



## PROPOLİS EKSTRAKTI BİTKİSEL YAĞLARIN OKSİDATİF STABİLİTESİNİ İYİLEŞTİRMEK İÇİN DOĞAL BİR ANTIOKSİDAN OLARAK ÖNERİLEBİLİR

*PROPOLIS EXTRACT COULD BE RECOMMENDED AS A NATURAL ANTIOXIDANT TO IMPROVE VEGETABLE OIL OXIDATIVE STABILITY*

Ümit ERDOĞAN<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gül ve Aromatik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi,  
32260, Isparta, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, propolisin ultrasonik destekli etanolik ekstraktının, toplam fenolik içeriği, bireysel fenolik bileşenleri ve toplam antioksidan kapasitesi ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Çalışmamızın diğer bir amacı da propolis ekstraktlarının, zeytinyağı lipid oksidasyonu üzerindeki etkilerini sentetik antioksidanlara (BHA, BHT) kıyasla hızlandırılmış termal koşullar altında yapılan testlerle ortaya koymaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Propolis ekstraktının toplam antioksidan kapasitesini CUPRAC metoduna göre belirledik. Diğer taraftan propolis ekstraktının polifenolik içeriği Folin testiyle belirlendi. Propolisin fenolik bileşiklerin tanımlanması ise ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) kullanılarak gerçekleştirildi. Hızlandırılmış depolama koşulları altında, propolisin sızma zeytinyağının oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisinin belirlenmesi shall oven testine göre analiz edildi.

**Sonuç ve Tartışma:** Sonuçlar propolisin fenolik bileşenler açısından zengin olduğunu ortaya koydu. CUPRAC tahliline göre propolis ekstraktının toplam antioksidan kapasitesi  $2.013 \pm 0.03$  mmol TR/g-propolis ekstraktı olarak hesaplandı. Propolis ekstraktının toplam fenolik içeriği  $1.67 \pm 0.008$  mmol TR/g-propolis ekstraktı olarak hesaplandı. Dahil edilen propolis ekstraktlı yağlar, daha düşük peroksit değeri ve kısmen azaltılmış tokoferol içeriği de dahil olmak üzere çok daha iyi kimyasal stabilite sergiledi. Veriler, propolis ekstraktının zeytinyağının oksidasyonunu geciktirmede BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlara kıyasla daha etkili olduğunu gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** CUPRAC metodu, folin testi, lipid oksidasyonu, propolis, oksidatif stabilite

\* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ümit Erdoğan  
e-posta / e-mail: umiterdogan@isparta.edu.tr, Tel. / Phone: +905327934329

## ABSTRACT

**Objective:** *In this study, the total phenolic content, individual phenolic components, and total antioxidant capacity of the ultrasonically assisted ethanolic extract of propolis were investigated in detail. Another aim of our study was to reveal the effects of propolis extracts on olive oil lipid oxidation compared to synthetic antioxidants (BHA, BHT) with tests performed under accelerated thermal conditions.*

**Material and Method:** *We determined the total antioxidant capacity of propolis extract by CUPRAC assay. On the other hand, the polyphenolic content of propolis extract was determined by the Folin assay. Identification of phenolic compounds of propolis was performed using reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The effect of propolis on the oxidative stability of extra virgin olive oil under accelerated storage conditions was studied using the Shall oven test.*

**Result and Discussion:** *The results revealed that propolis is rich in phenolic components. According to the CUPRAC assay, the total antioxidant capacity of propolis extract was calculated to be  $2.013 \pm 0.03$  mmol TR/g-propolis extract. The total phenolic content of the propolis extract was calculated to be  $1.67 \pm 0.008$  mmol TR/ g-propolis extract. The oils with propolis extract incorporated exhibited much better chemical stability, including lower peroxide value and partly decreased tocopherols content. Data showed that propolis extract was more effective in delaying the oxidation of olive oil compared to synthetic antioxidants such as BHA and BHT.*

**Keywords:** *CUPRAC assay, folin test, lipid oxidation, propolis, oxidative stability*

## GİRİŞ

Propolis, ağaçların kozalak ve kabuklarından, bitki tomurcuklarından ve sürgünlerinden arılar tarafından toplanan doğal bir üründür. Propolisin içeriği toplandığı bölgeye ve mevsime göre değişmektedir. Propolisin, güçlü antimikrobiyal [1], antiviral, antiinflamatuvar [2], antioksidan [3], rejeneratif, antikanser, antimitojenik ve karsinostatik etkileri vardır [4], bileşiminde yağlar, polen, özel reçine ve mumsu maddelerin karışımı vardır [5]. Propolis genel olarak polifenoller (flavonoidler, fenolik asitler ve esterleri), terpenoidler, steroidler ve amino asitler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içerir [6]. Propolisin tüm biyoaktif bileşenleri, farmakolojik aktivitesinden sorumludur. Propolis, biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri nedeniyle Avrupa'dan Doğu Asya'ya kadar geleneksel tıp, kozmetik ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır [7,8]. Propolisin yüksek tıbbi potansiyeli ve terapötik etkinliği, geleneksel tıp uygulamalarında yaygın olarak kullanılmasına katkıda bulunmuştur. Propolis yüksek miktarda fenolik bileşen içerdiğinden önemli antioksidan aktivite gösterir. Bu nedenle, gıda uygulamaları için sentetik antioksidanlardan daha güvenli olan doğal antioksidanlara artan bir ilgi vardır ve tüketici tercihlerinde doğal antioksidanlara artan bir ilgi vardır [9].

