



**PROPOLİS ÜRÜNLERİNDEKİ MAKRO VE
MİKRO ELEMENT İÇERİKLERİNİN ICP-OES
İLE TAYİNİ**

GÖRKEM ARDA

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayça KARASAKAL

2022

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROPOLİS ÜRÜNLERİNDEKİ MAKRO VE MİKRO ELEMENT
İÇERİKLERİNİN ICP-OES İLE TAYİNİ**

Görkem ARDA

KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Ayça KARASAKAL

TEKİRDAĞ-2022

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PROPOLİS ÜRÜNLERİNDEKİ MAKRO VE MİKRO ELEMENT İÇERİKLERİNİN

ICP-OES İLE TAYİNİ

Görkem ARDA

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayça KARASAKAL

Propolis bal arılarının farklı bitki organlarından topladıkları reçinelerden ürettikleri ve bal mumu ile karıştırdıkları bitki kaynaklı bir doğal arı ürünüdür. Propolisin biyolojik etkileri sayesinde M.Ö. 300'lü yıllardan itibaren çeşitli amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. Eski çağlardan beri propolisin biyolojik özellikleri bilinmekte ve insanlar tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Propolisin; in vitro koşullarda kanserli hücrelerin çoğalmasını durdurabilen bileşikler içerdiği bildirilmektedir. Propolis ile ilgili yapılan farklı kimyasal analizler sonucunda günümüze kadar propolisin içeriğinde birçok kimyasal bileşen tanımlanmıştır. Bu tez kapsamında, ticari propolis damla ürünlerinde bulunan sodyum (Na), magnezyum (Mg), potasyum (K), kalsiyum (Ca), fosfor (P), demir (Fe), bakır (Cu), bor (B), mangan (Mn), çinko (Zn), alüminyum (Al) element içerikleri nicel olarak İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ile belirlenmiştir. Propolis örneklerinden 1'er mL alınarak, 9 mL derişik HNO₃ (nitrik asit) karışımı ile mikrodalga çözünürleştirme sistemi ile çözünürleştirme işlemleri gerçekleştirilmiştir. ICP-OES ile metal analizlerinde validasyon parametreleri; doğruluk, % geri kazanım, kesinlik (%RSD), korelasyon katsayısı, LOD (Gözlenebilme Sınırı) ve LOQ (Tayin Sınırı) olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Propolis, ICP-OES, Makro Element, Mikro Element

2022, 82 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

DETERMINATION OF MACRO AND MICRO ELEMENT CONTENTS IN PROPOLIS PRODUCTS BY ICP-OES

Görkem ARDA

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayça KARASAKAL

Propolis is a plant-derived natural bee product that honey bees produce from resins collected from different plant organs and mix with beeswax. Thanks to the biological effects of propolis, it is known that it has been used for various purposes since the 300s BC. Since ancient times, the biological properties of propolis have been known and used by humans in the treatment of various diseases. Propolis; in vitro conditions, it is reported to contain compounds that can stop the proliferation of cancerous cells. As a result of different chemical analyses related to propolis, many chemical components have been defined in the content of propolis to date. Within the scope of this thesis, in commercial propolis drop products; sodium (Na), magnesium (Mg), potassium (K), calcium (Ca), phosphorus (P), iron (Fe), copper (Cu), boron (B), manganese (Mn), zinc (Zn) and aluminum (Al) element contents were determined quantitatively by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES). By taking 1 mL from each of the propolis samples, digestion processes were performed with microwave digestion method with 9 mL concentrated HNO₃ (nitric acid) mixture. The validation parameters for metal analysis with ICP-OES were determined as accuracy, % recovery, precision (%RSD), correlation coefficient, LOD (Limit of Detection) and LOQ (Limit of Quantitation).

Key words: Propolis, ICP-OES, Macro Element, Micro Element

2022, 82 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
TEŞEKKÜR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Propolis	3
2.1.1. Propolisin Bitkisel Kaynakları.....	5
2.1.2. Propolisin Fiziksel Özellikleri	7
2.1.3. Propolisin Kimyasal Özellikleri	7
2.1.4. Propolis Ekstraksiyonu	9
2.1.5. Propolis Kullanım Alanları.....	11
2.1.5.1. Kozmetik sanayinde kullanımı	11
2.1.5.2. İlaç sanayinde kullanımı ve yapılan bazı çalışmalar.....	11
2.1.5.3. Gıda sanayinde kullanımı ve yapılan bazı çalışmalar.....	13
2.2. Eser Element.....	14
2.2.1. Eser Element Derişim Aralığı.....	15
2.2.2. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme Yöntemleri	16
2.2.2.1. Kuru yakma yöntemi.....	16
2.2.2.2. Yaş yakma yöntemi.....	17
2.2.2.3. Mikrodalga ile çözünürleştirme yöntemi	18
2.2.3. Eser Element Analizinde Kullanılan Yöntemler	21
2.3. Spektroskopi	22
2.4. Emisyon Spektroskopisi	23
2.5. İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES)	24
2.5.1. ICP-OES Cihazının Temel Bileşenleri	25
2.5.2. İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Kaynağı ve Çalışma Prensibi.....	28
2.5.3. ICP-OES Cihazına Numune Verilmesi	30
2.6. Literatürde ICP-OES Cihazı İle Yapılan Bazı Çalışmalar	32

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	35
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	35
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	35
3.2.1. İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES)	35
3.2.2. Mikrodalga Örnek Çözünürleştirme Sistemi.....	36
3.3. Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	37
3.4. Numunelerin Toplanması.....	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	38
4.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Çizilmesi.....	38
4.2. Dalga Boyları ve Gözlenebilme Sınırlarının Belirlenmesi.....	44
4.3. Ticari Propolis Numunelerinde Bulunan Element İçerikleri.....	45
4.3.1. Sodyum (Na) Elementi.....	45
4.3.2. Kalsiyum (Ca) Elementi.....	46
4.3.3. Magnezyum (Mg) Elementi.....	46
4.3.4. Potasyum (K) Elementi.....	47
4.3.5. Alüminyum (Al) Elementi.....	48
4.3.6. Bor (B) Elementi.....	48
4.3.7. Bakır (Cu) Elementi.....	49
4.3.8. Demir (Fe) Elementi.....	50
4.3.9. Mangan (Mn) Elementi.....	50
4.3.10. Fosfor (P) Elementi.....	51
4.3.11. Çinko (Zn) Elementi.....	52
4.4. Geri Kazanım.....	52
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	54
KAYNAKLAR.....	60

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. Propolisin kimyasal yapısı (Bankova vd., 2000).....	7
Çizelge 2.2. İnsan vücudunda doğal olarak bulunan elementler (Zurnacı, 2015).....	15
Çizelge 3.1. ICP-OES cihazının çalışma koşulları.....	35
Çizelge 3.2. Temin edilen ticari propolis damla markaları özellikleri.....	37
Çizelge 4.1. Elementlerin dalga boyları (nm), gözlenebilme ve tayin sınırları.....	44
Çizelge 4.2. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Na elementi konsantrasyonları...	45
Çizelge 4.3. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Ca elementi konsantrasyonları...	46
Çizelge 4.4. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Mg elementi konsantrasyonları..	46
Çizelge 4.5. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan K elementi konsantrasyonları	47
Çizelge 4.6. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Al elementi konsantrasyonları ...	48
Çizelge 4.7. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan B elementi konsantrasyonları.....	48
Çizelge 4.8. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Cu elementi konsantrasyonları...	49
Çizelge 4.9. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Fe elementi konsantrasyonları ...	50
Çizelge 4.10. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Mn elementi konsantrasyonları	50
Çizelge 4.11. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan P elementi konsantrasyonları ...	51
Çizelge 4.12. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Zn elementi konsantrasyonları .	52
Çizelge 4.13. Ticari propolis numunelerindeki elementlerin %geri kazanım değerleri.....	53

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Propolis (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Propolis_in_beehives.jpg).....	3
Şekil 2.2. Arının reçineyi toplaması (https://www.biovontade.com/produits/).....	4
Şekil 2.3. Reçineyi arka ayaklarında depolaması (https://www.honeybeesuite.com/propolis)..	4
Şekil 2.4. Arıların propolis kullanımı a) Kovana giren çekirgenin mumyalanması (https://www.acbees.org/pests.html) b) Kovan girişinin küçültülmesi (http://www.propolis.fr/en,introduction-and-general-points-propolis.html).....	5
Şekil 2.5. Bitki reçinesi (https://tr.wikipedia.org/wiki/Re%C3%A7ine)	8
Şekil 2.6. Ham propolis (Özdere, 2019).....	10
Şekil 2.7. Elektromanyetik Dalga Spektrumu (www.afad.gov.tr/kbrn/radyasyon-nedir).....	19
Şekil 2.8. İyonlaştırıcı ve İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon Etkileri (www.afad.gov.tr/kbrn/radyasyon-nedir).....	19
Şekil 2.9. Uyarılmış bir atom veya iyonun ışın yayması (Boss ve Fredeen, 2004).....	23
Şekil 2.10. ICP-OES cihazının temel bileşenlerinin şematik gösterimi (Özkan, 2021).....	25
Şekil 2.11. ICP-OES cihazındaki peristaltik pompa örneği (https://www.agilent.com).....	26
Şekil 2.12. Nebülizör örneği (https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy).....	26
Şekil 2.13. Püskürtme (Spreyleme) Odası (Demirkol, 2014).....	27
Şekil 2.14. Torch örneği (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ICP_quartz_torch_3.JPG).....	27
Şekil 2.15. ICP kaynağında plazma oluşum aşamaları A) Argon gazı verilmesi B) Radyofrekans uygulanması C) Kıvılcımla ilk serbest elektronların oluşması D) Radyofrekans etkisi ile elektronların artması ve plazma oluşması E) Örneğin oluşan plazmaya gönderilmesi (Boss ve Fredeen, 2004; Demirkol, 2014).....	28
Şekil 2.16. Plazmanın görünüşü (https://en.wikipedia.org/wiki/Inductively_coupled_plasma).....	29
Şekil 2.17 Tipik İndüktif Eşleşmiş Plazma (Özkan, 2021)	29
Şekil 2.18. İndüktif olarak eşleşmiş bir plazma cihazının sıcaklık profili (Gündüz, 2007).....	30
Şekil 2.19. Tipik bir nebülizörün şematik olarak görünüşü (Başargil, 2015)	31
Şekil 2.20. Aksiyal ve Radyal Plazma (Düzgün, 2013)	32
Şekil 3.1. ICP-OES cihazı	36
Şekil 3.2. Mikrodalga fırını	37
Şekil 4.1. Na elementinin kalibrasyon grafiği (589,592 nm)	38
Şekil 4.2. Ca elementinin kalibrasyon grafiği (317,933 nm).....	39
Şekil 4.3. Mg elementinin kalibrasyon grafiği (280,270 nm)	39
Şekil 4.4. K elementinin kalibrasyon grafiği (766,491 nm).....	40

Şekil 4.5. Al elementinin kalibrasyon grafiği (167,078 nm).....	40
Şekil 4.6. B elementinin kalibrasyon grafiği (249,773 nm)	41
Şekil 4.7. Cu elementinin kalibrasyon grafiği (327,396 nm)	41
Şekil 4.8. Fe elementinin kalibrasyon grafiği (259,941 nm).....	42
Şekil 4.9. Mn elementinin kalibrasyon grafiği (257,611 nm)	42
Şekil 4.10. P elementinin kalibrasyon grafiği (177,495 nm).....	43
Şekil 4.11. Zn elementinin kalibrasyon grafiği (213,856 nm)	43
Şekil 4.12. Na elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması	45
Şekil 4.13. Ca elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	46
Şekil 4.14. Mg elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	47
Şekil 4.15. K elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması	47
Şekil 4.16. Al elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması	48
Şekil 4.17. B elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması	49
Şekil 4.18. Cu elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması	49
Şekil 4.19. Fe elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması	50
Şekil 4.20. Mn elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	51
Şekil 4.21. P elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	51
Şekil 4.22. Zn elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	52
Şekil 5.1. Yaptığımız çalışmada ICP-OES ile konsantrasyonları bulunan elementlerin 3 farklı markada bulunma yüzdeleri.....	58
Şekil 5.2. Yaptığımız çalışmada tespit edilen elementlerin 3 farklı markadaki geri kazanım yüzdeleri	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAS	: Atomik absorpsiyon spektroskopisi
AAS cihazı	: Atomik absorpsiyon spektrometre cihazı
AES	: Atomik (optik) emisyon spektroskopisi
Ag	: Gümüş
Al	: Alüminyum
Ar	: Argon
As	: Arsenik
Au	: Altın
B	: Bor
Ba	: Baryum
Bi	: Bizmut
C	: Karbon
Ca	: Kalsiyum
CAPE	: Kafeik asit fenil ester
Cd	: Kadmiyum
Ce	: Seryum
Cl	: Klor
Co	: Kobalt
Cr	: Krom
Cu	: Bakır
DCP	: Doğru akım plazma
DMSO	: Dimetil sülfoksit
e ⁻	: Elektron
F	: Flor
Fe	: Demir
fg	: Fentogram
Ge	: Germanyum
H	: Hidrojen

Hg	: Civa
Hz	: Hertz
HCl	: Hidroklorik asit
HClO ₄	: Perklorik asit
HF	: Hdrojen florür
HNO ₃	: Nitrik asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen preoksit
H ₂ SO ₄	: Sülfürik asit
I	: İyot
In	: İndiyum
ICP	: İndüktif olarak eşleşmiş plazma
ICP-OES	: İndüktif olarak eşleşmiş optik emisyon spektrometresi
K	: Potasyum
K	: Kelvin
kw	: Kilowatt
La	: Lantan
l/min	: Dakikadaki litre
Li	: Lityum
LOD	: Gözlenebilme sınırı
LOQ	: Tayin Sınırı
Mg	: Magnezyum
mg	: Miligram
mg/kg	: Miligram bölü kilogram
mg kg ⁻¹	: Miligram bölü kilogram
µg	: Mikrogram
µg/g	: Mikrogram bölü gram
MIP	: Mikrodalga uyarmalı plazma
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre

