

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MUĞLA YÖRESİNE AİT PROPOLİS ÖRNEKLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL, ANTİBİYOFİLM, ANTİOKSİDAN
VE QUORUM QUENCHİNG AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALİME ALIÇ

AĞUSTOS 2015
MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MUĞLA YÖRESİNE AİT PROPOLİS ÖRNEKLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL, ANTİBİYOFİLM, ANTİOKSİDAN
VE QUORUM QUENCHİNG AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALİME ALIÇ

AĞUSTOS 2015
MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

HALİME ALIÇ tarafından hazırlanan **MUĞLA YÖRESİNE AİT PROPOLİS ÖRNEKLERİNİN ANTİMİKROBİYAL, ANTİBİYOFİLM, ANTİOKSİDAN VE QUORUM QUENCHİNG AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI** başlıklı tezinin, 13/08/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Aysel UĞUR (**Jüri Başkanı**)

Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Gazi Üniversitesi, Ankara

İmza:



Yrd. Doç. Dr. Özgür CEYLAN (**Danışman**)

Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Arıcılık Programı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Ula Ali Koçman Meslek Yüksekokulu, Muğla

İmza:



Yrd. Doç. Dr. Nurdan SARAÇ (**Üye**)

Çevre Sorunları Araştırma ve Uygulama Merkezi
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Hasan Sungur CİVELEK

Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Yrd. Doç. Dr. Özgür CEYLAN (**Danışman**)

Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Arıcılık Programı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Ula Ali Koçman Meslek Yüksekokulu, Muğla

İmza:



Savunma Tarihi:13/08/2015

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Halime ALIÇ

13/08/2015



ÖZET

MUĞLA YÖRESİNE AİT PROPOLİS ÖRNEKLERİNİN ANTİMİKROBİYAL, ANTİBİYOFİLM, ANTIOKSİDAN VE QUORUM QUENCHİNG AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Halime ALIÇ

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Özgür CEYLAN

Ağustos 2015, 107 sayfa

Bu tez çalışmasında, Muğla ili ilçelerinden toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan ve anti-quorum quenching aktiviteleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon ve broth tüp dilüsyon yöntemleri kullanılarak; antibiyofilm aktiviteleri mikropilaka yöntemi kullanılarak; antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikal giderim, β -karoten linoleik asit ve ferrik tiyosiyanat yöntemleri kullanılarak tespit edilmiştir.

Ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Kültür Koleksiyonuna (MUKK) ait *Listeria monocytogenes* ATCC 7944, *Streptococcus mutans* CNCTC 8/77, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Candida albicans* ATCC 10239 suşları kullanılmıştır. Mikroorganizmaların minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) 1- >100 mg/mL arasında belirlenmiştir. En düşük MİK değeri 1 mg/mL ile AP6 kodlu propolis ekstraktında *Salmonella typhimurium*' a karşı tespit edilmiştir.

Antibiyofilm aktivite sonuçlarına göre en yüksek biyofilm inhibisyonu MİK' da AP1 ekstraktında % 82.60 ile *S. mutans*'a karşı; AP2 ekstraktında % 67.45 oranında *L. monocytogenes*'e karşı; AP3 ekstraktında % 73.02 ile *S. mutans*'a karşı; AP4 ekstraktında % 64.05 ile *L. monocytogenes*'e karşı; AP5 ekstraktında % 70.58 ile *S. typhimurium*'a karşı; AP6 ekstraktında % 93.43 ile *S. typhimurium*'a karşı ve AP7 ekstraktında % 72.43 oranında *S. mutans*'a karşı tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan propolis ekstraktları içerisinde en yüksek antioksidan aktivite DPPH serbest radikal giderim yöntemine göre 3.94 mg/mL IC₅₀ değeri ile AP7 ekstraktında; β -karoten linoleik asit yöntemine göre % 91.10 indirgeme oranı ile AP7 ekstraktında belirlenmiştir. Ferrik Tiyosiyat yönteminde (FTC) ise en yüksek giderim % 51.77 indirgeme oranı ile AP1 ekstraktında görülmüştür.

En yüksek antiquorum sensing aktivite AP7 ekstraktında tespit edilmiştir. Yine en yüksek violacein üretimi inhibisyonu MİK,MİK/2,MİK/4 değerlerinde % 100 ve MİK/8 değerinde % 51.0 ile AP7 ekstraktında tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Antimikrobiyal, Antibiyofilm, Antioksidan, Antiquorum Sensing

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL, ANTIBIOFILM, ANTIOXIDANT AND QUORUM QUENCHING ACTIVITIES OF PROPOLIS SAMPLES FROM THE MUĞLA REGION

Halime ALIÇ

Master of Science (M. Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Özgür CEYLAN

August 2015, 107 pages

In this thesis study, antimicrobial, antibiofilm, antioxidant and quorum quenching activities of the ethanol extracts of propolis samples collected from Muğla district were investigated. Antimicrobial activity was determined using the well diffusion and broth tube dilution methods, antibiofilm activity with microplate biofilm method, and antioxidant activity with DPPH radical scavenging, β -carotene linoleic acid and ferric thiocyanate methods.

To determine the antimicrobial activity of the extracts, *Listeria monocytogenes* ATCC 7944, *Streptococcus mutans* CNCTC 8/77, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 and *Candida albicans* ATCC 10239 strains from the Muğla Sıtkı Koçman University Culture Collection (MUKK) were employed. Minimum inhibitory concentrations (MIC) against microorganisms were determined from 1 to >100 mg/ml. The lowest MIC value was found as 1 mg/ml for AP6 propolis extract against *Salmonella typhimurium*.

According to the antibiofilm activity results, highest biofilm removals were detected at concentrations of MIC as 82.60% for AP1 against *S. mutans*, 67.45% for AP2 against *L. monocytogenes*, 73.02% for AP3 against *S. mutans*, 64.05% for AP4 against *L. monocytogenes*, 70.58% for AP5 against *S. typhimurium*; 93.43% for AP6 against *S. typhimurium* and 72.43% for AP7 against *S. mutans*.

The highest antioxidant activities were found at AP7 extract with an IC₅₀ value of 3.94 mg/ml for DPPH radical scavenging method and with 91.10% reduction rate for β -carotene linoleic acid method. The highest reduction at ferric thiocyanate method was shown at AP1 extract with a rate of 51.77%.

The maximum anti-quorum quenching activity was determined at AP7 extract. In addition, the highest inhibition of violacein production was detected at AP7 extract as 100% at concentrations of MIC, MIC/2 and MIC/4, and 51.0% at a concentration of MIC/8.

Keywords: Propolis, Antimicrobial, Antibiofilm, Antioxidant, Anti-quorum Sensing

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrencisi olarak beni kabul eden, tez konumun seçilmesinde, planlanmasında, yürütülmesinde beni yönlendiren, bilgi ve tecrübesini esirgemeyen Sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Özgür Ceylen'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bana Mikrobiyolojiyi sevdiren değerli hocalarım Prof. Dr. Aysel UĞUR ve Doç. Dr. Nur CEYHAN GÜVENSEN'e sonsuz teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarım Yrd. Doç. Dr. Nurdan SARAÇ ve Yrd. Doç. Dr. Rukiye BORAN'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen değerli laboratuvar arkadaşım Gültekin AKDAMAR'a teşekkür ederim.

BAP 13/178 no'lu proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Muğla Sıtkı Koçman üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam.....	3
2.KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Arı Ürünleri	4
2.1.1. Bal.....	4
2.1.2. Polen	7
2.1.3. Arı sütü	9
2.1.4. Arı zehiri.....	12
2.1.5. Propolis	13
2.1.5.1. Propolisin toplanması	14
2.1.5.2. Propolisin bitkisel kaynakları	15
2.1.5.3. Propolisin kimyasal içeriği	15
2.1.5.4. Propolisin fiziksel özellikleri.....	16
2.1.5.5. Propolisin biyolojik aktiviteleri	17
2.1.5.6. Propolisin kullanım alanları	18
2.3. Antioksidan Aktivite	19
2.4. Biyofilm.....	22
2.4.1. Biyofilmin yapısı	23
2.4.2. Biyofilm oluşum basamakları.....	23
2.4.2.1. Dönüşümlü tutunma	23
2.4.2.2. Dönüşümsüz tutunma	24
2.4.2.3. Koloni gelişimi	24
2.4.2.4. Olgun biyofilm oluşumu	24
2.4.2.5. Biyofilm hücrelerinin koparak ayrılması	25
2.5. Quorum Sensing	28

2.5.1. Gram (-) bakterilerde quorum sensing mekanizması.....	30
2.5.2. Gram (+) bakterilerde quorum sensing mekanizması.....	31
2.5.3. Bakterilerde türler arası iletişim	32
2.6. Propolis Ekstraktları Kullanılarak Yapılan Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	35
2.7. Propolis Ekstraktları Kullanılarak Yapılan Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	41
2.8. Propolis Ekstraktları Kullanılarak Yapılan Antibiyofilm ve Antiquorum Sensing Aktivite Çalışmaları	44
3. MALZEME VE YÖNTEM	46
3.1. Besiyerleri	46
3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasal Maddeler	48
3.3. Propolis Örneklerinin Toplanması	48
3.4. Propolis Örneklerinin Ekstraksiyonu	49
3.4.1. Kullanılan mikroorganizmalar ve kültür ortamları.....	49
3.5. Antimikrobiyal Aktivitelerin Belirlenmesi.....	50
3.5.1. Kuyu difüzyon yöntemi	50
3.5.2 Broth tüp dilüsyon yöntemi	50
3.6. Antibiyofilm Aktivite Tayini.....	51
3.7. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	52
3.7.1. DPPH radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi.....	52
3.7.2. β -karoten linoleik asit metodu	52
3.7.3. FTC metodu	53
3.8. Biyosensör Suşlarının MİK Tespiti.....	54
3.8.1. Antiquorum sensing aktivitesi	54
3.8.2. Violacein inhibisyon testi	55
4. BULGULAR VE İRDELEME.....	56
4.1. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	56
4.1.1. Kuyu difüzyon yöntemi	56
4.1.2. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK).....	58
4.2. Antibiyofilm Aktivite	59
4.3. Antioksidan Aktivite	61
4.3.1.DPPH serbest radikal giderim aktivitesi.....	61
4.3.2. β -karoten linoleik asit yöntemi	62

4.3.3. Ferrik tiyosiyanat yöntemi (FTC).....	64
4.4. Biyosensör Suşların Propolis Ekstraktlarına Karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları	65
4.4.1. Antiquorum sensing aktivite.....	67
4.4.2. Violacein inhibisyonu testi	69
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ.....	106

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Lux S geni içerdiği bilinen bakteriler (Federle ve Bassler, 2003)	33
Çizelge 3. 1. Propolis Örnekleri ve Toplandığı Yerler	49
Çizelge 4. 1. Propolis ekstraktlarının değişik konsantrasyonlarının test mikroorganizmalarına karşı kuyu difüzyon sonuçları.....	56
Çizelge 4. 2. Propolis ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı MİK sonuçları	58
Çizelge 4. 3. Çalışmada kullanılan propolis ekstraktlarının test suşlarına karşı MİK ve MİK altı konsantrasyonlarda antibiyofilm etkileri	60
Çizelge 4. 4. Propolis ekstraktlarının <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 ve <i>C. violaceum</i> ATCC 026 suşuna karşı MİK konsantrasyonları	65
Çizelge 4. 5. Propolis ekstraktlarının anti-quorum sensing aktivite sonuçları	68
Çizelge 4. 6. Propolis ekstraktlarının <i>C.violaceum</i> CV 12472 suşunun violacein üretiminin inhibisyon oranları	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. (a) Kovanda görülen propolis, (b) Kovandan toplanmış propolis	14
Şekil 2. 2. Kovana yerleştirilen ızgara ve deliklerindeki propolisler delikleri kapatılmış hali	15
Şekil 2. 3. Oksidatif stresin etkileri	20
Şekil 2. 4. Biyofilm gelişim evreleri	25
Şekil 2. 5. Mikroorganizmalarda QS sinyal molekülü sayesinde meydana gelen davranışlar	29
Şekil 2. 6. <i>Vibrio fischeri</i> 'de AHL (LuxI/LuxR) tipi "quorum sensing" iletişimi	30
Şekil 2. 7. Gram pozitif bakterilerde AIP tipi "quorum sensing" iletişimi	32
Şekil 4. 1. Propolis ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri sonuçları	62
Şekil 4. 2. Propolis ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite sonuçları	63
Şekil 4. 3. FTC % inhibisyon sonuç grafiği	64
Şekil 4. 4. <i>C. violaceum</i> CV026 MİK nokta ekim sonuçları	66
Şekil 4. 5. <i>C. violaceum</i> CV12472 MİK nokta ekim sonuçları.....	67
Şekil 4. 6. Propolis ekstraktlarının anti-quorum sensing aktivite sonuçları	67
Şekil 4. 7. Propolis ekstraktlarının <i>C.violaceum</i> CV 12472 suşunun violacein üretiminin inhibisyonu sonuçları	69

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

β	Beta
α	Alfa
<	Küçüktür
>	Büyüktür
%	Yüzde
μ l	Mikrolitre
mL	Mililitre
L	Litre
ln	Doğal logaritma
mg	Miligram
g	gram
mm	Milimetre
°C	Santigrat derece
pH	Power of Hydrogen
dk	Dakika
vd.	ve diğerleri
MUKK	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Kültür Koleksiyonu
ATCC	American Type Culture Collection
CNCTC	Czechoslovak National Collection of Type Cultures
MRSA	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
BHT	Bütil Hidroksi Toluen
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
FTC	Ferrik Tiyosiyanat
TSB	Triptik Soy Broth
TSA	Triptik Soy Agar
LB	Luria Bertani
NB	Nutrient Broth
NA	Nutrient Agar

SDA	Sabouraud Dextrose Agar
Gr(-)	Gam negatif
Gr(+)	Gram pozitif
AHL	Açıl Homoserin Lakton
EPS	Ekstraselüler Polimerik Madde
QS	Quorum Sensing

1.GİRİŞ

Günümüzde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin olması ve hastalık etkenlerinin bu ilaçlara karşı direnç kazanması, insanları doğal ürünlerin tüketimine yönlendirmiştir. Bu doğal ürünler arasında en yaygın olarak kullanılanların bir kısmı arılardan elde edilen ürünlerdir (Hamdy vd., 1989).

Zengin bitki çeşitliliğine sahip olan ülkemizin tüm bölgeleri arıcılık yapmak için uygun bir ekolojik yapıya sahiptir. Arı gen merkezlerinden biri olan ülkemiz 4.2 milyon koloni varlığı, 67 bin ton bal ve 3500 ton bal mumu üretimi ile 11 milyon dolar değerinde arıcılık ürünü ihracıyla sayılı ülkeler arasında bulunmaktadır (Fıratlı vd., 2000). Arı ürünleri arasında bilinirliği en yüksek olan ürün % 99.4 ile baldır. Bunu sırasıyla polen (% 61.6), arısütü (% 52.8) ve balmumu (% 46.4) izlemektedir. Buna karşın arı zehiri (% 16.3) ve propolis (% 8.9) daha az tanınmaktadır (Bölüktepe ve Yılmaz, 2008).

Tarihten günümüze kadar bal arısı, gerek yaşamı ve gerekse oluşturduğu değerli ürünler ile insanların ilgisini çekmiştir (Garadew vd., 2004). Halk arasında hastalıkların tedavisinde arı ürünlerinin kullanılması ile ilgili açıklamalara 2000 yıl öncesindeki Mısır medeniyeti metinlerinde bile rastlanılmaktadır (Zumla ve Lulat, 1989).

Bal arılarının önemi; bal, balmumu, arı zehiri, propolis, polen ve arı sütü gibi spesifik ürünleri üretmesindedir. Bu ürünler kimyasal yapısı, faydalı biyolojik özellikleri, bu ürünlerin pek çok alanda uygulanabilirliği ve günümüzde de hala tıp alanında alternatif ürün olarak kullanılmasından dolayı önemlidirler. (Popova vd., 2005).

İnsanların dengeli ve sağlıklı beslenmesinde önemli bir yeri olan balın yanında; polen, arı sütü, propolis ve arı zehiri günümüzde tıp alanında alternatif ürün olarak, birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır.

Son dönemlerde bilimsel araştırmaların sonuçlarına dayanarak, arı ürünleri ile yapılan tedavi amaçlı uygulamalar “Apiterapi” olarak kabul görmeye başlamış ve giderek önem kazanmıştır (Gradew vd., 2004). Apiterapi; bal arısı (*Apis mellifera* L.)

ürünlerinden bal, polen, arı sütü, arı zehiri ve propolis kullanılarak hastalıkların önlenmesi veya iyileştirilmesi için uygulanan tedavi yöntemlerine verilen isimdir (Lusby vd., 2002). Apiterapi son yıllarda özellikle Çin başta olmak üzere bütün dünyada gelişme göstermektedir. Arı ürünleri ile uygulanan tedavi yöntemleri öncelikle Uzakdoğu ülkelerinde başlamış ve dünya genelinde hızla yaygınlaşmıştır (Albayrak ve Albayrak, 2008).

Propolis insanların dikkatini tıbbi açıdan binlerce yıl önce çekmiş ve bu doğal ürün eski çağlarda Avrupa ve Kuzey Afrika' da, Mısır, Yunan ve Romalılarca ya çeşitli hastalıkların tedavisinde ya da hastalık etkilerinin azaltılmasında yaygın olarak kullanılmıştır (Castolda ve Capasso, 2002). Propolis ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (Burdock, 1998). Eski Mısır Uygarlığı döneminde propolisin mumyalama için kullanıldığı belirtilmektedir (Castolda ve Capasso, 2002). Günümüze kadar gelen eski Yunan yazıtları propolisin iltihaplanan yaralar ve diş çürüklerinin tedavisinde kullanıldığını göstermektedir. Ayrıca Romalılar döneminde yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın içerisine propolis eklendiği aktarılmaktadır. İbranice eski vasiyetnamelerde propolis "Tzori" olarak geçmektedir ve bu propolislerin tedavi edici özelliklerinden bahsedilmektedir. Avrupa'da 12. yüzyıla ait kayıtlarda propolisin ağız, boğaz ve yara enfeksiyonlarında, cilt rahatsızlıklarının tedavisinde ve diş sağlığı için kullanımından bahsedilmektedir (Ghisalberti, 1979; Krell, 1996; Stangaciu, 1999). Propolis patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesinden dolayı günümüzde giderek artan bir önem kazanmaktadır (Castolda ve Capasso, 2002).

Propolisin üretildiği ülkelerin başında Çin, Rusya, Brezilya, ABD, Avustralya ve Uruguay gelirken; en çok Japonya'da tüketilmektedir. Son yıllarda ülkemizde de propolis üretimi ve tüketimi artmıştır. Ayrıca sağlık, ziraat ve kimya gibi alanlarda propolisi kullanabilmek için yapılan araştırmaların sayısında büyük artış görülmektedir (Kartal vd., 2003; Silici ve Kaftanoğlu, 2003).

1.1. Amaç ve Kapsam

Çalışmanın amacı, Muğla yöresinin farklı bitki örtüsüne sahip bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan ve anti-quorum sensing aktivitelerinin ortaya çıkarılmasıdır.

Çalışmada kullanılan propolis ekstraktlarının kuyu difüzyon ve broth tüp dilüsyon yöntemleri kullanılarak *Listeria monocytogenes* ATCC 7944, *Streptococcus mutans* CNCTC 8/77, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Candida albicans* ATCC 10239 suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiştir. Propolis mikropilake biyofilm metodu kullanılarak MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) ve MİK altı konsantrasyonlarda antibiyofilm aktivitesi belirlenmiştir.

Çalışılan propolis örneklerinin DPPH, β -karoten linoleik asit ve Ferrik tiyosiyanat (FTC) metotları kullanılarak antioksidan aktiviteleri ortaya çıkarılmıştır. Antioksidan aktivite tayini ile serbest radikallerin giderimini sağlayan propolis ekstraktlarının tespiti önemli yer tutmaktadır.

Quorum Sensing (QS) mekanizması bakteriyel patojenitede önemli yer tutmaktadır. Birçok gram negatif bakteride virülans faktörlerin üretimi ya da konak hücreleri parçalayan enzimlerin sentezi Quorum Sensing'e bağlıdır. Mikroorganizmalar biyofilm oluşturma ve hücre dışı enzim salgılama gibi patojenik fonksiyonlarını Quorum Sensing'e bağlı olarak gerçekleştirir. Bu çalışmada propolis örneklerinin *Chromobacterium violaceum* CV026 ve *Chromobacterium violaceum* CV12472 suşlarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak MİK ve MİK altı konsantrasyonlarda propolis örneklerinin anti-quorum sensing ve violacein inhibisyonu aktiviteleri tespit edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile, Muğla bölgesinde üretilen propolis kalitesinin bilimsel yönden değerlendirilmesine katkı sağlaması ve bölge arıcılığının dolayısıyla ülke ekonomisinin kalkınmasına da katkı sağlanması amaçlanmıştır.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Arı Ürünleri

2.1.1. Bal

Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan balözünün (nektar) veya bitkiler üzerinde yaşayan bazı böceklerin salgıladığı tatlı maddelerin, bal arısı tarafından toplanıp, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucu meydana gelen koyu kıvamda tatlı bir üründür (Crane, 1979).

Ballar kaynağına göre 2'ye ayrılmaktadır:

Çiçek balı; çiçeklerin nektar bezlerinden salgıladıkları nektarın, arılar tarafından toplanması ile oluşturulan baldır (Anonim, 2002).

Salgı balı; çam, meşe, kayın ve ladin gibi ağaçların üzerinde yaşayan böceklerin (*Marchalina hellenica*) salgıladığı tatlı salgıların (dışarıya attıkları sindirim artıklarının) arılar tarafından toplanması ile oluşturulan baldır (Anonim, 2002; Anonim, 2005; Turhan vd., 2008).

Genel olarak, balın yaklaşık % 80'i değişik şekerlerden (% 35 glukoz, % 40 fruktoz, % 5 sükröz) ve % 17'si sudan meydana gelmektedir. Geri kalan % 3'lük kısım başta enzimler olmak üzere, amino asitler, glukonik asit, fenol bileşikleri, lakton, mineraller ve çeşitli vitaminler gibi 180 kadar farklı maddeden oluşmaktadır. Balda ayrıca, demir, bakır, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, silisyum, aliminyum, krom, nikel ve kobalt gibi değerli mineraller vardır. (Gheldof vd., 2002; Güleç, 2007; Tosi vd., 2008; Kahraman vd., 2010; Khalil vd., 2010). Balın temel enzimleri sakkaraz, amilaz ve glukoz oksidaz'dır. Balda vitamin olarak C-vitamini ve B-vitaminlerinden B1(tiamin), B2 (riboflavin), B3 (nikotinik asit), B6 (pidoksin) ve pantotenik asit bulunmaktadır (Nowack, 2000).

Bal, antik çağlardan bu yana birçok kültür tarafından medikal amaçlarla kullanılmaktadır. Bal, dünyanın hemen hemen her ülkesinde, yirmi milyon yıldır arılar tarafından üretilen, insanoğlunun en eski ve en değerli gıda maddelerinden

biridir. (Crane, 1979; Crane, 1990). M.Ö. 5000 yıllarında Sümerlerin yazılı belgelerinde bal ile ilgili bilgiler mevcuttur. Benzeri bilgiler Hititlerin yazıtlarında da bulunmuştur. M.Ö. 3200'de Mısır Kralı I. Dynasty krallık sembolü olarak arıyı seçmiş ve krallığında bununla ilgili figürlere yer vermiştir. Roma İmparatorluğu'na ait bazı yazıtlarda da bal ve arıcılık üzerine çeşitli bilgiler bulunmaktadır (Ötleş, 1995). Balın enfekte yaraların tedavisinde en az 2000 yıldır kullanıldığı Dioscorides' in kayıtlarından anlaşılmaktadır (Weston, 2000). Anadolu'da bal ile ilgili ilk resmi dokümanlar Çatalhöyük'te bulunmuştur. Ülkemizde beslenme amaçlı kullanımı yanında, tedavi amaçlı kullanımının çok az olmasına karşılık, yurtdışında apiterapi alanında kullanılan ürünler içerisinde bal önemini korumaktadır (Korkmaz, 2001).

Balın içerdiği çeşitli flavonoidlerden apigenin, pinosebrin, kaempferol, kuersetin, galangin, krisin, hesperitin ve fenolik asitlerden ellagik, kafeik, p-kumarik ve ferulik asitin antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Türkmen vd., 2006).

Balın antimikrobiyal aktivitesi balın doğasında bulunan glukoz oksidaz tarafından üretilen hidrojen peroksit ve ayrıca içerdiği fenolik bileşiklerle ilişkilidir (Küçük vd., 2007; Alvarez-Suarez vd., 2010; Silici vd., 2010).

Balın antibakteriyel ve prebiyotik etki gösterdiği (Al-Waili vd., 2011a; Al-Waili vd., 2011b), antiinflamatuar ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu (Kolankaya, 2001; Weng vd., 2005) ayrıca birçok araştırmacı tarafından balın antifungal özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Ijaz vd., 2008; Ahmed vd., 2011; Feas ve Estevinho, 2011).

Bal binlerce yıllardan beri özellikle yara ve yanıkların tedavisinde, cilt rahatsızlıklarında ve mide rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Yapılan birçok çalışma balın mide ve bağırsak rahatsızlıklarında (Haffejeei ve Moosa, 1985; Ali, 1991; Ladas vd., 1995; Schmidt, 1997; Biglari vd., 2012), yara ve yanıkların iyileşmesinde (Efem, 1988; Subrahmanyam, 1991; Syazana vd., 2011) kullanıldığını bildirmektedir. Ayrıca klinik araştırmalarda ise gözde, katarakt hastalığına, konjiktivit ve çeşitli kornea rahatsızlıklarına karşı, direkt gözün içine uygulanarak kullanıldığı bildirilmektedir (Shimizu vd., 1984; Vit, 1994; Krell, 1996; Uwaydat vd., 2011).

Özellikle son yıllarda Avrupa ve Amerika'da yanık merkezlerinde tedavi amacıyla bal kullanılmaktadır. Klinik gözlemler balın kronik yaralarda iyileşmeyi başlattığını veya hızlandırdığını bildirmektedir (Tonks vd., 2003).

108 hasta üzerinde yapılan bir incelemede balın yanık tedavisinde kullanılan gümüş sülfadiazen'e göre üstünlük sağladığı ve ortalama iyileştirme sürelerinin bal ve gümüş sülfadiazen için sırasıyla 16-18 ve 32-68 gün olduğu bildirilmiştir (Gupta vd., 2011).

Bal ayrıca enfeksiyonların çabuk temizlenmesini, yaralardan ölü dokuların ve yabancı maddelerin çabuk uzaklaştırılmasını, inflamasyonun hızlı baskılanmasını, yaranın ve yara izinin hızlı azalmasını sağlamaktadır (Molan ve Betts, 2004).

Yurtdışındaki apiterapi merkezlerinde bal cilt güzelliği için hazırlanan kremlerin yapımında kullanılmaktadır. Bu kremler cildi besleyici ve nemlendirici krem olarak kullanılmaktadır (Korkmaz, 2001). Yapılan bir çalışma balın karaciğer rahatsızlıklarında da tedavi edici olabileceğini ortaya koymuştur (El Denshary vd., 2012). Balın diş hekimliğinde kullanımına dair araştırmalarda yaygınlaşmaktadır. Balın oral patojenleri azaltarak diş plağı oluşumunu azalttığı ve dişteki biyofilm birikmelerini kontrol altına alabileceği bildirilmiştir (Badet ve Quero, 2011).

Topikal bal uygulamasının halk arasında akne tedavisini desteklediği bildirilmiştir (Reyna, 2010). Yeni Zelanda'da yapılan bir araştırmada göğüs kanseri hastalarının radyasyona maruz kalmaları sebebiyle oluşan dermatitisin tedavisinde balın etkili olduğu tespit edilmiştir (Naidoo vd., 2011).

Yine balın topikal kullanımına dair bir araştırmada dudak ve genital herpesler (uçuk) üzerine yapılmıştır (Al-Waili, 2004). Araştırma 8'i dudak bölgesinde ve 8'i genital bölgede olmak üzere tekrarlayan herpes lezyonlarına sahip toplam 16 yetişkin birey ile gerçekleştirilmiştir. Dudakla ilgili herpesler için ortalama uçuğa yakalanma süresi ve acı, kabuk oluşumu ve ortalama iyileşme süresi açısından topikal olarak kullanılan balın Acyclovir' e göre, sırasıyla % 35, % 39, % 28 ve % 43 daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Genital herpesler için ise; ortalama uçuğa yakalanma süresi ve acı, kabuk oluşumu ve ortalama iyileşme süresi açısından topikal bal tedavisinin acyclovire oranla, sırasıyla % 53, % 50, % 49 ve % 59 daha iyi etki gösterdiği

bulunmuştur. Ayrıca iki dudak uçuğu vakası ile bir genital uçuk vakasının bal kullanımıyla tamamen geçtiği görülmüştür.

Son yıllarda balın veterinerlikte de apiterapik ürün olarak kullanımı ile ilgili araştırmalar hız kazanmıştır. Balın sığırlarda ayak ve ağız yaralarının tedavisinde (Gakuya vd., 2011), tavşanlarda gözde oluşturulan kimyasal hasarların tedavisinde (Bashkaran vd., 2011) ve atlarda yaraların tedavisinde (Bischofberger vd., 2011) etkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.

Yapılan çalışmalar sıçan ve fare tümörlerinde balın antitümör etkinliği olduğunu göstermektedir (Swellam vd., 2003). Balın kanser de dahil olmak üzere birçok hastalıkta enerji ve şifa kaynağı olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Dustmann, 1993; Mundo vd., 2004). Balın prostat kanser hücreleri üzerinde çoğalmayı önleyici etki gösterdiğini, (Samarghandian vd., 2011a; Samarghandian vd., 2011b; Fauzi vd., 2011) meme kanseri ve servikal kanser hücrelerinin balla öldürülebildiğini ortaya çıkarmışlardır (Jaganathan ve Mandal, 2010; Jaganathan vd., 2011). Balın şifa ve gıda kaynağı oluşunun yanı sıra gıda katkı maddesi olarak, hayvan gıdalarında ve çeşitli ilaç ve kozmetik sanayisinde kullanılmaktadır (Snowdon ve Cliver, 1996).

2.1.2. Polen

Polen; bitkilerin çiçeklerinden arıların arka bacaklarıyla kovana taşıdıkları, bitkilerin döllenmesini sağlayan erkek gametofitlerdir. Arıların yavrularını beslemek amacıyla taşıdıkları polen, arılar vasıtasıyla insanlara sunulan değerli bir besin kaynağıdır (Bell vd., 1983).