Lipid oksidasyonu, lipid açısından zengin gıda maddelerinde çeşitli fiziksel ve kimyasal değişikliklere neden olan çeşitli reaksiyonları içeren son derece çok yönlü bir süreçtir [10]. Yemeklik yağların işlenmesinden depolanmasına kadar geçen süreçte peroksitler, aldehitler, ketonlar ve lipid oksidasyonunu temsil eden diğer küçük moleküller gibi bileşikler oluşur. Lipid oksidasyonu sırasında oluşan bu bileşiklerin çoğu, lezzet, doku, besin değeri, koku ve renk gibi gıda kalite parametrelerini etkiler. Ayrıca bu oksitleyici ajanların bazıları insan sağlığı üzerinde toksik etkilere sahiptir [11]. Lipidlerin depolama stabilitesini arttırmak için sentetik ve doğal antioksidanlar kullanılmaktadır. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bitkisel yağ endüstrisinde en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlardır [12]. Gıdalarda en yaygın olarak BHA, BHT, propil gallat (PG) ve tertbutilhidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar kullanılsa da, bazı raporlar, BHA ve BHT gibi bazı sentetik antioksidanların bazı hayvanlarda yüksek seviyelerde zayıf kanserojen etkilere sahip olabileceğini göstermiştir [13]. Ayrıca "BHT'nin insan vücudunda kanserojen olabilecek diğer maddelere dönüşebileceği" endişesi de var. Örneğin, BHT'nin bir dönüşüm ürününün (hidroperoksit formu), hücreden hücreye gönderilen kimyasal sinyalleri bozduğu gösterilmiştir [14]. Bu nedenle, hükümet yetkilileri ve tüketiciler, gıdaların güvenliği ve sentetik katkı maddelerinin potansiyel sağlık etkileri konusunda endişe duymaktadır. Şu andaki araştırmalar, BHA ve BHT gibi sentetik katkı maddelerinin, farklı yemeklik yağlarda daha fazla antioksidan aktiviteye ve stabiliteye sahip doğal

maddelerle değiştirilmesine ve tüketicilerin güvenlik konusundaki artan ilgisini karşılamaya yöneliktir.

Bu çalışmada, ultrasonik destekli etanolik propolis ekstraktının, fenolik bileşenleri ve toplam antioksidan kapasitesi ayrıntılı olarak tartışılmıştır. Bu amaçla, propolis ekstraktının toplam antioksidan kapasitesini bakır iyonlarının ( $\text{Cu}^{2+}$ ) azaltıcı antioksidan kapasiteye (CUPRAC) göre belirledik. Çalışmamızın diğer bir amacı da propolis ekstraktlarının sızma zeytinyağı lipid oksidasyonu üzerindeki etkilerini sentetik antioksidanlara (BHA, BHT) kıyasla hızlandırılmış termal koşullar altında yapılan testlerle ortaya koymaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Kimyasallar

Bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bakır(II) klorür dihidrat ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), Neocuproine (Nc:  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2$ ), 2,2'-Bipiridin ( $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$ ), DL- $\alpha$ -Tokoferol, Troloks (TR), Folin – Ciocalteu fenol reaktifi ve Sodyum potasyum tartarat tetrahidrat ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) Sigma Chemical Co.'dan (St. Louis, MO, ABD) satın alındı. Mutlak etanol (EtOH, %99), ISOLAB Laborgeräte GmbH (Eschau, ALMANYA)'den satın alındı. Amonyum asetat ( $\text{NH}_4\text{Ac}$ ), sodyum tiyosülfat pentahidrat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), sodyum hidroksit (NaOH), bakır (II) sülfat pentahidrat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), demir(III) klorür heksahidrat ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alındı. Kullanılan diğer tüm kimyasallar analitik saflıktaydı ve Sigma-Aldrich veya Merck'ten elde edildi.

### Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)

Türkiye'nin Isparta ili Eğirdir-Sorkuncak Köyü'nden (uydu konum koordinatları;  $38^\circ 1' 25.5288''$  Kuzey ve  $30^\circ 52' 22.3032''$  Doğu) toplanan propolis örnekleri, işlenene kadar güneşten uzakta gölgede kurutuldu. Nemden arındırılmış propolis örnekleri ekstraksiyondan önce kahve değirmeni (Sinbo SCM 2934-Türkiye) ile öğütülerek hazırlandı. Propolisin ultrasonik destekli etanolik ekstraksiyonu Zhang ve ark. (2009) tarafından önerilen yöntemine göre gerçekleştirildi [15]. 10 g öğütülmüş propolis kapalı bir şişede 100 mL %96'lık etanol ortamında ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon için ultrasonik banyo sistemi (Power sonic 180, 40 kHz frekans ve maksimum 150 W, iç ölçü: 300 mm  $\times$  150 mm  $\times$  100 mm) kullanıldı. Ultrasonik ekstraksiyon, aşağıdaki deneysel koşullar altında gerçekleştirildi: sıcaklık:  $50^\circ\text{C}$ ; zaman: 45 dakika; katı/çözücü oranı: 1:10 (w/v) ve maksimum ultrason gücü: 40 kHz ve 150 W güç. Toplanan ekstraktlar Whatman No: 1 filtre kağıdından süzüldü ve çözücüler döner bir buharlaştırıcı (IKA RV 10 digital, IKA, Almanya) ile  $55^\circ\text{C}$ 'de vakum altında buharlaştırılarak uzaklaştırıldı. Ekstraksiyon prosedürü paralel olarak üç kez gerçekleştirildi. Ekstraksiyon verimi aşağıdaki eşitlik (1) kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Verim} = (\text{Ekstrakt ağırlığı} / \text{kuru örnek ağırlığı}) \times 100 \quad (1)$$

### Çözeltilerin Hazırlanması

10mM  $\text{CuCl}_2$  çözeltisi, 0.4262 g  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'nun az miktarda distile suda çözünmesi ve distile su ile 250 ml'ye seyreltilmesiyle hazırlandı. 1.0 M amonyum asetat tamponu (pH= 7.0), 19.27 g  $\text{NH}_4\text{Ac}$ 'nin az miktarda distile su içinde çözünmesi ve 250 mL'ye seyreltilmesiyle hazırlandı. 7.5mM Neocuproin (Nc) çözeltisi, 0.078 g Nc' nin %96 etanol içinde çözünmesi ve etanol ile 50 ml'ye seyreltilmesiyle günlük olarak hazırlandı. %0.2'lik  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  çözeltisi; 0.2 g Demir(III) klorür heksahidrat etanolde çözünmesi ve %95'lik etanolle 100 mL'ye seyreltilmesiyle hazırlandı. % 0.07'lik 2,2'-bipiridin çözeltisi; 70 mg 2,2'-Bipiridin'in %95'lik etanol ortamında çözünmesi ve etanol ile 100 ml'ye seyreltilmesiyle hazırlandı. Toplam fenoliklerin Folin analizinde kullanılan çözeltiler ise şu şekilde hazırlandı. Lowry A: 0.1 M NaOH içinde % 2 lik sodyum karbonat çözeltisi, Lowry B: % 1'lik sodyum potasyum tartarat tetrahidrat çözeltisinde % 0.5  $\text{CuSO}_4$  sulu çözeltisi, Lowry C: Karışım olarak taze hazırlanmış (50 ml Lowry A + 1 ml Lowry B). Folin-Ciocalteu reaktifi kullanımdan önce 1:3 hacim oranında  $\text{H}_2\text{O}$  ile seyreltildi. Tüm yüzdeler (ağırlık/hacim) olarak verildi.

