



T.C.

Ardahan Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

**ÇEŞİTLİ GASTROENTERİK PATOJENLER VE POTANSİYEL
PROBİYOTİK *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* VE
WEISELLA CIBARIA SUŞLARI ÜZERİNDE PROPOLİSİN
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Ahmet SÜMER

Dr. Öğr. Üyesi Duygu ALP BALTAKESMEZ

Yüksek Lisans Tezi

Ardahan, 2025

ÇEŞİTLİ GASTROENTERİK PATOJENLER VE POTANSİYEL
PROBİYOTİK *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* VE *WEISELLA*
CIBARIA SUŞLARI ÜZERİNDE PROPOLİSİN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ

Ahmet SÜMER

Dr. Öğr. Üyesi Duygu ALP BALTAKESMEZ

Ardahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı
Biyoteknoloji Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Ardahan, 2025

KABUL VE ONAY

Ahmet SÜMER tarafından hazırlanan “*Çeşitli Gastroenterik Patojenler ve Potansiyel Probiyotik Lactiplantibacillus plantarum ve Weisella cibaria Suşları Üzerinde Propolisin Etkisinin Belirlenmesi*” başlıklı bu çalışma, 12.09.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Sevgin DIBLAN (Başkan)

Dr. Öğr. Üyesi Duygu ALP BALTAKESMEZ (Danışman)

Dr. Öğr. Üyesi Evrim YILDIZ

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa ŞENEL
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Ardahan Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinleri yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / Ardahan Üniversitesi Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

12/09/2025

Ahmet SÜMER

“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkânı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan iş birliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir.

* Tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.**

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanının **Dr. Öğretim Üyesi Duygu ALP BALTAKESMEZ** danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Ardahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Ahmet SÜMER

ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, Ardahan ilinden elde edilen propolis örneklerinin antimikrobiyal etkileri deneysel yöntemlerle incelenmiştir. Kullanılan propolis, Kafkas arısının izole bölgesi olan Ardahan ilinden elde edildiği için Kafkas arısı propolisi niteliği taşımaktadır. Çalışmada, propolisin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* ile probiyotik özellik taşıyan *Weissella cibaria* ve *Lactiplantibacillus plantarum* üzerindeki inhibisyon etkisi incelenmiştir. Farklı bakteri yoğunlukları ve ekstrakt konsantrasyonlarında gerçekleştirilen uygulamalar sonucunda, belirli koşullarda anlamlı inhibisyon zonları saptanmıştır. Ayrıca, propolis örneklerinin kimyasal içeriği hem toplam fenolik bileşik analizi hem de yağ asidi profili analizi ile değerlendirilmiştir. Bu analizlerin sonuçları, propolisin biyolojik etkileri ile ilişkili fenolik ve yağ asidi bileşenlerini bilimsel olarak ortaya koymuştur. Bu tez, Ardahan yöresine özgü doğal bir ürün olan propolisin hem mikrobiyolojik hem kimyasal özelliklerini ortaya koyarak, sağlık ve biyoteknoloji alanlarındaki potansiyel kullanımını bilimsel temelde değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Tez çalışmamın hazırlanması sürecinde bilgi, deneyim ve yönlendirmeleriyle bana yol gösteren değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Duygu Alp Baltakesmez'e en içten şükranlarımı sunarım. Kendisinin akademik birikimi, rehberliği ve sabrı, bu çalışmanın başarıyla tamamlanmasında büyük katkı sağlamıştır. İş ve eğitim sürecimi anlayışla destekleyen Kafkas Arısı Eğitim ve Gen Merkezi Müdürüme ve değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bu süreçte maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan annem Havva Sümer'e, babam Mahmut Sümer'e ve kardeşim Numan Sümer'e gönülden minnettarım. Laboratuvar analizlerinin gerçekleştirilmesinde sağladığı destek için Öğr. Gör. Hamza Adıgüzel hocama; Ağrı Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndaki analizlerin yürütülmesine katkı sağlayan tüm çalışanlara ve emeği geçen herkese içten teşekkür ederim. Bu vesileyle katkılarıyla bu süreci kolaylaştıran herkese teşekkür borç bilirim.

Ahmet SÜMER

Ardahan 2022

ÖZET

SÜMER AHMET. *Çeşitli Gastroenterik Patojenler ve Potansiyel Probiyotik Lactiplantibacillus plantarum ve Weissella cibaria Suşları Üzerinde Propolisin Etkisinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ardahan, 2025

Bu tez çalışmasında, Kafkas arısının izole bölgelerinden biri olan (Ardahan-Artvin) Ardahan ilinde bulunan yerel üreticiden Kafkas arısı propolisi ham olarak temin edilmiştir. %80 etanolde 1:3 ve 1:2 propolis-çözgen oranlarında ham propolis kullanılmış, farklı sürelerde (30 dakika ve 60 dakika) ultra-sonikasyona tabi tutularak ekstraktlar (P10, P30 ve P60) elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriği ve yağ asiti metil esterleri bileşimi belirlenmiştir. Ekstraktlardan etanol uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen propolis özütleri %100 DMSO (dimetil sülfoksit), %50:50 etanol:su ve %20:80 etanol:su çözeltilerinde tekrar çözündürülerek probiyotik özellikler taşıdığı bilinen *Lactiplantibacillus plantarum* ve *Weissella cibaria* suşları ile gastrointestinal rahatsızlıklara neden olan patojen mikroorganizmalar *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 259223) üzerindeki antibakteriyel özelliği disk difüzyon yöntemi ile canlılıklarına etkisi ise koloni sayımı yapılarak belirlenmiştir. Propolis çözeltilerinden 1:3 oranında ve 30 dakika ultra-sonikasyona tabi tutulan örneğin (P10) en yüksek toplam fenolik madde içeriğine (83.384 mgGAE/g) sahip olduğu tespit edilmiştir. En düşük sonuç ise 1:2 oranında ham propolis-çözgen içeriğine sahip ve 60 dakika ultra-sonikasyona tabi tutulan P60 örneğinde (42.794 mgGAE/g) belirlenmiştir. Ekstraktların yağ asiti metil ester bileşimlerinde ise çeşitli yağ asiti esterlerince zengin olmalarının yanı sıra yüksek oranda bitkisel kaynaklarda doğal olarak bulunan ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirtilen sinamik asit (2-Propenoic acid, 3-phenyl-) esterlerinin varlığı dikkat çekmektedir. İnhibisyon etkiye bağlı olarak belirlenen zon oluşumu ise yaklaşık 10^6 ve 10^5 log kob/mL yoğunluktaki patojen bakterilerde gözlemlenmiştir. Patojen mikroorganizmaların ve laktik asit bakterilerinin canlılığına etkisi ise en yüksek fenolik madde içeriğinin yanı sıra en iyi inhibisyon etkisi gösteren P10 örneği kullanılarak belirlenmiş olup, örneğin %3 ve %5 oranında sıvı besi ortamına eklenmesiyle belirlenmiştir. Patojen mikroorganizmalardan Gram negatif *E. coli*, Gram pozitif bakteri olan *S. aureus*'a kıyasla daha uzun süre canlılığını korumuştur. *E. coli* %3 katkıda 24

saatin sonunda %54.94 canlılık gösterirken bu yüzde %5 katkıda 20.90 olarak belirlenmiştir. 24 saatin sonunda *S. aureus* için bu değerler sırasıyla %43.59 ve 20.90 olarak belirlenmiştir. 48 saatin sonunda ise *S. aureus* %5 propolis katkısında canlılığını tamamen yitirmiştir. Laktik asit bakterilerinde ise disk difüzyon yönteminde zon oluşumu gerçekleşmemesine rağmen *Lpb. plantarum* suşu %5 katkılı besin ortamında 48 saatin sonunda %43.59, *W. cibaria* ise %50.24 canlılık yüzdesi sergilemişlerdir. Çalışma sonunda propolis ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerin ve propolis konsantrasyonunun etkili olduğu, antimikrobiyal etkinlik üzerinde ise yine propolis oranının ve uygulanan sürenin bu özellik üzerinde etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Sözcükler:

Propolis, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Weisella cibaria*, patojen, antimikrobiyal etki

ABSTRACT

SÜMER AHMET. *Determination of the Effect of Propolis on Various Gastroenteric Pathogens and Potential Probiotic Lactiplantibacillus plantarum and Weissella cibaria Strains*, Master's Thesis, Ardahan, 2024

In this thesis study, raw Caucasian bee propolis was obtained from a local producer in Ardahan province, one of the isolated regions of the Caucasian bee (Ardahan-Artvin). Crude propolis was used at the propolis: solvent ratios of 1:3% and 1:2% in 80% ethanol and extract (P10, P30 and P60) were obtained by ultra-sonication at different times (30 minutes and 60 minutes). Total phenolic content and fatty acid methyl ester composition of the solutions were determined. Propolis extracts obtained after removal of ethanol from the solutions were diluted with 100% DMSO, 50:50% ethanol:water and 20:80% ethanol:water and its antibacterial properties on *Lactiplantibacillus plantarum* and *Weissella cibaria* strains known to have probiotic properties and pathogenic microorganisms *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 259223) causing gastrointestinal disorders were determined by disk diffusion method and its effect on growth was determined by colony counting method. The highest total phenolic content (83.384 mgGAE/g) was determined in the sample (P10) which was subjected to ultra-sonication for 30 minutes at a ratio of 1:3. The lowest result was determined in the P60 sample (42.794 mgGAE/g), which had 1:2 ratio of crude propolis content and was subjected to ultra-sonication for 60 minutes. In the fatty acid methyl ester compositions of the solutions, in addition to being rich in various fatty acid esters, the presence of cinnamic acid (2-Propenoic acid, 3-phenyl-) esters, which are naturally found in plant sources and are reported to have antibacterial activity, is noteworthy. The zone formation determined due to the inhibition effect was observed in pathogen bacteria with a density of approximately 10^6 and 10^5 log cfu/mL. The growth of pathogen microorganisms and lactic acid bacteria were determined by adding 3% and 5% of P10 sample to the liquid medium, which showed the best inhibition effect as well as the highest phenolic content. In the growth, Gram-negative *E. coli*, one of the pathogen microorganisms, maintained its viability longer than *S. aureus*, a Gram-positive. While *E. coli* showed 54.94% viability at the end of 24 hours at 3% contribution, this percentage

was 20.90% at 5% contribution. At the end of 24 hours, these values for *S. aureus* were 43.59% and 20.90%, respectively. At the end of 48 hours, *S. aureus* completely lost its viability in 5% propolis supplementation. In lactic acid bacteria, although there was no zone formation in the disk diffusion method, *Lpb. plantarum* strain exhibited 43.59% and *W. cibaria* exhibited 50.24% viability percentage at the end of 48 hours at 5% supplementation. At the end of the study, it was concluded that the solvents and propolis concentration used in propolis extraction were effective, and the propolis ratio and the duration of the application were effective on antimicrobial activity.

Keywords:

Propolis, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Weisella cibaria*, pathogen, antimicrobial effect



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI.....	ii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖN SÖZ.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
GİRİŞ	1
1. BÖLÜM.....	3
1.1. PROPOLİS	3
1.1.1.Kafkas Arısı ve Propolisi.....	4
1.2. PROPOLİSİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ	5
1.3. PROPOLİSİN BİLEŞENLERİ VE ÇÖZÜNÜRLÜK ÖZELLİKLERİ .5	
1.4. PROPOLİSİN ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ	6
1.4.1. Antioksidan Etki.....	6
1.4.2. Anti İnflamatuar Etki.....	7
1.4.3. Antimikrobiyal Etki.....	7
1.5. PROPOLİSİN ETKİ MEKANİZMASI.....	7
1.6. EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ.....	8
1.6.1. Maserasyon Ekstraksiyon Yöntemi.....	8
1.6.2. Soxhlet Ekstraksiyonu	9
1.6.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon	9
1.6.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon	10
1.6.5. Süperkritik Ekstraksiyon	10
1.6.6. Yüksek Basıncılı Ekstraksiyon Yöntemleri.....	11
1.7. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALAR VE GENEL ÖZELLİKLERİ.....	12
1.8. PROBİYOTİKLER VE KULLANIM ALANLARI	13

1.9. LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ.....	14
1.9.1.Çeşitli Özellikleri ve Sağlığa Etkileri.....	14
1.9.2. <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> Genel Özellikleri.....	15
1.9.3. <i>Weissella cibaria</i> Genel Özellikleri.....	16
1.10. PATOJEN MİKROORGANİZMALAR	17
1.9.1. <i>Escherichia coli</i>	18
1.9.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
1.11. PROPOLİSİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNE DAİR ÖRNEK	
 ÇALIŞMALAR.....	19
2. BÖLÜM.....	23
MATERYAL VE METOT	23
2.1. MATERYAL.....	23
2.2. METOT	23
2.2.1.Propolis Ekstraktının Hazırlanması.....	23
2.2.2.Propolis Özütünün Çözeltilere Eklenmesi.....	25
2.2.3.Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi	26
2.2.4.Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi	26
2.2.5.Yağ Asiti Metil Esterlerin Belirlenmesi	27
2.2.6.Propolisin Patojen Mikroorganizmalar ve Laktik Asit Bakterilerinin	
Canlılığına Etkisinin Belirlenmesi	28
2.2.7.İstatiksel Analiz	28
3. BÖLÜM.....	29
BULGULAR VE TARTIŞMA	29
3.1. BULGULAR	29
3.1.1.Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	29
3.1.2.Toplam Fenolik Madde Sonuçları	31
3.1.3.Propolisin Patojen Mikroorganizmaların ve Laktik Asit Bakterilerinin	
Canlılığına Etki Sonuçları.....	32
3.1.4.Yağ Asiti Metil Ester Analizi Sonuçları.....	35
3.2. TARTIŞMA	39
SONUÇ.....	46
KAYNAKÇA	49

EKLER.....	62
ÖZ GEÇMİŞ.....	64



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CAFE	Kafeik asit feniletil esteri
COX	Siklooksijenaz enzim inhibisyonu
DMSO	Dimetil sülfoksit
EEP	Propolis etanol özütü
EPS	Ekzopolisakkaritler
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi
HHPE	Hidrostatik basınçla ekstraksiyon
LAB	Laktik asit bakterileri
MAE	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
MBC	Minimum bakterisidal konsantrasyon
MRS	De Man Rogosa Sharpe
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
PSE	Basınçlı solvent ekstraksiyonu
scCO₂	Süperkritik karbondioksit
PUEE	Ultrasonikasyon yöntemiyle hazırlanmış propolis etanol ekstraktı
PUWE	Ultrasonikasyon yöntemiyle hazırlanmış propolis su ekstraktı
TS	Tryptic soy
UAE	Ultrason destekli ekstraksiyon
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çözücü temelli ekstraksiyon metodları.....	12
Tablo 2. Propolis çözeltilerinin <i>E. coli</i> üzerindeki antimikrobiyal etki sonuçları (mm).	29
Tablo 3. Propolis çözeltilerinin <i>S. aureus</i> üzerindeki antimikrobiyal etki sonuçları (mm)	30
Tablo 4. Propolis özütlerinin toplam fenolik madde içerikleri	32
Tablo 5. Patojen mikroorganizmaların logaritmik (log kob/mL) ve hayatta kalma (%) sonuçları	33
Tablo 6. Laktik Asit Bakterilerinin logaritmik (log kob/mL) ve hayatta kalma yüzdesi sonuçları	35
Tablo 7. P10 örneğine ait yağ asiti metil ester analizi sonuçları.....	36
Tablo 8. P30 örneğine ait yağ asiti metil ester analizi sonuçları.....	37
Tablo 9. P60 örneğine ait yağ asiti metil ester analizi sonuçları.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. a) Ardahan ilinden elde edilen ham propolis b) Ufaltılmış propolis örneği	3
Şekil 2. Kafkas Arısı (<i>Apis mellifera caucasica</i>) fotoğrafı (Ardahan Kafkas Arısı Eğitim, Üretim ve Gen Merkezi Müdürlüğünde çekilmiştir, 2021).	5
Şekil 3. Propoliste bulunan önemli bileşenler.....	6
Şekil 4. Sonikasyon işlemi için kullanılan Probu Ultrasonik Homojenizatör (Sonoplus Mini20) cihazı	24
Şekil 5. a) Propolis çözeltisinin sonikasyonu b) Sonikasyon işleminden sonra elde edilen propolis çözeltisi	24
Şekil 6. a) Evaporatör cihazında propolis çözeltisinden etanollerin uzaklaştırılması işlemi. b) Uzaklaştırılan etanol sonrası elde edilen propolis özütü örneği	25
Şekil 7. Propolis özütü eklenerek hazırlanan örnekler.....	26
Şekil 8. Toplam fenolik bileşik analizinde kullanılan spektrofotometre ve absorbans ölçümü için hazırlanan reaksiyon tüpleri	27
Şekil 9. Disk difüzyon yöntemi ile propolisin suşların üzerindeki antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi (a) Kontrol grubu, (b) P60-%50:50 etanol:su örneğinin <i>E. coli</i> üzerindeki sonuçları, (c) P30-%50:50 etanol:su örneğinin <i>E. coli</i> üzerindeki sonuçları, (d) P10-%50:50 etanol:su örneğinin sonuçları <i>W. cibaria</i> üzerindeki sonuçları, (e) P10-%50:50 etanol:su örneğinin <i>Lpb. plantarum</i> ve <i>W. cibaria</i> üzerindeki sonuçları.....	31
Şekil 10. <i>S. aureus</i> suşunun %5 propolis katkılı besin ortamında 48 saat sonundaki canlılığı (a), control grubu sonucu (b).....	34

GİRİŞ

Propolis, (*Apis mellifera*) bal arısı tarafından ağaç tomurcukları, reçine, bitkisel özler gibi çeşitli kaynaklardan toplanır ve arı enzimleri ile işlenir. “Propolis” kelimesi kökeni Yunanca olan “pro” (ön, savunma), “polis” (şehir) anlamına gelen kelimelerinden türemiştir ve “şehri savunmak” anlamına gelmektedir. Bu ismin verilmesi arıların bu maddeyi kovanlarını dış tehditlerden korumak için kullanmasından kaynaklanmaktadır (Azize ve Gümüş, 2017). Propolisin, kovan içindeki sterilizasyonu sağlama, çatlakları kapatma ve patojenleri uzak tutma gibi çok sayıda işlevi bulunmaktadır (Albayrak ve Albayrak, 2008).

Propolis, flavonoidler, fenolik asitler, esterler ve çeşitli aromatik bileşikler gibi bileşenler bakımından oldukça zengin içeriği olan, bu sayede antimikrobiyal, antioksidan, anti-inflamatuar, antifungal, antiviral gibi geniş bir aktiviteye sahiptir. Bu biyolojik özellikleri nedeniyle propolis, tıp ve eczacılığın yanı sıra gıda, kozmetik ve veterinerlik alanlarında da önemli bir doğal ajan haline gelmiştir. Özellikle antibakteriyel etkileri, dirençli mikroorganizmalara karşı doğal bir alternatif olarak araştırılmasına zemin hazırlamıştır (Parolia ve diğerleri, 2010).

Escherichia coli ve *Staphylococcus aureus* gibi gastroenterik patojenlerde artan antibiyotik direnci, propolisi doğal ve etkili bir antimikrobiyal ajan adayı hâline getirmektedir (De Kraker ve diğerleri, 2011; Lazo ve diğerleri, 2025). Propolis ile probiyotiklerin birlikte değerlendirilmesi, zararlı mikroorganizmaların baskılanırken yararlıların korunmasına olanak sağlayarak yeni nesil fonksiyonel gıda ve takviyelerin geliştirilmesine zemin hazırlamaktadır (Franca ve diğerleri, 2014; Trembecka ve diğerleri, 2016). Bu bağlamda, propolisin potansiyel probiyotik suşlar üzerindeki olası koruyucu veya destekleyici etkileri, bağırsak sağlığının korunmasına katkı sağlayabilecek önemli bir bulgudur.