Mn	: Mangan
Mo	: Molibden
MHz	: Megahertz
N	: Azot
Na	: Sodyum
Ni	: Nikel
ng	: Nanogram
ng/g	: Nanogram bölü gram
nm	: Nanometre
O	: Oksijen
OES	: Optik (Atomik) Emisyon Spektroskopisi
P	: Fosfor
Pb	: Kurşun
Pd	: Paladyum
pg	: Pikogram
ppb	: Milyarda bir birim
ppm	: Milyonda bir birim
Rb	: Rubidyum
RF	: Radyo frekans
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RSD	: Bağlı standart sapma
S	: Kükürt
Sb	: Antimon
Sc	: Skandiyum
SCD	: Bir dedektör tipi (Segmented array charge coupled device)
Se	: Selenyum
Si	: Silisyum
Sn	: Kalay
Sr	: Stronsiyum

Te	: Tellür
Ti	: Titanyum
UV	: Ultraviyole
UV-Vis	: Ultraviyole görünür
UV-Vis-IR	: Ultraviyole-görünür-kızılötesi
V	: Vanadyum
vb.	: Ve benzeri
vd.	: Ve diğerleri
W	: Tungsten
W	: Watt
Zn	: Çinko
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
±	: Standart sapma simgesi
~	: Yaklaşık
×	: Çarpım işareti
Cu/Cs	: Çalışma sonucunda bulunan konsantrasyon bölü bilinen ya da standart çalışma sonucunda elde edilen konsantrasyon

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde, deneysel ve tez çalışmalarımnda, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, beni yönlendiren, her zaman desteğini gördüğüm ve her türlü konuda yardımcı olan hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ayça KARASAKAL'a saygı, şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitim sürecimde bilgi, birikim ve önerileri ile yardımlarını esirgemeyen, derslerini almaktan mutluluk duyduğum sevgili hocalarım Sayın Prof. Dr. Temine ŞABUDAK ve Sayın Prof. Dr. Yelda YALÇIN GÜRKAN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her evresinde beni koşulsuz destekleyen ve bu günlere gelmemde en büyük paya sahip olan değerli annem Nursu ARDA ve değerli babam Behzat ARDA'ya ve tüm aile bireylerime sonsuz teşekkür eder, saygı ve sevgilerimi sunarım.

Ocak, 2022

Görkem ARDA
Kimyager

1. GİRİŞ

Bal, polen, arı sütü ve propolis gibi arı ürünleri, insanlığın ilk çağlarından beri beslenme, sağlığın korunması ve hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Propolis, bal arılarının ağaç kabukları, yaprakları ve bitki salgılarından toplanan yapışkan bir maddedir (Castaldo ve Capasso, 2002). Fenolik asitler, esterler ve flavonoidler gibi çok sayıda fenolik bileşik içeren propolis, biyolojik ve farmakolojik özellikler açısından da oldukça zengindir. Propolisin kimyasal yapısında bulunan bu bileşikler propolise; antibakteriyel, antiviral, antifungal, antitümör, anti inflamatuvar ve antiülser gibi birçok biyolojik aktivite kazandırır. Birçok farklı etkiye sahip olan propolis bu özelliklerinden dolayı doğal bir antibiyotik olarak ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek yaygın olarak kullanılmıştır (Kutluca, Genç ve Korkmaz, 2008). Bunun yanı sıra günümüzde ilaç dışında, gıda sektöründe, apiterapi merkezlerinde, dermatolojik ve kozmetik uygulamalarda çok yönlü olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle koronavirüs (covid-19) pandemisi döneminde bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve vücut direncini artırdığı bilindiğinden dolayı eşsiz bir maden olan propolise ilgi oldukça artmaktadır.

Ham propolis birçok farklı yapı içermekte olup karışık bir kompozisyona sahiptir. Propolisin genel bileşiminde, %50 reçine ve bitkisel balsam, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik bileşikler ve mineral maddeler vardır (Bankova, De Castro ve Marcucci, 2000). Diğer bileşenler vitamin, mineral (element), benzoik asit, yağ asitleri, ketonlar, laktonlar, kinonlar, steroidler, şekerler ve doğal pigmentler gibi diğer bileşiklerden oluşmaktadır (Christov, Trusheva, Popova, Bankova, ve Bertrand, 2006; Yang, Wu, Huang ve Miao, 2017).

Canlı organizmada herhangi bir fonksiyonun yerine getirilmesi için yaşamsal olan bazı elementlerin belli miktarlarda olmaları gerekmektedir. Eksikliğinde sağlık problemleri oluşturacağı gibi aşırısında da toksik etki yapmaktadır (Parsons ve Barbosa, 2007; Zheng, Li, Wang ve Cai, 2008; Carvalho, Magalhães, Becker ve von Bohlen, 2007). Element miktarlarının belirlenmesi, insan hayatı devamlılığı ve çevre döngüsü için önem taşımaktadır. Bu yüzden takviye edici gıdalarda yer alan elementlerin kimyasal ölçümlerinin yapılması önemlidir.

Makro ve mikro (eser) elementler, organizmanın birçok önemli fonksiyonunda rol oynarlar. Vitaminlerin, enzimlerin ve hormonların biyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesi,

oksijen taşınması, sebest radikallerin yok edilmesi, yapı ve destek maddesi olarak kullanılmaları bu fonksiyonlara örnek verilebilir (Parsons ve Barbosa, 2007).

Ülkemizde ve dünyada, propolis içerisinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin ve elementlerin nicel analizleri ile ilgili çalışmalar bulunmakta fakat ticari propolis element içeriğinin İnduktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES) ile nicel tayini ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

ICP-OES, AAS'ye (Atomik absorpsiyon spektroskopisi) göre daha geniş çalışma aralığı, yan yana bulunan birçok elementi aynı zamanda tayin edebilme özelliği (konsantrasyonları çok düşük ve farklı olsa bile), refrakter elementlerin tayininde daha duyarlı sonuç vermesi gibi birçok özellikleriyle, metal tayinlerinde sık başvurulan tekniklerden biridir (Gündüz, 2007).

Bu tez çalışmasında üç farklı ticari markanın damla şeklinde olan sıvı propolis ürünün içeriğindeki makro ve mikro elementlerin ICP-OES ile tayini amaçlanmıştır. Element analizi için örnekler mikrodalga ile çözünürleştirildikten sonra ICP-OES ile analizleri gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Propolis

Propolis, bal arılarının (*Apis mellifera L.*), ağaçlar ve bitkilerdeki filiz, yaprak, tomurcuk ve kabuk çatlaklarından topladıkları reçineye tükürük enzimleri (β -glukozidaz) ekleyerek elde ettikleri kısmen sindirilmiş ve balmumu ile karıştırılmış bir arı ürünüdür (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1999; Segueni, Khadraoui ve Rhouati, 2017). Propolis, yapışkan, elastik ve reçineli bir maddedir (Şekil 2.1) (Thamnopoulos vd., 2018).



Şekil 2.1. Propolis (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Propolis_in_beehives.jpg)

Bal arıları propolisi, çiçeklerin ve tomurcukların koruyucu reçinelerini alt çeneleriyle kazıyarak toplar, ağızda nemlendirip yumuşatarak ve bu sırada bazı enzimler ekleyerek pelet (polen topu) haline getirir ve peleti ön bacaklarını kullanarak arka bacaklarındaki polen sepetine aktarırlar (Şekil 2.2, Şekil 2.3) (Krell, 1996, s. 89-90).



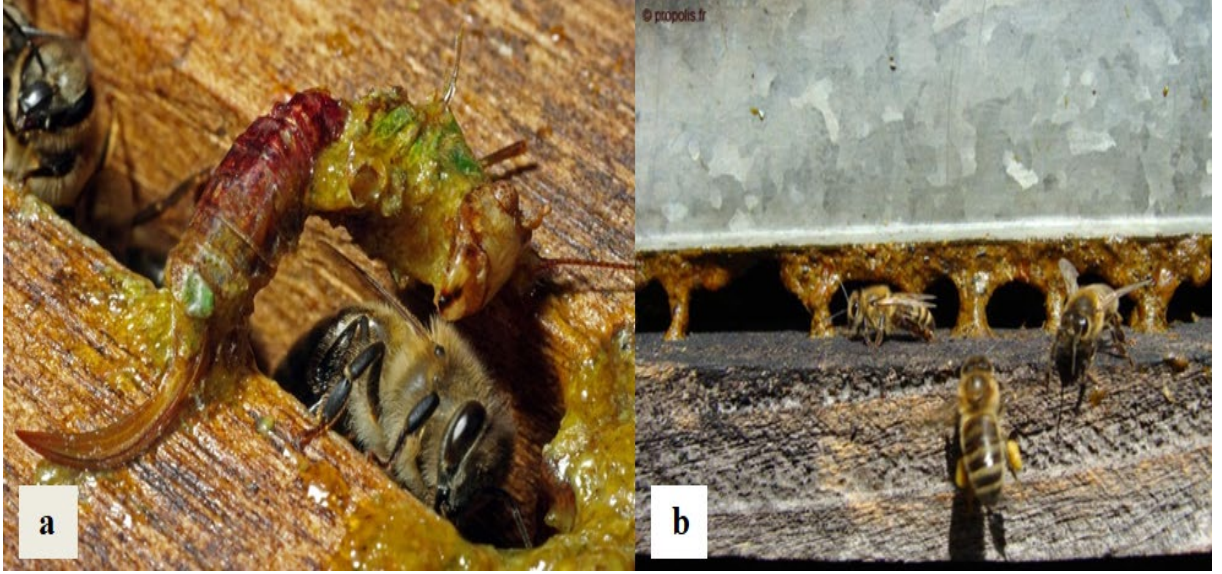
Şekil 2.2. Arının reçineyi toplaması (<https://www.biovontade.com/products/>)



Şekil 2.3. Reçineyi arka ayaklarında depolaması (<https://www.honeybeesuite.com/propolis>)

Yunanca bir kelime olan propolis etimolojik olarak incelendiğinde; “pro” önünde veya savunma anlamında, “polis” ise topluluk veya şehir anlamlarına gelmekte olup bir bütün oluşturduğunda şehrin savunulması anlamına gelmektedir. Arı kolonileri için de kovanın savunulması anlamında gelmektedir (Bankova vd., 2000; Castaldo and Capasso 2002).

Bal arıları, propolisi birçok farklı amaç için toplamaktadır. Bunlardan bazıları şu şekildedir: Kovanlarında oluşan çatlakları sıvamak, kovanlarını olası fiziksel ve kimyasal tehlikelere karşı korumak, kovan girişini küçülterek yağmacı canlıların kovana girmesine engel olmak, kovanın ortalama 35 °C olan sıcaklığını korumaktır. Bunun yanı sıra arılar kovan içerisinde kalan ve ölen yabancı canlıların mumyalanması ve hasarlı olan peteklerin onarılması için de propolis kullanmaktadırlar (Şekil 2.4) (El-Sohaimy ve Masry, 2014; Gençay ve Sorkun, 2002).



Şekil 2.4. Arıların propolis kullanımı a) Kovana giren çekirgenin mumyalanması (<https://www.acbees.org/pests.html>) b) Kovan girişinin küçültülmesi (<http://www.propolis.fr/en,introduction-and-general-points-propolis.html>)

2.1.1. Propolisin Bitkisel Kaynakları

Propolislerin bitkisel kaynağı arıların seçimlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Arılar tarafından, kavak, huş, kayın, kestane ve söğüt gibi ağaç türleri daha çok tercih edilmektedir. Bu tercihler propolisin oluşumunda yer alan bileşenlerin ana kaynağını oluşturmaktadır (Hazem vd., 2017).

Akçaağaç, kızılbaş, meşe, fındık, erik, karaağaç, at kestanesi, çam, ökaliptus, kestane, ıhlamur, dişbudak gibi reçine oranı yüksek olan ağaçların yanında bazı otsu bitkilerin tomurcuk, yaprak gibi kısımları da bal arıları tarafından propolis üretimi için tercih edilmektedir (Bonvehi ve Coll 2000).

Kavak (*Populus spp.*) türleri Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'nın tropik olmayan bölgeleri ve karasal iklime sahip bölgelerde propolisin kaynağı olarak görülürken kavak ağacının yetişmediği yerlerde arılar propolis kaynağı olarak farklı bitkileri tercih edebilmektedir. Örneğin Rusya'da Huş ağaçları (*Betula verrucosa*), Brezilya'da *Baccharis* türleri, İtalya'da kestane (*Castaneae spp.*), Avustralya'da ökaliptus (*Eucalyptus sp.*) propolisin kaynağı olarak kullanılmaktadır (Bankova vd., 2000). Türkiye'de ise Bursa'da kestane (*Castaneae*), Kayseri ve Sivas'ta kavak, Mersin'de ise ökaliptus (*Eucalyptus*) ağaçları propolis kaynağı olarak kullanılmaktadır (Özdere, 2019; Silici, 2010).

Bal arıları, propolis kaynağı bulamadığı veya kaynakların uzak olduğu durumlarda ise en yakın bölgeden bitki reçine ve salgıları yerine çeşitli boya, asfalt, cam macunu ve mineral yağları kovana getirerek propolis olarak kullanabilmektedir. Bu maddelerin bulunduğu propolislerin kullanımı sağlık açısından bazı riskler oluşturabilecektir (Bankova vd., 2000; Matheson ve Reid, 2011).

Propolisin içeriği, arılar tarafından kullanılan bitki türlerine, toplanan bitki bileşenlerine, toplama mevsimine, iklime, arıların beslenme tipine ve kraliçe arıdaki genetik farklılıklara göre çeşitlilik gösterir (Fernandes vd., 2007; Santos vd., 2002; Santos vd., 2003; Seidel, Peyfoon, Watson ve Fearnley, 2008; Sforcin, 2007; Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernandez-Lopez ve Perez-Alvarez, 2008;). Propolisin kaynağına bağlı olarak kimyasal karışımındaki geniş çeşitlilikten dolayı, kimyasal standardizasyonu oldukça güçtür (Fernandes vd., 2007).