### Folin Reaktifi Yöntemiyle Toplam Fenolik Analizi

Propolis ekstraktlarının toplam fenolik içeriği, Güçlü ve ark., (2005) tarafından önerilen Folin yöntemine göre belirlendi [16]. 0.5 ml seyreltik propolis ekstraktına 1.5 ml distile su ilave edildi. Üzerine 2.5 ml Lowry C solüsyonu eklendi ve karışım 10 dakika beklemeye bırakıldı. Bu süre sonunda 0.25 ml Folin reaktifi ilave edilerek oluşan mavi rengin stabil hale gelmesi için 30 dakika daha beklendi. Absorbans değerleri, örnek içermeyen kör reaktife karşı bir UV-Vis spektrofotometrede (UV-1280, Shimadzu, Japan) 750 nm'de ölçüldü. Propolis ekstraktının toplam fenolik içeriği aşağıdaki eşitliğe (2) göre mmol TR/g- propolis ekstrakt olarak hesaplandı.

$$\text{Toplam fenolik (mmol TR/g – ekstrakt)} = \frac{A}{\epsilon_{\text{TR}}} \times \frac{V_t}{V_0} \times S_f \times \frac{V_E}{m} \quad (2)$$

Burada; A: 750 nm'de ölçülen numune absorbansı;  $\epsilon_{\text{TR}}$ : Folin yönteminde TR bileşiğinin molar absorpsiyon katsayısı:  $4.65 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [16];  $V_t$ : Folin yöntemi ölçüm çözeltisinin toplam hacmi (4.75 ml);  $V_0$ : Örnek hacmi (0.5 ml);  $S_f$ : Seyreltme faktörü (seyreltme yapılmayacaksa bu faktör "1" olarak alınır);  $V_E$ : Hazırlanan ekstraktın hacmi (50 ml); m: Ekstraksiyon işleminde alınan numune miktarı (0.051 g).

### Fenolik Bileşenlerin Analizi

Fenolik bileşiklerin miktar tayini daha önce Caponio ve diğerleri tarafından bildirilen yöntemle gerçekleştirildi [17]. Ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) kullanıldı. Kullanılan analitik HPLC sistemi, bir SCL-10 Avp Sistemi kontrolörü, bir SIL-10AD vp Otomatik Örnekleyici, bir LC-10AD vp pompası, bir DGU-14a degazör, bir CTO-10 A vp kolon ısıtıcısı ve 278 nm ye ayarlanmış bir diyot dizisi dedektöründen oluşuyordu. Ayırma, 30 °C'de bir Agilent Eclipse 5µm XDB 250 x 4,6 mm kolon üzerinde gerçekleştirildi. Akış hızı 0.8 mL dk-1, enjeksiyon hacmi 20 µL idi. İki çözücünün gradyan elüsyonu kullanıldı: Solvent A, asetik asit-su (3:97, v/v), solvent B: metanol ve kullanılan gradyan programından oluşuyordu. Analitik veriler, bir Shimadzu Sınıfı-VP Kromatografi Laboratuvarı Otomatik Yazılım Sistemi (Chiyoda-ku, Tokyo, Japonya) kullanılarak değerlendirildi. Ekstrakttaki fenolik bileşiklerin miktarı, her fenolik standart için oluşturulan harici kalibrasyon eğrileri kullanılarak µg/g ekstrakt olarak hesaplandı.

### Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Propolis ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesi, Apak ve ark., (2006) tarafından geliştirilen CUPRAC metoduna göre belirlendi [18]. Propolis ekstraktının CUPRAC metoduna göre toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için; 0.110 g propolis ekstraktı tartıldı ve üzerine 50 ml %96'lık etanol ilave edildi ve 8 kat etanolle seyreltilerek son nihai çözümden 0.5 mL örnek alınarak aşağıdaki formül uygulandı. Her test 3 paralel olarak hazırlandı. Kısaca, cam bir tüpe sırasıyla 1 ml bakır(II) çözeltisi (10mM), 1 ml neocuproin çözeltisi (7.5mM) ve 1 ml amonyum asetat tamponu (1M, pH:7) eklendi. Daha sonra, 8 kat etanol ile seyreltilmiş ekstrakt çözeltisinden 0.5 ml ve 0.6 ml distile su eklenerek son hacim 4.1 ml'ye tamamlandı. Toplam 4.1 ml hacimde hazırlanan çözeltiler oda koşullarında 30 dakika bekletildi. Bu süre sonunda örnek içermeyen referans çözeltisine karşı absorbans değerleri, bir UV-Vis spektrofotometrede (UV-1280, Shimadzu, Japan) 450 nm' de ölçüldü.

Referans Çözeltisi: 1 ml Cu(II) + 1 ml Nc + 1 ml NH<sub>4</sub>Ac + 1.1 ml H<sub>2</sub>O

Numune Çözeltisi: 1 ml Cu(II) + 1 ml Nc + 1 ml NH<sub>4</sub>Ac + 0.5 ml numune çözeltisi + 0.6 ml H<sub>2</sub>O

Saf troloks standardı (TR) için kalibrasyon eğrisi orijinden geçen bir çizgi olduğundan, nihai solüsyondaki ekstrakt numunesinin troloks eşdeğer molar konsantrasyonu, gözlemlenen absorbansın troloks için  $\epsilon$  'ye bölünmesiyle bulunabilir (optik küvet kalınlığı = 1 cm). Troloksa eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAK), tüm seyreltmeler göz önünde bulundurularak orijinal ekstreye kadar izlenebilir ve milimol TR/g -kuru madde birimi cinsinden bir kapasite bulmak için alınan numunenin başlangıç kütlesiyle orantılıdır [18]. Propolis ekstraktının toplam antioksidan kapasitesi aşağıdaki eşitliğe (3) göre mmol troloks/g- propolis ekstrakt TEAK eşdeğeri olarak hesaplandı.

$$\text{TAK (mmol TR/g – ekstrakt)} = \frac{A}{\epsilon_{\text{TR}}} \times \frac{V_t}{V_0} \times S_f \times \frac{V_E}{m} \quad (3)$$

Burada; TAK: toplam antioksidan kapasite; A: 450 nm'de ölçülen numune absorpsansı;  $\epsilon_{\text{TR}}$ : CUPRAC yönteminde TR bileşiğinin molar absorpsiyon katsayısı:  $1.67 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [19];  $V_t$ : CUPRAC yöntemi ölçüm çözeltisinin toplam hacmi (4.1 ml);  $V_0$ : Örnek hacmi (ml);  $S_f$ : Seyreltme faktörü (seyreltme yapılmıyorsa bu faktör "1" olarak alınır);  $V_E$ : Hazırlanan ekstraktın hacmi (ml);  $m$ : Ekstraksiyon işleminde alınan numune miktarı (g).

