sorunlar için kimyasal kullanımının minimize edildiği, enerji

## DERLEME / REVIEW

tasarrufu sağlayan yeşil tekniklerden olan ultrases desteği ile gerçekleştirilen ekstraksiyonların, kaynakların verimli kullanılması ve sürdürülebilirliğin sağlanması açısından önem taşıdığı düşünülmektedir. Bilimsel anlamda propolisin ultrases destekli ekstraksiyonunda farklı çözücülerle ve özellikle derin ötektik çözücülerle ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği, en iyi propolis çözücü kombinasyonunun net bir şekilde görülmesine katkı sağlayabilecek yeni çalışmaların yapılması ve desteklenmesi gerekmektedir. Propolisin sahip olduğu fonksiyonel, kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle gıda sektöründe ürün formülasyonlarının geliştirilmesinde kullanımı açısından önemli bir potansiyelinin olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada değeri her gün daha fazla anlaşılan propolisin fiziksel ve kimyasal özellikleri, geleneksel ve yenilikçi yöntemlerle ekstraksiyonuna dair yapılan önemli çalışmalar derlenerek sunulmuştur.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan ederler.

**Etik onayı:** Bu çalışma insan veya hayvan testlerini içermemektedir.

**Finansman** Yazarlar herhangi bir fonlarının olmadığını beyan ederler.

**Yayın Onayı:** Tüm yazarlar makaleyi onayladılar ve Uludağ Arıcılık Dergisine gönderilmesini kabul ettiler.

**Yazar Katkısı:** Makale NG tarafından tasarlanmıştır. Literatür taraması, veri toplama, taslağın yazımı BÇ, ŞMY ve NG tarafından gerçekleştirilmiştir. Tüm yazarlar makalenin son versiyonunu onayladı.

### KAYNAKÇA

- Acun S ve Gül H. Mikroenkapsüle Çam Propolisinin Top Kek Üretiminde Kullanılması. *Journal of the Institute of Science and Technology*. 2021;11(2),1205-1217, doi.org/10.21597/jist.855038.
- Al-Juhaimi FY, Özcan MM, Ahmed IAM, Alsawmahia ON, Özcan MM, Ghafoor K, Babiker EE. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, Fatty Acid Composition, and Antimicrobial Activity of Propolis from Different Locations in Turkey. *Journal of Apicultural Research*, 2021;1-9, doi.org/10.1080/00218839.2021.1898785.

- Andrade JKS, Denadai M, de Oliveira CS, Nunes ML, Narain N. Evaluation of Bioactive Compounds Potential and Antioxidant Activity of Brown, Green and Red Propolis from Brazilian Northeast Region. *Food Research International*. 2017;101,129-138, doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.066.
- Aydın M, Danacıoğlu D A, Türker S. Propolisin Genel Özellikleri ve Kullanımı. *Gıda*. 2021;46(1),69-81, doi.org/10.15237/gida.GD20102.
- Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F vd. Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials: A Review. *Journal of Food Engineering*. 2013;117(4),426-436, doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
- Bakkaloğlu Z, Arıcı M, Karasu S. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Turkish Propolis and Characterization of Phenolic Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Food Science and Technology*. 2021;41, 687-695, doi.org/10.1590/fst.14520.
- Bakkaloğlu Z, Arıcı M. Farklı Çözücülerle Propolis Ekstraksiyonunun Toplam Fenolik İçeriği, Antioksidan Kapasite ve Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda*. 2019;17(4),538-545, doi.org/10.24323/akademik-gida.667272.
- Bankova V, Trusheva B, Popova M. Propolis Extraction Methods: A Review. *Journal of Apicultural Research*. 2021;60(5),734-743, doi.org/10.1080/00218839.2021.1901426.
- Bankova V. Chemical Diversity of Propolis and the Problem of Standardization. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;100(1-2),114-117, doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.004.
- Barrientos Lezcano JC, Gallo Machado J, Marin Palacio LD, Builes S. Extraction kinetics and physicochemical characteristics of Colombian propolis. *Journal of Food Process Engineering*, (2023), e14272, doi: 10.1111/jfpe.14272.
- Bi Y, Chi X, Zhang R, Lu Y, Wang Z, Dong Q vd. Highly Efficient Extraction of Mulberry Anthocyanins in Deep Eutectic Solvents: Insights of Degradation Kinetics and Stability Evaluation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2020;66,102512, doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102512.