Avrupa, Güney Amerika ve Asya'dan propolis örnekleri coğrafi farklılıklar nedeniyle, farklı kimyasal bileşimlere sahiptir (Marcucci, 1995). Avrupa ve Çin'den toplanan propolislerin çeşitli flavonoid ve fenolik asit esterleri içerdiği tespit edilmiştir (Bankova vd., 2000). Buna karşılık, Brezilya menşeli propolislerin ana bileşen olarak terpenoitler ve p-kumarik asitlerin prenilenmiş türevleri içerdiği tespit edilmiştir. (Marcucci, 1999; Tazawa, Warashina, Noro ve Miyase, 1998; Tazawa, Warashina ve Noro, 1999). Yapılan başka bir çalışmada da iki farklı yere ait propolislerin içerik analizlerini belirlemek için Brezilya tipi (Baccharis-type) ve Avrupa tipi (poplar-type) örnekler seçmiştir. Ilıman bir iklime sahip olduğu için Avrupa tipi propolis örneğinin flavanoid içeriği bakımından zengin olduğu belirlenmiştir (Kumazawa vd., 2003).

Propolisin içeriğinin farklı etmenlere bağlı olarak değişmesi propolisin biyolojik aktivitesine de yansımaktadır. Bu konularda yapılan çalışmalarda, mevsimlerin propolisin antibakteriyel, antitümoral ve antioksidan aktivitelerine ve bu etkileri meydana getiren fenolik bileşiklerin miktarını etkilediği bildirilmiştir (Isla vd., 2009; Nunes vd., 2013). Bankova vd. (1998) yapılan çalışmada, Brezilya'dan toplanan propolislerin kimyasal kompozisyonunu GC-MS (gaz kromatografi-kütle spektrometresi) ile incelemiş ve mevsime bağlı propolis içeriğinin farklı olduğunu fakat esansiyel yağlar üzerinde anlamlı bir farklılık olmadığını belirtmiştir.

2.1.2. Propolisin Fiziksel Özellikleri

Propolisin rengi, reçinenin elde edildiği kaynağa bağlı olarak koyu kahverengiden kırmızımsı kahverengiye, sarıdan yeşilimsi bir renge kadar değişebilir (Kasote vd., 2017). Ancak Cogshall ve Morse (1984) tarafından şeffaf renkte propolis varlığı da bildirilmiştir.

Propolis, 25-45 °C arası sıcaklıklarda, yumuşak, esnek ve çok yapışkan bir maddedir. 10-15 °C'den az sıcaklıklarda kısmen donmuş veya donmaya yakın halde olup, sert ve kırılğan bir haldedir. 45 °C'nin üzerinde yapışkanlığı artar yumuşak bir kıvam alır. 60-70 °C'de kısmen erir. Fakat bazı örneklerde erime noktasının 100 °C'yi bulabildiği bildirilmiştir (Krell, 1996, s. 158).

2.1.3. Propolisin Kimyasal Özellikleri

Propolisin kimyasal içeriği; bitkiler, bal arısı metabolizmasından salgılanan maddeler ve propolis oluşumu sırasında ortaya çıkan bileşenler tarafından oluşturulmaktadır (Marcucci, 1995). Propolisin kimyasal yapısında %50 reçine ve bitkisel balsam, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik bileşikler ve mineral maddeler vardır (Çizelge 2.1) (Bankova vd., 2000). Diğer bileşenler vitamin, mineral, benzoik asit, yağ asitleri, ketonlar, laktonlar, kinonlar, steroidler, şekerler ve doğal pigmentler (klorofil ve karotenoidler) gibi diğer bileşiklerden oluşmaktadır (Christov vd., 2006; Yang vd., 2017).

Çizelge 2.1. Propolisin kimyasal yapısı (Bankova vd., 2000)

Propolisin yapısında bulunan maddeler	Yüzde (%)
Reçine ve zamksı maddeler	50
Bitkisel mumlar	30
Esansiyel yağlar	10
Polen	5
Organik bileşikler ve mineral maddeler	5

%50 oranında bulunan reçine (Şekil 2.5) propolisin etken maddesini oluşturmakta olup fenolik asitler, flavanoidler ve esterlerinden oluşan polifenoller farmakolojik açıdan propolisin en aktif bileşenleridir (Keskin, 2018).



Şekil 2.5. Bitki reçinesi (<https://tr.wikipedia.org/wiki/Re%C3%A7ine>)

Propolisin yapısında 300'den fazla bileşik bulunur. Bu bileşiklerin başlıcaları fenolik bileşikler (flavonoidler ve fenolik asitler), benzoik asit ve türevleri, sinamik alkol, sinamik asit ve türevleri, monoterpenler, diterpenler, triterpenler ve sesquiterpenler ile bunların alkol ve benzaldehit türevleri, diğer fenolik asit ve türevleri, alkoller, şekerler, ketonlar, heteroaromatik bileşikler, alifatik hidrokarbonlar, mineraller, steroid hidrokarbonlar ve aminoasitlerdir. Propoliste lipidlerden en fazla yağ asitleri bulunur. Bunların yanında steroller, hidrokarbonlar ve uzun zincirli alkoller gibi sabunlaşmayan maddeler de bulunur. Ayrıca stearik, palmitik, nervolik, ekosapentanoik, araşidonik, oleik, linoleik ve linolenik asit propolisten izole edilmiştir (Sorucu, 2015; Walker ve Crane, 1987).

Propolisin içerisinde şekerlerden sukroz, glukoz, ksiloz, galaktoz, maltoz, ramnoz, furuktoz, ksilitol, taloz ve ribofuranoz tespit edilmiştir (Walker ve Crane, 1987; Qian, Khan, Watson ve Fearnley, 2008). Propolisin içerisinde minerallerden; Na, K, Mg, Ca, Ba, Sr, Zn, Cd, Al, Si, Sn, Pb, Fe, Ni, Cr, Mn, Ti, Ag, Cu, Co, Mo ve V, vitaminlerden; B1, B2, B6, C ve E ile enzimlerden; süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenzin trifosfataz ve asit fosfataz tespit edilmiştir (Ghisalberti, 1979; Huang, Zhang, Wang, Li ve Hu, 2014; Marcucci, 1995; Walker ve Crane, 1987).

Propolisin farmakolojik özellikleri, çoğunlukla flavonoidlerin varlığı sayesinde oluşmaktadır. Flavonoidlerin; antiinflamatuvar, antihepatotoksik, antikanser, antiviral ve antibakteriyal aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir. Flavonoidlerin biyolojik aktiviteleri, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu yeteneğe sahip olmaları ile ilişkilidir (Russo, Longo ve Vanella, 2002).

Propolis lipofilik karakterde olduğu için metanol, etanol, kloroform, diklorometan, aseton, eter, dimetil sülfoksit (DMSO) ve gliserin (gliserol) gibi organik çözücülerde yüksek düzeyde, suda ise kısmen çözünmektedir (Çakıroğlu, 2010; Pena, 2008; Qian vd., 2008; Wagh, 2013; Walker ve Crane, 1987).

Propolisin içeriğinde bulunan polen; magnezyum, nikel, kalsiyum, demir, çinko, potasyum, sodyum ve bakır gibi esansiyel elementlerin, çoğunlukla glutamat, prolin, aspartat, lösin ve lizin olmak üzere serbest aminoasitlerin ve vitaminlerin zengin bir kaynağıdır (Carpes, Begnini, Alencar ve Masson, 2007; Castaldo ve Capasso, 2002; Szczesna, 2006; Szczesna, 2007).

Mumlar (vakslar) ise genellikle bitki ve hayvan doku yüzeyinde bulunan, uzun karbon zincirli apolar bileşik karışımlarından oluşurlar. Arılar mumları petek yapımında kullanırlar. Bal mumu, arıların sahip olduğu özel keselerde üretilir. Dört çift salgı bezinden sıvı halde üretimi yapılan bal mumu; ayaklar ve ağız vasıtasıyla istenilen bölgeye iletilerek petek yapımı sağlanır. Bal mumu alkanlar, alkenler, alkadienler, monoesterler, diesterler, aromatik esterler, ketonlar ve yağ asitleri açısından oldukça zengindirler. Propoliste var olan mumların çoğu bal mumundan, az bir kısmı ise bitkilerden kaynaklanmaktadır (Keskin, 2018).

2.1.4. Propolis Ekstraksiyonu

Kovandan elde edilen ham haldeki propolis tüketim için uygun değildir (Şekil 2.6). Bu nedenle ilk olarak çeşitli çözücülerle ekstraksiyon işlemine tabi tutulmalıdır. Ancak ekstraksiyon işlemi ile propolisin içeriğindeki birçok madde uzaklaştırılırken, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin etkinliği arttıran fenolik bileşenler korunmalıdır (Volpi ve Bergonzini, 2006). Bu nedenle kullanılan çözücü seçimi ekstraktın özelliklerinin belirlenmesinde etkilidir (Çakıroğlu, 2010).



Şekil 2.6. Ham propolis (Özdere, 2019)

Propolis; eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, suda çok az veya hiç çözünmemekte olup %95'lik alkolde büyük ölçüde çözünmektedir. (Burdock, 1998). Propolis ekstraksiyonunda çözücü olarak genellikle etanol, glikol, gliserol, su ve bitkisel yağlar kullanılabilir (Pietta , Gardana ve Pietta, 2002). Ayrıca çözücü bileşenler arasında yapılan farklı orandaki birleşmelerle çözücülerin ekstraksiyon etkinliği ve hızı artırılabilir (Segueni vd., 2017).

Muğla ilinden toplanan 45 farklı propolisin aseton ve dimetil sülfoksit ekstresi kullanılarak antimikrobiyal özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada antimikrobiyal özelliğin; propolis örneğine, dozuna ve ekstraksiyon çözücüsüne göre farklılık gösterdiği görülmüştür (Uğur ve Aslan, 2004).

Bir başka çalışmada da etanol ile hazırlanmış propolis ekstresinin, Gram (+) bakterilere (*Staphylococcus aureus*) karşı yüksek antibakteriyel etki gösterdiği, fakat Gram (-) bakteri (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) ve mayalara (*C. albicans*) karşı zayıf etki gösterdiği bildirilmiştir (Silici ve Kutluca, 2005).

Kubiliene vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada propolis ekstraksiyonu için etanol, su ve zeytinyağı çözücü olarak kullanılmıştır. Propolisin etanol, su ve zeytinyağlı ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırmıştır. Yapılan çalışma sonucunda etanollü propolis ekstraktlarının, sulu ve zeytinyağlı ekstraktlara göre daha güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür.

Propolisin içeriğindeki önemli bileşenlerin en etkin şekilde propolisten ekstrakte edilebilmesi insan sağlığı için önemli bir husustur. Bu nedenle propolisin en faydalı şekilde işlenebilmesi ve bileşenlerine zarar vermeden en yüksek konsantrasyonda elde edilmesi için

propolis ekstraksiyonunda kullanılacak çözücüler ve ekstraksiyon yöntemleri önem arz etmektedir. Kullanılan çözücülerin insan sağlığını tehdit etmeyen ve en yüksek faydanın alınmasını sağlayacak yaklaşımla seçilmesi gerekmektedir (Bakkaloğlu, 2021).

2.1.5. Propolisin Kullanım Alanları

Propolis yapısında bulunan farklı kimyasal maddeler sebebiyle çeşitli sektörlerde kullanım alanı bulmuştur. Antioksidan ve antimikrobiyal özelliği ilaç, kozmetik, apiterapi merkezleri ve gıda sektörü alanlarında uzun zamandır kullanılmaktadır. Standardizasyonunun sağlanamaması sebebiyle kullanımında sınırlamalar bulunmaktadır (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

2.1.5.1. Kozmetik sanayinde kullanımı

Propolis; bakterisit, yara iyileştirici, hücre yenileyici ve onarıcı etkisi nedeniyle özellikle kozmetik alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Kremler, losyonlar, şampuan, yüz maskesi gibi kozmetik ürünlerde arı sütü ve E vitamini ile birlikte cildi besleyici olduğu bildirilmektedir (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

2.1.5.2. İlaç sanayinde kullanımı ve yapılan bazı çalışmalar

Propolisin genel anlamda ilaç olarak kullanımı yaygın olup, kardiyovasküler ve kan dolaşım sistemi (anaemia), solunum yolları enfeksiyonları, diş sağlığı, deri tedavileri (doku yenileme, ülser, egzama), yara tedavileri özellikle yanık yaralar (mycosis), müköz zar enfeksiyonları ve lezyonları, kanser tedavisi, bağışıklık sistemi tedavisi ve sağlığı, sindirim rahatsızlıkları alanlarında kullanılır (Krell, 1996). Propolis çeşitli karışımlarla kullanılarak çözelti, tablet, kapsül, granül, pastil ve sakız formunda tüketilebilmektedir (Bankova, Popov ve Marekov, 1983; Dobrowolski vd., 1991; Marcucci, 1995).

Propolis diş çürüğüne yol açan mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir. Diş hekimliğinde, diş macunlarının ve gargaraların içine katılarak ağız ve diş bakımının iyileştirilmesine katkıda bulunur. Ayrıca deri hastalıklarının tedavisi ile ilgili çeşitli araştırmalarda olumlu sonuçlara rastlanmıştır (Ayala, Lembo, Nappa ve Balato, 1985; Björkner, 1994).

Propolisin, yeni sağlıklı hücre büyümesini hızlandırarak travmatik yanıkları olan kişilerin daha hızlı iyileşmesine yardımcı olabileceği bulunmuştur (Al-Waili, Salom ve Al-

Ghamdi, 2011). Başka bir çalışmada ise, propolisin alkollü özütünün, oral cerrahi yaralarda mast hücrelerini azaltmada bir steroid kreminden daha etkili olduğu bulunmuştur (Barroso vd., 2012).

