

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

**KAYSERİ PROPOLİSİNİN KİMYASAL YAPISI VE
STANDARDİZASYONU**

**Tezi Hazırlayan
Tuğba ENGÜR**

**Tezi Yöneten
Doç.Dr.Talat ÖZPOZAN
Yrd.Doç.Dr.Sibel SİLİCİ**

**Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2007
KAYSERİ**

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

**KAYSERİ PROPOLİSİNİN KİMYASAL YAPISI VE
STANDARDİZASYONU**

**Tezi Hazırlayan
Tuğba ENGÜR**

**Tezi Yöneten
Doç.Dr.Talat ÖZPOZAN
Yrd.Doç.Dr.Sibel SİLİCİ**

**Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2007
KAYSERİ**

Doç. Dr. Talat ÖZPOZAN ve Yrd. Doç. Dr. Sibel SİLİCİ danışmanlığında **Tuğba ENGÜR** tarafından hazırlanan; “**Kayseri Propolisinin Kimyasal Yapısı ve Standardizasyonu**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

29 / 01 / 2007

JÜRİ :

Başkan: : Doç. Dr. Talat ÖZPOZAN

Üye : Doç. Dr. Zeki BÜYÜKMUMCU

Üye : Doç. Dr. Şerife TOKALIOĞLU

ONAY :

Bu tezin kabulü enstitü yönetim kurulunun// Tarih ve Sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....//

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezin hazırlanmasında sabırla yardımcı olan danışmanım Doç.Dr.Talat ÖZPOZAN'a ve ikinci danışmanım Yrd.Doç.Dr.Sibel SİLİCİ'ye, Kimya Bölümü Araş.Gör.Zeki AYDIN ve Araş.Gör.Serkan ŞAHAN'a, en büyük desteğim, yardımcım aileme teşekkür ederim.

KAYSERİ PROPOLİSİNİN STANDARDİZASYONU, KİMYASAL VE FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ

Tuğba ENGÜR

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2007

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Talat ÖZPOZAN,

Yrd.Doç. Dr. Sibel SİLİCİ

ÖZET

Propolis (bal tutkalı) bal arılarının çeşitli bitkilerin tomurcuk ve sürgünlerinde bulunan reçineye balmumu katarak kovanda çeşitli amaçlarla kullandıkları yapışkan, koyu renkli maddedir. Propolis antibakteriyel, antifungal, antitumoral, antioksidatif, immunomodulator ve diğer faydalı aktiviteleri ile doğal bir ilaç olarak kullanılan önemli bir arı ürünü olup bu çalışmada Kayseri merkez ve çevre ilçelerindeki propolis örneklerinin çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Propolis örnekleri Kayseri merkez ve ilçelerinden (Bünyan, Sarioğlan, Tomarza, Melikgazi, Yahyalı, Yeşilhisar, Develi, Özvatan) toplanmıştır. Örneklerin kimyasal ve fiziksel analizleri için kuru madde, kül miktarı, oksidasyon davranışları, pH ve toplam flavanoid miktarları belirlenmiştir.

Kayseri propolisini temsil eden örneklerde ortalama % mum miktarı 13,30, ortalama % kuru madde miktarı 3,64, ortalama % kül miktarı 2,93, oksitlenebilen % örnek sayısı 86,67, ortalama pH değeri 3,20, ortalama % toplam fenolik miktarı 59,12 olarak bulunmuş ve bu değerler çeşitli ülkelerde bulunan sonuçlarla karşılaştırılmış ve ülke ekonomisi açısından elde edilen bulguların önemi tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: propolis, fiziksel ve kimyasal özellikler, analiz, Kayseri

**STANDARDIZATION AND DETERMINATION OF CHEMICAL AND
PHYSICAL PROPERTIES OF PROPOLIS FROM KAYSERI**

Tuğba ENGÜR

Erciyes University, Institute of Science

M.Sc. Thesis, January 2007

Supervisors: Assoc. Prof. Dr. Talat ÖZPOZAN,

Assist. Prof. Dr. Sibel SILICI

ABSTRACT

Propolis is a dark colored material made of wax and sticky plant originated resin (from bud and **bourgeon**) by bees and used for different applications on hives including filling up vacancies between comb and frame, polishing covered surface of comb and fixing combs in hives etc.. Propolis is an important bee product used as a natural medicine due to its antibacterial, antifungal, anti-tumoral, anti-oxidative, imunomodulatory activities. Therefore, propolis samples of different regions of Kayseri were studied to determine their physical and chemical properties for their standardization as the aim of this work.

Propolis samples were obtained from different regions of Kayseri and its counties (Bunyan, Sarioglan, Tomarza, Melikgazi, Yahyali, Yesilhisar, Develi and Ozvatan). Ash content, dry matter content, oxidative property, pH, total flavonoid content of the propolis samples were determined as Chemical and physical properties.

Some characteristic values of samples representing Kayseri propolis can be listed as follows; average beewax percentage (w/w) is 13.30, average dry matter percentage (w/w) is 3.64, average ash percentage is 2.93, number of oxidizable sample percentage is 86.67, average pH of samples is 3.20, average total phenolic content percentage is 59.12. These values were compared with the results obtained at different countries and the importance of the results found in this work were discussed from the economical point of view for the export of Turkish bee products

Keywords: propolis, chemical and physical property, analysis, Kayseri

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TABLolar LİSTESİ	vii
1. BÖLÜM	1
GİRİŞ	1
2. BÖLÜM	3
KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Propolis Ve Özellikleri	3
2.1.1. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Yapısı	4
2.1.2. Propolisin Biyolojik Özellikleri.....	5
2.1.3. Propolisin Bitkisel Kaynakları.....	6
2.2. Morötesi (UV) ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi.....	9
2.2.1. Beer Yasası ve Bazı Temel Kavramlar	9
2.2.2. Beer Yasasının Gerçek Sınırlamaları	11
2.2.3. Morötesi(UV) ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri	12
2.3. Titrimetrik Analiz Metotları.....	14
2.3.1. Volumetrik Titrimetrimin Bazı Genel Özellikleri	15
2.3.2. Gravimetrik Titrimetri.....	17
2.4. Gravimetrik Analiz Metotları.....	18
2.4.1. Çökeleklerin ve Çöktürücülerin Özellikleri	18
2.5. Ekstraksiyon ile Ayırma	19
2.5.1. Dağılmanın Kuramsal Temelleri	19
2.5.2. Ekstraksiyon İşlemlerinin Tipleri	20

3. BÖLÜM	22
DENEYSSEL KISIM	22
3.1. Propolis Örnekleri	22
3.2. Kimyasal Maddeler ve Cam Malzemeler	23
3.3. Kullanılan Cihaz ve Ölçüm Düzenekleri.....	
3.3.1. Propolis Örneklerinin Saklanması ve Özütlenmesi İçin Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	23
3.3.2. Propolis Örneklerinin Kimyasal Analizinde Kullanılan Alet ve Cihazlar ..	23
3.3.3. Ultraviyole ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi.....	24
3.3.4. pH metre	24
3.4. Deneysel Çalışmalar	24
3.4.1. Propolisin Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	24
4. BÖLÜM	26
SONUÇLAR ve TARTIŞMA	26
4.1. Mum Miktarı	27
4.2. Kuru Madde	28
4.3. Kül Miktarı.....	29
4.4. Oksidasyon.....	30
4.5. pH	30
4.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı	31
4.7. Propolisin Etanolik Özüt Ürünü	32
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	38

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1.Propolis Örneklerinin Toplandığı Bölgelerin Rakımı	23
Tablo 4.1 Propolis Örneklerinin Mum Miktarı	27
Tablo 4.2. Propolis Örneklerinin % Kuru Madde Miktarları.....	28
Tablo 4.3.Propolis Örneklerinin Kül Miktarı.....	29
Tablo 4.4. Propolis Örneklerinin Oksidasyonu	30
Tablo 4.5. Propolis Örneklerinin pH Değerleri.....	30
Tablo 4.6. Propolis Örneklerinin Absorbans Değerleri	31
Tablo 4.7. Propolis Örneklerinin Toplam Fenolik Madde Miktarları	32
Tablo 4.8. Propolis Örneklerinin Etanolik Özüt Ürünü.....	32

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Bal arılarının yeryüzünde yüzyıllardır var oluşu ve evrimsel başarısı dünya üzerinde hemen tüm habitatlara yayılabilen ve uzun yıllar yaşayan türler olmalarını sağlamıştır. Bu başarı büyük oranda onların ürettiği bal, balmumu, arı zehri, propolis, polen ve arı sütü gibi spesifik ürünlerin kimyasal yapısı, faydalı biyolojik özellikleri ve bu ürünlerin pek çok alanda uygulanabilirliği nedeniyledir. [1].

Propolis, bal arıları (*A.mellifera* L.) bitkilerin yaprak sürgünleri ve tomurcuk gibi değişik kısımlarından topladıkları ve kovanda değişik amaçlarla kullandıkları reçineli maddenin genel ismidir. Bal arıları kovanda propolisi çeşitli amaçlarla kullanarak antimikrobiyel [2] bir ortam sağlamaktadırlar. Arıların patojenik mikroorganizmalara karşı en önemli kimyasal silahı olan propolis, çok eski zamanlardan beri halk sağlığında kullanılmaktadır [1].

Propolis, insan ve veteriner hekimliğinde kullanılan doğal bir üründür. Bununla birlikte, propolisi oluşturan reçinenin farklı bitkilerden toplanıyor olması onun kimyasal yapısının farklılaşmasına neden olmaktadır. Propolisin kimyasal yapısındaki değişkenlik propolisin tıp alanında kullanımında ve kalitesinin belirlenmesinde önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu konuda propolis toplanılan kaynağın net olarak takip edilememesi ve kimyasal yapısını belirlemede zorluklar yaratmıştır. Bununla birlikte propolisin biyolojik aktivitesi belirlenirken propolisten izole edilen aktif bileşenlerin belirlenmesi söz konusu aktivitenin hangi bileşik yada bileşik gruplarından kaynaklanabileceği konusunda yorum yapma açısından kolaylık sağlayacaktır. Özellikle farklı coğrafik bölgelerden elde edilen ve botanik orijini farklı olan propolis örneklerinin kimyasal yapısının aydınlatılmasında fayda vardır. Nitekim son yıllarda

propolisin standardizasyonunu kolaylaştırmak için dünyanın farklı coğrafik bölgelerinden toplanan propolislerin tiplendirilmesi için çalışmalar yapılmaktadır [3].

