

## PROPOLİSTEKİ YAĞ ASİTLERİ VE ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ ÜZERİNDE İN VİTRO ARAŞTIRMALAR

### IN VITRO ANTIMICROBIAL EFFECT OF PROPOLIS AND ITS FATTY ACIDS

Metin DIGRAK<sup>1</sup>, Ökkeş YILMAZ<sup>1</sup>, Sait ÇELİK<sup>2</sup>, Seher YILDIZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 23169-ELAZIĞ

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 23169-ELAZIĞ

**ÖZET:** Propolis, arı kovanlarının dış ortamdan izole edilmesi, kuvvetlendirilmesi ve dezenfeksiyonu için kullanılan doğal bir arı ürünüdür. Propolisin etanolik ekstraktının insandaki tuberkuloza neden olan basiller dahil, Gram - Gram + basil ve koklara karşı genel bir antimikrobiyal etkisinin olduğu bulunmuştur. Propolis etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri, *Escherichia coli* ATCC 25922 dışında çalışmada kullandığımız bakteri ve maya suşlarının gelişmelerini engellediği tesbit edildi. Ekstrakte edilen yağ asitlerden nervonik asit (24:1) 15,8 mg/g, palmitik asit (16:0) 9,6 mg/g ve stearik asit (18:0) 2,72 mg/g propolis olarak belirlendi.

**ABSTRACT:** Propolis is a natural resinous product of honey bees, used by the bees to strengthen, isolate and disinfect their nests. Ethanolic extract of propolis was found to have antibacterial activity against a range of commonly encountered cocci and Gram - Gram + rods, including the human tuberculosis bacilli. In screening studies at different concentration of ethanolic extract of propolis completely inhibited the growth of in this study used microorganisms but not inhibit the growth of *Escherichia coli* ATCC 25922. Nervonic acid (24:1), palmitic acid (16:0) and stearic acid (18:0) were extracted from propolis found 15,8, 9,6 and 2,72 mg/g respectively.

#### GİRİŞ

Propolis, çeşitli bitkilerin tomurcuk, yaprak ve gövdelerinden, arılar tarafından toplanıp biriktirilen, mumdan daha farklı olarak reçinemsî bir karışımdır. İçindeki bileşikler propolisin toplandığı bitkilerin tür ve çeşitlerine göre değişir. Arı, bitkinin öz suyunu veya reçinesini parçalar ve *Corbiculae* denilen torbada biriktirir. Daha sonra bu maddeler kovana taşınır, oradaki çatlak ve yarıkların kapatılmasında ve kovanın dezenfekte edilmesinde kullanılır (GREENAWAY ve ark., 1988).

Propolis, rengi sarımsı yeşilden koyu kahverengiye kadar değişen, bal mumundan ancak alkolle eriyerek ayrılabilen, muhteiyatı henüz tam olarak analiz edilmemiş kimyasal bir karışımdır. İçinde bulunan maddeler, kaynağı olduğu bitkiye göre değişir. Propolis daha çok kayın, karaağaç ve kozalaklı ağaçlardan toplanır (KONIG ve ark., 1985).

Propolis üzerinde yapılan çalışmalar, bu maddenin bir çok antimikrobiyal özellikler taşıdığını, aynı zamanda içinde insan sağlığı için çok önemli ve gerekli olan vitaminler, mineral ve elementleri de ihtiva ettiğini göstermiştir. İlave olarak B1, B2, C ve E vitaminleri ile bakır, kalsiyum, aliminyum, stronsiyum ve vanadium elementlerinin bulunduğu belirtilmiştir (BANKOVA ve ark., 1982). Ayrıca, miristik asit, benzoik asit, benzil alkol, vanilin, sinamik asit, pinosembrin, galangin, kafeik asit, acacetin, kamferide ve izovanilin gibi kimyasal bileşiklerin de bulunduğu tesbit edilmiştir (GREENAWAY ve ark., 1987; BANKOVA ve ark., 1992). Propolisin etanolik ekstraktının, zengin flavonoidler, fenolik bileşikler ve esterleri, sekkuiterpenler, steroidler, aminoasitler ve inorganik iz elementler ihtiva ettiği de belirtilmektedir (KROL ve ark., 1993; IKENO ve ark., 1991; BANKOVA ve ark., 1992). İlave olarak, propolisin kemik oluşumunu hızlandırdığı, farklı dokuların, kemik, kıkırdak ve diş etlerinin rejenerasyonuna sebep olduğu tesbit edilmiştir (KROL ve ark., 1993).