Kafeik asit fenil ester (CAPE) bal arısı propolisinin umut verici bir bileşenidir. Yapılan çalışmalarda CAPE' nin antiinflamator, antioksidant ve antikansorejen özelliklerinin yanı sıra nöroprotektif (sinirleri koruyucu), hepatoprotektif (karaciğer koruyucu) ve kardiyoprotektif (kalbi koruyucu) özellikleri olduğu vurgulanmaktadır. Bu umut verici molekül in vitro ve in vivo çalışmalarda oldukça fazla kullanılmaktadır. Ayrıca difenolik bir bileşen olan CAPE' nin antibiyotik ve kemoterapik ilaçların kötü etkilerini ortadan kaldırma özelliği olduğu vurgulanmıştır (Keskin, 2018; Tolba vd., 2016).

Kemoterapi tedavisi alan meme kanseri hastası kadınlar üzerinde propolis desteği etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, deney ve kontrol grubu olarak iki gruba ayrılan hastaların vücutlarındaki antioksidan ve oksidatif stres durumları üç ay boyunca incelenmiştir. Deney grubuna günde 2 kez 250 mg propolis verilmiştir. Kontrol grubu propolis desteği almamıştır. Çalışma sonucunda, propolis desteğinin meme kanseri hastalarında destek almayan hastalara kıyasla antioksidan dengesinde ve oksidatif stres belirteçlerinde iyileşme sağlandığı görülmüştür (Darvishi vd., 2020).

Yayımlanan bir olgu raporunda medikal tedaviye cevap vermeyen ve umutsuz vaka olarak görülen bir covid-19 hastasında Anadolu propolisinin etkilerine yer verilmiştir. Bu olgu raporuna göre, yoğun bakım koşullarında mevcut tedaviler ile mekanik solunum desteğine rağmen hastanın durumunda herhangi bir iyileşme gözlenmediği görüldüğünden hastanın tedavisine gerekli onaylar sonrası Anadolu propolisinin eklenmesine kararı verilmiştir. Mevcut tedaviye, İstanbul Teknik Üniversitesi ARI Teknokent'te geliştirilen, %30'luk Anadolu propolisi günlük 20 damla eklenerek hastanın durumu izlenmiştir. Yedi gün içerisinde hastanın solunum güçlüğü azalmış, mekanik solunum desteği ihtiyacı kalmamış ve yoğun bakımdan normal servise transfer edildiği bildirilmiştir. (Zorlu, 2021)

Propolisin yararlı etkileri yanında zararlı etkileri de bulunmaktadır. Hassas insanlarda alerjik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan el, sırt, ağız, dil, kafa, sırt ve ayaklar gibi vücudun değişik yerlerinde oluşan egzama, dermatitis (deride kabuklanma, su toplama, ağrı, kaşıntı vb.) ve öksürük gibi semptomlar görülebilmektedir. Ayrıca propolisin oral tüketimi

sonucunda içeriğinde kuersetin, apigenin, kaemferol ve naringenin fenolik bileşiklerinin yüksek düzeyde olması durumunda kabızlığa neden olabileceği bildirilmiştir (Sorucu, 2015).

2.1.5.3. Gıda sanayinde kullanımı ve yapılan bazı çalışmalar

Propolisin gıda sanayinde kullanımı ile ilgili son yıllarda daha fazla araştırma yapılmaya başlanmış ve elde edilen sonuçlar endüstride kullanılmaya başlanmıştır. Araştırmalarda propolisin en çok antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden faydalanılmaktadır. Bu sayede propolisin gıdaların muhafazasında ve raf ömrünün uzamasında yardımcı olması planlanmaktadır. Gıda koruyucusu olarak gıdalara katılan propolisin: gıdanın doğal bozulmasını kontrol etmek ve patojenik olanlar da dahil olmak üzere mikroorganizmalar tarafından kontaminasyonu ve gelişimini önlemek gibi iki açıdan etki etmesi beklenir (Bakkaloğlu, 2020; Bankova, Popova ve Trusheva, 2016). Propolis ekstraktlarının çok sayıda ürünün muhafazasında kullanımı ile ilgili başarılı çalışmalar yapılmıştır.

Propolisin sahip olduğu antioksidan kapasitesi, depolama sırasında gıda maddelerinde en sık görülen oksidasyon türleri olan lipit peroksidasyonunu ve ransiditeyi önleyerek raf ömrünü uzatmak ve çürümeyi engellemek için kullanılır (Nanditha ve Prabhasankar, 2008).

Ras peyniri (Aly ve Elewa, 2007), yoğurt ve ayran (Çelik, 2016) gibi propolis katkısı yapılarak üretilen süt ürünlerinde antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite ve depolama süresi incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda propolis katkısı yapılarak üretilen ürünlerin; depolama süresinin, fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin arttığı bildirilmiştir.

Ülkemizde ve yurt dışında; elma suyuna (Sağdıç, Silici ve Yetim 2007), beyaz üzüm, elma, portakal, mandalina suyu gibi farklı meyve sularına (Koç, Silici, Mutlu-Sarıgüzel ve Sağdıç, 2007) ve portakal suyuna (Yang vd., 2017) propolis ilave edilerek propolisin koruyuculuk etkisi incelenmiştir. Araştırma sonucunda propolis katkısı yapılan meyve sularında yüksek antifungal ve antibakteriyel etkisinin olduğu bulunmuştur.

Ordu Üniversitesinde yapılan bir çalışmada farklı konsantrasyonlarda propolis eklenerek hazırlanan meyveli yoğurtlarda, propolisin antimikrobiyal aktiviteye, antioksidan aktiviteye, kimyasal ve duyuşsal özelliklere etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda propolis eklenen yoğurt örneklerinde mikrobiyel gelişme yavaşlarken antioksidan aktivite artmış,

kimyasal ve duyusal özellikler arasında ise propolis katkısının herhangi bir farklılığa neden olmadığı bildirilmiştir (Güney, 2016).

2.2. Eser Element

Doğada 92 element ve bunların insan sağlığı üzerine olumlu ya da olumsuz birçok etkiye sebep olan yüzlerce izotopu bulunmaktadır. Vücudumuzda biyolojik fonksiyonlarda görev alan bu elementleri makro ve mikro elementler şeklinde iki gruba ayırmak mümkündür (Peereboom, 1985).

Eser elementlerin canlı organizmaların sağlıklı olmasında önemi fazladır. Bu anlamda temel ve temel olmayan elementler olarak ayrılırlar. Bir element, canlı organizmada bir eksiklik sendromuna neden olup (yapısal ve fizyolojik bozukluk) bu bozukluk ilaçla tedavi edilebiliyorsa temel element olarak tanımlanır. Bir elementin canlı organizmada bulunması gereken seviyeden daha az veya çok yüksek derişimde olması da sorun yaratabilir. Bu yüzden bu tip elementlerin yiyeceklerle vücuda alınması belirli limitlerle sınırlandırılmıştır (Karasakal, 2012).

Na, K, Ca, S, Mg, P ve Cl makro elementler olarak adlandırılırlar ve vücutta yaklaşık %4 oranında bulunur. Al, Ni, Cu, Zn, Fe, Co, Se, I, As, Cd, Mn, Pb, Hg ve Mo ise mikro elementler olarak sınıflandırılır. Bunlara ilaveten son yıllarda F, Cr, B, V, Si ve Sn elementleri eklenmiştir. İnsan vücudunun %0,01'den daha azını oluştururlar. Bu bilgiler ışığında eser elementler canlı dokularda çok az miktarlarda bulunan fakat mutlaka bulunması gereken elementler şeklinde tanımlanabilir. Organizmada görevleri pek fazla anlaşılmamış, biyolojik bileşiklerin yapısında yer alan elementlere de rastlanılmaktadır. Bunlar ultra-eser element olarak tanımlanırlar ve genellikle µg ve ng düzeyinde bulunurlar. Bunların başlıcaları: Au, Ag, Ba, As, Li, Ce, Sr ve Ti elementleridir. Cd, Hg ve Pb gibi, canlı organizmalarda çok düşük derişimlerde bile olumsuz etkilere neden olan toksik elementler de temel olmayan elementler grubuna girer (Vandecasteele ve Block, 1993; Zurnacı, 2015).

İnsan vücudunda en çok bulunan elementler O, H, C ve N'dir. Bu elementlere majör elementler (temel elementler) denir ve bunlar insan vücudunun yaklaşık %96'sını oluştururlar. Bu elementlerden sonra insan vücudunda en çok bulunan elementler kalsiyum ve fosfordur. Çizelge 2.2'de makro ve mikro elementlerin vücutta bulunma miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.2. İnsan vücudunda doğal olarak bulunan elementler (Zurnacı, 2015)

Sembol	Element	Atom numarası	Vücuttaki % ağırlığı
İnsan vücudunun %96'sını oluşturan elementler			
O	Oksijen	8	65,0
C	Karbon	6	18,5
H	Hidrojen	1	9,5
N	Nitrojen	7	3,3
İnsan vücudunun %4'ünü oluşturan makro elementler			
Ca	Kalsiyum	20	1,5
P	Fosfor	15	1,0
K	Potasyum	19	0,4
S	Sülfür	16	0,3
Na	Sodyum	11	0,2
Cl	Klor	17	0,2
Mg	Magnezyum	12	0,1
İnsan vücudunun %0,01' den daha azını oluşturan elementler (mikro elementler)			
Bor (B), kobalt (Co), krom (Cr), bakır (Cu), iyot (I), mangan (Mn), flor (F), molibden (Mo), demir (Fe), vanadyum (V), selenyum (Se), kalay (Sn), çinko (Zn), silisyum (Si),			

Eser elementler insan vücuduna başlıca besin ve hava yoluyla alınmaktadır. Örneğin birçok toksik eser element (Hg, Cd ve Pb gibi) kirlenmiş şehir havasından, termik santrallerden ve bazı sanayi kuruluşlarından kaynaklanan kirli havanın solunması yoluyla vücuda alınırken, diğer birçok eser element ise beslenme yoluyla vücuda alınmaktadır (Peereboom, 1985).

Eser elementler vücutta denge halinde buldukları zaman birçok hayati fonksiyonda görev almaktadırlar. Mikro mineraller olarak bilinen eser elementler vücutta kan yapımına, vitamin sentezine, enzimlerin oluşumuna katılırlar ve hormonların fonksiyonlarına yardımcı olurlar (Küçükaslan, 2011). Eser elementler; bitkilerin normal gelişimi, bitki virüslerine karşı korunmaları, bağışıklık ve yaşam döngüsünü tamamlaması için de gereklidir.

2.2.1. Eser Element Derişim Aralığı

Eğer bir elementin konsantrasyon 100 µg/g'ın altındaysa eser element olarak tanımlanır, 10 ng/g'ın altında ise ultra eser element olarak isimlendirilir (Minczewski,

Chwastowska ve Dbycynski, 1982). Geliştirilen yöntemlerle eser bileşenler de alt gruplara ayrılmıştır. Bunlar;

- Konsantrasyonu 10^2 – 10^4 ppm ya da gramda 10^2 – 10^4 mg olanlara eser bileşenler,
- Konsantrasyonu 10^{-7} - 10^{-4} ppm ya da gramda 0,1-100 pg olanlara mikro–eser bileşenler,
- Konsantrasyonu 10^{-10} - 10^{-7} ppm ya da gramda 0.1-100 fg olanlar, nano-eser bileşenler denir.

Ayrıca numune miktarı 0,1-1 mg arasında ve numunedeki eser bileşen konsantrasyonu %0,01 seviyesindeyse, buna mikro eser analiz ya da sub-eser analiz denir (Gündüz, 2002).

2.2.2. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme Yöntemleri

Spektroskopik yöntemlerde ön koşul analizi yapılacak numunenin çözelti halinde olmasıdır. Analizi yapılacak numune çözelti haline getirilerek analize hazır hale getirilir (Florian, Barnes ve Knapp, 1998). Günümüzde örneklerin, inorganik ve organik içeriklerinin çözünürleştirilmesinde genel olarak üç temel yöntem kullanılmaktadır. Bunlar, yaş yakma yöntemi, kuru yakma yöntemi ve mikrodalga çözünürleştirme yöntemidir (Jin vd., 1999).

2.2.2.1. Kuru yakma yöntemi

Kuru yakma (kuru oksidasyon veya kül etme) yöntemi, çoğu standart metotta ve hazır gıdalarda elementlerin belirlenmesi için kullanılan çok eski bir çözünürleştirme tekniğidir. Mineral element tayininde organik maddelerin etkisini en aza indirir veya ortadan kaldırır (Özdemir, 2018; Yumuşakbaş, 2013).

Kuru yakma yönteminde, numune (örnek) bir kapsül ya da kroze içine konularak organik kısmı olabildiğince yavaş ve düşük sıcaklıkta yakılır. Eser element analizi için kül etme sıcaklığı 450-550 °C arasındadır. Daha yüksek sıcaklıklarda çeşitli element kayıpları meydana geldiğinden, 550 °C'nin üstündeki sıcaklıklara çıkmak uygun değildir. Kül etme işlemi birkaç saat sürer ve en uygun şartlar altında yapılırsa, beyaz veya açık gri renkte kül elde edilir. Soğutulduktan sonra, tayini amaçlanan elemente göre, nitrik asit veya hidroklorik asit gibi uygun çözücülerde çözülür. Bazen yakma işleminin tam gerçekleşmemesi sonucunda koyu gri veya siyah renkte kül oluşur. Bu durumda, 1 mL nitrik asit ile nemlendirilir ve 1 saat daha kül etme sıcaklığında bekletilir (Hoenig, 2001).

