

TİCARİ PROPOLİS EKSTRAKTLARININ KALİTE PARAMETRELERİ AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

A Comparison of Commercial Propolis Extracts in Terms of Quality Parameters

Merve KESKİN*, Sevgi KOLAYLI

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon, E-posta: skolayli61@yahoo.com, ORCID No: 0000-0001-9365-334X,

Yazışma yazarı / Corresponding author: e-mail: merveozdemirkeskin@gmail.com

*ORCID No: 0000-0003-0437-6139

Geliş tarihi / Received:06.02.2019 Kabul Tarihi / Accepted:11.03.2019 DOI: <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.568302>

ÖZ

Propolis biyolojik aktif değeri yüksek doğal bir arı ürün olduğu için takviye edici gıda olarak değişik formülasyon ve paketlerde tüketilmektedir. Propolisin içeriği toplanma biçimi ve zamanı, arı ırkı ve toplandığı bölgenin florasına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle standardize ham propolis elde etmek mümkün değildir fakat farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan propolis ekstraktlarının standardize edilmesi mümkündür. Yapılan bu çalışma da Türkiye'nin değişik market ve aktarlarından toplanan ticari propolis ekstraktlarının bazı kalite parametreleri karşılaştırıldı. 20 değişik propolis ekstraktının briks, balsam, toplam fenolik madde miktarı (TFM), toplam flavonoid madde miktarı (TFMM) ve kondense tanen madde (KTM) miktarları ölçüldü. Çalışma sonucunda briks değerinin etanolik propolis ekstraktları için 25 ile 61 arasında, balsam değerlerinin %7.1 ile %95 arasında, TFM' nin %1 ile %95 arasında, TFMM'nin %0.1 ile %7.8 arasında ve KTM' nin %0.04 ile %0.4 arasında değiştiği tespit edildi. Propolis özütlerinin hazırlanması, tüketilmesi ve standardize edilmesinde bu parametrelerin önemli rol alabileceği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ticari propolis ekstraktı, Polifenoller, Flavanoidler, Balsam, Briks

ABSTRACT

Propolis is a natural bee product, which contains a high amount of biological active components. It is consumed in different extract forms as supplementary food. Standardization of raw propolis is difficult because the composition of raw propolis depends on many factors such as flora of the area, harvesting season, collection style, and bee strain. However, standardization of propolis extract prepared with ethanol rather than raw propolis is achievable. In this study, different commercial propolis extracts were purchased from markets and their quality parameters were compared with each other. The amount of brix, balsam, total phenolic, total flavonoids and condensed tannins were determined in twenty different commercial propolis extracts. Results showed that the amount of brix ranges from 0 to 61, balsam from 7.1% to 95%, total phenolic content from 1% to 9.5%, total flavonoids from 0.1% to 7.8%, and condensed tannins from 0.004% to 0.4% for the ethanolic propolis extracts. Our results suggest that these parameters may play an important role in the preparation, consumption, and standardization of propolis extracts.

Key words: Commercial propolis extracts, Polyphenols, Flavonoids, Balsam, Brix

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

EXTENDED ABSTRACT

Goal: Propolis, is a resinous mixture, collected by honeybees from tree bud and exudates of the plants. Propolis is collected by bees to coat cracks in their hives and also to protect hives against microorganisms. Propolis contains flavonoids, aromatic acids, diterpenic acids and phenolic compounds and these components are responsible for its antitumor, anticancer, antiviral and antifungal effects. Propolis was widely used in ancient cultures as folk medicine. The use of natural drugs has increased in the last 20 years due to the emergence of side effects of synthetic drugs and resistance to these drugs. This makes propolis popular as an alternative and complementary medicine. Nowadays propolis is used in different forms and formulations as food additive, complementary medicine, cosmetic products, etc. The consumption of raw propolis is not advised by the doctors. It should be extracted to convert it into consumable form but because of its complex resinous nature, the solubility of propolis differs according to solvent used for extraction. Solvents used for propolis extraction should solve the propolis and be nontoxic. Today, there are various propolis extracts prepared with many different solvents such as alcohol, olive oil, glycerol, polyethylene glycol, dimethylsulfoxide (DMSO) and mineral salts in pharmacies and markets. Most of these extracts are produced by uncontrolled manner by unqualified persons. It is obvious that this situation could cause real health problems. In this study, different commercial propolis extracts was purchased from markets and their quality parameters compared with each other.