Propolisin faydalı biyolojik aktiviteleri nedeniyle değişik alanlarda kullanımını konusuna duyulan ilgi son yıllarda artmıştır. Propolisin tıbbi özellikleri tarihsel olarak çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Yıllar boyunca propolis insanlar tarafından değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır [1]. Araştırmaların çoğu propolisin kimyasal bileşimi, biyolojik aktivitesi, farmakolojik ve tedavi edici özellikleri üzerine odaklanmıştır [4]. Propolis çok eski zamanlardan beri kullanılmakla birlikte propolisle ilgili bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görölmektedir. Bu nedenle dünyanın farklı coğrafik bölgelerine ait olan propolis örneklerinin kimyasal yapısı ve farmakolojik aktivitelerinin incelenmesi ve belirlenmesi gerekmektedir. Propolisin yapısında bulunan aktif bileşenlerin belirlenmesi için değişik çalışmalarda farklı analitik yaklaşımlar kullanılmıştır [3]. Propolisin tıpta kullanımında en büyük sakıncalardan biri bal arılarının propolis toplama ihtiyaçı duydukları dönemde çevrede uygun propolis kaynağı bulamadıklarında asfalt, zift gibi zararlı maddeleri toplayabilmeleridir. Bu nedenle propolisin kimyasal analizlerle bileşiminin belirlenmesi kaçınılmaz olmaktadır. Ülkemizde bu konu ile ilgili çalışmalar oldukça azdır [3]. Bu araştırma ile Kayseri ili propolisinin kimyasal yapısını belirlenmesi ve standardizasyonu yapılarak ekonomik anlamda değer bulmasının sağlanması amaçlanmıştır.

2. BÖLÜM

KURAMSAL BİLGİLER

2.1. Propolis ve Özellikleri

Propolis, bal arıları tarafından toplanarak arıların yuvalarının adaptasyonu ve yapımında kullanılan, koyu renkli yapışkan maddedir. 'Propolis' terimi ilk kez Yunan yazarlar tarafından kullanılmıştır. Pro, savunma polis ise şehir anlamındadır. Böylece şehrin yani arı kovanın savunulması anlamına gelmektedir. Propolisin üretimi için arılar tarafından kullanılan materyal; bitkilerin yara bölgelerinden salgılanan maddeler olabildiği gibi, yapraklardaki lipofilik materyaller ile reçine, müsilaj, zambak gibi maddeler de olabilmektedir. Bitkilerden elde edilen reçine çiğnenmekte, tükürük enzimleri eklenmekte ve kısmen sindirilmiş materyal, balmumu ile karıştırılarak kovanda kullanılmaktadır. Propolisin kaynağını oluşturan bitkiler kavak (*Populus spp*), kayın (*Fagus sylvatica*), huş (*Betula alba*), kestane (*Castanea sativa*), at kestanesi (*Alnus glutinosa*) gibi bitkiler olabilmektedir [5].

Propolis kovanda çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Arılar, kovanda bulunan peteklerin tamiri yanında ince bir tabaka halinde cilalanması kovanda bulunan çatlak ve yarıkların kapatılmasında propolisten faydalanmaktadırlar. Ayrıca kovanda soğuk havalarda giriş deliğinin küçültülmesi, kovana giren yabancı canlıların öldürülerek üzerinin kokuşmasını önlemek için kaplanması amacıyla da kullanılmaktadır. Böylece kovan içerisindeki arılar bakteri fungus gibi mikroorganizmaların zararlı etkilerinden korunmaktadır.

Propolis sahip olduğu farmakolojik özellikleri ile çok eski çağlardan beri insanlar tarafından kullanılmıştır. Propolisin antimikrobiyel etkinliğinin yanı sıra lokal anestetik, karaciğer koruyucu, anti ülseratif, immün sistemi stimüle edici ve antikanserojenik

aktiviteleri de değişik araştırmacılarca rapor edilmiştir [6]. Bu nedenle propolis günümüzde apiterapi, biokozmetik, ilaç ve gıda sektöründe popüler bir hammadde olarak kullanılmaktadır.

2.1.1. Propolisin fiziksel ve kimyasal yapısı

Propolis reçineli ve yapışkan bir madde olup, rengi kaynağına ve depolama süresine bağlı olarak sarı-yeşilden koyu kahverengiye kadar değişebilmektedir. Soğukta sert ve kırılğan, sıcakta ise yumuşak ve yapışkan bir yapısı vardır. Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle % 50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddelerden oluşmaktadır [7].

Dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde 160'dan fazla bileşik tanımlanmıştır. Propolis; polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehytler, alkoller ve ketonlar, seskiterpen kinonlar, kumarinler, stereoidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir. Propolisin yapısında pinosebrin, akasetin, krisin, rutin, katesin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirsetin, kuarsetin gibi flavonoidlerin yanı sıra kafeik asit ve sinamik asit gibi fenolik asitlerde saptanmıştır. Ayrıca propoliste Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementlerle B₁, B₂, B₆, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır. Araştırmacılar propolisin süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenzin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içerdiğini belirtmişlerdir. Propolisin kimyasal bileşimi çok komplekstir ve toplandığı alandaki flora ya bağlıdır. Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'yı içeren sıcak bölgede, farklı kavak tomurcuklarının tomurcuk salgıları propolisin ana kaynağıdır. Bu bölgedeki örneklerin kaynağı benzer kimyasal bileşimi ile karakterize edilmiştir. Fenoliklerin ana bileşenleri; flavonoid aglikonlar, aromatik asitler ve onların esterleridir. Propolis toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi propolisin kimyasal yapısını belirlemektedir. Propolisin bileşimi toplandığı alanın vejetasyonuna bağlıdır Propolisin toplanma sezonu da, aynı bölgeden toplanan propolisin kimyasal yapısını etkileyebilmektedir. Örneğin Akdeniz Bölgesi'nden (Sicilya ve Adriyatik kıyıları) toplanan propolis tek tip özellik gösterip, temel bileşeni diterpenik asitler iken Brezilya'da farklı tipte propolis tanımlanmıştır. Karasal iklimde sahip bölgelerden toplanan propolisin (Asya, Avrupa, Kuzey Amerika vb.) başlıca kaynağının kavak

bitkisi tomurcukları olduğu belirlenirken, bu propolisin çeşitli flavonoidlerini içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Kavak ağacı karasal bölgelerde yaygın olarak gözlenirken, tropik ve subtropik bölgelerde yetişmemektedir. Bu sebeple bu bölgelerde bal arıları başka propolis kaynaklarını tercih etmektedirler. Böylece tropik bölgelerde üretilen propolisin kimyasal yapısı kavak propolisinden tümüyle farklı olmaktadır. Örneğin Brezilya propolisinin ana kaynağı *Baccaris dracunculifolia* (*Cyote brush*) 'dır ve bu propolis tipinde temel kimyasal bileşik sınıfı prenillenmiş p-kumarik asit ve asetofenon türevleri olup kavak tipi propolisten tamamen farklı olarak diterpenler, lignanlar ve flavonoidler içerdiği belirlenmiştir. Son yıllarda dikkat çeken Küba propolisinin ana bileşeni ise poliizoprenillenmiş benzofenonlardır ve bu yapı Küba propolisini Avrupa ve Brezilya propolislerinden farklı kılmaktadır. Ayrıca, *Clusia minor*, *Clusia major* (Guttiferae), *Araucaria heterophylla* ve farklı Baccharis türlerin Venezuela ve Brezilya'dan toplanan propolisin en önemli kaynakları olduğu bildirilmiştir. Bu bitkilerin tropikal propolislerde daha önce rapor edilen proprenillenmiş benzofenonlar ve çeşitli diterpenler içerdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde klerodan-tipi ve çeşitli labdan-tipi diterpenoidler karasal iklim propolislerinde bulunamamıştır. Flavonoidler ise tropikal propolislerde de belirlenmiştir. Tropikal bölgelerden toplanan propolisin karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisten farklı kimyasal yapı göstermesinin nedeni, vejetasyon farklılığıdır [7].

İncelenen literatür bilgileri ışığında dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde tespit edilen flavon ve flavonoidler; pinosembrin, pinobanksin, organik ve yağ asitleri, kafeik asit, 9-hekzadekanoik asit, sinamik asit, ferulik asit, terpenler, lignanlar, ketonlar, hidrokarbonlu bileşiklerdir [3].

2.1.2. Propolisin biyolojik özellikleri

Propolis çok eski zamanlardan beri halk arasında kullanılmakla birlikte son yıllarda antibakteriyel, antifungal, antitümoral, immünomodülatör ve diğer faydalı biyolojik etkileri çok sayıda araştırmacı tarafından ispatlanmıştır. Çeşitli çalışmalarda propolisin su, metanol, etanol, eter, ve yağ ekstraktları hazırlanmıştır. Bununla birlikte araştırmalarda en çok kullanılan propolisin etanolik ekstraktının antibakteriyel, anti fungal, anti-viral, anti-inflammatuvar, lokal-anestetik, antioksidan, immünostimülatör

ve sitostatik etki gösterdiği belirlenmiştir. Farklı orjine sahip propolis örneklerinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Brezilya propolisinin antibakteriyel, sitostatik, serbest radikal koruyucu aktivitesi belirlenirken Bulgar propolisinin bakterisidal, anti fungal ve antiparaziter aktivitesi belirlenmiştir. Günümüze değin, Türk propolisinin antibakteriyel, anti fungal, antioksidan, antikarsinojenik, yara iyileştirici gibi bazı biyolojik aktiviteleri incelenmiştir [7].

Değişik ülkelerden elde edilen propolisin farklı kimyasal yapıya sahip olması, onların farklı biyolojik aktiviteye sahip olmasına neden olmaktadır. Ancak bu durum her farmakolojik özellik için aynı değildir. İlginç bir şekilde karasal ve ekvatorial bölgeleri de içine alan farklı bölgelerden toplanan ve farklı kimyasal yapıya sahip olan propolislerin benzer biyolojik aktiviteler gösterdiği bulunmuştur Nitekim propolis kovanda enfeksiyonlardan korunma amaçlı kullanılmaktadır ve bu nedenle değişik propolis tiplerinin hem antibakteriyel hem de anti fungal özellik göstermesi doğaldır. Bu sebeple gözlenen aktivitenin sadece belirli bir bileşik grubuna atfedilmesi doğru değildir. Nitekim propolisin antibakteriyel aktivitesinden sorumlu bileşik grupları; kavak tipi propoliste flavonlar, flavononlar, fenolik asitler ve onların esterleri iken, Baccharis tipi (Brezilya) propoliste prenillenmiş p-kumarik asitler, diterpenler ve Kırmızı Küba propolisinde prenillenmiş benzofenonlardır. Bu nedenle propolisin antibakteriyel özelliği tüm dünyada propolisin üzerinde en çok çalışılan özelliği olmuştur [3].