Kovana polen taşımakla görevli işçi arılar, çiçeklerin üzerinde serbest haldeki polen taneciklerini yine çiçeklerden topladıkları nektar ya da ön midelerindeki balla nemlendirerek birbirine yapıştırmakta ve arka bacak çifti üzerindeki polen sepetçiklerinde sıkıştırarak topçuklar oluşturmaktadırlar. Bu işi yaparken de ağız parçalarını ve orta bacak çiftlerini kullanmaktadırlar. Bu topçuklar genellikle bir tek, kimi zaman da birden çok bitki çeşidinin polenlerini içermektedir (Öztürk, 2005). İşçi arılar tarafından polen sepetçiği adı verilen kısımda kovana getirilen polen, larva gözlerinin çevresindeki petek gözlerine depolanmakta ve gerektiğinde kullanılmaktadır

(Şengonca ve Tort, 1995; Sorkun vd., 2001). Bitkiden bitkiye değişiklik göstermekle birlikte, rengi sarıdan yeşile, siyahtan mora, beyazdan pembeye değişen renklerde olabilmektedir (Liebelt vd., 1994; Öztürk, 2005).

Polenin bileşiminde yaklaşık olarak % 28-35 karbonhidrat, % 20 protein, % 10 su, % 5 lipit, % 3'lük kısımda ise amilaz, invertaz, fosfataz ve glikoz oksidaz gibi enzimler başta olmak üzere 100'den fazla enzim, aminoasitler, demir, bakır, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, silisyum, alüminyum, krom, nikel, kobalt gibi mineraller, flavonoidler, karotenoidler vitaminler (C,E,B kompleksi) bulunmaktadır (Broadhurts, 1999; Öztürk, 2005).

% 5'lik nem içeriğine sahip polenler oda sıcaklığında, doğrudan güneş ışığı almayan yerlerde, koyu renkli cam şişelerde birkaç ay süreyle muhafaza edilebilmektedir. Ayrıca kurutulan polenler 5-(-15)°C'de uzun süre muhafaza edilebilmektedir (Sorkun vd., 2001).

Polen çok büyük besin değerine sahip bir maddedir (Öztürk, 2005). Polen besin değeri bakımından diğer tarımsal ürünlerle karşılaştırılmış, domates, kabak, fasülye, elma, ekmek ve ete göre daha fazla oranda protein, demir, tiamin, riboflavin ve niasin içerdiği bildirilmiştir (Schmidt, 1997).

Polen insan beslenmesi için çok büyük bir öneme sahiptir. Büyümeyi hızlandırdığı, yorgunluğu giderdiği, kansızlığı önlediği ve metabolizmayı düzenleyici etkileri olduğu bildirilmiştir. (Genç, 1993; Schmidt, 1997).

Polen alerjisi; iştahsızlık, baş ağrısı, bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal, kaşıntı gibi reaksiyonlarla kendini göstermekte ve bazen anafilaktik şok da görülebilmektedir. Polen, polen alerjisi olan kişilerin tedavisinde büyük bir kaynak olarak kullanılmaktadır (Campos vd., 1997; Mizrahi ve Lensky, 1997; Schmidt, 1997). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada polenin, karaciğer hastalıklarına karşı iyileştirici bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Habib vd., 1995).

Polenin bir diğer yararlı etkisi de X ışınlarına karşı koruyucu olmasıdır (Wang vd.,1984). Bu konuda yapılan çalışmalar polenin radyasyonun olumsuz etkilerini azalttığını göstermektedir (Schmidt ve Buchmann, 1992).

Fareler üzerinde yapılan çalışmada polenle beslenmenin gebelik döneminde vücut ağırlığında artış sağladığı, toplam protein ve albüminde yükselmenin olduğu ayrıca polenle beslenmeyenlere göre fetüste ölüm oranının daha düşük olduğu belirlenmiştir (Xie ve Li, 1994).

2.1.3. Arı sütü

İlk defa Huber tarafından 1972 yılında “gelee royale” olarak tanımlanmıştır (Crane, 1990; Kubo vd., 1996). Arı sütü ilk salgılandığında süt kıvamında, yapışkan ve hafif ekşi bir tada sahiptir. Ancak petek gözlerine konduktan sonra koyulaşarak krema şeklini ve rengini kazanır (Thien vd., 1999).

Arı sütü 5 - 15 günlük işçi arıların alt çene (mandibular) ve boğaz (hypopharyngeal) bezlerinin salgılarından birisi olup, ana arı gözlerine aşılana larvaların beslenmesine yarayan pelte kıvamında, kemik renginde, kendine has bir kokuya ve yakıcı bir tada sahip gıdadır” şeklinde tanımlanmıştır (Anonim, 1989b).

Arılar arı sütünü larvaların ilk 3 günlük besinini sağlamak için kullanılmaktadır. Larvaların beslenmesine bağlı olarak bunlar ya işçi arı ya da ana arı olmaktadır. Tüm larvalar ilk 3 gün arı sütü ile beslenmektedirler. Üçüncü günden sonra larvalar bal ve polen ile beslenirse işçi arı, arı sütü ile beslenirse ana arı olmaktadır. Kovanda sadece kraliçe arılar, tüm hayat döneminde arı sütü ile beslenmektedirler (Chen ve Chen, 1995). Bu farklı beslenme sayesinde ana arı, hastalıklara çok yüksek düzeyde direnç kazanmakta, bir günde kendi ağırlığı kadar yumurta üretebilmekte ve yıllarca yaşayabilmektedir. Buna karşılık işçi arılar kolayca hastalanabilmekte, dişi oldukları halde döl verememekte ve üretim sezonunda yalnızca 4-5 hafta yaşamaktadırlar (Doğaroğlu, 2009).

Arı sütü; % 60-70 nem, % 12-15 ham protein, % 10-16 şeker formları, % 3-6 yağ, birçok serbest yağ asiti (Crane, 1990; Chen ve Chen, 1995), iz mineraller, serbest amino asitler, kollajen, lesitin, A, B5, B6, C, D ve E vitaminleri (Jia vd., 1995; Kamakura vd., 2001) içermektedir. Arı sütünde ortalama olarak 7,3 mg/g serbest amino asit bulunmaktadır. En fazla bulunan serbest aminoasitler ise prolin, lisin, glutamat, β -alanin, fenilalanin, aspartat ve serindir (Boselli vd., 2003).

Guo vd. (2005; 2009) yaptıkları çalışmalarda arı sütünde 29 antioksidatif peptit bulmuşlar ve 2-4 amino aside sahip kısa peptitlerin daha etken antioksidan olduğunu belirtmişlerdir. Arı sütünün lipit kısmında gaz-sıvı kromatografisi ile yapılan incelemelerde 26'dan fazla yağ asidi gözlenmiştir. Bunlardan 12'si nonanoik, kaprik, undekanoik, tridekanoik, laurik, miristoleik, palmitik, palmitoleik, stearik, linoleik ve arakidik asit olarak tespit edilmiştir (Garcia-amoado vd., 2003). Ayrıca çok düşük miktarlarda neopterin, biopterin, ksantopterin gibi biyolojik aktif maddeler ile hormonlar içerdiği bildirilmiştir (Rembold ve Dietz, 1965).

Özellikle B grubu vitaminler ve başta potasyum olmak üzere mineraller bakımından da oldukça zengindir. Arı sütündeki yağ asidi olan 10-hidroksi -2- dekononik asit de antibakteriyel etkisi nedeniyle önem arz etmektedir (Sorkun ve Tutkun, 1994).

Toplanan taze arı sütü koyu renkli ambalaj malzemesi içinde, (-18) - 4 °C'de ve 1/4 oranında bala katılarak bal içinde muhafaza edilebilmektedir (Leung vd., 1997; Bogdanov vd., 2000). pH değeri 3.5 civarındadır (Blum vd., 1959)

Arı sütünün kalitesi arının ırkına, flora ve iklime göre değişmekle birlikte petek gözünde ve ticari olarak depolandığı yerde yapısında meydana gelen değişikliklere de bağlıdır (Howe vd., 1985; Kamakura vd., 2001).

Çeşitli dünya ülkelerinde insanlar tarafından diyet ve kozmetik alanlarında yaygın olarak kullanılan arı sütü son yıllarda yurdumuzda da kullanılmaktadır (Sorkun ve Tutkun, 1994).

Arı sütünün hafızayı güçlendirdiği, fiziksel performansı arttırdığı ve deri yenilenmesine yardımcı olduğu, kan damarlarını genişletici ve kan basıncını düşürücü, yorgunluk giderici (Matsui vd., 2002), yangı giderici (Fujii vd., 1990), tümör önleyici (Tamura vd., 1987), antialerjik (Kataoka vd., 2001), antioksidatif (Jamnik vd., 2007; Silici vd., 2010), gelişme ve büyümeyi hızlandırıcı, hormonal düzenleyici, cinsel gücü arttırıcı (Nagai vd., 2001), antibakteriyel (Yasunami ve Echigo, 1985), bağışıklık sistemini uyarıcı (Heidrick vd., 1984) ve antiviral etkisinin olduğu bildirilmiştir (Krell, 1996).

Yapılan in vitro çalışmalar arı sütünün yapısında bulunan Hidroksi Desenoik Asit'ten (HDA) dolayı antibakteriyel özelliğinin bulunduğunu göstermiştir. (Yatsunami ve Echigo, 1985).

Yapısında bol miktarda bulunan asetilkolin sayesinde arı sütü karaciğer yağlanmasını önlemekte, tansiyonu düşürmekte ve kalp atışlarının düzene girmesini sağlamaktadır. (Dağaroğlu, 2009).

Farklı dozlarda zararlı ışın verilen fareler üzerinde yapılan deneyler bal, propolis ve arı sütü karışımlarının kullanılması durumunda bu hayvanların ışınlardan korunabildiklerini göstermiştir (Krylov vd., 2002). Propolis ve arı sütü karıştırılarak hazırlanan "Apinhalin" in akciğerlerdeki koruyucu özelliklerinin hayvanlar üzerindeki etkisi deneylerle incelenmiştir. Akciğer ödeminin önlendiği ve farelerin yaşam sürelerinin uzadığı görülmüştür (Krylov vd., 2004).

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada arı sütünün spermatozoa yoğunluğu artırarak sperm kalitesini olumlu olarak etkilediği (Karaçal vd., 2006) ve farelerde oluşturulan karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Kanbur vd., 2009).

Arı sütünün kandaki kolesterol, toplam lipit, fosfolipit, trigliserit, β - lipoprotein seviyelerini düşürdüğü, tansiyon düşürücü etkiye sahip olduğu, hipoglisemik, immünolojik etkisi ile cilt ve saç hastalıklarında tedavi edici, hücre onarıcı ve gençleştirici etkisi bildirilmiştir (Meydanoglu, 1985).

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda ise kemoterapi ve radyoterapi uygulanan lösemili çocuklarda arı sütünün canlı ağırlık artışıyla birlikte kandaki nötrofil ve lenfositlerin artmasına neden olduğu saptanmıştır (Kaftanoglu ve Tanyeli, 1997). Kraliçe arı larvalarının ilk dört ya da beşinci gününde petek gözündeki sütler toplanarak ticareti yapılmaktadır (Piana, 1996). Arı sütü kapsüller, tabletler, yumuşak pelteler halinde ya da bal ile beraber tüketilmektedir (Yatsunami ve Echigo, 1985).

2.1.4. Arı zehiri

Arı zehiri; arıların zehir torbasında oluşan, keskin kokulu, acı tatta, sarımtırak renkte, sıvı, hava ile temasında çabuk kuruyup kristalize olan bir maddedir (Anonim 1989c). Arı zehiri Apidae familyasına ait bal arılarının (*Apis mellifera* veya diğer bal arısı türleri ve varyeteleri) abdomeninde bulunan bezlerden salgılanmaktadır (Atayoğlu, 2012).

Arılar, arı zehirlerini iğne düzeneğindeki zehir bezlerinde üretmektedir. 3 günlük arıların zehir bezleri arı zehiri üretmeye başlamakta, 2-3 haftalık arılarda en yüksek üretim düzeyi oluşmaktadır. Daha yaşlı arılarda arı zehiri üretimi azalmaktadır. Bir arı ortalama olarak 0.15 mg arı zehiri (kuru maddeye bağlı olarak) üretir ve bunu kullanım için hazırda bulundurmaktadır (Bogdanov, 2000). Bir arıdaki zehir miktarı mevsime ve arının yapısına göre 0.05-0.3 µl/arı olacak şekilde değişiklik göstermektedir (Habermann, 1972).

Arı zehiri, arılarda zehir torbasına bir kanal ile bağlanan asit ve alkali salgı bezlerinde üretilerek zehir torbasında depolanır. Bu salgı arı soktuğunda iğne içerisindeki zehir, kanalından sokulan kimseye enjekte edilir. Yeni ergin hale gelmiş 1 günlük arılarda bir miktar arı zehiri mevcut olmasına rağmen bu dönemde iğnenin henüz sert olmaması nedeniyle sokamazlar. İkinci günden itibaren asit salgı bezinin aktivitesi artar ve 16-19 günlük arılarda arı zehiri üretimi en yüksek seviyeye ulaşır. Arı zehiri -20°C'de birkaç yıl boyunca herhangi bir etkinlik kaybı olmadan saklanabilmektedir (Bogdanov, 2000).

Alerjik reaksiyon riski açısından en dikkatli olunması gereken madde arı zehiridir. Arı zehiri içeriğinde başlıca mellitin, apamin, histamin, fosfolipaz A2 ve MCD (Mastcell Degranula-ting) peptit 401 bulunur (Atayoğlu, 2012).

Arı zehrinin en aktif komponenti melittin'dir. Melittin, 26 amino asitten oluşan bir peptittir ve bu peptit arı zehrinin kuru ağırlığının % 50'sini oluşturmaktadır (Gabrys vd., 1986).

Zehir bileşenleri sergiledikleri antibakteriyel özellikler ve interlökin benzeri hemopoetik sistemi uyarıcı yöndeki etkileri ile radyasyon enteriti gibi iyonizan

radasyona bağlı komplikasyonların gelişimini de önleyebilirler. Sıçanlarda gama ışınlanmasından 24 saat önce intraperitoneal yolla verilen tüm arı zehirinin, kemik iliği hücrelerinde kromozomal anomali sıklığını belirgin şekilde düşürdüğü görülmüştür. Sadece radyasyon alan grupta kromozomal anomali sayısı 234 iken, tüm arı zehiri ile birlikte radyasyon alan grupta bu rakam 68 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, tüm arı zehirinin radyasyon hasarına karşı % 70 oranındaki koruyucu etkinliğinin melittin ve fosfolipaz A2'ye bağlı olduğunu ifade etmektedir (Varanda ve Tavares, 1998).

Avrupa'da uzun yıllardır arı zehiri eklem rahatsızlıklarında, özellikle romatizmal hastalıklarda kullanılmaktadır (Genç, 1993). Amerikan Apiterapi Birliği, günümüzde mafsal iltihabi, doku sertleşmesi, deri veremi, yaşlılarda görülen deri sertleşmesi, kronik yorgunluk sendromu, yara izi, deri kanseri, egzama gibi hastalıkların tedavisinin arı zehiri ile yapıldığını bildirmiştir (Cherbuliez, 1997).

2.1.5. Propolis

Günümüzde giderek artan bir şekilde önem kazanan doğal arı ürünü ise propolistir (Garadew vd., 2004).

Propolis Yunanca pro- ön ve polis- şehir anlamına gelen kelimelerinin birleşmesinden meydana gelmiştir ve eski zamanlardaki arıcular arıların kovanın girişini bu madde ile kapladıklarını göz önüne alarak şehirden önce anlamına gelen propolis adını vermişlerdir (Ghisalberti, 1979).

Propolis; bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından ağaçların kozalak ve kabuklarından, bitki tomurcuk ve filizlerinden toplanan çeşitli yağlar, polenler, özel reçine ve mumu maddelerin karışımından oluşan yapışkan, kendine özgü kokusu olan rengi açık kahverengiden koyu kırmızıya kadar değişebilen bir arı ürünüdür (Şekil 2.1.) (Crane, 1990, Tosi vd., 1996; Burdock, 1998; Özkök ve Sorkun, 2001; Castaldo ve Capasso, 2002; Özcan vd., 2003).

Arılar propolisi kovan içerisinde delik ve çatlakları kapatmak, petekleri tamir etmek, kovan içinde ölen ancak kovan dışına taşınamayan arı ve diğer canlıların vücutlarının mumyalamasını sağlamak, bunların çürüyüp mikroorganizma üretmelerini engellemek, yavru yetiştirme dönemlerinde yarık ve çatlaklardan suyun buharlaşarak

çıkmasını engelleyerek kovan içi olması gereken nem oranını koruyabilmek, kovan giriş deliğini küçültmek, kovanın dezenfekte edilmesini sağlamak amaçlarıyla kullanılmaktadırlar (Burdock, 1998; Marcucci vd., 1998; Kumova vd., 2002).



Şekil 2. 1. (a) Kovanda görülen propolis, (b) Kovandan toplanmış propolis

2.1.5.1. Propolisin toplanması

Propolis kovandan çeşitli yöntemlerle toplanabilmektedir. Metalden, ahşaptan veya ketenden üretilmiş toplama düzeneklerine karşın plastikten üretilmiş ızgaralar çok basit ve kolayca temizlenebilmektedir. Kovan içerisinde uçuş deliği arkasında veya dip tahtası arkasında oluşan propolisler kovandan toplanabilmektedir (Genç, 2006). Ancak bu alanlardan toplanan propolisler balmumu ile karışık olabilmektedir. En saf propolis kovanda petek üzerinde kapatma tahtaları altına arıların geçemeyeceği aralıklardaki plastik ızgaraların yerleştirilmesiyle üretilebilmektedir (Şekil 2.2.). Aralıkları arılar tarafından propolisle doldurulan plastik ızgaralar kovandan alınır ve dondurulmaktadır.



Şekil 2. 2. Kovana yerleştirilen ızgara ve deliklerindeki propolisler delikleri kapatılmış hali

Donan propolis daha sonra burkma veya vurma işlemiyle parçalar halinde düşürülür. Propolisi iyi kapatılabilen cam haznelerde ve karanlık yerlerde depolamak en iyi yöntemdir (Bogdanov vd., 2000).

En iyi kalitede propolis için bazı bilim adamları, propolisin nektar akımından sonra toplanmasını belirtmektedir. Tropikal iklimlerde, yağışlı mevsimin başlamasıyla propolis üretiminin daha aktif olabileceği bildirilmektedir (Donadieu, 1979).

2.1.5.2. Propolisin bitkisel kaynakları

Propolisin kaynağını kavak (*Populus* spp.), kayın (*Fagus sylvatica*) huş ağacı (*Betula alba*), kestane (*Castanea sativa*), at kestanesi (*Aesculus hippocastanum*), akçaağaç (*Alnus glutinosa*) (Bonvehi ve Coll, 2000; Silici ve Kutluca, 2005), dişbudak (*Fraxinus* spp.), karaağaç (*Ulmus* spp.), çam (*Pinus* spp.), meşe (*Quercus* spp.), okaliptus (*Eucalyptus* spp.) gibi bitkiler oluşturmaktadır (Markham vd., 1996; Kartal vd., 2002).

2.1.5.3. Propolisin kimyasal içeriği

Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Asya ve Afrika'dan toplanan propolis örnekleri kimyasal içerikleri bakımından incelendiğinde aralarında farklılıklar olduğu rapor edilmiştir (Campos vd., 1997; Banskota vd., 2000).

Propolisin bileşimi iklim, mevsim, coğrafik bölge, toplanma zamanı ve kaynak bitkiye göre oldukça farklılık göstermektedir (Hegazi vd., 2000; Sforcin vd., 2000).

Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle % 45-50 reçine, % 30 balmumu, % 10 esansiyel ve aromatik yağlar, % 5 polen ve % 5 diğer organik maddelerden oluşmaktadır (Burdock, 1998; Kumova vd., 2002).

Propolis kimyasal içeriğinde polifenoller, fenolik asit ve esterleri, fenolikaldehitler, ketonlar ve flavonoidler olmak üzere 180' den fazla bileşen olduğu belirlenmiştir. Ayrıca propolisin içeriğinde kafeik asit, sinnamik asit, pinosembriin, pinobanksin, akasetin, krisin, rutin, kateşin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirisetin, kuarsetin (Walker ve Crane 1987; Scheller, 1990; Schmidt ve Schmidt, 1996; Starzyk vd., 1997; Castaldo ve Capasso, 2002), miristik asit, benzoik asit, benzil alkol, vanilin, sinamik asit, acacetin, kamferide ve izovanilin varlığı ortaya çıkarılmıştır (Helbing vd., 1992).

Son yıllarda yapılan araştırma sonuçlarına göre propoliste bazı mineral maddelerin (Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg), Potasyum (K), Sodyum (Na), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn) ve Mangan (Mn) (Kumova vd., 2002) ve vitaminlerin varlığı (B1, B2, B6, C ve E) saptanmıştır (Bankova vd., 1982; Speciale vd., 2006). Propoliste bunlara ilaveten dehidrojenaz, glukoz-6-fosforaz, adozin trifosforaz ve asit fosforaz gibi enzimler tespit edilmiştir (Tikhonov ve Mamontova, 1987; Kumova vd., 2002).

2.1.5.4. Propolisin fiziksel özellikleri

Propolis, 15 °C'nin altındaki sıcaklıklarda kısmen donmuş veya donmaya yakın halde olup, sert ve kırılğan bir haldedir. 25-45 °C arasında yumuşak, esnek ve çok yapışkandır. 45 °C'nin üzerinde yapışkanlığı artmakta, 60-70 °C'de sıvı hale geçmektedir. Fakat bazı örneklerde erime noktası 100 °C'yi bulabilmektedir. Propolis ve ekstraktları hafif koyu kaptan, karanlıkta, 1°C– 12°C sıcaklık aralığında depolanmalıdır ve etanol ekstraktlarının daha uzun süre depolanabileceği bildirilmiştir (Krell, 1996).

2.1.5.5. Propolisin biyolojik aktiviteleri

Yıllar boyunca propolis değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Propolisin antikarsinojenik, antioksidan, antiinflamatuvar, anestezik, antibakteriyel, antifungal, antiülser, sitotoksik, kardiyoprotektif, antihepatotoksik, karaciğer koruyucu, dental çürük engelleyici, antiproliferatif, antiviral, yara iyileştirici ve antimutajenik özellikleri çeşitli çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (Buscigho, 1988; Mıtamura vd., 1996; Banskota vd., 1998; Burdock, 1998; Kujumgiev vd., 1999; Hayashi vd., 1999; Bankova vd., 2000; Sforcin vd., 2000; Velikova vd., 2000; Ota vd., 2001; Gregory vd., 2002; Barlak, 2003; Fuliang vd., 2005; Trusehva vd., 2006; Benguedouar vd., 2008; Benkovic vd., 2008; Pereira vd., 2008; Barlak, 2009). Propolis bu biyolojik aktiviteleri nedeniyle popüler bir ilaç olarak halk tıbbında, apiterapide, kozmetikte ve ilaç sanayisinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Silici ve Kaftanoğlu, 2003).

Derideki yaraların iyileşmesi, yanıklar, iltihaplı yaralar ve diğer deri hastalıklarında propolisin tedavi edici etkisinin bulunduğu ve etkin bileşenlerin arginin, sinnamik asit ve türevleri, flavonoidler ve fenolik asit olduğu belirlenmiştir (Krell, 1996).

Propolisin insan tüberküloz basilini de kapsayan Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Sentetik antibiyotiklerin aksine, uzun süre propolis kullanımı zararlı bakterilerde direnç oluşturmamaktadır. Bu nedenle propolis geniş spektrumlu antibiyotik olarak kabul edilmektedir (Şahinler, 2000).

Genel olarak tıpta kardiyovasküler ve dolaşım sistemi hastalıklarında, dermatolojide, doku yenilenmesi, ülser, ekzema, yara ve yanıklara karşı (Iwasaki, 1990) kanser tedavisinde, immun sistem ve sindirim sistemi hastalıklarında tedavi edici olarak, karaciğer rahatsızlıklarına karşı ise koruyucu olarak kullanılmaktadır (Krell, 1996).

Ayrıca propolisin antiinflamatuvar özelliğinin olduğu, dermatitlere karşı antibakteriyel olarak kremin içeriğinde kullanıldığı bildirilmektedir. Propolis spreylelerinin solunum yoluyla alındığında romatizmaya ve astıma iyi geldiği, gut hastalığının tedavisinde ve sinirleri yatıştırmada kullanıldığı, kemik oluşumunu hızlandırdığı, farklı dokuların, kemik, kıkırdak ve diş etlerinin rejenerasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (Dığrak vd., 1995; Şahinler, 2000).

Propolis Tayvan, Japonya, Brezilya, ABD ve Avrupa ülkeleri gibi dünyanın pek çok yerinde, sağlıklı yaşam için ve hastalıkların önlenmesinde bir gıda ürünü ve alternatif ilaç olarak oldukça ilgi görmektedir (Pereira vd., 2008).

Kronik vajinitis, serviks uterusun lezyonları gibi genital sistemin önemli patojenlerinin tedavisinde propolis sprey veya merhemleri lokal olarak kullanılmaktadır (Roman vd., 1989).

Brezilya propolisinden izole edilen aktif bileşiklerin karaciğer tümörü hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği ve tümör hücrelerini S fazında durdurduğu görülmüştür (Huleihel ve Isanu, 2002). Propolisin sulu çözeltilerinden elde edilen bir bileşiğin (PRF- 1), antioksidan aktivite gösterdiği, insan karaciğer kanser hücreleri ve insan akciğer kanser hücreleri HLC-2 üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Matsuno, 1995). Propolis içeren lokal terapinin altı hafta içinde kadınlarda en sık görülen kanser türü olan rahim kanserine neden olabilen insan papilloma virüs (HPV) enfeksiyonunu yok ettiği görülmüştür (Bogdanov, 2012).

2.1.5.6. Propolisin kullanım alanları

Dermatolojik ve kozmetik uygulamalar muhtemelen propolisin en geniş kullanım alanlarından olup, hücre yenileme ve onarma özelliği üzerine çalışmalar yapılmıştır. Kozmetikte, bakterisit ve mantar öldürücü özellikleri birçok uygulamada yarar sağlamıştır (Lejeune vd., 1988).

Cildi nemlendirme, yenileme, kırıksıklıkları giderme ve antibakteriyel özelliklerinden dolayı güzellik kremlerinde, çeşitli losyonlarda kullanılarak kozmetik endüstrisinde yer almaktadır (Iwasaki 1990; Park ve Woo 1997; Dubaj, 1988). Ayrıca propolis; dişeti, dudak ve ağız iltihaplarını iyileştirebilmek için diş macunları ile ağız yıkama solüsyonlarında da kullanılmaktadır (Burdock, 1998).

Yiyecek teknolojisinde de önemli bir yere sahip olan propolis, konservecilikte kimyasal koruyucu olarak kullanılmakta (Burdock, 1998) ve insan vücuduna yararlı bileşenler içermesi nedeniyle de mineral destekli diyetetik ürünlerde yer almaktadır (Rodriguez vd., 1999). Propolis içeren meşrubat ve yiyeceklere kanserden, diyabetten, inflamasyondan ve çeşitli kalp hastalıklarından korunmak isteyen

tüketiciler rağbet etmektedirler (Banskota vd., 2000; Banskota vd., 2002). Özellikle son yıllarda propolis içeren tablet, toz ve sakız ürünleri marketlerde tüketicinin hizmetine sunulmuştur (Burdock, 1998).

Propolis gıda ürünleri paketlenme materyallerinde kullanımı konusunda patent almıştır (Mizuno, 1989). Günümüzde artık propolis dünya ticaretinde ve marketlerde düzenli olarak alınıp satılan bir ürün haline gelmiştir (Karacaoğlu, 1997; Woisky ve Salatino, 1998; Wongsiri vd., 2000).

Propolisin tıbbi amaçlı kullanımı sırasında alerjik içeriğinden dolayı bazı reaksiyonların olabileceği ve bu reaksiyonların gerçekte kafeik asidin pentetil ve feniletil esterlerinin varlığından kaynaklandığı ifade edilmektedir. Bu nedenle ham propolis işlendikten sonra kullanılmalı, kontrol altında üretilmeli ve pazarlanmalıdır (Banskota vd., 2001).

2.3. Antioksidan Aktivite

Oksijen, insan yaşamı için olmazsa olmaz bir öneme sahiptir fakat normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücutta ciddi bir zarar oluşturma potansiyeline sahiptir (Diplock, 1998). Çevre kirliliği, radyasyon, kontamine sular, pestisitler ve canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması gibi birçok etmen serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001). Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük moleküller olarak tanımlanır (Mercan, 2004). Serbest radikaller vücut hücrelerinin membranına, hücre yapısındaki lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere, DNA'ya zarar vermekte ve bunun sonucunda koroner hastalıklar, diyabet, kanser, karaciğer tahribatı, katarakt, yaşlanma, damar sertliği, astım, alerji ve inflamatuvar hastalıklar gibi çok çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (Şekil 2.3.) (Velioğlu, 2000; Bourgou vd., 2012).



Şekil 2. 3. Oksidatif stresin etkileri

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu yok eden ya da azaltan ve zararlı etkilerini yok etmeye çalışarak oluşabilecek biyolojik hasarları önlemeye çalışan bileşiklerdir. Bu bileşikler, oksidanların biyolojik hedeflerle reaksiyona girmesini, radikal zincir reaksiyonları oluşturmalarını ya da oksijenin oldukça reaktif ürünlere dönüşmesini önleyerek serbest radikallerin vereceği hasarı en aza indirmeye çalışırlar (Bagchi ve Puri, 1998; Azzi vd., 2004).

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Gökalp vd., 2002). Doğal antioksidanlar, bitki ve hayvan dokularında bulunan ve ekstrakte edilebilen bileşenlerdir. Günümüzde en sık kullanılan sentetik antioksidanlar BHT (bütillenmiş hidroksi toluen), BHA (bütillenmiş hidroksi anisol), TBHQ (tert- bütıl hidroksi kinon), PG (propil gallat)' tır (Wichi, 1988).

Besin endüstrisinde de paketlenme, depolama ve üretim aşamalarında mikroorganizmaların aktivitesinin ya da oksidasyon sonucunda besinlerin bozulmasının engellenmesi en önemli konularından biridir. Antioksidan grubu katkı maddeleri bu işlemler sırasında meydana gelebilecek otooksidasyondan kaynaklanan zararları önleyici önemli katkı maddeleridir.

Vücutun antioksidan dengesi besinlerimizden büyük ölçüde etkilenmektedir. Yetersiz beslenme nedeniyle vücudun savunma sistemleri tahrip olduğu zaman patolojik sorunlar oluşabilmektedir. Reaktif oksijen çeşitlerindeki artış ve savunma sistemlerindeki yetersizlik “oksidatif stres” oluşmasına ve vücuttaki antioksidan dengesinin bozulmasına neden olmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin etkinliği; iz minerallerini içeren gıdaların yeterince alınmasına ve C vitamini, E vitamini, flavonoidler ve karotenoidler gibi antioksidan bileşenlerin alınımına bağlı olmaktadır (Duthie vd., 1989).