Material and Method: The amount of brix, balsam, total phenolic compounds, total flavonoids and condensed tannin were determined in twenty different commercial propolis extracts.

Results: Results showed that the amount of brix changes from 25 to 61, balsam from 7.1% to 95%, total phenolic compounds from 1% to 9.5%, total flavonoids from 0.2% to 5% and condensed tannin from 0.004% to 0.4% for the ethanolic propolis extracts.

Conclusion: It can be seen that these parameters may play an important role in the preparation, consumption and standardization of propolis extracts.

GİRİŞ

"Apiterapi" arı ürünleri ile yapılan tedavi olup, geleneksel ve tamamlayıcı tıp içinde yer alan ve son zamanlarda kullanımı bir hayli artan bir tedavi şeklidir. Bal, polen, propolis, arı sütü, arı zehri gibi arı ürünleri apiterapik amaçla çok eski çağlardan günümüze kadar kullanılagelen doğal ürünlerdir. Kemoterapötik ilaçların insan sağlığına olumsuz etkileri ve antibiyotik dirençliliği gibi nedenlerden dolayı son zamanlarda geleneksel ve doğal yöntemler ile tedavi yöntemlerine eğilimler artmış bulunmaktadır. Hatta bu konuda Sağlık Bakanlıkları yasal mevzuatlar oluşturmuş, sertifika programları açılmış ve apiterapi klinikleri oluşturulmuş ve sağlık turizminin de önemli bir parçası haline gelmiştir.

Propolis; çeşitli bitkilerin yaprak, tomurcuk, kabuk vb. kısımlarından işçi arılar tarafından toplanan, reçinemi, suda az çözünen vizkoz, yapışkan, keskin kokulu bir karışımdır. Bal arıları kovanlarını her türlü fiziksel ve kimyasal tehlikeye karşı savunma amacıyla propolis kullanırlar. Propolisin fiziksel ve kimyasal özellikleri elde edildiği coğrafi bölgeye göre değişiklik göstermekle birlikte içerdiği uçucu yağlar ve polifenoller nedeniyle yüksek

antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antitumoral özellikler sergilemektedir. Ham propolis %40-50 reçine, %20-30 mum, %5-10 uçucu yağlar, %1-5 polen, çeşitli fenolik bileşikler ve organik asitlerden oluşur. Propolis çürümeyi önleyici özelliği bilindiğinden dolayı eski çağlardan beri mumyalamada, vücudun enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmasını arttırmada ve yaraları kapatarak tedavi etmekte doğal bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Ahn v.d., 2007; Li v.d., 2008; Aliyazıcıoğlu v.d., 2013).

Propolis biyolojik aktif potansiyeli yüksek olduğu için apiterapi amaçlı uygulamalarda son derece umut vaat etmektedir. Ancak reçinemi kompleks matriks yapısının çözünürlüğü önemli bir problem olup, insan sağlığına zarar vermeyecek güvenilir propolis ekstraktlarının hazırlanarak kullanıma arz edilmesi gerekmektedir. Son 20 yıl içerisinde sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve hastalık etmenlerinin bu ilaçlara karşı dirençli olması nedeniyle doğal ilaçların kullanımına karşı eğilim artmıştır. Bu durum propolisi alternatif ve tamamlayıcı tıp ürünü olarak popüler kılmıştır.