2.1.3. Propolisin bitkisel kaynakları

Propolisin bitki kaynağını tam olarak belirlemek güçtür, çünkü propolis üretimi için kullanılan reçine genellikle ağaçların üst kısımlarındaki reçinelerin toplanmasıyla elde edildiği için gözlem yapmak neredeyse imkansızdır. Bunun yerine son yıllarda yapılan çalışmalarda propolisin bitki orijininin belirlenmesi için muhtemel bitki kaynaklarının yaprak, tomurcuk ve sürgünleri ile propolis örneklerinin HPLC, GC-MS gibi kimyasal yöntemlerle karşılaştırmalı olarak analizleri yapılmaktadır [3].

Tablo 1. Propolisin Kimyasal Bileşenleri

No	Bileşikler	Kaynak
<i>Aromatik bileşikler</i>		
1.	5-fenil-trans, trans-2,4 pentadienoik asit	[3]
2.	5-fenil-trans-3-pentenoik asit	[3]
3.	dodesil kafeat	[3]
4.	tetradesinil kafeat	[3]
5.	tetradesil kafeat	[3]
6.	hegzadesil kafeat	[3]
7.	(+)-treo-1-C-kuayasilgliserol	[3]
8.	3-[4-hidroksi-3-(3-oksobut-1-enil)-fenil] akrilik asit	[3]
<i>Flavonoidler</i>		
9.	5,7,4'-trihidroksi-6,8-dimetoksi flavon	[3]
10.	Sideritiflavon	[3]
11.	mayrisetin-3,7,4',5'-tetrametil eter	[3]
12.	kuersetin-3,7,3'-trimetil eter	[3]
13.	5,6,7-trihidroksi-3,4'-dihimetoksiflavon	[3]
14.	aromadendrine-4' metil eter	[3]
15.	3,5,7-trihidroksi-6,4'-dimetoksiflavon	[3]
<i>Prenillenmiş p-kumarik sitler</i>		
16.	3,5-diprenil-4-hidroksisinnamik asit	[3]
17.	3-prenil-4-dihidro-sinamoyloksisinnamik asit	[3]
18.	2,2,-dimetil-6-karboksietenil-2H-1-benzopiran	[3]
19.	9-E-2-dimetil-6-karboksietenil-8-prenil-2H-1-benzopiran	[3]
20.	3-prenil-4-hidroksisinnamik asit	[3]
21.	3-prenil-4-(2-metoksipropionil)-sinnamik asit	[3]
22.	(E)-3-[2,3-dihidro-2-(1-hidroksi-1-metiletil)-prenil-benzofuran-5-il]-2-propenoik asit	[3]
<i>Asetofenon türevleri</i>		
23.	2-[1-metil]-vinil-5-asetilkumaran	[3]
24.	2-[1-hidroksimetil]-vinil-6-asetil-5-hidroksikumaran	[3]
25.	2-[1-asetoksimetil]-vinil-6-asetil-5-hidroksikumaran	[3]
<i>kafeoilkuinik asitler</i>		
26.	3-kafeoilkuinik (klorojenik) asit	[3]
27.	4-kafeoilkuinik asit	[3]
28.	5- kafeoilkuinik asit	[3]
29.	3,5- dikafeoilkuinik asit	[3]
30.	4,5- dikafeoilkuinik asit	[3]

Tablo 1. (devamı) Propolisin Kimyasal Bileşenleri

No	Bileşikler	Kaynak
31.	4,5-dikafeoilkuinik asit metil ester	[3]
32.	3,4- dikafeoilkuinik asit	[3]
33.	3,4- dikafeoilkuinik asit metil ester	[3]
<i>Lignanlar</i>		
34.	1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,2-bis-[4-[(E)-3-asetoksipropen-1-il]-2-metoksifenoksi]-propan-3-ol asetat	[3]
35.	1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-[4-[(E)-3-asetoksipropen-1-il]-2-metoksifenoksi]propan-1,3-diol-3-asetat (eritro- ve treo)	[3]
36.	3-asetoksimetil-5-[(E)-2-formiletan-1-il]-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-7-metoksi-2,3-dihidrobenzofuran	[3]
37.	Sesamin	[3]
38.	Ascantin	[3]
39.	Sesartenin	[3]
40.	Yangambin	[3]
<i>Diterpenik asitler</i>		
41.	Ent-17-hidroksi-3,13-Z-klerodadien-15-oik asit	[3]
42.	15-okso-3,13-Z-kolavadien-17-oik asit ve onun E-izomeri	[3]
43.	kommurik asit	[3]
44.	imbrikatoloik asit	[3]
45.	izokupressik asit	[3]
46.	asetilizokupressik asit	[3]
47.	8(17),13E-labdadien-15,19-dioik asit	[3]
48.	8(17),13E-labdadien-15,19-dioik asit-15-metil ester	[3]
49.	19-okso-8(17),13E-labdadien-15-oik asit	[3]
50.	13-hidroksi-8(17),14-labdadien-19-oik asit	[3]
<i>Triterpenler</i>		
51.	β -amirin	[3]
52.	Sikloartenol	[3]
Uçucu bileşenler Monoterpenler (GC-MS ile)		
53.	α -pinen	[3]
54.	β -pinen	[3]
55.	Γ -terpinen	[3]
56.	Geraniol	[3]
57.	linalil propiyonat	[3]
<i>Sesquiterpenler</i>		
58.	Ledol	[3]
59.	Spatulenol	[3]

Tablo 1. (devamı) Propolisin Kimyasal Bileşenleri

No	Bileşikler	Kaynak
60.	İzospatulenol	[3]
61.	Palustrol	[3]
62.	Laden	[3]
63.	germekren	[3]
<i>Aromatik bileşenler</i>		
64.	Ksiloz	[3]
65.	Galaktoz	[3]
66.	Mannoz	[3]
67.	glucuronik asit	[3]
68.	Laktoz	[3]
69.	Maltoz	[3]
70.	Melibioz	[3]
71.	Eritritol	[3]
72.	Ksilitol	[3]

Tablo 2. Propolisin Biyolojik Aktivitelerinden Sorumlu Bileşikler

Aktivite	Bileşik No*	Kaynak
Antibakteriyel	16-18,42-45,36-39	[3]
Sitotoksik	14-16,19,35,40,41	[3]
İmmün sistem uyarıcı	26-29,31	[3]

*Tablo 1'deki numaralar

2.2. Ultraviyole Ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi

2.2.1. Beer Yasası ve Bazı Temel Kavramlar

Monokromatik ve I_0 şiddetindeki bir ışık demeti, kalınlığı b cm olan bir tüpte bulunan çözeltideki herhangi bir molekül tarafından absorblandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terk eder. Işımanın şiddetindeki bu azalmanın bir kısmı örnek kabının çeperlerinde ortaya çıkan yansımalar veya çözeltide bulunabilecek asılı taneciklerin yol açtığı saçılmalar sonucu oluşur. Sadece moleküllerin o dalga boyundaki ışımayı absorplaması sonucu ortaya çıkan azalma Beer Lambert eşitliği ile verilir. Bu eşitliğe göre, örnek kabına giren ve kabı terk eden ışık şiddetlerinin logaritmalarının farkı, ışıkla etkileşen moleküllerin birim hacimdeki sayısı ile yani derişim ile orantılıdır [8]:

$$\log I_0/I = \epsilon \cdot b \cdot c = A \quad (2.1)$$

A ile c arasındaki bu basit doğrusal ilişkiden analitik uygulamalarda yararlanılır. Eşitlikte derişim c, mol/L, örnek kabının kalınlığı b ise cm birimindedir. ϵ , molar sönüm veya molar absorpsiyon katsayısı ya da molar absorptivite olup, birimi L/mol.cm dir; A ise absorbans adını alır [8]:

$$A = \epsilon bc \quad (2.2)$$

Örnek kabını terk eden ve kaba giren ışık şiddetleri arasındaki orana geçirgenlik, T, adı verilir [8]:

$$I / I_0 = T = 10^{-\epsilon bc} \quad (2.3)$$

Görüldüğü gibi, geçirgenlik ile derişim arasındaki ilişki üstel olup bunun uygulamada kullanılması zordur. A ile T arasındaki basit ilişki ise,

$$T=10^{-A}$$

Çözeltide uygulanan dalga boyundaki ışığı absorplayacak birden fazla molekül varsa, A toplamsal bir değer olduğundan [8].

$$A = A_1+A_2+\dots=\epsilon_1bc_1+\epsilon_2bc_2+\dots \quad (2.4)$$

eşitliği geçerlidir [8].

Beer-Lambert eşitliğinin geçerli olabilmesi için uygulanan ışığın gerçekten monokromatik yani tek dalga boyu değerinde olması, absorpsiyon olayının örneğin her yerinde eşit miktarda olması yani, örneğin homojen olması, ayrıca birden fazla bileşenin ışığı absorplaması halinde, her bir bileşenin, diğerlerinin absorpsiyonunu etkilememesi gerekir. Bu koşulların sağlanması halinde A ile c arasındaki ilişki doğrusaldır [8].

Bu şartların sağlanmadığı bazı durumlarda bu doğrusallık değişir ve doğrusallıktan sapmalar meydana gelir. Bu sapmalar temelde Beer yasasının doğası gereği olan sapmalar, kimyasal sapmalar ve aletsel sapmalar olarak üç temel başlıkta incelenebilir[8].

2.2.2. Beer Yasasının Gerçek Sınırlamaları

Beer yasası, oldukça düşük derişimde analit içeren ortamların absorpsiyonları ile ilgili davranışını başarılı bir şekilde ifade eder; bu bakımdan beer yasası sınırlayıcı bir yasadır. Yüksek derişimlerde (genellikle $> 0,01 \text{ M}$) absorpsiyon yapan moleküller arasındaki uzaklık çok azalır ve moleküller, komşularının yük dağılımını etkiler. Bu etkileşim sonucu moleküllerin absorplama özelliği değişir. Etkileşim düzeyi derişime bağlı olduğu için, bu olayın oluşumu derişim ile absorbans arasındaki doğrusal ilişkiden sapmalara neden olur [9].

2.2.2.1. Kimyasal Sapmalar

Bir analit ayrıştığında, çeşitli türlerle birleştiğinde veya çözücü ile farklı absorpsiyon spektrumu olan bir ürün vermek üzere reaksiyona girdiğinde, Beer yasasından belirgin sapmalar görülür. Bu davranış, yaygın olarak asit/baz indikatörlerinin sulu çözeltilerinde görülür. Bu sebeplerden dolayı olan sapmalara kimyasal sapmalar denir[9].