Propolis ekstraktında bulunan pinobanksin-3- acetate (flavonoid), pinocemprin, galangin, benzyl p-coumarate ve kafeik asitin antimikrobiyal aktivitesi olduğunu tesbit etmişlerdir. Araştırmacılar, propolisin *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Trichophyton mentaogrophytes* türlerine karşı antimikrobiyal etkisinin olduğunu belirtmişlerdir (METZNER ve ark., 1975).

Kafeik asit fenetil ester propolisten izole edilmiş ve tümör hücreleri için sitotoksik etkisi olduğu belirtilmiştir (GRUNBERGER ve ark., 1988; RAO ve ark., 1993; FRENKEL ve ark., 1993).

Propolisin deney farelerinin diş etleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar propoliste sinamik asit, sinamik asit etil ester, sinamik asit metil ester, kafeik asit, krisin ve kuersetin bulunduğunu tesbit

etmişlerdir. Ayrıca, propolisin *Streptococcus sobrinus*, *S. mutants* ve *S. cricetus* türlerine karşı antimikrobiyal etkisinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Farklı bölgelerden toplanan propolisin bakteri gelişmesini engelleyici etkisinin benzer olduğunu belirtmişlerdir (IKENO ve ark., 1991).

Propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde çalışan araştırmacılar, Propolisin 1:20 dilüsyonunda *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *Enterococcus spp.*, *Crynebacterium spp* *Branhamella catarrhalis* ve *Bacillus subtilis*'in gelişmesini tamamen engellediğini bulmuşlar. Aynı çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*'nin gelişmesini kısmen engellerken *Klebsiella pneumoniae* üzerinc etkili olmadığını belirtmektedirler. Ayrıca *Mycobacterium tuberculosis* suşunu 1:320 dilüsyonda tamamen, 1:640 dilüsyonunda kısmen gelişmesini engellediğini belirtmektedirler (GRANGE ve DAVEY, 1990).

Propolis ateşli hastalıklarda ateş düşürücü, yaraların iyileşmesinde hücre yenileyicisi olarak kullanılmaktadır (GRUNBERGER ve ark., 1988). Son zamanlarda tesbit edilen ve propolis bileşenlerinden olan kafeik asitin bakteriosidal ve ateş düşürücü etkisinin olduğu belirlenmiştir. Fakat kafeik asid fenetil esterinin (CAFE) daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca CAFE'nin kanser ve katarakt gibi insan hastalıklarının tedavi edilmesinde kullanılabileceğini de göstermişlerdir (FRENKEL ve ark., 1993). Propolisin antimikrobiyal etkisi FOCHT ve ark. (1993), KUJUMGIEV ve ark (1993), ABDÜLSALAM ve ark., (1989) BRUMFITT ve ark.. (1990) tarafından da araştırılmıştır. Ayrıca propolisin antifungal LINDENFELSER, (1967), antiprotozon MAXIMOVA ve ark., (1985) ve antiviral KONIG ve DUSTMANN, (1985); AMOROS ve ark. (1992) etkisinin bulunduğu belirtilmektedir.

Bu çalışmada Elazığ yöresindeki arı kovanlarından toplanan propolisin antimikrobiyal etkisi ve yağ asidi bileşenleri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışma ile, propolisin farklı yönlerinin araştırılmaya değer doğal bir ürün olduğunu belirtmek ve şimdiye kadar yapılan ve yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### 1. Materyal

#### 1.1. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizma suşları Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan alınmıştır. Araştırmada *Bacillus megaterium* DSM 32, *B. subtilis* IMG 22, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus sp.*, *Enterobacter aerogenes* bakteri türleri ile *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans* mayaları kullanılmıştır.

### 2. Metot

#### 2.1. Örneklerin Alınışı

Propolis örnekleri, Elazığ ili Sütluce, Harput, Akmezra, Gezin ve Gözeli mevkilerinden toplanmıştır. Arı kovanlarından steril kavanozlara alınan örnekler laboratuvara getirilerek, ekstraksiyon yapıncaya kadar -6°C'de saklanmıştır (KROL ve ark., 1993).