Yapılan bilimsel çalışmalarda propolisin bileşiminde bulunan terpen, terpenoid, seskoterpen gibi uçucu bileşenlerin yanında içerdiği sayısız polifenolik bileşiğin biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu ve bu bileşenlerin polardan apolara doğru çözünürlüklerinin değiştiği bildirilmektedir (Sahlan ve Supardi, 2013 ve Huang v.d., 2014). Fenolik asitler nispeten polar karakterde olduğu için suda çözünürlükleri fazladır, fakat flavanoidlerin sudaki çözünürlükleri modifikasyonlarına göre değişmektedir. Hidroksil grupları sayısı fazla ve şekerler ile glikozit bağı oluşturan flavanoidlerin sudaki çözünürlüğü daha yüksek, ancak alkil grubu içeren flavanoidlerin çözünürlüğü düşüktür (Pujirahayu v.d., 2014). Örneğin, kafeik asitin suda çözünürlüğü yüksek olduğu halde kafeik asit fenetil esterlerinin (CAPE) düşüktür. Ancak alkolün insan sağlığına olumsuz etkileri (Ahmet, 2008) insanları farklı çözücüler bulmaya yöneltmiştir. Bugün çeşitli aktarlar ve eczanelerde alkol, zeytinyağı, gliserol, polietilen glikol, dimetilsülfoksit (DMSO) ve mineral tuzlar, gibi pek çok değişik çözücüler ile hazırlanan propolis ekstraktları bulunmaktadır. Bunların bir kısmı Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı izni ile takviye edici gıda olarak satılmakla birlikte pek çoğu merdiven altı tekniklerle üretilmekte ve içeriği analiz edilmeden etiketsiz olarak satılmaktadır.

Yapılan bu çalışma ile farklı çözücüler kullanılarak piyasaya sunulan ticari propolis örneklerini biyokimyasal açıdan değerlendirilmesi ve ürünler arasındaki farklılıklar ortaya konması ve propolis standardının çıkarılması hedeflenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda rastgele örnekleme yöntemine göre piyasada satışa sunulan ve Türkiye de üretilen ticari propolis örnekleri kullanıldı. Bu amaçla, 20 farklı propolis özütü (ekstraktları) toplandı ve +4 °C' da buzdolabında çalışma için bekletildi. Bu çalışmada kullanılan ticari markalar zikredilmemiş olup sadece örnekler numaralandırıldı.

Briks Değeri Tayini

Ticari olarak temin edilen numunelerin % çözünen katı miktarını tayin edebilmek amacıyla refraktometre cihazı (Atago, Germany) kullanıldı. Refraktometre kullanılarak ölçülen değerler etanolik propolis ekstraktı Briks değeri olarak ifade edildi.

Balsam Miktarı Tayini (%)

Balsam miktarı tayini etil alkol ekstraksiyon yöntemine göre yapıldı (Popova et.al., 2017). Bu amaçla sabit tartıma gelmiş evaporatör balonu tartılarak ağırlığı tayin edildi (boş tartım) daha sonra balona 2 mL propolis ekstraktı ilave edildi ve etil alkol uçuruldu. Bu işlemten sonra sabit tartıma getirilen balonun ağırlığı belirlendi (dolu tartım). Dolu ve boş kapların tartımı arasındaki fark üzerinden % balsam değeri hesaplandı.

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Folin metodu kullanılarak propolis ekstraktlarının toplam polifenol miktarı belirlendi (Singleton ve Rossi, 1965; Singleton v.d., 1999). Gallik asit (GA) standardı kullanılarak kalibrasyon grafiği Gallik asitin farklı konsantrasyonlarda (1,0; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) çözeltileri kullanılarak hazırlandı ve sonuçlar Gallik asit eşdeğeri cinsinden mg GAE/mL propolis ekstraktı olarak ifade edildi.

Toplam Flavanoid Tayini

Toplam flavanoid madde miktarı tayini Fukumoto ve Mazza (2000)'ya göre yapıldı. Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi olarak da adlandırılan bu metodun prensibi, alüminyum klorürün, flavanoidlerin 4-keto ve C-3 ya da C-5 (ya da her ikisi) hidroksil grubu ile kararlı bir asit kompleksinin oluşturulmasına dayanmaktadır. Standart olarak farklı konsantrasyonlarda (0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125; 0,015625 ve 0,0078125 mg/mL) kuersetin (KE) kullanıldı ve toplam flavanoid miktarı Kuersetin eşdeğeri cinsinden mg KE/ mL propolis ekstraktı olarak ifade edildi.