2.2.2.2. Polikromatik Işımdan Kaynaklanan Aletsel Sapmalar

Beer yasasına uyum sadece monokromatik ışınlarla çalışıldığında gözlenir; bu durum, yasanın sınırlayıcı özelliğinin bir başka belirtisidir. Ne yazık ki, tek bir dalga boyuna sahip ışın kullanmak, nadiren pratiktir, çünkü sürekli bir ışın kaynağından gelen ışının belirli kısımlarını izole eden düzenekler arzu edilen dalga boyu çevresinde simetrik bantlar oluştururlar. Yani tam anlamıyla monokromatik ışını elde etmek mümkün değildir. Monokromatiğe en yakın ışın kaynakları ise laserlerdir [9].

2.2.2.3. Kaçak Işınlardan Kaynaklanan Aletsel Sapmalar

Monokromatörden çıkan ışınların genellikle az miktarda da olsa kaçak ışınlar içerdiği gözlenilmiştir. Bu ışınlar, iç yüzeylerde yansıyarak veya saçılarak çıkış slitine ulaşırlar. Bu kaçak ışınların dalga boyu çoğu zaman esas ışınlardan farklıdır ve numuneden geçmemiş olabilir [9].

2.2.3. Ultraviyole ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Maddenin ışığı absorblamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir. Bir spektrometre düzeneği (şekil 2.1) aşağıda görüldüğü gibi başlıca, ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi, detektörden oluşur. Detektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür [8].



Şekil 2.1. Bir Spektrometrenin Temel Bileşenleri

Bu ana bileşenlere ek olarak spektrometrelerde ışığı toplamak, odaklamak, yansıtmak, iki demete bölmek ve örneğin üzerine belli bir şiddetle göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüler ve giriş çıkış aralıkları vardır. Örnek ise kullanılan dalga boyu bölgesinde ışını geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir [8].

2.2.3.1. Işık Kaynakları

UV ve görünür bölgede D_2 , W, H_2 ve Xe gibi sürekli ışık kaynakları kullanılır. Tungsten flaman lambası görünür ve yakın infrared bölgede ışık yayar. Elektrik akımı ile ısıtılan tungstenden yayılan bu ışık, siyah cisim ışıması olup, 320 nm ile 3000 nm arasındaki bölgeyi kapsar. 3000 K da çalışan bir tungsten lambanın yaydığı enerjinin ancak % 15 i görünür bölgededir. Ultraviyole bölgede en çok kullanılan lambalar, hidrojen ve döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır. Düşük basınçta (5 mm Hg) H_2 veya D_2 gazı içeren bu lambalarda 40 voltluk doğru akım uygulanarak elektriksel boşalım elde edilir. Bu lambalar 180 nm ile 380 nm arsında ışık yayar. Daha pahalı ve daha uzun ömürlü olan D_2 lambasının yaydığı ışığın şiddeti H_2 lambasına göre çok daha fazladır. UV ve görünür bölgenin tümünde (150 nm – 700 nm) kullanılacak bir başka şiddetli ve sürekli ışık kaynağı, Xe ark lambasıdır. Fakat bu lamba daha çok luminesans spektroskopisi yönteminde ışık kaynağı olarak kullanılır.

Kuartz 200 – 300 nm arasında ışığı geçirdiğinden, bu bölgedeki ışıkla çalışabilmek için, lambaların pencereleri, mercekler, örnek kaplarının duvarları ve dedektörün giriş penceresi kuartzdan yapılır. 320 – 700 nm arasındaki bölgede ise, bu kısımların camdan yapılmış olması yeterlidir [8].

2.2.3.2. Detektörler

Maddenin ışığı absorblayıp absorblamadığını anlamak için, ışık kaynağından gelen ışığın şiddetinin ölçülmesi amacıyla spektrofotometrelerde kullanılan optoelektronik bileşene detektör denir. Bir detektörün ışığa karşı duyarlı olması, ışık şiddetiyle doğru orantılı bir sinyal üretmesi, üzerine düşen ışığa cevap verme, yani sinyal üretme süresinin kısa olması, kararlı olması ve üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi istenir. Ultraviyole ve görünür bölgede kullanılabilen üç tür dedektör vardır [8].

Fotovoltaik detektörlerde ışık, Se veya Si gibi bir yarı iletken madde tarafından absorblandığında, iletkenlik bandına geçen elektronlar nedeniyle, bu yarıiletkenle temasta olan bir metal film (Ag) arasında bir gerilim farkı oluşur. PbS, CdSe ve CdS gibi yarı iletken maddelerle ise fotoiletken detektörler yapılır. Bu tür detektörlerde, ışık absorpsiyonu ile iletkenlik bandına çıkarılan elektronlar, ışık şiddetiyle orantılı bir elektrik akımı oluşturur [8].

Fototüp adını alan ikinci tip detektörlerde ise alkali metal oksit filmlerden yapılmış fotokatotlar üzerine düşen fotonlar bu yüzeyden elektron koparır ve elektronlar bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir [8].

Fotoçoğaltıcı tüp olarak adlandırılan üçüncü tip detektörlerde ise, fotokatot yüzeyinden foton çarpması ile fırlatılan elektronlar dinot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dinoda çarpan her bir elektron, dinot yüzeyinden 3-5 elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir [8].

2.2.3.3. Monokromatörler (Dalgaboyu Seçiciler)

Absorbansın ölçülmesi sırasında, ışık kaynağından gelen polikromatik ışıktan tek bir dalga boyunda ışık seçilerek örneğe gönderilir. Polikromatik ışıktan monokromatik ışık

elde edilmesini gerçekleştiren düzeneğe monokromatör adı verilir. Monokromatör olarak prizmalar veya optik ağ denilen parçalar kullanılır.

Prizmalarda dalgaboyu seçilmesi, farklı dalga boylarındaki ışığın prizmaya girişte ve çıkışta farklı miktarlarda kırılması ilkesine dayanır. Prizma ışık kaynağına göre döndürülerek çeşitli dalga boylarına sahip ışığın bir aralıktan geçerek madde ile etkileşmesi sağlanır [8].

Üzerinde birbirinden eşit uzaklıklarla ayrılmış ince aralıklar veya çıkıntılar bulunan bir yüzeyle etkileşen polikromatik ışık, bu yüzeyden geçtikten veya bu yüzeyden yansdıktan sonra da kırınımına uğrar. Bu tür parçalar geçirgen optik ağ veya yansıtıcı optik ağ adını alır. Optik ağlara gelen ışığın geliş açısı değiştirilerek her bir geliş açısında başka bir dalga boyu veya bunun katlarının kırınımına uğraması sağlanır. Böylece optik ağın döndürülmesi ile farklı dalga boyundaki ışığın seçimi mümkün olur[8].

2.3.Titrimetrik Analiz Metotları

Titrimetrik metotlar, konsantrasyonu bilinen bir çözeltinin analit ile reaksiyona giren miktarının ölçümüne dayanan, uygulama alanı çok geniş, etkili kantitatif analiz metotlarıdır. *Volumetrik titrimetride*, analit ile tamamen reaksiyona giren ve konsantrasyonu bilinen bir çözeltinin hacmi ölçülür. *Gravimetrik titrimetride* ise, hacim yerine reaktifin kütlesi ölçülür. *Kulometrik titrimetride* ‘reaktif’, analit ile doğrudan veya dolaylı olarak reaksiyona giren ve büyüklüğü bilinen sabit bir doğru elektrik akımı ölçümü vardır. Bu teknikte elektrokimyasal reaksiyonun tamamlanması için geçen süre ölçülür.

Titrimetrik metotlar, hızlı, uygun, doğru oldukları ve kolaylıkla otomatik hale getirilebildikleri için rutin analizlerde çok yaygın olarak kullanılırlar.

2.3.1. Volumetrik Titrasyonun Bazı Genel Özellikleri

2.3.1.1. Bazı terimlerin tanımları

Standart çözelti (veya *standart titrant*), titrimetrik analizlerde kullanılan konsantrasyonu bilinen çözeltilidir. Bir *titrasyon*, standart çözeltinin bir büretten veya sıvı akıtmaya yarayan başka bir aletten, analit çözeltisine ikisi arasındaki reaksiyonun tanımlandığı anlaşılincaya kadar yavaş ilave edilmesiyle yapılır. Titrasyonun tamamlanması için gerekli olan reaktif hacmi, büretteki ilk ve son hacim okumaları arasındaki farktan bulunur.

Eklenen titrantın miktarı, kimyasal olarak numunedeki analit miktarına eşdeğer olduğu anda, titrasyonun *eşdeğerlik noktasına* ulaşılmış olur. Bazen, standart titrantın aşırısını ilave etmek ve sonra bu aşırı miktarı ikinci bir standart titrant kullanarak *geri titrasyonla* tayin etmek gerekir. Bu durumda eşdeğerlik noktası, analit miktarına kimyasal olarak eşdeğer olan ilk titrant miktarı ile geri titrasyonda kullanılan titrantın miktarının toplandığı noktaya karşı gelir.

2.3.1.2. Eşdeğerlik noktası ve dönüm noktası

Bir titrasyonun eşdeğerlik noktası, deneysel olarak tayin edilemeyen teorik bir noktadır. Bu noktanın yerini eşdeğerlik şartı ile ilgili bir fiziksel değişimi gözleyerek bulabiliriz. Bu değişime titrasyonun *dönüm noktası* denir. Eşdeğerlik noktası ile dönüm noktası arasındaki hacim veya kütle farkını en aza indirmek için her türlü önlem alınır. Ancak yine de, fiziksel değişimlerin uygun olmayışı ve deney yapanın bu değişimi gözlemedeki yeteneğine bağlı olarak bu iki nokta arasında bir fark olur. Eşdeğerlik noktası ile dönüm noktası arasındaki hacim veya kütle farkına *titrasyon hatası* adı verilir.

Eşdeğerlik noktasında veya yakınında gözlenebilir bir fiziksel değişim (dönüm noktası) meydana getirmek için analit çözeltisine genellikle bir *indikatör* eklenir. Eşdeğerlik noktası bölgesinde, analit ve titrantın bağlı konsantrasyonlarında büyük değişimler olabilmektedir. Bu konsantrasyon değişimleri, indikatörün görünüşünün değişmesine sebep olur. Genellikle indikatörün rengi, dönüm noktasında yok olur veya renk

değiştirir. Çözeltinin bulanıklılığının yok olması veya ortaya çıkması ile de dönüm noktası belirlenebilir.

Dönüm noktasının belirlenmesi için genellikle cihazlar kullanılır. Bu cihazlar, titrasyon sırasında çözeltinin özelliklerine karakteristik bir değişime cevap verir. Bu cihazlardan bazıları voltmetre, ampermetre, ommetre, kalorimetre, sıcaklık kaydedicileri ve refraktometredir.