Bu tez çalışmasında, Kafkas arısının izole bölgelerinden biri olan (Ardahan-Artvin) Ardahan ilinde bulunan yerel üreticiden temin edilen Kafkas arısı ham propolisi farklı oran ve sürelerde etanol kullanılarak ultrasonik yöntemle ekstrakte edilmiş, elde edilen özütlerin toplam fenolik içeriği ve yağ asidi bileşimi analiz edilmiştir. Bölgenin arı ırkı açısından izole yapısı sayesinde Kafkas arısının ürettiği propolis, özgün özellikler taşımakta ve bu nedenle bilimsel açıdan ayrı bir öneme sahip olmaktadır. Bu izolasyon,

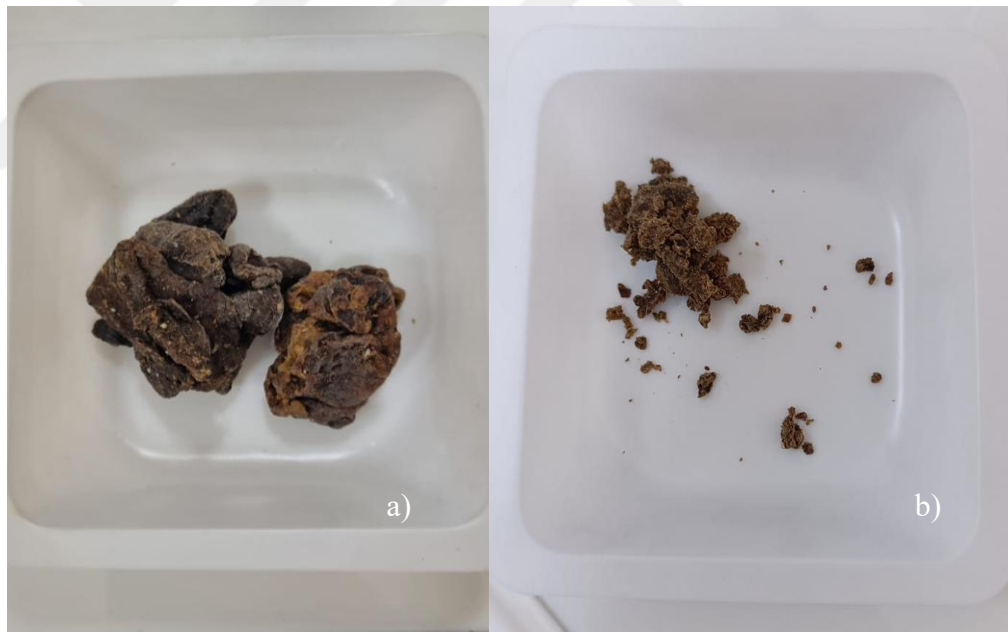
propolisin saf ve benzersiz özellikler kazanmasını sağlamakta; ayrıca Ardahan propolisi ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunması, araştırmanın özgün değerini ve bilimsel katkısını artırmaktadır. Çalışmada yalnızca gastroenterik patojen mikroorganizmalar (*E. coli* ve *S. aureus*) üzerindeki inhibe edici etkiler değil, aynı zamanda probiyotik özellik taşıyan bakteriler üzerindeki (*Lactiplantibacillus plantarum*, *Weisella cibaria*) olası koruyucu etkiler de incelenmiş ve propolis özütlerinin antibakteriyel potansiyeli kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, bu tez çalışmasında, propolisin bağırsak sağlığının desteklenmesi ve bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde doğal bir ajan olarak kullanım potansiyelini ortaya koymakla birlikte, Kafkas arısına özgü propolisin bilimsel açıdan belgelenmesine de önemli katkılar sunması hedeflenmektedir.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. PROPOLİS

İşçi arılar, arka ayaklarındaki keselerde ağaçlardan topladıkları özleri, filizleri ve tomurcukları, başlarındaki özel sıvılarla karıştırıp, değişik bir maddeye çevirirler. Bu madde Eski Yunanca kökenli "Propolis" terimi, arıların yuva koruma işlevi ile bağlantılı olarak ön/pro ve şehir/polis kelimelerinin birleşiminden oluşmaktadır. Propolis, ilk olarak Antik Yunan döneminde keşfedilmiş olup, eski çağlardan bu yana ilaç olarak kullanılmaktadır (Azize ve Gümüş, 2017). Şekil 1a ve b'de Ardahan ilinden elde edilen ham propolis ve ufaltılmış örneği verilmiştir.



Şekil 1. a) Ardahan ilinden elde edilen ham propolis b) Ufaltılmış propolis örneği

Antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu bilinen propolis, bal arılarının ağaç tomurcukları, özsu akışları, çalılar ve diğer botanik kaynaklardan topladığı reçineli, sarı kahverengi ila koyu kahverengi bir maddedir. Kovadaki istenmeyen açık alanları kapatarak kovayı dış kirleticilerden korumaktadır (Parolia ve diğerleri, 2010). Standart

bir kovan içinde kapalı bir halde 50.000 ile 80.000 arasında yetişkin arı ile benzer sayılarda yavru (yumurta, larva, pupa) bulunmasına, kovan içi sıcaklığının 34°C, nem seviyesinin ise %40-65 olmasına rağmen, propolisin bu koruyucu özelliği sayesinde hastalık faktörleri üreme olanağı bulamamaktadır (Albayrak ve Albayrak, 2008).

1.1.1. Kafkas Arısı ve Propolisi

Kafkas arı ırkı (*Apis mellifera caucasica*), Kuzeydoğu Anadolu coğrafyasına ait yerli bir arı ırkıdır. Türkiye'de Kafkas arısı üretimi özellikle Ardahan ve Artvin illerinde yapılmaktadır. Bu iller, Kafkas arıları için izole alanlar olup (2004/39 Tebliği, (RG 12.12.2004, 25668)) yabancı arıcıların girmesine izin verilmemektedir. Kafkas arısı (Şekil 2), ülkemiz için önemli bir arı ırkı olup aynı zamanda da Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından üretim izni verilmiş yerli bir ırktır (Gül ve diğerleri, 2022). Uysal bir ırk olan Kafkas arısı yavru yetiştirmesi yavaş olduğundan ilkbaharda geç gelişir (Gösterit ve diğerleri, 2012). Kuzey bölgelerde kışlama yeteneği sınırlıdır. Oğul verme eğilimi düşük, yağmacılık eğilimi ise yüksektir. Bu ırk, bal arıları arasında propolisi en yoğun kullanan ırk olarak öne çıkmaktadır (Gül ve diğerleri, 2022).

Bal arısı ırklarının propolis üretiminde önemini vurgulayan Silici ve Kutluca (2005)'nin yaptığı ve aynı bölgede üç farklı bal arısı ırkı tarafından toplanan propolisin kimyasal kompozisyonu ve antibakteriyel aktivitesinin belirlendiği bir araştırmada, Kafkas arısı tarafından toplanan propolis örneğinin *Apis mellifera anatoliaca* ve *Apis mellifera carnica* tarafından toplanan propolis örneklerine göre daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 2. Kafkas Arısı (*Apis mellifera caucasica*) fotoğrafı (Ardahan Kafkas Arısı Eğitim, Üretim ve Gen Merkezi Müdürlüğünde çekilmiştir, 2021).

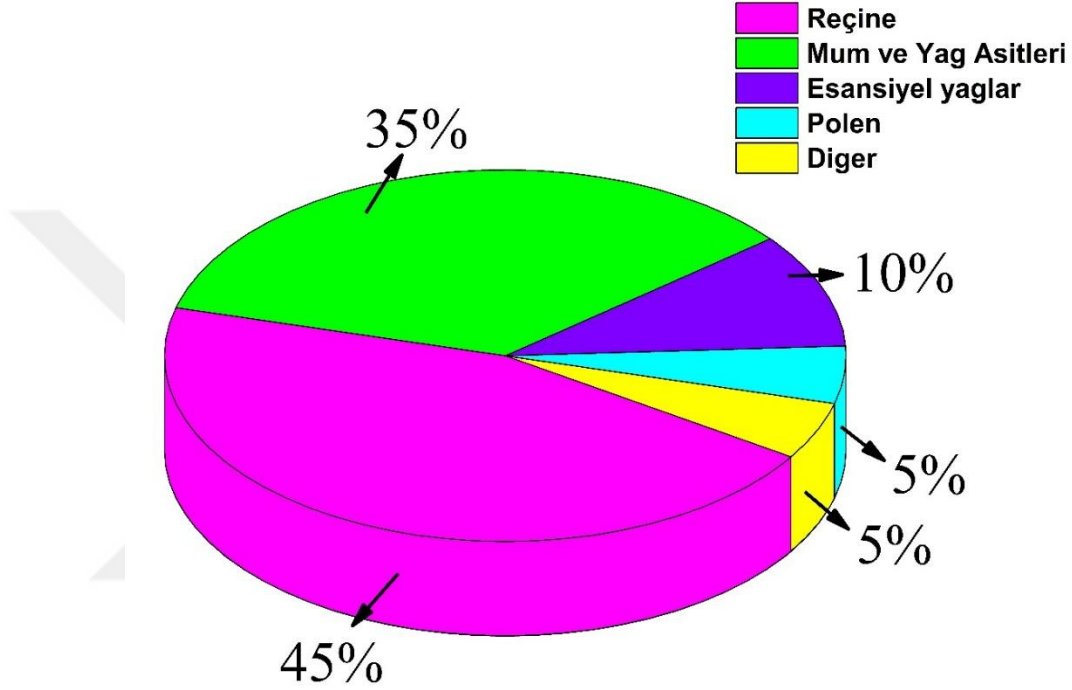
1.2. PROPOLİSİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Arılar tarafından çiçeklerden ve tomurcuk kısımlarından toplanan ve arıların ürettiği propolis, geleneksel şifacılıkta sıkça kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, anti-enflamatuar, anti-ülser gibi çeşitli biyolojik işlevleri ile ilgili bilimsel çalışmalarda yapılmaktadır. Kovan içindeki görevlerine ek olarak propolis ilaç, kozmetik, gıda endüstrisi ve apiterapi gibi birçok alanda kullanım alanına sahiptir (Doğan ve Hayoğlu, 2014).

1.3. PROPOLİSİN BİLEŞENLERİ VE ÇÖZÜNÜRLÜK ÖZELLİKLERİ

Propolis, reçine (%50), balmumu (%30), uçucu yağlar (%10), polen (%5) ve diğer organik bileşiklerden (%5) oluşmaktadır (Gómez-Caravaca ve diğerleri, 2006). Çoğu bileşeni, lipofilik özellik göstermekte ve bu özelliğinden kaynaklı olarak etanol ve metanol gibi alkollerde iyi çözünürlük sergilerken, su ve hidrokarbonda düşük çözünme özelliği göstermektedir (Eryılmaz, 2022). Ayrıca, eter, kloroform, aseton ve diğer organik

çözücüler de kısmen çözünebilir; ancak, %95'lik alkolde daha fazla çözünme eğilimi sergilemektedir. Su ve diğer çözücülerle sınırlı çözünme kapasitesi bulunmaktadır. Bu nedenle propolis genellikle %70'lik alkolde çözünmüş çözelti olarak tercih edilmektedir (Karabulut, 2011). Şekil 2'de propoliste bulunan önemli bileşenler verilmiştir.



Şekil 3. Propoliste bulunan önemli bileşenler

1.4. PROPOLİSİN ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ

1.4.1. Antioksidan Etki

Propolis, serbest radikal temizleme, metal şelasyonu ve enzim modülasyonu (düzenlemesi) sebebiyle güçlü antioksidan özellik gösteren arı ürünüdür. Kafeik asit ve türevleri, ferulik asit, kafeik asit feniletıl esterı (CAFE) gibi hidrosinamik asitler ile protokateşik asit ve gallik asit gibi hidrobenzoik asitler, emülsiyon ve lipid sisteminde belirgin antioksidan etkilere sahip maddeler arasında yer almaktadır (Memmedov ve diğerleri, 2017).

1.4.2. Anti İnflamatuar Etki

Anti-inflamatuar etkisi özellikle araşidonik asit aracılığıyla ortaya çıkmaktadır. Lipooksijenaz enzimini inhibe etme özelliğine sahiptir, buna ek olarak lökotrienlerin sentezi, siklooksijenaz enzim inhibisyonu (COX) ile prostaglandin sentezi ve tromboksan agregasyonu azaltıcı yönde etki göstermektedir. TNF alfa ve interlokin miktarlarını düşürdüğü, T hücrelerinin tetiklediği mitojenik aktiviteyi kısıtladığı ayrıca CAFE'nin DNA üretimini inhibe ederek İnsan T hücre proliferasyonunu durdurduğu belirtilmektedir (Ünal ve diğerleri, 2020).

1.4.3. Antimikrobiyal Etki

Propolisin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili çeşitli çalışmalarda Gram pozitif bakterilere ve bazı funguslara karşı etkili olduğu, Gram negatif bakterilere karşı ise bu etkinin daha zayıf olduğu belirtilmiştir (Albayrak ve Albayrak, 2008). Genel olarak, propolisin antimikrobiyal aktivitesinin Gram pozitif bakterilere karşı Gram negatif bakterilere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, Gram negatif bakterilerin dış membran yapısına ve propolisin aktif bileşenlerini parçalayan hidrolitik enzimlerin üretimi ile açıklanmaktadır (Przybyłek ve Karpiński, 2019).

1.5. PROPOLİSİN ETKİ MEKANİZMASI

Propolis, metabolik aktivasyon veya modifikasyon gerektirmeyen doğrudan etki gösteren mutajenlere ve bunların oluşturduğu metabolitler ya da reaktif ara ürünler aracılığıyla DNA'ya zarar veren dolaylı etki gösteren mutajenlere karşı engelleyici bir özellik sergilemektedir (Yıldız ve Ünal, 2022).

Propolisin antimikrobiyal ve antiparaziter nitelikleri hem patojenler hem de konak üzerinde iki farklı etkiye sahiptir. Patojenler için, propolis, fiziksel bir bariyer oluşturarak ve konak hücrelerine girmek için gerekli olan enzim ve proteinleri engelleyerek patojenlerin konak hücrelerine sızma yeteneğini azaltır. Ayrıca, propolis, patojenlerin replikasyon sürecini de inhibe eder. Bunun yanı sıra, propolis, enerji üretiminden sorumlu hücresel yapıları ve bileşenleri etkileyerek patojenlerin metabolizma süreçlerine müdahale eder. Konak açısından bakıldığında, propolis, bir immünomodülatör olarak görev yapar. Doğal bağışıklığı artırır ve enflamatuar sinyal yollarını düzenler. Propolis,

aynı zamanda konakçının hücresel antioksidan seviyesini korumaya da yardımcı olur. Ayrıca, az sayıda insan üzerinde yapılan klinik araştırma, patojenik enfeksiyonlar için propolisin alternatif tedavi olarak etkinliğini ve güvenliğini ortaya koymuştur (Zulhendri ve diğerleri, 2021). Propolis, Gram-pozitif bakterilere karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bunun nedeni olarak, Gram-negatif bakterilerin dış zar yapısındaki farklılık ve bu bakteriler tarafından üretilen hidrolitik enzimlerin propolisin aktif bileşeninin parçalanmasına neden olması belirtilmektedir (Sforcin, 2016). Ek olarak, Gram-negatif bakterilerin propolis bileşiklerinin birikmesini önleyen efflux pompalarına sahip olduğu ve bu sayede nispeten daha yüksek tolerans göstermelerine katkıda bulunduğu ifade edilmektedir (Mejía ve diğerleri, 2025).

1.6. EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

Ham propolisin reçineli, viskoz, yapışkan, suda az çözünen, keskin tat ve aromalı yapısı biyo-etkinliğinin sınırlı olmasına sebep olmaktadır. Tüketilir bir hale getirilmesi için bu sebeple propolisin çeşitli ekstraksiyon yöntemlerine maruz bırakılması gerekmektedir. Bu sebeple eczacılık ve gıda gibi sektörlerde kullanılabilmesi için ekstraksiyon sürecinden geçirilmesi gerekmektedir (Aydın ve diğerleri, 2021). Propolis yapışkan maddelerin ve reçinenin varlığı nedeniyle doğrudan ham haliyle kullanılamadığından, içindeki biyoaktif bileşiklerin uygun bir ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Propolis ekstraktlarının hazırlanması için birbirinden farklı ekstraksiyon yöntemleri bulunmaktadır (Yazkan ve Ertop, 2024). Tüketilmeye uygun propolis ekstraksiyonlarında ana çözücü olarak sıklıkla etanol, su, glikoller, gliserol ve sıvı yağlar tercih edilmektedir (Yıldız, 2020).

1.6.1. Maserasyon Ekstraksiyon Yöntemi

Maserasyon işlemi, propolisin içeriğindeki faydalı bileşenleri (fenolikler, flavonoidler vb.) çıkarmak için kullanılan en basit ve geleneksel ekstraksiyon yöntemidir (Bankova ve diğerleri, 2021). Yöntem, propolisin uygun bir boyuta küçültüldükten sonra uygun bir çözücü içinde, genellikle oda sıcaklığında ve kapalı bir kaptaki belirli bir süre bekletilerek ve karıştırılmasıyla ekstrakte edilmesi esasına dayanmaktadır (Yazkan ve Ertop, 2024). Bu yöntemde öğütülmüş propolis, genellikle etanol veya etanol-su karışımı gibi bir çözücüyle belirli bir katı-sıvı oranında karıştırılır ve oda sıcaklığında birkaç gün

bekletilir. Bu süre boyunca çözücü, propolisin içindeki biyoaktif bileşenleri çözer. Ekstraksiyonun etkinliği; çözücünün türü, oranı, süresi, sıcaklık ve karıştırma gibi faktörlerden etkilenir. En verimli sonuçlar çoğunlukla %70–80 etanol ile elde edilirken, ekstraktın kalitesi toplam fenolik ve/veya flavonoid miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerle değerlendirilir. Basit, ucuz ve ısıya duyarlı bileşenler için uygun olan bu yöntem, düşük verim ve uzun süre gerektirmesi gibi bazı sınırlamalara da sahiptir. Ekstraksiyon süreci sırasında bu faktörlerin dikkatli şekilde kontrolü, istenen terapötik ve kimyasal profili elde etmek için kritiktir (Bankova ve diğerleri, 2021).

1.6.2. Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet ekstraksiyonu, katı bileşiklerden hedef bileşiklerin seçici ekstraksiyonu için ortam basıncında ve kaynama sıcaklığında çözücüler kullanan sürekli bir çözücü ekstraksiyon yöntemi olarak kabul edilir. Soxhlet ekstraktörünün kullanımıyla gerçekleştirilen propolis ekstraksiyonunun, maserasyon yöntemi ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir verim sağladığı ve daha kısa bir süre içinde ekstraksiyon sürecinin tamamlandığı belirlenmiştir. Bu yöntemde katı formda bulunan ham propolis etanol ile ekstrakte edilerek etkin bileşenleri ayrıştırılmaktadır. Ekstraksiyon işlemi, Soxhlet cihazı kullanılarak yaklaşık 85°C'de ortalama 2 saat süresince yapılmaktadır. Elde edilen çözelti, içeriğinin incelenmesi ve ışıktan zarar görmemesi amacıyla karanlık bir mekânda muhafaza edilir (Zin ve diğerleri, 2018; Rifqialdi ve diğerleri, 2023).

1.6.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon (UAE), geleneksel numune hazırlama yöntemlerine çevresel ve ekonomik bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Bu yöntemde çözücü kullanılarak üretilen ultrasonik dalgalar sayesinde numunenin yüzeyine yakın kabarcıklar oluşur ve çökerken enerji yayılır. UAE sürecindeki adımlar numune hazırlama, çözücü ekleme, ultrasonikasyon, elüsyon ve saflaştırma gibi adımları içerir. Bu yöntemin avantajları arasında solvent kullanımının azaltılması, enerji miktarının azalması ve ekstraksiyon türünde kısıtlama olmaması bulunmaktadır. Propolis özütlerinin yüksek biyolojik aktivite kazanması ve hızlı ekstraksiyon sağlaması göz önüne alındığında, UAE'nin biyoaktif bileşiklerin çıkarılması için uygun bir teknik olduğu görülmektedir. Çeşitli parametrelerin test edilmesiyle en uygun koşulların belirlendiği UAE, diğer

ekstraksiyon metodlarına kıyasla daha hızlı ve verimli sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (Fuente-Ballesteros ve diğerleri, 2023).

1.6.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), numuneyle temas halindeki çözücülerin mikrodalga enerjisiyle ısıtılarak hedeflenen bileşenlerin matriksten çözücüye aktarılması işlemidir (Eskilsson ve Björklund, 2000). Mikrodalgalar, birbirine dik elektrik ve manyetik alanlardan oluşan elektromanyetik dalgalardır ve iyonik iletim ile dipol rotasyonu olmak üzere iki temel mekanizma üzerinden ısıtmayı sağlar. Bu yöntem sayesinde ısı, sadece hedeflenen materyale yönlendirilir ve çevreye neredeyse hiç ısı kaybı olmadan ısıtma gerçekleştirilir. MAE, özellikle kısa sürede yüksek verimli ekstraksiyon yapabilmesi nedeniyle umut verici bir tekniktir. Örneğin, %80 etanol kullanarak yalnızca 1.5 dakikalık mikrodalga uygulamasıyla geleneksel maserasyona kıyasla daha yüksek flavonoid verimi elde etmişlerdir. Benzer şekilde, Malezya ve Endonezya kökenli *Trigona propolisi* üzerinde %65–70 etanol ile 20–30 dakika süren MAE işlemleri sonucunda, toplam fenolik ve flavonoid veriminin klasik yöntemlerden daha yüksek olduğunu göstermiştir. MAE'nin maserasyon ve ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) ile karşılaştırıldığı çalışmalarda ise, 1–2 dakikalık işlem süresi ile çok daha kısa zamanda etkili ekstraksiyon sağladığı görülmüştür. Ancak bazı araştırmacılar, mikrodalga ışınlamanın ısıya duyarlı bazı aktif bileşenlerin bozunmasına neden olabileceğini ve verimde düşüşe yol açabileceğini belirtmiştir (Bankova ve diğerleri, 2021).