Kondanse Tanen Miktarı Tayini

Kondanse tanen miktarı tayini Julkunen-Titto (1985)'in belirttiği metoda göre yapıldı. Farklı konsantrasyonlarda (1,0; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) kateşin içeren tüplerin 500 nm' de ölçülen absorban değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Elde edilen kalibrasyon grafiğine göre propolis ekstraktlarının kondanse tanen madde miktarı hesaplandı. Örneklerin kondanse tanen madde miktarı Kateşin eş değeri cinsinden mg KatE/mL propolis ekstraktı olarak ifade edildi.

İstatistik

Elde edilen deneysel verilerin ortalama değer, standart sapma ve korelasyon hesaplamaları Microsoft excel programı kullanılarak yapıldı.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

BULGULAR

Briks Değeri Tayini

Yapılan analizler neticesinde piyasadan temin edilen örneklerin Briks değerinin 0-100 arasında değiştiği tespit edildi.

Balsam Miktarı Tayini

Etanolik ekstrakt içerisinde çözülmüş madde miktarı olarak ifade edilen balsam miktarının ticari örneklerde %0.11 ± 0.02 ile %95.07±0.05 arasında değiştiği tespit edildi. Elde edilen veriler Tablo 1'de özetlendi.

Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Ticari ekstraktların toplam fenolik madde miktarının (TFM) 0.25±0.01 mg GAE/mL ile 77.68±6.34 mg GAE/mL arasında değiştiği tespit edildi ve elde edilen veriler Tablo 1'de özetlendi.

Toplam Flavanoid Tayini

Ticari propolis ekstraktlarının en yüksek toplam flavanoid miktarının (TFMM) 23.33±0.23 mg KE/mL olduğu tespit edildi ve elde edilen veriler Tablo 1'de özetlendi.

Kondanse Tanen Miktarı Tayini

Ticari ekstraktların en yüksek kondanse tanen madde miktarının 5.78±0.08 mg KatE/mL olduğu tespit edildi ve elde edilen veriler Tablo 1'de özetlendi.

İstatistik

Elde edilen Briks ve toplam fenolik madde miktarı verilerinin arasında korelasyon olduğu görüldü. Briks değeri ve TFM arasındaki korelasyon değerinin 0.9 olduğu görüldü. Bu katsayı briks değeri ve TFM arasında oldukça iyi bir ilişki olduğunu göstermektedir.

TARTIŞMA

Ham propolis yapısında bulunan reçine ve mum benzeri maddelerden dolayı kolay tüketilebilen bir doğal karışım değildir. Bu nedenle yapısında az miktarda bulunan biyolojik açıdan aktif bileşenlerin bu matriks yapıdan izole edilerek tüketilmesi yıllardır uygulana gelen bir yöntem olup adına ekstraksiyon veya özütleme adı verilmektedir. Bu amaçla etanol başta olmak üzere, gliserol, polietilen/ polipropilen glikol, gliserol, su, zeytinyağı gibi çözücüler kullanılmaktadır.

Bir çözelti içerisinde çözülmüş olan maddenin miktarı bilinmiyorsa maddenin kırılma indisini bularak miktarını tayin etmek mümkündür. Kırılma indisi maddenin fiziksel özelliğidir ve her maddenin

kendine özgü bir kırılma indeksi vardır. Refraktometreler çözelti içerisindeki katı veya çözülmüş madde miktarını ve kırılma indisini ölçmeye yarayan cihazlar olup gıda kimyası için çok önemlidirler. Refraktometrelerin kuru madde çizelgesi 20°C' deki sakkaroz çözeltilerine göre ayarlanmıştır. Bu nedenle elde edilen Briks değerlerinin % çözünür kuru madde miktarı sakkaroz cinsinden ifade edilmektedir. Daha çok sulu çözeltilere uygulanan bu teknik etanolik propolis özütleri için de kullanılmaktadır (Cardoso v.d., 2016; Pastor v.d., 2011; Popova v.d., 2017).