2.3.1.3. Primer standartlar

Primer standart, volumetrik ve titrimetrik metotlarda referans madde olarak kullanılan ve saflığı çok yüksek olan bir maddedir. Metodun doğruluğu, bu bileşiğin özelliklerine önemli ölçüde bağlıdır. Bir primer standardın önemli özellikleri şunlardır:

1. Yüksek saflıkta olmalı. Saflaştırılabilmesi için geliştirilmiş uygun metotlar bulunmalıdır.
2. Havada kararlı olmalı.
3. Katının bileşiminin bağlı nemdeki değişimlerden etkilenmemesi için hidrat suyu içermemeli.
4. Ucuz fiyatta ve kolay bulunabilir olmalı.
5. Titrasyon ortamında yeteri kadar çözünmeli.
6. Tartımlardan gelen bağıl hatanın az olması için mol kütlesi yüksek olmalı.

Bu özellikleri taşıyan veya yaklaşan az sayıda bileşik vardır. Bu nedenle bazen saflığı çok yüksek olmayan bileşikler de primer standart olarak kullanılmaktadır. *İkincil standart* adı verilen böyle bir maddenin saflığı dikkatli analizlerle tespit edilmelidir.

2.3.1.4. Standart Çözeltiler

Standart çözeltiler bütün titrimetrik analiz metotlarında, önemli bir rol oynar. Bundan dolayı, bu çözeltilerin istenen özellikleri, hazırlanan metotları ve konsantrasyonlarının ne şekilde ifade edileceği iyi bilinmelidir.

2.3.1.4.1. Standart çözeltilerde aranan özellikler

Bir titrimetrik metotta kullanılan standart çözelti ideal olarak şu özelliklere sahip olmalıdır:

1. Konsantrasyonu bir defa belirledikten sonra uzun süre kullanılabilir kararlılıkta olmalı,
2. Reaktif ilaveleri arasındaki geçen sürenin mümkün olduğu kadar kısa olması için analit ile yeteri kadar hızlı reaksiyona girmeli,
3. Uygun dönüm noktası elde edilebilmesi için, analit ile hemen hemen tamamen reaksiyona girmeli,
4. Analit ile seçici olarak reaksiyona girmeli ve reaksiyon, basit denkleştirilmiş bir eşitlikle ifade edilebilmeli.

Çok az sayıda çözelti, bu ideal özellikleri tam olarak karşılayabilmektedir.

2.3.2. Gravimetri Titrimetri

Ağırlık veya gravimetrik titrimetri, volumetrik titrimetriden hacim ölçülmesi yerine titrantın kütesinin ölçülmesiyle ayrılır. Gravimetrik titrimetri, volumetrik titrimetriden yaklaşık 50 yıl daha önce kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, daha kullanışlı ve güvenilir büretlerin geliştirilmesi sonucunda, ağırlık titrasyonları yerini büyük ölçüde volumetrik metotlara bırakmıştır. Çünkü gravimetrik titrimetri daha çok cihaz gerektirir ve analiz zor ve zaman alıcıdır. Son yıllarda geliştirilen, duyarlı ve bu amaca uygun teraziler ve kullanışlı plastik çözelti dağıtıcıları, bu durumu tamamen tersine çevirmiştir. Bu nedenle, günümüzde gravimetrik titrasyonlar, volumetrik titrasyonlardan daha kolay ve daha çabuk yapılabilir bir duruma gelmiştir.

2.3.2.1. Ağırlık Titrasyonlarının Üstünlükleri

Hızlı olmaları ve uygunluğuna ilaveten, ağırlık titrasyonlarının volumetrik titrasyonlara göre bazı üstünlükleri daha vardır:

1. Volumetrik titrimetrideki cam malzeme kalibrasyonu ve yorucu temizlik işlemleri ortadan kalkmıştır.
2. Sıcaklık düzeltmelerine gerek duyulmaz.

3. Ağırlık ölçümleri, hacim ölçümlerinden önemli ölçüde daha yüksek bir kesinlik ve doğrulukla yapılabilir.
4. Ağırlık titrasyonları, volumetrik titrasyonlara göre çok kolay otomatik hale getirilebilir.

2.4. Gravimetrik Analiz Metotları

Kütle ölçümüne dayanan gravimetrik metotlar iki çeşittir. Bunlardan birincisi olan *çöktürme metodunda*, analizi yapılacak madde az çözünen bir çökelek halinde çöktürülür. Bu çökelek daha sonra süzülür ve içerisinde bulunabilecek safsızlıkları yıkadıktan sonra uygun ısı işlemlerle bileşimi belirli olan bir ürüne dönüştürülür. Bu ürün tartılarak madde miktarı tayin edilir.

Diğer bir metot olan *uçucu hale getirme metodunda* ise analizi yapılacak madde veya bunun parçalanma ürünleri, uygun bir sıcaklıkta ısıtılır. Uçucu hale getirilmiş ürün biriktirilerek tartılır veya ürünün kütlesi numunenin kütle kaybından dolaylı olarak bulunur.

2.4.1. Çökeleklerin ve Çöktürücülerin Özellikleri

İdeal durumda, gravimetrik bir çöktürücü reaktifin analit ile spesifik olarak, bu mümkün değilse *seçimli* olarak reaksiyona girmesi gerekir. Spesifik reaktif, yani bir maddeye özgü reaktif, çok nadir olarak bulunur. Daha yaygın olarak bulunan seçici reaktifler ise, sınırlı sayıda tür ile reaksiyona girerler. Bir çöktürücünün belirli bir maddeye özgü veya seçici olmasının yanında, analitle oluşturduğu ürünün de aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekir:

1. Kolayca süzülebilmesi ve kirlilikler yıkanarak uzaklaştırılabilmelidir.
2. Yıkama ve süzme esnasında önemli miktarda madde kaybı olmaması için, çözünürlüğü yeteri kadar düşük olmalıdır.
3. Atmosferin bileşenleri ile reaksiyona girmemelidir.
4. Kurutulduktan sonra veya gerekiyorsa yakıldıktan sonra bilinen bir bileşime sahip olmalıdır.

Yukarıdaki özelliklerin tümüne sahip ürün oluşturan çok az sayıda çöktürücü bulunmaktadır.

2.5. Ekstraksiyon ile Ayırma

Hem inorganik hem de organik çözünenlerin birbiri ile karışmayan iki sıvı arasında dağılma dereceleri önemli ölçüde birbirinden farklıdır ve bu dağılma farkları analitik ayırmalarda yıllardır kullanılmaktadır.

2.5.1. Dağılmanın Kuramsal Temelleri

Bir çözünenin birbiri ile karışmayan iki çözücü arasında dağılımını ifade etmek için iki terim kullanılır; *dağılma katsayıları* ve *dağılma oranı*.

2.5.1.1. Dağılma Katsayısı

Dağılma katsayısı, çözünen bir türün birbiri ile karışmayan iki çözücü arasında dağılımını ifade eden bir denge sabitidir. Örneğin organik bir çözünenin (A) sulu bir çözeltisi, hekzan gibi organik bir çözücü ile çalkalandığında hemen aşağıdaki eşitlikle gösterilen bir denge kurulur:



İdeal olarak iki fazdaki A türünün oranı sabit olup A'nın toplam miktarından bağımsızdır. Yani herhangi bir sıcaklıkta şu ifade yazılabilir:

$$K_d = [A]_{org} / [A]_{suda} \quad (2.6)$$

Burada, denge sabiti K_d dağılma katsayısı adını alır. Köşeli parantez içindeki terimler, gerçek iki çözücüdeki A türünün aktiviteleridir, ancak çoğu kez ciddi bir hataya sebep olmadığı için molar konsantrasyonlar da kullanılabilir. K_d , çoğunlukla A'nın iki çözücüdeki çözünürlüklerinin oranına yaklaşık olarak eşittir.

Çözünen tür iki çözücüde farklı şekilde kümelenmiş olarak bulunuyorsa, denge şu şekilde olur:



dağılma katsayısı şöyledir:

$$K_d = [A_x]_{org}^y / [A_y]_{suda}^x \quad (2.8)$$

2.5.1.2. Dağılma oranı

Bir analitin dağılma oranı D , analitin birbiri ile karışmayan iki çözücüdeki *analitik* konsantrasyon oranı olarak tanımlanır. Eşitlik 3.7 'de belirtildiği gibi basit bir sistem için, dağılma oranı dağılma katsayısıyla aynıdır. Ancak, daha karmaşık sistemler için bu iki büyüklük birbirinden oldukça farklı olabilir. Örneğin bir HA yağ asidinin su ve dietiler arasındaki dağılımı için şunu yazabiliriz:

$$D = c_{org} / c_{suda} \quad (2.9)$$

$$D = [HA]_{org} / ([HA]_{suda} + [A^-]_{suda}) \quad (2.10)$$

HA türü için D ve K_d arasındaki ilişkiyi elde etmek amacıyla, HA_{suda} için asit iyonlaşma sabiti ifadesini aşağıdaki gibi yazarız:

$$K_d = [H_3O^+]_{suda} [A^-]_{suda} / [HA]_{suda} \quad \text{veya} \quad [A^-]_{suda} = [HA]_{suda} K_a / [H_3O^+]_{suda}$$

Bu ifadeleri Eşitlik 2.11'de yerine koyalım:

$$D = c_{org} / c_{suda} = K_d \times [H_3O^+]_{suda} / ([H_3O^+]_{org} + K_d) \quad (2.11)$$

Eşitlik 2.11, HA' nın tamponlanmış sulu çözeltilerden ekstraksiyon derecesini hesaplamak için kullanılır. (K_d ile D arasındaki fark burada ortaya çıkmaktadır.)

Dağılma katsayısı, türün molar konsantrasyonlarının bir oranıdır. **Dağılma oranı** ise, analitik molar konsantrasyonların bir oranıdır.

2.5.2. Ekstraksiyon İşlemlerinin Tipleri

Birbiri ile karışmayan çözücüler arasındaki dağılma dengelerine dayanan üç tip ayırma işlemi vardır: *basit ekstraksiyon, tam ekstraksiyon, ters akım ekstraksiyonu.*

2.5.2.1. Basit ekstraksiyonlar

Bir karışımdaki bir türün dağılma oranı makul ölçüde büyük ve diğer türlerin dağılma oranı oldukça küçük (<0.001) ise, ekstraksiyonla basit, hızlı ve kantitatif şekilde ayırma yapılabilir. Analit içeren çözelti, altı defa yeni çözücü ile ard arda ekstrakte edilir. Sıradan bir ayırma hunisi kullanılır, analiz tamamlandığında hunide orijinal çözelti veya ekstrakt kalabilir.