### Sızma Zeytinyağının Antioksidanlarla Zenginleştirilmesi

Sızma zeytinyağının deney setleri aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

- ✓ Sızma zeytinyağı (boş)
- ✓ 200 ppm BHA (%0.02, w/w) ile birleştirilmiş sızma zeytinyağı
- ✓ 200 ppm BHT (%0.02, w/w) ile birleştirilmiş sızma zeytinyağı
- ✓ 2500 ppm propolis ekstraktı (% 0.25, w/w) ile birleştirilmiş sızma zeytinyağı

Yağ numunelerindeki BHT ve BHA konsantrasyonu, Codex Alimentarius Komisyonu tarafından belirlenen seviyeye karşılık gelen %0.02 (w/w) idi [20].

### Schaal Oven Testi

Hızlandırılmış depolama koşulları altında yağların oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlayan schaal oven testi Tinello ve Lante tarafından tarif edildiği gibi gerçekleştirilmiştir [21]. Ayrıntılı olarak, yağ numuneleri, alüminyum folyo ile kaplanmış sızdırmaz şişelere, üst boşluk bırakılmadan hassas bir şekilde tartılmış ( $30 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ ) ve 28 gün boyunca  $60 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  sabit sıcaklıkta bir etüvde saklanmıştır. Numuneler 7 günlük aralıklarla alınmış ve peroksit değerini belirlemek için analizlere tabi tutulmuştur.

### Peroksit Değerinin Belirlenmesi

Peroksit değeri (PD) daha önceki çalışmalarımıza göre belirlendi [22]. Yağ numunesi ( $1 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ ), 25 mL asetik asit-kloroform (3:2 v/v) karışımı içinde çözündürüldü ve ardından 0.5 mL doymuş KI solüsyonu eklendi. Reaksiyon solüsyonu 1 dakika kuvvetlice çalkalandı ve karanlıkta 5 dakika oda sıcaklığında tutuldu. 75 mL distile su ve 1 mL %1 nişasta indikatörü eklendikten sonra reaksiyon çözeltisi 0.001 N ile renksiz son noktaya ulaşılan kadar 30 s titre edildi. PD aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{PD (meq O}_2\text{/kg yağ)} = (V \times N \times 1000)/m \quad (4)$$

Burada V, yağ örneğine (mL) eklenen sodyum tiyosülfatın hacmidir; N, sodyum tiyosülfatın normalitesidir; m, yağ örneğinin (g) kütesidir.

### Toplam Tokoferol Analizleri

Toplam tokoferol içeriği, Wong ve ark. tarafından açıklanan yöntemle göre belirlendi [23]. 10 mL'lik bir deney tüpüne, 0.2 g etanolik propolis ekstraktı tartıldı. Üzerine toluen (5 ml) ilave edildikten sonra, 3.5 ml 2,2'-bipiridin (%0.07) ve 0.5 ml  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (%0.2) ilave edilip, çözelti %95 etanol kullanılarak 10 ml'ye tamamlandı. 1 dakika sonra 520 nm'de absorpsiyon, referansa karşı spektrofotometrede belirlendi (Referans çözelti örnek yerine toluen içeriyordu ve diğer adımlar aynıydı). Benzer şekilde  $\alpha$ -tokoferolün 50, 100, 150, 200 ve 250  $\mu\text{g ml}^{-1}$  konsantrasyonları hazırlanarak yukarıda açıklanan yöntemle göre kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Ekstraktaki toplam tokoferoller aşağıdaki eşitlikten (5) hesaplandı ve sonuçlar numunenin gram başına miligram [ $\text{mg } \alpha$ -tokoferolün /g] cinsinden  $\alpha$ -tokoferolün eşdeğerleri olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Toplam tokoferoller (ppm)} = (A_e - A_b)/(M \cdot W) \quad (5)$$

Burada  $A_e = 10 \text{ mm}$  hücrede numune absorpsiyonu,  $A_b = 10 \text{ mm}$  hücrede boş absorpsiyon,  $M = \alpha$ -tokoferol kalibrasyonu için absorpsansa karşı ağırlık grafiği ve  $W =$  numunenin ağırlığı (g).

## İstatistiksel Analiz

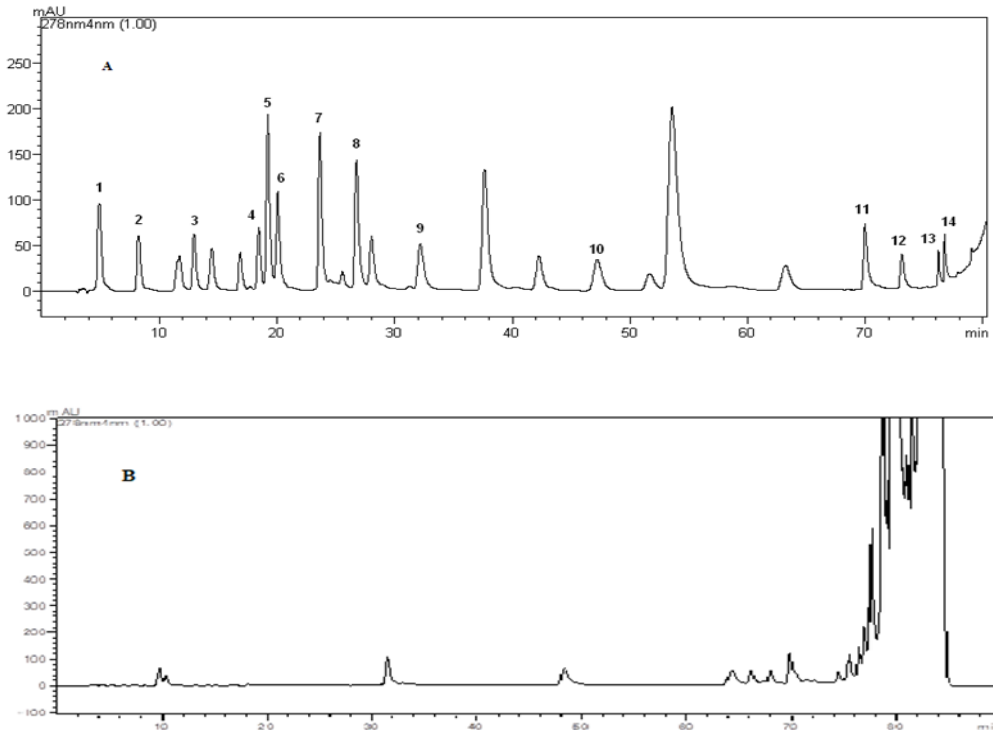
Sunulan veriler (ortalama  $\pm$  standart sapma) en az üç bağımsız deneyden elde edildi ve SPSS tarafından analiz edildi (Windows 10 pro, SPSS Inc. için sürüm 23). Değerler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve anlamlılık  $p < 0.05$  olarak ayarlanarak post hoc Tukey testi ile analiz edildi.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Propolisin Ekstraksiyon Verimliliği, Toplam Fenolik İçeriği ve Fenolik Bileşen Profili