Tablo 1' de çalışma sonucu elde edilen Briks değerleri verilmektedir. Çalışmada ölçülen etanolik ve sulu propolis ekstraktları Briks değerlerinin 0 ile 61 arasında değişim gösterdiği tespit edildi. Su ve etanol dışında çözücü kullanılması durumunda Briks değerinin oldukça yükseldiği ve hatta tayin sınırının dışına çıktığı tespit edildi. Keskin (2018) yaptığı çalışmada ham propolisler kullanılarak hazırlanan propolis ekstraktlarının Briks değerlerinin 20-27.50 Briks arasında değiştiğini ifade etmiştir. Cardoso et.al. (2016) hazırladıkları propolis ekstraktlarının Briks değerini 25.9 Briks bulurken, Pastor v.d., (2011) ekstraktların Briks değerini 18.5-20 Briks arasında değiştiğini ifade etmişlerdir. Ticari numunelerin Briks değerlerinin içerdikleri safsızlıklar veya çözünlülüğü etkileyen farklı çözücüler nedeniyle oldukça değişken olduğu tespit edildi. Bu durum propolis ekstraktı hazırlanırken etanol dışında bir çözücü kullanılıp kullanılmadığı açısından da fikir edinmemizi sağlamaktadır. Ayrıca etanolik propolis ekstraktları briks ve toplam polifenol verileri arasındaki korelasyondan (korelasyon katsayısı 0.9) yola çıkılarak ekstraktın içerdiği toplam polifenol miktarı hakkında da tahminde bulunulabilir.

Etanolde çözünen kısım olarak tanımlanan balsam miktarı arttıkça propolisin kalitesinin arttığı ifade edilmektedir. Çalışma sonucu elde edilen balsam değerinin sulu ve etanolik propolis ekstraktları için %0.1-95 arasında değiştiği tespit edildi. Sulu ve etanolik propolis ekstraktlarının balsam miktarı arasındaki farkın yüksekliği balsam miktarının çözücüye bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Etanol dışında bir çözücü kullanıldığında, çözücünün uçurulması zorlaşmakta ve hatta kullanılan bazı çözücülerin evaporasyon sonrası kalıntı bıraktığı (hesaplanan balsam miktarı üç tekrar neticesinde >%100 olduğu görüldü) tespit edildi. Popova v.d., (2017) tarafından Bulgaristan'ın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri değerlendirilmiştir. Etanol de

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

çözünen kısım olarak ifade edilen balsam miktarı %33 ile %88 arasında değiştiği belirtilmektedir. İspanyadan toplanan propolis örneklerinin bazı değerleri belirlenmiştir (Bonhevi ve Gutierrez, 2011). Bu çalışmaya göre balsam değeri %52.5-76.2 arasında değiştiği ifade edilmektedir. Balsam miktarının oldukça değişken olduğu görülmektedir. Ancak ticari propolis örneklerinde yapılmış çalışmaların azlığından dolayı, bulgularımızı literatürdeki işlenmiş propolis örnekleri ile karşılaştırmak mümkün olmadı.

Propolisin iyi bir polifenol kaynağı olması bakımından takviye edici gıda rolü bulunmaktadır. Toplam polifenol miktarı en kolay spektrofotometrik yöntemler kullanılarak tespit edilmektedir (Baltas v.d., 2016). Ham propoliste polifenolik madde miktarı pek çok parametreden etkilenmektedir, ancak başta propolis'in toplandığı flora olmak üzere, propolisin toplanma biçimi ve hasat zamanı ile toplam biçimi en çok etkileyen faktörlerdir. Ancak ticari propolis ekstraktlarındaki toplam polifenolik madde miktarını, birim hacim çözücüde çözünen ham propolis miktarı, ekstraksiyon süresi ve kullanılan ham propolis