## DERLEME / REVIEW

- Bozkuş TN, Değer O, Yaşar A. Chemical Characterization of Water and Ethanolic Extracts of Turkish Propolis by HPLC-DAD and GC-MS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2021;44(1-2), 77-86, doi.org/10.1080/10826076.2021.1883648.
- Büyüktüncel E. Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy. 2012;(2),209-242.
- Cavalaro RI, da Cruz RG, Dupont S, de Moura JMLN, de Souza Vieira TMF. In Vitro and in Vivo Antioxidant Properties of Bioactive Compounds from Green Propolis Obtained by Ultrasound Assisted Extraction. *Food Chemistry X*. 2019;4,100054, doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100054.
- Cavalaro RI, de Freitas Fabricio LF, de Souza Vieira TMF. Ultrasound Assisted Extraction of Antioxidants from *Baccharis Dracunculifolia* and Green Propolis. *Processes*. 2020;8(12),1530, doi.org/10.3390/pr8121530.
- Cavuldak ÖA, Vural N, Anlı RE. Bitki Kaynaklı Fenolik Bileşiklerin Ultrasonik Dalga Destekli Ekstraksiyonu. *Gıda*. 2016;41(1),53-61, doi.org/10.15237/gida.GD15059.
- Cravotto G, Boffa L, Mantegna S, Perego P, Avogadro M, Cintas P. Improved Extraction of Vegetable Oils under High-Intensity Ultrasound and/or Microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2008;15(5),898-902, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.10.009.
- Çakır B, Güzel N. Optimization of Propolis Extraction Under Thermosonication and Quantification of Bioactive Compounds by LC-MS/MS. *Food Analytical Methods*. 2023;16(9),1583-1595, doi.org/10.1007/s12161-023-02526-0.
- Çakır B. Propolis Biyoaktif Bileşenlerinin Ultrasonik Ekstraksiyonunda Sıcaklık, Süre ve Solvent Konsantrasyonunun Etkisinin Belirlenmesi. Hitit Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çorum, 2022.
- Dai Y, van Spronsen J, Witkamp GJ, Verpoorte R, Choi YH. Natural Deep Eutectic Solvents as New Potential Media for Green Technology. *Analytica Chimica Acta*. 2013;766,61-68, doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019.
- de Zordi N, Cortesi A, Kikic I, Moneghini M, Solinas D, Innocenti G vd. The Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Polyphenols from Propolis: A Central Composite Design Approach. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2014;95,491-498, doi.org/10.1016/j.supflu.2014.10.006.
- Deblock-Bostyn G. L'Abeille et Ses Produits. *Bull Soc Pharm Lille*. 1982;38,181-203.
- Devequi-Nunes D, Machado BAS, Barreto GDA, Rebouças Silva J, da Silva DF, da Rocha JLC vd. Chemical Characterization and Biological Activity of Six Different Extracts of Propolis Through Conventional Methods and Supercritical Extraction. *PLoS One*. 2018;13(12), e0207676, doi.org/10.1371/journal.pone.0207676.
- Erdoğan S, Ateş B, Durmaz G, Yılmaz I, Seckin T. Pressurized Liquid Extraction of Phenolic Compounds from Anatolia Propolis and Their Radical Scavenging Capacities. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(7),1592-1597, doi.org/10.1016/j.fct.2011.04.006.
- Escriche I, Juan-Borrás M. Standardizing the Analysis of Phenolic Profile in Propolis. *Food Research International*. 2018;106,834-841, doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.055
- Funari CS, Sutton AT, Carneiro RL, Fraige K, Cavalheiro AJ, da Silva Bolzani V, Arrua RD. Natural Deep Eutectic Solvents and Aqueous Solutions as an Alternative Extraction Media for Propolis. *Food Research International*. 2019;125,108559, doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108559.
- Gargouri W, Osés SM, Fernández-Muiño MA, Sancho MT, Kechaou N. Evaluation of Bioactive Compounds and Biological Activities of Tunisian Propolis. *Lwt*. 2019;111,328-336, doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.044.
- Hamzah N, Leo CP. Microwave-Assisted Extraction of Trigona Propolis: The Effects of Processing Parameters. *International Journal of Food Engineering*. 2015;11(6),861-870, doi.org/10.1515/ijfe-2015-0106.
- Hu H, Wang Y, Zhu H, Dong J, Qiao J, Kong L, Zhang H. Two Novel Markers to Discriminate Poplar Type Propolis From Poplar Bud Extracts: 9-Oxo-ODE and 9-Oxo-ODA. *Journal of Food Composition and Analysis*.