#### 2.2. Propolis Etanolik Ekstraktının Hazırlanması

Propolisten 30 g tartılmış ve 300 ml % 95'lik etil alkol ilave edilerek 37°C'de 4 gün süreyle bekletilmiştir (AMOROS ve ark., 1992). Örnek ara ara elle çalkalanarak homojen hale gelmesi sağlanmıştır. Etanolik ekstrakt, Whatman # 1 numaralı filtre kağıdı ile süzülüş, altta kalan sıvı kısım döner buharlaştırıcıda, BUCHI Rotavapor RE III, 9230, Flavil/İsviçre, kuruyuncaya kadar buharlaştırılmıştır (KROL ve ark., 1993). Elde edilen ekstrakt Propolis Balzamu olarak isimlendirilmiştir (GHISALBERTI, 1979). Propolis Balzamu'nun antimikrobiyal etkisi araştırılncaya kadar -24°C'de bekletilmiştir.

#### 2.3. Propolis ve Antibiyotik Disklerinin Hazırlanması

Propolisin mikroorganizmalar üzerine etkisi Disk Diffüzyon Metodu ile belirlenmiştir (COLLINS ve LYNE, 1985; ÖZÇELİK, 1992). Propolis balzamu Aseton (Merck) veya Dimentilsülfoksit (Merck) ile (AMOROS ve ark., 192), Streptomisin sülfat ve Ampisilin sodyum ise asetonunda çözülerek farklı konsantrasyonlarda (5,0; 10,0; 50,0 ve 100,0 µg ekstrakt emdirilmiştir.

#### 2.4. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Bakteri suşları Nutrient Buyyon (Difco)'a aşlanarak 30±0,1°C de 18-24 saat, maya suşları Malt Ekstraktı Buyyon (Difco)'da 25±0,1°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Erlenmayer kaplarında sterilize

edilmiş ve 45-50°C'ye kadar soğutulmuş Müller Hinton Agar (Difco), yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan bakteri ve maya suşlarının buyyondaki kültürü ile % 1 oranında aşılanaarak iyice çalkalandıktan sonra 9,0 cm çapındaki steril petri kutularına 5'er ml dağıtılmış ve besiyerinin homojen bir şekilde petri kutusu içinde dağılması sağlanmıştır. Katılaşıan agar üzerine propolis ve antibiyotik emdirilmiş diskler hafifce bastırılarak yerleştirilmiş ve petri kutuları 4°C'de 1 saat bekletildikten sonra, bakteri aşılanaan plaklar 35±0,1°C'de 18 saat, maya aşılanaan plaklar 25±0,1°C de 3-4 gün süre ile inkübe edilmiştir. Kontrol olarak sadece aseton emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Propolisin antimikrobiyal etkisinin karşılaştırılması için Streptomisin sülfat ve Ampisilin sodyum kullanılmıştır.

### 2.5. Propolisteki Lipitlerin Ekstraksiyonu

Propolis balzamındaki total lipitlerin ekstraksiyonu Folch ve ark., (1957)'nin belirttiği metoda göre, 30 ml 2:1 oranında kloroform-metanol kullanılarak ekstrakte edilmiştir (CHRISTIE, 1992).

### 2.6. Yağ Asitlerinin Ekstraksiyonu ve Tayini

Ekstrakte edilen toplam lipitten 10 ml alınmıştır. Çözücüsü azot akımı altında döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılarak 2 ml toluende çözülmüş ve 20 ml SCHOT GL ağzı kapaklı deney tüplerine alınmıştır. Üzerine % 90'lık metanolda hazırlanmış % 5'lik NaOH çözeltisinden 5 ml ilave edilerek (KATES, 1986) iyice karıştırılmıştır. Su banyosunda 50°C de 12 saat süre ile hidroliz edilmiştir. Karışıma 5 ml saf su ilave edilerek, 1:1, v/v; 3x5 ml hekzan: dietileter karışımı ile: 1. aşamada sabunlaşmayan maddelerin ekstraksiyonu yapılmıştır. Daha sonra, ortamda Na tuzları halinde bulunan yağ asitleri 6 M HCl ile pH = 1 olana kadar asitlendirilerek serbest hale getirilmiştir. II. aşamada ise, 1:1, v/v; 3x5 ml hekzan: dietileter karışımı ile yağ asitlerinin ekstraksiyonu yapılmıştır. elde edilen ekstraktlar susuz NaSO<sub>4</sub> ile muamele edilerek suyu alınmıştır. Çözücüsü azot akımı ile uçurularak miktar tayini yapılmıştır. Yağ asidi miktarı (KATES, 1986)'nin belirttiği formüle göre yüzde olarak hesaplanmıştır.