kalitesi belirlemektedir. Birim hacim çözücüde çözünen ham propolis miktarı arttıkça Briks değeri, balsam değeri ve ona bağlı olarak da toplam polifenolik madde miktarı artmaktadır. Çalışmamız sonucu elde edilen veriler dikkate alındığında ise toplam polifenolik madde miktarlarının sulu ve etanolik propolis ekstraktları için 0.1 (%0.01) ile 78 mg GAE/mL (%7.8) arasında değişim gösterdiği bulundu. Herrera v.d., (2010) ticari propolis ekstraktları ile yapmış oldukları bir çalışmada ticari Şili propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini ve toplam polifenol miktarını belirlemişlerdir. Bu çalışmaya göre ticari Şili propolis ekstraktlarının toplam polifenol madde miktarı 9.0 ile 85.00 mg GAE/mL arasında değişmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz toplam fenolik madde miktarının literatür ile uyumlu olduğu, bu miktarın çözelti derişimine, propolis kaynağına ve kullanılan çözücüye göre değişiklik gösterdiği görülmektedir. Literatürdeki propolislere ait toplam polifenolik madde miktarları daha çok ham propolis içerisindeki polifenolik içeriğin ölçülmesi olarak rapor edilirken, ticari örnekler için fazla çalışma bulunmamaktadır.

Tablo 1: Propolis ekstraktlarının kalite parametreleri açısından değerlendirilmesi

Table 1: Evaluation of propolis extracts in terms of quality parameters

Numune /Samples	Kullanılan Ekstraksiyon Çözücüsü / The solvent of extraction	Briks / Brix*	% Balsam	Toplam Polifenol Miktarı mg GAE/mL/ Total polyphenol content	Toplam Flavanoit Miktarı mg KE/mL/ Total flavonoid content	Kondanse Tanen Miktarı mg KatE/mL/ Amount of condensed tanin
1	EtOH	29	9.21 ± 0.08	21.12±0.90	4.65±0.05	0.36±0.05
2	EtOH	27	8.13 ± 0.2	11.15±0.25	2.45±0.07	0.34±0.04
3	EtOH	53	33.62±0.02	41.89±1.30	5.77±0.32	2.29±0.18
4	EtOH	35	63.03 ± 0.1	28.85±0.21	T.E	0.57±0.13
5	EtOH	61	95.07±0.05	77.68±6.34	23.33±0.23	2.21±1.30
6	EtOH	42	19.21 ± 0.2	38.85±0.63	5.74±0.37	0.90±0.28
7	EtOH	36	32.16±0.05	11.47±0.01	2.01±0.02	0.11±0.01
8	EtOH	31	42.73±0.06	28.15±0.09	9.90±0.36	3.63±0.08
9	EtOH	27	15.62±0.1	22.48±0.95	6.50±0.05	0.23±0.03
10	EtOH	40	18.66±0.06	37.58 ±0.69	7.13±1.16	0.52±0.03
11	EtOH	25	7.13±0.03	10.48±0.12	0.33±0.01	T.E
12	EtOH	33	32.17±0.05	25.62±0.16	11.83±0.27	1.65±0.04
13	EtOH	35	42.60±0.1	40.74±0.9	19.32±0.33	5.78±0.08
14	Su/Water	0	34.80±0.05	6.83±0.09	T.E	0.29±0.03
15	Su/Water	0	0.11 ± 0.02	0.25±0.01	0.01±0.00	T.E
16	Su/Water	0	0.22 ± 0.02	0.90±0.07	0.04±0.00	T.E
17	Su/Water	0	0.14 ± 0.02	0.09±0.01	0.06±0.01	T.E
18	Yağ/Oil	85	T.E	12.58±0.93	1.62±0.04	T.E
19	Çözücü Belli Değil/The solvent is not clear	96	T.E	58.70±1.09	1.24±0.03	1.14±0.00
20	Çözücü Belli Değil/The solvent is not clear	37	T.E	3.40±0.32	0.75±0.11	T.E

*Analiz sonuçları üç tekrarlı olarak elde edilmiş, Briks tayininde standart sapma < 0,01 olduğu için tablo değerlerine yansıtılmamıştır.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Nitekim ham propolis örneklerine ait toplam polifenolik madde miktarlarının ortalama %2 ile %20 arasında değiştiği ve bunun floral kaynaklardan etkilendiği de belirtilmektedir. Woisky ve Salatino (1998) Brezilya propolislerinde toplam polifenol miktarının %8.8 ile 13.70 arasında değiştiği rapor ederlerken; flavonoid miktarının minimum %0.35 maksimum %2.70 olduğunu belirtmişlerdir. Bulgaristan propolisinin kimyasal bileşenlerini belirlemek ve basit bir standardizasyon çalışması yapmak amacıyla Bulgaristan'ın farklı bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin toplam polifenol ve flavonoid miktarları belirlenmiş ve toplam polifenol miktarının yaklaşık %11.2 ve toplam flavonoid miktarının ise %2.90 olduğu ifade edilmiştir (Popova v.d., 2017).