1.6.5. Süperkritik Ekstraksiyon

Gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan süperkritik ekstraksiyonda karbondioksit (CO_2) kullanılmakta olup, bu sistemde karbondioksit, işlemin ardından ayrıştığı için elde edilen ürünlerde kalmamaktadır (Yıldız, 2020). Son zamanlarda süperkritik karbondioksit (scCO_2) ekstraksiyonunun doğal ürünlerde aktif bileşenlerin çıkarılmasında sıkça kullanılmaktadır. Karbondioksit, lipofilik maddelerin çıkarılmasında ideal bir çözücü olarak öne çıkmaktadır. Bunun nedeni olarak kolay temin edilebilmesi, patlayıcı ya da toksik etkisinin olmaması ve uzaklaştırılmasının kolay olması belirtilmektedir. Propolis ekstraksiyonu için scCO_2 'nin propolisin reçineli yapısı

ve lipofilik bileşenlerin varlığı nedeniyle cazip olduğu ifade edilmektedir. $scCO_2$ ekstraksiyonunda basınç ve zamanın çıkarım verimliliği ve ekstrakt bileşimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu vurgulanmaktadır. Optimum şartlarda, $scCO_2$ ile propolis ekstraksiyonundan maksimum %14.3 verim elde edilebilmektedir. $ScCO_2$ 'nin lipofilik bileşenler bakımından zengin ekstrakt türleri üretmek için kullanılabileceği ve ayrıca etanol kullanılan ekstraksiyonları kolaylaştırmak için ön işlem olarak da kullanılabileceği belirtilmektedir. Ayrıca $scCO_2$ ile elde edilen ekstraktların etanol ile elde edilenlerden farklı bir bileşime sahip olduğu ve antioksidan fraksiyonlar elde etmek için $scCO_2$ kullanımının tespit edildiği gözlenmiştir (El-Sakhawy, 2023).

1.6.6. Yüksek Basıncılı Ekstraksiyon Yöntemleri

Son dönemlerde, yüksek basınç altında yapılan ekstraksiyon yöntemleri, çevre kirliliğini azaltmayı ve maliyetleri düşürerek verimliliği artırmayı amaçlamaktadır. Yeni yöntemlerden bazıları propolis üzerinde uygulanmış ve özellikle yüksek hidrostatik basınçla ekstraksiyon (HHPE) Çinli bilim insanlarının ilgisini çekmiştir. Bu yöntem, geleneksel çözücüler ile yüksek basınç altında soğuk izostatik basınç uygulamaya dayanmaktadır. Yüksek basınç, moleküler yapıdaki değişikliklere yol açarak ekstraksiyonun verimliliğini artırmaktadır. Propolin uygulanan bu yöntem, hızlı bir şekilde etanol üretimine olanak sağlamış ve maserasyona kıyasla daha iyi sonuçlar elde etmiştir. Aynı zamanda basınçlı solvent ekstraksiyonu (PSE) olarak adlandırılan PSE yöntemi, sıcaklıkla ilgili sıvının kaynamasını önlerken ekstraksiyon hızını da artırmaktadır. Bu yöntem, Brezilya ve Türk propolisinde olumlu sonuçlar elde etmiş ve özel aletler kullanmayı gerektirmektedir (Bankova ve diğerleri, 2021).

Propolis kovandan ham halde toplanmakta ve kullanılması için saflaştırılmaya ihtiyaç duyan bir bileşiktir. Propolis ekstraksiyonu için kullanılan yöntemler Tablo 1'de maddeler halinde sıralanmıştır.

Tablo 1. Çözücü temelli ekstraksiyon metodları

Kullanılan Yöntem ve Çözücü	Kaynak
Etanolik ekstraksiyon	(Park vd., 1998)
Glikol ile ekstraksiyon	(Pujirahayu vd., 2014)
Su ile ekstraksiyon	(Nagai vd., 2003)
Zeytin Yağı ile ekstraksiyon	(Pujirahayu vd., 2014)
Kuru ekstraksiyon	(Drago vd., 2000)
Macun kıvamlı ekstraksiyon	(Divya vd., 2019)
Suda çözünebilir, kurutulmuş toz halindeki etanol ekstraksiyonu	(Song, 2006)

1.7. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALAR VE GENEL ÖZELLİKLERİ

İlk kez Lily ve Stillwell tarafından "Probiyotik" ifadesi 1965 yılında tanımlanmış olup, Latince kökenli olan "pro" (ön) ve "bios" (yaşam) kelimelerinden türetilmiştir, "yaşam için" anlamına gelir (Chauhan ve diğerleri, 2016). Bu mikroorganizmalar, konakçının gastrointestinal sisteminde bulunan çeşitli mikroorganizma gruplarını ve özellikle immün sistem sağlığına faydalı sindirim kanalı mikroorganizmalarını içerir. Probiyotikler, ağızdan en az 10^9 log kob/mL olarak alındığında (Hill ve diğerleri, 2014), konak sağlığını olumlu yönde etkileyebilen canlı mikroorganizmalardır (Ceyhan ve Alıç, 2012). Sağlığa olan yararları, özellikle aşağıdaki türlerin özel probiyotik suşları için kanıtlanmıştır: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* (Fijan, 2014).

Probiyotiklerin konakçının sağlığı üzerinde olumlu etkiler sağlayabilmesi için sindirim sisteminde hayatta kalmaları elzemdir. Gastrointestinal sistemde probiyotik bakteri seviyesinin korunması amacıyla düzenli olarak takviyelerin alınması gerekmektedir. Her probiyotik türü bağırsak hücrelerine veya mukus tabakasına tutunma yeteneğine sahip olmasada, bu yüzeylere sıkı bir şekilde yapışabilme kapasitesi, patojen bakterilerin enfeksiyon oluşturma riskini önemli ölçüde azaltmakta ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır (Ohashi ve Ushida, 2009). Bu mikroorganizmaların sindirim sistemi üzerindeki olumlu etkileriyle birlikte, genel bağışıklık sistemi üzerinde de destekleyici bir rol oynayabileceği belirtilmelidir. Probiyotik mikroorganizmalar, bağırsak epiteline yapışma, patojenlerin yerleşimini azaltma, bağışıklık sistemini harekete geçirme, hasar görmüş mukoza dokusunun iyileşmesini artırma ve bağırsaklardaki kolonizasyonları sayesinde sindirim sistemi

hastalıklarını önleme gibi özelliklere sahiptirler (Alp, 2018). İnsan mide- bağırsak sisteminden izole edilen laktik asit bakterileri, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından insanlar tarafından probiyotik olarak kullanılması için önerilmiştir. Ancak, giderek daha fazla çalışma, probiyotik olarak kabul edilen suşların hayvansal kökenli fermente ürünlerden ve süt ürünü olmayan fermente ürünlerden izole edilebileceğini öne sürmektedir. Geleneksel fermente ürünler, bazıları probiyotik özellikler gösterebilen zengin bir mikroorganizma kaynağıdır. Bu mikroorganizmalar, FAO/WHO tarafından belirlenen çeşitli probiyotik kriterlerine uygun özellikler gösterdikleri halde, yalnızca insan bağırsağından elde edilmemiş olmaları nedeniyle resmi probiyotik tanımına dahil edilmemektedir (Zielińska ve Kolożyn-Krajewska, 2018).

1.8. PROBİYOTİKLER VE KULLANIM ALANLARI

Probiyotikler, konakçılarına sağlık açısından sayısız fayda sağlayan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotiklerin vücut üzerinde çeşitli etkileri vardır; örneğin bağırsak mikrobiyotasını değiştirir, epitelyal bariyerin bütünlüğünü iyileştirir ve anti-inflamatuar etkilere sahiptirler (Gryaznova ve diğerleri, 2022). Sindirim sağlığını destekleyerek, probiyotikler normal mikrobiyotanın oluşumuna katkı sağlarlar. Bu özellikleri, özellikle çocuklarda görülen akut ishal ve antibiyotik kullanımına bağlı ishalin tedavisinde etkili bir potansiyele sahip oldukları anlamına gelir. Ayrıca, vücudu hastalıklara karşı koruyarak bağışıklık sistemini desteklerler.

Probiyotikler, gıda üretiminde kullanılarak, gıda güvenliğini destekleyici ve immün sistemi uyarıcı etkilere sahip mikroorganizmalar olarak bilinirler (Uymaz, 2010). Probiyotiklerin bağırsak mikrobiyota yapısı, çeşitliliği ve işlevleri üzerindeki etkileri, kültüre dayalı yöntemlerden gelişmiş metagenomik analizlere kadar farklı tekniklerle incelenmiştir. Literatürde bulunan veriler, probiyotik uygulamaların mikrobiyota yapısında önemli değişikliklere neden olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan bir araştırmada, *Lactiplantibacillus plantarum* suşunun sıçanların bağırsak mikrobiyotasında olumlu değişiklikler yarattığı bulunmuştur. Bu değişiklikler, yararlı bakterilerin sayısındaki artış ile kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde artış ve inflammatuar sitokin seviyelerindeki azalmanın ilişkili olduğu görülmektedir. (Khan ve diğerleri, 2022; Gryaznova ve diğerleri, 2022). Artepillin C, kafeik asit, CAFE, apigenin, krizin, galengin,

kaempferol, luteolin, genistein, naringin, pinocembrin, kumarik asit ve kuersetin gibi birçok biyolojik olarak aktif organik bileşen içeren propolis, geniş bir farmakolojik etki kapasitesine sahiptir. Bu bileşenler; antidiyabetik, antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser, nöroprotektif, immünomodülatör ve immünoinflamatuvar etkiler göstermektedir (Zullkiflee ve diğerleri, 2022).

1.9. LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

Laktik asit bakterileri (LAB), *Lactobacillaceae* ailesine ait, karbonhidrat fermantasyonu ile laktik asit üreten Gram pozitif ve katalaz negatif, sporsuz, bakterilerden meydana gelmektedirler (Salveti ve diğerleri, 2012). Bu kategori içinde, özellikle *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri en sık kullanılanlardır. Probiyotik ürünlerin hazırlanmasında sadece belirli bakteri cinsleri değil, aynı zamanda bazı maya ve küf türleri de kullanılabilir (Alp ve Ertürkmen, 2017).

1.9.1. Çeşitli Özellikleri ve Sağlığa Etkileri

Lactobacillaceae ailesi, gıda, yem, bitkiler, omurgalı ve omurgasız hayvanlar ve insanlarda besin açısından zengin ortamlarda yaşayan, genelde patojen olmayan Gram pozitif bakterilerden oluşan bir bakteri familyasıdır. Spor üretmeyen fakültatif veya sıkı anaerobik bakterilerdir; kokoid (küresel) veya çubuk şekilli hücreler olup, çiftler veya zincirler oluşturabilme kapasitesine sahiptirler (Walter ve O'Toole, 2023). Fermantasyonun gıda maddelerinin tadını, besin değerini ve fiziksel özelliklerini geliştirdiği kanıtlanmıştır. Ayrıca, asitlenme süreci ve antibakteriyel bileşiklerin oluşumu yoluyla gıda güvenliğinin artırılmasına ve raf ömrünün uzatılmasına katkıda bulunur. *Lactobacillaceae* ailesine ait türler endüstriyel fermantasyonlarda yaygın olarak tercih edilmekle beraber bu sınıf altında sınıflandırılan birçok türün gıda ürünlerinde uzun süredir güvenli ve yasal olarak kullanıldığı bilinmektedir (Pot ve diğerleri, 2019).

Peynir ve yoğurt gibi fermente süt ürünleri, yüksek değerli fonksiyonel gıdalar olarak kabul edilir ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle yaygın olarak tüketilir. Fermantasyon, başlangıçta sütteki besin maddelerini korumak amacıyla karbonhidratların organik asitlere, özellikle laktik aside dönüştürülmesine dayanıyordu. Ancak daha sonra diğer sağlık yararlarını da ortaya çıkarmak üzere gelişmiştir. Süt proteininden elde edilen biyoaktif peptitlerin, proteolizin bir sonucu olarak fermente süt ürünlerinin üretim

sürecinde salındığı varsayılmaktadır. Lactobacilli, probiyotik olarak tanımlanmış ve bağırsak mikrobiyal popülasyonunun dengelenmesindeki rolüne giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Widyastuti ve diğerleri, 2021).

LAB grubunda yer alan bakterilerden bazıları, *Lactobacillaceae* familyasına ait olup, probiyotik özellikleriyle dikkat çeker. Bu grup içerisinde yer alan türler, genellikle fakültatif anaerob, Gram pozitif, spor oluşturmeyen ve çubuk şeklinde bakterilerdir. 2020 yılında gerçekleştirilen taksonomik revizyonla birlikte, geleneksel olarak *Lactobacillus* cinsi altında toplanan birçok tür, genetik farklılıklarına dayanarak yeni cinslere ayrılmıştır. Günümüzde probiyotik olarak yaygın kullanılan bazı türler şunlardır: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactocaseibacillus casei*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis* ve *Limosilactobacillus reuteri*'dir. Bu mikroorganizmalar; laktoz intoleransının hafifletilmesi, akut ishalin önlenmesi, bağışıklık sisteminin desteklenmesi, bazı kanser türlerinin riskinin azaltılması ve serum kolesterol seviyelerinin düşürülmesi gibi çeşitli sağlık yararları sağlayabilmektedir (Alp ve Ertürkmen, 2017; Zheng ve diğerleri, 2020).

1.9.2. *Lactiplantibacillus plantarum* Genel Özellikleri

1919 yılında Orla-Jensen tarafından keşfedilen ve başlangıçta *Streptobacterium plantarum* olarak adlandırılan *Lactiplantibacillus plantarum*, çeşitli çevresel nişlerde karşılaşılan, mide geçişinde hayatta kalma becerisi kanıtlanmış ve insanlarla diğer memelilerin bağırsak sistemlerinde kolonileşebilen çok yönlü bir laktik asit bakterisidir. Farklı *Lpb. plantarum* türleri, hali hazırda probiyotik olarak pazarlanmakta olup çeşitli avantajları nedeniyle tercih edilmektedir (De Vries ve diğerleri, 2006; Kwak ve diğerleri, 2014). Söz konusu bu mikroorganizma, LAB grubu içinde en büyük genoma sahip olmasıyla öne çıkmaktadır (~3.3 Mb). Bu da çeşitli kaynaklardan izole edilebilmesine olanak tanımakla beraber, sindirim sistemi stresleri, gastrointestinal, vajinal ve ürogenital yollar gibi zorlu koşullara son derece toleranslıdır (Al-Tawaha ve Meng, 2018). *Lpb. plantarum*, süt, sebze ve et gibi farklı besinlerde fermentasyon yeteneği gösteren çok yönlü bir laktik asit bakteri türüdür (Eryılmaz, 2022). *Lpb. plantarum* insan tüketimi için güvenli ve antibiyotik direnci kazandırmadığı çalışmalarda belirtilmiş olup, insan gastrointestinal sisteminin zorlu koşullarında hayatta kalabilme yeteneği bulunmaktadır (Nordström ve diğerleri, 2021). Yapılan bir araştırmada propolis ekstraktları çeşitli

çözücülerle hazırlanmış, probiyotik *Lpb. plantarum* gelişimi üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Farklı çözücüler (su, etanol, zeytinyağı) ile elde edilen ekstraktların *Lpb. plantarum* üzerindeki etkileri mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bulgular, propolis su ve etanol ekstraktlarının olumlu bir etki gösterdiğini, ancak propolis zeytinyağı ekstraktının inhibe edici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışma, propolis ekstraktlarının probiyotik bakteri gelişimi üzerindeki etkilerini çözücü türüne bağlı olarak değişebileceğini ve propolisin antimikrobiyal etkinliğini etkileyebileceğini önemli ölçüde vurgulamaktadır (Eryılmaz, 2022).

1.9.3. *Weissella cibaria* Genel Özellikleri

Weissella cinsi, başlangıçta *Lactobacillus* grubu içinde sınıflandırılmış olsa da, moleküler taksonomi yöntemlerinin (özellikle 16S rRNA dizileme) gelişmesiyle ayrı bir cins olarak yeniden tanımlanmıştır. Gram-pozitif, katalaz-negatif ve genetik güvenlik açısından uygun kabul edilen bu bakteriler, geleneksel fermente gıdalarda doğal olarak bulunmakta ve probiyotik adaylar olarak öne çıkmaktadır (Lee ve diğerleri, 2002; Kwak ve diğerleri, 2014).

Özellikle *Weissella cibaria*, kimchi gibi fermente gıdalarda baskın bir türdür ve antimikrobiyal, antibiofilm (Jang ve diğerleri, 2023), anti-inflamatuar, (Park ve diğerleri, 2019), antioksidan (Yu ve diğerleri, 2019) ve antikanser (Du ve diğerleri, 2023) özellikler gösterdiği literatürde yer almaktadır. Örneğin, *W. cibaria* suşları, ağız mikroflorasında *Streptococcus mutans* üremesini engelleyerek dental plak ve çürük oluşumuna karşı etki gösterirken (Kang ve diğerleri, 2023) aynı suşların ağız sağlığına ve immün fonksiyonlara faydaları, 12 haftalık çift-kör bir çalışmayla desteklenmiştir. Bu çalışmada, günlük takviye ile tükürük IgA düzeylerinde anlamlı artış ve TNF- α 'da düşüş gözlenmiştir. Hücresel düzeyde yapılan çalışmalarda ise *W. cibaria* JW15 suşunun lipopolisakkarit kaynaklı iltihaplanmada, RAW 264.7 makrofaj hücrelerinde NF- κ B ve MAPK yollarını baskılayarak NO, PGE₂ ve IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi proinflamatuar sitokin üretimini azalttığı bildirilmiştir (Yu ve diğerleri, 2019). Ayrıca, *W. cibaria* suşlarından elde edilen ekzopolisakkaritler (EPS), antioksidan, antitümöral ve immünmodulator fonksiyonlar sergilemektedir. Örneğin, bebek dışkılarından izole edilen *W. cibaria* D-2 suşuna ait EPS, kolorektal kanser hücrelerinde apoptosisi uyatarak tümör büyümesini baskılamıştır (Du ve diğerleri, 2023). *Weissella* cinsinin güvenlik profili genellikle

olumludur; ancak bazı suşlarda uygun antibiyotik duyarlılığı ve hemolitik aktivite olmaması gibi güvenlik özelliklerinin doğrulanması gerekmektedir (Liu ve diğerleri, 2025).

1.10. PATOJEN MİKROORGANİZMALAR

Mikroorganizmalar, tek hücreli yapılardan çok hücreli mikroskopik varlıklara kadar doğada farklı formlarda bulunur. Bakteriler, arkeler, mantarlar, protozoalar, algler ve virüsler olarak kategorize edilirler. Bunlardan bazıları da insan hayatını olumsuz etkileyen patojenlerdir (Dhagat ve Jujavarapu, 2022).

Patojenler, konak organizmalara zarar vermek üzere etkileşime giren ve onları biyolojik olarak istila eden mikroorganizmalar olarak tanımlanabilir. Patojen mikroorganizmalar, farklı türde özgüllük veya doku tropizmi sergileyerek belirli konak hücre ya da dokulara yönelme eğilimindedir. Bazıları çok sayıda konağa saldırabilme yeteneğine sahipken, diğerleri sadece bir konağa yönelmiştir. Birçok patojenin insan bedenini uygun bir konak olarak tercih etmesinin başlıca nedenleri arasında, mevzubahis insan bedeninin bu patojenlere zengin, sıcak ve nemli bir ortam sunması yer alır. Bunlara ek olarak, insan vücudunun sabit olan ısı seviyesi, patojenlerin hayatta kalmasını ve çoğalmasını sağlayarak, bu ortamı onların tercih ettiği bir yer haline getirir (McCall ve diğerleri, 2016).

İnsanlar ve hayvanlar arasında önemli bir hastalık ve ölüm nedeni (Dewana, 2014) olan ve antibiyotiklere karşı geliştirdikleri dirençleri ve virülans faktörleri nedeniyle insan sağlığı için önemli bir tehdit oluşturan patojen bakteriler (Özdemir, 2019) ya da mikrobiyal toksinler sebebiyle oluşan gıda zehirlenmeleri, tüm dünyada insan sağlığı için bir tehdit oluşturmaktadır. Bakterilerin yol açtığı gıda zehirlenmelerinin yaklaşık %70'i, *E. coli*'nin ait olduğu *Enterobacteriaceae* familyasındaki mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır. Öte yandan, *stafilokok* kaynaklı gıda zehirlenmeleri, *S. aureus*'un ürettiği toksinlerin bulunduğu gıdaların tüketimi sonucu meydana gelen bir sindirim sistemi bozukluğudur (Kocatepe ve diğerleri, 2013). Bu çalışmada yaygın patojenik özellikleri bakımından önemli olan *E. coli* ve *S. aureus* suşları kullanılmıştır.

1.9.1. *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae, spor üretmeyen basil türlerini kapsayan geniş ve çeşitli bir Gram negatif bakteri ailesi olup aerobik ya da fakültatif anaerobik özellik gösteren organizmalardır. Aynı zamanda enterik terimiyle de bilinmektedirler (Pilla ve Tang, 2018). Bu aileye ait bir bakteri olan *Escherichia coli* (*E. coli*), hem insanların hem de sıcakkanlı hayvanların sindirim sistemlerinde en yaygın bulunan kommensal üyedir ve aynı zamanda en önemli patojenik etkiye sahip bakterilerden birisidir. Ortak bir yaşam alanı olarak konaklarıyla karşılıklı fayda sağlayan bir ilişki içinde yaşamakta ve genellikle hastalık oluşturma riski nadir görülmektedir. Bununla beraber, birçok hastalığa neden olabilen özellikleri nedeniyle en yaygın insan ve hayvan hastalık etkenlerinden biri olarak öne çıkmaktadır. *E. coli*'nin basit kullanım, tam genom diziliminin bulunması ve hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda gelişim sağlama yeteneği gibi ayırıcı özellikleri, onu biyoteknolojide önemli bir konak organizması haline getirir. *E. coli* hem endüstri hem de sağlık alanında geniş bir uygulama alanına sahip bir bakteridir (Allocati ve diğerleri, 2013).