## DERLEME / REVIEW

- 2022;105,104196,  
doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104196.
- Karlıdağ SK, Genç F. Farklı Balansı (Apis Mellifera) İrk ve Yöntemleri ile Üretilen Propolis Örneklerinin Reçine Miktarları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2007;7(2),52-58.
- Keskin M. Alginat-Propolis Mikrokapsüllerin in vitro Sindirim Sisteminde Salımının Ham Propolis ile Kıyaslanması. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2018;18(2),94-100,  
doi.org/10.31467/uluaricilik.485031
- Keskin Ş, Yatanaslan L, Karlıdağ S. Farklı İllerden Toplanan Propolis Örneklerinin Kimyasal Karakterizasyonu. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2020;20(1),81-88,  
doi.org/10.31467/uluaricilik.714317.
- Knorr D, Zenker M, Heinz V, Lee DU. Applications and Potential of Ultrasonics in Food Processing. *Trends in Food Science & Technology*. 2004;15(5),261-266,  
doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001.
- Koutsoukos S, Tsiaka T, Tzani A, Zoumpoulakis P, Detsi A. Choline Chloride and Tartaric Acid, a Natural Deep Eutectic Solvent for the Efficient Extraction of Phenolic and Carotenoid Compounds. *Journal of Cleaner Production*. 2019;241,118384,  
doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118384.
- Krell R. Value-Added Products From Beekeeping. *Food & Agriculture Org*. 1996;124.
- Kumova Ü, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G. Önemli Bir Arı Ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2002;2(2),10-24.
- Ma C, Laaksonen A, Liu C, Lu X, Ji X. The Peculiar Effect of Water on Ionic Liquids and Deep Eutectic Solvents. *Chemical Society Reviews*. 2018;47(23),8685-8720,  
doi.org/10.1039/C8CS00325D.
- Machado BAS, Barreto GDA, Costa AS, Costa SS, Silva RPD, da Silva DF vd. Determination of Parameters for the Supercritical Extraction of Antioxidant Compounds from Green Propolis Using Carbon Dioxide and Ethanol as Co-Solvent. *PLoS One*. 2015;10(8), e0134489,  
doi.org/10.1371/journal.pone.0134489.
- Mbous YP, Hayyan M, Hayyan A, Wong WF, Hashim MA, Looi CY. Applications of Deep Eutectic Solvents in Biotechnology and Bioengineering—Promises and Challenges. *Biotechnology Advances*. 2017;35(2),105-134,  
doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.11.006.
- Netíková L, Bogusch P, Heneberg P. Czech ethanol-free propolis extract displays inhibitory activity against a broad spectrum of bacterial and fungal pathogens. *Journal of Food Science*. 2013;78 (9), M1421-M1429,  
doi.org/10.1111/1750-3841.12230.
- Nieto A, Borrull F, Pocurull E, Marcé RM. Pressurized Liquid Extraction: A Useful Technique to Extract Pharmaceuticals and Personal-Care Products From Sewage Sludge. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2010;29(7),752-764,  
doi.org/10.1016/j.trac.2010.03.014.
- Nyandwi R. Farklı Ülkelerden Sağlanan Ham Propolislerin Biyolojik Aktiviteye Sahip Fenolik Bileşik İçeriklerinin Karşılaştırılması. *Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Bursa, 2017, (erişim tarihi.01.01.2004),  
https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi*.
- Oroian M, Dranca F, Ursachi F. Comparative Evaluation of Maceration, Microwave and Ultrasonic-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Propolis. *Journal of Food Science and Technology*. 2020b;57(1),70-78,  
doi.org/10.1007/s13197-019-04031-x.
- Oroian M, Ursachi F, Dranca F. Influence of Ultrasonic Amplitude, Temperature, Time and Solvent Concentration on Bioactive Compounds Extraction From Propolis. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2020a; 64,105021,  
doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105021.
- Özdal T, Ceylan FD, Eroğlu N, Kaplan M, Olgun EO, Çapanoglu E. Investigation of Antioxidant Capacity, Bioaccessibility and LC-MS/MS Phenolic Profile of Turkish Propolis. *Food Research International*. 2019;122,528-536,  
doi.org/10.1016/j.foodres.2019.05.028.
- Palos-Hernández A, Fernández MYG, Burrieza JE, Pérez-Iglesias JL, González-Paramás AM. Obtaining Green Extracts Rich in Phenolic Compounds from Underexploited Food by-Products Using Natural Deep Eutectic Solvents. Opportunities and Challenges.