Yapılan bir başka çalışmada Brezilya propolis ekstraktları fenolik bileşenlerini araştırılmış (Cunha v.d., (2004). Bu çalışmada farklı ekstraksiyon metodları kullanılarak metodların fenolik içeriğe etkisi araştırılmıştır. Propolis ekstraktları Soxhlet cihazı ile ayrı ayrı 10 gün ve 20 gün boyunca alkolle muamele sonucu elde edildiği bildirilmiş. Sırasıyla polifenol değerleri %13.34, 11.50 ve 11.87 bulunduğu bildirilmiştir. Fenolik içerikler %30, %50 ve %70'lik alkol çözeltileri kullanılarak elde edildiği bildirilmiştir. Alkol oranı arttıkça bileşenlerin miktarının da arttığı rapor edilmiştir. Keskin ve Kolaylı (2018) ise yapmış olduğu çalışmada etanolik propolis ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarının yaklaşık %5 ile %16 arasında değiştiğini, toplam flavanoid miktarının 51.23 mg KE/g ile 1.24 mg KE/g arasında değiştiğini ve kondanse tanen madde miktarının 8.47 mg KatE/g ile 2.53 mg KatE/g arasında değiştiğini ifade etmiştir.

Polifenoller yaklaşık 8-10 bin üyesi bulunan geniş sekonder metabolit ailesi olup, fenolik asitler, flavanoidler, tanenler, prosyaninler, ligninler, gibi çok alt sınıfa ayrılırlar. Flavanoidler fenolik asitlere göre nispeten apolar moleküller olup bitkilerin renk, koku, aroma ve diğer biyolojik aktif değerinden sorumlu ajanlardır. Yüksek flavanoid madde miktarı yüksek antioksidan, antibakteriyal, anti-inflamatuar kapasite gibi özellikleri yansıtmaktadır. Ticari propolis özütlerinin total flavanoid madde miktarlarının 0.01 ile 23.33 mg KE/mL arasında değişim gösterdiği tespit edildi. Etanolik ekstraktların total flavanoid madde miktarlarının yüksek, sulu özütlerde ise düşük olduğu dikkati çekmektedir.

Tanenler, polifenoller ailesinin bir üyesi olup, boyar maddeden yapıştırıcı madde yapımına kadar çok

geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Tanenler; ellagitanenler, gallotanenler, kompleks tanenler ve kondense tanenler olarak 4 alt sınıfta toplanırlar. Daha çok ağaç kabuklarında yer alan bu kompleks polifenolik moleküller kateşin, gallik asit, elagik asit ve onların polimerleridir (Khanbabae ve Ree, 2001, Mayworm v.d., 2014). Kondanse tanenler veya proantosyanidinleri bir grup kateşin oligomerleridir. Spektrofotometrik bir yöntemle ölçülen kondanse tanen madde miktarları 0.23 ile 5.78 mg KatE/mL arasında değişim göstermektedir. Keskin ve Kolaylı (2018) yapmış olduğu çalışmada etanolik propolis ekstraktlarının kondanse tanen miktarının 2.53 ile 8.47 mg KatE/mL arasında değiştiğini ifade etmiştir. Propoliste tanen ölçümü ile literatürde fazla çalışma bulunmadığından verileri karşılaştırmak mümkün değildir.