Buna göre, % yağ asidi =  $ax100/b$

a= Yağ asidi miktarı, g; b= Toplam lipid miktarı, g

### 2.7. Yağ Asitlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Toplam yağ asidi içindeki yağ asitlerinin cins ve miktar tayinleri Packard 439 marka gaz kromatografisi (GC) ile yapılmıştır (GARCIAVIGUERA ve ark., 1993). Bunun için elde edilen lipid numunesinden 10 ml alınarak çözücüsü azot akımı ile uçurulmuştur. Kalıntı 2 ml toluende çözülerek üzerine % 1'lik metanolik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> asitten 5 ml ilave edilmiş (CHRISTIE, 1992) ve iyice karışması sağlanmıştır. Su banyosunda 50°C de 12 saat süre ile esterleştirilmiştir. Karışıma 5 ml % 5'lik NaCl çözeltisi ilave edilerek, oluşan yağ asidi metil esterleri, 2x5 ml hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Metil esteri karışımı 5 ml % 2'lik KHCO<sub>3</sub> ile yıkanarak susuz sodyum sülfat ile muamele edilmiştir. Suyu alındıktan sonra süzülerek hacmi 2 ml getirilmiştir. Gaz kromatografisinde analize hazır duruma getirilen yağ asidi metil esteri karışımı, aşağıda çalışma şartları verilen gaz kromatografisine enjekte edilmiştir.

Dedektör : Alev İyonlaştırıcı Dedektör (FID)

Kolon : 2 m uzunluk 2 mm iç çap % 20 DEGS sıvı fazı ile kaplı 80-100 mesh

Chromosorb W.

Sıcaklık programı (°C) : Dedektör : 200; Enjeksiyon: 200; Kolon: 135-185 C, (2°C/dak)

Gaz akış hızları (ml/dak) Azot : 15; Hidrojen: 15; Hava: 300

Enfeksiyon hacmi : 1 µl

## SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### Propolisin Antimikrobiyal Etkisi

Yapılan bu çalışmada bulunan sonuçlar, in vitroda propolisin Gram + ve Gram - bakterilere karşı çok aktif olarak antibiyotik etki ettiğini göstermektedir. Elazığ yöresindeki arı kovanlarından toplanan propolisin antimikrobiyal etkisi Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1'de görüldüğü gibi farklı yörelerden toplanan propolis, araştırmada kullandığımız mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. Ancak *E. coli* ATCC 25922'nin gelişmesi üzerinde etkili olmamıştır. Farklı yörelerden toplanan propolisin antimikrobiyal etkisinin yaklaşık benzer olduğu tesbit edilmiştir. Bu sonuç da propolisteki etkili antimikrobiyal maddelerin benzer olabileceğini göstermektedir.

GRANGE ve DAVEY (1990) tarafından yapılan çalışmada, propolisin Gram - ve Gram bakteriler üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği tesbit edilmiştir. Araştırmacılar farklı yörelerden topladıkları propolis örneklerinin antimikrobiyal etkisinin benzer olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlar bizim yaptığımız çalışmaya uygunluk sağlamaktadır. Ancak *L. monocytogenes*'in selektif besiyerinde geliştiği zaman propolise karşı dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmamızda kullandığımız propolis örnekleri belirtilen bakterinin gelişmesini engellemiştir.

Yapılan başka bir araştırmada, 150 µg/ml propolisin *Toxoplasma gondii* ve *Trichomonas vaginalis*'i 24 saat içinde öldürdüğü tesbit edilmiştir (STARZYK ve ark., 1977). Ayrıca, ABDULSALAM ve ark., (1989), GRANGE ve DAVEY, (1990), BRUMFITT ve ark., (1990) tarafından bulunan sonuçlar, bu araştırmada tesbit ettiğimiz bulgulara uygunluk sağlamaktadır.