Yaşam standartlarının yükselmesi, tüketicilerin satın aldıkları gıdaların niteliklerini ve sağlık üzerindeki etkilerini sorgulamaya başlamaları, kronik kalp rahatsızlıkları ve kanser gibi hastalıklardan dolayı ölüm oranlarının artması, araştırmacıları sigara, alkol, stres gibi risk faktörlerinin yanı sıra tüketilen gıdaları mercek altına almaya zorunlu kılmıştır (Eherton vd., 2002). Yapay antioksidanların insan sağlığı için toksik etki oluşturduğunun bilinmesi ile tüketici tercihini değiştirip doğal ürünlere yöneltmiştir. Son yıllarda insan sağlığı ile ilgili kuruluşların tercihi, doğal kaynakların antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılmasından yanadır (Gourine vd., 2010; Ksouri vd., 2012). Bunun sonucunda da gıdalarda kalite, güvenlik ve sağlık arayışını ön plana çıkarmıştır. Bu nedenle yeryüzünde geniş alanlara dağılıp gösteren bitkisel kaynaklara yönelip bu kaynaklardan elde edilen doğal antioksidanların gıdaların işlenmesinde yapay antioksidanların yerine gıdalara eklenmesi amaçlanmaktadır (Kelen ve Tepe, 2008; Oliveira vd., 2008). Fenolik bileşikler, fitik asit, askorbik asit, tokoferol; meyve ve sebzelerde, çayda, tüm tahıl tanelerinde doğal olarak bulunan ve sağlık üzerinde olumlu etkiye sahip olan antioksidan bileşiklerdir (Meral ve Doğan, 2006).

Propolisin farklı botanik orjine bağlı olarak fenolik içerikleri sayesinde antioksidan etkisi rapor edilmiştir. Farklı coğrafik ve botanik orjine sahip propolisler üzerinde yapılan bir çalışmada antioksidan aktivitenin toplam polifenol konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu bulunmuştur. Daha yüksek polifenol içeriğine sahip olan kavak propolisinin daha az polifenol içeriğe sahip Brezilya propolisinden daha yüksek antioksidan aktivitesinin olduğu saptanmıştır (Bogdanov, 2012).

Şili'den elde edilen propolis örneklerinde yapılan çalışmada kimyasal içeriği ile serbest radikalleri süpürme kapasitesi arasındaki ilişki saptanmıştır (Kovalik, 1979). Arjantin'den elde edilen propolis ekstraktlarında yüksek flavonoid içeriği ile serbest radikal süpürücü aktivite arasında önemli bir bağlantı bulunmuştur (Russo vd., 2004). Propolisin hastalık önleyici aktivitesinin antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Nieva Moreno vd., 2000). Polen ve arı sütü ile karşılaştırıldığında propolisin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Bogdanov, 2012).

2.4. Biyofilm

Günümüze kadar biyofilm birçok bilim adamı tarafından farklı şekillerde tanımlanmıştır. İlk olarak 17. yüzyılda Leewenhoek'in dişinden almış olduğu örnekte plaklar içinde yaşayan mikroorganizmalardan bahsetmesinden sonra, 1976 yılına kadar biyofilmin varlığından bahsedilmemiştir (Costerton, 1978).

İlk olarak 1976 yılında Marshall, (1976), biyofilmin çok ince bir ekstraselüler polimer fibril olduğunu ve bakterinin yüzeye tutunmasında önemli olduğunu bildirmiştir. Costerton vd., (1999), bakteri tarafından üretilen ve bakterinin cansız veya canlı yüzeylere yapışmasını sağlayan polisakkarit tabiatında “glikokaliks” olarak da adlandırılan polimerik matriks olarak tanımlarken; Elder vd., (1995), mikroorganizmaların ekzopolimer matriks aracılığı ile oluşturdukları yapısal birlik olarak, Carpentier ve Cerf, (1993) ise çok basitçe, bakterilerin gömülü olarak bulunduğu ve yüzeye yapışmış olan organik polimer matriks olarak tanımlamıştır. Biyofilmin en yeni tanımı ise mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, herhangi bir yüzeye, ara yüzeye veya birbirlerine yapışmalarını sağlayan ve mikroorganizmanın içinde gömülü olarak bulunduğu ekstraselüler polimerik maddeden oluşmuş matriks şeklindedir (Donlan ve Costerton, 2002).

Biyofilm içindeki mikroorganizmalar, besin yoksunluğu, pH değişiklikleri, oksijen radikalleri, dezenfektanlar, fagositoz ve antibiyotiklere karşı serbest yaşayan hücrelerden daha dirençlidirler. Biyofilmin büyük bir bölümünü oluşturan ekzopolisakkaridler (EPS), savunmada önemli rol oynayan moleküllerdir. EPS,

bulunduğu bakteriyi fagositozdan, antibiyotik etkisinden korur. Çevreden almış olduğu sinyaller sonucu tehlikede olduğunu algılayan bakteri, yapısal olarak bulunan veya transfer ettiği genler ile biyofilm oluşturarak kendini koruma altına almaktadır (Wong, 2011, Tammakritsada ve Todhanakasem, 2012).

2.4.1. Biyofilmin yapısı

Biyofilm, bakterinin yüzeyinde düzensiz bir şekilde dağılmış polisakkarid bir matrikstir. Mikroskobik olarak incelendiğinde biyofilm; arasından kanalların geçtiği, ortamdaki organik ve inorganik moleküllerin ekstraselüler yapıda toplanmasıyla bir oluşum görünümündedir (Carpentier ve Cerf, 1993; Allison vd., 1998).

Biyofilmlerin büyük bölümünü (% 73-98) su oluşturur. Matriks içindeki diğer bileşenler ise; % 1-2 EPS, % 1-2 globuler glikoproteinler ve diğer proteinler, % 1-2 nükleik asit, lipit, fosfolipitlerdir. Ancak bu oranlar mevcut organizmaların çeşidine, fizyolojik özelliklerine, gelişme ortamının doğasına, akışkanın tipine, genel fiziksel özelliklere göre değişebilmektedir (Allison, 2003).

2.4.2. Biyofilm oluşum basamakları

2.4.2.1. Dönüşümlü tutunma

Bakteri hücrelerinin yüzeye ilk tutunmasında bakteri hücresi yüzey ile tam olarak temas etmemekte; ancak bakteri hücresi ile yüzey arasında uzun mesafeli etkileşimler meydana gelmektedir. Bu aşamada bakterinin yüzeye tutunması bakteriyel hücre yüzeyinin (Ferreira vd., 2010), yapı (Donlan, 2002), yüzey yükü (Abdallah vd., 2009), hidrofobiklik (Donlan, 2002) pH, sıcaklık (Nilsson vd., 2011) ve besin maddelerinin varlığı (Donlan, 2002; Gerstel ve Römling, 2001) gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır.

Yüzeye tutunan hücreler çok az miktarda EPS'ye sahiptirler ve bağımsız hareket etme yeteneğindedirler (O'Toole ve Kolter, 1998). Yüzey özellikleri bakteriyel tutunmada önemli rol oynar. Bakteriler türüne göre farklı yüzeylere farklı miktarlarda bağlanabilirler. Hücreler bu aşamada durulama gibi basit yıkama

işlemleri ile kolayca yüzeyden uzaklaştırılabilirler (Sinde ve Carballo 2000).

2.4.2.2. *Dönüşümsüz tutunma*

Dönüşümlü tutunmadan dönüşümsüz tutunmaya geçiş EPS varlığında bakterinin yapmış olduğu zayıf bağların kalıcıya dönüşmesidir (Stoodley vd., 2002). Dönüşümsüz tutunmayı yüzeye kısa mesafeli etkileşimler (dipol-dipol etkileşimi, hidrofobik etkileşimler, iyon-dipol etkileşimi, iyonik ve kovalent bağlar ve hidrojen etkileşimleri) sağlamaktadır. Bakteri hücreleri flagella(kamçı) ve pili (ince kıl) gibi organelleri ile ayrıca EPS oluşturarak yüzeylere dönüşümsüz olarak bağlanırlar (Poulsen, 1999).

2.4.2.3. *Koloni gelişimi*

Mikrokoloni gelişimi bakteri hücrelerinin yüzeyde birikmesi, mikroorganizmaların gelişmesi ve EPS üretimi sonucunda gerçekleşir (Chmielewski ve Frank, 2003). EPS bakteri ve alt katmanı arasında bağ oluşumuna katkıda bulunur. Koloniyi her türlü çevresel strese karşı stabil hale getirir (Donlan, 2002). Bu sistemde bakterilerin yüzeyde toplanma işlemi planktonik hücrelerin sinyal molekülleriyle etkileşip bir araya gelmesiyle gerçekleşir. Bu aşamada bir bakteri hücresi yüzeyde koloni oluşturduktan sonra (ilk koloni), aynı yüzeyde diğer bakteriler de koloni oluşturur (ikincil koloni). Biyofilm büyüdükçe polimer matriksinde kapsül oluşturmuş mikroorganizmalarda da artış görülür (Poulsen, 1999).

2.4.2.4. *Olgun biyofilm oluşumu*

Bu aşamada biyofilm hücreleri besin maddelerinin etkisiyle apartman ya da mantar şeklinde yapılara dönüşürler (Chmielewski ve Frank., 2003; Klausen vd., 2003). Çeşitli yüksekliklerde kuleler oluşturan mikrokolonilerin aralarında besinlerin ulaştırılması ve metabolik atık ürünlerin uzaklaştırılması için dolaşım sistemi olarak görev yapan su kanalları bulunmaktadır (Kumar ve Anand, 1998; Poulsen, 1999). Hücrelerin bu yapıya ulaşılabilmesi için yaklaşık 10 gün ya da daha uzun bir süre gerekmektedir (Stoodley vd., 2002).

2.4.2.5. Biyofilm hücrelerinin koparak ayrılması

Biyofilm oluşumunda son aşama biyofilm hücrelerinin koparak ayrılmasıdır. Hücreler bu aşamada planktonik fazlarına geri dönerler (Sauer vd., 2002) . Artan akış kuvveti (Stoodley vd., 2002), iç enzimatik bozulma, EPS yada yüzey bağlayan proteinlerin açığa çıkması gibi hücre içinde görülen işlemler biyofilm hücrelerinin ayrılmasında önemli rol üstlenir (Kaplan vd., 2004). Ayrıca ortamda besin maddelerinin tükenmesi de hücresel ayrılmaların önemli bir nedeni olabilmektedir (O'Toole ve Kaplan, 2000). Bu ayrılma işlemi dış kuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi, biyofilm oluşum basamağının bir parçası olarak tek bir hücrenin veya çoklu hücrelerin kopmasının bir sonucu da olabilir (Poulsen, 1999) (Şekil 2.4.).



1930'lu yıllardan bugüne kadar yoğun bir şekilde araştırılan biyofilm tabakası, endüstriyel/evsel su sistemlerinde, ısı değiştiricilerde, su ileten borularda, gemi karinalarında, su arıtma, depolama, işleme ve dağıtım tesislerinde “biyofouling” olarak da adlandırılan istenmeyen tortu ve tabakalaşmalara yol açarak önemli derecede ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Hallam vd., 2001).

Süt ve diğer gıda sanayilerinde biofouling; ısının yüzeyden akışını geciktirmesi, yüzeydeki sıvının ve kimyasal sürtünme oranının artması gibi ciddi sorunlar yaratmaktadır.

Boru hatlarında oluşan biyofilm, boru hattı boyunca akışın azalmasına, ısı taşınımı azalmasına, ürünün kontamine olmasına neden olmaktadır (Kumar ve Anand, 1998) ve biyofilm içindeki asit oluşumu nedeniyle borular korozyona uğrayabilmektedir (Chechowski, 1990; Jayaraman vd., 1997; Poulsen, 1999).

Patojen veya bozulma etmeni birçok mikroorganizmanın paslanmaz çelik, alüminyum, cam, ahşap, teflon ve plastik materyaller üzerinde biyofilm oluşturdukları belirlenmiştir (Barnes vd., 1999; Kim vd., 2006; Lindsay ve Von Holy, 2006; Padera, 2006; Planchon vd., 2006). Biyofilm yıllardır endüstriyel bir sorun olarak bilinirken, artık tıptaki önemi sadece dişteki plaklardan ibaret olmayıp özellikle yabancı cisim enfeksiyonları başta olmak üzere birçok kronik enfeksiyonda rol oynadığı gösterilmiştir (Costerton vd., 1999).

Enfeksiyon hastalıkları ile biyofilm oluşturan mikroorganizmalar arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Bu mikroorganizmalar özellikle kalp iç zarı iltihabı, periodontit, kistik fibrozis gibi hastalıklara neden olur (Donlan ve Costerton, 2002). Özellikle immün sistemi baskılanmış ve kalıcı tıbbi kateteri olan hastalarda ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Biyofilmler insan vücudunda kateterler, kontakt lens, protez kalp kapakçıkları ve kalp pilleri, rahim içi araç, böbrek taşı, akciğer dokusu gibi canlı ve cansız birçok yüzeyde bulunabilir (Lindsay ve Von Holy, 2006).

Yabancı cisim ve diğer kronik enfeksiyonlarla, antibiyotiklere ve konak savunmasına karşı kazanılmış direnç ile ilgili çalışmalara dayanarak Amerika Birleşik Devletleri'nin Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), tüm dünyada biyofilme bağlı enfeksiyonların oranını % 65 olarak açıklamıştır (Costerton, 1999).

Klinik ekipman ve implantlarda oluşan özellikle *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus* gibi organizmaların oluşturduğu biyofilmler, enfeksiyonların ana nedenlerinden biridir (Huebner ve Goldmann, 1999).

Gıda endüstrisinde en yaygın olarak *Pseudomonas* sp. ve *Staphylococcus* sp. biyofilm oluşturmaktadır. Et yüzeylerine bağlanabilen bakteriler arasında ise *Listeria*

monocytogenes, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Brochothrix thermosphacta*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. sayılabilir (Poulsen, 1999). Dondurma üreten bir işletmede yapılan çalışmada, üretimden 8 saat sonra dondurma makinesinin taşıyıcı kayışı üzerinde oluşan biyofilm tabakasında *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Escherichia* ve *Edwardsiella*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Moraxella*, *Pseudomonas* ve *Alcaligenes* spp. belirlenmiştir (Gündüz ve Tuncel, 2006).

Ayrıca biyofilm yapısındaki patojenler, antibiyotiklere ve vücudun doğal savunma mekanizmalarına karşı daha dirençlidirler ve bu nedenle biyofilm ilişkili hastalıklarda tedavi daha zor ve uzun sürmektedir. Bir yoğun bakım ünitesindeki cihazlardan izole edilmiş bakteriyel patojen suşların % 88'inin biyofilm oluşturabildiğini ve % 85'inin çoklu ilaç direncine sahip olduğunu bildirmişlerdir (Olson vd., 2002; Hall-Stoodley vd., 2004).

Biyofilm oluşumunun önlenmesi veya oluşmuş biyofilmlerin giderimi son yıllarda önem kazanan bir konudur. Antimikrobiyal ajanlar, bitkisel yağlar, biyofilm yapısını bozan enzimler, şelatlayıcı ajanlar, biyosüpfaktanlar, tuzlar ve laktik asit, asetil sistein, ibuprofen gibi farklı amaçlı kimyasallar antibiyofilm etkileri bakımından denenmiş maddelerdir (Ceyhan, 2008; Taraszkievicz vd., 2013).

Mekanik temizleme ve antimikrobiyal ajanlar en çok kullanılan yöntemlerdir. Mekanik temizleme pahalı olabilir, çünkü genelde alet kullanımı ve ciddi miktarda iş gücü gerektirir. Kirlenmiş bölgeye ulaşamaması gibi bazı durumlarda da kullanılamaz. Biyosit ve dezenfektanların kullanımı biyofilmdeki mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oluşturması durumunda etkisiz kalabilir (Stewart vd., 2000; Thormann vd., 2005).

Duarte vd., (2006) propolis etil etanol ekstraktının *S. mutans*' in biyofilm oluşumu ve farelerde çürük üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, propolis özütünün biyofilm üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını, ancak biyofilm tabakasının asit oluşumunu belirgin miktarda azalttığını rapor etmiştir.

Koo vd., (2002) propolis içerikli ağız gargarasının dental plak oluşumu üzerine

etkisini inceledikleri çalışmalarında propolisin çözülme-yen polisakkarit oluşumunu belirgin miktarda azalttığını bulmuşlardır. Muray vd., (1997) ise % 10 propolis içeren gargaranın dental plak oluşumunu belirgin olarak azalttığını tespit etmişlerdir.

2.5. Quorum Sensing

Birçok organizma tür içi ve türler arasında farklı sinyal moleküllerini kullanarak birbirleriyle iletişim kurmaktadır. Bakteriler sinyal moleküllerini salgılayabildikleri gibi bu moleküllerin ortamdaki yoğunluğunu ölçebilmekte, çevrelerindeki diğer mikroorganizmaların miktarını hissedebilmekte ve bu verileri diğerlerine iletmesine imkan sağlamaktadır. Bu olaya “quorum sensing” (yeterli çoğunluğu algılama) denir (Lazdunski vd.,2004; Saraçlı, 2006).

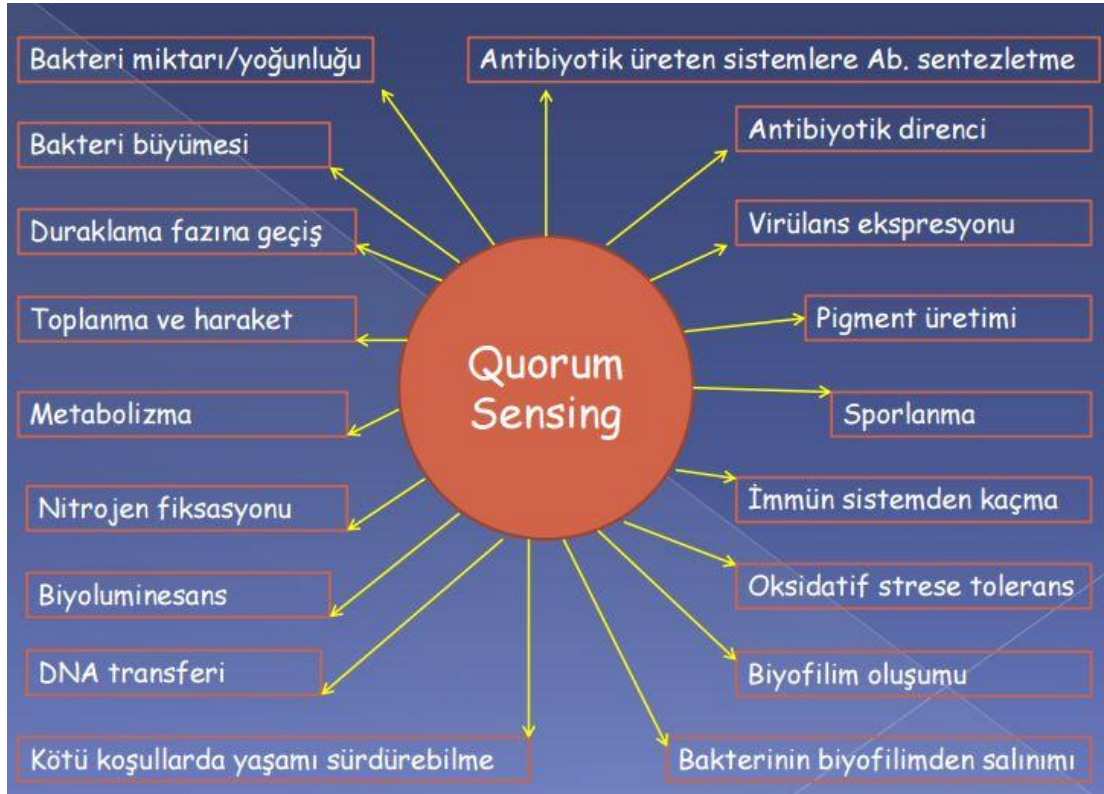
Bakterilerin birbirleri ile iletişime girdikleri ilk olarak Fuqua ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. *Vibrio harveyi* ve *Vibrio fischeri* normalde az sayıda olduklarında ışığa yapmayan iki deniz bakterisidir. Ancak bakteriler yüksek yoğunluğa ulaştıklarında çevreye ışık saçabilmektedirler (Fuqua vd., 1994).

Vibrio fischeri tarafından üretilen quorum sensing (QS) molekülü ilk kez 1981 yılında saflaştırılmış ve N-3-oxo-C6 (3-oxohexanoyl)-homoserin lakton (açılHSL) yapısında olduğu gösterilmiştir (Eberhard vd., 1981). S-adenosyl methionine türeviden olan bu açıl-HSL molekülünün sentezinden sorumlu olan genler tanımlanmış ve QS araştırmaları için örnek sistem olarak kabul edilmiştir (Engebrech vd., 1983). Esasen her iki *Vibrio*'nun ürettiği oldukları QS molekülü de N-açıl Homoserin Lakton (AHL) yapısında olmakla birlikte aralarında yan zincir yapılarında farklılıklar gözlenmiştir. QS moleküllerinin "auto-inducer (AI)" olarak da ifade edilmelerinin nedeni ürettikleri hücrenin metabolizması üzerinde düzenleyici etki göstermeleridir (Lazazzera ve Grossman, 1998; Novick ve Muir, 1999; Donabedian, 2003).

Yıllar boyunca AHL temeline dayanan QS çalışmalarının *V. fischeri* ve *V. harveyi* gibi deniz bakterileri ile sınırlı olduğu düşünülmüş, ancak antibiyotik sentezine yönelik çalışmalar bunun böyle olmadığını göstermiştir. 1990'ların başında,

karbapenem antibiyotik üretemeyen *Erwinia carotovora* bakterisinin farklı bir mutant bakteri grubu ile birlikte olduğunda diğer bakteri tarafından sağlanan sinyal molekülü sayesinde antibiyotik sentezine yeniden başladığı gösterilmiş, bu molekülün *V. fisheri*'de ışığı tetikleyen molekül ile aynı yapıda olduğunun görülmesi yeni çalışma alanları doğurmuştur (Bainton vd., 1992).

Beslenme, üreme, spor oluşumu, antibiyotiklere direnç, biyofilm oluşumu gibi önemli virülans faktörlerinin üretimi gibi davranışların çoğu QS sinyal molekülleri aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 2.5.) (Fuqua vd.,1994; Açıköz, 2012).



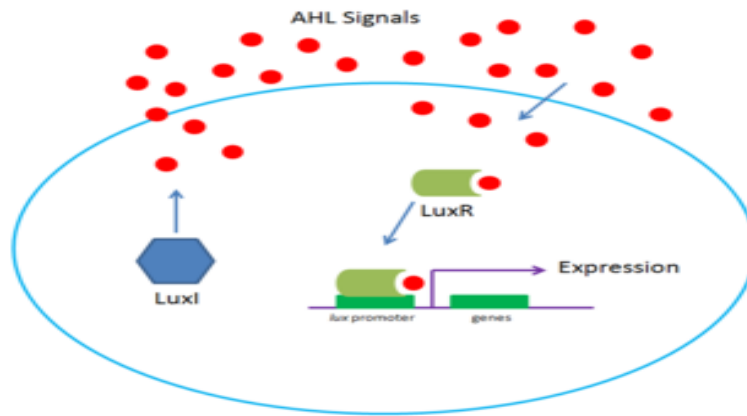
Şekil 2. 5. Mikroorganizmalarda QS sinyal molekülü sayesinde meydana gelen davranışlar

Bakteriler birbirleriyle haberleşme amacıyla 3 tip sinyal molekülü kullanmaktadır (Karaboz and Sukatar, 2004). Gram negatif bakterilerde Açıl homoserine laktonlar (AHL), Gram pozitif bakterilerde Autoinducer peptidler (AIP) ve hem Gram (-) hem de Gram pozitif bakteriler arasında Autoinducer-2 (AI-2) sinyal molekülleriyle olmaktadır (Karaboz ve Sukatar, 2004).

2.5.1. Gram (-) bakterilerde quorum sensing mekanizması

Bu sistemi oluşturan lux I, tipi proteinler, otoindükleyiciler (AI-1) olan açıl homoserin laktonların (AHL veya HSL) üretiminden sorumlu olan enzimlerdir. Sistemin diğer unsuru olan Lux R ise bakterinin kendi oto indükleyicisi ile birleşebilen sitoplazma içindeki eşleniği olan proteindir. Lux I, AHL sentezinde gerekli olan bir gen iken, Lux R, AHL transkripsiyonunu kontrol eden bir regülatörü kodlar (Raffa vd., 2005).

Her bir Gram (-) bakteri, kendine özgü bir AHL veya AHL'ler kombinasyonu üretir. Böylece, sadece kendi bireylerinin tanıyıp yanıt vermesi sağlanır. Dışarıya difüzyon ile salınan AHL konsantrasyonu belirli bir eşik düzeye gelince otoindükleyici yine difüzyonla membrandan içeriye girerek sitoplazmik eşleniği olan Lux R proteini ile bağlanır. Oluşan bu Lux I/ Lux R kompleksi de spesifik DNA promotor elementlerine bağlanarak, hedef genlerin transkripsiyonuna olanak sağlar. Ortamda quorum sensing molekülleri yeterli sayıda değilken gen ekspresyonu luxR geni yönünde gerçekleşirken, quorum sensing moleküllerinin yeterli sayıya ulaşmaları ve LuxR proteini ile birleşmeleri ile başlayan süreç sonucunda ise gen ekspresyonu luxI/lux CDABE operonları yönünde gerçekleşerek biyoluminesansın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Şekil 2.6.) (Camara vd., 2002; Daniels vd., 2003; Federle ve Bassler, 2003).



Şekil 2. 6. *Vibrio fischeri*'de AHL (LuxI/LuxR) tipi "quorum sensing" iletişimi

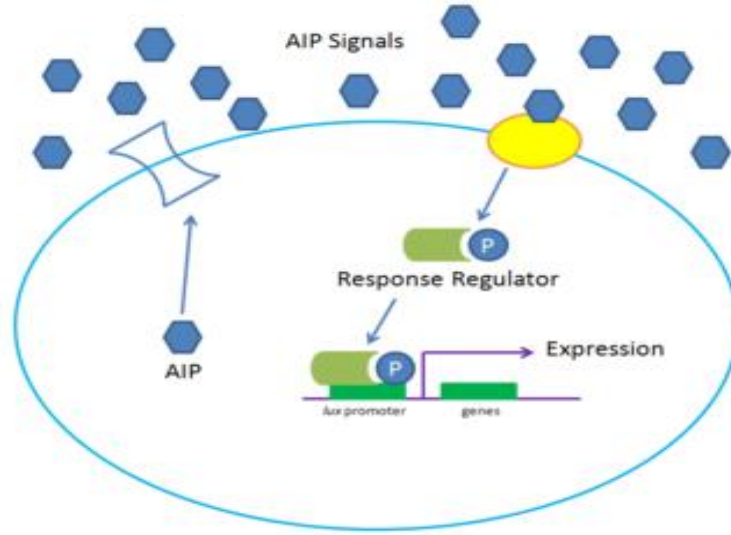
Gram (-) bakterilerde bulunan QS sistemleri ile belirlenen davranış biçimleri arasında biyoluminesens, virülens, biyofilm oluşumu, hareketlilik, antibiyotik üretimi, ekzoenzim salgılanması, bazı pigment üretimleri, plazmidlerin konjugasyonla transferi, durağan faza geçiş, nodül oluşumu, swarming, sporulasyon ve fruktifikasyon oluşumu v.b. davranışlara rastlanılmıştır. Son zamanlarda 70'ten fazla Gram negatif bakteride çeşitli prosesleri kontrol etmede, dört, beş veya daha farklı kimyasal sınıftan sinyal molekülü LuxI / LuxR tipi QS sistemi olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca daha keşfedilmemiş bazı farklı sinyal moleküllerinin bulunabileceği de öne sürülmektedir (Federle ve Bassler, 2003; Suga ve Kristina, 2003; Podbielski ve Kreikemeyer, 2004).

2.5.2. Gram (+) bakterilerde quorum sensing mekanizması

Gram pozitif bakterilerde AHL aracılığıyla oluşan QS sistemi bulunmamaktadır. Bunun yerine Gram (+) bakterilerin kısa oligopeptit otoindükleyicileri yaptığı ve taşıdığı belirlenmiştir. Otoindükleyici peptitler (AIP) olarak bilinen bu oligopeptitler 5-17 amino asitten oluşup, bazen alışılmışın dışında yan zincir modifikasyonları göstermektedir.

AHL sinyalinin aksine bakteri hücre membranı AIP için geçirgen değildir. Hücreden dış çevreye AIP sekresyonunun taşınması hücre yüzeyindeki oligopeptid taşıyıcılar ile aranmaları ise iki komponentli sensör transdüksiyon sistemleri ile olmaktadır (Şekil 2.7.) (Delisa ve Bentley, 2002; Federle ve Bassler, 2003; Xavier ve Bassler, 2003).



Şekil 2. 7. Gram pozitif bakterilerde AIP tipi "quorum sensing" iletişimi

Gram pozitif bakterilerde görülen AIP molekülleri bir ABC transporter sistemi tarafından hücre dışına salgılanır. Daha sonra; ya taşıdıkları sinyali bir membrana bağlı sensör kinaz aracılığıyla dolaylı olarak hücre içine iletmekte, ya da AIP'nin kendisi bir oligopeptid aracılığı ile hücre içine kendisi girerek transkripsiyonel değişikliklere sebep olmaktadır (Anonim, 2006a; Anonim, 2006b).

İki komponentli sistemler çeşitli Gram (-) ve Gram (+) bakterilerde mevcut olup, bu sayede hücre dışındaki değişimler izlenip çevredeki değişikliğe uygun yanıtı verecek gen ifadesi için gerekli bilgi iletişimi sağlanmaktadır. Gram (-) bir ürener sistem patojeni olan *Providencia stuartii*'nin Gram negatif olmasına rağmen ilk kez Gram pozitiflerdeki gibi salgılanan peptitler kullanarak hücreler arası iletişim kurduğu tespit edilmiştir (Federle ve Bassler, 2003).

2.5.3. Bakterilerde türler arası iletişim

Bakterilerde türler arası iletişimi sağlayan otoindükleyici molekül AI-2 olup, AI-2 üretiminden sorumlu olan gen de Lux S'dir (Şekil2.1.) (Federle ve Bassler, 2003).

AI-2'nin yapısı aydınlatıldığında, sürpriz bir durumla karşılaşılmıştır. AI-2'nin yapısında ilk kez biyolojik bir molekülde "bor" atomu olduğu görülmüş ve AI-2 molekülünün kimyasal olarak bir (furanosil borat diester) olduğu ortaya konmuştur

(Coulthurst vd., 2002; Federle ve Bassler, 2003).

Bakterilerde türler arası iletişimi sağlayan molekülün yapısında bor atomunun ortaya çıkmış olması bakterilerde konuşmayı sağlayan dilin bor olduğunun ileri sürülmesine yol açmıştır.