SONUÇ

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Yönetmeliğinde de yer alan ve takviye edici gıda olarak da kullanılan propolis özütlerinin hazırlanması ve piyasaya arz edilmesinde bazı kriterlerin bulunması ve standardize edilmesi gerekmektedir. Ancak bu ürünlerin nasıl standardize edilmesi gerektiği tam bir tartışma konusudur. Yapılan bu çalışma ile Türkiye de ticari olarak satışa sunulan propolis özütlerinin bazı parametreleri karşılaştırıldı. Briks, balsam, toplam fenolik madde miktarı ve toplam flavanoid madde miktarlarının referans alınarak ölçüldüğü bu çalışma ile her bir parametrenin gerek ham propolis kalitesinin ve gerekse de işlenmiş propolis özütlerinin kalitesinin belirlenmesinde önemli kriterler olduğu görülmektedir. Propolis özütlerinin tüketilmesinde, etiketlenmesinde, fiyatlandırılmasında bu kriterlerin göz önüne alınarak standardize edilmesi mümkün görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmet, F. (2008). Toxicological effects of ethanol on human health, *Critical Reviews in Toxicology* 25 (4): 347-367.
- Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China, *Food Chemistry* 101: 1383-1392.
- Aliyazıcıoğlu, R., Sahin, H., Ertürk, O., Ulusoy, E., Kolaylı, S. (2013). Properties of phenolic composition and biological activity of

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- propolis from Turkey. *International Journal of Food Properties* 16: 277-287.
- Baltas, N., Karaoglu, S.A., Tarakci, C., Kolayli, S. (2016). Effect of propolis in gastric disorders: inhibition studies on the growth of *Helicobacter pylori* and production of its urease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 31:2.
- Bonvehi, J. S., Gutierrez, A. L. (2011). Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *Am. Oil Chem. So.* 88: 1387–1395.
- Cardoso, J.G., Ioriob, N.L.P., Rodrigues, L.F., Courib, M.L.B., Farah, A., Maia, L.C., Antonio, A.G. (2016). Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. *Archives of Oral Biology* 65: 77–81.
- Cunha, I.B. S., Sawaya, A. C.H.F., Caetano, F.M., Shimizu, M.T., Marcucci, M.C., Drezza, F.T., Povia, G.S., Carvalho, P. (2004). Factors that Influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *J. Braz. Chem. Soc.* 15 (6): 964-970.
- Fukumoto L. R., Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal Agriculture Food Chemistry* 48: 3597-3604.
- Herrera, C.L., Alvear, M., Barrientos, L., Montenegro, G., Salazar, L.A. (2010). The antifungal effect of six commercial extracts of Chilean propolis on *Candida* spp., *Cien. Inv. Agr.* 37(1):75-84.
- Huang, S., Zhang, C., Wang, K., Li, G., Hu, F. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules.* 19: 19610-19632.
- Julkunen-Titto R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 33: 213–217.
- Keskin, M. (2018). Propolis ve Özütlerinin Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi ve Enkapsülasyonu. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Keskin, M., Kolaylı, S. (2018). Standardization of propolis, Is it possible?, *U. Bee J.* 18 (2): 101-110.
- Khanbabae, K., Ree, T. (2001). Tannins: Classification and definition, *Nat. Prod. Rep.* 18: 641–649.
- Li, F., Awale, S., Tezuka, Y., Kadota, S. (2008). Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure–activity relationship, *Bioorg. Med. Chem.* 16: 5434–5440.
- Mayworm, M. A. S., Lima, C. A., Tomba, A. C. B., Fernandes-Silva, C. C., Salatino, M. L. F., Salatino, A. (2014). Does propolis contain tannins? *Complementary and Alternative Medicine.* 4.
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Marcilla, A., Chiralt, A., Cháfer, M., Chelo González-Martínez, C. (2011). Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology.* 60: 64–70.
- Popova, M., Giannopoulou, E., Skalicka-Woźniak, K., Graikou, K., Widelski, J., Bankova, V., Kalofonos, H., Sivolapenko, G., Gawel-Beben, K., Antosiewicz, B., Chinou, I. (2017). Characterization and biological evaluation of propolis from Poland. *Molecules.* 22: 1159.
- Pujirahayu, N., Ritonga, H., Uslinawaty, Z. (2014). Properties an flavonoids content in propolis of some extraction method of raw propolis. *Innovare Academic Sciences.* 6 (6): 338-340.
- Sahlan, M., Supardi, T. (2013). Encapsulation of Indonesian propolis by *Casein Micelle*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 4(1): 297-305.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture.* 16: 144-158.
- Singleton, V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology.* 299: 152-178.
- Woisky, R. G., Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research.* 37(2): 99-105.