Propolisin 100 µg/disk konsantrasyonda, *S. aureus* ve *B. subtilis* IMG '22'a karşı antimikrobiyal etkisi Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Elazığ Yöresinden Toplanan Propolisin Antimikrobiyal Etkisi

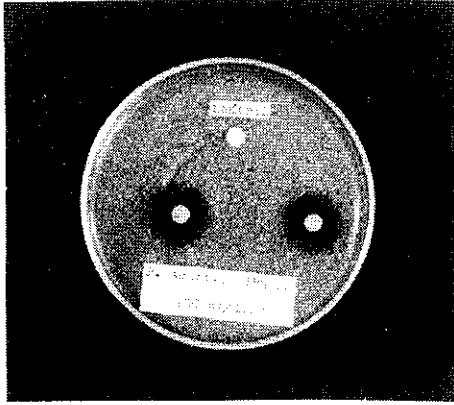
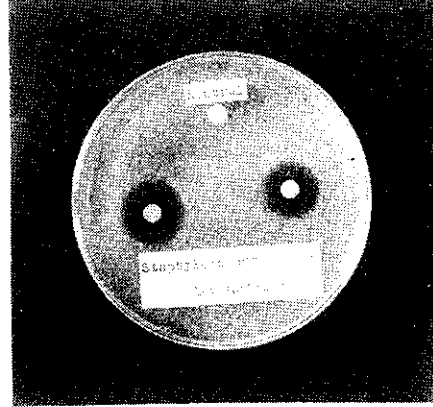
Mikroorganizmalar	Propolis	Sütlüce	Harput	Gezin	Gözel	Akmezra
		Inhibisyon zonu, mm	Inhibisyon zonu, mm	Inhibisyon zonu, mm	Inhibisyon zonu, mm	Inhibisyon zonu, mm
<i>B. megaterium</i>	100	19	16	16	17	16
	50	14	16	15	13	14
	10	10	10	10	13	10
	5	10	10	10	10	9
	1	7	8	7	6	-
<i>E. coli</i>	100	-	-	-	-	-
<i>Staph. aureus</i>	100	15	16	20	18	18
	50	15	13	16	14	17
	10	12	10	11	13	15
	5	11	10	10	10	10
	1	7	-	9	7	8
<i>L. monocytogenes</i>	100	19	19	20	19	22
	50	15	15	19	12	19
	10	12	12	19	12	16
	5	10	10	15	8	12
	1	8	8	12	-	13
<i>P. aeruginosa</i>	100	15	17	20	16	15
	50	15	15	19	16	14
	10	10	13	12	10	12
	5	9	13	9	8	10
	1	7	9	6	-	6
<i>Kleb. pneumoniae</i>	100	18	16	15	16	17
	50	14	13	15	11	15
	10	11	10	11	10	10
	5	7	9	6	-	6
<i>Streptococcus sp.</i>	100	19	17	18	18	17
	50	17	12	18	16	13
	10	13	8	13	10	10
	5	9	-	9	-	7
	1	6	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	100	22	19	19	19	21
	50	20	18	19	16	14
	10	20	12	12	11	11
	5	13	9	6	8	8
	1	10	7	-	-	-
<i>E. aerogenes</i>	100	17	19	17	18	19
	50	11	13	15	16	15
	10	10	13	12	12	10
	5	7	11	9	9	7
	1	-	-	-	6	-
<i>Sacch. cerevisiae</i>	100	17	19	17	20	19
	50	18	17	13	19	15
	10	13	10	8	12	11
	5	9	6	6	8	7
	1	-	6	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	100	13	16	16	13	15
	50	11	14	14	13	12
	10	10	12	12	9	8
	5	-	8	8	-	-
	1	-	-	-	-	-

Geniş bir antibakteriyal etki spektrumuna sahip olan Streptomisin sülfat ve Ampisilin sodyum, propolisin antimikrobiyal etkisini karşılaştırmak için kullanılmıştır. Streptomisin sülfat'ın antimikrobiyal etkisi Çizelge 3.2'de, Ampisilin sodyum'un Çizelge 3.3'de belirtilmiştir.