E. coli en çok çalışılan mikroorganizmaların başında yer almaktadır. Söz konusu bakteri gastrointestinal sistemin yaygın bir komensal sakini olmakla beraber gösterdiği patojenik özellikler sebebiyle insanlardaki hastalığın önemli nedenlerindendir. Bu nedenle, *E. coli*, Gram negatif bakterilerin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonu ve idrar yolu enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir. Bu bakterinin bazıları kommensal ve enterik patojen suşlarda bulunmayan; özgün adhezinler, toksinler, demir kazanım sistemleri, kapsüller polisakkarit yapılar ve invazinler gibi virülans faktörleri, bu suşların konak savunmasını aşma ve sistemik enfeksiyon oluşturma özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir (Vila ve diğerleri, 2016).

1.9.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), Gram boyama işlemi sırasında kümeler halinde gözlenen Gram pozitif bir mikroorganizmadır. Katalaz pozitif bir yapıda olup, diğer *staphylococcal* türlerinden farklı olarak koagülaz pozitif özellik göstermektedir (Ondusko ve Nolt, 2018). Bu bakteriler tüm dünyada bakteriyemi, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve pnömoninin (zatürre) en yaygın nedenlerinden biridir (Maor ve

diğerleri, 2009). *S. aureus*'un suşları antimikrobiyal etkilere dirençlidir (Yılmaz ve Tosun, 2012).

Antibiyotiklere karşı artan bakteriyel dirençle yaygın olarak ilişkilendirilen stafilokok türü olan *S. aureus*, enfeksiyonlarda rol oynayan ve çoklu ilaç direnci ile karakterize edilen en önemli bakterilerden oluşan ESKAPE grubuna (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) dâhildir. *S. aureus* bir yandan nispeten yüksek virölansı diğer yandan çeşitli çevresel koşullara uyum sağlamasına olanak tanıyan büyük plastisitesi nedeniyle bu türler arasında özel bir konuma sahiptir. *S. aureus* suşları tedavide kullanılan hemen hemen tüm antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç mekanizmaları geliştirmiştir. Bunlardan en önemlisi Gram-pozitif enfeksiyonların tedavisinde en yaygın olarak kullanılan ilaçlara yani beta-laktamlar, glikopeptidler ve oksazolidinonlara karşı gelişen dirençtir (Mlynarczyk-Bonikowska ve diğerleri, 2022).

1.11. PROPOLİSİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNE DAİR ÖRNEK ÇALIŞMALAR

Arılar tarafından yerel ve mevsimsel bitki örtüsünden toplanan propolis, antimikrobiyal, antioksidan ve antienflamatuar özellikleriyle tanınan çeşitli kimyasal bileşimlere sahiptir. Bu özelliği, antimikrobiyal dirençle mücadelede umut verici bir araç olarak ifade edilmektedir (Lazo ve diğerleri, 2025).

Alternatif biyolojik ajanlara yönelik araştırmalar giderek artmaktadır ve bunun bir sebepleri arasında *Helicobacter pylori*'nin sebep olduğu gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde artan antibiyotik direnci bulunmaktadır. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada, *Lactocaseibacillus rhamnosus* BLRH 260 ve *Limosilactobacillus reuteri* gibi probiyotik suşlar ile çeşitli propolis ekstraktlarının *H. pylori* üzerindeki antibakteriyel etkileri hem *in vitro* hem de *in vivo* düzeyde kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. Araştırma bulguları, belirtilen probiyotiklerin süpernatantlarının ve propolis ekstraktlarının *H. pylori*'nin gelişimini anlamlı bir şekilde engellediğini ortaya koymuştur. Ek olarak, bu biyolojik ajanların ağız yoluyla uygulanmasının enfekte hayvanlarda vücut ağırlığı artışını desteklediği, mide dokusunda gözlemlenen erozyon, hemorajik inflamasyon ve hücre ölümü gibi histopatolojik bozulmaların hafifletilmesinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Antibiyotik tedavisi uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında, probiyotik ve

propolis uygulanan gruplarda anlamlı yapısal ve fonksiyonel iyileşmeler gözlemlenmiştir. Bu bulgular, propolis ve probiyotiklerin *H. pylori* kaynaklı gastropatilerin (mide zarının inflamasyonu) önlenmesi veya tedavisinde potansiyel alternatifler olarak değerlendirilebileceğini göstermekte olup, ileri çalışmalarda etki mekanizmalarının aydınlatılması ve optimal dozaj ile uygulama sürelerinin belirlenmesi önerilmektedir (Kiani ve diğerleri, 2024).

Propolis, dünya genelinde geleneksel tedavilerde doğal bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Bakteri, virüs, mantar ve parazitlere karşı etkileri kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Ancak, diş tedavileri ile ilgili yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Birçok diş rahatsızlığının ağızdaki mikroorganizmalarla ilişkili olduğu göz önünde bulundurulduğunda aşağıda örneği yer verilen bu sınırlı sayıdaki çalışmalardan birinde Kore propolisinin ağızdaki zararlı mikroorganizmalara karşı etkisini incelemeyi amaçlamaktadır.

Propolis örnekleri, altı farklı bölgeden (P1: Uijeongbu, P2: Ansan, P3: Hongcheon, P4: Iksan, P5: Gwangju, P6: Sangju) toplanmış ve iki farklı konsantrasyona (10 ve 50 mg/ml) sahip etanolde çözündürülmüştür. Ağızda bulunan üç adet bakteri (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*) ile bir tür küf (*Candida albicans*) besin açısından zengin bir sıvı ortamda (besiyerinde) bir gün süreyle kültüre edilmiştir. Seyreltme işleminden sonra bakteriler, her bir propolis örneğinin eklenmesi veya eklenmemesi suretiyle, altı milimetre filtre kağıdının üzerine yayılmış agar tabakalarına bırakılmıştır. Belirli bir bekleme süresinin ardından inhibisyon bölgeleri tespit edilmiştir. Tüm testler üç kez tekrarlanmıştır. Deneyler, ağızdaki zararlı bakterilere karşı arı ürünlerinin güçlü bir antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle, belirli miktarda bir grup, dört farklı bakteriye karşı dikkate değer bir antimikrobiyal etki sergilemiştir. Çeşitli örnekler arasında P6, diğerlerine kıyasla üç farklı mikro organizmaya karşı belirgin şekilde daha yüksek bir mikrop öldürme etkinliği göstermiştir. Özellikle, yüksek yoğunluklu P6 örneği, önemli bir antifungal etki sergilemiştir. Sonuç olarak, Kore'den elde edilen propolisin ağızdaki zararlı mikroorganizmaları ve küfleri etkisiz hale getirdiği kanıtlanmıştır. Bu nedenle, Kore propolisini içeren ağız ilaçları ve temizlik ürünlerinin geliştirilmesi düşünülmektedir (Roh ve Kim, 2018).

Diş çürüğü, özellikle Asya ve Latin Amerika ülkelerinde en yaygın ağız hastalıklarından biridir ve etiyolojisinde çeşitli mikroorganizmalar rol oynamaktadır. Konvansiyonel tedavi yöntemlerinde yaygın olarak kullanılan sentetik antimikrobiyallerin, istenmeyen yan etkiler (kusma, ishal, diş lekelenmesi vb.) oluşturmaları, doğal kaynaklı alternatiflerin araştırılmasını gerekli kılmıştır. Bu doğrultuda, bal arıları tarafından üretilen propolis, antimikrobiyal özellikleri sayesinde ağız mikrobiyotasının düzenlenmesinde umut verici bir ajan olarak öne çıkmaktadır (Franca ve diğerleri, 2014).

Yapılan bir çalışmada, %5, %10 ve %15 oranlarında propolis içeren kitosan bazlı vernik formülasyonları geliştirilmiş ve bu verniklerin in vitro antimikrobiyal etkileri, biyofilm oluşumunun önlenmesine katkıları ve propolisin kontrollü salınım potansiyelleri değerlendirilmiştir. Formülasyonların, klorheksidin verniğine benzer ya da üstün düzeyde antibakteriyel etki gösterdiği, mikroorganizmalar karşısında düşük MİK ve MBC değerlerine sahip olduğu ve aktif bileşenlerin bir haftadan fazla süreyle salındığı rapor edilmiştir. Benzer şekilde, *H. pylori* kaynaklı gastropatilerde de probiyotikler ve propolis ekstrelerinin etkilerini inceleyen bir başka çalışmada, bu doğal ajanların hem in vitro antibakteriyel etkinlik gösterdiği hem de enfekte hayvanlarda histopatolojik iyileşmeleri desteklediği bildirilmiştir. Bu iki çalışma birlikte değerlendirildiğinde, propolisin hem gastrointestinal hem de oral patojen mikroorganizmalar üzerinde geniş spektrumlu etkiler sergileyebileceği ve çeşitli uygulama formlarıyla alternatif tedavi stratejilerinde değerlendirilebileceği anlaşılmaktadır (Franca ve diğerleri, 2014).

Türkiye'nin Hakkâri ilinden elde edilen propolisin antimikrobiyal etkisini ve kimyasal içeriğini Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ile araştırmak amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, Propolisin *in vitro* inhibitör aktivitesi, altı Gram pozitif, üç Gram negatif bakteri ve bir maya benzeri mantar üzerinde disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Kimyasal analizler sonucunda, propolis örneğinin toplam flavonoid oranının diğer bileşik gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Pinostrobin, kalkon, pinocembrin ve krizin, başlıca flavonoidler olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, test edilen tüm mikroorganizmaların, *Klebsiella pneumoniae* dışındaki mikroorganizmaların propolis özütüne duyarlı olduğu görülmüştür. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri, mikrobroth seyreltme testi ile belirlenmiştir. Mikroorganizmalara karşı MİK değerleri 25 ila 200 µg/mL arasında değişiklik

göstermektedir. Antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları, incelenen propolis örneğinin inhibitör etkisinin ampisiline kıyasla biraz daha zayıf olduğunu, ancak daha geniş bir spektruma sahip olduğunu ortaya koymuştur (Bayram ve diğerleri, 2017).

Propolis özütünün tavuk karkasındaki yağ asidi bileşimine etkilerini incelemeyi hedefleyen bir çalışmada propolis özütünün, probiyotiklerle birlikte kullanıldığında tavuk karkasının yağ asitleri üzerinde olumlu etkileri olduğu bulunmuştur. Propolis ve probiyotik desteği, göğüs kasındaki tekli doymamış yağ asidi oranını artırmış, çoklu doymamış yağ asidi artışı ise propolis özütü ve probiyotiklerin ayrı ayrı kullanımına bağlanmıştır. Göğüs ve uyluk kaslarında linoleik asidin en yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Genel olarak, propolis ve probiyotik takviyelerinin tavuk karkasındaki yağ asidi profili üzerinde olumlu etkisi olduğu ve bu nedenle tavukların beslenmesine eklenebileceği sonucuna varılmıştır (Trembecka ve diğerleri, 2016).

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. MATERYAL

Yapılan tez çalışmasında *Lactiplantibacillus plantarum* (MK161062) ve *Weisella cibaria* (MK161060) suşu kullanılmıştır. Suşlar, Alp (2018) tarafından izole edilmiş 16S rRNA dizi analizi ile tür düzeyinde tanımlanmış ve sahip oldukları çeşitli probiyotik özellikler belirlenmiştir. Antibakteriyal etkinin belirlenmesinde patojen mikroorganizmalar olarak *Escherichia coli* (ATCC25922) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) kullanılmıştır. *Lactiplantibacillus plantarum* (MK161062), ve *Weisella cibaria* (MK161060) anaerobik koşullar altında MRS sıvı (De Man Rogosa Sharpe, Merck, Almanya) besiyerinde kültüre edilmiştir, patojen mikroorganizmalar ise Tryptic Soy (TS) sıvı besiyerinde kültüre edilmiş ve gliserol ilavesiyle -80°C'de saklanmıştır.

Propolis örnekleri Ardahan ilindeki yerel bir arıcılık işletmesinden temin edilmiştir. Deneylerde etanol, DMSO (dimetil sülfoksit), saf su, hassas terazi, santrifüj cihazı, evaporatör, Whatman no 1 filtre kâğıdı, titanyum problu ultrasonikasyon cihazı (Sonoplus Mini20, BANDELIN Almanya) ve standart mikrobiyolojik laboratuvar ekipmanları kullanılmıştır.

2.2. METOT

2.2.1. Propolis Ekstraktının Hazırlanması

Ham propolis örneği, -20°C'de 24 saat bekletildikten sonra yüzey alanını arttırmak amacıyla havanda ezilerek küçük parçalara ayrılmıştır. Ardından %80 etanol:su çözeltilisine 1:2 ve 1:3 oranında propolis içerecek şekilde örnek eklenmiştir. Elde edilen çözeltiler ultra-turraks ile homojen hale getirilmiştir. Ecem-Bayram ve diğerleri, (2020) ve Oroian ve diğerleri, (2020)'nin yöntemlerinde bazı değişiklikler yapılarak üç farklı örnek 1:3 oranında propolis: çözgen, 30 dk (P10), 1:2 oranında propolis: çözgen, 30 dk (P30) ve 1:2 oranında propolis: çözgen, 60 dk (P60) elde edilmiştir. Sonikasyon, paslanmaz çelik bir haznede, Şekil 4'te görseli verilen titanyum prob kullanılarak,

25°C'de 30 ve 60 dakika boyunca %40 genlikte ekstrakt maruz bırakılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil5 a ve b). Ardından 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenip süpernatant Whatman no 1 filtre kâğıdından süzölmüştür. Elde edilen süpernatant evaporatörde etanolden arındırılmış ve böylece propolis özütü elde edilmiştir (Şekil6 a ve b) (Sahlan ve diğçerleri, 2018) analize kadar + 4°C'de saklanmıştır.



Şekil 4. Sonikasyon işlemi için kullanılan Problu Ultrasonik Homojenizatör (Sonoplus Mini20) cihazı



Şekil 5. a) Propolis çözeltisinin sonikasyonu b) Sonikasyon işleminden sonra elde edilen propolis çözeltisi



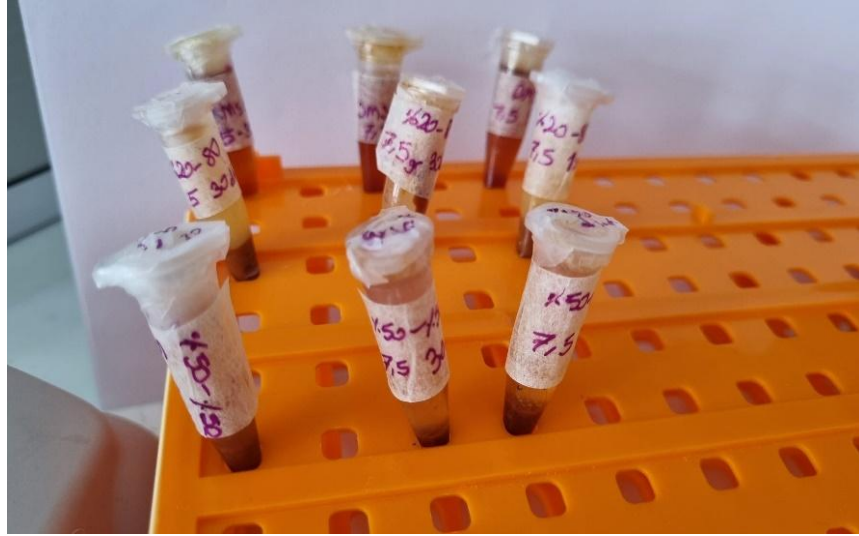
Şekil 6. a) Evaporatör cihazında propolis çözeltisinden etanollerin uzaklaştırılması işlemi. b) Uzaklaştırılan etanol sonrası elde edilen propolis özütü örneği

2.2.2. Propolis Özütünün Çözeltilere Eklenmesi

Elde edilen alkolsüz üç propolis özütü başlangıçtaki propolis: çözücü oranları değişmeyecek şekilde tartılarak aşağıdaki çözücü sistemlerinde çözdürülmüştür (Laleni ve diğerleri, 2021).

- %100 DMSO çözeltisi,
- %50:50 etanol:su çözeltisi,
- %20:80 etanol:su çözeltisi.

Çözeltide çözünmeyen ekstraktlar, çözünürlüğü artırmak amacıyla ultrasonik su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir (Oroian ve diğerleri, 2020). Toplamda dokuz adet çözelti elde edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Propolis özütü eklenerek hazırlanan örnekler

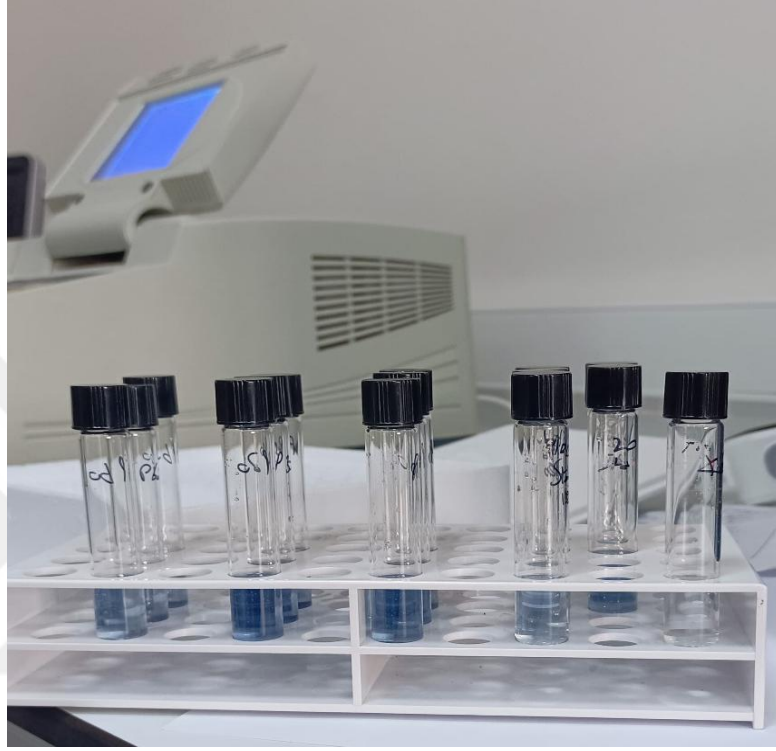
2.2.3. Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Üç farklı çözgen içerisinde çözdürülen propolis özütlerinin antimikrobiyal özellikleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Stok kültürden öze ile alınan koloniler patojen mikroorganizmalar TS sıvı besiyerine, laktik asit bakterileri ise MRS besiyerine aşılanmıştır. 37°C’de 24 saat inkubasyon sonucunda, geliştirilen kültürlerin konsantrasyonu McFarland standartları kullanılarak dansitometre yardımıyla yaklaşık 10^8 , 10^7 , 10^6 ve 10^5 log kob/mL olarak hazırlanmış her bir kültürden 0.1 mL alınarak eküvyon çubuk yardımı ile petrideki steril TS ve MRS katı besiyerine ekim yapılmıştır. Daha sonra, 6 mm çapındaki steril filtre kağıtları propolis çözeltileri ile doyurulmuş (yaklaşık 100 µl) ardından bir pens aracılığı ile merkezleri arasında en az 24 mm olacak şekilde katı besiyeri yüzeyine yerleştirilmiştir. Petri kapları 2 saat boyunca statik olarak difüze edildikten sonra 24 saat boyunca 37°C’de inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda steril filtre kağıtlarının etrafında oluşan inhibisyon zon çapları kumpas yardımı (Bioanalyse) ile mm cinsinden ölçülmüştür. Kontrol için %100 DMSO ve etanol kullanılmıştır.

2.2.4. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Tez çalışmasında elde edilen üç farklı propolis özütünün (P10, P30 ve P60) toplam fenolik madde miktarları Ardahan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı

Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından Folin-Ciocalteu (FCR, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 + \text{Na}_2\text{WO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$) reaktifi ile Slinkard ve Singleton (1977)'un belirttiği metoda göre PG Intruments T80⁺ model spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda absorbans ölçümü ile belirlenmiştir. Kullanılan reaksiyon tüpleri Şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. Toplam fenolik bileşik analizinde kullanılan spektrofotometre ve absorbans ölçümü için hazırlanan reaksiyon tüpleri

2.2.5. Yağ Asiti Metil Esterlerin Belirlenmesi

Tez çalışmasında elde edilen P10, P30 ve P60 özütlerinin, yağ asidi metil esterler (YAME) analizi Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı tarafından Gaz Kromatografisi-kütle spektrometre (Shimadzu, QP 2010 Ultra) cihazı ile Masood ve diğerleri (2005) tarafından özetlenen protokole uygun olarak yapılmıştır. Her numune için 1.7ml metanol ve 100µl asetil klorür ile stok solüsyonu hazırlanmış, ardından üzerine 300µl numune eklenmiştir. 100°C'de 60 dakika süreyle ısıtılmıştır. Bu işlemin sonrasında oda sıcaklığında soğutulmuştur. Üzerine 0.75 ml hekzan ilave edilmiş ve 30 saniye boyunca karıştırılmıştır. Üst faz toplanmış ardından filtre edilerek analiz gerçekleştirilmiştir.