Kuru yakma yöntemi; uçuculuğu fazla olan elementlerin kaybı, analiz esnasında seyreltmeden kaynaklı düşük sonuçlar elde etme, küllenme sırasında bazı metallerin çeşitli bileşikleri halinde buharlaşması gibi bazı dezavantajlara sahiptir (İnal ve Kacar, 2010). Kuru yakma işleminin tam olarak gerçekleşebilmesi için gerekli olan sıcaklık değerlerine ulaşıldığında sodyum ve potasyumda kayıplar da meydana gelebilmektedir. Bu yöntemin diğer bir zayıf yönü ise zaman alıcı ve yavaş olmasıdır (İnal ve Kacar, 2010). Dolayısıyla bu yöntem basit ancak hassas değildir.

2.2.2.2. Yaş yakma yöntemi

Bu çözünürleştirme tekniğine yaş yakma yöntemi denmesinin nedeni sıvı reaktiflerin kullanılmasıdır. Eski ve hala çok sık kullanılan teknik olan yaş parçalama yöntemlerinde yükseltgen (oksitleyici madde veya oksidan) asitler (HCl, HNO₃, HClO₄, HF, H₂SO₄, H₂O₂) kullanılarak organik yapı parçalanır. Organik bileşiklerin parçalanması (yok edilmesi) için çoğunlukla derişik HNO₃ ve ısı uygulanır. Bu yöntemde asidin gücü, oksitleyici veya kompleksleştirici etkisi, kaynama noktası, oluşan tuzların çözünürlüğü, kullanım güvenirligi ve saflığı önemlidir. Yaş yöntemlerde termal, ultrasonik veya radyasyon enerjisi (infrared, ultraviyole ve mikrodalga) kullanılabilir (Oliveira, 2003).

Bu çözünürleştirme yönteminde organik kısımların parçalanması ve yakılması, sıvı ortamda uygun kap içerisinde ve sıcaklık etkisiyle yapılmaktadır. Bu yöntemde, katı örnekler homojenize edildikten sonra sabit tartıma gelinceye kadar kurutulur. Kurutulan örnekler belirli bir miktarda tartılarak, bir asit karışımında veya yükseltgen çözeltide (HNO₃, HClO₄, H₂SO₄, HCl, HF, H₂O₂ gibi) çözünürleştirilir. Elde edilen çözeltiler, sonra kuruluğa yakın ısıtılır ve kalıntı, uygun çözücü (genellikle HNO₃) ile tekrar çözülür (Smirkolj, Pograjc, Hlastan-Ribic ve Stibilj, 2005; Zheljaskov ve McNeil, 2008). Numune parçalama için bu asitlerin genellikle çeşitli kombinasyonları da kullanılmaktadır.

Çözünürleştirme için kullanılacak yükseltgen asit veya asit karışımlarının seçimi numunenin içeriğine, boyutuna, organik ya da inorganik olmasına, uygulanacak analitik tekniğe uygunluğa göre değişmektedir. Yaş yakma yönteminin önemli noktalardan biri de uygun bir ısıtma işleminin uygulanmasıdır. Örneğin nitrik asidin uçuculuğu sülfürik asit ve perklorik asidin uçuculuğundan daha fazladır. Isıtma yüksek sıcaklıklarda yapılırsa numune tamamen okside olmadan asit uçacaktır ve etkin bir yakma işlemi yapılamayacaktır (Zurnacı, 2015).

Kuru yakmaya oranla daha fazla çözücü gerektiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler, örnek sınırlaması ve çok dikkat gerektirmesi dezavantajlarıdır. Kuru yakmaya nazaran hızlı, daha az zahmetli ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olmasından dolayı daha çok kullanılır (Oliva, Raitio ve Mingorance, 2003).

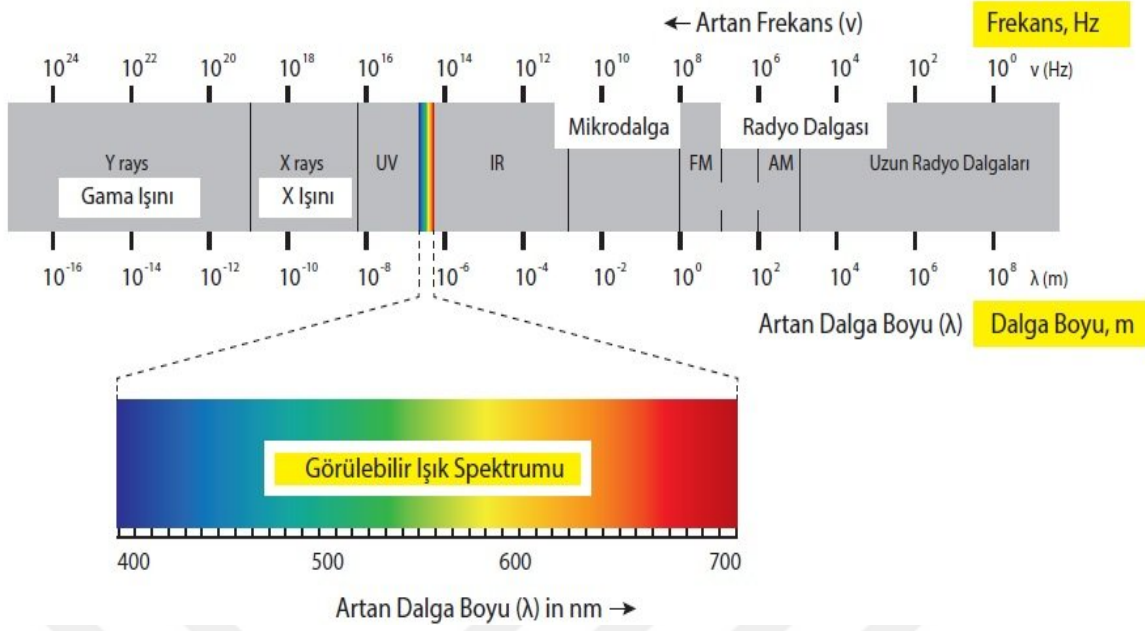
2.2.2.3. Mikrodalga ile çözünürleştirme yöntemi

Mikrodalga elektromanyetik ışımanın bir türüdür. Elektromanyetik ışın bir enerji taşıyan ve foton adı verilen tanecikler olarak tanımlanabilir. Elektromanyetik ışın uzayda çok büyük bir hızla hareket eden (yayılan) enerji türüdür (Gündüz, 2007; Yıldız ve Genç, 1993).

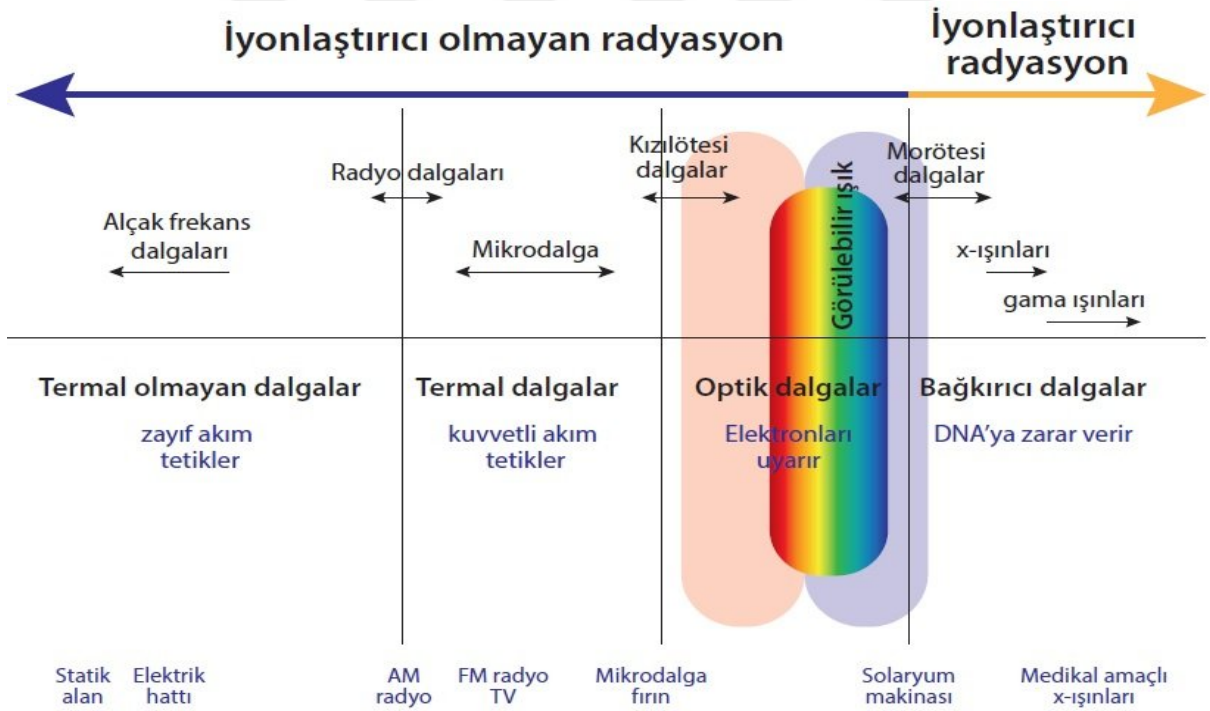
Mikrodalga enerjisi, elektromanyetik spektrumun bir üyesidir. Elektromanyetik spektrum, çok geniş bir dalga boyu ve enerji aralığını kapsar (Şekil 2.7). Mikrodalgalar, kızıl ötesi ışınlarıyla ultra yüksek frekanslı radyo dalgaları arasındaki bölgede kalan ve dalga boyları milimetreler mertebesinde olan elektromanyetik dalgalarıdır. Mikrodalgalar iyonlaşmaya neden olmayan ışınların bir parçasıdır ve mikrodalgalarla ortama enerji salınır (Şekil 2.8) (Kılıç, Köseoğlu ve Yılmaz, 1998; Yıldız ve Genç, 1993).

İyonizasyon (iyonizasyon bölgesinde) bir atomu bozarak kimyasal aktif bir iyon meydana getirir. Molekülde ise molekülü oluşturan atomu bozarak molekülün özelliğini kaybetmesine neden olur. Non-iyonize ışın (non-iyonizasyon bölgesinde) ise atom veya molekülü bozmaz, mikro saniye veya daha kısa bir sürede, molekülde kalıcı bir değişiklik olmaksızın, en düşük enerji seviyesine geri dönlür (Başargil, 2015, s. 97).

İyonizasyon enerjisi altındaki UV fotonları, elektron geçişi meydana getirerek kuvvetle absorblanırlar. Görünür ışın da elektron geçişine neden olur. İnfrared ışın molekülleri titreştirir. Mikrodalgalar moleküler dönme (rotasyon) ve bükülme (torsion) hareketlerine neden olurken radyo frekansları ise moleküllerin değişken polarizasyonu ile ısınmayı artırır (Başargil, 2015, s. 97).



Şekil 2.7. Elektromanyetik Dalga Spektrumu (www.afad.gov.tr/kbrn/radyasyon-nedir)



Şekil 2.8. İyonlaştırıcı ve İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon Etkileri (www.afad.gov.tr/kbrn/radyasyon-nedir)

Mikrodalga yönteminde elektromanyetik radyasyon (elektromanyetik dalgalar veya parçacıklar biçimindeki enerji yayımı, ortamda taşınan enerji) ile parçalama gerçekleşir. Mikrodalgaların polar molekül ile etkileşmesi ile başlayan süreç sonunda; moleküllerdeki dönme hareketleri ve moleküller arası çarpışma ısı (mikrodalga enerjisi) üretir. Üretilen bu ısı sayesinde sıcaklık dağılımları daha homojen olmakta ve yüzeyin aşırı ısınması önlenmektedir (Schiffmann, 1986). Mikrodalga tekniği tüm kütlenin her yerini aynı anda ısıtırken klasik ısıtma teknikleri bir kütleyi dıştan içe doğru tabaka tabaka ısıtır.

Mikrodalga sistemleri, analitik kimyada ilk olarak 1975 yılında Abu Samra ve arkadaşları tarafından biyolojik örneklerin asitlerle hızlı bir şekilde çözünürleştirilmesinde hızlı ısıtma kaynağı amacıyla kullanılmıştır (Jin vd., 1999). Günümüzde modern analiz laboratuvarlarında mikrodalga çözünürleştirme yöntemleri eser ve ultra eser elementlerin analizinde örneğin çözünürleştirilmesinde gittikçe yaygınlaşarak kullanılmaktadır. Özellikle un, buğday, yenilen deniz ürünleri, şarap gibi farklı gıda maddelerinde ve referans maddelerde eser element analizlerinde farklı çözünürleştirme yöntemleri kullanılmış ve en iyi sonucun mikrodalga çözünürleştirme yönteminin verdiği görülmüştür (Llobett, Falco, Casas, Teixido ve Domingo, 2003; Mantovi, Bonazzi, Maestri ve Marmiroli, 2003; Valiente, Piccinna, Ale, Grillo ve Smichowski, 2002).

Mikrodalga yönteminde hem organik hem de inorganik maddeler parçalanabilir. Yüksek basınç ve sıcaklık elde edildiği için daha çok kapalı kaplar tercih edilir. Kapalı kapların yüksek basınç ve sıcaklık sağlaması dışındaki bir avantajı da buharlaşma kayıplarının önüne geçilebilmesidir. Burada az miktarda kullanılan reaktif (asit ve/veya asit karışımı) parçalama için yeterli olacağından reaktiften gelen kirlenmelerin de önüne geçilebilecektir. Günümüzde türlü inorganik ve organik numunelerin çözünürleştirilmesinde HNO₃ veya HCl veya H₂SO₄ ile karışımları kullanılır. Numune tipine göre kullanılan asit ve asit karışımı değişiklik göstermektedir. Biyolojik ve gıda numunelerinde HNO₃ ve H₂O₂ karışımı kullanılır, yağ içerikli numuneler için H₂SO₄ ve H₂O₂ karışımı kullanılmaktadır (Akyar, 2011).