## DERLEME / REVIEW

- Sustainable Chemistry and Pharmacy. 2022;29,100773, doi.org/10.1016/j.scp.2022.100773.
- Pellati F, Prencipe FP, Bertelli D, Benvenuti S. An Efficient Chemical Analysis of Phenolic Acids and Flavonoids in Raw Propolis by Microwave-Assisted Extraction Combined with High-Performance Liquid Chromatography Using the Fused-Core Technology. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013;81,126-132, doi.org/10.1016/j.jpba.2013.04.003.
- Rajan M, Batista TC, Oliveira CS, Oliveira DG, Narain N. Optimization of Solvent Extraction and HPLC-DAD Method Parameters for Determination of Phenolic Compounds in Various Brazilian Propolis. *Journal of Apicultural Research*. 2021;1-14, doi.org/10.1080/00218839.2021.1996111.
- Rebiai A, Seghir BB, Hemmami H, Zeghoud S, Belfar ML, Kouadri I. Determination of Some Phenolic Acids in Algerian Propolis. *Ovidius University Annals of Chemistry*. 2021;32(2),120-124, doi.org/10.2478/auoc-2021-0018.
- Reis JHDO, Barreto GDA, Cerqueira JC, Anjos JPD, Andrade LN, Padilha FF vd. Evaluation of the Antioxidant Profile and Cytotoxic Activity of Red Propolis Extracts from Different Regions of Northeastern Brazil Obtained by Conventional and Ultrasound Assisted Extraction. *Plos One*. 2019;14(7), e0219063, doi.org/10.1371/journal.pone.0219063.
- Reis JHDO, Machado BAS, Barreto GDA, Anjos JPD, Fonseca LMDS, Santos AAB vd. Supercritical Extraction of Red Propolis: Operational Conditions and Chemical Characterization. *Molecules*. 2020;25(20),4816, doi.org/10.3390/molecules25204816.
- Richter BE, Jones BA, Ezzell JL., Porter NL, Avdalovic N, Pohl C. Accelerated Solvent Extraction: a Technique for Sample Preparation. *Analytical Chemistry* 1996;68(6),1033-1039, doi.org/10.1021/ac9508199.
- Sağdıç O, Karasu S, Göktaş H. Piyasada Satılan Ticari Propolis Örneklerinin Biyoaktif Bileşenlerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim Ve Teknoloji Dergisi*. 2020;(19),19-31, doi.org/10.31590/ejosat.734204.
- Sambou M, Jean-François J, Ndongou Moutombi FJ, Doiron JA, Hebert M, Joy AP vd. Extraction, Antioxidant Capacity, 5-Lipoxygenase Inhibition and Phytochemical Composition of Propolis from Eastern Canada. *Molecules*. 2020;25(10),2397, doi.org/10.3390/molecules25102397.
- Sariyev R, Çaycı M, Oruç HH. Azerbaycan Propolislerinin Fenolik Madde İçerikleri ve Kalite Açısından Değerlendirilmesi. *Journal of Research in Veterinary Medicine*. 2019;38(2),44-51, doi.org/10.30782/jrv.578182.
- Shahbaz M, Zahoor T, Arshad R, Rafiq S, Qaisrani TB, Liaqat A vd. Chemical Profiling, HPLC Characterization And In Vitro Antioxidant Potential Of Pakistani Propolis Collected From Peripheral Region Of Faisalabad. *Cellular And Molecular Biology*. 2021;67(1),40-44, doi.org/10.14715/cmb/2021.67.1.6.
- Sorucu A. Marmara Bölgesindeki Propolislerde Biyolojik Etkisi Olan Fenolik Madde ve Miktarlarının Mevsim ve Rakım Farkına Bağlı Olarak Belirlenmesi. *Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Bursa, 2015, (erişim tarihi.01.01.2004), https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi*.
- Şengül M, Topdaş EF. Katı-Sıvı Ekstraksiyonunda Kullanılan Modern Teknikler ve Bu Teknikler Arasında Ultrason Yardımlı Ekstraksiyonun Yeri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2019;50(2),201-216, doi.org/10.17097/ataunizfd.466649.
- Şenol Yazkan SN, Hendek Ertop M. Maserasyon, reflüks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen kestane propolis ekstraktlarının farklı gıda modellerinde kullanımı: Fizikokimyasal, duyu ve biyoaktif niteliklere etkisi. *Food and Health*. 2024;10(1),22-39, doi.org/10.3153/FH24003.
- Trusheva B, Petkov H, Popova M, Dimitrova L, Zaharieva M, Tsvetkova I vd. "Green" Approach to Propolis Extraction: Natural Deep Eutectic Solvents. *Comptes Rendus De l'Académie Bulgare Des Sciences*.