2.5.2.2. Tam ekstraksiyonlar

Tam ekstraksiyonla, bir karışımda dağılma oranı nispeten küçük olan bir bileşeni (<1) dağılma oranları sıfıra yaklaşan bileşenlerden ayırma mümkün olur. Bu tip ekstraksiyonda organik çözücünün otomatik olarak damıtulmasını, yoğunlaşmasını ve sürekli olarak sulu tabakadan geçirilmesini, sağlayan Soxhlet ekstraksiyon cihazı kullanılır. Böylece bu cihazla çözücü ile birkaç yüz ekstraksiyona eşdeğer bir ekstraksiyon bir saat veya daha az bir sürede fazla bir dikkat gerektirmeden yapılabilir.

2.5.2.3. Ters akım ekstraksiyonu

Yüzlerce ard arda ekstraksiyonun yapılmasını sağlayan otomatik düzenekler geliştirilmiştir. Bu aletlerle, fraksiyonlama ters akım prensibine göre olur, burada bir seri farklı basamaklarda iki fazın taze kısımları arasındaki dağılma meydana gelir. Tam bir ekstraksiyonla, ters akım tekniği arasındaki fark, tam ekstraksiyonda sadece bir fazın taze kısımlarının kullanılıyor olmasıdır.

Ters akım metodu ile dağılma oranları hemen hemen aynı olan bileşenlerin ayrılması mümkün olur.

3. BÖLÜM

DENEYSEL KISIM

Bu çalışmada Kayseri merkez ve ilçelerinden toplanan propolis örneklerinin çeşitli kimyasal ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Propolis örneklerinin mum içeriği, kuru madde miktarı, kül miktarı, oksidasyon oranı, propoliste bulunan toplam fenolik miktarı ve propolisin etanolik özüt ürününün belirlenmesi için bir dizi deneysel işlem gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler ve işlemlerde kullanılan araç gereçlerin özellikleri ve yöntemlerin ayrıntıları aşağıda ayrı başlıklar altında verilmiştir.

3.1. Propolis Örnekleri

Kayseri merkez ve ilçelerinden (Bünyan, Sarıoğlan, Tomarza, Melikgazi, Yahyalı, Yeşilhisar, Develi, Özvatan) toplanan propolis örnekleri yöredeki arıcılardan *Apis mellifera caucasica* kolonilerinden temin edilmiştir. Araştırma için toplanılan propolis örneklerinin tümü 2005 yılı Eylül-Ekim aylarında toplanmıştır. Propolis örnekleri kolonilerden daha temiz olması amacıyla çerçeve üstlerinden ve kovan duvarlarından elle toplanmıştır. Örnekler analiz edilene kadar -20 °C de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Propolis örneklerinin alındığı coğrafik alanlar ve rakımları çizelge 3.1 de verilmiştir

Tablo 3.1. Propolis Örneklerinin Toplandığı Bölgelerin Rakımı.

COĞRAFİK ORJİN	RAKIM (m)
Sarıoğlan	1148
Özvatan	1592
Pınarbaşı	1592
Melikgazi	1330
Tomarza	1397
Bünyan	1900
Yeşilhisar	1100
ORTALAMA	1437

3.2. Kimyasal maddeler ve cam malzemeler

Propolisin özütlenmesi ve kimyasal analizler için Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Analitik Kimya Laboratuvarında bulunan kimyasal maddeler kullanılmıştır.

- Etil alkol (%80 ve %96'lık teknik ve Merck analitik saflıkta)
- Gallik asit (3,4,5-Trihidrosinamik asit) Merck
- Sülfirik asit (Merck, %98)
- Folin-Cicoltau (Merck)
- Potasyum permanganat (Merck)
- Sodyum karbonat (Merck)
- Porselen havan, erlen, huni, filtre kağıtları, koyu renkli şişeler

3.3. Kullanılan Cihaz ve Ölçüm Düzenekleri

3.3.1. Propolis örneklerinin saklanması ve özütlenmesi için kullanılan alet ve cihazlar

Deneyler için Erciyes Üniversitesi Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksek Okulu, Arıcılık Laboratuvarı'nda bulunan aşağıdaki alet ve cihazlar kullanıldı.

- Derin dondurucu (Bosch -20°C)
- Hassas terazi (Sartorius, 0,001g duyarlıkta)

3.3.2. Propolis örneklerinin kimyasal analizinde kullanılan alet ve cihazlar

Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nde bulunan aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır.

- Karıştırıcı (whirlimixer FISIONS)
- Hassas terazi (Precisa 125 AS-5)
- Kül Fırını (110°C mak.Sıcaklık)
- Santrifüj (Fotofix 32)
- Saf su cihazı (Helga)
- Döner buharlaştırıcı (Heidolph)
- Vakum pompası (WB 2000)
- Soksalet cihazı (500 ml hacimli, pyrex camdan yapılmış,İldam)

3.3.3. Ultraviyole ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi

Bu çalışmada propoliste bulunan toplam flavanoid miktarının belirlenmesi için Hitachi 150-20 UV-VIS molekül absorpsiyon spektrofotometresi kullanıldı. UV-VIS molekül absorpsiyon spektrofotometresinin ışın kaynağı Tungsten lamba, dedektör fotoçoğaltıcı tüpler, çalışılan dalgaboyu 765 nm'dir.

3.3.4. pH metre

Çözeltilerin pH ölçümleri için Consort C533 marka dijital pH metre kullanıldı. (çalışma sıcaklığı 25°C, kullanılan elektrot Hidrojen elektrodudur.)

3.4. Deneysel Çalışmalar

3.4.1. Propolisin örneklerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi

3.4.1.1. Propolis örneklerinin mum içeriğinin belirlenmesi

Toz haline getirilmiş 20 g propolis 400 ml alkol kullanılarak soksalet özütleyicisinde 24 saat boyunca 60°C de özütlenmiştir. Elde edilen özüt, çözülmemiş katı mumu ayırmak için bir gece derin dondurucuda bırakılmış ve hemen arkasından süzümüştür. Süzgeç kağıdında kalan katı mum tartılarak nicel olarak belirlenmiştir.

3.4.1.2. Kuru madde miktarının belirlenmesi

10 g toz haline getirilmiş propolis 5 saat boyunca etüvde 100°C de ısıtılmış sonra desikatörde soğuyarak sabit ağırlığa gelmesi sağlanıp tartılmıştır. Sonuç ham propolisin orijinal ağırlığının yüzdesi olarak hesaplanmıştır.

3.4.1.3. Kül miktarının belirlenmesi

2 g toz haline getirilmiş ham propolis 600°C de kül fırınında 1 saat boyunca tutularak kül haline getirilmiştir. Sabit tartıma gelene kadar desikatörde tutulup daha sonra tartım yoluyla nicel belirlenmiştir. Kül yüzdesi kuru ağırlığın yüzdesi (w/w) olarak verilmiştir.

3.4.1.4. Oksidasyon oranının belirlenmesi

1g propolis örneği 24 saat %70 etanolde sürekli karıştırılarak özütlenmiş, işlem tekrarlanmış ve elde edilen iki ekstrak birleştirilmiştir. 5 ml propolis ekstraktına 100 ml distile su eklenerek iyice karıştırıldıktan sonra filtre edilmiştir. Filtrasyondan (Süzüntüden) 1 ml alınarak 5 ml'lik tüpte 1 ml distile(damıtık) su konularak karıştırılmıştır. Üzerine 1 ml %20 sülfürik asit ilave edilip 1 dakika karıştırıldıktan sonra bir damla potasyum permanganat ilave edilmiştir. İki dakika içerisinde rengin sarıdan pempeye dönüşmesi oksidasyon göstergesi olarak belirtilmiştir.

3.4.1.5. Propolis örneklerinin pH değerleri

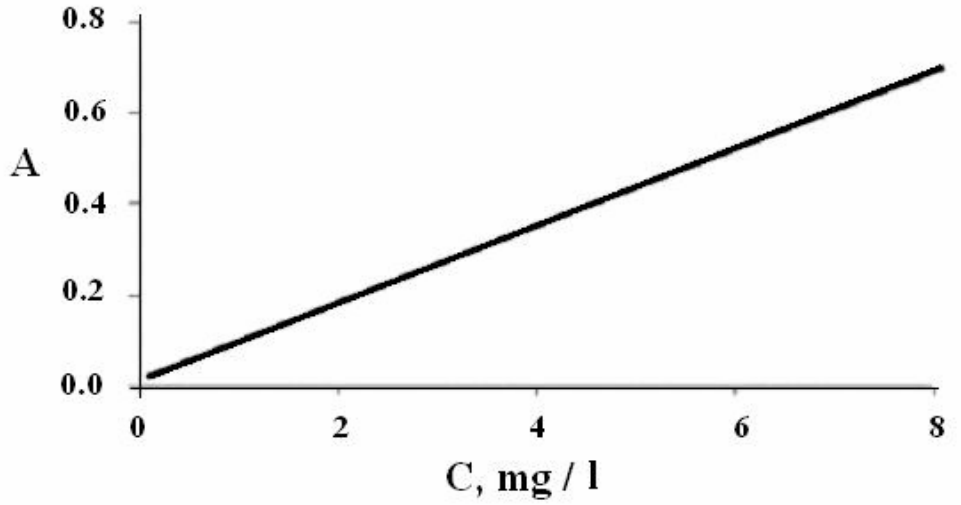
Havanda dövülerek hazırlanmış olan propolis örneği 24 saat %70 etanolle karıştırılarak propolis özütü hazırlanmıştır. pH metre kullanılarak örneklerin pH değerleri belirlenmiştir.

3.4.1.6. Propolisin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi ve etanolik özüt ürünü

3.4.1.6.1. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Toplam fenolik miktarının belirlenmesi için Woisky ve Salatino tarafından bildirilen yöntem [11] geliştirilerek, Folin-Cicoltau metodu kullanılmıştır. Bunun için 1g propolis

örneği 24 saat %70 etanolde sürekli karıştırılarak özütlenip süzölmüş, süzgeç kağında kalan propolis etanolde 24 saat yeniden özütlenip elde edilen iki özüt birleştirilmiştir. Özüt (40 µl) 2400 µl distile su ve 200 µl seyreltilmemiş Folin-Cicoltau ayıracı ile 600µl sodyum karbonat (%20 Na₂CO₃) ile karıştırılıp oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra 765 nm de absorbansı ölçölmüştür. Ölçüm sonuçları mg gallik asit/ g propolis şeklinde standart grafik kullanılarak belirlenmiştir.