Mevcut çalışmada, ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle, etanol (%96) kullanılarak yüksek bir propolis ekstraktı verimi üretti. Ekstraksiyon verimi  $49.31 \pm 2.22$  idi. Bu verim, literatürde bildirilen bulgularla tutarlıydı [24]. Diğer indirgeyici ajanlar gibi fenolikler de, molibden mavisi tipi bir heteropoli asit reaksiyonunda Folin reaktifi ile reaksiyona girdiğinden [25], Folin testinin sonuçları da troluks (TR) eşdeğerleri olarak bildirilebilir. Çünkü TR bu analizlerde referans olarak kullanılan bir antioksidan bileşiktir ve Folin testi esasında fenollerin yanı sıra diğer antioksidanlara da cevap verdiği için elektron transferine dayalı bir antioksidan kapasite testidir [26]. Mevcut çalışmada propolis ekstraktının toplam fenolik içeriği  $1.67 \pm 0.008$  mmol TR/g-propolis ekstraktı olarak hesaplanmıştır.

Propolis ekstraktının bireysel fenolik bileşenleri, HPLC-DAD ile karakterize edildi. Şekil 1A ve 1B, sırasıyla bir standart kromatogramını ve propolis ekstraktının numune kromatogramını göstermektedir.



**Şekil 1.** A) Standartlar için HPLC kromatogramı. B) Propolis ekstraktında tanımlanan ana fenolik bileşikler için HPLC kromatogramı

1: Gallik asit; 2: Protokateşik asit; 3: p- Hidroksibenzoik asit; 4: epikateşin; 5:sirinjik asit; 6: vanilin; 7: p-kumarik asit; 8: ferulik asit; 9: benzoik asit; 10:hesperidin; 11:kuersetin; 12: luteolin; 13: kaempferol; 14: apigenin

Tablo 1'de  $\mu\text{g}$  fenolik/g-propolis ekstraktında tanımlanan farklı fenolik bileşiklerin miktarları sunulmuştur. Fenolik bileşikler esas olarak fenolik asitler ve flavonoidlerden oluşur. Fenolik asitler, aromatik bir halka, karboksil ve hidroksil gruplarından oluşan bileşiklerdir. Mevcut çalışmada propolis ekstraktındaki benzoik asit miktarı ( $1250 \mu\text{g/g}$ ) diğer fenolik asitlerle karşılaştırıldığında baskındı. Bunu

sırasıyla *p*-Hidroksibenzoik asit (29.3 µg/g), *p*-Kumarik asit (18.3 µg/g), Protokateşik asit (12.5 µg/g), Gallik asit (11.6 µg/g), Sirinjik asit (11.3 µg/g) ve Ferulik asit (10.1 µg/g) izledi. Diğer taraftan, Flavonoid bileşikler, C6-C3-C6 karbon iskeletine sahip, fenil-benzo piron türevlerinden meydana gelen polifenollerdir [27]. Flavonoidler doymamışlık derecesine, üç karbonlu segmentin oksidasyon derecesine ve bağlı hidroksil gruplarının sayısına göre ayrılırlar. Hesperidin, propolis ekstraktında nicel olarak en bol bulunan flavonoiddi (4753.1 µg/g). Propolis ekstraktının diğer önemli flavonoid bileşenleri şu şekilde tanımlanmıştır; apigenin (1554 µg/g), kaempferol (1509 µg/g), kuersetin (1485 µg/g), epikateşin (290 µg/g) ve luteolin (240 µg/g). Sonuçlar, propolis ekstraktının fenolik bileşikler açısından zengin olduğunu ortaya koydu.

**Tablo 1.** Propolis ekstraktında tanımlanan fenolik bileşiklerin profili.

Bileşen	Ahkonma zamanı	propolis ekstrakt (µg /g)
Gallik asit	4.9	11.6
Protokateşik asit	8.3	12.4
<i>p</i> - Hidroksibenzoik asit	13.1	29.3
Epikateşin	18.7	290.3
Sirinjik asit	19.5	11.3
Vanilin	20.3	18.4
<i>p</i> -Kumarik asit	24.0	18.3
Ferulik asit	27.2	10.1
Benzoik asit	32.9	1251.0
Hesperidin	48.3	4753.1
Kuersetin	70.4	1485.9
Luteolin	73.5	240.9
Kaempferol	76.3	1509.3
Apigenin	76.9	1554.9

Propolis ekstraktında kafeik asit 1,1-dimetilalil ester, kafeik asit benzil ester ve izoferulik asit benzil ester güçlü alerjenler olarak sınıflandırılmıştır [28]. Sınıflandırmaya göre, kafeik asit sinamil ester ve izoferulik asit fenetil ester, propoliste düşük konsantrasyonlarda bulunan orta derecede alerjendir. Propoliste düşük ve yüksek konsantrasyonlarda bulunan zayıf alerjenler benzoik asit ve sinamik asitken, yalnızca düşük konsantrasyonlarda bulunanlar ise vanilin, ferulik asit benzil ester, sinamil alkol, izoferulik asit sinamil ester, izoferulik asit 3-metil-2- butilen ester ve nerolidol'dür [29]. Bu bilgiler ışığında değerlendirildiğinde elde ettiğimiz propolis ekstraktında güçlü ve orta derecede alerjen bileşen olmadığı görülmüştür.