Çözünürleştirme işlemi hem kapalı hem de açık kaplarla yapılabilir. Açık sistemlerde asit/asit karışımı ile örnek birlikte bir tüp içerisine alınır ve mikrodalga enerjisi gönderilerek ısıtma yapmak suretiyle çözünürleştirme yapılır. Kapalı sistemde ise asit/asit karışımı ile örnek, yüksek basınç altında teflon tüp içerisinde etkileştirilir ve mikrodalga enerjisi gönderilerek ısıtma yapmak suretiyle çözünürleştirme gerçekleştirilir.

Mikrodalga çözünürleştirme yönteminin diğer klasik çözünürleştirme yöntemlerine karşı sahip olduğu avantajlar vardır. Bunlar ;

- Hızlı ve kolay uygulanabilirliği,
- Minimum enerji ve kimyasal sarfiyatı,
- Yüksek sıcaklıklara izin vermesi,
- Uçucu bileşenlerin kaybını engellemesi,
- Çevresel kirlilik oluşturmaması,
- Teflon çözünürleştirme kaplarının mikrodalga enerjisini absorbe etmemesinden dolayı enerji kaybının minimum olması gibi avantajlara sahiptir.

Ayrıca mikrodalga tekniğinde karşılaşılan bazı problemler vardır. Bunlar ise;

- Sıcaklık ve basıncın daima kontrol edilmesinin gerekliliği,
- Basınç düşürme mekanizmasının gerekliliği,
- Mikrodalga enerjisini absorbe edecek kapların kullanılması sonucu enerji kaybı oluşması,
- Kullanılan örnek miktarının sınırlı olması gibi dezavantajlara sahiptir (Burgera ve Burgera, 1998; Eskillson ve Bjorklund, 2000).

2.2.3. Eser Element Analizinde Kullanılan Yöntemler

Eser element analizinde günümüzde pek çok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemleri seçerken analizi yapılacak element ve numunenin uygunluğu göz önünde bulunmalıdır. Eser element analizinde genellikle kullanılan yöntemler şunlardır (Özdemir, 2018):

- UV-Vis Spektrometresi.
- X-Işınları Florans Spektrometresi (XRFS).
- X-Işınları Difaksiyon Spektrometresi (XRDS).
- İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES).
- Nötron Aktivasyon Analizi (NAA).
- Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (FAAS).

2.3. Spektroskopi

Spektroskopi, ışının madde ile etkileşimini inceleyen bilim dalıdır. Bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve değerlendirilmesidir. Absorpsiyon ve emisyonunda elektromanyetik ışın “foton” adı verilen enerji taneciklerini oluşturan bir hüzmeye (ışık demeti, bir ışık kaynağından yayılan yoğun aydınlık) olarak düşünülebilir. Fotonun enerjisi, ışının frekansı (saniyedeki titreşim sayısı, Hz) ile orantılıdır. Spektrometre terimi ise özellikle elektromanyetik ışın şiddetinin çeşitli detektörler yardımıyla ölçülmesini ifade eder. Elektromanyetik ışın gama ışınlarından radyo dalgalarına kadar çok geniş bir aralığı içerse de optik (atomik) spektrometrik yöntemler denildiğinde UV-VIS-IR bölgeleri anlaşılır (Başargil, 2015; Gündüz, 2007).

Spektrometrelerin temel çalışma prensibi, hazırlanan çözeltilerden belirli dalga boyunda ışık geçirilmesi ve bu ışığın ne kadarının çözelti tarafından tutulduğunun bulunması esasına dayanır. Çözeltinin içerisindeki madde miktarı ne kadar fazla ise çözelti tarafından tutulan ışın miktarı da o oranda fazla olur. Tipik bir spektrometre cihazı başlıca beş bileşen içerir (Gündüz, 2007, s. 183):

1. Işın enerjisi için kararlı bir ışık kaynağı,
2. Numunenin konduğu saydam bir hücre (kap, sel),
3. Ölçümler için spektrumun belirli bir bölgesini ayıran bir düzenek (monokromatör),
4. Işınlardan enerjisini ölçülebilir bir sinyale (genellikle elektriksel) dönüştüren bir dedektör,
5. Sinyal işlemcisi ve kayıt sistemidir.

Spektrometrik yöntemler ışının absorpsiyon, emisyon, lüminesans (floresans-fosforesans), saçılma şiddetinin ölçülmesine dayanır (Gündüz, 2007, s. 183). Spektroskopik yöntemler numune ve içerdiği analitler hakkında hem kalitatif hem kantitatif bilgi verdiği için bir çok alanda çok yaygın olarak kullanılırlar. Bu yöntemler atomik ve moleküler spektroskopi başlıkları altında incelenebilir. Atomik spektroskopi ise kendi arasında Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) ve Atomik (Optik) Emisyon Spektroskopisi (AES veya OES) olarak ikiye ayrılır.

AAS, yüksek sıcaklıklarda (alevli atomlaştırıcılarla elde edilen) gaz haline gelen element atomlarının yaymış oldukları elektromanyetik ışınların absorplanması esasına

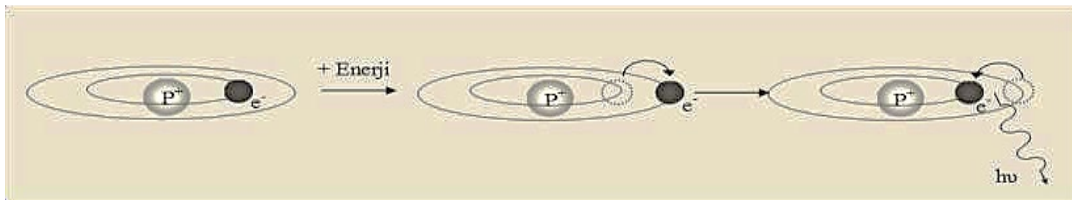
dayanmaktadır. Optik emisyon spektrometresinin yüksek sıcaklığı ve inert atmosferi, plazmayı aleve veya grafit fırına göre daha etkin bir kaynak yapar. Bu sayede, AAS ile duyarlı sonuç elde edilemeyen refrakter (ateşe dayanıklı) bileşiklerin analizi de kolaylıkla gerçekleştirilebilir. AAS cihazlarının da basit, ucuz, işletme masraflarının az olması, kesinliğinin yüksek olması ve iyi yetişmiş operatörlere ihtiyaç duyulmaması gibi üstün yanları vardır (Gündüz, 2007, s. 602).

AAS, özellikle element analizleri için uygundur. Ancak bir defada bir elementin analizine olanak sağlaması dolayısı ile çok sayıda elementin analizinin uzun zaman alması ve bazı elementlerin (Sn, As, Sb, Hg) özel teknikler gerektirmesi gibi dezavantajlara sahip olduğundan bu tip durumlarda ICP (İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma) tekniklerinden yararlanılır.

2.4. Emisyon Spektroskopisi

Oda sıcaklığında, genellikle bir maddenin atomlarının çoğu temel haldedir. Temel haldeki atomlar bir kaynak ile uyarılarak uyarılmış enerji düzeyine çıkarlar. Uyarılmış hal kararsız haldir ve atomlar temel halde bulunmayı tercih edecekleri için uyarılmış atomun ömrü kısadır. Emisyon spektroskopisi, uyarılmış enerji düzeyine çıkan atomların daha düşük enerji düzeylerine geçişlerinde yaydıkları UV ve görünür bölge ışımalarının ölçülmesi ilkesine dayanır. Tabiatta bulunan elementlerin atom numaraları ve elektron sayısı farklı olduğu için bunların enerji seviyeleri ve dolayısıyla yaydıkları ışının dalga boyu farklıdır.

Atomlar enerji absorpladıklarında elektron daha yüksek seviyelere çıkarak uyarılır. Atomlar kararlı halde yani temel halde bulunmayı tercih edecekleri için bu elektronlar daha düşük enerji seviyelerine tekrar döner ve dönerken bir ışın yayarlar (Şekil 2.9). Bu yaydıkları ışın spektrometreye gönderilir ve yaydıkları ışın şiddetinin ölçülmesi sağlanır. (Boss ve Fredeen, 2004).



Şekil 2.9. Uyarılmış bir atom veya iyonun ışın yayması (Boss ve Fredeen, 2004)

Emisyon spektroskopisi, uyarmayı sağlayan enerji kaynağının türüne göre sınıflandırılır. Analiz örneğini atomlaştırmak ve uyararak için alev kullanıldığı yöntem alev emisyon spektroskopisi, atomlaşmanın ve uyarmanın elektriksel boşalım veya plazma gibi bir enerji kaynağı ile gerçekleştirildiği yöntem ise sadece atomik emisyon spektroskopisi veya optik emisyon spektroskopisi olarak adlandırılır (Başargil, 2015; Gündüz 2007).

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde olduğu gibi emisyon spektroskopisinde de numuneler önce atomlaştırılır (buharlaştırılır). Ancak emisyon (ışın yayma) spektroskopisinde numuneler daha yüksek sıcaklıklarda atomlaştırılır. Bunun için de başlıca: plazma, ark ve spark (kıvılcım) atomlaştırma yöntemleri kullanılır. Ark ve spark atomlaştırıcı yöntemleri 1930'lu yıllardan beri, plazma metodu üzerine kurulmuş atomlaştırıcılar ise 1970'li yıllarda beri bilinmektedir (Başargil, 2015, s.369; Gündüz, 2007, s. 601). Günümüzde kullanılan başlıca plazma tipleri: (a) doğru akımla oluşturulan plazma (DCP), (b) mikrodalga uyarımlı plazma (MIP), (c) indüktif eşleşmiş plazma (ICP) (Gündüz, 2007, s.604).

Bu atomlaştırıcılar alev ve elektrotermal atomlaştırıcılara karşı bazı üstünlüklere sahiptir. Bunlar başlıca şöyledir:

- Farklı element atomlarının birbirlerini karıştırma ihtimalleri azdır.
- Konsantrasyonları çok düşük ve farklı olsa bile yan yana bulunan birçok elementi aynı zamanda tayin etmek mümkündür.
- Atomlaşmaları çok güç olan, zirkonyum, tungsten, uranyum, fosfor, bor gibi elementlerin sıcaklığa dayanıklı bileşikleri bile kolayca atomlaştırılır.
- Klor, brom, iyot, kükürt gibi metal olmayan elementlerin tayinleri mümkündür.
- Metotların tayin aralıkları çok geniştir (Gündüz, 2007, s. 601).

Bunları alev atomlaştırıcılarda gerçekleştirmek mümkün olmaz. Çünkü her element için farklı alev şartları kullanılır. Birisi için uygun olan bir alev sıcaklığı, öteki için uygun olmayabilir. Ayrıca birisinin tayin edildiği bir alev bölgesinde öteki tayin edilemez (Gündüz, 2007, s. 602)

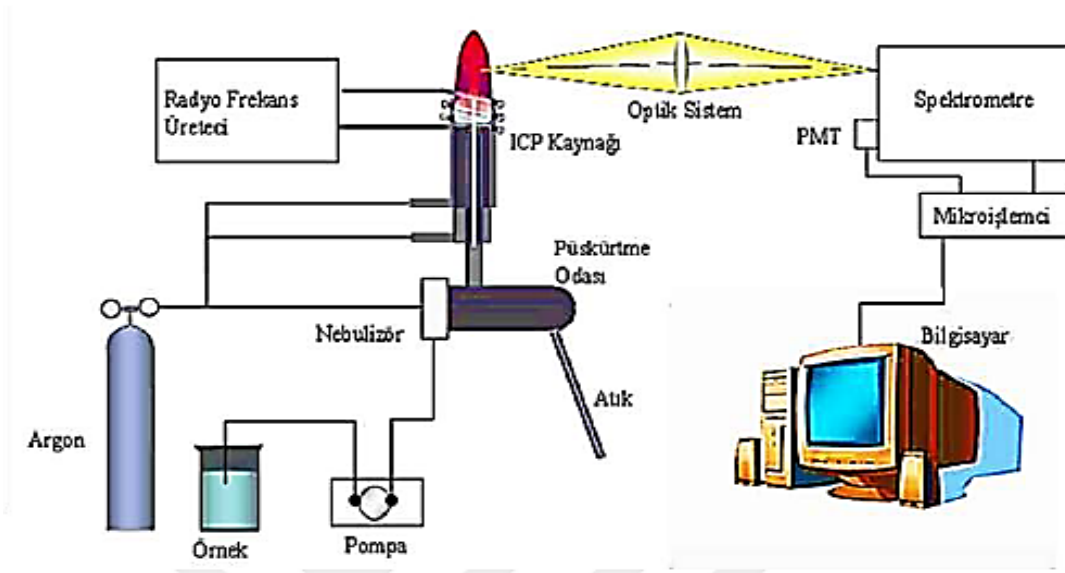
2.5. İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES)

İndüktif Olarak Eşleşmiş (çiftleşmiş) Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES), yüksek konsantrasyonda katyon ve bu konsantrasyonlara yakın elektron içeren plazmada, atomların ve iyonların uyarılması ile yayılan ışınların emisyon şiddetinin bir

dedektör yardımıyla numune içerisinde aranan analitlerin miktarı ile eşleştirilmesi prensibiyle çalışır. ICP-OES, daha çok suda veya organik çözücülerde çözülebilen numunelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılır. Prensip olarak, bütün metalik elementler, ICP (İndüktif olarak eşleşmiş plazma) yöntemi ile tayin edilebilir. ICP-OES AAS'ye göre daha geniş çalışma aralığı, fazla element tayini yapabilme özelliği, refrakter elementlerin tayininde daha duyarlı sonuç vermesi gibi özellikleriyle, metal tayinlerinde sık başvurulan tekniklerden biridir (Boss ve Fredeen, 2004; Gündüz; 2007). Ayrıca indüksiyonla eşleşmiş plazma kaynağının tayin sınırları, diğer atomik spektral yöntemlerle kıyaslanabilir ve daha iyi seviyelerdedir (Başargil, 2015, s. 382).