AI-2'nin S-adenosylmethionine (SAM)'dan üç enzimatik adımla üretildiği görülmektedir. Şimdilik sadece *Vibrio harveyi* tarafından üretilen AI-2 yapısı belirlenmiştir, fakat 30'dan fazla farklı bakteri türünün oldukça korunmuş Lux S geni içerdiği bilinmektedir (Coulthurst vd., 2002).

Çizelge 2. 1. Lux S geni içerdiği bilinen bakteriler (Federle ve Bassler, 2003)

<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus halodurans</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Sinorhizobium meliloti</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Leuconostoc oenos</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Clostridium acetobolyticum</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Haemophilus somnus</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Helicobacter hepaticus</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	<i>Vibrio harveyi</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Oenococcus oeni</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
<i>Yersinia pestis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	

AI-2'nin karakterizasyonu birçok bakımdan önemlidir:

-Doğada oldukça yaygın ve bilinen diğer tip otoindükleyicilerden farklı olması,

-Oldukça geniş bir aralıktaki bakterilerce yapılan ve tanınan otoindükleyici olmasıdır. Bu yüzden farklı bakteriler arasında iletişimi sağladığı bilinen ilk moleküldür.

Mikroorganizmaların, birbirleri ile koordineli davranmaları, çevresel şartlardaki değişmelere çabuk cevap vermeleri ve uyum gösterebilmeleri sayesinde hayatta kalabilmeleri, mevcut besin maddelerinin kullanılmasında yarıştıkları diğer mikroorganizmalara karşı avantaj sağlamaları, toksik bileşiklerden korunmak

amacıyla biyofilm oluşturmaları ve antibiyotik ile spor üretmeleri gibi birçok yanıtı QS molekülleri aracılığıyla kontrol eder. Başarılı bir enfeksiyon süreci mikroorganizmaların QS moleküllerince kontrol edilen bu virülans faktörleri sayesinde konağın immün yanıtından kurtulabilmelerine bağlıdır (Raffa vd., 2005). Bu noktadan hareketle QS araştırmalarının en muhtemel yararı, mikroorganizmalar arası sinyal iletişimini bozarak mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasıdır. QS molekülleri ile ilgili araştırmaların üç temel stratejide toplandığı görölmektedir:

QS molekülünün üretimini önlenmesi: QS inhibitörü varlığında üretilen *S.aureus* biyofilmlerinin antibiyotik ve dezenfektanlara daha duyarlı oldukları bilinmektedir.

QS molekülünün yıkılması veya inhibisyonu: QS sinyalinin yayılmasını önlemenin en bilinen yolu yıkıma uğratılmasıdır.

Bazı Bacillus türleri üretmiş oldukları bir enzim aracılığı ile AHL molekülünü parçalayarak etkisiz hale getirirlerken, bakterilerin üretmiş oldukları AHL sinyal iletişimini bozarak kontrol altında tutmaktadır (Manefield vd., 1999).

QS sinyalinin alınmasının önlenmesi: QS sinyalinin alınmasını önlemek amacıyla reseptöre karşı yarışan AHL analogları denenmektedir. Bu analoglar genellikle AHL molekülünün yan zincirlerini uzatarak türetilmektedir. AHL molekülünün reseptörü sitoplazmik veya membranın sitoplazmik yüzünde yerleşik olan LuxR proteini, AIP sinyalinin reseptörü ise membrana bağlı histidin kinazlardır. AI-2 molekülü ise ya AHL benzeri şekilde LuxR homologu LuxP ile etkileşir veya Lsr transporter molekülü ile hücre içine girerek etki gösterir (Hentzer ve Givskov 2003; Raffa vd., 2005).

Sonuç olarak birçok mikroorganizma türü sosyal bir davranış sergilemektedir. Üretmiş oldukları sinyal molekülleri aracılığı ile birbirleri ile iletişim kurmakta, belirli bir çoğunluğa ulaşıp ulaşmadıklarını izlemekte ve yeter çoğunluğa ulaştıkları anda da virülans faktörlerinin sentezi gibi kritik gen ekspresyonlarını tetiklemektedir. Böylelikle konağın bağışıklık sistemini zamanından önce uyararak başarılı bir enfeksiyon sürecini oluşturmaktadır. Öte yandan anti-quorum sensing molekülleri aracılığı ile gerçekleştirilen iletişimin bozulması durumunda ise mikroorganizmaların koordineli davranamayacakları ve başarılı bir enfeksiyon süreci ortaya

koyamayacakları açıktır (Saraçlı, 2006).

2.6. Propolis Ekstraktları Kullanılarak Yapılan Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Serra ve Escola (1995) 12 farklı propolis örneğinden elde ettiği fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesini çalışmış ve bakteriyostatik aktivite ile flavonoidler arasında ilişki olduğunu, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'u inhibe etmek için en az 60- 80 µg/mL konsantrasyonda propolis ekstraktının, *Escherichia coli*'yi inhibe etmek için ise 600-800 µg/mL propolis gerektiğini belirtmişlerdir.

Nieva Moreno vd. (1999) Arjantin propolisinin *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *E. faecalis*'e karşı antibakteriyal etkisi olduğunu, *E. coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Stenotrophomonas maltophilia*'ya karşı etkisi olmadığını bildirmişlerdir .

Hegazi vd. (2000) Almanya, Avusturya ve Fransa'dan toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının *S. aureus*, *E. coli* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Almanya propolis ekstraktı *S.aureus*'a karşı MİK değeri 0.101 µg/mL ve *E. coli*'ye MİK değeri 0.364 µg/mL ile en yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Avusturya propolis ekstraktı *C. albicans*'a karşı MİK değeri 0.175 µg/mL ile en yüksek aktiviteye sahiptir. Fransa propolis ekstraktının tüm patojenlere karşı etkili fakat Almanya ve Avustralya propolis ekstraktına göre daha düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Koo vd. (2000) yaptıkları çalışmada Brezilya'nın Kuzeydoğu, Güneydoğu ve Güneyinden toplanan propolis etanol ekstraktlarının *S. mutans*'a karşı sırasıyla MİK değerlerinin 50-100-400 µg/mL, *S. sobrinus* ve *S. cricetus*'a karşı sırasıyla MİK değerlerinin 25-400-50 µg/mL olduğunu bildirmişlerdir.

Gebara vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada Brezilya'ya ait propolisin etanol ekstraktının MİK değerlerinin *C. albicans* (10231) için 12 µg/mL, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* için 14 µg/mL olduğu bildirilmiştir.

Hegazi ve Abd El Hady (2002) yaptıkları çalışmada Mısır'dan (El-Saff ve Ismailia) toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. El-Saff propolisinin, Ismailia propolisine göre *S. aureus* (MİK 0.484 µg/mL) ve *C. albicans*'a (MİK 0.303 µg/mL) karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ismailia propolisi ise El-Saff propolisine göre *E. coli*'ye (MİK 0.479 µg/mL) karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Chang Lu vd. (2003) tarafından Tayvan, Brezilya ve Çin'den toplanan propolisin etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Çalışmadaki propolis örneklerinin *S. aureus* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı antibakteriyel etki gösterirken *E. coli* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı antibakteriyel etkisi olmadığını bildirmişlerdir

Kartal vd. (2003) Ülkemiz Kazan (Ankara) ve Marmaris (Muğla) yöresine ait propolis örneklerinin % 30, % 50, % 70 ve % 96 etanol ile ekstraktlarını hazırlamışlardır. Propolis ekstraktının 0.1 mg/mL konsantrasyonunun Kazan bölgesine ait propolis örneğinin *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Branhamella catarrhalis*, *C. albicans*'ı Marmaris bölgesine ait propolis örneğinin ise *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*'i inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Silici ve Kaftanoğlu (2003) Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerine ait illerden (Bursa, İzmir, Kayseri, Sivas, Yozgat, Erzurum, Hatay, Artvin) toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. İncelenen propolis örneklerinin tümü *S. aureus*'a (MİK < % 0.1 ve % 0.4 arasında) karşı önemli aktivite gösterirken, *E. coli*'ye (% 3.5 ve % >14) karşı gözlenen antibakteriyel aktiviteyi daha zayıf olarak bulmuşlardır.

Stepanovic vd. (2003) Sırbistan'a ait 13 propolis örneğinin 14' ü antibiyotiklere dirençli olan 39 mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Gram pozitif bakterilere karşı % 0.078 -1.25 konsantrasyonda, mayalara karşı % 0.16-1.25 konsantrasyonda MİK değerleri rapor edilmiştir.

Ugur ve Arslan (2004) Muğla iline ait aseton ve dimethyl sulfoxide (DMSO) ile ekstrakte edilmiş 45 propolis örneğinin antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlardır. DMSO ekstraktları *Brucella melitensis* dışında aseton ekstraktlarına göre daha yüksek oranda antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Propolise en duyarlı Gram negatif bakteri *Shigella sonnei*, Gram pozitif bakteri *S.mutans* ve maya ise *C.albicans* olarak rapor edilmiştir.

Boyanova vd. (2005) Bulgaristan'a ait propolis örneğinin *Helicobacter pylori* suşları üzerinde değişik konsantrasyonlarda antibakteriyal aktivitesi olduğunu bildirmişlerdir.

Kılıç vd. (2005) Türkiye'ye ait 3 farklı bölgeden toplanan (Mamak, Kemaliye1, Kemaliye 2) propolis örneklerinin etanol ekstraktının 33 metisilin dirençli *S. aureus* ve 33 vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Mamak, Kemaliye1, Kemaliye 2 ekstraktlarının *S. aureus*' a karşı sırasıyla MİK değerleri 7.8-31.2 µg/mL, 70.3-281.2 µg/mL, 35.1-140.4 µg/mL; *E. faecium*' a karşı sırasıyla MİK değerleri 7.8-31.2 µg/mL, 35.1-140.4 µg/mL, 35.1-281.2 µg/mL olduğunu bildirmişlerdir.

Popova vd. (2005) Türkiye'de değişik illerden toplanan propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. coli* ATCC 25922 suşlarına karşı Yozgat, İzmir ve Kayseri örneklerinin Adana, Erzurum ve Artvin örneklerine göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Sönmez vd. (2005) Türkiye'de yaptıkları bir çalışmada 6 propolis örneğinin etanol ekstraktının antimikrobiyal ve güçlü antifungal etki rapor etmişler ve dişeti fibroblastlarına düşük konsantrasyonlarda güvenli şekilde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Uzel vd. (2005) Bursa, Ankara, Bartın ve Trabzon illerine ait propolisin etanol ekstraktlarının 13 mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. En etkili propolis örneğinin *S. sobrinus* ve *E. faecalis* için 2 mg/mL, *Micrococcus luteus*, *C. albicans* ve *C. krusei* için 4 mg/mL, *S. mutans*, *S. aureus*, *S.epidermidis* ve *Enterobacteraerogenes* için 8mg/mL, *E. coli* ve *C. tropicalis* için

16mg/mL, *S. typhimurium* ve *P. aeruginosa* için 32 mg/mL konsantrasyonda inhibisyon etkisi gösteren Bursa iline ait örnek olduğunu bildirmişlerdir.

Aksoy ve Dığrak (2006) Bingöl yöresinde toplanan propolis örneklerini kloroform, etil asetat, aseton ve etil alkol ile ekstrakte etmişlerdir. Bu çalışmada 500µg propolis ekstraktının, *P. aeruginosa* 9027, *S. aureus* 6538, *B. subtilis* IMG 22, *Bacillus megaterium* DSM 32, *M.luteus* LA 2971, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *Bacillus brevis* FMC 3, *E. aeruginosa* ATCC 27859 ve *Corynebacterium xerosis* ATCC 373'a karşı antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada en yüksek antimikrobiyal aktivite *E. coli* bakterisine karşı kloroform ekstraktında, *B. subtilis*'e karşı ise aseton ekstraktında 33 mm'lik inhibisyon zonları ölçülmüştür.

Duarte vd. (2006) Brezilya'dan topladıkları 6 adet propolis örneğinin hekzan, etanol ve kloroform ekstraktlarıyla yaptıkları çalışmada, propolis örneklerinin *S. mutans* UA159 ve *S. sobrinus* 6715 üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Katircioglu ve Mercan (2006) Türkiye'ye ait 3 propolis örneğinin etanol ekstraktlarının, *K. pneumoniae* ATCC 27736 ve *Morganella morganii* (klinik izolat)'ye karşı etkili olmadığı fakat Gram (-) bakteriler arasında *E. coli* ATCC 35218'nin gelişiminde güçlü inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Scazzocchio vd. (2006) İtalya'dan toplanan propolisin etanol ekstraktının *S. aureus* (35)suşu için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 1.25 mg/mL; *S. epidermidis* suşu için MİK₅₀ ve MİK₉₀ (63) değerleri sırasıyla 1.25 ve 2.5 mg/mL; *Streptococcus spp.* suşu için MİK₅₀ ve MİK₉₀ (123) değerleri ise 0.31 ve 2.5 mg/mL arasında olduğunu bildirilmiştir.

Gomez vd. (2007) yaptıkları çalışmada Brezilya'dan toplanan propolisin etanol ekstraktının oral patojen mikroorganizmalar *C.albicans*, *C.tropicalis*, *S. mutans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *Actinomyces israeli*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* üzerindeki antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. Çalışma en düşük MİK değeri 1.75 µg/mL ile *A. israeli*, en yüksek MİK değeri ise 28 µg/mL ile *S. mutans*'a karşı rapor edilmiştir.

Kılıç vd. (2007) Türkiye' ye ait 6 propolis örneğinin etanol ekstraktının *E. coli*, *S. aureus*, *Acinetobacter lwoffii*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* türlerine karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Ekstraktların mikroorganizmalara karşı MİK değerleri 3.7-281.2 µg/mL arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Mohammadzadeh vd. (2007) İran'dan toplanan propolisin etanol ekstraktının *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 10231 ve *A. niger* ATCC 16404 suşlarına karşı orta, ancak *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerinde kuvvetli antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Yaghoubi vd. (2007) İran' a ait propolisin etanolik ekstraktının *S. aureus* PTCC 1189, *S. epidermidis* PTCC 1114, *B. subtilis* PTCC 1023, *B. cereus* PTCC 1015, *B. liqueiformis* PTCC 1331, *C. albicans* PTCC 5027, *Salmonella enteritidis* PTCC 1091, *E. coli* PTCC 1038, *Klebsiella pneumoniae* PTCC 5027 ve *Proteus vulgaris* PTCC 1182 üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *S. enteritidis*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae* dışındaki bakterileri 2mg/mL ile 67mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda inhibe ettikleri rapor edilmiştir.

Bastos vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada Brezilya'dan toplanan 16 propolis örneğinin etanol ekstraktının arı kolonilerinde Amerikan yavru çürüklüğü etmeni olan *Paenibacillus larvae* üzerindeki antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmaya göre propolis örneklerinin 12.9- 20.5 mm arasında inhibisyon zonları oluşturduğunu ve bu bakteriye karşı etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Erkmen ve Özcan, (2008) tarafından yapılan çalışmada propolis örneğinin *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı % 1.0, *B. cereus* ve *B. subtilis*'e karşı % 0.02 konsantrasyonda bakterisit etki gösterdiği rapor edilmiştir. Yine aynı çalışmada *L. monocytogenes* % 0.2 konsantrasyonunda inhibe olurken, *E. coli* ve *S. typhimurium*'a karşı antimikrobiyal etki gözlenmediği bildirilmiştir.

Vardar Ünlü vd. (2008) yapmış oldukları çalışmada Kayseri'ye ait propolis metanol ekstraktını GS-MS'le kimyasal yapısı ve antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Klinik açıdan önemli gram (+) bakterilere karşı MİK değerlerinin 0.12 ile 4 mg/mL aralığında olduğunu ve patojenik mayalara karşı ise değerlerinin MİK 0.25 ve 0.50

mg/mL olduğunu bildirmişlerdir.

Kashi vd. (2011) İran propolisiyle yaptıkları çalışmada propolisin etanolik ve su ekstraktlarının *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 9222, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 9854 ve *Lactobacillus casei* ATCC 39392 bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisi incelenmişlerdir. Etanol ekstraktı 20 mm zon çapı ile *S. salivarius*' a karşı su ekstraktı 12 mm zon çapı ile *S. mutans*'a karşı en yüksek antibakteriyal etki gösterdiğini ve MİK değerinin 500µg/mL olduğunu belirtmişlerdir.

Kim vd. (2011) Güney Kore'ye ait propolis örneğinin 35 µg/mL konsantrasyonda *S. mutans*'ı, 140 µg/mL konsantrasyonda ise *S. sobrinus*'u inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Temiz vd. (2011) diğer bir çalışmada Türkiye'nin çeşitli coğrafik bölgelerinden toplanan 25 propolis örneğinin, gıda patojeni olan *S. enteritidis* ATCC 13076 ve *L. monocytogenes* ATCC 1462'e karşı antibakteriyal aktiviteleri olduğunu bildirmişlerdir. Propolis etanol ekstraktının antibakteriyal aktiviteleri, 1:10 ve 1:100 (v/v) oranında iki farklı seyreltme şeklinde denenmiştir. Ekstraktların tümü 1:10 seyreltmede bakteri suşlarına karşı yüksek antibakteriyal aktivite göstermiş ve konsantrasyona bağlı olarak, gram (+) bakteriler üzerindeki antibakteriyal aktivitesi, gram-negatif bakterilerden daha yüksek bulunmuştur.

Afrouzan vd. (2012) İran'dan toplanan propolis örneğinin etanol ekstraktının *C.albicans* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmada *C.albicans*'a karşı 17 mm'lik inhibisyon zonu, *S. aureus*'a karşı 12 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğu bildirilmiştir.

Arslan vd. (2012) Kayseri'den toplanan propolis ekstraktlarının (etanol, metanol, kloroform, hekzan, propilen glikol ve etil asetat) *S. mutans* UA159 ve *S. sobrinus* 6715 üzerine antimikrobiyal aktivitesini ve ratlarda çürük gelişimine etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak etanol, metanol etil asetat ekstraktlarının MİK 50 µg/mL, propilen glikol, kloroform, hekzan ekstraktlarının 100µg/mL konsantrasyonda *S. mutans*'ı inhibe ettiği, metanol etil asetat, propilen glikol, hekzan ekstraktlarının 50 µg/mL, etanol, kloroform ekstraktlarının 100µg/mL konsantrasyonda *S. sobrinus*'u inhibe ettiği rapor edilmiştir. Buna bağlı olarak

propolis ekstraktlarının diş çürüğünün önlenmesinde kullanılabileceği bildirmişlerdir.

Wojtyczka vd. (2013) Polonya'dan toplanan propolis etanol ekstraktının 10 farklı *S. epidermidis* suşuna karşı MİK değerlerini 0.78-1.56 mg/mL arası konsantrasyonlarda olduğunu bildirmişlerdir.

Dogan vd. (2014) Manisa ve İzmir illerine ait propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 33862, *M. luteus* NRRL-B 1013, *P. fluorescens* ATCC 55241, *E. faecalis* ATCC 19433 ve *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Manisa'ya ait propolis ekstraktı *Micrococcus luteus* hariç diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ve 5.5 ile 14 mm arasında inhibisyon zon çapları oluşturduğunu belirtmişlerdir. İzmir' ait propolis esktraktının ise 4.5 ile 9.9 arasında inhibisyon zonları oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Novilla vd. (2014) Endonezya'ya ait propolis ekstraktlarının (etanol, hekzan ve etil asetat) metisiline dirençli *S. aureus*'a, *E.coli* ve *B.subtilis*'e karşı antibakteriyal aktivitesini araştırmışlardır. Etanol ve etil asetat ekstraktlarının 3 bakteriyi de inhibe ettiğini, etanol ekstraktının *S. aureus* ve *B. subtilis*'in sadece gelişmesini inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Hekzan ekstraktının ise antimikrobiyal etki göstermediğini, etanol ve etil asetat için MİK değerleri 40 mg/mL olduğunu rapor etmişlerdir.

2.7. Propolis Ekstraktları Kullanılarak Yapılan Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Nieva Moreno vd. (2000) Arjantin'den toplanan propolis örneklerinden 20 mg/mL konsantrasyonda DPPH % indirgenmesininin Banda Oeste için % 67.5; Vero nica için % 45; Forres için % 35 ve Saenz Pen için % 20 olduğunu ve doğal antioksidan olarak kullanılabilineceklerini bildirmişlerdir.

Hegazi ve Abd El Hady (2002) Mısır'ın El-Saff ve Ismailia bölgelerinden topladıkları propolis etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini DPPH yöntemi kullanarak tespit etmişlerdir. Çalışmada 1, 10 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda El-Saff propolisi sırasıyla % 13.82, % 25.00, % 88.16, Ismailia propoliside % 4.6, %

13.15, % 82.23 oranında giderim sağladığı rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda El-Saff propolisinin İsmailia propolisine göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Chang Lu vd. (2003) Tayvan, Brezilya, Çin' den toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktının DPPH serbest radikal giderim aktivitesini çalışmış ve IC₅₀ değerlerinin 17.90- 108.05 µg/mL arasında olduğunu belirtmişlerdir

Kumazawa vd. (2004) Şili, Çin (Hebei, Hubei, Zhejiang), Macaristan, Tayland, Ukrayna, Uruguay, Özbekistan, Avustralya, Bulgaristan Yeni Zelanda, Güney Afrika, ve Amerika Birleşik Devletleri' ne ait propolis örneklerinin DPPH ve β-karoten linoleik asit yöntemi ile antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Avustralya, Çin, Macaristan ve Yeni Zelanda örnekleri % 60 ın üzerinde DPPH serbest radikal giderim aktivitesi gösterirken Çin ve Macaristan örneklerinin β-karoten linoleik asit yönteminde yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Chen vd. (2004) Tayvan'dan toplanan propolis etanol ekstraktlarının 30 µg/mL konsantrasyonda DPPH % giderimlerinin TP1g için % 49.0, TP1b için % 33.0, TP2 için % 41.0, TP3 için % 40.5, TP4 için % 30.0, TP5 için % 13.0, TP6 için % 43.0 ve TP7 için % 43.5 olduğunu bildirmişlerdir.

Russo vd. (2004) Şili propolisinin etanol ekstraktlarının 5-80 µg/mL konsantrasyonlarının DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesinin % 10 ile % 95 arasında indirgenme gösterdiğini belirtmişlerdir.

Isla vd. (2005) Arjantin' den toplanan 25 propolis etanol ekstraktının serbest radikal giderimlerinin % 14 ile % 45.5 aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Choi vd. (2006) Güney Kore'nin 4 farklı bölgesinden ve Brezilya'dan toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının 10-100µg/mL arasındaki konsantrasyonlarda DPPH % indirgeme sonuçlarını bildirmişlerdir. 50 µg/mL konsantrasyonda % 90 indirgeme ile Kore (YS- CW) propolis örneklerinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Alencar vd. (2007) Brezilya propolisinin DPPH % indirgeme aktivitesinin 90 µg/ml konsantrasyonda etanol ekstraktı için % 57, hekzan ekstraktı için % 78 ve kloroform

ekstraktı için % 55 olduğunu bildirmişlerdir.

Ryeon Ahn (2007) Çin'den toplanan propolis etanol ekstraktının β - karoten ve DPPH yöntemleriyle antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Çalışma sonucuna göre propolis ekstraktlarının çoğunda % 50 ve daha yüksek antioksidan aktivite olduğu bildirilmiştir.

Sheng vd. (2007) Brezilya'dan toplanan propolis örneğinin etanol ve petrol eter ekstraktının DPPH ve FTC yöntemleriyle antioksidan aktivitelerini incelemiştir. DPPH sonuçlarına göre aynı konsantrasyondaki etanol ekstraktının petrol eter ekstraktına göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. 2 mg/mL konsantrasyonda etanol ekstraktının % 95.06, petroleum eter ekstraktının % 91.68 toplam antioksidan kapasitesine (FTC) sahip olduğunu belirtmişler.

Kumar vd.(2008) etanol ve metanol propolis ekstraktının DPPH ativitiesini incelemiştir. 10, 50 ve 100 μ g/ mL konsantrasyonlarda sırasıyla propolis etanol ekstraktının % 51.30, % 57.62 ve % 70.96 oranlarında giderim sağladığını rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada netanol ekstraktı 100 μ g/ mL konsantrasyonda % 57.97 oranında giderim gösterdiğini belirtmişlerdir.

Moreira vd (2008) yaptıkları çalışmada Portekiz'in iki farklı bölgesinden (Bornes ve Fundao) toplanan propolislerin metanol ekstraktlarının DPPH metodu ile IC_{50} değerlerinin sırasıyla 0.006 ve 0.052 mg/mL olduğunu ve yüksek aktioksidan aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir

Kalogeropoulos vd. (2009) Yunanistan ve Kıbrıs'tan toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktının DPPH radikal giderim aktivitelerini incelemiştir. DPPH serbest radikal giderim kapasitelerinin 0.45 ile 1.11mmol trolox/g arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Gülçin vd. (2010) Erzurum'dan toplanan propolis örneğinin su ekstraktının DPPH ve ferik tiyosiyanat yöntemi (FTC) ile antioksidan aktivitesini incelemiştir. DPPH yönteminde IC_{50} değerinin 31.81 μ g/mL, ferik tiyosiyanat yönteminde ise 10 μ g/mL konsantrasyonda % 93.2 linoleik asit emülsiyon peroksidasyonu ile yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Miguel vd. (2010) Portekiz'in 3 farklı bölgesinden (Serra do Algarve, Transiçao,

Barrocal) kış ve bahar döneminde toplanan propolis örneklerinin % 70 etanol ekstraktının DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Kış döneminde toplanan propolis örneklerinin IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 0.027,0.039 ve 0.009 mg/mL; bahar döneminde toplanan propolis örneklerinin IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 0.029, 0.040 ve 0.025 mg/mL olduğunu belirtmişlerdir.

Bonvehi ve Gutierrez (2011) İspanya'nın Bask bölgesinden toplanan 19 adet propolis örneğinin etanol ve propilen glikol ekstraktlarının DPPH aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada etanol ekstraktlarında serbest radikal giderimi % 19.1 ile % 40.5 arasında; propilen glikol ekstraktları için ise % 16.8 ile % 30.1 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Piccinelli vd. (2013) Cezayir'den toplanan 14 propolis örneğinin IC₅₀ değerlerini 32.3- 600 µg/mL arasında bulmuşlardır.

Silva Frozza vd. (2013) Brezilya kırmızı propolisin %70 etanol ekstraktının IC₅₀ değerinin 270.13 µg/mL olduğunu belirtmiş ve doğal antioksidan ajan olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Novilla vd. (2014) Endonezya'dan toplanan propolis örneğinin etanol, hekzan ve etil asetat ekstraktlarının DPPH radikal giderim aktivitesini araştırmışlardır. 7.81 µg/mL konsantrasyonda DPPH radikal giderim aktivitesi etanol ekstraktının % 37.170, hekzan ekstraktının % 38.310, etil asetat ekstraktının % 36.807 olarak belirtilmiştir.

2.8. Propolis Ekstraktları Kullanılarak Yapılan Antibiyofilm ve Antiquorum Sensing Aktivite Çalışmaları

Scazzocchio vd., (2006) propolisin 1.25 mg/mL konsantrasyonda *S. aureus* ATCC 6538P suşunun biyofilm oluşumunu % 40 inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Kouidhi vd., (2010) yapmış oldukları çalışmada Tunus'a ait propolis etanol ekstraktının Streptococcus ve Enterococcus cinslerine ait türlerinin dahil olduğu 33 adet patojen bakteriye karşı antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesini incelenmişlerdir. Çalışmada antimikrobiyal etki gözlenen 15 adet mikroorganizmaya karşı antibiyofilm aktiviteleri tespit edilmiştir. 32 µg/mL konsantrasyonda biyofilm

gideriminin % 51.86± 0.20 ile 95.83± 0.66 arasında olduğu belirtmişlerdir. En yüksek antibiyofilm aktivite % 95 oranı ile *S. anginosus* (B570)'a karşı, en düşük antibiyofilm aktivite ise % 51.86 ile *S. mutans* (B509)'a karşı görülmüş ve Tunus propolisinin yüksek antibiyofilm etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

Alvarez vd. (2012) Arjantin'e ait propolis ekstraktının antiqorum sensing ve violacein inhibisyonu aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada propolis ekstraktının 1.14 µL/mL konsantrasyonda antiqorum sensing aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca 1, 2, 3 ve 4 µL/mL konsantrasyonlarda propolis ekstraktının violacein üretimi inhibisyonu sağladığı bildirilmiştir.

Wojtyczka vd. (2013) Polonya'dan toplanan propolisin etanol ekstraktının 0.39-1.56 mg/mL arasındaki konsantrasyonlarda 10 adet klinik kaynaklı koagülaz negatif *S. epidermidis* suşlarının biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Dogan vd. (2014) Türkiye'de Manisa ve İzmir'e ait propolis örneklerinin 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 ve 2 mg/mL konsantrasyonlarında antibiyofilm aktivitelerini incelemişlerdir. Manisa ve İzmir propolislerinin *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antibiyofilm aktivitesi 1.6 mg/mL konsantrasyonda sırasıyla % 85 ve % 79 oranlarında rapor edilmiştir.

Capoci vd. (2015) Brezilya'dan toplanan 4 adet propolis etanol ekstraktının 29 vajinal *C. albicans* üzerine antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada propolis ekstraktlarının 546.87 µg/mL konsantrasyonda *C. albicans* suşlarının % 78.8'ini öldürdüğü rapor edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada propolis etanol ekstraktlarının biyofilm gideriminin ise ortalama % 63.35 oranında tespit edilmiştir.