### Propolis Ekstraktının Antioksidan Kapasitesi

Bu çalışmada propolis ekstraktının toplam antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemine göre belirlenmiştir. CUPRAC reaktifi, diğer kromojenik reaktiflere (örn. ABTS, DPPH) göre daha kararlı ve erişilebilir avantajlara sahiptir [30]. CUPRAC yönteminde, antioksidan aktivitenin ölçümü, bakırın (II) varlığında bakır (I)'e indirgenmesiyle elde edilen sarı-turuncu bir kompleksin (bakır (I)-eocuproin) absorbans değerinin belirlenmesi ilkesine dayanır. 450 nm'de antioksidan bileşiklerin Bakır İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) yöntemi, besin bileşenleri, sentetik antioksidanlar ve C ve E vitaminleri dahil olmak üzere birçok farklı bileşeni uygulamak için basit ve çok yönlü bir antioksidan kapasite yöntemidir. CUPRAC testine göre, propolis ekstraktının  $2.013 \pm 0.03$  mmol TR/g- propolis ekstrakt olarak hesaplandı. Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin CUPRAC yöntemine göre toplam antioksidan kapasitesi 0.71 ile 8.24 mmol TR/g- propolis ekstraktı arasında bulunmuştur [31].

## Propolis Ekstraktının Lipid Oksidasyonu Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi

Propolisin gıdaya eklenmesi, insanlar için faydalı özelliklerin korunması ve gıdaların korunması ile birlikte gıdadaki lezzetini ve kokusunu en aza indirecek şekilde seçilmelidir [32]. Balık, sosis, kümes hayvanları eti ürünleri, elma suyu, süt ve bal gibi çeşitli gıda ürünlerine minimal propolis ekstraktının eklenmesi (yani,  $\leq 0.5\%$ ) duyuşsal olarak kabul görmektedir [28]. Çok sayıda rapora göre propolis toksik değildir ve güvenlidir. İnsanlar için hesaplanan güvenli doz günde 1.4 mg/kg vücut kütlesi veya yaklaşık 70 mg/gün'dür [33]. Raporlara göre, propolise alerjisi olan kişilerin yüzdesi %1.2 ile %6.6 arasında değişmektedir [34]. Ayrıca, propolisin içerdiği alerjenlere daha fazla maruz kalma tehdidi altındaki meslek grubunun, hammadde ile günlük temas halinde olan arıcılar olduğu kanıtlanmıştır [35]. Bu çalışmada, yukarıda sunulan veriler dikkate alınarak, yağa % 0.25 propolis ekstraktı katkısının uygun olabileceği varsayılmıştır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif parçalanması lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu, kendi kendini idame ettiren bir zincirleme reaksiyon olarak ilerler ve oldukça zararlıdır. Yağ asitlerinin doymamış bağları, peroksidasyon ürünleri oluşturmak için moleküler oksijenden türetilen serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer. Aktif metilen gruplarının varlığında peroksitler de kararsızdır ve dihidroperoksitlere ve ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşür. Hidroperoksitler, istenmeyen bir tat olmaksızın lipid oksidasyonunun birincil ürünleridir, buna karşın ikincil oksidasyon ürünleri çoğunlukla kokuşmuş tattan sorumludur [36]. Peroksit değeri (PD), yemeklik yağlarda oksidasyonun başlangıç seviyesini ölçmek için kullanılır ve birincil oksidasyon ürünleridir [37]. Daha yüksek bir PD, daha düşük bir oksidatif stabiliteye bağlanır [38]. 60 °C'de farklı sürelerde depolama sırasında BHA, BHT ve propolis ekstraktı ile birleştirilmiş sızma zeytinyağının PD'indeki (meq O<sub>2</sub> / kg - yağ) değişiklikler Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Farklı süreler için 60 °C'de depolama sırasında BHA, BHT ve propolis ile birleştirilmiş sızma zeytinyağının peroksit değerindeki (meq O<sub>2</sub>/kg-yag) değişiklikler

Yağ örneği	Depolama zamanı (gün)	PD (meq O <sub>2</sub> /kg-yag)			
		Boş	BHA	BHT	PROPOLİS
Sızma Zeytinyağı	0	6.69 ± 0.07 <sup>b</sup>	6.81 ± 0.37 <sup>b</sup>	6.66 ± 0.18 <sup>b</sup>	7.57 ± 0.05 <sup>a</sup>
	7	17.97 ± 0.30 <sup>a</sup>	11.61 ± 0.17 <sup>b</sup>	11.10 ± 0.59 <sup>b</sup>	8.12 ± 0.49 <sup>c</sup>
	14	34.19 ± 0.69 <sup>a</sup>	22.49 ± 0.31 <sup>b</sup>	16.62 ± 0.44 <sup>c</sup>	9.12 ± 0.23 <sup>d</sup>
	21	46.77 ± 0.52 <sup>a</sup>	35.02 ± 0.78 <sup>b</sup>	22.38 ± 0.24 <sup>c</sup>	10.01 ± 0.14 <sup>d</sup>
	28	78.93 ± 1.76 <sup>a</sup>	49.32 ± 0.61 <sup>b</sup>	32.91 ± 0.82 <sup>c</sup>	11.96 ± 0.84 <sup>d</sup>

Ortalama ± standart sapma. Yağ örneği için aynı satırdaki ortalama değerler (n=3) ve ardından farklı harfler (a,b,c ve d) önemli ölçüde farklı olduğunu gösterir (p < 0.05). Kısaltmalar: PD, peroksit değeri; BHA, bütillenmiş hidroksianisol BHT, bütillenmiş hidroksitoluen.