2.2.6. Propolisin Patojen Mikroorganizmalar ve Laktik Asit Bakterilerinin Canlılığına Etkisinin Belirlenmesi

Propolisin çalışmada kullanılan patojen mikroorganizmalar ve potansiyel probiyotik laktik asit bakterilerin canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla disk difüzyon yönteminde en iyi zon çaplarına ve en yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip olan P10 örneği seçilmiştir.

E. coli (ATCC25922) ve *S. aureus* (ATCC29213) gelişimi üzerindeki inhibitör etkinin belirlenmesi amacıyla öncelikle P10 örneği iki farklı oranda (%3, %5), patojen mikroorganizmalar ise yaklaşık 10^5 log kob/mL yoğunlukta ayarlanarak %1 oranında TS sıvı besiyerine eklenmiştir. Bu işlemlerin ardından örnekler 37°C'de salınlı inkübasyona tabi tutulmuştur. Canlı hücre sayısı başlangıçta, 24. ve 48. saatte koloni sayımı ile belirlenmiştir.

Laktik asit bakterileri üzerindeki inhibitör etkinin belirlenmesinde yine P10 örneğinin iki farklı orandaki (%3, %5) etkinliği belirlenmiştir. Bu amaçla hazırlanan örnekler, yaklaşık 10^5 log kob/mL yoğunlukta *Lpb. plantarum* ve *W. cibaria* (%1) içeren MRS sıvı besiyerine eklenmiş ve ardından 37°C'de salınlı inkübasyona tabi tutulmuştur. İki mikroorganizma hücresinin büyümesi başlangıçta, 24. saatte, 48. saatte koloni sayımı ile belirlenmiştir (Sforcin ve diğerleri., 2000; Erkmen ve Özcan 2008).

2.2.7. İstatiksel Analiz

Tüm deneyler üç kez tekrarlanmıştır ve veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Minitab 22 istatistik yazılımı (Minitab, Inc, State College, PA, ABD) kullanılmıştır. Farklar, $p < 0,05$ anlamlılık düzeyine sahip tek yönlü ANOVA kullanılarak belirlenmiştir.

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. BULGULAR

3.1.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Çalışmada üç farklı propolis özütü elde edilmiştir. Bu özütler %100 DMSO, %50:50 etanol:su ve %20:80 etanol:su çözeltilerinde tekrar çözdürülerek elde edilen çözeltilerin yoğunlukları yaklaşık 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 log kob/mL olarak ayarlanmış *E. coli* ve *S. aureus* suşları üzerindeki *in vitro* antimikrobiyal özellikleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Her iki suş içinde 10^8 ve 10^7 log kob/mL yoğunluklarda zon oluşumu gözlemlenmemiştir (Tablo 2, 3). *E. coli* için elde edilen sonuçlar incelendiğinde yaklaşık 10^6 log kob/mL yoğunlukta zon oluşumunun başladığı, dikkate değer antimikrobiyal etkinin ise yaklaşık 10^5 log kob/mL yoğunlukta başladığı görülmektedir.

Tablo 2. Propolis çözeltilerinin *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etki sonuçları (mm)

Mikroorganizma yoğunluğu (log kob/mL)	10^8	10^7	10^6	10^5
Propolis çözeltisi				
P10 (%100 DMSO)	-	-	-	10 ± 0.01
P10 (%50:50 etanol:su)	-	-	7 ± 0.02	8 ± 0.02
P10 (%20:80 etanol:su)	-	-	-	8 ± 0.03
P30 (%100 DMSO)	-	-	-	9 ± 0.02
P30 (%50:50 etanol:su)	-	-	7 ± 0.03	8 ± 0.01
P30 (%20:80 etanol:su)	-	-	-	7 ± 0.02
P60 (%100 DMSO)	-	-	-	10 ± 0.04
P60 (%50:50 etanol:su)	-	-	8 ± 0.01	10 ± 0.03
P60 (%20:80 etanol:su)	-	-	-	10 ± 0.02

P10: 1:3 propolis: çözgen oranına sahip, 30 dk ultrasonikasyon uygulanan grup, P30: 1:2 propolis: çözgen oranına sahip, 30 dk ultrasonikasyon uygulanan grup, P60: 1:2 propolis: çözgen oranına sahip, 60 dk ultrasonikasyon uygulanan grup

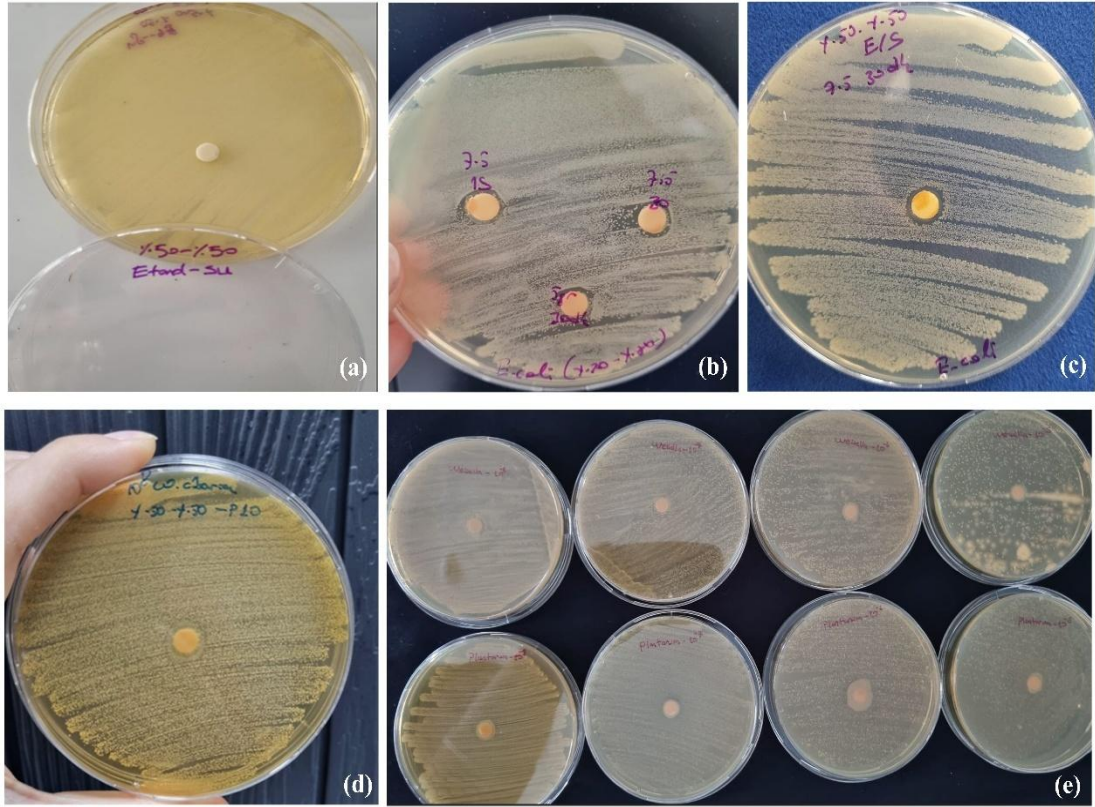
Antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinen propolis hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı oldukça etkilidir. Ancak Gram pozitif bakterilere kıyasla daha etkili olduğu belirtilmektedir (Sforcina ve Bankova 2011; Doğan ve Hayaloğlu 2012). Çalışmamızda da propolis çözeltileri *S. aureus*'a karşı *E. coli*'ye kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Bu sonuçlar yapılan diğer çalışmalar ile paralellik göstermekte olup, Keskin ve diğerleri, (2001) çalışmalarında Balıkesir ve İstanbul illerinden temin ettikleri propolislerin özellikle Gram negatif bakterilere (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) karşı düşük bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Tablo 3'te disk difüzyon yöntemi ile elde edilen antimikrobiyal zon çapları (mm) verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde *E. coli*'de elde edilen sonuçlara benzer şekilde zon oluşumunun yaklaşık 10^6 log kob/mL yoğunluktan itibaren başladığı görülmektedir. %50:50 etanol:su ve %100 DMSO'nun çözücü olarak kullanıldığı özütlerin inhibisyon değerleri dikkat çekmektedir.

Tablo 3. Propolis çözeltilerinin *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal etki sonuçları (mm)

Mikroorganizma yoğunluğu (log kob/mL)	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵
Propolis çözeltisi				
P10 (%100 DMSO)	-	-	7 ± 0.02	7 ± 0.03
P10 (%50:50 etanol:su)	-	-	7 ± 0.01	8 ± 0.02
P10 (%20:80 etanol:su)	-	-	7 ± 0.02	8 ± 0.01
P30 (%100 DMSO)	-	-	9 ± 0.03	9 ± 0.02
P30 (%50:50 etanol:su)	-	-	9 ± 0.02	10 ± 0.03
P30 (%20:80 etanol:su)	-	-	7 ± 0.04	8 ± 0.02
P60 (%100 DMSO)	-	-	8 ± 0.02	8 ± 0.01
P60 (%50:50 etanol:su)	-	-	10 ± 0.01	11 ± 0.02
P60 (%20:80 etanol:su)	-	-	8 ± 0.03	12 ± 0.03

P10: 1:3 propolis: çözen oranına sahip, 30 dk ultrasonikasyon uygulanan grup, P30: 1:2 propolis: çözen oranına sahip, 30 dk ultrasonikasyon uygulanan grup, P60: 1:2 propolis: çözen oranına sahip, 60 dk ultrasonikasyon uygulanan grup

Literatürde propolisin, probiyotik bakteriler üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmakta olup, bu tez çalışmasında disk difüzyon yöntemi ile laktik asit bakterilerine karşı yapılan antimikrobiyal etki sonuçlarında hiç zon gözlemlenmemiştir (Şekil 9). Suşlar başlangıç yoğunluğu fark etmeksizin gelişim göstermişlerdir.



Şekil 9. Disk difüzyon yöntemi ile propolisin suşların üzerindeki antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi (a) Kontrol grubu, (b) P60-%50:50 etanol:su örneğinin *E. coli* üzerindeki sonuçları, (c) P30-%50:50 etanol:su örneğinin *E. coli* üzerindeki sonuçları, (d) P10-%50:50 etanol:su örneğinin sonuçları *W. cibaria* üzerindeki sonuçları, (e) P10-%50:50 etanol:su örneğinin *Lpb. plantarum* ve *W. cibaria* üzerindeki sonuçları

3.1.2. Toplam Fenolik Madde Sonuçları

Fenolik bileşikler, doğal bileşikler sınıfına ait olup, güçlü antioksidan özelliklere sahip olan ve birçok bitkide bulunan organik bileşiklerdir. Propolisin fonksiyonel özelliklerinden sorumlu olan etken maddelerden biri de fenolik bileşiklerdir. Propolislerin fenolik bileşen içeriklerindeki farklılıklar ağırlıklı olarak elde edildiği bölgeye ve o bölgenin coğrafi konumuna, arı türüne ve toplandığı iklim koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Bakkaloğlu ve Arıcı, 2019). Ancak, çalışmamızda da kullanılan Kafkas arı ırkına ait propolis ile yapılan bir çalışmada, propolis örneklerinin fenolik içeriği çeşitliliğinin arı ırkları arasındaki farklılıklardan ziyade, ekstraksiyonda kullanılan çözücü ve sıcaklıktan etkilendiği ifade edilmiştir (Bozkuş, 2024). Bu tez çalışmasında Kafkas arı ırkının doğal izole bölgesi olan Ardahan ilinden elde edilmiş P10,

P30 ve P60 kodlu propolis özütlerinin toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Burada amaç yapılan farklı süre ve farklı oranlarda propolis içeriğinin fenolik madde içeriği bakımından nasıl etkilendiğini belirlemektir. Tablo 4'te bu üç propolis özütünün toplam fenolik madde içerikleri verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde en az etkilenen ve dolayısı ile en iyi toplam fenolik madde içeriğine sahip olan P10 kodlu propolis özütünün olduğu görülmektedir. Onu sırasıyla P30 ve P60 izlemiştir. Bu sonuçlar 1:3 oranının, 1:2 oranına kıyasla daha iyi çözünürlük gösterdiğini ve 30 dakikalık sürenin 60 dakikaya kıyasla fenolik madde içeriğine daha az zarar verdiğini göstermiştir.

Tablo 4. Propolis özütlerinin toplam fenolik madde içerikleri

Propolis özütü	Toplam fenolik madde içeriği (mgGAE/g)
P10	83.384 ± 5.299 ^a
P30	68.343 ± 2.535 ^b
P60	42.794 ± 1.998 ^c

Üç tekrarın ortalama değerleri ve standart sapmaları sunulmuştur. a-c*Aynı sütundaki farklı harfler anlamlı farkı göstermektedir (p<0.05).

3.1.3. Propolisin Patojen Mikroorganizmaların ve Laktik Asit Bakterilerinin Canlılığına Etki Sonuçları

Elde edilen propolis özütleri içerisinde disk difüzyon yöntemi ile zon eldesinde en başarılı olan ve toplam fenolik madde sonuçları açısından en yük değerlere sahip olduğu belirlenen P10 özütü mikroorganizmaların büyüme kinetiğinin belirlenmesinde kullanılmak üzere tercih edilmiştir. Bu amaçla besiyeri ortamına %3 ve %5 oranlarında katkılanmış ve *in vitro* ortamdaki antibakteriyel etkinliği 24 ve 48 saat sonundaki canlılık sonuçları ile büyüme kinetiği belirlenmiştir. Tablo 5'te patojen mikroorganizmaların logaritmik ve hayatta kalma yüzdesi sonuçları verilmiştir.

Tablo 5. Patojen mikroorganizmaların logaritmik (log kob/mL) ve hayatta kalma (%) sonuçları

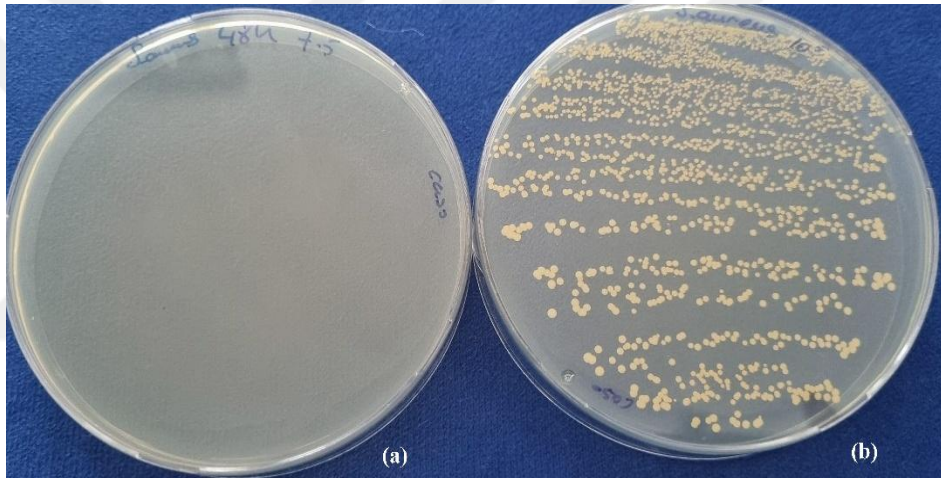
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)					
	Başlangıç	24 saat	48 saat	% Canlılık 0-24 saat	% Canlılık 0-48 saat
Propolis % 3	6.17±0.1 ^{aA}	4.17±0.3 ^{aB}	2.69±0.4 ^{aC}	67.58 ^{aA}	43.59 ^{aB}
Propolis % 5	6.17±0.1 ^{aA}	3.39±0.2 ^{bB}	1.29±0.3 ^{bC}	54.94 ^{bA}	20.90 ^{bB}
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)					
	Başlangıç	24 saat	48 saat	% Canlılık 0-24 saat	% Canlılık 0-48 saat
Propolis % 3	6.17±0.1 ^{aA}	2.69±0.5 ^{aB}	1.19±0.2 ^C	43.59 ^{aA}	19.28 ^B
Propolis % 5	6.17±0.1 ^{aA}	1.29±0.1 ^{bB}	< 1	20.90 ^b	-

Üç tekrarın ortalama değerleri ve standart sapmaları sunulmuştur. < 1 değerleri istatistiğe dahil edilmemiştir. a-c*Aynı sütundaki farklı harfler, A-C* aynı satırdaki farklı harfler anlamlı farkı göstermektedir (p<0.05).

%3 propolis katkılı besin ortamında *S. aureus*'un başlangıçta 6.17 log kob/mL olan canlılık sayısı 24 saat sonunda 2.69 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Bu değer 48 saatin sonunda ise 1.19 log kob/mL'dir. Suşun %3 propolis katkılı besin ortamında 24 saat sonunda hayatta kalma yüzdesi 43.59 iken bu rakam 48 saat sonunda 19.28'e düşmüştür. Gram negatif bakteri olan *E. coli* ise %3 propolis katkılı besin ortamında *S. aureus*'a karşı daha dirençli bulunmuştur. Başlangıçta 6.17 log kob/mL olan canlı hücre sayısı 24 saat sonunda 4.17 log kob/mL, 48 saat sonunda ise 2.69 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Bu iki süre sonundaki hayatta kalma yüzdeleri ise sırasıyla %67.58 ve %43.59 olarak tespit edilmiştir.

% 5 propolis katkılı besin ortamında ise her iki mikroorganizma içinde %3'e kıyasla daha etkili olmuştur. *S. aureus*'un başlangıçta 6.17 log kob/mL olan canlılık sayısı 24 saat sonunda log kob/mL olarak belirlenmiştir. 48 saatin sonunda ise canlı hücre sayılamamıştır. Suşun %3 propolis katkılı besin ortamında 24 saat sonunda hayatta kalma yüzdesi 20.90'dur. *E. coli* ise %5 propolis katkılı besiyerinde *S. aureus*'a karşı daha dirençli bulunmuştur. Başlangıçta 6.17 log kob/mL olan canlı hücre sayısı 24 saat sonunda 3.39 log kob/mL, 48 saat sonunda ise 1.29 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Bu iki süre sonundaki hayatta kalma yüzdeleri ise sırasıyla %54.94 ve %20.90 olarak tespit

edilmiştir. Besiyerine eklenen propolis çözeltisi yüzdesindeki artış ile elde edilen antimikrobiyal etkide de artış gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar esas olarak propolisin sahip olduğu antibakteriyel etkiden kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar bakterilerin Gram özellikler açısından değerlendirildiğinde propolisin Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görülmektedir. Bu antimikrobiyal etkinliğin hem konsantrasyon hem de uygulama süresine bağlı olarak arttığı ortaya koyulmuştur. Şekil 10'da *S. aureus* suşunun %5 propolis katkılı besin ortamında 48 saat sonundaki canlılığı (a), control grubu sonucu (b) verilmiştir. Kontrol grubunun canlılığını kaybetmediği *S. aureus* suşunun ise 48 saat sonunda canlılığını tamamen kaybettiği görülmektedir.



Şekil 10. *S. aureus* suşunun %5 propolis katkılı besin ortamında 48 saat sonundaki canlılığı (a), control grubu sonucu (b)

Lpb. plantarum ve *W. cibaria* suşlarının P10 propolis özütünün %50:50 etanol:su çözgeninde çözdürülmesi ile elde edilen özüte karşı gösterdiği canlılık ve hayatta kalma sonuçları Tablo 6'da verilmiştir. Her iki laktik asit bakterisinde hem %3 hem de % 5 katkılı besiyerlerinde hayatta kalmışlardır. Her ne kadar disk difüzyon yönteminde zon elde edilmemiş olsa da besiyerine propolis çözeltisi eklenerek canlı hücre sayımı yapıldığında 24 ve 48 saat sonunda bakterilerde canlılık kaybı olduğu belirlenmiştir.

Tablo 6. Laktik Asit Bakterilerinin logaritmik (log kob/mL) ve hayatta kalma yüzdesi sonuçları

<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> MK161062					
	Başlangıç	24 saat	48 saat	% Canlılık 0-24 saat	% Canlılık 0-48 saat
Propolis% 3	6.17±0.1 ^{aA}	4.39±0.3 ^{aB}	3.17±0.4 ^{aC}	71.15 ^{aA}	51.37 ^{aB}
Propolis% 5	6.17±0.1 ^{aA}	4.17±0.2 ^{bB}	2.69±0.3 ^{bC}	67.58 ^{bA}	43.59 ^{bB}
<i>Weisella cibaria</i> MK161060					
	Başlangıç	24 saat	48 saat	% Canlılık 0-24 saat	% Canlılık 0-48 saat
Propolis% 3	6.17±0.1 ^{aA}	4.87±0.1 ^{aB}	4.06±0.3 ^{aC}	78.93 ^{aA}	65.80 ^{aB}
Propolis% 5	6.17±0.1 ^{aA}	3.69±0.2 ^{bB}	3.10±0.3 ^{bC}	59.80 ^{bA}	50.24 ^{bB}

Üç tekrarın ortalama değerleri ve standart sapmaları sunulmuştur. a-c* Aynı sütundaki farklı harfler, A-C* aynı satırdaki farklı harfler anlamlı farkı göstermektedir (p<0,05).