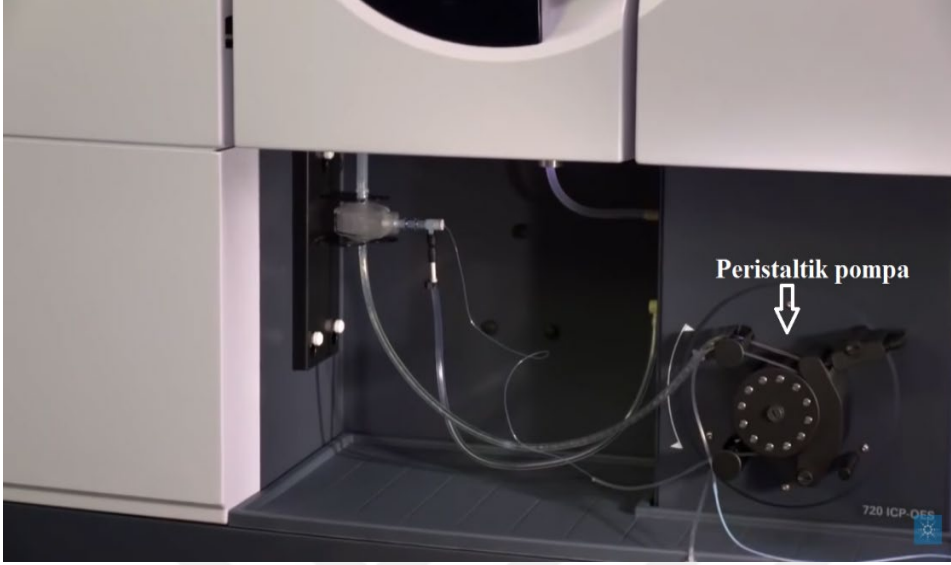
2.5.1. ICP-OES Cihazının Temel Bileşenleri

ICP-OES cihazında sıvı fazdaki örnek , genellikle aerosol şeklinde yüksek sıcaklıktaki plazmaya gönderilir. Plazmayı içeren ICP kaynağı iyonlaşmış bir argon gazı akışı ile yaklaşık 27 veya 41 MHz'lik güçlü bir radyo frekansta 0,5-2 kW enerji verilerek elde edilir. Şekil 2.10'da şematik olarak gösterilen ICP-OES cihazında, aerosol tanecikleri plazmada serbest katyon ve elektronlara dönüşerek uyarılır. Uyarılan analit, optik sistem içeren bir spektrometre ve uygun bir bilgisayarla değerlendirilerek analizi yapılır (Şekil 2.10) (Boss ve Fredeen, 2004).



Şekil 2.10. ICP-OES cihazının temel bileşenlerinin şematik gösterimi (Özkan, 2021)

Numune girişi: Peristaltik pompa ile örnek alınır argon gazı yardımıyla plazmaya gönderilir (şekil 2.11).



şekil 2.11. ICP-OES cihazındaki peristaltik pompa örneği (<https://www.agilent.com>)

Nebülizör: Örnek çözeltisini Ar gazı ile birlikte aerosol halinde püskürtme (sprey) odasına püskürtür (şekil 2.12). Farklı tipleri vardır.



şekil 2.12. Nebülizör örneği (<https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy>)

Püskürtme (Sprey) Odası: Nebülizörden gelen sis şekline gelemeyenleri atıktan dışarı atarken aerosol damlacıklarını plazmaya gönderir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Püskürtme (Spreyleme) Odası (Demirkol, 2014)

Torch: Eş merkezli üç kuartz tüpten oluşan yapıya torch (hamlaç, üfleç) adı verilir (Şekil 2.14). Plazma hamlacın üzerinde oluşur. Sıcaklık 6000-10000 K arasında değişir. Argon gazı, radyo frekans sahasından geçerken bir kıvılcım ile plazma oluşturmak üzere ateşlenir.

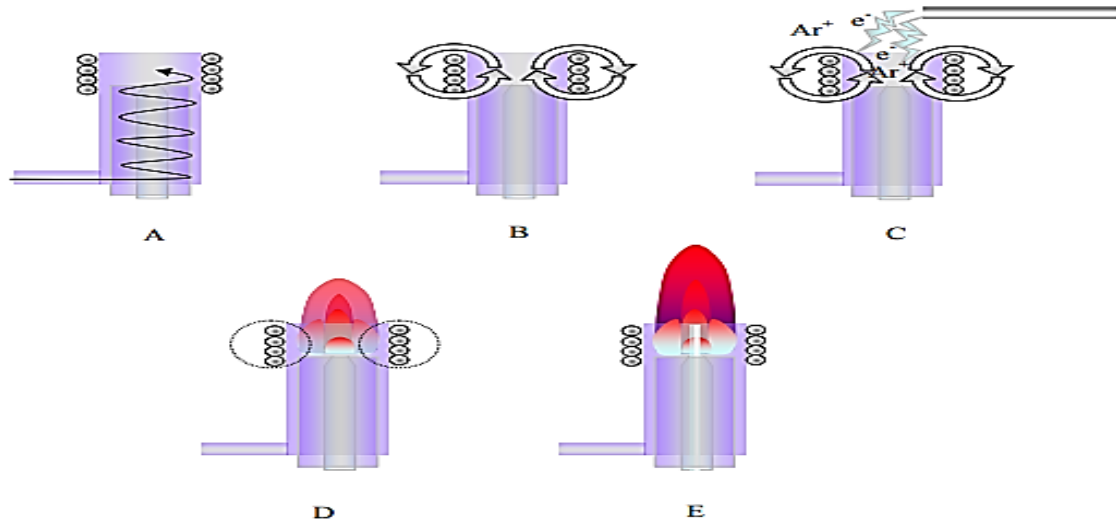


Şekil 2.14. Torch örneği (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ICP_quartz_torch_3.JPG)

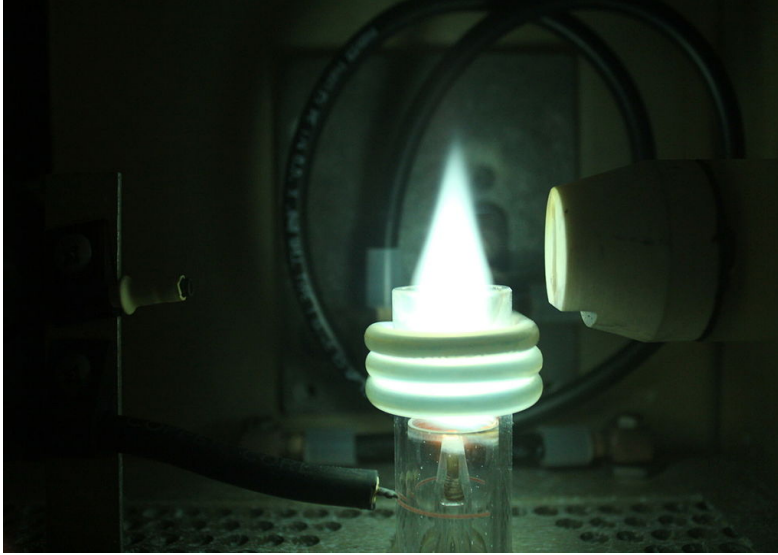
Radyo frekans enerjisi: RF enerjisi arttığında plazma sıcaklığı ve buna bağlı zemin yayımı, ayrıca plazma hacmi ve parlaklığı da artar. Çoğu elementin yayım şiddeti sıcaklıkla artar, ancak optimum RF enerjisi daha çok zemin yayım şiddetini minimum yapacak şekilde seçilir. Sulu çözeltilerde genellikle 1,5 kW'lık RF gücü kullanılır.

2.5.2. İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Kaynağı ve Çalışma Prensibi

Katyon ve elektronlardan meydana gelen ve elektrik akımını ileten bir buhar ortamına plazma denir. Plazma, nötr gaz, katyon ve elektron içeren iletken bir gaz karışımı olarak da tanımlanabilir. Plazma gazı olarak argon (Ar) kullanıldığından, indüktif eşleşmiş plazmada Ar, iyonlaşmış Ar ve elektron bulunur. İndüktif eşleşmiş plazma kaynağı iç içe girmiş üç kuvars borudan oluşan hamlaç (torch) ile oluşturulur. Bunlar arasında dakikada 11-17 litre argon gazı geçirilir. Argon, en dış ve ara borudan helezonik (sarmal) bir şekilde geçerek borunun ucuna, radyo frekans (RF) jeneratörü ile beslenen indüksiyon bobininin sardığı bölüme ulaşır. Genellikle bakırdan yapılmış indüksiyon bobini, hamlaca, 27 veya 40 MHz frekansında ve 0,5-1,5 kW arasında güç sağlar ve Tesla bobini adı verilen sistemle kıvılcım oluşturularak argonun iyonlaşması sağlanır. Bunların sonucunda plazma oluşur (Şekil 2.15 ve Şekil 2.16) (Başargil, 2015; Boss ve Fredeen 2004, Gündüz 2007).

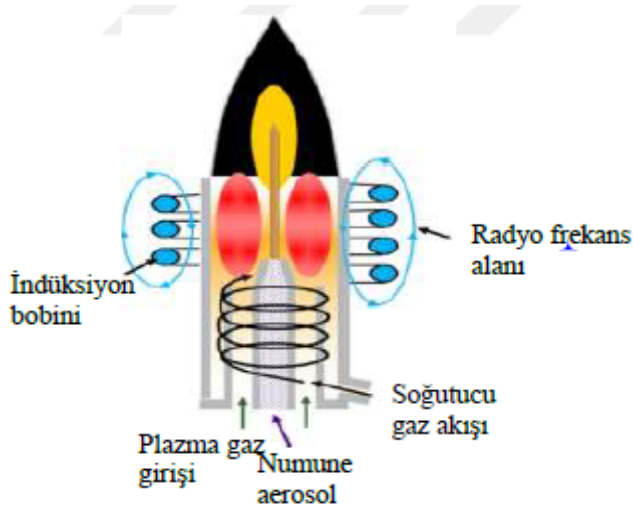


Şekil 2.15. ICP kaynağında plazma oluşum aşamaları A) Argon gazı verilmesi B) Radyofrekans uygulanması C) Kıvılcımla ilk serbest elektronların oluşması D) Radyofrekans etkisi ile elektronların artması ve plazma oluşması E) Örneğin oluşan plazmaya gönderilmesi (Boss ve Fredeen, 2004; Demirkol, 2014)



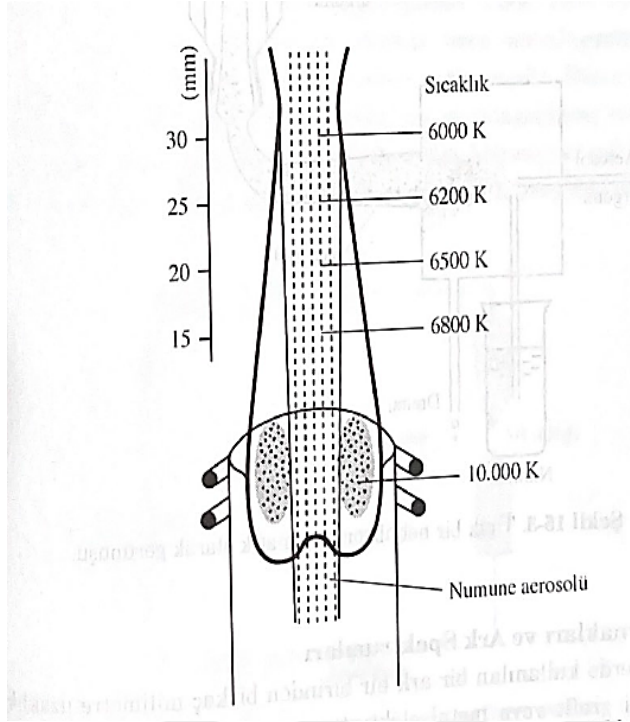
Şekil 2.16. Plazmanın görünüşü (https://en.wikipedia.org/wiki/Inductively_coupled_plasma)

Argon gazıyla sürüklenen numunedeki iyon ve elektronlar indüksiyon bobini (Şekil 2.17' de daire içine alınan) tarafından oluşturulan manyetik alan salınımlarıyla etkileşir. Bu etkileşim, “Şekil 2.17” de gösterilen kapalı, düzenli bir yol içinde bobin içindeki iyon ve elektronların akmasına neden olur; iyon ve elektronların bu harekete karşı direnci sonucunda, ısı oluşur. Bu yolla oluşan plazma sıcaklığı, dıştaki kuvars silindirin termal izolasyonunu gerektirecek kadar yüksektir. Bu izolasyon, “Şekil 2.17” de sarmal oklarla belirtildiği gibi borunun duvarlarına teğet olacak şekilde argon gazı akışıyla sağlanır. (Başargil, 2015, s. 373)



Şekil 2.17 Tipik İndüktif Eşleşmiş Plazma (Özkan, 2021)

Teğet akış, radyal olarak plazma merkezini ve içteki tüpün iç duvarlarını soğutur. ICP-OES tekniğinde örnek, plazma alevinde 6000-10000 K’de atomize edilir ve uyarılır. Böyle bir cihazda meydana gelen sıcaklıklar “Şekil 2.18” de verilmiştir (Gündüz, 2007, s. 605).