Savka vd. (2015) Amerika'ya ait propolis etanol ekstraktlarının antiqorum sensing aktivitesi araştırmışlardır. Propolis ekstraktlarının %5 konsantrasyonlarda 7-10-11-13-14 mm inhibisyon zonları ile antiqorum sensing aktivite gösterdiklerini ortaya koymuşlardır. Pozitif kontrol olarak kullanılan C₁₂HSL'nin ise 17 zon oluşturduğunu bildirmişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Besiyerleri

Nutrient Broth (NB) (Merck)

Et pepton 5 gr

Et ekstrakt 3 gr

8 gr besiyeri üzerine 1000 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda çözünüp kaynayıncaya kadar ısıtılır. Tüplere 7'şer mL aktarılarak otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

Tryptik Soy Broth (TSB) (Merck)

Kazein pepton 17 gr

Soya unu 3 gr

D(+) Glucose Monohydrate 2.5 gr

NaCl 5 gr

K₂HPO₄ 2.5 gr

30 gr besiyeri üzerine 1000 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda çözünüp kaynayıncaya kadar ısıtılır. Otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

Mueller Hinton Broth (MHB) (Merck)

Et infüzyon 2 gr

Kazein hidrozilat 17.5 gr

Nişasta 1.5 gr

21 gr besiyeri üzerine 1000 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda çözünüp kaynayıncaya kadar ısıtılır. Otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

Luria Bertani Broth (LB) (Merck)

Kazein pepton 10 gr

Maya ekstrakt 5 gr

NaCl 10 gr

25 gr besiyeri üzerine 1000 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda çözünüp kaynayınca kadar ısıtılır. Tüplere 7'şer mL aktarılarak otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (Merck)

Beyin kalp ekstraktı ve pepton 27.5 g

D(+) glukoz 2 gr

Sodyum klorid 5 gr

Di sodyum hidrojen fosfat 2.5 gr

37 gr besiyeri üzerine 1000 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda çözünüp kaynayınca kadar ısıtılır. Tüplere 7'şer mL aktarılarak otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

Sabouraud Dextrose Broth (SDB) (Merck)

Et pepton 5 gr

Kazein pepton 5 gr

D(+) glikoz 20 gr

30 gr besiyeri üzerine 1000 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda çözünüp kaynayınca kadar ısıtılır. Tüplere 7'şer mL aktarılarak otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

Molten Soft Top Agar (MSTA)

Agar 1.3 gr

Tryptone 2 gr

NaCl (sodium chloride) 1 gr

Deiyonize su 200 mL

4.3 gr besiyeri üzerine 200 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcıda çözünüp kaynayıncaya kadar ısıtılır. Tüplere 5'şer mL aktararak otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilir. +4 °C'de muhafaza edilir.

3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasal Maddeler

% 0.01'lik Kristal viyole

0.01 gr kristal viyole üzerine 100 mL distile su ilave edilir ve kristal viyole çözünene kadar karıştırılır. +4 °C'de güneş ışınlarından korumak için koyu renkli şişe içerisinde muhafaza edilmiştir.

% 33'lük glasiyal asetik asit

33 mL glasiyal asetik asit üzerine 67 mL distile su eklenir.

0,5 McFarland standart çözeltisi

% 1'lik 99.5 mL H₂SO₄ ile

% 1,18'lik 0.5 mL BaCl₂ karıştırılarak hazırlanır.

3.3. Propolis Örneklerinin Toplanması

Propolis örnekleri Muğla ili Milas, Bodrum, Fethiye, Marmaris ve Datça ilçelerinden bahar döneminde toplanmıştır. Çalışmada kullanılan propolis örneklerine verilen kodlar ile toplandığı yerler Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Propolis Örnekleri ve Toplandığı Yerler

PROPOLİS KODLARI	TOPLANDIĞI YER
AP1	Marmaris Osmaniye
AP2	Fethiye Yanıklar
AP3	Fethiye Uzunyurt
AP4	Datça
AP5	Marmaris
AP6	Milas
AP7	Bodrum Gümüşlük

3.4. Propolis Örneklerinin Ekstraksiyonu

5 gr propolis 50 mL etanol kullanılarak ekstrakte edilmiş ve çalkalamalı inkübatörde 1 gün bekletilmiştir. Sonra ekstrakt Whatman 1 No'lu filtre kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Elde edilen filtrattaki etanol çeker ocakta uzaklaştırılmış ve +4 °C'de koyu renkli ve kapaklı cam şişelerde saklanmıştır.

3.4.1 Kullanılan mikroorganizmalar ve kültür ortamları

Çalışmanın antimikrobiyal ve antibiyofilm çalışmalarında Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Kültür Koleksiyonu'ndan (MUKK) alınan *Listeria monocytogenes* ATCC 7944, *Streptococcus mutans* CNCTC 8/77, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Candida albicans* ATCC 10239 olmak üzere toplam 6 adet mikroorganizma kullanılmıştır. Ayrıca antiqorum quenching aktivite tayin deneylerinde *Chromobacterium violaceum* CV12472 ve *C. violaceum* CV026 suşları kullanılmıştır.

L. monocytogenes ATCC 7944 Tryptic Soy Broth'da, *S. mutans* CNCTC 8/77 Brain Heart Infusion Broth'da; *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. typhimurium* ATCC 14028 mikroorganizmaları Nutrient Broth'da, *C. albicans* ATCC 10239 Saboraud Dextrose Broth'da; *C. violaceum* CV12472 ve *C. violaceum* CV026 suşları ise Luria Bertani Broth'da geliştirilmiştir.

Bakterilerden; *L. monocytogenes*, *S. mutans*, *S. aureus*, ve *S. typhimurium* 37±0.1°C’de 24 saat, *E.coli* ise 30±0.1°C’de 24 saat, *C.albicans* 30±0.1°C’de 48 saat, *C. violaceum* CV12472 ve *C. violaceum* CV026 ise 30 °C’de 24 saat inkübe edilerek geliştirilmiştir.

3.5. Antimikrobiyal Aktivitelerin Belirlenmesi

Ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon ve broth tüp dilüsyon metodları kullanılarak tespit edilmiştir.

3.5.1. Kuyu difüzyon yöntemi

Kuyu difüzyonda bir gece önceden kültüre edilen bakteri suşları 0.5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Steril petrilere 100 µl bakteri koyulup, üzerine 20 mL Mueller Hinton Broth (MHB) ilave edilip yayılmış ve katılaşmaları beklenmiştir. Katılaştıran agar üzerine delgeçle (sterile stainless steel borer) 7 mm’lik kuyu açılmıştır. Kuyulara 50 µl propolis ekstraktı eklenmiştir.

S. aureus, *S. mutans*, *L. monocytogenes*’in inoküle edildiği petrilere 37±1 °C’de 24 saat, *S. typhimurium*, *E. coli* ve *C. albicans* ’in inoküle edildiği petrilere ise 30±1°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda inhibisyon zonlarının çapları mm olarak ölçülmüştür (Tagg vd., 1976). Ayrıca karşılaştırmak amacıyla ampisilin, penisilin, oksasilin, gentamisin, vankomisin ve nistatin gibi antibiyotiklerle aynı denemeler tekrarlanmıştır.

3.5.2 Broth tüp dilüsyon yöntemi

Elde edilen ekstraktların çalışmada kullanılan test bakterilerine karşı minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri broth tüp dilüsyon metodu ile tespit edilmiştir (Jones vd., 1985). Test besiyeri olarak Mueller Hinton Broth (MHB) kullanılmıştır. Kontrol olarak besiyeri, besiyeri+bakteri kullanılmıştır. *L. monocytogenes*, *S. mutans*, *S. aureus* ’un inoküle edilmiş tüpler 37±0.1°C’de 24 saat;

E.coli, *S. typhimurium* ve *C.albicans*'ın inoküle edilmiş tüpler $30\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra her tüpten nokta ekim yapılarak bakterini inhibe olduğu minimum inhibisyonu konsantrasyonu değerleri bulunmuştur.

3.6. Antibiyofilm Aktivite Tayini

Ekstraktlar MİK, MİK/2, MİK/4 ve MİK/8 konsantrasyonlarda antibiyofilm aktivite tayini mikrolaka biyofilm metodu ile tespit edilmiştir (Meritt vd., 2005). Mikroorganizmalar % 5 glikoz içeren Brain Hearth Infusion Broth (BHIB) besiyerinde geliştirilmiştir. Çalışma 96 kuyulu steril hücre kültürü mikrolakaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir

S. aureus, *S. mutans*, *L. monocytogenes* $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de, *S. typhimurium*, *E. coli* ve *C. albicans*'ın $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Çalışma 3 kontrol grubu kullanılarak yapılmıştır. 1. grupta negatif kontrol grubu olarak sadece besiyeri ortamı kullanılmıştır. 2. grup pozitif kontrol olup besiyeri ortamına sadece bakteriler inoküle edilmiştir. 3. grup ise bakteri inoküle edilmiş olan besiyeri ortamına ekstraktların eklendiği deney grubudur. İnkübasyon sonunda mikrolaka kuyucukları pipetle çekilerek boşaltılmıştır. Daha sonra kuyucuklara % 0.1'lik kristal viyole solüsyonu eklenmiş 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra kuyucuklardaki kristal viyole pipetle uzaklaştırılmıştır. Mikrolakalar oda ısısında ters çevrilerek kurutulmuştur. Ardından *S. typhimurium*, *E. coli* suşları için tüplere 200 μL % 33'lük asetik asit, *S. aureus*, *S. mutans*, *L.monocytogenes* ve *C.albicans* için tüplere 200 μL % 95'lik etanol koyularak her tüpün optikal yoğunluğu 550 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Her ölçüm iki paralel yapılmıştır. Ekstraktların antibiyofilm etkileri yüzde indirgeme formülasyonu ile hesaplanmıştır

3.7. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Propolis ekstraktlarının antioksidan kapasitesi DPPH serbest radikal giderim (Burits ve Bucar, 2000), β Karoten Linoleik asit metodu (Dapkevicius, 1998) ve Ferrik tiyosiyanat (FTC) metodu (Mitsuda vd., 1996) ile tespit edilmiştir.

3.7.1. DPPH radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi

Ekstraktlar serbest radikal giderim tayini 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) radikali kullanılarak Burits ve Bucar, (2000)'a göre yapılmıştır. % 0.004' lük DPPH çözeltisi şu şekilde hazırlanmıştır: 0.004 gr DPPH üzerine 80 mL etanol, 20 mL distile su ilave edilerek karıştırılmıştır. Propolis ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarından tüplere 50'şer μ L konulmuş ve üzerlerine 5 mL DPPH çözeltisinden eklenmiştir. Karışımlar karanlık ortamda ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Pozitif kontrol askorbik asit, BHT ve α -tokoferol, kontrol olarak ise 50 μ L etanol+5 mL DPPH kullanılmıştır. Daha sonra formülasyonda yerine konulan değerlerle % indirgeme hesaplanmıştır (3.1). Bulunan değerler grafik üzerine aktarılarak IC₅₀ değerleri ortaya çıkarılmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (\text{OD}_{\text{kontrol}} - \text{OD}_{\text{örnek}}) / \text{OD}_{\text{kontrol}} \times 100 \quad (3.1)$$

OD_{kontrol}: Kontrolün absorbans değeri

OD_{örnek}: Farklı konsantrasyonlardaki propolis ekstraktlarının absorbans değeri

3.7.2. β -karoten linoleik asit metodu

Ekstraktların toplam antioksidan aktiviteleri β -karoten-linoleik asit yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Dapkevicius vd., 1998). Linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin β -karoteni karakteristik sarı rengine tepkime vererek gidermesi ve bu renk gideriminin spektroskopik olarak takip edilmesi ile belirlenmiştir. 0.5 mg β -karoten 1 mL kloroform içinde çözülmüştür. Daha sonra 200 mg Tween 40 ve 25 μ L linoleik asit β -karoten solüsyonunun içerisine ilave edilerek

karıştırılmıştır. Kloroform evaporatörde uzaklaştırılmıştır. 30 dakika boyunca oksijenle doyurulmuş distile sudan 100 mL β -Karoten linoleik asit solüsyonuna ilave edilerek kuvvetli bir şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra mikropalkanın kuyucuklarına 40 μ L değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış propolis ekstraksiyonlarından eklenmiş, üzerinde 160 μ L β -Karoten linoleik asit solüsyonundan eklenmiştir. Kontrol olarak etanol kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak BHT, askorbik asit ve α - tokoferol kullanılmıştır. Mikroplaka okuyucu ile 450 nm dalga boyunda 0. saat absorbans ölçümleri alınmış ve 50 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. β -Karoten linoleik asit çözeltisinin rengi kayboluncaya kadar ölçümlere devam edilmiştir. Çıkan değerler formülde yerine konularak % indirgenme hesaplanmıştır (3.2).

$$R = \ln(a/b) / t \quad (3.2)$$

R: Bozulma oranı

In: Doğal logaritma

a: Sıfırıncı gündeki absorbans değeri

b: Son saatteki absorbans değeri

t: Son ölçüm için geçen süre

$$\% \text{ Antioksidan aktivite: } [(R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.2)$$

3.7.3. FTC metodu

Ekstraktların total antioksidan tayini ferrik tiyosiyanat yöntemi (FTC) kullanılarak tayin edilmiştir (Mitsuda vd., 1996).

Bu metotta linoleik asit oksidasyonu oluşturulur ve oksidasyon sırasında Fe^{+2} iyonları Fe^{+3} iyonlarına yükseltgenir. Belirli aralıklarla inkübasyondaki karışımdan örnek alınarak spektrofotometrik ölçüm ile peroksitlerin oluşumu takip edilir. Yüksek absorbans değeri yüksek peroksit konsantrasyonunu ifade eder.

10 mg propolis ekstraktı 10 mL metanol ile çözülmüştür. 0.04 M pH: 7.0 olan Sodyum fosfat tamponu ile linoleik asit emülsiyonu hazırlanmıştır. 5 mL Linoleik

asit emülsiyonu için 15.5 µL linoleik asit, 17.5 mg tween 20 ve 5 mL fosfat buffer karıştırılmıştır.

Hazırlanan propolis ekstraktından 1 mL alınmış üzerine 1.5 mL sodyum fosfat buffer ve 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu eklenmiştir. Sonra karışımdan tüplere 50 µL örnek solüsyon, 4750 µL % 75'lik etanol, 100 µL FeCl₂ ve 100 µL NH₄CNS (amonyum tiyosiyanat) eklenmiştir. Negatif kontrol olarak 2.5 mL sodyum fosfat tamponu ve 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu, pozitif kontrol olarak BHT ve askorbik asit kullanılmıştır. 500 nm'de spektrofotometrik ölçüm alınmıştır. Karışım 37 °C'de karanlıkta bekletilmiştir ve 12 saatte bir aynı işlem uygulanmıştır. Yapılan ölçümlerde final absorbansının sabitlendiği gün ölçümler sonlandırılmıştır

Linoleik asit peroksidasyonunun % inhibisyonu aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (3.3).

$$\% \text{ İnhibisyon} = 1 - [(\text{OD}_{\text{kontrol}} / \text{OD}_{\text{örnek}}) \times 100] \quad (3.3)$$

3.8. Biyosensör Suşlarının MİK Tespiti

Biyosensör suşlara (*C. violaceum* CV12472, CV026) karşı ekstraktların MİK tespiti broth makrodilüsyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Propolis örneklerinin stok konsantrasyonu (50 mg/mL) etanol ile çözülerek hazırlanmıştır. Alt konsantrasyonların hazırlanmasında besiyeri kullanılmıştır. Belirli konsantrasyonlarda ekstrakt ve besiyeri içeren tüplere 100 µl bakteri eklenmiştir. Tüpler 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplerden nokta ekim yapılarak test suşlarının üremesini engelleyen en düşük ekstrakt konsantrasyonu MİK değeri olarak değerlendirilmiştir. Antiquorum sensing aktivite tayini için MİK değerleri altındaki konsantrasyonlarda denemeler yapılmıştır.

3.8.1. Antiquorum sensing aktivitesi

Elde edilen ekstraktların quorum sensing inhibitör etkisi *Chromobacterium violaceum* CV026 suşu kullanılarak tespit edilmiştir (Koh ve Tham, 2011).

Çalışmada kullanılan ekstrakt konsantrasyonları MİK ve MİK altı değerlerde seçilmiştir. 5 mL ılık molten soft agar'a 100µl CV026 kültüründen, 10µl Kanamisin ve 20µl C₆HSL eklenip tüp içeriği iyice vortekslenmiştir. Daha önceden hazırlanmış 20mL LB agar besiyerine yayma yapılmıştır. Agar donduktan sonra agar üzerinde 5 mL çapında kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuğa filtreden geçirilerek steril edilmiş 50 µl ekstrakt eklenmiştir. Ekstraktların çözülmesi için kullanılan solvent negatif kontrol, C₁₀HSL pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. 30°C'de 3 gün inkübasyon sonrası kuyucukların etrafında oluşan beyaz zonlar antimikrobiyal aktivite, krem zonlar ise QS aktivitesi olarak değerlendirilip milimetrik olarak ölçülmüştür.

3.8.2. Violacein inhibisyon testi

Çalışmada kullanılan propolis ekstraktlarının violacein pigment üretimi inhibisyonunu tespit etmek için *C.violaceum* CV12472 suşu kullanılmıştır (McClean vd., 2004). Violacein inhibisyonu için çalışmada propolis ekstraktlarının *C.violaceum* CV12472 suşuna karşı tespit edilen MİK ve MİK altı konsantrasyonları denenmiştir. Bu amaçla besiyeri ve propolis ekstraktlarının denemeye alınacak konsantrasyonları mikropilaka kuyucuklarında hazırlanmış ve 10 µL 1 gecelik aktif (600nm 0.4 OD) CV12472 suşu kuyucuklara eklenmiştir. Bu mikropilakalar 30°C'de 16 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra mikropilakalar mikropilaka okuyucuda 585 nm dalga boyunda ölçülmüştür ve çıkan değerler formülde yerine konularak violacein inhibisyonu yüzdesi hesaplanmıştır (3.4).

$$\text{Violacein inhibisyonu} = \left(\frac{\text{OD}_{\text{kontrol}} - \text{OD}_{\text{örnek}}}{\text{OD}_{\text{kontrol585}}} \right) \times 100 \quad (3.4)$$

4. BULGULAR VE İRDELEME

4.1. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.1.1. Kuyu difüzyon yöntemi

Propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı kuyu difüzyon sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4. 1. Propolis ekstraktlarının değişik konsantrasyonlarının test mikroorganizmalarına karşı kuyu difüzyon sonuçları

	Konsantrasyon mg/mL	Mikroorganizmalar					
		<i>C. albicans</i> ATCC 10239	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. mutans</i> CNCTC 8/77	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028
Propolis Ekstraktları		Zon Çapları (mm)					
	100	12	18	9	12	-	13
	50	10	13	8	11	-	12
	25	9	11	-	10	-	11
	12.5	8	9	-	9	-	10
	10	7	8	-	8	-	8
	5	-	7	-	7	-	7
2.5	-	-	-	-	-	-	
AP1	100	11	10	-	10	-	9
	50	10	9	-	7	-	8
	25	9	-	-	-	-	7
	12.5	8	-	-	-	-	-
	10	7	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	2.5	-	-	-	-	-	-
AP2	100	11	19	12	12	-	12
	50	10	17	10	11	-	11
	25	8	12	9	10	-	10
	12.5	7	10	8	9	-	9
	10	-	9	7	8	-	8
	5	-	8	-	7	-	7
	2.5	-	7	-	-	-	-
AP3	100	11	16	-	15	-	16
	50	9	14	-	12	-	14
	25	8	12	-	11	-	11
	12.5	7	11	-	10	-	9
	10	-	10	-	9	-	8
	5	-	8	-	8	-	-
	2.5	-	-	-	7	-	-
AP4	100	11	16	-	15	-	16
	50	9	14	-	12	-	14
	25	8	12	-	11	-	11
	12.5	7	11	-	10	-	9
	10	-	10	-	9	-	8
	5	-	8	-	8	-	-
	2.5	-	-	-	7	-	-

Çizelge 4. 2. (devamı)

Mikroorganizmalar							
Konsantrasyon mg/mL	C.	S.	S.	L.	E. coli	S.	
	<i>albicans</i> ATCC 10239	<i>aureus</i> ATCC 25923	<i>mutans</i> CNCTC 8/77	<i>monocytogenes</i> ATCC 7644	ATCC 25922	<i>typhimurium</i> ATCC 14028	
Propolis Ekstraktları	Zon Çapları (mm)						
AP5	100	13	14	-	14	-	13
	50	12	12	-	12	-	12
	25	10	11	-	11	-	10
	12.5	9	8	-	9	-	9
	10	8	7	-	8	-	8
	5	7	-	-	7	-	7
	2.5	-	-	-	-	-	-
AP6	100	17	14	18	14	-	17
	50	16	13	14	13	-	16
	25	14	12	12	12	-	13
	12.5	13	11	10	11	-	12
	10	11	10	9	10	-	11
	5	9	9	7	8	-	10
	2.5	8	8	-	-	-	8
AP7	100	14	20	13	15	-	17
	50	13	19	10	14	-	14
	25	11	17	9	13	-	13
	12.5	10	14	8	10	-	13
	10	9	13	7	9	-	12
	5	7	12	-	8	-	10
	2.5	-	11	-	-	-	8
Kontrol(etanol)	-	-	-	-	-	-	-
Penisilin	TE	31	15	17	-	-	24
Gentamisin	TE	22	8	12	18	-	21
Vankomisin	TE	17	17	17	-	-	TE
Nistatin	25	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Oxacillin	TE	14	-	-	-	-	17
Ampisilin	TE	34	20	26	-	-	27

TE: Test Edilmedi.

-: Etkisi yok.

Çalışmadaki propolis ekstraktları içerisinde en yüksek antimikrobiyal aktivite AP7 (100 mg/mL) ekstraktında 20 mm inhibisyon zonu çapı ile *S.aureus*'a karşı tespit edilmiştir. Yine çalışmada AP3 (100 mg/mL) ve AP7 (50 mg/mL) ekstraktlarında 19 mm zon çapı ile *S.aureus*'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite görülmüştür. Bütün ekstraktların bakterilere karşı oluşturduğu zon çapları değerlendirildiğinde en yüksek antimikrobiyal aktivite AP6 ve AP7 ekstraktlarında görülmüştür. AP2 ekstraktının *C. albicans*'a karşı 11 mm zon çapı; AP4 ekstraktının *S. aureus*'a ve *S. typhimurium*'a karşı 16 mm zon çapı; AP5 ekstraktının *S. aureus*'a ve *L. monocytogenes*'e karşı 14 mm zon çapı ile antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Propolis

ekstraktlarının Gram (-) bir bakteri olan *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etki göstermediği gözlenmiştir.

S. aureus'a karşı AP1, AP3, AP4, AP7 ekstraktları pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerden oxacilline göre; AP1, AP3 ve AP7 ekstraktları ise vankomisine göre daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. *S. mutans*'a karşı AP6 ekstraktı hem penisilin hem de vankomisine göre; AP1, AP3, AP6 ve AP7 ekstraktlarının ise gentamisine daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür. *L. monocytogenes*'e karşı AP4, AP5, AP6 ve AP7 ekstraktlarının gentamisin'e göre daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür.

4.1.2. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK)

Çalışmada kullanılan propolis örneklerinin etanol ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı MİK sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4. 3. Propolis ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı MİK sonuçları

Propolis ekstraktları	Mikroorganizmalar					
	<i>C. albicans</i> ATCC 10239	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. mutans</i> CNCTC 8/77	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7944	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. typhimurium</i> CCM 5445
	İnhibisyon konsantrasyonu (mg/mL)					
AP1	12.5	12.5	10	12.5	>100	5
AP2	>100	>100	>50	>50	>100	60
AP3	10	2.5	25	12.5	>100	6
AP4	7	5	7	10	>100	6
AP5	>100	5	25	12.5	>100	60
AP6	5	2.5	25	10	>100	1
AP7	5	5	5	5	>100	5

Çalışmadaki propolis ekstraktları içerisinde en yüksek antimikrobiyal aktivite AP6 ekstraktında 1 mg/mL MİK değeri ile *S. typhimurium*'a karşı tespit edilmiştir. Yine çalışmada AP3 ve AP6 ekstraktları 2.5 mg/mL konsantrasyonda *S.aureus* suşunu inhibe etmişlerdir. En yüksek antimikrobiyal aktiviteyi AP7 ekstraktı göstermiş olup, bu ekstrakt *E.coli* dışındaki tüm test mikroorganizmalarını 5 mg/mL

konsantrasyonda inhibe etmiştir. *C. albicans*'a karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite 5 mg/mL konsantrasyonda AP6 ve AP7 ekstraktlarında; *S.mutans* ve *L. monocytogenes*'e karşı en yüksek antimikrobiyal etki 5 mg/mL konsantrasyonda AP7 ekstraktında görülmüştür. Bütün propolis ekstraktlarının *E.coli*'ye karşı MİK değerlerinin 100 mg/mL üzerinde olduğu belirlenmiştir.

4.2. Antibiyofilm Aktivite

Çalışılan propolis ekstraktlarının test suşlarının biyofilm oluşumunu giderim yüzdeleri Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4. 4. Çalışmada kullanılan propolis ekstraktlarının test suşlarına karşı MİK ve MİK altı konsantrasyonlarda antibiyofilm etkileri

Mikroorganizmalar							
Konsant. (mg/mL)	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. mutans</i> CNCTC 8/77	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	
Propolis ekstraktları		%inhibisyon					
AP1	MİK	10.99±5.84	47.28±4.19	82.60±6.92	60.63±4.75	3.29±2.36	42.99±0.40
	MİK/2	-	29.55±3.53	73.11±0.14	48.49±5.35	-	35.50±0.60
	MİK/4	-	11.70±5.20	71.85±0.23	32.96±4.53	-	28.03±0.26
	MİK/8	-	-	62.96±0.15	18.42±1.76	-	5.59±0.88
AP2	MİK	-	35.37±2.85	46.21±7.84	67.45±1.77	8.88±0.55	60.23±4.57
	MİK/2	-	10.39±0.63	36.45±2.73	53.89±1.00	-	40.64±1.02
	MİK/4	-	1.76±3.38	21.95±1.02	45.62±0.52	-	26.63±0.21
	MİK/8	-	-	-	27.62±5.07	-	7.48±1.00
AP3	MİK	14.59±1.19	65.24±0.20	73.02±1.39	18.96±3.58	10.28±0.09	38.78±0.10
	MİK/2	5.16±4.11	53.62±0.78	56.77±1.36	-	-	28.01±2.54
	MİK/4	-	39.53±4.57	31.04±2.67	-	-	10.73±1.30
	MİK/8	-	27.19±4.42	14.03±4.57	-	-	-
AP4	MİK	10.92±1.44	32.76±1.05	61.98±1.52	64.05±2.29	9.34±0.08	58.41±0.07
	MİK/2	7.79±1.48	23.88±1.11	50.58±0.58	51.45±0.47	-	41.07±5.22
	MİK/4	6.74±2.53	7.37±0.75	32.21±3.83	38.77±6.41	-	22.88±1.18
	MİK/8	1.56±0.53	-	8.51±3.11	24.21±5.59	-	3.72±1.83
AP5	MİK	51.53±3.10	46.58±2.68	61.40±2.10	70.41±3.11	13.56±1.52	70.58±2.06
	MİK/2	26.58±1.83	31.29±0.41	40.90±3.69	62.67±5.94	-	44.88±3.22
	MİK/4	-	15.40±0.77	35.02±2.99	50.92±4.84	-	19.57±5.42
	MİK/8	-	-	10.63±0.17	34.94±0.63	-	1.88±1.88
AP6	MİK	28.14±3.37	26.41±4.46	86.47±5.38	68.43±0.79	14.50±2.47	93.43±1.93
	MİK/2	13.58±4.30	18.50±0.61	61.98±1.52	36.37±3.04	-	82.73±2.17
	MİK/4	7.29±0.07	-	32.40±1.31	12.66±4.00	-	75.22±0.69
	MİK/8	-	-	18.85±1.41	-	-	49.07±0.92
AP7	MİK	59.88±0.93	54.15±1.94	72.43±0.81	61.12±4.26	12.10±4.55	64.45±3.13
	MİK/2	41.67±0.43	44.01±0.10	56.00±3.29	46.10±1.00	-	53.24±3.24
	MİK/4	24.97±2.86	26.28±0.54	39.26±1.42	32.98±2.59	-	35.97±1.06
	MİK/8	-	12.30±0.92	21.57±4.00	15.56±3.06	-	26.15±1.62

Çalışmada elde edilen sonuçlara en yüksek biyofilm giderimi AP6 ekstraktında % 93.43 oranla *S. typhimurim*'a karşı görülmüştür. % 86.47 oranında inhibisyonla AP6 ekstraktı, % 82.60 oranında inhibisyonla AP1 ekstraktı *S. mutans*'ı inhibe etmiştir. *C. albicans*'a karşı en yüksek antibiyofilm aktivite % 41.67 biyofilm giderim ile AP7 propolis ekstraktında görülmüştür. *S. aureus*'a karşı en yüksek antibiyofilm aktiviteyi % 53.62 oranında biyofilm giderimi ile AP3 ekstraktında görülmüştür. *L. monocytogenes*'e karşı en yüksek antibiyofilm aktivite % 70.41 oranında biyofilm giderim ile AP5 propolis ekstraktında görülmüştür.

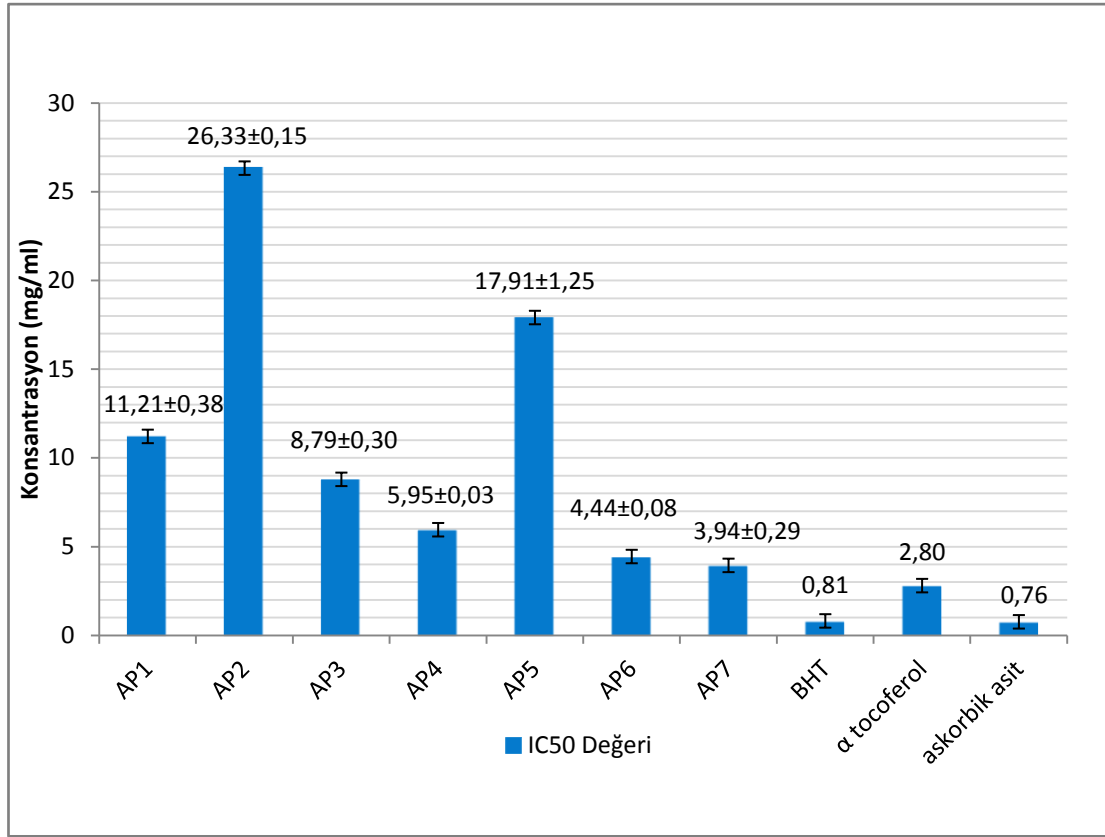
E. coli'ye karşı propolis ekstraktlarının çok düşük oranlarda giderim sağladığı görülmüştür. *E.coli*'ye karşı en yüksek antibiyofilm aktivite % 14.50 oranında biyofilm giderimi ile AP6 ekstraktında görülmüştür.