28 günlük depolama süresi boyunca, antioksidan içeren ve içermeyen yağ örneklerinin PD değerleri artmıştır. 28. günde, boş sızma zeytinyağının daha yüksek PD'si vardı (78.93 meq O<sub>2</sub> / kg - yağ). 28. günün sonunda, propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş zeytinyağı, önemli ölçüde (p < 0.05) daha düşük PD değerlerine (11.96 meq O<sub>2</sub>/kg yağ) sahipti. Propolis ekstraktındaki fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri, zeytinyağının oksidasyonunu geciktirme konusunda büyük bir yetenek göstermiştir. Aslında propolis ekstraktında bulunan fenolik bileşiklerden biri olan kuersetin'in lipid oksidasyonunun gecikmesine katkı sağladığı söylenebilir. Çünkü kuersetin'in çoklu doymamış yağ asitlerince zengin deniz yağlarında lipid oksidasyonunu engellediği daha önce bildirilmişti [39]. BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldığında propolis ekstraktları lipid oksidasyonu üzerinde etkili bir koruma yeteneğine sahipti. Depolama sonunda, sentetik antioksidan (BHT) içeren zeytinyağının (32.91 meq O<sub>2</sub>/kg yağ) PD değeri, boş ve BHA içeren zeytinyağının PD değerinden düşük, ancak propolis özü ile birleştirilmiş zeytinyağının PD değerinden daha yüksekti. 28. günde, BHA ile birleştirilen zeytinyağının PD değerleri (49.32 meq O<sub>2</sub>/kg yağ), propolis özü ve BHT'nin dahil edildiği



karşılık gelen yağlardan önemli ölçüde ( $p < 0.05$ ) daha yüksek PD değerlerine sahipti. BHA, zeytinyağında oksidasyona karşı daha düşük yetenek sergilemiştir.

### Toplam Tokoferol Analizi

Farklı zamanlarda BHA, BHT ve propolis ekstraktı ile birleştirilmiş sızma zeytinyağının toplam tokoferollerindeki (mg/kg yağ) değişiklikler Tablo 3'te sunulmuştur. Tokoferoller yaygın olarak yenilebilir yağlarda bulunur ve güçlü antioksidan aktivite sergiler. Antioksidan eklenmiş veya eklenmemiş tüm yağ numunelerinin toplam tokoferol içeriği depolamanın 0. gününden depolamanın son gününe kadar düşmüştür. 28 günlük depolama sırasında, boş sızma zeytinyağının toplam tokoferol içeriği keskin bir şekilde azaldı (147.98 mg/kg). Antioksidanlar arasında BHA, tokoferollerin (304.55 mg/kg) bozulmasını önlemede daha düşük bir korumaya sahipti. 28. günde, BHT ile zenginleştirilmiş zeytinyağında kalan tokoferoller 631 mg/kg olmuştur. Propolis ekstraktının zeytinyağına dahil edilmesi, sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT) kıyasla tokoferollerin bozunma hızını daha da yavaşlattı. 28. günde, propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş zeytinyağında kalan tokoferoller 967.34 mg/kg idi. Propolis ekstraktının (%0.25) yağ numunelerine eklenmesi, tokoferol bozulmasını önemli ölçüde engellemiştir ve tokoferol bozulmasının bu inhibisyonu, içerdiği flavonoidler ve fenolik bileşiklerle ilişkili olabilir [40]. 28. günün sonunda, propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş yağda neredeyse toplam tokoferoller bozulmamıştır.

**Tablo 3.** Farklı süreler için BHA, BHT ve propolis ile birleştirilmiş sızma zeytinyağının toplam tokoferollerindeki (mg/kg yağ) değişiklikler

Yağ örneği	Depolama süresi (gün)	Boş	BHA	BHT	PROPOLİS
Sızma zeytinyağı	0	1005 ± 15.93	1044±12.85	1068.11 ± 34.33	1095 ± 26.02
	28	147.98 ± 20.87	304.55 ± 4.9	631.08 ± 19.14	967.34 ± 40.46

Bu çalışmada propolis ekstraktlarının, polifenol içeriği, bireysel fenolik bileşenleri ve toplam antioksidan kapasitesi detaylı olarak tartışılmıştır. Ayrıca propolis ekstraktlarının lipid oksidasyonuna karşı koruyucu etkisi değerlendirildi. Veriler, propolisin polifenol ve bireysel fenolik bileşikler açısından zengin olduğunu gösterdi. *In vitro* antioksidan yöntemler kullanılarak propolisin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu bulunmuştur. Sonuçlar, propolis ekstraktının zeytinyağının oksidasyonunu geciktirmede BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlara kıyasla daha etkili olduğunu göstermiştir. Araştırma bulguları, sentetik antioksidanlar (BHA ve BHT) ile karşılaştırıldığında, yenilebilir yağların oksidasyonunu geciktirmede daha etkili olduğunu ortaya koydu. Dahil edilen yağlar, daha düşük peroksit değeri ve kısmen azaltılmış tokoferol içeriği dahil olmak üzere çok daha iyi kimyasal stabilite sergiledi. Sentetik antioksidanlara alternatif olarak propolis ekstraktı, yenilebilir bitkisel yağların stabilizasyonunu iyileştirmek için etkili bir doğal antioksidan olarak önerilebilir. Propolis ekstraktlarının gıda endüstrisinde kullanımının yağları oksidasyondan korumanın etkili bir yolu olduğu söylenebilir. Bununla birlikte, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), propolisin tüm özelliklerinin bulunmaması ve çeşitli propolis formülasyonlarının bileşimindeki farklılıklar nedeniyle, gıda ürünleri etiketlerine eklenecek propolis ile ilgili sağlık beyanlarını üretim yeri ve ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak şu ana kadar yayınlamamıştır [41]. Bu nedenle, propolis ekstraktının farklı yemeklik yağlar üzerindeki koruyucu etkilerini kapsamlı bir şekilde araştırmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

### TEŞEKKÜR

Bu araştırma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi destek almamıştır.

## YAZAR KATKILARI

Kavram: Ü.E.; Tasarım: Ü.E.; Denetim: Ü.E.; Kaynaklar: Ü.E.; Malzemeler: Ü.E.; Veri Toplama ve/veya İşleme: Ü.E.; Analiz ve/veya Yorumlama: Ü.E.; Literatür Taraması: Ü.E.; Makalenin Yazılması: Ü.E.; Kritik İnceleme: Ü.E.; Diğer: Ü.E.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## ETİK KURUL ONAYI