## DERLEME / REVIEW

- 2019;72(7),  
doi.org/10.7546/CRABS.2019.07.06.
- Trusheva B, Trunkova D, Bankova V. Different Extraction Methods of Biologically Active Components From Propolis: A Preliminary Study. *Chemistry Central Journal*. 2007;1(1),1-4, doi.org/10.1186/1752-153X-1-13.
- TSE. Türk Standartları Enstitüsü. TS12910. Arıcılık-Arı Tutkalı (Propolis). 2003.
- Uçak İ. Propolis Ekstraktı ile Zenginleştirilmiş Balık Yağında Lipit Oksidasyonu Düzeyinin Belirlenmesi. *Gıda/Gıda Dergisi*. 2018;43(3), doi.org/10.15237/gıda.GD18031.
- Xi J, Shouqin Z. Antioxidant Activity of Ethanol Extracts of Propolis by High Hydrostatic Pressure Extraction. *International Journal of Food Science & Technology*. 2007;42(11),1350-1356, doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01339.x.
- Yavuz C, Ertürk Ö, Sarıkaya A. Propolisin Biyolojik Önemi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*. 2012;8,32-33.
- Yıldız O. Tüketilebilir Propolis Ekstrelerinde Kullanılan Çözücülerin (Menstrumların) Değerlendirilmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2020;20(1),24-37, doi.org/10.31467/uluaricilik.659556.
- Yucel B, Topal E, Kosoğlu M. Bee Products as Functional Food. Ed. Waisundara V, Shiomi N, "Superfood and Functional Food-An Overview of Their Processing and Utilization". InTech Press, Croatia, 2017, p.15-33.
- Zainal WNH, Azian NAAM, Albar SS, Rusli AS. Effects of Extraction Method, Solvent and Time on the Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of *Tetrigona Apicalis* Malaysian Propolis. *Journal of Apicultural Research*. 2021;1-7, doi.org/10.1080/00218839.2021.1930958.
- Zhang H, Fu Y, Niu F, Li Z, Ba C, Jin B vd. Enhanced Antioxidant Activity and in Vitro Release of Propolis by Acid-Induced Aggregation Using Heat-Denatured Zein and Carboxymethyl Chitosan. *Food Hydrocolloids*. 2018;81,104-112, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.019.