Streptomisin sülfat'ın *S.cerevisiae* ve *C. albicans* ve *E.coli* dışında diğer bakterilerin gelişmesini engellediği Çizelge 3.2'de görülmektedir. Çizelge 3.1 ile karşılaştırıldığı zaman propolisin antimikrobiyal etkisine yakın sonuçlar bulunmuştur. Ancak Streptomisin sülfat'ın düşük konsantrasyonlarda bile bazı türlere karşı daha etkili olduğu görülmüştür.

Ampisilin sodyum ise *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'un gelişmesini engellemiştir. Çalışmada kullandığımız diğer türler üzerine etkili olmamıştır (Çizelge 3.3). Propolis ile karşılaştırıldığında Ampisilin sodyum, en düşük konsantrasyonda propolisten daha fazla inhibisyon zonu oluşturmuştur. Ancak propolisin, ampisilin sodyum'a göre daha geniş spektrumda etki ettiği bulunmuştur.

Propolisin alkol ile hazırlanan çözeltisi antibiyotik disklere emdirilmiş, sonuçların aseton ve dimetilsülfoksit ile hazırlanan disklerdekine benzer olduğu görülmüştür.

a: *B. subtilis*b: *S. aureus*

Şekil 3.1. Propolisteki antimikrobiyal maddelerin *B. subtilis* ve *S. aureus* ile aşılansız agarda oluşturduğu inhibisyon zonu

Çizelge 3.2. Streptomisin Sülfat'ın Farklı Konsantrasyonlarda Antimikrobiyal Etkisi

Mikroorganizmalar	Streptomisin sülfat, µg/disk				
	100	50	10	5	1
İnhibisyon zonu, mm					
<i>B. megaterium</i>	20	18	13	11	9
<i>B. brevis</i>	24	19	18	13	10
<i>B. subtilis</i>	28	19	16	15	12
<i>B. cereus</i>	22	20	12	12	10
<i>E. aerogenes</i>	21	17	10	15	11
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	28	20	11	11	9
<i>L. monocytogenes</i>	24	19	18	12	9
<i>P. aeruginosa</i>	25	23	16	13	10
<i>S. aureus</i>	21	22	22	20	13
<i>Streptococcus sp.</i>	26	20	19	19	15
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-

yağ asitlerini ayırmak için hidrolize ettiğimizde, toplam yağ asidi miktarının % 49,09, sabunlaşmayan maddeler grubunun da % 50,91 oranında olması steroller, hidrokarbonlar ve uzun zincirli alkollerin propoliste daha fazla bulunduğunu göstermektedir. Sabunlaşmayan maddeler içinde, steroller uzun zincirli alkoller ve hidrokarbonlar gibi maddeler bulunmaktadır (CHRISTIE, 1992).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda propolis ekstraktının toksik etkisinin bulunmadığı, propolisin % 1-0,5 sulu solüsyonun akut ve kronik solunum hastalıklarında aerosol olarak başarılı şekilde kullanıldığı belirtilmektedir (GRANGE ve DAVEY, 1990). Ayrıca göz damlası ve propolisin % 10'luk alkol çözeltisi, pratik olarak diş cerrahisinde ve ellerin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır (FOCHT ve ark., 1993).

#### Propolisteki Yağ Asitleri

Arılar tarafından metabolik ürün olarak yapılan propolisin % 66,2'nin lipit olduğu tesbit edildi (Çizelge 3.4). Ancak lipit grubunun sınıf olarak ayrımı yapılmadığı için hangisinin daha fazla olduğu üzerinde bir fikir ileri sürmek mümkün değildir. Buna rağmen

Çizelge 3.5. de görüldüğü gibi gaz kromatografisi ile tayini yapılan yağ asitleri içinde en fazla nervonik asit (24:1) bulunmuştur. Diğer yağ asitlerinden palmitik asit (16:0) 9,6 mg, stearik asit (18:0) 2,72 mg, eicosapentaenoic asit (20:5) 2,60 mg ve arachidonic asit (20:4) 1,26 mg/g olarak tespit edilmiştir. Tayin edilen yağ asitlerinden dördünün doymuş ve dördüncü de doymamış yağ asidi olduğu görülmektedir. Doymuş yağ asitleri içerisinde en fazla bulunan palmitik ve stearik asittir. Doymamış yağ asitleri içinde en fazla bulunan, insan ve hayvanlarda prostaglandinler, tromboksanlar ve leukotrienler olarak bilinen maddelerin öncüsü olan arachidonic asit (20:4) ile bu yağ asidi kadar hayati önem taşıyan ve elzem olan eicosapentaenoic asit (20:5) dir.