Yazar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

## KAYNAKLAR

1. 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. [\[CrossRef\]](#)
2. Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), 235-240. [\[CrossRef\]](#)
3. Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamed, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S.E.S., Ostad, S.N. (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chemistry*, 103(3), 729-733. [\[CrossRef\]](#)
4. Kimoto, T., Aga, M., Hino, K., Koya-Miyata, S., Yamamoto, Y., Micallef, M.J., Kurimoto, M. (2001). Apoptosis of human leukemia cells induced by Artepillin C, an active ingredient of Brazilian propolis. *Anticancer Research*, 21(1A), 221-228.
5. Osés, S.M., Pascual-Maté, A., Fernández-Muiño, M.A., López-Díaz, T.M., Sancho, M.T. (2016). Bioactive properties of honey with propolis. *Food chemistry*, 196, 1215-1223. [\[CrossRef\]](#)
6. Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food chemistry*, 84(3), 329-339. [\[CrossRef\]](#)
7. Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., Ishii, E., Midorikawa, K., Matsushige, K., Kadota, S. (2001). Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine*, 8(1), 16-23. [\[CrossRef\]](#)
8. Chaillou, L.L., Nazareno, M.A. (2009). Bioactivity of propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to their chemical composition. *LWT-Food Science and Technology*, 42(8), 1422-1427. [\[CrossRef\]](#)
9. Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 210-218. [\[CrossRef\]](#)
10. Maqsood, S., Benjakul, S., Abushelaibi, A., Alam, A. (2014). Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: A detailed review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1125-1140. [\[CrossRef\]](#)
11. Karami, H., Rasekh, M., Mirzaee-Ghaleh, E. (2020). Qualitative analysis of edible oil oxidation using an olfactory machine. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(5), 2600-2610. [\[CrossRef\]](#)
12. Yıldız, S., Turan, S., Kiralan, M., Ramadan, M.F. (2021). Antioxidant properties of thymol, carvacrol, and thymoquinone and its efficiencies on the stabilization of refined and stripped corn oils. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 621-632. [\[CrossRef\]](#)
13. Shahidi, F., Zhong, Y. (2010). Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(9), 930-940. [\[CrossRef\]](#)
14. Haas, E.M., Levin, B. (2006) *Staying Healthy with Nutrition: The Complete Guide to Diet & Nutritional Medicine*, 21st Century Edition Celestial Arts, California.
15. Zhang, Q.A., Zhang, Z.Q., Yue, X.F., Fan, X.H., Li, T., Chen, S.F. (2009). Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder. *Food Chemistry*, 116(2), 513-518. [\[CrossRef\]](#)
16. Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S.E., Apak, R. (2006). Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. *International Journal Of Food Science & Technology*, 41, 76-85. [\[CrossRef\]](#)
17. Caponio, F., Alloggio, V., Gomes, T. (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry*, 64(2), 203-209. [\[CrossRef\]](#)

18. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., Erçağ, E. (2006) The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 292-304. [CrossRef]
19. Çelik, S.E., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R. (2010). Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. *Talanta*, 81(4-5), 1300-1309. [CrossRef]
20. Codex Alimentarius Commission, Codex General Standard for Food Additives (FAO/WHO, 2019) Retrieved from <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/gsfa/en/>. Erişim tarihi: 25.08.2022.
21. Tinello, F., Lante, A. (2020). Accelerated storage conditions effect on ginger-and turmeric-enriched soybean oils with comparing a synthetic antioxidant BHT. *LWT-Food Science and Technology*, 131, 109797. [CrossRef]
22. Erdoğan, Ü., Gökçe, E.H. (2021). Fig seed oil-loaded nanostructured lipid carriers: Evaluation of the protective effects against oxidation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15835. [CrossRef]
23. Wong, M.L., Timms, R.E., Goh, E.M. (1988). Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and stearin. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 65(2), 258-261. [CrossRef]
24. Chong F.C., Chua L.S. (2020). Effects of solvent and pH on stingless bee propolis in ultrasound-assisted extraction. *AgriEngineering*, 2, 308-316.
25. Santos-Buelga, C., Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds—nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1094-1117. [CrossRef]
26. Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. [CrossRef]
27. Khadem, S., Marles, R.J. (2010). Monocyclic phenolic acids; hydroxy-and polyhydroxybenzoic acids: occurrence and recent bioactivity studies. *Molecules*, 15(11), 7985-8005. [CrossRef]
28. Pobjega, K., Kraśniewska, K., Gniewosz, M. (2019). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 53-62. [CrossRef]
29. Basista-Soltys, K., Filipek, B. (2013). Allergic potential of propolis-a literature review. *Alergia Astma Immunologia*, 18(1), 32-38.
30. Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K.S., Erçağ, E., Çelik, S.E., Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical Methods*, 3(11), 2439-2453. [CrossRef]
31. Sarıkahya, N.B., Gören, A.C., Okkalı, G.S., Çöven, F.O., Orman, B., Kırıcı, D., Nalbantsoy, A. (2021) Chemical composition and biological activities of propolis samples from different geographical regions of Turkey. *Phytochemistry Letters*, 44, 129-136. [CrossRef]
32. Wang, C.Y., Chen, B.H. (2006). Tomato pulp as source for the production of lycopene powder containing high proportion of cis-isomers. *European Food Research and Technology*, 222(3), 347-353. [CrossRef]
33. Walgrave, S.E., Warsaw, E.M., Glesne, L.A. (2005). Allergic contact dermatitis from propolis. *Dermatitis*, 16(4), 209-215.
34. Münstedt, K., Kalder, M. (2009). Contact allergy to propolis in beekeepers. *Allergologia et Immunopathologia*, 37(6), 298-301. [CrossRef]
35. Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347-363. [CrossRef]
36. Choe, E., Min, D.B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*, 72(5), R77-R86. [CrossRef]
37. Iqbal, S., Bhangar, M.I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100(1), 246-254. [CrossRef]
38. Naghshineh, M., Ariffin, A.A., Ghazali, H.M., Mirhosseini, H., Mohammad, A.S. (2010). Effect of saturated/unsaturated fatty acid ratio on physicochemical properties of palm olein-olive oil blend. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(3), 255-262. [CrossRef]
39. Montero, P., Giménez, B., Pérez-Mateos, M., Gómez-Guillén, M. (2005). Oxidation stability of muscle with quercetin and rosemary during thermal and high-pressure gelation. *Food Chemistry*, 93(1), 17-23. [CrossRef]
40. Marquale, F.D., Stracieri, K.M., Fonseca, M.J.V., Freitas, L.D. (2006). Spray-dried propolis extract. I: physicochemical and antioxidant properties. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61(4), 325-330.

41. EFSA. (2010). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to propolis (ID 1242, 1245, 1246, 1247, 1248, 3184) and flavonoids in propolis (ID 1244, 1644, 1645, 3526, 3527, 3798, 3799) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal, 8(10), 1810. [\[CrossRef\]](#)