Lpb. plantarum suşu %3 katkılı besin ortamında 24 saat sonunda %71.15 hayatta kalma oranı gösterirken bu rakam 48 saatin sonunda % 51.37'ye düşmüştür. *W. cibaria* ise aynı katkılama oranında 24 saat sonunda %78.93 oranında hayatta kalmaya sahipken bu değer 48 saatin sonunda % 65.80'e düşmüştür. %5 katkı oranında ise *Lpb. plantarum* suşunun canlılık yüzdelerinde düşüş olmuştur 24 ve 48 saat sonunda sırasıyla %67.58 ve %43.59 olmuştur. *W. cibaria* ise 24 ve 48 saat sonunda sırasıyla %59.80 ve %50.24 hayatta kalma yüzdesi sergilemiştir. Hayatta kalma yüzdeleri göz önüne alındığında *W. cibaria*, *Lpb plantarum* 'a kıyasla daha iyi bir sonuç göstermiştir.

3.1.4. Yağ Asiti Metil Ester Analizi Sonuçları

Propolis ekstraktlarının kimyasal bileşimini araştırmak için GC-MS analizi yapılmıştır (Tablo 7, 8 ve 9). GC-MS analizi sonucunda propolis örneklerinde keton, benzen, alifatik asit ve esterleri, Polisiklik alkoller, yağ asitleri ve diğer bileşikler tespit edilmiştir. Tablo 7'de P10 örneğine ait sonuçlar verilmektedir. Yirmi dört farklı madde tespit edilmiş olup bunlar içerisinde, laurik asit (dodecanoic asit), miristik asit (tetradecanoic asit), palmitik asit (hexadecanoic asit), elaidic acid (9-octadecenoic asit), stearik asit (octadecanoic asit), linoleik asit (9,12-octadecadienoic asit), sinamik asit (2-

Propenoic acid, 3-phenyl-) esterlerinin varlığı dikkat çekmektedir. Bunlardan %14.42 ile en yüksek yüzde elaid asit (9-octadecenoic asit)'e aittir. Onu %9.86 ile sinnamik asit (2-Propenoic acid, 3-phenyl-) izlemektedir.

Tablo 7. P10 örneğine ait yağ asiti metil ester analizi sonuçları

No	Kimyasal Adı	Moleküler Formül	Kimyasal Grup	%Area
1	Benzyl chloride	C ₇ H ₇ Cl	Aromatik halojenür	1.83
2	Benzoic acid, methyl ester	C ₈ H ₈ O ₂	Aromatik ester	6.11
3	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, methyl ester	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	Fenilpropenoit ester	9.86
4	3-methyl-2-propionyl-benzoic acid	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	Aromatik keto-asit	2.17
5	Dodecanoic acid, methyl ester	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	Yağ asidi metil ester	2.24
6	Isomeric dodecylbenzene	C ₁₈ H ₃₀	Alkilbenzen	1.64
7	Tricyclo[4.4.0.0(2,7)] dec-4-en-3-one 6-methyl-	C ₁₁ H ₁₄ O	Polisiklik keton	1.48
8	Tetradecanoic acid, methyl ester	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Yağ asidi metil ester	2.21
9	5-Azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-alpha, alpha	C ₁₅ H ₂₆ O	Azulen türevi	4.33
10	11,11-dimethyl-spiro [2,9] dodeca-3,7-dien	C ₁₄ H ₂₂	Spiroterpen	2.52
11	2-Propenoic acid, 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-, methyl ester	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	Fenilpropenoit ester	5.55
12	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Hidroksi yağ asidi metil ester	1.95
13	Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Yağ asidi metil ester	5.41
14	L-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	Askorbik asit diester	1.61
15	2,6,10,14-Hexadecatetraen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	Terpenil asetat	1.95
16	beta.,6.beta.-epoxy-17-oxo-6.alpha.-pentyl-4-nor-3,5-secoandrostan-3-oic acid, methyl ester	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	Polisiklik epoksi keto asit ester	1.48
17	9-Octadecenoic acid, methyl ester,	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Doymamış yağ asidi metil ester	14.47
18	Octadecanoic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Yağ asidi metil ester	8.35
19	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	Çoklu doymamış yağ asidi metil ester	4.42
20	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,10a-hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	Polisiklik ester	4.8
21	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	Polisiklik ester	7.84
22	1-Phenanthrenemethanol, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₂₀ H ₃₀ O	Polisiklik alkol	3.69

Tablo 7 Devam

23	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Yağ asidi metil ester	2.61
24	Dehydroabietic acid, methyl ester	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	Diterpenoid asit metil ester	1.47

P30 örneğinde ise toplamda 26 farklı madde elde edilmiş olup bunlar arasında da P10 örneğinde olduğu gibi laurik asit (dodecanoic asit), miristik asit (tetradecanoic asit) yağ asitlerimetil esterleri tespit edilmiştir. Bu maddelerin haricinde tespit edilen terpenler dikkat çekmiştir. %11.42 ile elaidic asit (9-octadecenoic acid) ardından %8.61 ile stearik asit (octadecanoic asit) belirlenmiştir.

Tablo 8. P30 örneğine ait yağ asiti metil ester analizi sonuçları

No	Kimyasal Adı	Moleküler Formül	Kimyasal Grup	%Area
1	2-propenoic acid, 3-phenyl-, methyl ester, cinnamic acid methyl ester	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	Fenilpropenoit ester	8.59
2	3-methyl-2-propionyl-benzoic acid	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	Aromatik keto-asit	3.28
3	Dodecanoic acid, methyl ester	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	Yağ Asidi Metil Esteri	2.32
4	Methyl arachidonate	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	Yağ Asidi Metil Esteri	1.21
5	Tricyclo methyl arachidonate [5.1.0.0(2,4)]oct-5-en-5-carboxylic acid, 3,3,8,8-tetramethyl-	C ₁₄ H ₂₄ O ₂	Ester	2.25
6	(-)-Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	Terpen	1.61
7	Tetradecanoic acid, methyl ester	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Yağ Asidi Metil Esteri	2.12
8	5-azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-.alpha.,.alpha.,3,8-tetramethyl-	C ₁₅ H ₂₆ O	Azulen türevi	6.31
9	2h-cyclopropa[a]naphthalen-2-one, 1,1a,4,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-	C ₁₅ H ₂₂ O	Terpen	2.04
10	Spiro [2.9] dodeca-3,7-diene, 1,1,11-dimethyl-	C ₁₄ H ₂₂	Spiroterpen	2.01
11	Benzyl benzoate	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	Ester	1.22
12	2-propenoic acid, 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-, methyl ester	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	Fenilpropenoit ester	3.5
13	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Hidroksi yağ asidi metil ester	1.72
14	Hexadecanoic acid, methyl ester, methyl palmitate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Yağ asidi metil ester	5.2
15	L-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	Askorbik asit diesteri	2.51
16	Androst-5-en-17-one, 3-spiro-2'-1,3-dioxalane	C ₁₉ H ₂₈ O	Steroid	1.63
17	7ahyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecene-2,4,7,7a,10,11-hexol, 1a,2,3,4,4a,5,6,7,10,11,11a-dodecahydro-1,1,3,6,9-pentameth	C ₃₀ H ₄₄ O ₁₁	Terpen	2.19
18	9-octadecenoic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Doymamış yağ asidi metil ester	11.42

Tablo 8 Devam

19	Octadecanoic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Yağ asidi metil ester	8.61
20	2-chloroethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₅ ClO ₂	Ester	4.54
21	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester,	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Yağ Asidi metil Esteri	1.9
22	1-phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,10a-hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Yağ asidi metil ester	3.78
23	1-phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	Polisiklik ester	6.32
24	1-phenanthrenemethanol, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₂₀ H ₃₀ O	Polisiklik alkol	4.42
25	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester Methyl beta.-hydroxystearate	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Yağ asidi metil ester	2.44
26	9,12-octadecadienoic acid (z,z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	C ₂₁ H ₄₀ O ₅	Yağ asidi metil ester	1.38

P60 örneğinde, yine 26 farklı madde tespit edilmiş olup diğer örneklerde olduğu gibi laurik asit (dodecanoic asit), miristik asit (tetradecanoic asit) yağ asitleri metil esterleri tespit edilmiştir. Bu maddelerin haricinde tespit edilen terpenler dikkat çekmiştir. %14.05 ile elaidic asit (9-octadecenoic acid) ardından %8.01 ile stearik asit (octadecanoic asit) belirlenmiştir. Linoleic asit (9,12-octadecadienoic acid) ise her üç örnekte tespit edilmiş olup P60 örneğinde %4.29, P10 örneğinde %4.42 iken P30 örneğinde % 1.38 olarak belirlenmiştir.

Tablo 9. P60 örneğine ait yağ asiti metil ester analizi sonuçları

No	Kimyasal Adı	Moleküler Formül	Kimyasal Grup	%Area
1	Benzyl chloride	C ₇ H ₇ Cl	Aromatik halojenür	1.78
2	Benzoic acid, methyl ester	C ₈ H ₈ O ₂	Aromatik ester	5.93
3	2-propenoic acid, 3-phenyl-, methyl ester	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	Fenilpropenoit ester	9.57
4	3-methyl-2-propionyl-benzoic acid	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	Aromatik keto-asit	2.11
5	Dodecanoic acid, methyl ester	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	Yağ asidi metil ester	2.17
6	Isomeric dodecylbenzene	C ₁₈ H ₃₀	Alkilbenzen	1.59
7	Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-4-en-3-one, 6-methyl-	C ₁₁ H ₁₄ O	Polisiklik keton	1.44
8	Tetradecanoic acid, methyl ester	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Yağ asidi metil ester	2.14
9	5-azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro.alpha.,.alpha.,3,8-tetramethyl-	C ₁₅ H ₂₆ O	Azulen türevi	4.2
10	11,11-dimethyl-spiro[2,9]dodeca-3,7-dien	C ₁₄ H ₂₂	Spiroterpen	2.45
11	2-propenoic acid, 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-, methyl ester	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	Fenilpropenoit ester	5.39
12	Retinal	C ₂₀ H ₂₈ O	Karotenoid aldehit	1.39

Tablo 9 Devam

13	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Hidroksi yağ asidi metil ester	1.9
14	Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Yağ asidi metil ester	5.25
15	L-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	Askorbik asit diester	1.57
16	2,6,10,14-hexadecatetraen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, acetate,	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	Terpenil asetat	1.89
17	5.beta.,6.beta.-epoxy-17-oxo-6.alpha.-pentyl-4-nor-3,5-secoandrostan-3-oic acid, methyl ester	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	Polisiklik epoksi keto asit ester	1.44
18	9-octadecenoic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Doymamış yağ asidi metil ester	14.05
19	Octadecanoic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Yağ asidi metil ester	8.1
20	9,12-octadecadienoic acid (z,z)-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	Çoklu doymamış yağ asidi metil ester	4.29
21	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Hidroksil yağ asidi ester	1.55
22	1-phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,10a-hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	Polisiklik ester	4.65
23	1-phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, methyl ester	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	Polisiklik ester	7.61
24	1-phenanthrenemethanol, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	C ₂₀ H ₃₀ O	Polisiklik alkol	3.59
25	Octadecanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	Yağ asidi metil ester	2.54
26	Dehydroabietic acid, methyl ester	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	Diterpenoid asit metil ester	1.43

3.2. TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında üç farklı propolis özütü elde edilmiştir. Özütler, 1:2 ve 1:3 oranında % 80 etanolde çözdürülerek hazırlanmışlardır. 1:3 oranındaki propolis 30 dakika ultra-sonikasyona (P10), 1:2 oranında diğer iki çözelti ise 30 (P30) ve 60 dakika (P60) ultra-sonikasyona tabi tutulmuş, filtrasyon işleminden sonra ekstraksiyon ile etanol uzaklaştırılmış ve propolis özütleri elde edilmiştir. Bu özütler %100 DMSO, %50:50 etanol:su ve %20:80 etanol:su çözeltilerinde aynı propolis-çözgen oranında tekrar çözdürülerek elde edilen çözeltilerin disk difüzyon yöntemi ile yoğunlukları yaklaşık 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵ log kob/mL olarak ayarlanmış *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) suşları üzerindeki antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Her iki suş içinde 10⁸ ve 10⁷ log kob/mL yoğunluklarda zon oluşumu gözlemlenmemiştir (Tablo 2, 3). *E. coli* için elde edilen sonuçlar incelendiğinde yaklaşık 10⁶ log kob/mL yoğunlukta zon oluşumunun başladığı, dikkate değer antimikrobiyal etkinin ise yaklaşık 10⁵ log kob/mL'de başladığı görülmektedir.

Keskin ve diğerleri, (2001) propolisin Gram negatif bakterilere (*E. coli*, *P. aeruginosa*) karşı düşük bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı propolis aktivitesinin belirlendiği başka bir çalışmada ise propolisin %2 ve % 5'lik konsantrasyonlarının suşlar üzerinde antibakteriyel aktivite gösterebildiği tespit edilmiştir (Sağdıç ve diğerleri, 2007). Popova ve diğerleri, (2005) tarafından yapılan çalışmada Yozgat, İzmir, Kayseri, Adana, Erzurum ve Artvin olmak üzere Türkiye'nin farklı illerinden toplanan propolis örneklerinin *S. aureus* (ATCC29213) ve *E. coli* (ATCC25922) suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi belirlenmiştir. Propolislerin Gram pozitif bakteri olan *S. aureus* 'a karşı daha etkili olduğu ayrıca, Yozgat, İzmir ve Kayseri illerinden elde edilen propolislerin Adana, Erzurum ve Artvin illerinden elde edilenlere kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinen propolis hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı oldukça etkilidir. Ancak Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğu belirtilmektedir (Sforcina ve Bankova 2011; Doğan ve Hayaloğlu 2012). Çalışmamızda da propolis çözeltileri *S. aureus*'a karşı *E. coli*'den daha fazla etkinlik göstermiştir. Çalışmada elde edilen antimikrobiyal zon çapları (mm) incelendiğinde *S. aureus*'a karşı, *E. coli*'de olduğu gibi zon oluşumunun yaklaşık 10^6 log kob/mL yoğunluktan itibaren başladığı görülmektedir. %50:50 etanol:su ve %100 DMSO çözücü olarak kullanılan özütlerin inhibisyon değerleri dikkat çekmektedir.

Suleman ve diğerleri, (2015) yaptıkları çalışmada propolisin *S. aureus*'a karşı $6 \mu\text{g mL}^{-1}$ gibi düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olduğunu belirtmişlerdir. Bir diğer çalışma Kubiliene ve diğerleri, (2015) tarafından yapılmıştır. Çalışmada propolis etanol, su ve zeytinyağı gibi çeşitli ekstraktlarda çözdürülmüş ve antimikrobiyal aktivitesi karşılaştırmıştır. Çalışma sonucunda sulu ve zeytinyağlı ekstraktların antimikrobiyal aktivite göstermezken çözücü olarak etanol kullanılan örnekler önemli antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Çalışmada propolis çözeltilerinin patojen mikroorganizmaların yanı sıra daha az çalışılmış olan laktik asit bakterilerine karşı nasıl bir etki gösterdiği de belirlenmiştir. Bu amaçla, disk difüzyon yöntemi ile *in vitro* ortamda inhibisyon etki olup olmadığı ve farklı yüzdelerde propolis katkılı besi ortamında hayatta kalma oranları canlı hücre sayımı yapılarak incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemi ile laktik asit bakterilerine karşı yapılan

antimikrobiyal etki sonuçlarında hiç zon gözlemlenmemiştir olup, suşlar başlangıç yoğunluğu fark etmeksizin gelişim göstermişlerdir.

Fenolik bileşikler, doğal bileşikler sınıfına ait olup, güçlü antioksidan özelliklere sahip olan ve birçok bitkide bulunan organik bileşiklerdir. Propolisin fonksiyonel özelliklerinden sorumlu olan etken maddelerden biri de fenolik bileşiklerdir. Propolislerin fenolik bileşen içeriklerindeki farklılıklar daha çok elde edildiği bölgeye ve o bölgenin coğrafi konumuna, türüne, toplandığı iklim koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Bakkaloğlu ve Arıcı 2019). Bu tez çalışmasında Ardahan ilinden elde edilmiş P10, P30 ve P60 kodlu propolis özütlerinin toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Burada amaç yapılan farklı süre ve farklı oranlarda propolis içeriğinin fenolik madde içeriği bakımından nasıl etkilendiğini belirlemektir. Sonuçlar incelendiğinde en az etkilenen ve dolayısı ile en iyi toplam fenolik madde içeriğine sahip olan P10 kodlu propolis özütünün olduğu görülmektedir, onu sırasıyla P30 ve P60 izlemiştir. Bu sonuçlar 1:3 oranının, 1:2 oranına kıyasla daha iyi çözünürlük gösterdiğini ve 30 dakikalık sürenin 60 dakikaya kıyasla fenolik madde içeriğine daha az zarar verdiğini göstermiştir.

Çakıroğlu (2010) çalışmasında Trabzon ilinin çeşitli yörelerinden toplanarak temin edilen propolisleri DMSO, etanol, aseton, gliserol ve su gibi çeşitli çözücülerde çözdürerek toplam polifenol içeriğini belirlemiştir. Elde ettiği sonuçlarda en yüksek içerik DMSO'lu ekstraktlarda (141.17 ± 9.99 mgGA/g) ardından ise etanollü (122.67 ± 6.37 mg GA/g) ekstraktlarda belirlenmiştir. Ecem-Bayram ve diğerleri, (2020) çalışmasında farklı çözücü ve yöntemlerle elde ettiği propolis ekstraktlarının içerdiği bileşik gruplarını değerlendirmiş ve su ekstraktı ultra-sonikasyon yöntemli propolis hariç (PUWE) hepsinin yüksek oranda flavonoid grubu bileşikler içerdiğini belirlemiştir. En düşük sonuç PUWE (%1.83) iken en yüksek sonucu ise etanol ekstraktı ultra-sonikasyon yöntemli propolis (PUEE) ile % 49.39 olarak tespit etmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızda da benzerlik göstermekte ve propolisin içeriğindeki bileşiklerin çoğunun lipofilik özellik gösteren bileşikler olmasına ve dolayısı ile bu bileşiklerin etanol kullanarak ekstrakt edilmesinin daha etkili olmasına bağlanmıştır.

Elde edilen propolis özütleri içerisinde disk difüzyon yöntemi ile zon eldesinde en başarılı olan ve toplam fenolik madde sonuçları açısından en yüksek değerlere sahip olduğu belirlenen P10 özütü mikroorganizmaların hayatta kalma oranının

belirlenmesinde kullanılmak üzere tercih edilmiştir. Bu amaçla besiyeri ortamına %3 ve %5 oranlarında propolis katkılanmış ve antibakteriyel etkinliği 24 ve 48 saat sonundaki canlılık sonuçları koloni sayımı ile belirlenmiştir.

%3 propolis katkılı besin ortamında *S. aureus*'un 24 saat sonunda hayatta kalma yüzdesi 43.59 iken bu rakam 48 saat sonunda 19.28'e düşmüştür. Gram negatif bakteri olan *E. coli* ise aynı ortamda *S. aureus*'a karşı daha dirençli bulunmuştur, 24 ve 48 saat sonundaki hayatta kalma yüzdeleri ise sırasıyla %67.58 ve %43.59 olarak tespit edilmiştir.

% 5 propolis katkılı besin ortamında ise her iki mikroorganizma içinde %3'e kıyasla daha etkili olmuştur. *S. aureus*'un 24 saat sonunda hayatta kalma yüzdesi 20.90'dur, *E. coli* ise 24 saat sonunda %54.94, 48 saat sonunda ise %20.90 olarak tespit edilmiştir. Besiyerine eklenen propolis çözeltisi yüzdesindeki artış ile elde edilen antimikrobiyal etkide de artış gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar esas olarak propolisin sahip olduğu antibakteriyel etkiden kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir. Tez çalışmasında da Gram pozitif ve Gram negatif bakteri olarak kıyaslandığında; sonuçlarda Gram pozitif bakteriye karşı daha etkili olduğu görülmektedir. Antimikrobiyal etkinliğin hem konsantrasyon hem de uygulama süresine bağlı olarak arttığını ortaya koymaktadır.

Lpb. plantarum ve *W. cibaria* suşlarının P10 propolis özütünün %50:50 etanol:su çözeltisinde çözdürülmesi ile elde edilen çözeltisine karşı gösterdiği canlılık ve hayatta kalma sonuçları Tablo 6'da verilmiştir. Her iki laktik asit bakterisinde hem %3 hem de % 5 katkılı besiyerlerinde hayatta kalmışlardır. Her ne kadar disk difüzyon yönteminde zon elde edilmemiş olsa da besiyerine propolis çözeltisi eklenerek canlı hücre sayımı yapıldığında 24 ve 48 saat sonunda bakterilerde canlılık kaybı olduğu belirlenmiştir.