Çizelge 3.3. Ampisilin Sodyum'un Farklı Konsantrasyonlarda Antimikrobiyal Etkisi

Mikroorganizmalar	Ampisilin sodyum, µg/disk				
	100	50	10	5	1
	İnhibisyon zonu, mm				
<i>B. megaterium</i>	34	33	28	27	22
<i>B. brevis</i>	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	39	34	30	29	25
<i>B. cereus</i>	22	16	-	-	-
<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	37	34	25	21	18
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	52	47	39	36	33
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	48	44	37	34	30
<i>Streptococcus sp.</i>	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-

insan vücudunda ve hayvanlarda tabii bir ilaç gibi fonksiyonlara sahiptir. Metabolizma olaylarında 6 grubuna da ihtiyaç duyulmasına rağmen bunların vücutta aşırı miktarda artış göstermesi durumunda istenmeyen rahatsızlıkların ortaya çıkmasına sebep olduğu belirtilmektedir (LAMPILA, 1986; KINSELLA, 1988).

Çizelge 3.4. Propolisdeki Lipit Analizinin Sonucu

Değerler	g/g propolis	% miktarı
Toplam lipit	0,0662	66,3
Toplam yağ asidi	0,0325	49,09
Toplam sabunlaşmayan madde	0,0337	50,91

Elde edilen bu sonuçlar, Propolis ekstraktının bir çok mikroorganizmalara karşı etkili antimikrobiyal maddeler ihtiva ettiğini göstermektedir. Bu antimikrobiyal maddelerin tanımlanması, propolis bileşenlerinin tesbit edilip tıp ve endüstride kullanılabilme imkanlarının araştırılmasının yararlı olacağı kanatındeyiz.

Çizelge 3.5. Propolisteki Toplam Yağ Asitlerinin Gaz Kromatografik Analiz Sonuçları

Yağ asitleri	Yağ asidi, mg/g	Yağ asidi %
Kaprik asit (10:0)	0,74	2,21
Pentadekanoik asit (15:0)	0,30	0,9
Palmitik asit (16:0)	9,6	28,71
Stearik asit (18:0)	2,72	8,13
Linolenik asit (18:3)	0,42	1,26
Arachidonic asit (20:4)	1,26	3,77
Eicosapentaenoik asit (20:5)	2,60	7,78
Nervonik asit (24:1)	15,8	47,25
Toplam	33,44	99,99
Tayin edilen, %	69,69	
Tayin edilmeyen %	30,31	