şekil 3.1. UV-VIS Spektrometrenin Standart Grafiği

3.4.1.6.2. Propolisin etanolik özüt ürünü

Toz haline getirilmiş 20g propolis örneği 400ml etanol kullanılarak soksalet cihazında 60°C sıcaklıkta 24 saat boyunca özütlenmiştir. Elde edilen özütün alkol kısmı 50°C de vakum altında buharlaştırıcıda uzaklaştırılmıştır. Kalan saf propolis tartılarak ağırlığı kaydedilmiştir.

4. BÖLÜM

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Kayseri ve ilçelerinden (Bünyan, Sarioğlan, Tomarza, Melikgazi, Yahyalı, Yeşilhisar, Develi, Özvatan) toplanan propolis örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri araştırılmıştır. Kül ve kuru madde içeriği dışında tüm incelemeler etil alkol özütü üzerinden gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar aşağıdaki başlıklar altında görülmektedir.

4.1. Mum miktarı

Kayseri merkez ve ilçelerinden alınan Propolis örneklerinin % mum miktarının bölgelere göre dağılımı tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Propolis Örneklerinin Mum Miktarı..

COĞRAFİK ORJİN	% <i>mum miktarı</i> *	% BSS**
Sarioğlan	3,60±0.03	0.40
Özvatan	3,01±0.02	0.30
Melikgazi	30,14±0.01	0.02
Tomarza	8,50±0.02	0.10
Bünyan 1	27,17±0.04	0.08
Bünyan 2	17,74±0.03	0.09
Bünyan 3	8,18±0.01	0.30
Bünyan 5	4,73±0.01	0.20
Yeşilhisar 3	16,59±0.01	0.05
ORTALAMA	13,30	0.17

*% mum miktarı= $(\% \bar{x} \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}})$ **%BSS(bağıl standart sapma)= $(s / \bar{x}) \times 100$ (%95 güvenle, n=2)

Propolis örneklerinin mum miktarının ortalaması %13.30 olup 3.01-30.14 arasında değişmektedir. Bonvehi ve ark.[5]' larına göre mum miktarı 14.8 ± 2.2 'dir.

4.2. Kuru madde

Kayseri merkez ve ilçelerinden alınan propolis örneklerinin % kuru madde miktarları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Propolis Örneklerinin % Kuru Madde Miktarları.

COĞRAFİK ORJİNİ	% KURU MADDE MİKTARI*	% BSS **
Sarıoğlan	31,70±0,11	1,10
Özvatan	40,00±0,06	0,50
Pınarbaşı	25,20±0,02	0,30
Melikgazi	45,70±0,12	0,50
Tomarza	31,30±0,09	0,50
Bünyan 1	34,10±0,02	0,70
Bünyan 2	52,50±0,01	0,40
Bünyan 3	60,80±0,01	0,20
Bünyan 4	45,80±0,06	0,50
Bünyan 5	31,00±0,02	0,20
Yeşilhisar 1	22,80±0,04	0,60
Yeşilhisar 2	25,90±0,02	0,30
Yeşilhisar 3	31,80±0,06	0,70
Yeşilhisar 4	30,50±0,10	1,20
Yeşilhisar 5	37,20±0,04	0,40
ORTALAMA	36,40	0,54

$$*\% \text{ Kuru Madde Miktarı} = (\% \bar{x} \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}})$$

$$**\% \text{ BSS} = (s / \bar{x}) \times 100$$

(%95 güvenle, n=3)

Propolis örneklerindeki kuru madde miktarının ortalaması %3.64 olup değişim aralığı %2.28-6,08 arasındadır.

4.3. Kül miktarı

Kayseri merkez ve ilçelerinden alınan propolis örneklerinin % kül miktarları tablo 4.3’de verilmiştir. Propolis örneklerinin içerdiği kül miktarı ortalaması % 2,93 olup değişim aralığı %1,59-3,96 arasındadır.

Tablo 4.3.Propolis Örneklerinin Kül Miktarı.

COĞRAFİK ORİJİNİ	KÜL MİKTARI *	% BSS **
Sarıoğlan	1,59±0,09	1,30
Özvatan	3,96±0,08	0,70
Pınarbaşı	2,78±0,04	0,50
Melikgazi	2,85±0,01	0,20
Tomarza	2,95±0,06	0,70
Bünyan 1	2,09±0,09	1,40
Bünyan 2	2,81±0,01	0,30
Bünyan 3	2,85±0,07	0,70
Bünyan 4	2,65±0,03	0,60
Bünyan 5	3,15±0,09	0,50
Yeşilhisar 1	2,71±0,06	0,80
Yeşilhisar 2	3,27±0,06	0,60
Yeşilhisar 3	3,28±0,04	0,40
Yeşilhisar 4	3,72±0,04	0,40
Yeşilhisar 5	3,26±0,06	0,60
ORTALAMA	2,93	0,65

$$*\% \text{ Kül Miktarı} = (\% \bar{x} \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}}),$$

$$** \% \text{ BSS (Bağıl Standart Sapma)} = (s / \bar{x}) \times 100$$

(%95 güvenle, n=3)

4.4. Oksidasyon

Kayseri merkez ve ilçelerinden alınan propolis örneklerinin asitli ortamda permanganatla yükseltgenebilirlikleri tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.4. Propolis Örneklerinin Oksidasyonu.(n=3)

COĞRAFİK ORİJİN	OKSİDASYON
Sarıoğlan	+
Özvatan	+
Pınarbaşı	+
Melikgazi	+
Tomarza	+
Bünyan 1	+
Bünyan 2	-
Bünyan 3	+
Bünyan 4	+
Bünyan 5	+
Yeşilhisar 1	+
Yeşilhisar 2	+
Yeşilhisar 3	+
Yeşilhisar 4	-
Yeşilhisar 5	+
ORTALAMA (13/15*100)	% 86,67

4.5. pH

Kayseri merkez ve ilçelerinden alınan propolis örneklerinin örneklerin pH değerleri tablo 4.5 de verilmiştir.

Tablo 4.5. Propolis Örneklerinin pH Değerleri.

COĞRAFİK ORİJİN	pH *	% BSS *
Sarıoğlan	2,70±0.05	1.10
Özvatan	2,60±0.02	0.50
Pınarbaşı	2,19±0.03	0.60
Melikgazi	3,21±0.03	0.40
Tomarza	2,35±0.05	1.20
Bünyan 1	3,12±0.04	0.70
Bünyan 2	4,14±0.05	0.70
Bünyan 3	4,09±0.04	0.20
Bünyan 4	4,11±0.04	0.90
Bünyan 5	4,22±0.02	0.50
Yeşilhisar 1	3,52±0.04	1.00
Yeşilhisar 2	2,41±0.03	1.20
Yeşilhisar 3	3,14±0.04	0.70
Yeşilhisar 4	2,36±0.04	0.90
Yeşilhisar 5	3,87±0.05	0.50
ORTALAMA	3,20	0.74

$$pH = (\% \bar{x} \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}}), \quad ** \% BSS (\text{Bağıl Standart Sapma}) = (s / \bar{x}) \times 100$$

Propolis örneklerinin pH ortalaması %3.20 'dir. Propolis örneklerinin pH değerleri 2.19-4.22 aralığında değişmektedir.

4.6. Toplam fenolik madde miktarı

Kayseri merkez ve ilçelerinden alınan propolis örneklerinin spektrofotometrik ölçümlerindeki Absorbans değerleri tablo 4.6'da, fenolik madde miktarları ise tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.6. Propolis örneklerinin absorbans değerleri.

COĞRAFİK ORJİN	A*	% BSS **
Sarıoğlan	1,506±0.013	0.50
Özvatan	0,983±0.007	0.30
Pınarbaşı	0,550±0.005	0.50
Melikgazi	1,454±0.007	0.10
Tomarza	0,831±0.012	0.80
Bünyan 1	1,196±0.007	0.60
Bünyan 2	0,527±0.007	1.40
Bünyan 3	1,104±0.007	0.30
Bünyan 4	0,854±0.002	0.20
Bünyan 5	1,221±0.003	0.20
Yeşilhisar 1	1,568±0.004	0.10
Yeşilhisar 2	0,490±0.020	2.10
Yeşilhisar 3	0,520±0.013	1.40
Yeşilhisar 4	1,025±0.005	0.30
Yeşilhisar 5	1,606±0.005	0.30
ORTALAMA	1,029	0.61

$$*\text{Absorbans}=(\% \bar{x} \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}})$$

(%95 güvenle,n=3)

$$**\%BSS(\text{Bağıl standart sapma})=(s / \bar{x}) \times 100$$

Tablo 4.7. Propolis örneklerinin toplam fenolik madde miktarları.

COĞRAFİK ORİJİN	mg flavonoid/g propolis*	% BSS **
Sarıoğlan	115.00±4.50	2.20
Özvatan	86.00±1.50	0.90
Pınarbaşı	5,60±0.03	0.20
Melikgazi	124.00±5.40	2.40
Tomarza	14,90±0.03	0.10
Bünyan 1	90.00±1.50	0.90
Bünyan 2	47,50±0.01	0.02
Bünyan 5	14,60±0.03	0.10
Yeşilhisar 1	64.00±0.03	0.02
Yeşilhisar 2	14,40±0.04	0.20
Yeşilhisar 3	10,90±0.04	0.20
Yeşilhisar 5	122,50±0.16	0.10
ORTALAMA	59,12	0,61

$$*\text{toplam falovanoid miktarı}=(\% \bar{x} \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}})$$

$$**\%BSS(\text{bağıl satandart sapma})= (s / \bar{x}) \times 10$$

((%95 güvenle,n=3)

4.7. Propolisin Etanolik Özüt Ürünü

Kayseri merkez ve ilçelerinden alınan propolis örneklerinin etanolik özüt ürünü miktarlarının bölgelere göre dağılımı tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Propolis Örneklerinin Etanolik Özüt Ürünü

NUMUNE	%özüt ürünü	% BSS **
Sarıoğlan	21,93±0.01	0.10
Özvatan	9,04±0.01	0.10
Melikgazi	8,00±0.01	0.10
Tomarza	8,50±0.04	0.30
Bünyan 1	7,43±0.04	0.30
Bünyan 2	63,63±0.05	0.03
Bünyan 3	20,41±0.02	0.10
Bünyan 5	24,10±0.07	0.10
Yeşilhisar 3	24,54±0.06	0.10
ORTALAMA	20,84	0.14

$$*\%özüt ürünü =(\% \bar{x} \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}})$$

$$**\%BSS(\text{bağıl standart sapma})=(s / \bar{x}) \times 100$$

Propolis örneklerinin özüt ürününün ortalaması %20.84 olup 7.43-63.63 arasında değişmektedir.