Lpb. plantarum suşu %3 katkılı besin ortamında 24 saat sonunda %71.15 hayatta kalma oranı gösterirken bu rakam 48 saatin sonunda % 51.37'ye düşmüştür. *W. cibaria* ise aynı katkılama oranında 24 saat sonunda %78.93 oranında hayatta kalmaya sahipken bu değer 48 saatin sonunda % 65.80'e düşmüştür. %5 katkı oranında ise *Lpb. plantarum* suşunun canlılık yüzdelerinde düşüş olmuştur 24 ve 48 saat sonunda sırasıyla %67.58 ve %43.59 olmuştur. *W. cibaria* ise 24 ve 48 saat sonunda sırasıyla %59.80 ve %50.24 hayatta kalma yüzdesi sergilemiştir. Hayatta kalma yüzdeleri göz önüne alındığında *W. cibaria*, *Lpb. plantarum*'a kıyasla daha iyi bir sonuç göstermiştir.

Saddiq ve Danial (2014) çalışmalarında 10^6 log kob/mL yoğunluktaki *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei* suşları üzerinde %25 konsantrasyonda propolis ekstraktının büyüme üzerindeki etkisini incelemiştir. Örnekler 24 saat boyunca 37°C 'de anaerobik olarak inkübe edilmiş, ardından her probiyotik bakteri için 24 saat sonundaki yoğunlukları 620 nm'de spektrofotometre ile belirlenmiştir. Çalışma sonunda propolisin bakterilerin gelişimini olumlu yönde etkilediği sonucuna ulaşmıştır. Dziedzic ve diğerleri (2013) çalışmalarında diş çürüğü oluşumuna neden olan *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus* spp. bakterilerine karşı Polonya'da toplanan propolisin etanol özütünün (EEP) antibakteriyel etkisini incelemiştir. Çalışma sonunda, propolis özütüne maruz kalan streptokok ve *Lactobacillus* spp.'lerin canlılığını etkilenmiş, antibakteriyel bir etkinlik sergilemiştir. Laktobasiller EEP'ye *Streptococcus mutans*' kıyasla daha duyarlı bulunmuştur. Rosendale ve diğerleri, (2008) çalışmalarında etanol ekstraktı propolisinin 0-6 mg mL⁻¹ konsantrasyonlarında *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacterium lactis* bakterilerinin 16 saat süre sonunda büyümesine nasıl etki ettiğini incelemiştir. Çalışmada propolis ekstraktının yoğunluğu arttıkça mikroorganizmalara karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinin arttığı belirlenmiştir.

Yağ asidi esterleri, yağ asitlerinin alkollerle reaksiyonu sonucu oluşan önemli yağ kimyasalları olarak tanımlanmaktadır. Yapısal özellikleri nedeniyle kullanımları oldukça muhtemeldir ve dünya çapında üretim ve tüketimlerinde hızlı bir artış vardır. Uzun zincirli triaçilgliseroller, belirli metabolik özellik sergileyen doğal olarak oluşan yağ esterleridir (Chiş ve diğerleri, 2020; Gilbaz, 2022). Örneğin, orta zincirli yağ esterlerine (C6-C12) göre hidrolize daha duyarlıdır. Ayrıca, düşük kalorili diyetlerde kullanılırlar. Buna karşılık, yağ asidi metil esterleri (FAME'ler), doğrudan kullanımları sınırlı kalsa da ara ürün olarak sektörde kritik bir rol oynamaktadır. Bu esterler, çeşitli endüstriyel süreçlerde başlangıç maddeleri olarak yağ asitlerinin yerini giderek daha fazla almaktadır (Bogaerts ve diğerleri, 1990; Kola ve diğerleri, 2015; Gilbaz, 2022).

Cezayir'in farklı bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde, araşidonik asit (C20:4), linoleik asit (C18:2), palmitoleik asit (C16:1) ve alfa-linolenik asit (C18:2) (Rebiai ve diğerleri, 2017), oleik asit, nonanoik asit (C₉H₁₈O₂), dekanik asit (C₁₀H₂₀O₂) ve dodekanoik asit (C₁₂H₂₄O₂) gibi yağ asitleri belirlenmiştir (Almohammadi ve diğerleri, 2018). Türkiye'nin Bingöl ilinden elde edilen propolis örneğinde ise (İnci ve diğerleri

2022) kaprik asit (C10:0), laurik asit (C12:0), miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), Bilecik ilinden elde edilen propoliste (Keskin ve diğerleri, 2019) dekanolik asit (C₁₀H₂₀O₂), benzoik asit (C₇H₆O₂), miristik asit (C₁₄H₂₈O₂), palmitik asit (C₁₆H₃₂O₂) ve birçok başka asit tespit edildiği belirtilmiş olup, başka bir çalışmada ise bazı Anadolu propolis örneklerinin kimyasal bileşimi GC-MS kullanılarak belirlenmiş ve propolis örneklerinin alifatik asitler, esterler, aromatik asitler, yağ asitleri, aromatik aldehytler, flavonlar ve flavononlar ve diğer bileşenler açısından zengin olduğu bildirilmiştir (Silici ve Kutluca, 2005; Uzel ve diğerleri, 2005).

Tez çalışmada propolis ekstraktlarının kimyasal bileşimini araştırmak için GC-MS analizi yapılmıştır. GC-MS analizi sonucunda propolis örneklerinde keton, benzen, alifatik asit ve esterleri, Polisiklik alkoller, yağ asitleri ve diğer bileşikler tespit edilmiştir. P10 örneğinde yirmi dört farklı madde tespit edilmiş olup bunlar içerisinde, laurik asit (dodecanoic asit), miristik asit (tetradecanoic asit), palmitik asit (hexadecanoic asit), elaidic acid (9-octadecenoic asit), stearik asit (octadecanoic asit), linoleik asit (9,12-octadecadienoic asit), sinamik asit (2-Propenoic acid, 3-phenyl-) esterlerinin varlığı dikkat çekmektedir. P30 örneğinde ise toplamda 26 farklı madde elde edilmiş olup bunlar arasında da P10 örneğinde olduğu gibi laurik asit (dodecanoic asit), miristik asit (tetradecanoic asit) yağ asitlerimetil esterleri tespit edilmiştir. Bu maddelerin haricinde tespit edilen terpenler dikkat çekmiştir. %11.42 ile elaidic asit (9-octadecenoic acid) ardından %8.61 ile stearik asit (octadecanoic asit) belirlenmiştir. P60 örneğinde, yine 26 farklı madde tespit edilmiş olup diğer örneklerde olduğu gibi laurik asit (dodecanoic asit), miristik asit (tetradecanoic asit) yağ asitleri metil esterleri tespit edilmiştir. Bu maddelerin haricinde tespit edilen terpenler dikkat çekmiştir. %14.05 ile elaidic asit (9-octadecenoic acid) ardından %8.01 ile stearik asit (octadecanoic asit) belirlenmiştir. Linoleic asit (9,12-octadecadienoic acid) ise her üç örnekte tespit edilmiş olup P60 örneğinde %4.29, P10 örneğinde %4.42 iken P30 örneğinde % 1.38 olarak belirlenmiştir.

Doymuş yağ asitlerinin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada laurik asidin (C12) 6 ila 18 karbon zinciri aralığındaki çok çeşitli bakterilere karşı güçlü bakteriyostatik aktivite sergilediği, *S. aureus*'un altı suşunun tümüne karşı en etkili yağ asidi olduğu belirlenmiştir (Kitahara ve diğerleri 2004). Çoğu bitki kaynağında doğal olarak bulunan sinamik asitin (2-Propenoic asit, 3-fenil-), geniş spektrumlu antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Onat ve diğerleri 2021). Özellikle türevlerinin, ilaç

geliştirmek için yüksek potansiyele sahip olduğu ifade edilmektedir (Matejczyk ve diğerleri, 2017). Sinamik asit dahil 13 farklı fenolik bileşiğin antibakteriyel aktivitesini test eden bir çalışmada, sinamik asidin bakteriyel membran bütünlüğünü etkileyerek aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Zhang ve diğerleri 2019). Çalışmamızda, laurik asit ve sinamik asit gibi antimikrobiyal etkileri olduğu bilinen yağ asitleri  numunenin hepsinde tespit edilmiştir.



SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Kafkas arısının izole bölgelerinden biri olan (Ardahan-Artvin) Ardahan ilinde bulunan yerel üreticiden Kafkas arısı propolisi ham olarak temin edilmiş, ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen özütlerin farklı çözücülerdeki antimikrobiyal etkisi, içerdiği toplam fenolil madde içeriğinin yanı sıra yağ asiti metil esterleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında Kafkas arısı propolisinin *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde disk difüzyon yöntemi ile belirlenen inhibisyon etkisinin özellikle (10^7 log kob/mL ve 10^8 log kob/mL) yüksek bakteri konsantrasyonlarına görece daha düşük bakteri yoğunluklarında (10^6 log kob/mL ve 10^5 log kob/mL) daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Besiyerine %3 ve %5 oranlarında propolis özütü eklenerek *S. aureus* ve *E. coli*'nin hayatta kalmasını nasıl etkilediğini belirlemek amacıyla 24. ve 48. saat sonunda canlı hücre sayımı yapılmış ve %3 propolis katkılı besin ortamında *S. aureus*'un 24. Saat sonunda belirgin bir canlılık kaybı yaşadığı, 48. saatte ise bu durumun daha da ileri düzeyde olduğu görülmüştür; buna karşılık, aynı katkı yüzdesinde *E. coli* 48. saate kadar canlılığını sürdürmüştür. %5 propolis katkılı besin ortamında ise, *S. aureus* 48 saat sonunda canlılığını tamamen kaybederken, *E. coli*'de canlılık oranı belirgin şekilde düşmüş ancak hayatta kalmayı başarmıştır. Bu sonuçlar, propolisin antibakteriyel etkisinin hem konsantrasyon hem de maruz kalma süresine bağlı olarak arttığını ve Gram pozitif bakterilerin, Gram negatif bakterilere göre daha hassas olduğunu ortaya koymaktadır.

Propolisin probiyotik özellikler taşıyan laktik asit bakterine karşı nasıl bir etki gösterdiğini inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmakta olup çalışmalarda ağırlıklı olarak agar difüzyon temelli analizler tercih edilmiştir. Bu tez çalışmasında bu etkinin belirlenebilmesi amacıyla disk difüzyon yöntemine ek olarak patojen mikroorganizmalarda olduğu gibi besin ortamına iki farklı konsantrasyonda (%3 ve %5) propolis özütü eklenerek hayatta kalmalarını nasıl etkilediği canlı hücre sayımı yapılarak belirlenmiştir. *Lpb. plantarum* ve *W. cibaria* probiyotik suşlarına karşı disk difüzyon yönteminde zon elde edilmemiş olsa da besiyerine propolis özütü eklenerek canlı hücre sayımı yapıldığında 24. ve 48. saat sonunda bakterilerde canlılık kaybı olduğu belirlenmiştir; bu durum propolisin probiyotik bakteriler üzerinde doğrudan öldürücü

değil ancak zaman ve konsantrasyona bağlı olarak bu bakterilerin canlılıklarını kısmen azalttığını göstermektedir.

Toplam fenolik içerik analizine göre, en yüksek fenolik içerik kısa süreli ve düşük ağırlıklı ultrasonik ekstraksiyonda (P10) elde edilmiştir. Bu da fenolik bileşiklerin çözünmesinde ekstraksiyon süresi ve numune miktarının belirleyici olduğunu göstermektedir. Kısa süreli uygulamalarda hücre yapıları daha hızlı parçalanmış ve fenolik maddeler etkin bir şekilde salınmışken, uzun süreli ve yüksek miktartlı uygulamalarda (P30 ve P60) çözünme etkinliği azalmış ve muhtemelen oksidatif kayıplar artmıştır.

Bu bulgular, propolisin biyolojik aktivitesinin fenolik içeriğiyle yakından ilişkili olduğunu ve uygun ekstraksiyon koşullarının bu etkiyi artırabileceğini göstermektedir. Ayrıca yapılan yağ asidi profili analizleri ile propolisin bileşimindeki doymuş ve doymamış yağ asitlerinin belirlenmesi, biyolojik aktiviteye katkı sağlayan kimyasal altyapıyı desteklemiştir. Elde edilen tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, propolisin uygun koşullarda elde edilip kullanıldığında hem etkili bir antimikrobiyal madde hem de probiyotiklerle uyumlu, doğal bir bileşen olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Gelecekte yapılacak akademik çalışmalarda, farklı coğrafi bölgelerden elde edilen propolislerin içerik ve biyolojik aktivitelerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi, Kafkas arısına özgü propolisin diğer propolis türlerinden ayırt edici özelliklerinin daha net ortaya konulmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca fenolik bileşiklerin ayrı ayrı izole edilerek biyolojik aktivitelerinin test edilmesi, propolisin etki mekanizmasının anlaşılmasına yardımcı olabilir.

Propolisin probiyotiklerle uyumlu yapısı, gıda endüstrisinde fonksiyonel gıdalar ve probiyotik takviyelerle birlikte kullanılabilmesini göstermektedir. Bu kapsamda, özellikle yoğurt, kefir ve probiyotik içeceklerde doğal koruyucu ve sağlık destekleyici bir bileşen olarak değerlendirilmesi sektöre yenilikçi ürün geliştirme imkânı sunabilir. *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde propolisin hangi konsantrasyonlarda etkili olduğunun belirlenmesi, gıda güvenliği ve farmasötik uygulamalar için kritik bir veri niteliğindedir. Bu seçici inhibisyon, özellikle gıda sektöründe doğal koruyucu olarak kullanılmasına ve ürünlerin raf ömrünün uzatılmasına imkân sağlayabilir.

Çalışmadan elde edilen bulgular, probiyotiklerle uyumlu ve patojenleri baskılayıcı doğal formülasyonların geliştirilmesine yönelik bilimsel veri altyapısı sağlamaktadır.

Propolisin seçici antimikrobiyal etkisinin klinik çalışmalarla desteklenmesi, antibiyotiklere alternatif doğal ajanların geliştirilmesine katkı sunabilir. Böylece propolis, gelecekte bağırsak sağlığının desteklenmesi, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve antibiyotik direncine karşı fonksiyonel bir doğal bileşen olarak öne çıkabilir.



KAYNAKÇA

- Almohammadi, O.H., Bakdash, A., Taha, N.A., Abu-rumman, A. Kumar, S. (2018). Chemical composition of propolis from the Baha region in Saudi Arabia. *Czech Journal of Food Sciences*.
- Albayrak, S., ve Albayrak, S. (2008). Propolis: Natural antimicrobial matter. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 37(3), 201–215.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., ve Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 10(12), 6235-6254.
- Alp, D. (2018). Investigation of Some Probiotic Properties Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Natural Sources And Determination Of Their Ability To Prevent Pathogenic Attachment İn Intestine Model. *Dissertation*, Suleyman Demirel University.
- Alp, D. ve Ertürkmen, P. (2017). Probiyotik Olarak Kullanılan *Lactobacillus* spp. Suşlarının Kolesterol Düşürücü Etkileri ve Olası Mekanizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1), 108-113.
- Al-Tawaha, R., Meng, C. (2018). Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotic and its advantages in human health and industrial applications: A review. *Advances in Environmental Biology*, 12, 16–27.
- Aydın, M., Danacıoğlu, D. A., Türker, S. (2021). Propolisin genel özellikleri ve kullanımı. *Gıda*, 46(1), 69–81.
- Azize, A.T.İ.K., Gümüş, T. (2017). Propolisin gıda endüstrisinde kullanım olanakları. *Akademik gıda*, 15(1), 60-65.
- Bakkaloğlu, Z., Arıcı, M. (2019). Farklı çözücülerle propolis ekstraksiyonunun toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(4), 538-545.
- Bankova, V., Trusheva, B., Popova, M. (2021). Propolis extraction methods: A review. *Journal Of Apicultural Research*, 60(5), 734-743.
- Bayram, S., Bayram, N. E., Gerçek, Y. C., Aydoğan, M. N., Öz, G. B. (2017). Chemical analysis and antimicrobial effect of propolis from Hakkâri province of Turkey

- against some pathogenic microorganisms. *European Journal of Biology*, 76(2), 74-78.
- Bogaerts, L. (1990, October 8–12). *Esters: Performance Oleochemicals For Food And Industrial Usage*. Paper presented at the World Conference on Oleochemicals Into the 21st Century, Kuala Lumpur, Malaysia, 251–255.
- Bozkuş, T. N. (2024). Phenolic contents and antioxidant activities of Caucasian bee propolis at different locations, solvents, and temperatures. *Food Science ve Nutrition*, 12(10), 7798–7805.
- Chauhan, A., Ranjan, A., Basniwal, R. K., ve Jindal, T. (2016). Probiotic, prebiotic and synbiotics in the prevention of lifestyle disorders. *International Journal Current Microbiology Applies Science*, 4(2), 933-947.
- Ceyhan, N., ve Alıç, H. (2012). Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* (1), 107-113.
- Chiş, M. S. Pop, A. Păucean, A. Socaci, S. A. Alexa, E. Man, S. M. Muste, S. (2020). Fatty acids, volatile and sensory profile of multigrain biscuits enriched with spent malt rootles. *Molecules*, 25(3), <https://doi.org/10.3390/molecules25030442> 442.
- Choi, Y. M., Noh, D. O., Cho, S. Y., Suh, H. J., Kim, K. M., Kim, J. M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT-Food Science and Technology*, 39(7), 756-761.
- Cuesta, A., Rodríguez, A., Esteban, M. A., Meseguer, J. (2005). *In vivo* effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. *Fish ve Shellfish Immunology*, 18(1), 71-80.
- Çakıroğlu, T. N. (2010). Çeşitli Çözücülerde Türk Propolisinin Çözünürlüğünün İncelenmesi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı* (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, 63.
- Dantas Silva, R. P., Machado, B. A. S., Barreto, G. D. A., Costa, S. S., Andrade, L. N., Amaral, R. G., Umsza-Guez, M. A. (2017). Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *Plos one*, 12(3), e0172585.
- De Kraker, M. E., Davey, P. G., Grundmann, H. (2011). Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia:

- estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS medicine*, 8(10), e1001104.
- de Oliveira Neto, N. F., Bonvicini, J. F. S., de Souza, G. L., Santiago, M. B., Veneziani, R. C. S., Ambrósio, S. R., Turrioni, A. P. (2022). Antibacterial activity of Brazilian red propolis and in vitro evaluation of free radical production. *Archives of Oral Biology*, 143, 105520.
- Dewana, D. A. (2014). Microbiological study of nasal carriage of pathogenic bacteria among the hospital personnel (Unpublished master's thesis). Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Bioengineering and Sciences, Kahramanmaraş, Turkey.
- De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M., de Vos, W. M. (2006). *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16(9), 1018-1028.
- Dhagat, S., Jujjavarapu, S. E. (2022). Microbial pathogenesis: mechanism and recent updates on microbial diversity of pathogens. *Antimicrobial Resistance: Underlying Mechanisms and Therapeutic Approaches*, 71-111.
- Divya, D. V., Prasad, M. G., Radhakrishna, A. N., Sandeep, R. V., Reddy, S. P., ve Kumar, K. V. K. (2019). Triple antibiotic paste versus propolis: A clinical quest for the reliable treatment of periapical lesions in primary molars. *Saudi Endodontic Journal*, 9(1), 34–39.
- Doğan, N., Hayoğlu, İ. (2012). Propolis ve Kullanım Alanları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 16(3), 39-48.
- Drago, L., Mombelli, B., De Vecchi, E., Tocalli, M. F. L., & Gismondo, M. R. (2000). In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *Journal of Chemotherapy*, 12(5), 390–395.
- Du, Y., Liu, L., Yan, W., Li, Y., Cui, K., Zhang, X., Zhao, H. (2023). The anticancer mechanisms of exopolysaccharide from *Weissella cibaria* D-2 on colorectal cancer via apoptosis induction. *Scientific Reports*, 13(1), 21117.
- Dziedzic, A., Kubina, R., Wojtyczka, R. D., Kabała-Dzik, A., Tanasiewicz, M., Morawiec, T. (2013). The antibacterial effect of ethanol extract of polish propolis on mutans streptococci and lactobacilli isolated from saliva. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 681891.

- Ecem Bayram, N., Gerçek, Y. C., Bayram, S., Toğar, B. (2020). Effects of processing methods and extraction solvents on the chemical content and bioactive properties of propolis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 905-916.
- Ecem Bayram, N., Gerçek, Y. C., Bayram, S., Toğar, B. (2020). Effects of processing methods and extraction solvents on the chemical content and bioactive properties of propolis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 905-916.
- Elavarasi, V., Pugazhendhi, A., Poornima Priyadharsani, T., Valsala, H., ve Thamaraiselvi, K.C.A. (2014). Screening and characterization of *Weissella cibaria* isolated from food source for probiotic properties. *International Journal of Computer Applications* 1, 29-32.
- El-Sakhawy, M. (2023). Propolis harvesting and extraction. *Egyptian Journal of Chemistry*, 66(1), 313-321.
- Erkmen, O., ve Oezcan, M. M. (2008). Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. *Journal of Medicinal Food*, 11(3), 587-592.
- Eryılmaz, B. (2022). *Farklı propolis ekstraktlarının Lactobacillus sp. gelişimi üzerine etkilerinin incelenmesi* (Yüksek lisans tezi). Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Eskilsson, C. S., Björklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of chromatography A*, 902(1), 227-250.
- Fernández-León, K. J., Rodríguez-Díaz, J. A., Reyes-Espinosa, L., Duquesne-Alderete, A., Solenzal-Valdivia, Y. O., Rives-Quintero, A., ve Hernández-García, J. E. (2022). Comparison of in vitro anti-*Staphylococcus aureus* activity of eight antibiotics and four dilutions of propolis. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 13(1), 35-48.
- Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745-4767.
- Franca, J. R., De Luca, M. P., Ribeiro, T. G., Castilho, R. O., Moreira, A. N., Santos, V. R., ve Faraco, A. A. (2014). Propolis-based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 1-11.