## KAYNAKLAR

- ABDULSALAM, K.S., M.I. MOHAMED, M.A. EL-NAWAWY. 1989. Effect of propolis on some bacterial species. *Egyptian J. of Phytopathology* 21(1) 61-68.
- AMOROS, M., F. SAUVAGER, L. GIRRE, M. CORMIER. 1992. In vitro antiviral activity of propolis. *Apidologie* 23: 231-240.
- BANKOVA, V.S., S.S. POPOV and MAREKOV, N.L. 1982. High-performance liquid chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *J. Chromatogr.* 242: 135-143.
- BANKOVA, V., A. DYULGEROV, S. POPOV, et al. 1992. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia-phenolic compounds and plant origin. *Apidologie* 23(1) 79-85.
- CHRISTIE, W.W. 1992. Gas chromatography and lipids. Printed in Great Britain by Bell and Bain Ltd., Glasgow, 301 sayfa.
- COLLINS, C.H., P.M. LYNE, 1985. Microbiological Methods Butterworth & Co. (Publishers) Ltd., London, 450 sayfa.
- FOCHT, J., S.H.HANSEN, J.V. NIELSEN, A. VANDENBERGSEGGERS, R. RIEZLER. 1993. Bactericidal effect of propolis in-vitro against agents causing upper respiratory-tract infections. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* 43-2 (8) 921-923.
- FRENKEL, K., H. WEI, R. BHIMANI, et al. 1993. Inhibition of tumor promotor - mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. *Cancer Research* 53: 1255-1261.
- GHISALBERTI, E.L. 1979. Propolis: a review. *Bee World* 60: 59-84.
- GRACIABIGUERA, C., F.FERRERES, F.A. TOMASBARBERAN. 1993. Study of Canadian propolis by GC-MS and HPCL. *Z. fur Naturforschung C-A Journal Biosciences* 48 (9-10) 73-735.
- GRANGE, J.M., R.W. DAVEY. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. of the Royal Soci. of Medicine* 83: 159-160.
- GREENAVAY, W., T. SCAYSBROOK, F.R. WHATLEY. 1987. The analysis of bud exudate of populus X euramericana. and of propolis, by gas chromatography - mass spectrometry. *Proc., R., Soc., Lond., Ser. B.* 232: 249-272.
- GREENAWAY, W., T. SCAYSBROOK, F.R. WHATLEY. 1988. Composition of propolis in Oxfordshire, UK and its relation to poplar bud exudate. *Z. Naturforsch.,* 43: 301-305.
- GRUNDBERGER, D., R. BANAERJEE, K. EISINGER., 1988. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experimentia* 44: 230-232.
- IKENO, K., T. IKENO, C. MIYAZAWA. 1991. Effect of propolis on dental caries in rats. *Caries Res.* 25: 347-351.
- KATES, M. 1988. Techniques of lipidology, isolation, analysis and identification of lipids 2 nd revised edition, New York
- KINSELLA, J.E. 1988. Food Lipids and Fatty Acids: Importance in food quality, nutrition, and health. *Food Technology*, October 1988, 125-144.
- KONIG, B., 1985. Plant sources of propolis. *Bee World* 66 (4) 136-139.
- KONIG, B., J.M. DUTSMANN. 1985. The caffeoylics as a new family of natural antiviral compounds. *Naturwissenschaften.* 72: 659-661.
- KROL, W., S. SCHELLER, J. SHANI, G. PIETZ, Z. CZUBA. 1993. Synergistic effects of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 43(1) 607-609.
- KUJUMGIEV, A., V. BAKKOVA, A. IGNATOVA, S. POPOV. 1993. Antibacterial activity of propolis, some its components and their analogs. *Pharmazie* 48 (10) 785-786.
- LAMPILA, L.E. 1986. Sea food lipids: Analysis and health benefits. Proceedings of an International Symposium Coordinated by the University of Alaska, USA. 10-14 November 1986.
- LINDENFELSER, L.A. 1967. Antimicrobial activity of propolis. *Am. Bee J.* 107: 90-92.
- MAXIMOWA-TODOROVA, V., N. MANOLOVA, G. GEGOVA. 1985. Antiviral effects of some fractions isolated from propolis. *Acta Microbiol. Bulgaria.* 17: 79-85.
- METZNER, J., H. BEKEKEIER, E. SCHNEIDEWIND, R. SCHWAIBERGER. 1975. Bioautographische erfassung der antimikrobiell wirksamen inhaltsstoffe von propolis. *Pharmazie* 30: 799-800.
- ÖZÇELİK, S. 1992. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulama Kılavuzu. F.Ü. Fen-Edebiyat Fak. Yayınları, Yayın No: 1 Ders Notları No: 1. Elazığ, 135 sayfa.
- RAO, C.V., D. DESAL, B. SIMI, N. KULKARNI, S. AMIN, REDDY, B.S. 1993. Inhibitory effect of caffeic acid-esters on azoxymethane-induced biochemical-changes and aberrant crypt foci formation in rat colon. *Cancer Res.* 53(18) 4182-4188.
- STARZYK, J., S. SCHELLER, J.SZAFIARSKI, M. MOSKWA, A. STOJKO. 1977. Biological properties and clinical application of propolis. *Arzneim-Forsch Drug Res.* 27(1) 1198-1199.
- BRUMFITTT, W., J.M.T.HAMILTON, I. FRANKLIN. 1990. Antibiotic activity of natural products 1. Propolis *Micr.* 62(250) 1922