Folin-Ciocalteu metodu toplam fenoliklerin spektrofotometrik tayininde çok yaygın kullanılmaktadır. Metod, kalibrasyon için referans maddesi olarak kullanılan gallik asit için propolise uygulanmıştır. Gallik asit propoliste küçük bir bileşendir.

Propolis çoğunlukla tropikal örneklerde ve tropikal bölgelerde bulunmuştur [14]. Propolis örneklerinin toplam flavonoid miktarlarının ortalaması 59,12 olup 5,60-115,60 aralığında değişmektedir. Toplam fenolik miktarları Bankova ve ark. larına [12] göre 57,26 dır. Sorkun ve ark. [13] incelemelerine göre Bursa'nın üç bölgesinden toplanan örneklerdeki flavonoidlerin miktarı %38,92; Erzurum %4,72; Gümüşhane %50,55; Trabzon %43,55 olarak belirlenmiştir. Bankova ve ark.larına [12] göre Brezilya örneklerinde toplam fenolik miktarı %57,3 olarak tespit edilmiştir. Bonvehi ve ark.larına [5] göre Çin ve Uruguay örneklerinde fenolik bileşenler $21,7 \pm 1,29$ olarak tespit edilmiştir.

Propolis son yıllarda faydalı biyolojik etkileri nedeniyle çok sayıda araştırmacının dikkatini çekmiştir. Ancak bu araştırmalarda kullanılan propolis örneklerinin standart özellikte olması istense de bu mümkün olmamaktadır. Çünkü gerek propolisin üretimi gerekse kullanımı için standartlar geliştirilememiştir. Tıp, veteriner ve diş hekimliği, eczacılık ve gıda sektöründe bu denli önemli yeri olan propolisin standardize edilmesi günümüzün en önemli araştırmalarından biridir. Bu araştırma ile ileride ülke genelinde yapılacak standardizasyon çalışmalarına ışık tutması ve katkıda bulunması amacıyla Kayseri ve yöresinde üretilen propolis örneklerinin standardize edilebilmesi açısından bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmada kullanılan örnek sayısı Kayseri ve yöresi propolis profilini belirlemek anlamında yeterli olmayabilir ancak bize yöre propolisinin kimyasal yapısı açısından bilgi vermesi bakımından önem taşımaktadır.

Propolisin kuru madde, kül, özüt ürünü, fenolik madde miktarı, asitliği ve oksidasyon özelliği çok sayıda faktöre bağlı olarak değişebilmektedir. Örneğin kovanın giriş deliğinden elde edilen propolis daha fazla mum içermekle birlikte çöp, ölü arı kalıntısı

gibi kir unsurlarını da fazlaca taşımaktadır. Bu nedenle araştırmalarda kullanılacak propolisin çerçeve üstleri ve kovan duvarlarından elde edilmesi gerekliliği vurgulanmaktadır. Bu nedenle bu araştırmada da örnekler kovan duvarları ile çerçeve üstlerinden toplanmıştır. Propolisteki mum içeriği propolisin toplandığı sezona göre değişebilmektedir. Sonbahar aylarında toplanan propolisin daha yüksek oranda reçine içerdiği belirtilmiştir. Aynı şekilde diğer fiziksel ve kimyasal özellikler de propolisin toplandığı vejetasyona yani propolise kaynak teşkil edecek bitkilerin yörede mevcudiyeti ve bolluğuna, toplanma sezonuna, propolisi toplayan arı ırkına, propolisin toplandığı kovan bölümüne, propolisin saklanma koşullarına göre değişiklik gösterebilmektedir.

Propolis standardizasyonu ile ilgili çalışmalar ilk kez Brezilya'da yapılmış ve propolisle ilgili çalışmalar bu ülkede yoğunlaşmıştır. Günümüzde önemli oranda propolis ihracatı yapan Brezilya konuya gerekli önemi vermiş propolis konusunda yapılan çalışmaları desteklemiştir. Brezilya'da *Baccharis dracunculifolia* bitkisinin reçinesinden elde edilmiş yeşil propolis örneklerinde kuru ağırlığın %90,0-95,4 arasında ve kül içeriğinin % 2,55-4,59 aralığında olduğu tespit edilmiştir [16]. Brezilya'da Sao Paulo Devlet Arıcular Birliği standartlarına göre propoliste maksimum kül içeriğinin %5 civarında olması gerektiği bildirilmiştir. Brezilya'nın değişik bölgelerinden topladıkları propolis örneklerinde kül içeriğini 1,87-7,16 arasında kuru ağırlığın ise 90,2-94,2 arasında değiştiğini bulmuşlardır [15]. Yine aynı ülkeden araştırmacılar [11] Brezilya propolisi için kül içeriğini 3,10 olarak tespit etmişlerdir. Elde edilen bu sonuçlar bizim elde ettiklerimizle aynı değildir. Bunun en önemli sebeplerinden biri propolisin coğrafik ve botanik orijinindeki farklılıklardır. Bununla birlikte yukarıda değinilen değişkenler de sonuçlardaki farklılığı destekler niteliktedir.

10, 20 ve 30 gün boyunca üç farklı zaman aralığında özütlenen propolislerin etanolik özüt verimini 48,41, 52,68 ve 59,48 olarak, örneklerin fenolik madde içeriğini ise 8,53, 8,00 ve 8,49 olarak belirlemişlerdir [16]. %80 metanolla özütledikleri propolis örneklerinin ortalama ürün verimini 31-65 arasında olduğunu rapor etmişlerdir [17]. Propolisin antiinflamatör etkisini araştırdıkları çalışmalarında 99,5 etanolla özütledikleri propolis verimini %41-60, su ile özütlediklerinde ise %4-14 arasında olduğunu tespit etmişlerdir [16]. Propolisin antioksidan etkisini test ettikleri

araştırmalarında propolisi % 70 etanolla özütlediklerinde ürünü % 44,5 su ile özütlediklerinde ise % 11,1 olarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak propolis farklı çözücülerle özütlenebilmektedir. Ancak elde edilecek propolis ürünü kullanılan çözücünün niteliğine ve konsantrasyonuna göre değişebilmektedir.

İnceledikleri propolis örneklerinde toplam fenolik madde içeriğini 8,8 -13,7 aralığında tespit etmişler, özütleme süresi arttıkça fenolik madde miktarının da arttığını belirlemişlerdir [17]. Propolisin fenolik madde içeriğinin oranı önemlidir. Çünkü fenolik maddelerden özellikle flavonoidlerin faydalı biyolojik özellikleri çok sayıda araştırmada ispat edilmiştir [16]. Bu nedenle de propolisin gösterdiği faydalı özelliklerin büyük çoğunluğu fenolik maddelere atfedilmiştir.

Bu araştırma ülkemizde propolisin standardizasyonu anlamında yapılan ilk çalışmadır. Ülkemizin büyük bir arıcılık potansiyeline sahip olduğu düşünülürse arı kovanlarında doğal olarak üretilen propolis kıymeti bilinmeden arıclar tarafından atılmaktadır. Propolisin standardizasyonunun yapılması ülkemizde propolisin etiketlenebilmesine yardımcı olacak ve ihracatında önemli kolaylıklar sağlayacaktır. Bu sebeple ülkemizin değişik bölgelerinde elde edilen propolislerinde standardizasyonlarının yapılması ve bir veri bankası altında toplanması propolisin tanınması, ekonomik anlamda değer bulması bakımından son derece önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Popova, M, Silici, S., Kaftanoğlu, O., Bankova, V., Antibacterial Activity of Turkish Propolis And Its Qualitative And Quantitative Chemical Composition, *Phytomedicine*, 12, 221-228, 2005.
2. Kumazawa, S. ve ark., Studies of the Constituents of Uruguay Propolis, *Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4777-4782.
3. Bankova,V., Marcucci, M., Castro, S., Propolis recent advances in chemistry and plant origin, *Apidologie*, 31, 3-15, 2000.
4. Silici, S., Kutluca, S., Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region, *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 69-73, 2005.
5. Bonvehi, J., Coll, V., Study on Propolis Quality from China and Uruguay, *Z.Naturforsch*, 55c, 778, 26: 83-99, 1995.
6. Velikova,M., Bankova, V., Marcucci, M., Tsvetkova, I., Kujungiev, A., Chemical Composition and Biological Activity of Propolis from Brazilian Meliponinae, *Z.Naturforsch*, 55c, 785-789, 2000.
7. Silici,S., Propolisin bazı antimikrobiyel ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim dalı, Adana, 2003.
8. Skoog, D., Holler, J., Nieman, T., Enstrümantal Analiz İlkeleri, Bilim Yayıncılık, Yayın no 1, Ankara, 2000.
9. Skoog, D., Holler, J.,West, D., Analitik Kimya Temelleri, Bilim Yayıncılık, Yayın no 7, Ankara 1999.
10. Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S., Enstrümantal Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A-64, Ankara, Ağustos, 1993.
11. Popova, M. ve ark., Validated Methods for the Quantification of Biologically Active Constituents of Poplar-type Propolis, *Phytochemical Analysis*, 15, 235-240, 2004.
12. Bankova, V., Popova, M., Stefan, B., Sabatini, A., Chemical Composition of Propolis Expected and Unexpected Results, *Z. Naturforsch*, 57c, 530-533, 2002.

13. Sorkun,K., Süer,B., Salih,B., Determination of Chemical Composition of Turkish Propolis, *Z. Naturforsch*, 56c, 666-668, 2001.
14. Hady, F., Hegazi, A., Egyptian Propolis 2. Chemical Composition, Antiviral and Antimicrobial Activities of East Delta Propolis, *Z. Naturforsch*, 57c, 386-394, 2002.
15. Teixeira,W. ve ark., Plant Origin of Gren Propolis Bee Behavior, *Plant Anatomy and Chemistry, Oxford University Journal*, 2 (1), 85-92, 2005.
16. Cunha I. B. S. ve ark., FactorsThat Influence the Yield and Composition of Propolis Extracts. *J. Braz. Chem. Soc.* 15 (6): 964-970, 2004.
17. Woisky, R. G., Salatino, A. J. *Apicult. Res.* 37, 99, 1998.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğba ENGÜR
Baba Adı : Atila
Ana Adı : Tevhide
Doğum Yeri : Kayseri
Doğum Tarihi : 02.01.1980

İlk ve orta öğrenimini 1997 yılında Kayseri’de tamamladı. 1998 yılında kazanmış olduğu Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nü 2003 yılında bitirdi. Aynı yıl Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

İletişim Bilgileri:

Adres: Gültepe mah. Köşk cad.
Sedef Saray sit. A blok B giriş
Kat:7
38030 Melikgazi KAYSERİ
e-mail: tugbaengur@yahoo.com.