4.3. Antioksidan Aktivite

4.3.1.DPPH serbest radikal giderim aktivitesi

Bu metod bir serbest radikal olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin antioksidan madde tarafından yakalanarak mor renginin açılmasının spektrofotometrede ölçülerek tayin edilmesine dayanır. Reaksiyon karışımındaki absorbans düşmesi, yüksek serbest radikal giderme aktivitesini gösterir. Reaksiyon ortamındaki DPPH radikalinin % 50'sinin yok edilmesi için gereken etkili antioksidan konsantrasyonu IC₅₀ değeri olarak tanımlanır ve düşük IC₅₀ değeri yüksek radikal giderme aktivitesinin göstergesidir. Radikalın sahip olduğu mor rengin açılması antioksidan aktivitenin varlığını belirtmektedir.

Propolis ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim sonuçları IC₅₀ değerleri Şekil 4.1.'de verilmiştir.



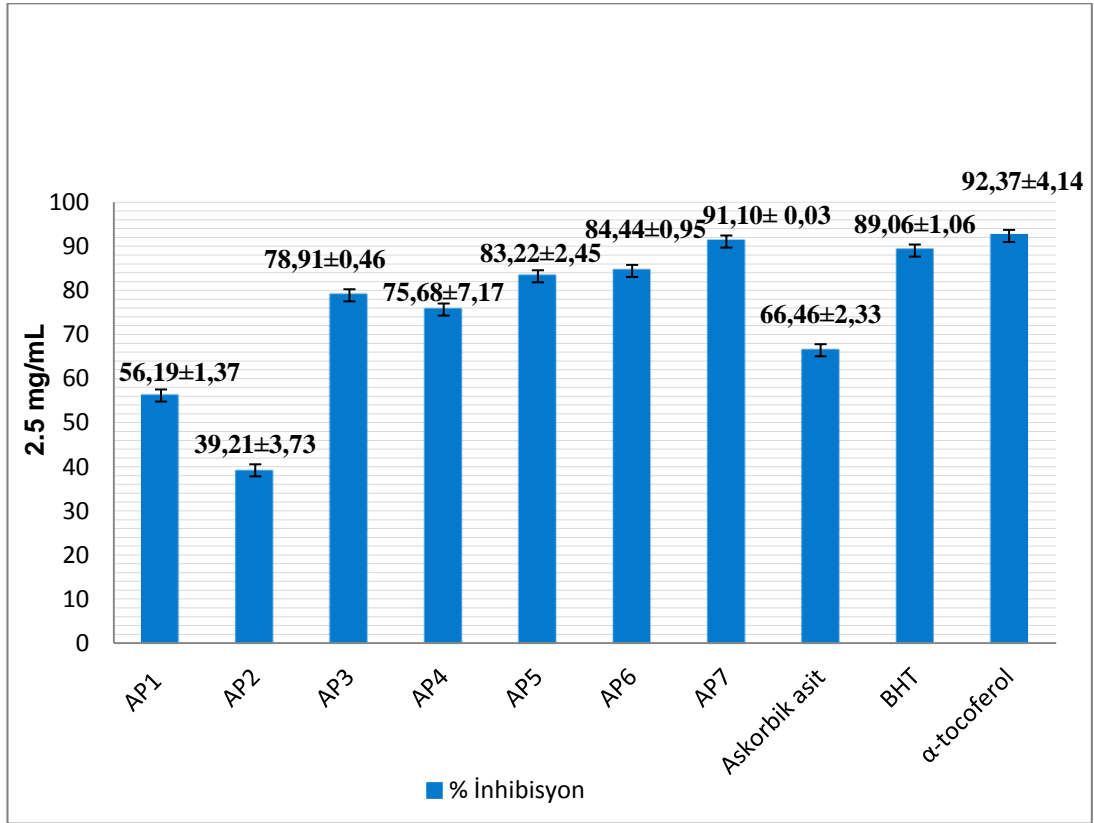
Şekil 4. 1. Propolis ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri sonuçları

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış propolis ekstralarının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri tayin edilmiş ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Buna göre en yüksek IC₅₀ değeri 3.94 mg/mL ile AP7 ekstraktında tespit edilmiştir. En düşük radikal giderim IC₅₀ 26.33 mg/mL değeri ile AP2 ekstraktında görülmüştür. Diğer propolis ekstraktlarının IC₅₀ değerleri 4.44-17.91 mg/mL aralığında tespit edilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, askorbik asit ve α-tokoferol için tespit edilen IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 0.81, 0.76 ve 2.8 mg/mL'dir.

4.3.2. β-karoten linoleik asit yöntemi

Toplam antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β-karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntem, β-karotenin renginin açılması esasına dayanır. Yükselen absorbans değeri % antioksidan aktivite ile doğru orantılıdır.

β -karoten linoleik asit sonuçları % indirgeme şeklinde Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4. 2. Propolis ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite sonuçları

Propolis ekstraktlarının toplam antioksidan aktiviteleri β -karoten renk açılım yöntemine göre 2.5 mg/mL konsantrasyonda yapılmıştır. Bu yöntemde standart olarak BHT, α -tokoferol ve askorbik asit kullanılmıştır.

En yüksek antioksidan aktivite % 91.10 indirgeme oranı ile AP7 ekstraktında görülmüştür. AP7 ekstraktı BHT ve askorbik asitten daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

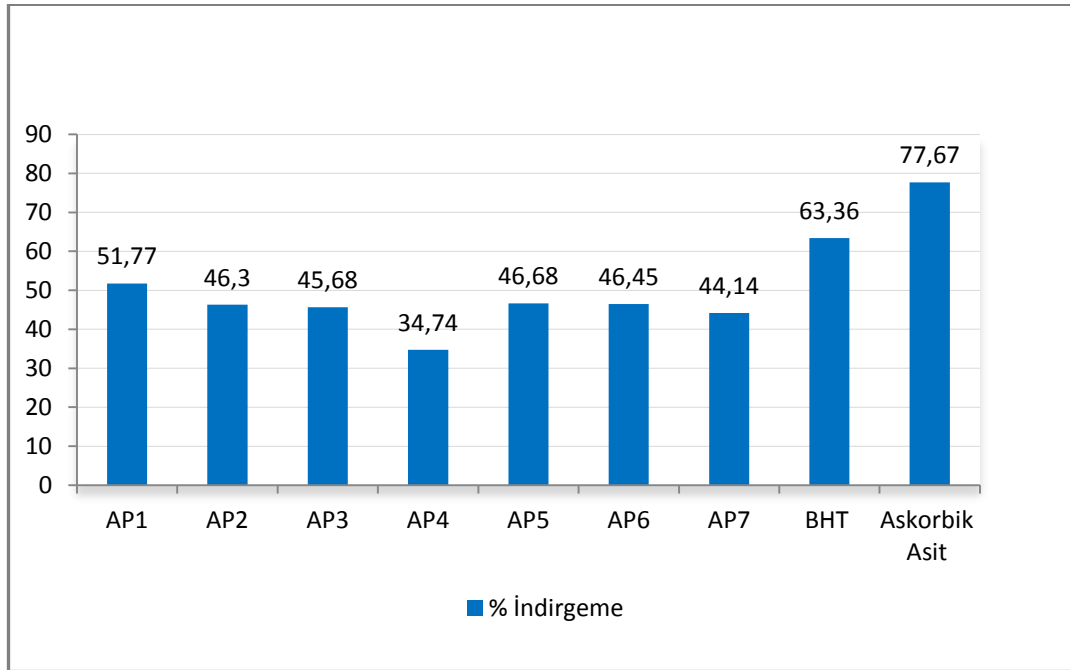
β -karoten-linoleik asit yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite sonuçlarına göre en düşük antioksidan aktivite % 39.21 indirgeme oranı ile AP2 ekstraktında tespit edilmiştir. Diğer propolis ekstraktlarının indirgeme oranları % 56.19- 84.44 aralığında tespit edilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, askorbik asit ve α -tokoferol için tespit edilen indirgeme oranları sırasıyla % 89.06, % 66.46 ve % 92.37'dir. AP3, AP4, AP5, AP6 ve AP7 ekstraktları askorbik asite göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

4.3.3. Ferrik tiyosiyanat yöntemi (FTC)

Propolis ekstraktlarının linoleik asit peroksidasyonu üzerindeki etkileri FTC metodu ile belirlenmiştir.

Sonuçlar BHT, askorbik asit ve α -tokoferol ile karşılaştırılmıştır. İnkübasyon sırasında oluşan peroksitlerin miktarı, oksidasyonun ilerleyişi 24 saatte bir ölçüm alınarak takip edilmiştir. Kontrolün absorbansının maksimum olduğu yani lipid peroksidasyonunun en fazla olduğu zamana kadar olan veriler kullanılarak, herbir ekstraktın konsantrasyonu için ve standart maddeler için absorbans-zaman grafikleri çizilmiştir. Grafik yardımıyla kontrolün maksimum absorbansı ve her bir örneğin maksimum peroksit oksidasyonu anına karşılık gelen absorbansları belirlenmiştir. Formül yardımıyla lipid peroksidasyonunu inhibe etme oranları tayin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan Propolis ekstraktlarının FTC yöntemi kullanılarak elde edilen toplam antioksidan kapasiteleri % inhibisyon değerleri Şekil 4.3.'te verilmiştir.



Şekil 4. 3. FTC % inhibisyon sonuç grafiği

Çalışma sonucuna göre % 51.77 lipid peroksidasyonu inhibisyon ile AP1ekstraktı en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. AP4 ekstraktı ise % 34.74 oranla peroksidasyonu önlemede en zayıf ekstrakt olarak belirlenmiştir. AP5 ekstraktı %

46.68, AP6 ekstraktı % 46.45, AP2 ekstraktı % 46.3, AP7 ekstraktı % 44.14 ve AP3 ekstraktı % 45.68 inhibisyon göstermiştir. Çalışmada linoleik asit emülsiyonu ile yapılan peroksidasyon deneyinde kontrol olarak kullanılan BHT ve askorbik asit ekstraktlara göre daha yüksek oranlarda peroksit oluşumunu inhibe etmişlerdir.

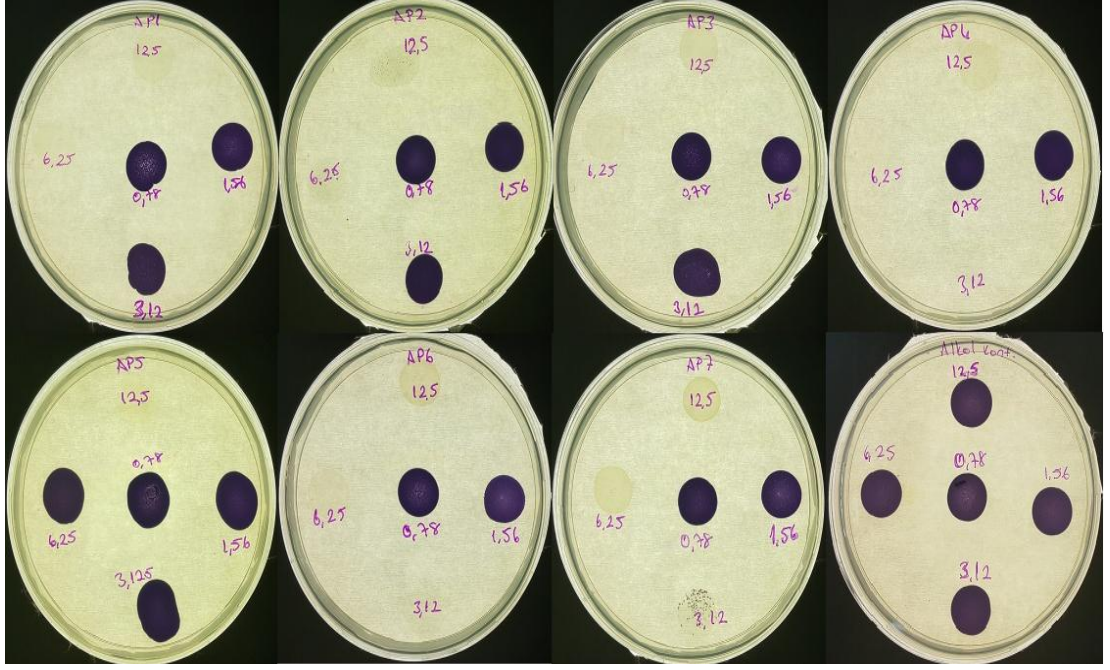
4.4. Biyosensör Suşların Propolis Ekstraktlarına Karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları

C.violaceum CV12472 ve *C.violaceum* CV026 suşlarına karşı MİK sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. *C.violaceum* CV026' nın nokta ekim sonuçları Şekil 4.4.'te, *C.violaceum* CV12472'nin nokta ekim sonuçları Şekil 4.5.'te verilmiştir.

Çizelge 4. 5. Propolis ekstraktlarının *C. violaceum* ATCC 12472 ve *C. violaceum* ATCC 026 suşuna karşı MİK konsantrasyonları

Propolis örneği	CV12472	CV026
	MİK konsantrasyonu(mg/mL)	
AP1	6.25	6.25
AP2	6.25	6.25
AP3	6.25	6.25
AP4	3.12	6.25
AP5	12.5	12.5
AP6	3.12	3.12
AP7	3.12	3.12

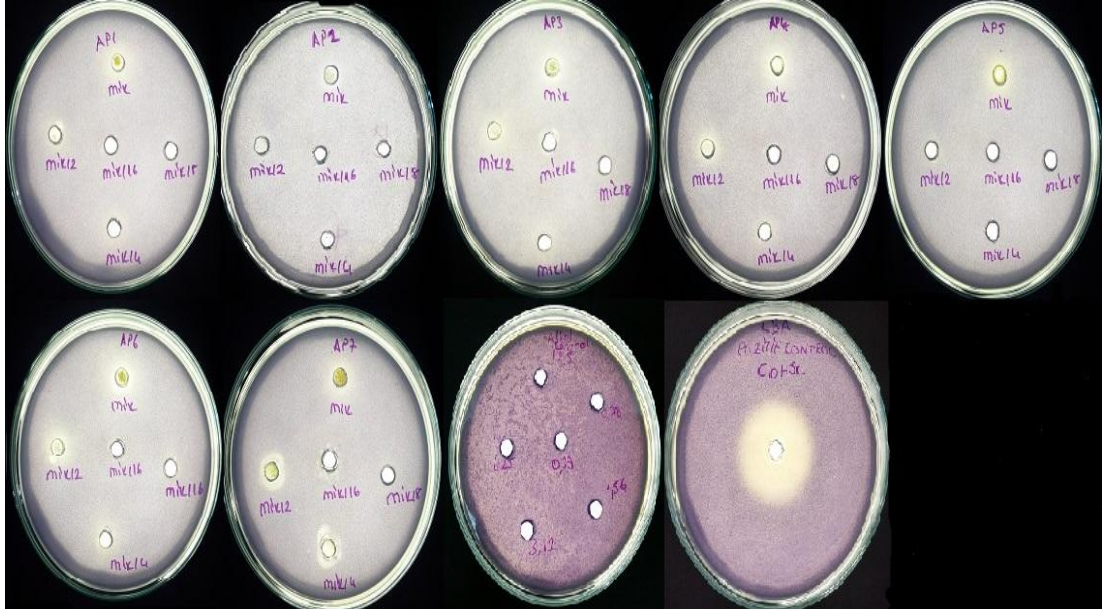
C. violaceum CV12472 suşuna karşı en düşük MİK değeri 3.12 mg/mL ile AP4, AP6 ve AP7 ekstraktlarında tespit edilmiştir. *C.violaceum* CV026 suşuna karşı en düşük MİK değeri 3.12 mg/mL ile AP7 ekstraktında tespit edilmiştir. En yüksek MİK değeri 12.5 mg/mL ile *C. violaceum* ATCC 12472 ve *C. violaceum* CV026 suşuna karşı AP5 propolis ekstraktında görülmüştür.



Şekil 4. 5. *C. violaceum* CV12472 MİK nokta ekim sonuçları

4.4.1. Antiquorum sensing aktivite

Propolis ekstraktlarının antiquorum sensing aktivite sonuçları Şekil 4.6. ve Çizelge 4.5.'te verilmiştir.



Şekil 4. 6. Propolis ekstraktlarının antiquorum sensing aktivite sonuçları

Çizelge 4. 6. Propolis ekstraktlarının antiqorum sensing aktivite sonuçları

Propolis ekstraktları	Konsantrasyon (mg/mL)	<i>C. violaceum</i> CV026	
		Antimikrobiyal zon (mm)	QS inhibisyon zonu (mm)
AP1	MİK	-	-
	MİK/2	-	-
	MİK/4	-	-
AP2	MİK	-	-
	MİK/2	-	-
	MİK/4	-	-
AP3	MİK	-	-
	MİK/2	-	-
	MİK/4	-	-
AP4	MİK	-	9
	MİK/2	-	-
	MİK/4	-	-
AP5	MİK	-	-
	MİK/2	-	-
	MİK/4	-	-
AP6	MİK	8	10
	MİK/2	7	-
	MİK/4	-	-
AP7	MİK	-	12
	MİK/2	-	10
	MİK/4	-	8
C ₁₀ HSL		-	31
ETANOL		-	-

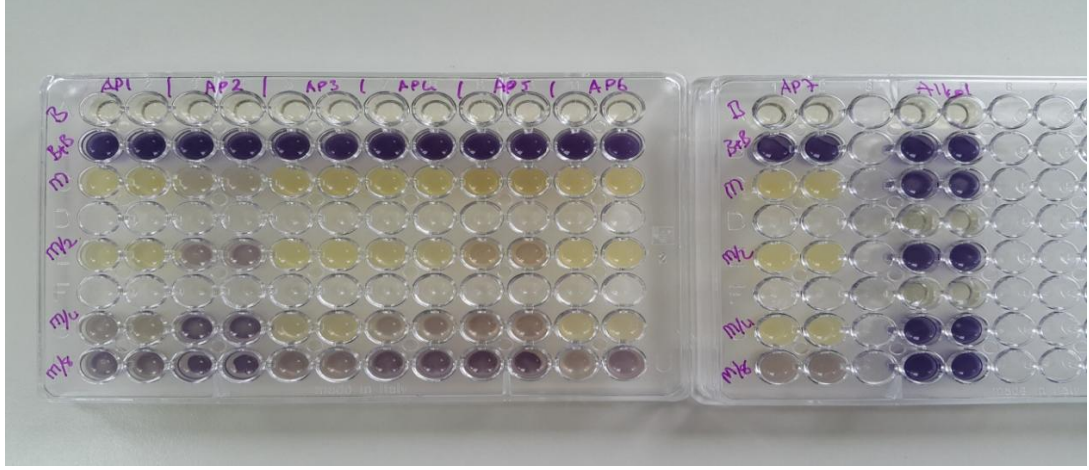
-: Etkisi yok.

AP1, AP2, AP3, AP5 ekstraktların antiqorum sensing aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir. AP4 ekstraktı MİK değerinde 9 mm'lik inhibisyon zonu ile antiqorum sensing aktivite ortaya koymuştur. AP6 ekstraktı *C. violaceum* CV026 suşuna karşı MİK değerinde 8 mm, MİK/2 değerinde 7 mm antimikrobiyal zon oluşturmuştur. AP6 ekstraktı MİK değerinde 10 mm'lik antiqorum sensing aktivite göstermiştir. AP7 ekstraktı MİK değerinde 12 mm, MİK/2 değerinde 10 ve MİK/4 değerinde 8 mm inhibisyon zon çapı ile antiqorum sensing aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Pozitif kontrol olarak kullanılan C₁₀HSL 31 mm'lik antiqorum sensing zon çapı oluşturmuştur.

4.4.2. Violacein inhibisyonu testi

Propolis ekstraktının violacein üretiminin inhibisyonu sonuçları Şekil 4.7. ve Çizelge 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4. 7. Propolis ekstraktlarının *C.violaceum* CV 12472 suşunun violacein üretiminin inhibisyonu sonuçları

Çizelge 4. 7. Propolis ekstraktlarının *C.violaceum* CV 12472 suşunun violacein üretiminin inhibisyon oranları

Konsantr.	Violacein inhibisyonu (%)						
	AP1	AP2	AP3	AP4	AP5	AP6	AP7
MİK	100	64.8±0.5	100	100	100	100	100
MİK/2	100	39.8±0.2	100	100	51.8±1.8	100	100
MİK/4	47.1±1.2	29.2±0.5	100	50.4±3.7	48.9±0.6	100	100
MİK/8	41.2±0.8	23.1±0.3	49.7±1.0	34.6±1.1	37.3±0.5	45.6±2.8	51.0±0.4

Violacein üretimi inhibisyonu bütün propolis etanol ekstraktlarında tespit edilmiştir. AP1 kodlu propolis ekstraktının MİK, MİK/2 değerlerinde %100, MİK/4' te % 47.1 ve MİK/8' de % 41.2 oranında violacein üretiminin inhibisyonu olduğu görülmüştür. AP2 kodlu propolis ekstraktının MİK % 64.8, MİK/2' de % 39.8, MİK/4' te % 29.2 ve MİK/8'de % 23.1; AP3 kodlu propolis ekstraktının MİK, MİK/2, MİK/4 konsantrasyonlarında % 100 ve MİK/8' de % 49.7; AP4 kodlu propolis ekstraktının MİK, MİK/2 konsantrasyonlarında % 100, MİK/4' te % 50.4 ve MİK/8' de % 49.7;

AP5 kodlu propolis ekstraktının MİK konsantrasyonunda % 100, MİK/2' de % 51.8, MİK/4' te % 48.9 ve MİK/8' de % 37.3; AP6 kodlu propolis ekstraktının MİK, MİK/2, MİK/4 konsantrasyonlarında % 100 ve MİK/8' de % 45.6; A7 kodlu propolis ekstraktının MİK, MİK/2 ve MİK/4 konsantrasyonlarında % 100; MİK/8 konsantrasyonunda ise % 51 violacein üretiminin inhibiyonu olduğu tespit edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Propolis, bal arıları tarafından bitkilerden özellikle de çiçek ve tomurcuklardan toplanan çeşitli miktarlarda balmumu ve reçine karışımı içeren doğal bir üründür. Propolisin çok eski yıllardan beri geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı ve antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, antienflamatuvar, antiülser gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu birçok bilimsel çalışma ile gösterilmiştir. Propolis, çok çeşitli kimyasal maddeler içermesi, antimikrobiyal ve antioksidan etkisinden dolayı kovan içinde arılar tarafından kullanımı dışında, ilaç, kozmetik, gıda sanayi ile apiterapi merkezlerinde de çok yönlü olarak kullanılan bir maddedir. Bu çalışmada, Muğla iline bağlı ilçelerden toplanan propolis etanol ekstraktlarının antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan ve anti-quorum sensing aktiviteleri araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan propolis ekstraktlarının *E.coli* dışındaki test mikroorganizmalarına karşı 7-20 mm aralığında inhibisyon zonu ile antimikrobiyal etki gösterdikleri tespit edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal aktivite *S.aureus*'a karşı AP7 ekstraktında 20 mm'lik inhibisyon zonu ile tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramasında Kashi vd. (2011) *S.mutans*'a karşı 16 mm, *S.aureus*'a karşı 17 mm inhibisyon çapı oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Dogan vd. (2014) yapmış oldukları çalışmada *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı bizim çalışmamızdan daha düşük antimikrobiyal aktivite bildirmişlerdir. Çalışmamızda *C.albicans* ve *S. aureus*'a karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları ile Afrouzan vd. (2012)'nin sonuçları uyumluluk göstermiştir.

Çalışmadaki propolis ekstraktlarının kullanılan mikroorganizmalara karşı MİK değerleri 1->100 aralığında tespit edilmiştir. En düşük MİK değeri AP6 ekstraktında *S. typhimurium*'a karşı tespit edilmiştir. MİK sonuçları kuyu difüzyon sonuçlarını doğrular şekilde *E.coli* için tüm propolis ekstraktlarında 100 mg/mL üzerinde tespit edilmiştir. Çalışmamızda *C.albicans*, *S. aureus* ve *E.coli*'ye karşı elde edilen MİK değerleri Serra ve Escola (1995), Hegazi vd. (2000), Gebara vd. (2002), Hegazi ve Abd El Hady (2002) ve Scazzocchio vd (2006)'nin buldukları MİK değerlerinde göre

daha yüksek değerlerdedir. Koo vd. (2000) ve Kim vd. (2011) ise *S. mutans*'a karşı daha düşük MİK değerleri rapor etmişlerdir. Çalışmada elde edilen MİK değerleri Uzel vd. (2005) tarafından bildirilen MİK değerleri ile uyumluluk göstermiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre en yüksek biyofilm giderimi AP6 ekstraktında % 93.43 oranla *S. typhimurim*'a karşı görölmüştür. *E. coli*'ye karşı propolis ekstraktlarının çok düşük oranlarda giderim sağladığı görölmüştür. *E.coli*'ye karşı en yüksek antibiyofilm aktivite % 14.50 oranında biyofilm giderimi ile AP6 ekstraktında görölmüştür. Literatür taramasında propolis ekstraktları kullanılarak yapılan 5 adet antibiyofilm çalışmasına rastlanılmıştır. Bu çalışmalardan Sczzocchio vd. (2006) yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza göre daha yüksek oranda *S.aureus* biyofilm inhibisyonu tespit etmişlerdir. Yine Koudhi vd. (2010), Dogan vd. (2014) ve Capoci vd. (2015)'nin yaptıkları çalışmalarda daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek biyofilm inhibisyonu oranları elde ettikleri görölmektedir.

DPPH ve β-karoten linoleik asit yöntemlerinde elde edilen sonuçlarına göre en yüksek antioksidan aktivite AP7 ekstraktında, en düşük antioksidan aktivite AP2 ekstraktında tespit edilmiştir. FTC yönteminde ise en yüksek antioksidan aktivite AP1 ekstraktında en düşük antioksidan aktivite AP4 ekstraktında görölmüştür. FTC yönteminde ekstraktların peroksidasyon inhibisyonu oranlarının % 34.74–51.77 aralığında olduğu ve ekstraktların birbirine yakın peroksidasyon inhibisyonları gösterdikleri tespit edilmiştir. Çalışmada tespit edilen DPPH giderimi sonuçları Nieva Moreno vd. (2000) ve Chang Lu vd. (2003) tarafından rapor edilen DPPH sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Chen vd. (2004), Russo vd. (2004), Choi vd. (2006), Alencar vd. (2007), Moreira vd. (2008), Miquel vd. (2010), Piccinelli vd. (2013) ve Silva ve Frozza vd. (2013) ise yaptıkları antioksidan aktivite çalışmalarında bizim çalışmamıza göre DPPH yönteminde daha düşük IC₅₀ değerleri rapor etmişlerdir. Sheng vd. (2007) yapmış oldukları çalışmada FTC yöntemiyle yaptıkları antioksidan aktivite deneylerinde çalışmamızla uyumlu sonuçlar rapor etmişlerdir.

Çalışmada antiquorum sensing aktivite tayini amacıyla öncelikle biyomonitör suşların propolis ekstraktlarına karşı MİK değerleri tespit edilmiştir. *C. violaceum* CV12472 suşuna karşı en yüksek antimikrobiyal etki AP4, AP6 ve AP7 ekstraktlarında tespit edilmiştir. *C. violaceum* CV026 suşuna karşı ise en yüksek

antimikrobiyal etki AP7 ekstraktında görülmüştür. Çalışmada kullanılan propolis ekstraktları içerisinde AP4, AP6 ve AP7 ekstraktlarının anti-quorum sensing aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan propolis ekstraktlarının tümü farklı konsantrasyonlarda violacein üretimi inhibisyonu göstermiştir. En yüksek violacein üretimi inhibisyonu AP7 ekstraktında tespit edilmiştir. Yapılan literatür taraması Savka vd. (2015) tarafından yapılan anti-quorum sensing çalışması sonuçları ile bu tez çalışması sonuçlarının birbirine yakın olduğunu göstermiştir.

Propolisin elde edildiği bölgelerdeki bitki örtüsü ve mevsim farklılıkları kimyasal bileşim ve buna bağlı biyolojik aktivitelerinde farklılıklar meydana getirmektedir. Bu da propolisin etkinliğinde farklılıklara neden olmaktadır. Bu nedenle çalışmada elde edilen sonuçlar ile daha önce yapılmış propolis çalışmaları arasındaki farklılıklarda temel etkenin propolisin toplandığı bölgeden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ülkemiz, arıcılık için uygun iklim ve bitki örtüsüne sahip olmasına rağmen, propolisle ilgili tıbbi açıdan yapılmış çalışmalar oldukça az sayıdadır. Bu nedenle Muğla yöresinden toplanmış olan propolis örnekleri ile yapılmış olan bu çalışmada temel amaç bu açığı kapatmaktır. Milas ve Bodrum (Gümüşlük)'ten toplanmış propolis örneklerinin antimikrobiyal açıdan etkili olduğu bu çalışmada ortaya çıkarılmıştır. Milas bölgesinden toplanan propolis örneğinin özellikle MİK konsantrasyonlarında *S.mutans* ve *S.typhimurium* biyofilm formasyonunu yüksek oranda inhibe ettiği tespit edilmiştir. DPPH ve β -karoten linoleik asit metodu sonuçları da Milas ve Bodrum (Gümüşlük) propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivite yanısıra yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduklarını ortaya çıkarmıştır. Anti-quorum sensing sonuçlarına bakıldığında Bodrum (Gümüşlük) propolis örneğinin quorum sensing inhibisyonu açısından etkili olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan propolis etanol ekstraktları içerisinde Milas ve Bodrum (Gümüşlük) örnekleri antioksidan aktivite sonuçlarına göre birçok sağlık sorunlarına neden olan serbest radikallerin zararlı etkilerinin giderilmesinde, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteleri nedeniyle de birçok enfeksiyonun tedavisinde alternatif olma özelliği göstermiştir.

Ayrıca bu iki propolis ekstraktı patojen bakterilerin çoğu tarafından hastalık oluşturmak ve özellikle biyofilm yapımını kontrol etmek için kullanılan quorum sensing iletişim sistemini önleyebilme özelliğine sahip bulunmuştur.