- Fuente-Ballesteros, A., Priovolos, I., Ares, A. M., Samanidou, V., ve Bernal, J. (2023). Green sample preparation methods for the analysis of bioactive compounds in bee products: A review. *Advances in Sample Preparation*, 6, 100060.
- Gayathiri, E., Bharathi, B., ve Priya, K. (2018). Study of the enumeration of twelve clinical important bacterial populations at 0.5 McFarland standard. *Int. J. Creat. Res. Thoughts (IJCRT)*, 6(2), 880-893.
- Gilbaz, E. E. The Production Of Fatty Acid Esters By Enzymatic Esterification Of Corn Acid Oil, Master thesis. Istanbul technic University Istanbul, Turkey.
- Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., ve Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(4), 1220-1234.
- Gösterit, A., Kekeçoğlu, M., Çıkılı, Y. (2012). Yığılca Yerel Bal Arısının Bazı Performans Özellikleri Bakımından Kafkas ve Anadolu Bal Arısı Irkı Melezleri ile Karşılaştırılması. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 7(1), 107-114.
- Gryaznova, M., Dvoretzkaya, Y., Burakova, I., Syromyatnikov, M., Popov, E., Kokina, A., Popov, V. (2022). Dynamics of changes in the gut microbiota of healthy mice fed with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Microorganisms*, 10(5), 1020.
- Gül, A., ve Nergiz, R. (2022). Kafkas Bal Arısı (*Apis mellifera caucasia*) gen merkezinin bozulmasına neden olan etmenler ve çözüm önerileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(Ek Sayı 2), 545-554.
- Gül, A., Cengiz, M. M., Yazıcı, K., ve Arslan, S. (2022). Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasia*) izole bölgeleri ve Ardahan ili genelinde koruma çalışmaları. *Ardahan Arıcılığı Çalıştay Kitabı* (Cilt 2, Bölüm 21). Ardahan Üniversitesi.
- Gürel, H. (2018). Broyler Kuluçkalık Yumurtalarına In Vivo Besleme Yöntemi İle Propolis Ekstraktı Enjeksiyonunun Kuluçka Sonuçları Ve Çıkış Sonrası Performansa Etkileri (Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi).
- Hendi, N. K., Naher, H. S., ve Al-Charrakh, A. H. (2011). In vitro antibacterial and antifungal activity of Iraqi propolis. *J. Med. Plants Res*, 5(20), 5058-5066.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., ve Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for

- Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology ve Hepatology*, 11(8), 506–514.
- Inci, H., Sogut, B., Sengul, T., Yucel, B., Kokten, K., Tunca, R. I., Şahin, İ. (2022). Comparison of fatty acid properties of Bingol Propolis. *South African Journal of Animal Science*, 52(3), 392-399.
- Jang, H. J., Kang, M. S., Yi, S. H., Hong, J. Y., ve Hong, S. P. (2023). Probiotic *Weissella cibaria* displays antibacterial and anti-biofilm effect against cavity-causing *Streptococcus mutans*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1170340.
- Kang, C. E., Park, Y. J., Kim, J. H., Lee, N. K., ve Paik, H. D. (2023). Probiotic *Weissella cibaria* displays antibacterial and anti-biofilm effect against cavity-causing *Streptococcus mutans*. *Microbial Pathogenesis*, 180, 106151.
- Karabulut, E. (2011). Propolisin Etanolik Ekstresinin *Helicobacter pylori*'ye Karşı Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. Farmasötik Mikrobiyoloji, Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Keskin, N., Hazir, S., Baser, K. H. C., ve Kürkçüoğlu, M. (2001). Antibacterial activity and chemical composition of Turkish propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 56(11-12), 1112-1115.
- Khan, I., Wei, J., Li, A., Liu, Z., Yang, P., Jing, Y., Zhang, C. (2022). *Lactobacillus plantarum* strains attenuated DSS-induced colitis in mice by modulating the gut microbiota and immune response. *International Microbiology*, 25(3), 587-603.
- Kiani, R., Mojgani, N., Kobarfard, F., Saffarian, P., Ayatollahi, S. A., ve Khoramjouy, M. (2024). Evaluating the Inhibitory Effects of Probiotic Bacteria and Propolis Extracts on the Growth and Histopathological Changes in Gastric Tissues of *Helicobacter pylori* Challenged Wistar Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 23(1), e148158.
- Kitahara, T., Koyama, N., Matsuda, J., Aoyama, Y., Hirakata, Y., Kamihira, S., Sasaki, H. (2004). Antimicrobial activity of saturated fatty acids and fatty amines against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(9), 1321-1326.
- Kocatepe, D., Erkoyuncu, İ., ve Turan, H. (2013). Su ürünleri kaynaklı patojen mikroorganizmalar ve zehirlenmeler. *Aquaculture Studies*, 2013(3).

- Kola, O., Duran, H., Ozer, M., ve Fenercioglu, H. (2015). Fatty acid profile determination of cold pressed oil of some nut fruits. *Rivista Italiana delle sostanze grasse*, 92, 107-111
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barauskaite, K., Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of their composition and biological activities. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 156.
- Kwak, S.-H., Cho, Y.-M., Noh, G.-M., Om, A.S. (2014). *Cancer preventive potential of kimchi lactic acid bacteria (Weissella cibaria, Lactiplantibacillus plantarum)*. 19(4), 253.
- Laleni, N. C., Gomes, P. D. C., Gkatzionis, K., ve Spyropoulos, F. (2021). Propolis particles incorporated in aqueous formulations with enhanced antibacterial performance. *Food hydrocolloids for health*, 1, 100040.
- Lazo, G. L., Lemes, D. C., Pauletti, P. M., Bastos, J. K., Ambrósio, S. R., Veneziani, R. C. S., ve Pires, R. H. (2025). Analysis of the antimicrobial activity of propolis: A narrative review of in-vitro studies. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 97(3), e20241302.
- Lee, J. S., Lee, K. C., Ahn, J. S., Mheen, T. I., Pyun, Y. R., ve Park, Y. H. (2002). *Weissella koreensis* sp. nov., isolated from kimchi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(4), 1257-1261.
- Letsididi KS, Lou Z, Letsididi R, Mohammed K, Maguy BL, 2018. Antimicrobial and antibiofilm effects of trans-cinnamic acid nanoemulsion and its potential application on lettuce. *Lwt*, 94, 25-32.
- Liu, C., An, C., Zhang, J., Liu, Y., Zhang, Q., Ding, H., Xue, W. (2025). Evaluation of Safety and Probiotic Properties of *Weissella* spp. in Fermented Vegetables
- McCall, L. I., Siqueira-Neto, J. L., McKerrow, J. H. (2016). Location, location, location: five facts about tissue tropism and pathogenesis. *PLoS pathogens*, 12(5), e1005519. From Xi'an, Shaanxi, China. *Food Science ve Nutrition*, 13(1), e4592.
- Matejczyk, M., Swislocka, R., Kalinowska, M., Widderskp, G., Lewandowsk, W., Jablonska-Trypao, A., Rosochacki, S. J. (2017). *In Vitro* Evaluation Of Biological Activity Of Cinnamic, Caffeic, Ferulic And Chlorogenic Acids With Use Of

- Escherichia Coli K-12 Reca:Gfp Biosensor Strain. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 74(3), 801-808.
- Maor, Y., Hagin, M., Belausov, N., Keller, N., Ben-David, D., ve Rahav, G. (2009). Clinical features of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia versus those of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia. *The Journal of infectious diseases*, 199(5), 619-624.
- Masood, A., Stark, K. D., Salem, N. (2005). A simplified and efficient method for the analysis of fatty acid methyl esters suitable for large clinical studies. *Journal of lipid research*, 46(10), 2299-2305.
- Memmedov, H., Aldemir, O., ve Aliyev, E. (2017). Propolisin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi. *Anadolu Araştırmaları Dergisi*, 9(2), 56–62.
- Mejía, J., Giovagnoli-Vicuña, C., Jacob, C., Montenegro, G., Moreno-Switt, A. I., ve Giordano, A. (2025). Antioxidant, Antibacterial, and Bioaccessibility Properties of Ultrasound-Extracted Chilean Propolis. *Antioxidants*, 14(6), 651.
- Mlynarczyk-Bonikowska, B., Kowalewski, C., Krolak-Ulinska, A., ve Marusza, W. (2022). Molecular mechanisms of drug resistance in *Staphylococcus aureus*. *International journal of molecular sciences*, 23(15), 8088.
- Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., ve Suzuki, N. (2003). Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food chemistry*, 80(1), 29-33.
- Nordström, E. A., Teixeira, C., Montelius, C., Jeppsson, B., ve Larsson, N. (2021). *Lactiplantibacillus plantarum* 299v (LP299V®): Three decades of research. *Beneficial microbes*, 12(5), 441-466.
- Ohashi, Y., ve Ushida, K. J. A. S. J. (2009). Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal* 80(4), 361-371.
- Onat, K. A., Sezer, M., ve Çöl, B. (2021). Fenolik bileşiklerden sinamik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit'in bazı biyolojik aktiviteleri. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(4), 2587-2598.
- Ondusko, D. S., ve Nolt, D. (2018). *Staphylococcus Aureus*. *Pediatrics İn Review*, 39(6), 287-298.
- Oroian, M., Ursachi, F., ve Dranca, F. (2020). Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105021.

- Özdemir, Ö. Ö. (2019). *Molecular Investigation Of Pathogenic Bacteria In The Presence Of Phenolic Acids* (Doctoral dissertation). Izmir Institute of Technology, İzmir, Türkiye.
- Park, H. E., Kim, D. H., Kim, J. H., Kang, M. S., ve Kim, H. J. (2019). Anti-inflammatory potential of probiotic strain *Weissella cibaria* JW15 isolated from kimchi. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(6), 928–936
- Park, Y. K., ve Ikegaki, M. (1998). Preparation of water and ethanolic extracts of propolis and evaluation of the preparations. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(11), 2230-2232.
- Parolia, A., Thomas, M. S., Kundabala, M., ve Mohan, M. (2010). Propolis and its potential uses in oral health. *Int J Med Sci*, 2(7), 210-5.
- Pilla, G., ve Tang, C. M. (2018). Going around in circles: virulence plasmids in enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 484-495.
- Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O., ve Bankova, V. (2005). Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine*, 12(3), 221-228.
- Pot, B., Salvetti, E., Mattarelli, P., ve Felis, G. E. (2019). The potential impact of the *Lactobacillus* name change: The results of an expert meeting organised by the Lactic Acid Bacteria Industrial Platform (LABIP). *Trends in Food Science ve Technology*, 94, 105-113.
- Przybyłek, I., ve Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047.
- Pujirahayu, N., Ritonga, H., ve Uslinawaty, Z. (2014). Properties and flavonoids content in propolis of some extraction method of raw propolis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 338–340.
- Rahman, M. M., Richardson, A., ve Sofian-Azirun, M. (2010). Antibacterial activity of propolis and honey against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology Research*, 4(16), 1872-1878.
- Rebiai, A., Belfar, M. L., Mesbahi, M. A., Nani, S., Tliba, A., Amara, D. G., ve Chouikh, A. (2017). Fatty acid composition of Algerian propolis. *J Fundam Appl Sci*, 9(3), 1656-71.

- Rifqialdi, G., Abduh, M. Y., ve Zainuddin, I. M. (2023). Isolation of active compounds using the Soxhlet method from propolis produced by *Tetragonula* spp. cultivated in a controlled environment *J. Eng. Technol. Sci.*
- Roh, J., ve Kim, K. R. (2018). Antimicrobial activity of Korean propolis extracts on oral pathogenic microorganisms. *Journal of dental hygiene science*, 18(1), 18-23.
- Rosendale, D. I., Maddox, I. S., Miles, M. C., Rodier, M., Skinner, M., ve Sutherland, J. (2008). High-throughput microbial bioassays to screen potential New Zealand functional food ingredients intended to manage the growth of probiotic and pathogenic gut bacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(12), 2257-2267.
- Saddiq, A. A., ve Danial, E. N. (2014). Effect of Propolis as a food additive on the growth rate of the beneficial bacteria. *Main Gr. Chem.* 13, 223–232.
- Sagdic, O., Silici, S., ve Yetim, H. (2007). Fate of *Escherichia coli* and *E. coli* O157: H7 in apple juice treated with propolis extract. *Annals of microbiology*, 57(3), 345-348.
- Sahlan, M., Akhmariadi, A., Pratami, D. K., Hermansyah, H., ve Wijanarko, A. (2018). Scale Up Production Indonesian Liquid Propolis From Raw Propolis and Wild Beehive Using Bubbling Vacuum Evaporator. In *MATEC Web of Conferences* (Vol. 248, p. 04001). EDP Sciences.
- Salveti, E., Torriani, S., ve Felis, G. E. (2012). The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 4, 217-226.
- Sforcin, J. M., ve Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of ethnopharmacology*, 133(2), 253-260.
- Sforcin, J. M., Fernandes Jr, A., Lopes, C. A. M., Bankova, V., ve Funari, S. R. C. (2000). Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 73(1-2), 243-249.
- Silici, S., ve Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of ethnopharmacology*, 99(1), 69-73.
- Siripatrawan, U., Vitchayakitti, W., ve Sanguandeeikul, R. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(1), 22–27.

- Slinkard, K., Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Song, H. N. (2006). Preparation of water soluble powder of propolis and the quality changes of its bread during storage. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 22(6), 905–913.
- Suleman, T., Van Vuuren, S., Sandasi, M., ve Viljoen, A. M. (2015). Antimicrobial activity and chemometric modelling of South African propolis. *Journal of applied microbiology*, 119(4), 981-990.
- Trembecka, L., Haščík, P., Čuboň, J., Bobko, M., ve Pavelkova, A. (2016). Fatty acids profile of breast and thigh muscles of broiler chickens fed diets with propolis and probiotics. *Journal of Central European Agriculture*.
- Uymaz, B. (2010). Probiyotikler ve Kullanım Alanları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1).
- Uzel, A., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., Gençay, Ö. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological research*, 160(2), 189-195.
- Ünal, M., Öztürk, O., Selçuk, M. Y., ve Oruç, M. A. (2020). Propolis: Literatür ne diyor? *Bal Teknolojileri Dergisi*, 10(2), 215–223.
- Vică, M. L., Glevitzky, M., Dumitrel, G. A., Popa, M., Glevitzky, I., ve Teodoru, C. A. (2024). Antimicrobial Activity of Honey and Propolis from Alba County, Romania. *Antibiotics*, 13(10), 952.
- Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Soto, S. M. (2016). *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS microbiology reviews*, 40(4), 437-463.
- Walter, J., ve O'Toole, P. W. (2023). Microbe profile: the Lactobacillaceae. *Microbiology*, 169(12), 001414.
- Widyastuti, Y., Febrisiantosa, A., ve Tidona, F. (2021). Health-promoting properties of lactobacilli in fermented dairy products. *Frontiers in Microbiology*, 12, 673890.
- Yao, D., Wang, X., Ma, L., Wu, M., Xu, L., Yu, Q., Zheng, X. (2022). Impact of *Weissella cibaria* BYL4. 2 and its supernatants on *Penicillium chrysogenum* metabolism. *Frontiers in Microbiology*, 13, 983613.

- Yazkan, S. N. Ş., ve Ertop, M. H. (2024). Maserasyon, reflüks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen kestane propolis ekstraktlarının farklı gıda modellerinde kullanımı: Fizikokimyasal, duyuusal ve biyoaktif niteliklere etkisi. *Food and Health*, 10(1), 22-39.
- Yeo, K. L., Leo, C. P., ve Chan, D. J. C. (2015). Ultrasonic enhancement on propolis extraction at varied pH and alcohol content. *Journal of Food Process Engineering*, 38(6), 562-570.
- Yıldız, B. M., ve Ünal, F. (2022). Propolisin kimyasal bileşimi ve biyolojik etkileri. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 3(1), 14-32.
- Yıldız, O. (2020). Tüketilebilir propolis ekstraktlarında kullanılan çözücülerin (menstrumların) değerlendirilmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 20(1), 24–37.
- Yılmaz, B., ve Tosun, H. (2012). Sütte bulunan doğal antimikrobiyal sistemler ve bunların gıda sanayiinde kullanımı. *Celal Bayar University Journal of Science*, 9(1), 11–20.
- Yu, H. S., Lee, N. K., Choi, A. J., Choe, J. S., Bae, C. H., ve Paik, H. D. (2019). Anti-inflammatory potential of probiotic strain *Weissella cibaria* JW15 isolated from kimchi through regulation of NF- κ B and MAPKs pathways in LPS-induced RAW 264.7 cells *J. Microbiol. Biotechnol.* 29(7): 1022-1032.
- Zhang, Y., Wei, J., Qiu, Y., Niu, C., Song, Z., Yuan, Y., ve Yue, T. (2019). Structure-dependent inhibition of *Stenotrophomonas maltophilia* by polyphenol and its impact on cell membrane. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2646.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., ... Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
- Zielińska, D., ve Kolożyn-Krajewska, D. (2018). Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *Biomed Research International*, 2018(1), 5063185.
- Zin, N. B. M., Azemin, A., Rodi, M. M. M., ve Mohd, K. S. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of stingless bee propolis from different

extraction methods. *International Journal of Engineering and Technology*, 7, 90-95.

Zulhendri, F., Chandrasekaran, K., Kowacz, M., Ravalia, M., Kripal, K., Fearnley, J., ve Perera, C. O. (2021). Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: a review. *Foods*, 10(6), 1360.

Zulkiflee, N., Taha, H., ve Usman, A. (2022). Propolis: Its role and efficacy in human health and diseases. *Molecules*, 27(18), 6120.



EKLER

EK 1. ORJİNALLİK RAPORU FORMU



ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 12.09.2025

Tez Başlığı: Çeşitli Gastroenterik Patojenler Ve Potansiyel Probiyotik *Lactiplantibacillus plantarum* Ve *Weisella cibaria* Suşları Üzerinde Propolisin Etkisinin Belirlenmesi

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş c) Ana bölümler ve d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 71 sayfalık kısmına ilişkin, 16/07/2025 tarihinde tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda işaretlenmiş filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 6'dır.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- ☒ Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç
- 2- ☒ Kaynakça hariç
- 3- ☒ Alıntılar hariç/dâhil
- 4- ☒ 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Ardahan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nde belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

12.09.2025

Adı Soyadı: Ahmet Sümer
Öğrenci No: 2200100004
Anabilim Dalı: Biyoteknoloji
Programı: Biyoteknoloji
Statüsü: ☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN GÖRÜŞ VE ONAYI

Dr. Öğr. Üyesi Duygu ALP BALTAKESMEZ

EK 2. ETİK MUAFİYET İZNİ

ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TEZ ÇALIŞMASI ETİK KOMİSYON MUAFİYETİ FORMU

ARDAHAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 12.09.2025

Tez Başlığı: Çeşitli Gastroenterik Patojenler Ve Potansiyel Probiyotik *Lactiplantibacillus plantarum* Ve *Weisella cibaria* Suşları Üzerinde Propolisin Etkisinin Belirlenmesi

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmam:

1. İnsan ve hayvan üzerinde deney niteliği taşımamaktadır,
2. Biyolojik materyal (kan, idrar vb. biyoloji
3. k sıvılar ve numuneler) kullanılmasını gerektirmemektedir.
4. Beden bütünlüğüne müdahale içermemektedir.
5. Gözlemsel ve betimsel araştırma (anket, mülakat, ölçek/skala çalışmaları, dosya taramaları, veri kaynakları taraması, sistem-model geliştirme çalışmaları) niteliğinde değildir.

Tez çalışmamın yürütülebilmesi için herhangi bir Etik Kurul/Komisyon'dan izin alınmasına gerek olmadığını; aksi durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

12.09.2025

Adı Soyadı: Ahmet Sümer
Öğrenci No: 2200100004
Anabilim Dalı: Biyoteknoloji
Programı: Biyoteknoloji
Statüsü: ☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN GÖRÜŞ VE ONAY

Dr. Öğr. Üyesi Duygu ALP BALTAKESMEZ

ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Ahmet SÜMER

Doğum Yeri ve Tarihi:

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi: Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi: Ardahan Üniversitesi / Biyoteknoloji ABD

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

İş Deneyimi

Çalıştığı Kurum: T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı- Ardahan Kafkas Arısı Üretim, Eğitim ve Gen Merkezi Müdürlüğü

İletişim

E-Posta Adresi:

Tarih

Jüri Tarihi: 12.09.2025