Buna bağlı olarak bu iki ekstraktın tıp alanında uygulanacak alternatif tedavi çalışmalarında bir potansiyele sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdallah, F.B., Chaieb, K., Zmantar, T., Kallel, H. ve Bakhrouf, A. (2009) Adherence assays and slime production of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*, *Braz J of Microbiol*, 394-398.
- Açıkgöz, E. (2012) Quorum Quenching, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 10(2): 27-44.
- Afrouzan, H., Amirinia, C., Mirhadi, S.A., Ebadollahi, A., Vaseji, N. ve Tahmasbi, G. (2012) Evaluation of antimicrobial activity of propolis and nanopropolis against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, *Afr J Microbiol Res*, 6(2): 421-425
- Ahmed, A., Khan, R.A., Azim, M.K., Saeed, A., M., Mesaik, A., Ahmed, S. ve Imran, I. (2011) Effect of natural honey on human platelets and blood coagulation proteins, *Pak J Pharm Sci*, 24(3): 389-397.
- Aksoy, Z. ve Dığrak, M. (2006) Bingöl Yöresinde Toplanan Bal ve Propolisin Antimikrobiyal Etkisi Üzerinde in vitro Araştırmalar, *Fırat Üniv Fen ve Müh Bil Dergisi*, 18(4): 471-478.
- Albayrak, S. ve Albayrak, S. (2008) Propolis: Doğal antimikrobiyal madde, *Ankara Ecz Fak Derg*, 37(3): 201-215.
- Alencar , S.M., Oldoni , T.L.C., Castro, M.L., Cabral , I.S.R., Costa-Neto, C.M., Cury, J.A., Rosalen, P.L. ve Ikegaki, M. (2007) Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis, *J Ethnopharmacol*, 113: 278-283.
- Ali, A.T. (1991) Prevention of Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats by Natural Honey and Its Possible Mechanism of Action, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 26: 281-288.
- Allison, D.G., Ruiz, B., SanJose, C., Jaspe, A. ve Gilbert, P. (1998) Extracellular products as mediators of the formation and detachment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms, *FEMS Microbiol Lett*, 167(2): 179-84

- Allison, D.G. (2003) The biofilm matrix, *Biofouling*, 19(2): 139-150.
- Alvarez, M.V., Moreira, M.R. ve Ponce, A. (2012) Antiquorum sensing and Antimicrobial activity of naturel agents with potential use in food, *J Food Safety*, 32: 379–387.
- Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. ve Battino, M. (2010) Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds, *Food Chem Toxicol*, 48(8-9): 2490–2499.
- Al-Waili, N.S. (2004) Topical honey application vs. acyclovir for the treatment of recurrent herpes simplex lesions, *Med Sci Monitor*, 10(8): 94-8.
- Al-Waili, N.S., Salom, K., Butler, G. ve Al Ghamdi, A.A. (2011a) Honey and microbial infections: a review supporting the use of honey for microbial control, *J Med Food*, (10):1079-96.
- Al-Waili, N.S., Salom, K. ve Al-Ghamdi, A.A. (2011b) Honey for Wound Healing, Ulcers and Burns; Data Supporting Its Use in Clinical Practice, *Scientific World Journal*, 11: 766–787.
- Anonim, *Arı Zehiri Tasarısı*, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1989c.
- Anonim, *Arı Sütü*, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1989b.
- Anonim, *Bal Standardı*, Türk Standartları Enstitüsü TSE 3036, Ankara 2002.
- Anonim, (2005) T.C. Resmi Gazete, *Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Bal Tebliği*, 26026, 2005, 49.
- Anonim, (2006a) http://plantbio.berkeley.edu/~courses/pmb148/quorum_sensing.htm
- Anonim, (2006b) <http://www.nottingham.ac.uk/quorum/grampositives.htm>.

- Arslan, S., Silici, S., Perçin, D., Koç, A.N. ve Er, Ö (2012) Antimicrobial activity of poplar propolis on mutans streptococci and caries development in rats, *Turk J Biol*, 36: 65-73.
- Atayoğlu, T. (2012) Apiterapi açısından arı ürünlerinin kalite kriterleri ve stardizasyonu, *TSE Standart Ekonomi ve Teknik Dergisi*, 51(601):73.
- Azzi, A. Davies, K.J.A. ve Kelly, F. (2004) Free radical biology – terminology and critical thinking. *FEBS Lett*, 558: 3–6.
- Badet, C. ve Quero, F. (2011) The in vitro effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria, *Clin Microbiol*, 17(1): 19-22.
- Bagchi, K. ve Puri, S. (1998) Free radicals and antioxidants in health and disease, *East Mediterr Health J*, 4(2):350-360.
- Bainton NJ, Stead P, Chhabra SR, et al. (1992) N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone regulates carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora*, *Biochem J*, 15: 997-1004.
- Bankova, V.S., Castro, S.L. ve Marcucci, M.C. (2000) Propolis: recent advances in chemistry and plant origin, *Apidologie*, 31:3-15
- Bankova, V.S., Popov, S.S., Marekov, N.L. (1982) High performance liquide chromatographic analysis of flavonoids from propolis, *J Chromatogr*, 242:135-143.
- Banskota, A.H., Nagaoka, T., Sumioka, L.Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K., Matsushige, K. ve Kadota, S. (2002) Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines, *J Ethnopharmacol*, 80: 67-73.
- Banskota, A.H., Tezuka, Y., Prasain, J.K., Matsushige, K., Saiki, I. ve Kadota, S. (1998) Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities, *J Nat Prod*, (61): 896- 900.
- Banskota, A.H., Tezuka, Y., Andyana, I.K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., Huertas, A.A.G. ve Kadota, S. (2000) Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil,

Peru, Netherlands and Chile, *J Ethnopharmacol*, 72: 239-246,.

Banskota, A.H., Tezuka, Y. ve Kadota, S. (2001) Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis, *Phytother Res*, 15: 561-571.

Barlak, Y. (2003) *Türk propolisi ekstraktlarının solunumsal patlama sonrası PMN lökositlerden PMN elastaz salınımına etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Barlak, Y. (2009) *Türk propolisi ekstraktlarının prostat kanser hücre serilerinin proteomiğine etkisi*, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Barnes, L.M., Lo, M.F., Adams, M.R. ve Chamberlain, A.H.L. (1999) Effect of Milk Proteins on Adhesion of Bacteria to Stainless Steel Surfaces, *Appl Environ Microbiol*, 65(10): 4543-4548.

Bashkaran, K., Zunaina, E., Bakiah, S., Sulaiman, S.A., Sirajudeen, K.N.S. ve Naik, V. (2011) Antiinflammatory and antioxidant effects of Tualang honey in alkali injury on the eyes of rabbits: Experimental animal study, *BMC Complem Altern M*, 11:90.

Bastos, E. M. A.F., Simone, M., Jorge, D.M., Soares, A.E.E. ve Spivak, M.(2008) In vitro study of the antimicrobial activity of Brazilian propolis against *Paenibacillus larvae*, *J Invertebr Pathol*, 97: 273-281.

Bell, R.R., Thornber, J.L.L, Seet, M.T., Groves, N.R. ve Ho. D.T.B. (1983) Composition and protein ovality of honey bee collected polen of *Eucalyptus calophylla*, *J Nutr*, 113: 2479-2484.

Benkovic, V., Orsolc, N., Knezevic, A., Ramic, S., Dikic, D., Basic, I. ve Kopjar, N. (2008) Evaluation of the radioprotective effects of propolis and flavonoids in gamma-irradiated mice: The alkaline comet assay study, *Biol Pharm Bull*, 31: 167-172.

Benguedouar, L., Boussenane, H.N., Wided, K., Alyane, M., Rouibah, H. ve Lahouel, M. (2008) Efficiency of propolis extract against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin and vinblastin) in rats, *Indian J Exp Biol*, 46: 112-119.

- Biglari, B., Linden, P.H., Simon, A., Aytac, S., Gerner, H.J. ve Moghaddam, A. (2012) Use of Medihoney as a non-surgical therapy for chronic pressure ulcers in patients with spinal cord injury, *Spinal Cord*, 50: 165-169.
- Bischofberger, A.S., Dart, C.M., Perkins, N.R. ve Dart, A.J. (2011) A Preliminary Study on the Effect of Manuka Honey on Second-Intention Healing of Contaminated Wounds on the Distal Aspect of the Forelimbs of Horses, *Vet Surg*, 40(7): 898-902.
- Blum, M.S., Novak, A.F. ve Taber, S. (1959) 10-hydroxy- decenoic acid, antibiotic found in royal jelly, *Science*, 130: 452-453
- Bogdanov S. 2000, Schweizerisches Zentrum für Bienenforschung.
- Bogdanov, S. (2012) Propolis: Composition Health Medicine: A Review. *Bee Product Science*, www.bee-hexagon.net.
- Bonvehi, J. ve Coll, V. (2000) Study on propolis quality from China and Uruguay, *Z Naturforsch*, 55: 778-784.
- Bonvehi, J.S. ve Gutierrez, A.L. (2011) Antioxidant Activity and Total Phenolics of Propolis from the Basque Country (Northeastern Spain), *J Am Oil Chem Soc*, 88:1387-1395.
- Boselli, E., Caboni, M., Sabatini, F., Gloria, A., Marcazzan G.L. ve Lercker G. (2003) Determination and changes of free amino acids in royal jelly during storage, *Apidologie*, 34: 129-137.
- Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B. ve Legault, J. (2012) Antioxidant, Anti-inflammatory, Anticancer and Antibacterial Activities of Extract from *Nigella sativa* (Black cumin) Plant Parts, *J Food Biochem*, 36: 539-546.
- Boyanova,L., Gergova, G., Nikolov, R., Derejian, S., Lazarova, E., Katsarov, N., Mitov, I. ve Krastev, Z. (2005) Activity of Bulgarian propolis against 94 *Helicobacter pylori* strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods, *J Med Microbiol*, 54 :481-483
- Bölüktepe, F.E. ve Yılmaz, S. (2008) Arı ürünlerinin bilinirliği ve satın alınma sıklığı, *Uludag Bee J*, 8(2): 53-62.

- Broadhurst, C.L. (1999) Bee products: Medicine from the hive, *Nutr Sci News*, 4(8): 366-368.
- Burdock, G.A. (1998) Review of the biological properties and toxicity of bee propolis, *Food Chem Toxicol*, 36: 347-363
- Burits, M. ve Bucar, F. (2000) Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil, *Phytother Res*, 14: 323-328.
- Buscigho, J.A. (1988) *Anti-inflammatgory topical compositions containing lidocaine and diphenhydramine and propolis* USA Patent 4 748 002, 5 pp.
- Camara, M., Williams, P. ve Hardman, A. (2002) Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk, *Lancet Infect Dis*, 2: 667-676.
- Campos, M.G., Cunha, A. ve Markham, K.R. (1997) Bee products chemical composition and application, 93-100, Mizrahi, A., Lensky, Y. (editörler), *In Bee-Pollen composition, Properties and Applications*, Plenum pres, New York, 93-100.
- Capoci, I.R.G., Bonfim-Mendonça, P.S., Arita, G.S., Pereira, R.R.A., Consolaro, M.E.L., Bruschi, M.L., Negri, M. ve Svidzinski, T.I.E. (2015) Propolis Is an Efficient Fungicide and Inhibitor of Biofilm Production by Vaginal *Candida albicans*, *Evid Based Complement Alt Med*, 2015:9.
- Carpentier, B. ve Cerf, O. (1993) Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry, *J Appl Bacteriol*, 75(6): 499-511.
- Castaldo, S. ve Capasso, F. (2002) Propolis, an old remedy used in modern medicine, *Fitoterapia*, 73: 1-6.
- Ceyhan, N. (2008) Klinikte biyofilmLerin önlenmesi için antibiyofilm stratejileri, *Turkish Journal of Infection*, 22(4): 227-240.
- Chang Lu, L., Wen Chen, Y. ve Chun Chou, C. (2003) Antibacterial and DPPH free radical-scavenging activities of the ethanol extract of propolis collected in Taiwan, *J Food Drug Anal*, 11(4): 277-282.

- Chechowski, H. (1990) Bacterial attachment to Buna-N gaskets in milk processing equipment, *Int J Dairy Technol* 45: 113-114.
- Chen, C. ve Chen, S. (1995) Changes in protein components and storage stability of Royal Jelly under various conditions, *Food Chem*, 54: 195–200.
- Chen, C.N. , Weng, M.S. , Wu, C.L. ve Lin, J.K. (2004) Comparison of Radical Scavenging Activity, Cytotoxic Effects and Apoptosis Induction in Human Melanoma Cells by Taiwanese Propolis from Different Sources, *Evid Based Complement Alternat Med*, 1(2):175-185.
- Cherbuliez, T.H. (1997) Bee Venom Therapy-A Review, *International Conference on: Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy*, Israel, 54s.
- Chmielewski, R.A.N. ve Frank, J.F. (2003) Biofilm formation and control in food processing facilities, *Compr Rev Food Sci Food*, 2(1): 22-32.
- Choi, Y.M., Noh, D.O., Cho, S.Y., Suh, H.J., Kim, K.M. ve Kim, J.M. (2006) Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea, *LWT*, 39: 756–761.
- Choo, J., Rukayadi, Y. ve Hwang, J.K. (2006) Inhibition of bacterial quorum sensing by Vanilla extract, *Lett Appl Microbiol*, 42:637-41.
- Costerton, J.W. (1999) Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents*, 11(3-4): 217-221; discussion 237-9
- Costerton, J.W., Geesey, G.G. ve Cheng, K.J. (1978) How bacteria stick, *Sci Am*, 238(1): 86-95.
- Costerton, J.W., Stewart, P.S. ve Greenberg, E.P. (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections, *Science*, 284(5418): 1318-22
- Coulthurst, S.J., Whitehead, N.A., Welch, M. ve Salmond, G.P.C. (2002) Can boron get bacteria talking, *Trends Biochem Sci*, 27(5): 217-219.

- Crane, E. (1979) History of honey, in A Comprehensive Survey Honey, 439-475, Crane, E. (editörler) *Bee Research Association*, Morrison and Gibb Ltd, London.
- Crane, E. (1990) Bees And Beekeeping, Heinemann Newnes, Crane, E. (editörler) *Bees and Beekeeping Science Practice and World Resources*. Heinemann Professional Publishing Ltd, Oxford/ UK.
- Daniels, R., Vanderleyden, J. ve Michiels, J. (2003) Quorum sensing and swarming migration in bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, 28:261-289.
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R. ve Van Beek, T.A. (1998) Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from same aromatic herbs grown in Lithuania, *J Sci Food Agr*, 77:140-146.
- Delisa, M.P. ve Bentley, W.E. (2002) Bacterial autoinduction: looking outside the cell for new metaboli engineering targets, *Microbial Cell Factories*, 1(5): 1-9.
- Dıgrak, M., Yılmaz, Ö., Çelik, S. ve Yıldız, S. (1995) Propolisteki yağ asitleri ve antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar, *Gıda*, 20(4): 249-255.
- Diplock, A. (1998) *Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients*. ILSI Europe concise mnograph series, Belgium,59s.
- Dogan, N., Doğanlı, G.,Ulger, G.,Habesoglu, D., Guzel, S., Yasar, Y., Arar, D.,Sensoy, T. ve Bozbeyoglu, N. (2014) Antibiofilm effect of two propolis samples from Turkey, *Journal of Applied Biological Sciences*, 8 (2): 27-31
- Doğaroğlu, M. (2009) *Modern Arıcılık Teknikleri*, Türkmenler Matbaacılık, Tekirdağ, 248-249s
- Donabedian, H. (2003) Quorum sensing and its relevance to infectious diseases, *J Infect*, 46: 207-214.
- Donadieu, Y. (1979) *La propolis*, Editions Maloine, Paris.
- Donlan, R.M. (2002) Biofilms: microbial life on surfaces Emerging Infectious Diseases, *CDC*, 8(9): 881-890.

- Donlan, R.M. ve Costerton, J.W. (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms, *Clin Microbiol Rev*, 15(2): 167-93
- Duarte S, Rosalen PL, Hayacibara MF, Cury JA, Bowen WH, Marquis RE, Rehder, V.L., Sartoratto, A., Ikegaki, M. ve Koo, H. (2006) The influence of a novel propolis on mutans streptococci biofilms and caries development in rats, *Arch Oral Biol*, 51:15-22.
- Dubaj, J. (1988) *Agent for the regeneration of damaged tissue containing pantothenic acid zinc, and extract of propolis*, Czech Patent CS253424, 13s.
- Dustmann, J.H. (1993) Honey Quality and Its Control, *A Bee J*, 133(9): 648–651.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. ve James, W.P.T. (1989) Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease, *Nutr Res Rev*, 2: 51-62.
- Eberhard, A., Burlingame, A.L., Eberhard, C., Kenyon, G.L., Nealson, K.H. ve Oppenheimer N.J. (1981) Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase, *Biochemistry*, 20: 2444-2449.
- Effem, S.E. (1988) Clinical Observations on the Wound Healing Properties of Honey, *Br J Surg*, 75: 679-681.
- El Denshary, E.S., Al-Gahazali, M.A., Mannaa, F.A., Salem, H.A., Hassan, N.S. ve Abdel-Wahhab, M.A. (2012) Dietary honey and ginseng protect against carbon tetrachloride-induced hepatonephrotoxicity in rats, *Exp Toxicol Pathol*, 64(7-8):753-60.
- Elder, M.J., Stapleton, F., Evans, E. ve Dart, J.K. (1995) Biofilm-related infections in ophthalmology, *Eye*, 9(Pt 1): 102-9.
- Engbrecht, J., Nealson, K. ve Silverman, M. (1983) Bacterial bioluminescence: isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*, *Cell*, 32: 773-781.
- Erkmen, O. ve Özcan, M.M. (2008) Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms, *J Med Food*, 11(3): 587-592.

- Etherton, P.M.K., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E. ve Etherton, T.D. (2002) Biactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer, *Am J Med*, 113: 71-85.
- Fauzi, A.N., Norazmi, M.N. ve Yaacob, N.S. (2011) Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines, *Food Chem Toxicol*, 49(4): 871- 878.
- Feas, X. ve Estevinho, M.L. (2011) A Survey of the In Vitro Antifungal Activity of Heather (*Erica* sp.) Organic Honey, *J Med Food*, 14(10): 1284-1288.
- Federle, M.J. ve Bassler, B. (2003) Interspecies communication in bacteria, *J Clin Investig*, 112(9): 1291-1299.
- Ferreira, C., Pereira, A.M. ve Melo, L.F. (2010) Advances in industrial biofilm control with micronanotechnology, 845-854, Mendez-Vilas, A. (editörler) *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 1. Baskı, Formatex, Spain, 1620s
- Fıratlı, Ç., Genç, F., Karacaoğlu, M. ve Genç, V.H. (2000) Türkiye Arıcılığının Karşılaştırmalı Analizi Sorunlar Öneriler, V. *Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi*, 811- 826s.
- Fujii, A., Kobayashi, S., Kuboyama, N., Furukawa, Y., Kaneko, Y., Ishihara, S., Yamamoto, H. ve Tamura, T. (1990) Augmentation of wound healing by royal jelly instreptozotocin-diabetic rats, *Jpn J Pharmacol*, 53: 331–337.
- Fuliang, H.U., Hepburn, H.R., Xuan, H., Chen, M., Daya, S. ve Radloff, S.E. (2005) Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus, *Pharmacol Res*, 51:147-52.
- Fuqua, C., Winans, S.C. ve Greenberg, E.P. (1994) Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators, *J Bacteriol*, 176: 269–275
- Gabrys, J., Konecki, J., Krol, W., Scheller, S. ve Shani, J. (1986) Free amino acids in bee hive products (Propolis) as identified and quantified by gas-liquid chromatography, *Pharmacol Res Comm*, 18(6): 513-18.

- Gakuya, D.W., Mulei, C.M. ve Wekesa, S.B. (2011) Use of ethnoveterinary remedies in the management of foot and mouth disease lesions in a diary herd, *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 8(2): 165-169.
- Garadew, A., Schmolz, E. ve Lamprecht, I. (2004) Microcalorimetric Investigation on The Antimicrobial Activity of Honey of The Stingless Bee *Trigona* spp. and Comparison of Some Parameters with Those Obtained with Standard Methods, *Thermochim Acta*, 41(5): 99-106.
- Garcia-amodo, L.H. ve Almeida-muradian, L.B. (2003) Determination of trans 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) in Brazilian royal jelly, *Cienc Tecnol Aliment*, 23: 62- 65,.
- Gebara, E.C.E., Lima, L.A., Mayer, M.P.A. (2002) Propolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria, *Braz J Microbiol*, 33: 365-369.
- Genç, F. (1993) *Arıcılığın Temel Esasları*, Yayın No:149, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları Ofset Tesisi, Erzurum, 286s.
- Genç F., Kutluca S. ve Korkmaz A. (2006) Propolis, Samsun Tarım İl Müd. Çiftçi Eğitimi ve Yayın Şubesi
- Gerstel, U. ve RömLing, U. (2001) Oxygen tension and nutrient starvation are major signals that regulate agfD promoter activity and expression of the multicellular morphotype in *Salmonella typhimurium*, *Environ Microbiol*, 3(10): 638-648.
- Gheldof, N., Wang, X.H. ve Engeseth, N.C. (2002) Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources, *J Agric Food Chem*, 50: 5870- 5877.
- Ghisalberti, E.L. (1979) Propolis: A review, *Bee World*, 60: 59-84.
- Gomes, R.T., Rosa Teixeira, K.I., Cortés, M.E. ve Santos, V.R. (2007) Antimicrobial activity of a propolis adhesive formulation on different oral pathogens, *Braz J Oral Sci*, 6(22):1387-1391.

- Gourine, N., Bombarda, M.I., Nadjemi, B., Stocker, P. ve Gaydou, E.M. (2010) Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria, *Ind Crop Prod*, 31: 203–208.
- Gökalp, H., Kaya, M. ve Zorba, Ö. (2002) *Et Ürünleri İşleme Mühendisliği*, Yayın No:320, Atataürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları Ofset Tesisi, Erzurum, 137s.
- Gregory, S.R., Piccolo, N., Piccolo, M.T., Piccolo, M.S. ve Hegggers, J.P. (2002) Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: A naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns, *J Altern Complem Med*, 8: 77-83.
- Guo, H., Kozuma, Y. ve Yonekura, M. (2005) Isolation and properties of antioxidative peptides from water-soluble royal jelly protein hydrolysate, *Food Sci Technol Res*, 11: 222-230.
- Guo, H., Kozuma, Y. ve Yonekura, M. (2009) Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein, *Food Chem*, 113: 238-245.
- Gupta, S.S., Singh, O., Bhagel, P.S., Moses, S., Shukla, S. ve Mathur, R.K. (2011) Honey dressing versus silver sulfadiazene dressing for wound healing in burn patients: A retrospective study, *JCAS*, 4(3): 183-187.
- Gülçin, İ., Bursal, E., Şehitoğlu, M.H., Bilsel, M. ve Gören, A.C. (2010) Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey, *Food Chem Toxicol*, 48:2227-2238
- Güleç, M. (2007) *Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki Bazı İllerden Toplanan Bal Örneklerinde Metal Düzeylerinin Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Gündüz, G.T. ve Tuncel, G. (2006) Biofilm formation in an ice cream plant, *Anton Van Leeuw*, 89 (3-4): 329-336.
- Habermann, E. (1972) Bee and Wasp Venome, *Science*, 117:314-322.

- Habib, F.K., Ross, M., Lewenstein, A., Zhang, X. ve Jatou, J.C. (1995) Identification of prostate inhibitory substance in a pollen Extract, *Prostate*, 26(3):133-139.
- Haffeejee, I. E. ve Moosa, A. (1985) Honey in the Treatment of Infantile Gastroenteritis, *Brit Med J*, 290: 1886-1887.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W. ve Stoodley, P. (2004) Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases, *Nat Rev Microbiol*, 2:95–108.
- Hallam, N.B., West, J.R., Forster, C.F. ve Simms, J. (2001) The potential for biofilm growth in water distribution systems, *Wat Res*, 35: 4063-4071
- Hamdy, M.H., El- Banby, M.A., Khakifa, K.I., Gad, E.M. ve Hassanein, E.M. (1989) The antimicrobial effect of honey in the management of septic wounds, *Forut International Conferance on Apiculture in Tronical Climates*, Cairo, International Bee Research Association, 61-67.
- Hayashi, K., Komura, S., Isaji, N., Ohishi, N. ve Yagi, K. (1999) Isolation of antioksidative compounds from Brazilian propolis: 3, 4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant, *Chem Pharm Bull*, 47(11): 1521-1524.
- Hegazi, A.G., Abd El Hady, F.K. ve Abd Allah, F.A. (2000) Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis, *Z Naturforsch*, 55c: 70–75
- Hegazi, A. G. ve Abd El Hady, F.K. (2002) Egyptian propolis: 3. Antioxidant, antimicrobial activities and chemical composition of Propolis from Reclaimed Lands, *Z Naturforsch*, 57c: 395-402
- Heidrick, M.L., Hendricks, L.C. ve Cook, D.E. (1984) Effect of dietary 2-mercaptoethanol on the life span immune system tumor incidence and lipid peroxidation damage in spleen lymphocytes of aging BC3F1 mice, *Mech Ageing Dev*, 27: 341-358.
- Helbing, A., Peter, C., Berchtold, E., Bogdanov, S. ve Müller, U. (1992) Allergy to honey: relation to pollen and honey bee allergy, *Allergy*, 47:41-49.

- Hentzer, M. ve Givskov, M. (2003) Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections, *J Clin Invest*, 112: 1300-1307.
- Howe, S.R., Dimick, P.S. ve Benton, A.W. (1985) Composition of freshly harvested and commercial royal jelly, *J Apic Res*, 24: 52-61.
- Huebner, J. ve Goldmann, D.A. (1999) Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens, *Annu Rev Med*, 50: 223-6.
- Huleihel, M. ve Isanu, V. (2002) Anti-Herpes Simplex Virus Effect of an Aqueous Extract of Propolis, In IMAJ ,4(Suppl), 923-927.
- Ijaz, T., Ranjha, F.A., Shahzad, M.K., Khan, M.A., Imran, M., Ijaz, N. ve Ijaz, S. (2008) Antibacterial and Antifungal Activity of Different Honey, *Int J Infect Dis*, 12(1): 403.
- Isla, M.I., Pareses Guzman, J.F., Nieva Moreno, M.I., Koo, H. ve Park, Y.K. (2005) Some chemical composition and biological activity of Northern Argentine propolis, *J Agric Food Chem*, 53: 1166-1172.
- Iwasaki, M. (1990) *Propolis containing antibiotic ointments for atopic dermatitis treatment*, Japanese Patent No. JP 02 142 734 [90 142 734], 2 pp.
- Jamnik, P., Goranovic, D. ve Raspor, P. (2007) "Antioxidative action of royal jelly in the yeast cell, *Exp Gerontol*, 42:594-600.
- Jayaraman, A., Cheng, E.T., Earthman, J.C. ve Wood, T.K. (1997) Importance of biofilm formation for corrosion inhibition of SAE 1018 steel by axenic aerobic biofilms. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 18: 396-401.
- Jia, L., Zhang, H.X. ve Hu, Z.D. (1995) Separation and determination of 10-hydroxy-2-decenoic acid in royal jelly by capillar electrophoresis, *Chromatographia*, 41: 605-609.
- Jones, R.N., Barry, A.L., Gavan, T.L. ve Washington, J.A.II. (1985) Microdilution and macrodilution broth procedures, 972-977, Lennette, E.H., Balows, A., Hausler Jr., W.J. Shadomy, H.J. (Editörler), *Manual of Clinical Microbiology American Society for Microbiology*, 4. Baskı, Washington DC.

- Kaftanoglu, O. ve Tanyeli, A. (1997) The Use of Royal Jelly Durig Treatment of Childhood Malignancies, *International Coference on: Bee Product: Properties Applications and Apitherapy*, 51sl.
- Kahraman, T., Buyukunal, S.K., Vural, A. ve Altunatmaz, S.S. (2010) Physico-chemical properties in honeyfrom different regions of Turkey, *Food Chem*, 123: 41-4.
- Kalogeropoulos, N., Konteles, S.J., Troullidou, E., Mourtzinis, I. ve Karathanos, V.T. (2009) Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus, *Food Chem*, 116: 452–461.
- Kamakura, M., Mitani, N., Fukuda, T. ve Fukushima, M. (2001) Antifatigue effect of fresh royal jelly in mice, *J Nutr Sci Vitaminol*, 47: 394-401.
- Kanbur, M., Eraslan, G., Beyaz, L., Silici, S., Liman, B.C., Altinordulu, S. ve Atasever, A. (2009) The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice, *Exp Toxicol Pathol*, 61: 123–132.
- Kaplan, J.B., Rangunath, C., Velliyagounder, K., Fine, D.H. ve Ramasubbu, N. (2004) Enzymatic detachment of Staphylococcus epidermidis biofilms, *Antimicrob Agents Chemother*, 48(7): 2633-2636.
- Karaboz, İ. Ve Sukatar, A. (2004) Bakterilerde Sosyal Davranışlar (Bakterilerde İletişim Mekanizmaları), *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(5): 23-32.
- Karacal., F.T., Aral F. ve Demirkol, R. (2006) Erkek Farelerde Arı Sütünün Uzun Süreli Uygulanmasının Bazı Spermatolojik özellikler üzerine etkisi, *Fırat University Medical Journal of Health Sciences*, 20 (5): 341-344.
- Karacaoglu, M. (1997) Propolisin yapısı ve kullanımı, *Teknik Arıcılık*, 57: 18–25.
- Kartal, M., Yıldız, S., Kaya, S., Kurucu, S.ve Topçu, G. (2003) Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of anatolia, *J Ethnopharmacol*, 86:69-73.
- Kartal, M., Kaya, S. ve Kurucu, S. (2002) GC-MS Analysis of Propolis Samples from Two Different Regions of Turkey, *Z Naturforsch*, 57: 905-909

- Kashi, T.S.J., Kermanshahi, R.K., Erfand, M., Dastjerdie, E.V., Rezaeia, Y. ve Tabatabaei, F.S. (2011) Evaluating the *In-vitro* Antibacterial Effect of Iranian Propolis on Oral Microorganisms, *Iran J Pharm Res*, 10(2): 363-368.
- Kataoka, M., Arai, N., Taniguchi, Y., Kohno, K., Iwaki, K., Ikeda, M. ve Kurimoto, M. (2001) Analysis of antiallergic function of royal jelly, *Natural Med*, 55: 174-180.
- Katırcıoğlu, H. Ve Mercan, N. (2006) Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions, *Afr J Biotechnol*, 5(11): 1151-1153.
- Kaur, C. ve Kapoor, H.C. (2001) Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health, *Int J Food Sci Tech*, 36: 703-725.
- Kelen, M. ve Tepe, B. (2008) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora, *Bioreour Techol*, 99: 4096-4104.
- Khalil, M.I., Sulaiman, S.A. ve Gan, S.H. (2010) High 5- hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year, *Food Chem Toxicol*, 48: 2388–2392.
- Kılıç, A., Baysallar, M., Besirbelliöglu, B., Salih, B., Sorkun, K. ve Tanyüksel, M. (2005) In vitro antimicrobial activity of propolis against methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin- resistant *Enterococcus faecium*, *Ann Microbiol*, 55(2): 113-117..
- Kılıç, A., Uçar, M., Baysallar, M., Salih, B., Sorkun, K., Yıldırım, Ş.T. ve Tanyüksel, M. (2007) Antimicrobial effects of propolis and honey samples collected from some regions of Turkey, *AJCI*, 1(4):213-218
- Kim, H., Ryu, J.H. ve Beuchat, L.R. (2006) Attachment of and biofilm formation by *Enterobacter sakazakii* on stainless steel and enteral feeding tubes. *Appl Environ Microbiol*, 72 (9): 846–5856.
- Kim, M.J., Kim, C.S., Kim, B.H., Ro, S.B., Lim, Y.K., Park, S.N., Cho, E., Ko, J.H., Kwon, S.S., Ko, Y.M. ve Kook, J.K. (2011) Antimicrobial effect of Korean propolis against the mutans streptococci isolated from Korean, *J Microbiol*, 49(1): 161-164.

- Klausen, M., Heydorn, A., Ragas, P., Lambertsen, L., Aaes-Jorgensen, A., Molin, S. ve Tolker-Nielsen, T. (2003). Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants, *Mol Microbiol*, 48(6):1511-1524.
- Koo, H., Cury, J.A., Rosalen, P.L., Ambrosano, G.M., Ikegaki, M. ve Park, Y.K. (2002) Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation, *Caries Res*, 36:445-8.
- Koo, H. Rosalen, P.L., Cury, J.A., Ambrosano, G.M.B., Murata, R.M., Yatsuda, R., Ikegaki, M., Alencar, S.M. ve Park, Y.K. (2000) Effect of a New Variety of *Apis mellifera* Propolis on Mutans Streptococci, *Curr Microbiol*, 41: 192–196.
- Koh, K.M. ve Tham, F.Y. (2011) Screening of traditional Chinese medicinal plants for quorum-sensing inhibitors activity, *J Microbiol Immunol*, 44:144-148.
- Kolankaya, D. (2001) Antioksidan Etki ve Bal, *Mellifera*, 1: 13-17.
- Korkmaz, A. (2001) Ülkemiz Ballarında Kalıntı Sorunu ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi, *Türkiye 2. Ekolojik Tarım Sempozyumu*, 14- 16 Kasım 2001, Antalya, Bildiri ve Poster Özetleri Kitabı,209-217
- Kouidhi, B., Zmantar, T. ve Bakhrouf, A. (2010) Anti-cariogenic and anti-biofilms activity of Tunisian propolis extract and its potential protective effect against cancer cells proliferation, *Clinical Microbiology*, 16: 566-571.
- Kovalik, P.V. (1979) The use of propolis in the treatment of patients with chronic fungal sinusitis, *Vestnik otorindaringologii*, 6: 60-62.
- Krell, R. (1996) Value added products from beekeeping, *FAO Agric Serv Bull*, 124: 87-113.
- Krylov, V.N., Kopylova, S.V. ve Sokolskiy, S., (2004) Experimental and clinical study of the preparation of propolis and royal jelly apinhalin under alteration of functions of lungs, *Mellifera*, 4(7):19-24.
- Krylov, V.N., Koryagin, A.S., Nikolaeva, A.A., Sinelschikov, A.D. ve Ovoschnikova, L.V.(2002) Experiments on therapeutic effects of preparations of beekeeping products on radiation illnesses, *Mellifera*, 2(4):26-29.

- Ksouri, R., Megdiche Ksouri, W., Jallali, I., Debez, A. ve Magne, C. (2012) Medicinal halophytes potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications, *Crit Rev Biotechnol*, 32(4):289–326.
- Kubo, T., Sasaki, M., Nakamura, J., Sasagawa, H., Ohashi, K., Takeuchi, H. ve Natori, S. (1996) Change in the expression of hypopharyngealgland proteins of the worker honeybees (*Apis mellifera* L.) with age and/or role, *J Biochem*, 119: 291-295.
- Kujumgiev, A., Bankova, V., Ignatova, A. ve Popov, S. (1999) Antibacterial activity of propolis, some of its components and their analogs, *Pharmazie*, (48): 785-786.
- Kumar, C.G. ve Anand, S.K. (1998) Significance of microbial biofilms in food industry: a review, *Int J Food Microbiol*, 42: 9–27.
- Kumar, N., Mueen Ahmad, K.K, Dang, R. ve Husain, A. (2008) Antioxidant and antimicrobial activity of propolis from Tamil Nadu zone, *J Med Plants Res*, 2(12): 361-364.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T. ve Nakayama, T. (2004) Antioxidant activity of propolis of various geographic origins, *Food Chem*, 84:329-339.
- Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B.C. ve Güney, C. (2002) Önemli bir arı ürünü Propolis, *Uludag Bee J*, 2(2): 10-24.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C. ve Candan, F. (2007) Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types from Anatolia, *Food Chem*, 100: 526-534.
- Ladas, S. P., Haritos, D. N. ve Raptis, S. A. (1995) Honey May Have a Laxative Effect on Normal Subjects Because of Incomplete Fructose Absorption, *Am J Clin Nutrit*, 62: 1212-1215
- Lazdunski, A.M., Ventre, I. ve Sturgis, J.N. (2004) Regulatory circuits and communication in gram-negative bacteria, *Nat rev*, 587: 581-592.
- Lazazzera, B.A. ve Grossman, A.D. (1998) The ins and outs of peptide signalling, *Trends Microbiol*, 6: 288-294.

- Lejeune, B., Pourrat, A. ve Dehmouche, H. (1988) Propolis Utilisation en Dermocosmetologie, *Parfums Cosmet Aromes*, 8: 73-77.
- Leung, R., Ho, A., Chan, J., Choy, D. ve Lai, C.K. (1997) royal jelly consumption and hypersensitivity in the community, *Clin exp allergy*, 27:333-336
- Liebelt, R.A., Lyle, D. ve Walker, J. (1994) Effect of a bee polen diet on Su and growth of inbred strains of mice, *Am bee J*, 134: 615-620.
- Lindsay, D. ve Von Holy, A. (2006) Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know, *J Hosp Infect*, 64: 313-25.
- Lusby, P.E., Coombes, A. ve Wilkinson, J.M. (2002) Honey: A Potent Agent for Wound Healing, *J. Wocn*, 295-300.
- Manefield, M, de Nys R, Kumar N, Read, R., Givskov, M., Steinberg, P. ve Kjelleberg, S. (1999) Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL) mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein, *Microbiology*, 145: 283-291.
- Marcucci, M.C. Rodriguez, J., Ferreres, F., Bankova, V., Grota, R. ve Popov, S. (1998) Chemical composition of brazilian propolis from sao paulo satate, *Z Naturforsch*, 53: 117-119
- Markham, K.R., Mitchell, K.A., Wilkins, A.L., Daldy, J.A. ve Lu, Y. (1996) HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis, *Phytochemistry*, 42: 205-211
- Marshall, K.C. (1976) *Interfaces in Microbial Ecology*, Boston: Harvard University Press,
- Matsui, T., Yukiyoishi, A., Doi, S., Sugimoto, H., Yamada, H. ve Katsumoto, K. (2002) Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR, *J Nutr Biochem*, 13: 80-86.
- Matsuno, T. (1995) A new clerodane diterpenoid isolated from propolis, *Z Naturforsch*, 50c: 93-97.

- McLean, R.J.C., Pierson, I., Leland, S. ve Fuqua, C. (2004) A simple screening protocol for the identification of quorum signal antagonists, *J Microbiol Meth*, 58:351–360.
- Meral, R. ve Doğan, İ.S. (2006) Buğdayda bulunan antioksidan maddeler, *Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongresi*, 7-8 Eylül 2006, Gaziantep.
- Mercan, U. (2004) Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *YYU Vet Fak Derg*, 15: 91-96.
- Merritt, J.H., Kadouri, D.E. ve O'Toole, G.A. (2005) Growing and analyzing static biofilms, *Curr Protoc Microbiol*, 1B:1-17.
- Meydanoglu, F. (1985) Arı Sütünün Bileşimi, Dietik, Terapatik Özellikleri, TÜBİTAK Marmara Araştırma Enstitüsü, Beslenme ve Gıda Teknolojisi Ünitesi, Gebze/Kocaeli.
- Mitamura, T., Matsuno, T., Sakamoto, S., Maemura, M., Kudo, H., Suzuki, S., Kuwa, K., Yoshimura, S., Sassa, S., Nakayama, T. ve Nagasawa, H. (1996) Effects of a new clerodane diterpenoid isolated from propolis on chemically induced skin tumors in mice, *Anticancer Res*, 16: 2699-2672.
- Miguel, M.G., Nunes, S., Dandlen, S.A., Cavaco, A.M. ve Antunes, M.D. (2010) Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal, *Food Chem Toxicol*, 48:3418-3423
- Mitsuda, H., Yuasumoto, K., Iwami, K. (1996) Antioxidation action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid, *Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science*, 19:210.
- Mizrahi, A. ve Lensky, Y. (1997) Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy, Plenum, London UK.
- Mizuno, M. (1989) *Food Packaging Materials Containing Propolis as a Preservative*, Japanese Patent No JP Ol 243 974 [89 243 974], 5 pp.
- Molan, P. ve Betts, J.A. (2004) Clinical usage of honey as a wound dressing: an update, *J Wound Care*, 13(9): 353-356.

- Mohammadzadeh, S., Shariatpanahi, M., Hamed, M., Ahmadkhaniha, R., Samadi, N. ve Ostad, S.N. (2007) Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis, *Food Chem*, 103: 1097–1103
- Moreira, L., Dias, L.G., Pereira, J.A. ve Estevinho, L. (2008) Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal, *Food Chem Toxicol*, 46:3482-3485.
- Murray, M.C., Worthington, H.V. ve Blinkhorn, A.S. (1997) A study to investigate the effect of a propolis-containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation, *J Clin Periodontol*, 24:796-8.
- Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I. ve Worobo, R.W. (2004) Growth Inhibition of Foodborne Pathogens and Food Spoilage Organisms by Select Raw Honeys, *Int J Food Microbiol*, 97: 1-8.
- Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R. ve Suzuki, N. (2001) Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis, *Food Chem*, 75(2):237-240
- Naidoo, N., Molan, P., Littler, R., Mok, G., Jameson, M. ve Round, G. (2011) A Phase II Randomized Controlled Trial of Manuka Honey as Prophylaxis Against Radiation-induced Dermatitis in Breast Cancer Patients, *European Multidisciplinary Cancer Congress*, 5124.
- Nieva Moreno, M.I., Isla, M.I., Cudmani, N.G., Vattuone, M.A. ve Sampietro, A.R. (1999) Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis, *J Ethnopharmacol*, 68: 97–102
- Nieva Moreno, M.I., Isla, M.I., Sampietro, A.R. ve Vattuone, M.A. (2000) Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina, *J Ethnopharmacol*, 71: 109–114.
- Nilsson, R.E., Ross, T. ve Bowman, J.P. (2011) Variability in biofilm production by *Listeria monocytogenes* correlated to strain origin and growth conditions, *Int J Food Microbiol*, 150(1): 14-24.
- Novick, R.P. ve Muir, W.M. (1999) Virulence gene regulation by peptides in staphylococci and other Gram-positive bacteria, *Curr Opin Microbiol*, 2: 40-45.

- Novilla, A., Nawawi, A., Sugihartina, G. ve Widowati, W. (2014) Antioxidative and antibacterial activities of Indonesian propolis extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*, *Cukurova Med J*, 39(2): 224-233.
- Nowack, K. (2000). Are Genetically Modified Plants Harmful to Bees and can (organic) Honey Become Contaminated with Transgenic Pollen? <http://biogene.org/e/themen/biotech/ebeesgeneral.htm>
- Oliveira, I., Sousa, A., Isabel, C.F.R., Ferreira, Bento, A., Estevinho, L. ve Pereira, A.J. (2008) Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks, *Food Chem Toxicol*, 46: 2326-2331.
- Olson, M.E., Ceri, H., Morck, D.W., Buret, A.G. ve Read, R.R (2002) Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics, *Can J Vet Res*, 66:86-92
- Ota, C., Unterkircher, C., Fantinato, V. ve Shimuzu, M.T. (2001) Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*, *Mycoses*, 44: 375-378.
- O'Toole, G. A., Kaplan, H.B. ve Kolter, R. (2000) Biofilm formation as microbial development, *Annu Rev Microbiol*, 54: 49-79.
- O'Toole, G.A. ve Kolter, R. (1998) Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development, *Mol Microbiol*, 30(2): 295-304.
- Ötleş, S. (1995) Bal ve bal teknolojisi kimyası ve analizleri, Alaşehir Meslek Yüksek Okulu, Yayın No:2, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir.
- Özcan, M., Ceylan, D.A., Ünver, A. ve Yetişir, R. (2003) Türkiye'nin Çesitli Bölgelerinden Saglanan Polen ve Propolis Ekstraktlarının Antifungal Etkisi, *Uludag Bee J*, 3(3): 27-34.
- Özkök, A. ve Sorkun, K. (2001) Apiterapide Kullanılan Önemli Arı Ürünlerinden: Bal Polen ve Propolis, *Teknik Arıcılık*, (72): 4-10.

- Öztürk, A.İ. (2005) Bazı arı ürünlerinin üretimi ve tüketimi, Tarımsal Araştırma Yayım ve Eğitim Koordinasyonu. 2005 Yılı Hayvancılık Grubu Bilgi Aışveriş Toplantısı Bildirileri, Menemen-İzmir.
- Padera, R.F. (2006) Infection in ventricular assist devices: the role of biofilm. *Cardiovasc Pathol* 15: 264– 270.
- Park, J.S. ve Woo, K.S. (1997) The usage and composition of propolis added cosmetics in Korea, 121-124, Mizrahi, A. and Lensky, Y. (Editörler) *In Bee Products Properties, Applications and Apitherapy*, Plenum Press, New York.
- Pereira, A.D., de Andrade, S.F., de Oliveira Swerts, M.S. ve Maistro, E.L. (2008) First in vivo evaluation of the mutagenic effect of Brazilian green propolis by comet assay and micronucleus test, *Food Chem Toxicol*, 46: 2580-2584.
- Piana, L. (1996) Value added products from beekeeping Royal jelly, *FAO Agric Serv Bull*, 124: 195-226.
- Piccinelli, A.L., Mencherini, T., Celano, R., Mouhoubi, z., Tamendjari, A., Aquino, R.P. ve Rastrelli, L. (2013) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian Propolis, *J Agric Food Chem*, 61: 5080–5088.
- Planchon, S., Gaillard-Martinie, B., Dordet-Frisoni, E., Bellon-Fontaine, M.N., Leroy, S., Labadie, J., Hebraud, M. ve Talon, R. (2006) Formation of biofilm by *Staphylococcus xylosus*, *Int J Food Microbiol*. 109: 88–96.
- Podbielski, A. ve Kreikemeyer, B. (2004) Cell density-dependent regulation: basic principles and effect on the virulence of Gram-positive cocci, *Int J Infect Dis*, 8(2): 81-95.
- Popova, M., Silici, S., Kaftanoğlu, O. ve Bankova, V. (2005) Antibacterial Activity of Turkish Propolis and Its Qualitative and Quantitative Chemical Composition, *Phytomedicine*, 12(3): 221-228.
- Poulsen, L.V. (1999) Microbial biofilm in food processing, *Lebensm Wiss u Techn*, 32 (6): 321-326.

- Raffa, R.B., Iannuzzo, J.R., Levine, D.R., Saeid, K.K., Schwartz RC, Sucic NT, Terleckyj, O.D. Jeffrey, M. (2005) Bacterial communication (Quorum Sensing) via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs, *J Pharmacol Exp Ther*, 312: 417-423.
- Rembold, H. ve Dietz, A. (1965) Biologically active substancesin Royal Jelly, *Vitam Horm*, 23: 359-383.
- Reyna, R. (2010) Use of Active Leptospermum Honey for a Pediatric Patient with Hydradenitis Suppurativa, *Ostomy Wound Manag*, 56(6): 12-15.
- Rodriguez, E.G., Abellan, G.B. ve Villanueva, M.T. (1999) Macroelements in dietetic products containing propolis, *Food Chem*, 66: 15-19.
- Roman, S., Mateescu, C. ve Polas, E. (1989) Treatment of some Gynecological Diseases with Apiterapetics, *XXIX th Int Cong Of Apiculture*, Bucharest.
- Russo, A., Cardile, V., Sanchez, F., Troncoso, N., Vanella, A. ve Garbarino, J.A. (2004) Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines, *Life Sci*, 76(5):545–58.
- Ryeon Ahn, M., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M.,Zhu, F. ve Nakayama, T.(2007) Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China, *Food Chem*, 101:1383-1392.
- Samarghandian, S., Afshari, J.T. ve Davoodi, S. (2011a) Chrysin reduces proliferation and induces apoptosis in the human prostate cancer cell line pc-3, *Clinics*, 66 (6): 1073–1079.
- Samarghandian, S., Afshari, J.T. ve Davoodi, S. (2011b) Honey induces apoptosis in renal cell carcinoma, *Pharmacog Mag*, 7(25): 46-52.
- Saraçlı, M.A. (2006) Quorum sensing: mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor, *Gülhane Tıp Derg*, 48: 244-250.
- Sauer, K., Camper, A.K., Ehrlich, G.D., Costerton, J.W. ve Davies, D.G. (2002) *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm, *J Bacteriol*, 184(4): 1140-1154.

- Savka, M.A., Dailey, L., Popova, M., Mihaylova, R., Merritt, B., Masek, M., Le, P., Mat Nor, S.R., Ahmad, M., Hudson, A.O. ve Bankova, V. (2015) Chemical Composition and Disruption of Quorum Sensing Signaling in Geographically Diverse United States Propolis, *Evid Based Complement Alternat Med*,2015:10.
- Scazzocchio, F., D'Auria, F.D., Alessandrini, D. ve Pantanella F. (2006) Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis, *Microbiol Res*, 161: 327-333.
- Scheller, S. (1990) *Plant origins of propolis: A report of work at Oxford, Bee World*, 30s.
- Schmidt, J.O. (1997) Bee product Chemical Composition and Application, *International Conference on: Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy*, Israel, 15-43s.
- Schmidt, J.O. ve Buchmann, S.L. (1992) Other products of the hive, 927-988, Graham, J.M. (editör), *The hive and the honeybee*, Dadant & Sons, Hamilton, Illinois, USA.
- Schmidt, L.S. ve Schmidt, J.O. (1996) Medical Overconcern What are the Real Allergic and Healty Risks from Bee Product and Apitherapy, *International Conference On: Bee Product: Properties Applications And Apitherapy*, Israel, 43s.
- Serra, J.ve Escola, R. (1995) A study on the bacteriostatic activity of propolis, *Deut Lebensm- Rundsch*, 91: 242-246 .
- 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, *J Ethnopharmacol*, 73: 243–249
- Sheng, J., Zhou, J., Wang, L., Xu, J. ve Hu, Q. (2007) Antioxidant activity of ethanol and petroleum ether extracts from Brazilian propolis, *Eur Food Res Technol*, 225:249-253.
- Shimizu, M., Ito, T., Terashima, S., Hayashi, T., Arisawa, M., Morita, N., Kurokawa, S., Ito, K. ve Hashimoto, Y. (1984) Inhibition of lens aldose reductase by flavonoids, *Phytochemistry*, 23(9): 1885-8.

- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Kanbur, M. ve Deniz, K. (2011) The protective effect of royal jelly against cisplatin-induced renal oxidative stress in rats, *World J Urol*, 29:127-132
- Silici, S., Sagdic, O. ve Ekici, L. (2010) Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys, *Food Chem*, 121(1): 238-243.
- Silici, S. ve Kaftanoglu, O. (2003) Antimicrobial analysis of propolis samples from different regions of Turkey, *Uludag Bee J*, 3(3): 8-18.
- Silici, S. ve Kutluca, S. (2005) Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region, *J Ethnopharmacol*, 99: 69-73.
- Silva Frozza, C.O., Garcia, C.S.C., Gambato, G., Souza, M.D.O., Salvador, M., Moura, S., Padilha, F.F., Seixas, F.K., Collares, T., Borsuk, S., Dellagostin, O.A., Henriques, J.A.P. ve Roesch-Ely, M. (2013) Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis, *Food Chem Toxicol*, 52:137-142.
- Sinde, E. ve Carballo, J. (2000) Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers, *Food Microbiol*, 17: 439-447.
- Snowdon, J.A. ve Cliver, D.O. (1996) Microorganisms in honey, *Int J Food Microbiol*, 31: 1-26.
- Sorkun, K., Özkök, A. ve Süer, B. (2001) Arılar tarafından toplanan polenin işlenmesi ve kullanım alanları, *Teknik Arıcılık*, 74: 9-15.
- Sorkun, K. ve Tutkun, E. (1994) Arı Ürünleri ve Kullanım Alanları, *Türkiye II. Teknik Arıcılık Kongresi*, TC Ziraat Bankası Kültür Yayınları, 28: 185-95.
- Sönmez, Ş., Kırılmaz, L., Yücesoy, M., Yücel, B. ve Yılmaz, B. (2005) The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts, *J Ethnopharmacol*, 102:371-376.

- Speciale, A., Costanzo, R., Puglisi, S., Musumeci, R., Catania, M.R., Caccamo, F. ve Iauk, L. (2006) Antibacterial activity of propolis and its active principles alone and in combination with macrolides, beta-lactams and fluoroquinolones against microorganisms responsible for respiratory infections, *J Chemother*, 18(2): 64-71.
- Stangaciu, S. (1999) Scientific basis of propolis use in medicine, *Proceedings of the XXXVI congress apimondia*, 99: 77-79.
- Starzyk, J., Scheller, S., Szaflarski, J., Moskwa, M. ve Vestojko, A. (1977) Biological properties and clinical application of propolis, *Azneim Forsch Drug Res*, 27 (1): 1198-1199.
- Stepanovic, S., Antic, N., Dakic I. ve Svabic-Vlahovic, M. (2003) In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs, *Microbiol Res*, 158: 353–357.
- Stewart, P.S., McFeters, G.A. ve Huang, C.T. (2000) Biofilms II, *Process analysis and applications*, New York: Wiley, 232s.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., ve Costerton, J.W. (2002) Biofilms as complex differentiated communities, *Annu Rev Microbiol*, 56: 187-209.
- Subrahmanyam, M. (1991) Topical Application of Honey in the Treatment of Burns, *Br J Surg*, 78: 497-498.
- Suga, H. ve Kristina, M.S. (2003) Molecular mechanisms of bacterial quorum sensing as a new drug target, *Curr Opin Chem Biol*, 7: 586-591.
- Syazana, M.S.N., Halim, A.S., Gan, S.H. ve Shamsuddin, S. (2011) Antiproliferative effect of methanolic extraction of tualang honey on human keloid fibroblasts, *BMC Complement Altern Med*, 11:82.
- Swellam, T., Miyagana, N., Onozawa, M., Hattori, K., Kawai, K., Shimazui, T. ve Akaza, H. (2003) Antineoplastic Activity of Honey in an Experimental Bladder Cancer Implantation Model: *In vivo* and *in vitro* studies, *Int J Urol*, 10: 13-219.

- Şahinler, N. (2000) Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi, *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(1-2): 139-148.
- Şengonca, M. ve Tort, N. (1995) Polen (2), *Ege Üniversitesi Ziraat fakültesi Dergisi*, 32(3): 173-180.
- Tammakritsada, M. ve Todhanakasem, T. (2012) Isolation of Salmonella from Natural Sources Representing High Potential for Biofilm Formations. *AU JT*, 15(4): 225- 232.
- Tagg, T.R., Dajani, A.S., Wannamaker, L.W. (1976) Bacteriocin of Gram positive bacteria, *Bacteriol Rev*, 40(3):722-756
- Tamura, T., Fujii, A. ve Kumoyama, N. (1987) Antitumor effect of royal jelly, *Folia Pharmacol Jpn*, 89: 73-80.
- Taraszkiewicz, A., Fila, Grzegorz, F., Grinholc, M. ve Nakonieczna, J. (2013) Innovative strategies to overcome biofilm resistance, *Biomed Res Int*, 2013: e150653.
- Temiz, A., Şener, A., Tüylü, A.Ö., Sorkun, K. ve Salih, B. (2011) Antibacterial activity of bee propolis samples from different of Turkey against two foodborne pathogens, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes*, *Turk J Biol*, 35: 503-511.
- Thien, F.C.K., Leung, R., Adlob, B.A., Weiner, J.A., PlamLey, R. ve Czarny, D. (1999) Asthma and anaphylaxis induced by royal jelly, *Clin Exp Allerg*, 26: 216-222.
- Thormann, K.M., Saville, R.M., Shukla, S. ve Spormann, A.M. (2005) Induction of rapid detachment in *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms, *J Bacteriol*, 187: 1014-21.
- Tikhonov, A.I. ve Mamontova, I.N.S. (1987) Production and study of a lyophilized phenolic polysaccharide preparation from propolis, *Farm Zh*, 3: 67-8.
- Tonks, A.J., Cooper, R.A., Jones, K.P., Blair, S., Patron, J. ve Tonks, A. (2003) Honey Stimulates Inflammatory Cytokine Production from Monocytes, *Cytokine*, 21: 242-247.

- Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C. ve Bruni, A. (1996) Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents, *Phytother Res*, 10(4): 335-336.
- Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M. ve Lucero, H.R.E. (2008) Honey diastase activity modified by heating, *Food Chem*, 106: 883–887.
- Trusehva, B., Popova, M., Bankova, V., Simova, S., Marcucci M.C., Miorin, P.L., Pasin, F.R. ve Tsvetkova, I. (2006) Bioactive constituents of Brazilian red propolis, *Evid-based Compl Alt*, 3: 249-254.
- Turhan, I., Tetik, N., Karhan, M., Gürel, F. ve Tavukcuoglu H.R. (2008) Quality of honeys influenced by thermal treatment, *Lebensm Wiss Technol*, 41: 1396–1399.
- Türkmen, N., Sarı, F., Poyrazoğlu, E. S. ve Velioğlu Y. S. (2006) Effects of Prolonged Heating on Antioxidant Activity and Colour of Honey, *Food Chem*, 95: 653-657.
- Ugur, A. ve Arslan, T. (2004) An *In vitro* study on antimicrobial activity of Propolis from Mugla province of Turkey, *J Med Food*, 7(1): 90–94.
- Uzel, A. ., Sorkun, K., Özçağ, Ö., Çoğulu, D., Gençay, Ö. Ve Salih, B. (2005) Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples, *Microbiol Res*, 160: 189-195.
- Uwaydat, S., Jha, P., Tytarenko, R., Brown, H., Wiggins, M., Bora, P.S. ve Bora, N.S. (2011) The Use of Topical Honey in the Treatment of Corneal Abrasions and Endotoxin-Induced Keratitis in an Animal Model, *Curr Eye Res*, 36(9): 787-796.
- Varanda, E.A. ve Tavares, D.C. (1998) Radioprotection: mechanisms and radioprotective agents including honeybee venom. *J Venom Anim Toxins*, 4: 5-21.
- Vardar Ünlü, G., Silici, S. ve Ünlü, M. (2008) Composition and in vitro antimicrobial activity of Populus buds and poplar-type propolis, *World J Microbiol Biotechnol*, 24: 1011–1017.

- Velikova, M., Bankova, V., Marcucci, M., Tsvetkova, I. Kujungiev, A. (2000) Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian Meliponinae, *Z Naturforsch*, 55: 785-789.
- Velioğlu, S. (2000) Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri, *Gıda*, 25: 167-176.
- Vit, P. (1994) Las abejas criollas sin aguijon, *Vida Apicola*, 63: 34-42.
- Walker, P. ve Crane, E. (1987) Constituents propolis, *Apidologie*, 18: 327-334.
- Wang, W., Hu, J. ve Cheng, J. (1984) biological effect of honeybee polen: radioprotective activity on hemotopoitic tissues of irradiated mice, *J Hagzhou Univ*, 11:231-240.
- Weng, M.S., Ho, Y.S. ve Lin, J.K. (2005) Chrysin Induces G1 Phase Cell Cyle Arrest in C6 Glioma Cells Through Inducing p21Waf1/Cip1 Expression: Involvement of p38 Mitogen- Activated Protein Kinase, *Biochem Pharmacol*, 69: 1815-1827.
- Weston, R.J. (2000) The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review, *Food Chem*, 71: 235-239.
- Wong, S.H. (2011) *Comparative Evaluation of Planktonic and Biofilm Modes of Growth in Salmonella Typhimurium*, Doktora Tezi, School of Veterinary and Biomedical Science Murdoch University Perth, Western Australia.
- Wichi, H.P. (1988) Enhanced tumor development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium, *J Agr Food Chem*, 26: 717-723.
- Wojtyczka, R.D., Kwpa, M., Idzik, D., Kubina, R., KabaBa-Dzik A., Dziedzic, A. ve Wdsik, T.J. (2013) In vitro antimicrobial activity of ethanolic extract of Polish propolis against biofilm forming *Staphylococcus epidermidis* strains, *Evid-Based Compl Alt*, 2013:11.
- Woisky, R.G. ve Salatino, A. (1998) Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control, *J Apic Res*, 37(2): 99-105

- Wongsiri, S., Chanchao, C., Deowanish, S., Aemprapa, S., Chaiyawong, T., Petersen, S. ve Leepitakrat, S. (2000) Honey bee diversity and beekeeping in Thailand, *Bee World*, 81(1): 20–29.
- Xavier, K.B. ve Bassler, B.L. (2003) LuxS quorum sensing: more just a numbers game, *Curr Opin Microbiol*, 6: 191-197.
- Xie, Y.B. ve Li, W. (1994) Effect of Bee Pollen on Maternal Nutrition and Fetal Growth, *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 25(4):434-437.
- Yaghoubi, S.M.J., Ghorbani, G.R., Soleimani, Z. S. ve Satari, R. (2007) Antimicrobial activity of Iranian propolis and its chemical composition, *Daru*, 15(1):45-48
- Yatsunami, K. ve Echigo, T. (1985) Antibacterial action of royal jelly, *Bull Fac Agr*, 25: 13–22.
- Zumla, A. ve Lulat, A. (1989) Honey a remedy rediscovered, *J Roy Soc Med*, 82: 384-385.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad soyad: Halime Alıç

Uyruk: T.C.

Doğum tarihi: 07.10.1989

Doğum yeri: Ankara

Medeni hali: Bekar

Telefon: 0 506 694 61 69

e-posta: halimealic@hotmail.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Yeşilöz Lisesi	2006
Lisans	Muğla Üniversitesi – Biyoloji Bölümü	2012

Yabancı Dil

İngilizce	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma		X	
Konuşma	X		
Anlama	X		
Okuma		X	

Bilimsel Faaliyetler

4. Uluslararası Muğla Arıcılık ve am Balı Kongresi eř zamanlı olarak 20. Apislavia Kongresi, Muğla, Fethiye, 5- 9 Kasım 2014, Sözlü Bildiri.

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Sempozyumu, Muğla, 26 Mayıs, Poster Sunumu.