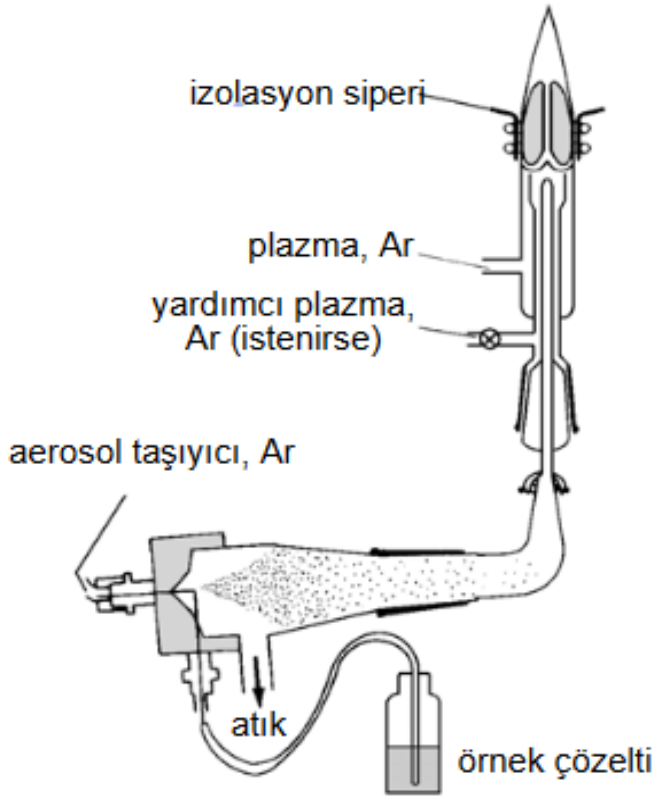
Şekil 2.18. İndüktif olarak eşleşmiş bir plazma cihazının sıcaklık profili (Gündüz, 2007)

ICP-OES cihazlarında; numune çözeltisinin ve gazın plazmaya akışındaki düzensizlikler, optik kısımda kaymalar ve elektronik kısımlardaki düzensizlikler veya sistemin kilitlenmesi gibi problemlerle karşılaşılabilir. Ayrıca kullanılan argon gazının kalitesi de çok önemlidir. Düşük kalitedeki argon gazının kullanımında plazma oluşumu zor olur veya hiç oluşmaz (Sandel ve Onishi 1978).

2.5.3. ICP-OES Cihazına Numune Verilmesi

Numune çözeltisi bir peristaltik pompa yardımıyla sisleştirciye gönderilir ve argon ile çarpıştırılarak aerosol üretilir. Sprey odasında spreyleştirilen (aerosol) numune, taşıyıcı argon gazı ile en içteki ince borudan hamlaca ulaşır ve hamlaktan geçerek 6000–10000 K sıcaklığındaki plazmaya gelir (Şekil 2.19). Plazmanın merkezinde numune kurur, parçalanır, oluşan iyonlar uyarılır ve emisyon spektrometresine gönderilir. Uyarılan iyonlar yüksek enerjili konumdan düşük enerjili konuma (temel hale) geçerken yaydıkları karakteristik

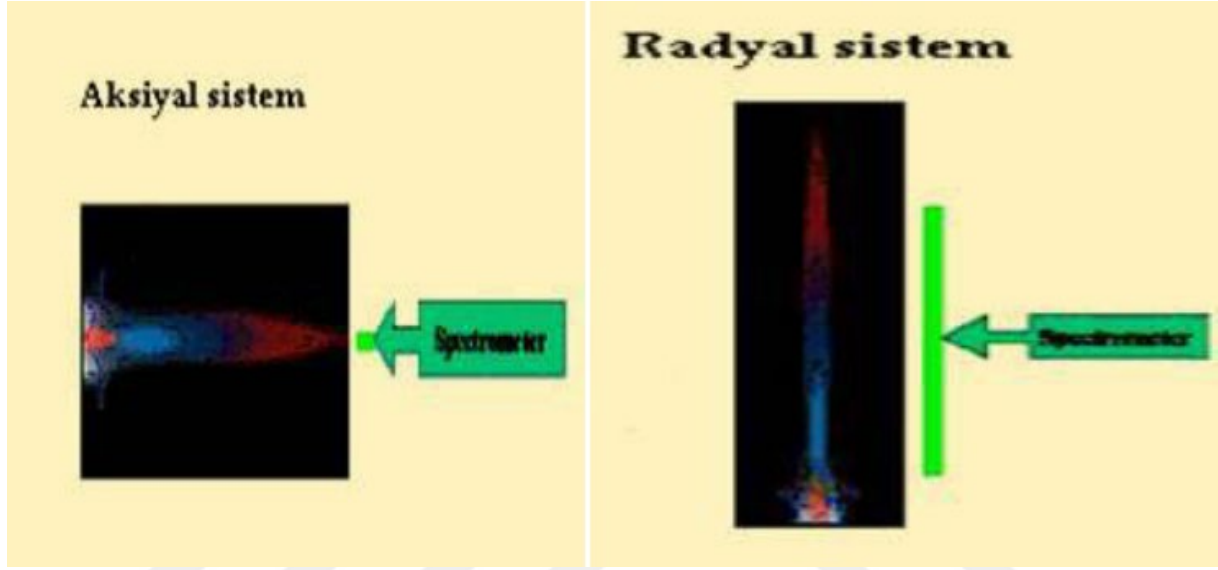
özelliğindeki ultraviyole ve görünür bölge ışınları bir detektör yardımıyla aranan analit veya analitlerin miktarı tespit edilir (Gündüz, 2007; Şahin, 2001).



Şekil 2.19. Tipik bir nebülizörün şematik olarak görünüşü (Başargil, 2015)

Plazmada oluşan atom ve iyonların emisyonu değişik şekillerde ölçülebilir. ICP-OES cihazları, sırayla ölçüm yapanlar (sequential) ve aynı anda ölçüm yapanlar (simultane) olmak üzere iki bölümde incelenebilir. Her ikisinde de ICP kaynağından yayımlanan ışınlar bir giriş yarığından geçirilerek optik ağıllı monokromatöre düşürülür ve burada ışınlar kırılarak dalga boylarına ayrılır. Sequential cihazlarda monokromatörle birlikte sadece bir detektör (fotoçoğaltıcı tüp) vardır. Seçilen dalgaboyundaki ışık detektöre gönderilir ve ışın şiddeti ölçülür. Bu işlem her bir element yani her bir dalgaboyu için tekrarlanır. Simultane cihazlarda ise çok sayıda element aynı anda okunur ve tüm ışın emisyonları aynı anda ölçülür. Bir tip cihazda çok sayıda fotoçoğaltıcı detektör, önceden belirlenmiş dalgaboylarında ölçüm yapmak için sabit slitlerin arkasına monte edilmiştir. Simultane çok kanallı cihazların polikromatörler ve seri esaslı sistemler olmak üzere genelde iki tipi vardır. Son yıllarda tipik bir polikromatör olan rowland çemberi tipi ve echelle monokromatör tipi simultane cihazlar yaygın olarak kullanılmaktadır. (Kamar, 2016).

ICP-OES cihazlarında ölçüm dikey (vertical, radyal) veya yatay (axial) plazma pozisyonlarında yapılabilir (Şekil 2.21). ICP teknolojisinin ilk yıllarında emisyonların plazmanın yan tarafında gözlemlendiği radyal tekniği kullanılmaktaydı. Daha sonraları, plazmanın torch eksenine doğrultusunda izlenebildiği aksiyal sistemler geliştirildi. Yatay plazmanın dikey plazmaya üstünlüğü daha duyarlı sonuçlar vermesi, düşük konsantrasyonlarda (ppb) ölçüm yapılması, dedeksiyon limitleri iyi olmasıdır (Montaser ve Golightly, 1992; Zurnacı, 2015).



Şekil 2.20. Aksiyal ve Radyal Plazma (Düzgün, 2013)

2.6. Literatürde ICP-OES Cihazı İle Yapılan Bazı Çalışmalar

Thiel ve Danzer (1997) yaptıkları çalışmayla ICP-OES ile beyaz şaraptaki 15 inorganik bileşenin (B, V, Al, Sr, Ba, Rb, Na, P, Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn) belirlenmesi için doğrudan bir ölçüm yöntemi geliştirilmişlerdir. Cihazın çalışma şartlarını plazma gaz akışını (Ar) 13 l/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 1,2 l/min ve sisleştirici gaz akışını (N₂) 0,48 l/min olarak belirlemişlerdir. Ayrıca bu elementlerden Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn için dalga boylarını sırasıyla 324,7; 317,9; 259,9; 766,4; 279,0; 257,6; 213,8 olarak belirlemişlerdir.

Karacan ve Çağran (2009) yaptıkları çalışmada menengiç meyvesi, sabunu, sakızımsı ve demlenmiş ekstratında ICP-OES ile Al, As, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ge, Hg, In, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Pd, Sb, Sc, Se, Si, Sn, Sr, Te, Ti, V, W ve Zn olmak üzere 36 tane element tayin etmişlerdir. Cihazın çalışma şartlarını plazma gaz akışını (Ar) 15 l/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 0,2 l/min ve sisleştirici gaz akışını (N₂) 0,8 l/min olarak

belirlemişlerdir. Ayrıca bu elementlerden Cu, Ca, Fe, K, Mg, Mn ve Zn için dalga boylarını sırasıyla 327,393; 317,933; 238,204; 766,490; 285,213; 259,372 ve 213,857 olarak belirlemişlerdir.

Sultanoğlu (2011) yaptığı çalışma kapsamında Hatay'ın 9 farklı ilçesinden 10 farklı orijine sahip 45 bal örneğindeki 17 elementin içeriği (Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr ve Zn) ICP-OES ile belirlenmiştir. Ca, K, Mg ve Na' un bal örneklerinde en çok bulunan elementler olduğu gözlenmiştir. En düşük Fe derişimi (7.40 mg kg^{-1}) sanayileşmenin olmadığı Arsuz bölgesinden alınan ballarda, en yüksek Fe derişimi (59.90 mg kg^{-1}) sanayinin yoğun olduğu Dört Yol bölgesinden alınan ballarda ölçülmüştür. K (447 mg kg^{-1}), Ca (219 mg kg^{-1}), Mg (49 mg kg^{-1}) ve Na (96 mg kg^{-1}) elementlerinin balda bulunan major elementler olduğu tespit edilmiştir. Cu (0.58 mg kg^{-1}), Pb (0.11 mg kg^{-1}), Co (0.01 mg kg^{-1}) ve Cr (0.10 mg kg^{-1}) elementlerinin konsantrasyonları ağır sanayiden uzak olan Samandağ, Reyhanlı ve Antakya'dan toplanan örneklerde düşük miktarda tespit edilirken; en fazla Cu (9.52 mg kg^{-1}), Pb (2.02 mg kg^{-1}), Co (0.12 mg kg^{-1}) ve Cr (0.54 mg kg^{-1}) içerikleri sanayinin fazla olduğu Payas ve Dört Yol bölgesinden toplanan bal örneklerinde bulunduğu saptanmıştır.

Altundağ ve Tuzen (2011) yaptıkları çalışmada bazı kurutulmuş meyvelerde iz elementlerin (Ba, Pb, Cd, Mn, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Sr ve Fe) miktarlarını tayin etmişlerdir. İz elementleri, kuru, yaş ve mikrodalga yöntemleri uygulayarak ICP-OES cihazıyla analiz etmişlerdir. Elde edilen sonuçları literatür bilgileriyle karşılaştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda analitiksel parametreler göstermiştir ki mikrodalga ile çözünürleştirme yöntemi kullanıldığında daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Pytlakowska, Kita, Janoska, Polowniak ve Kozik (2012) yaptıkları çalışmada Polonyo'da tıbbi amaçla kullanılan şifalı bitkilerdeki mineral ve eser elementlerin tayinini ICP-OES cihazı ile gerçekleştirmişlerdir. On iki mineral ve eser element (Al, B, Ba, Fe, Zn, Mn, Mg, K, Na, P, Cu, Sr ve Ca) belirlenmiştir. Sonuçları sertifikalı referans maddelerle karşılaştırmışlardır.

Cheng, Yaobin ve Xuelian (2012) yaptıkları çalışmada arpada Fe, Mg, Ca ve Mn eser elementlerini ve Pb, Cd, Cu ve Zn ağır metallerini ICP-OES ile belirlemişlerdir. Arpa örneklerini HNO_3 ve HClO_4 yaş yakma yöntemiyle hazırlamışlardır. Elde edilen sonuçlar, yöntemin geri kazanım oranının %91,0 ile %106,3 arasında olduğunu ve standart sapmaların

%3,3'den daha az olduğunu göstermiştir. Bu elementler için üçer dalga boyunda çalışılmıştır. Bunları Fe, Mg, Ca, Mn, Cu ve Zn için sırasıyla 238,204; 279,533; 396,847; 257,610; 324,754; 213,857 olarak belirlemişlerdir. ICP-OES yönteminin, arpadaki eser elementlerin eş zamanlı tayininde duyarlı, hızlı, basit ve doğruluğunun yüksek bir yöntem olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Çinden toplanan 31 propolis numunesinde ve Amerikadan toplanan 1 propolis numunesinde bulunan 15 elementin (Ca, Al, Mg, K, Fe, Na, Zn, Mn, Sr, Cu, Cr, Ni, As, Cd ve Pb) analizleri mikrodalga çözünürleştirme yöntemi kullanarak ICP-OES yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuçlar propoliste ortalama Ca (1449,1 mg/kg), Al (971,2 mg/kg), Mg (525,5 mg/kg), K (1137,4 mg/kg), Fe (1188,4 mg/kg), Na (497,5 mg/kg), Zn (160,8 mg/kg), Mn (36,93 mg/kg), Pb (19,92 mg/kg), Sr (8,70 mg/kg) ve Cd (0,60 mg/kg) element konsantrasyonları tespit edilmiştir. As, Cu, Cr ve Ni elementleri ise birçok örnekte tespit edilememiştir (Gong, Luo, Gong, Gao ve Xie, 2012).

Doğal propolis ürünlerinde majör, minör ve eser elementlerin (Ba, Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, ve Zn) analizleri, yaş ve mikrodalga çözünürleştirme yöntemleri kullanılarak ICP-OES cihazıyla belirlenmiştir. Yaş çözünürleştirme yöntemi ile bulunan artık karbon yüzde değeri 0.269 ± 0.012 olarak bulunurken mikrodalga çözünürleştirme yöntemi ile bu içerik 0.458 ± 0.023 olarak bulunmuştur. Geri kazanım yüzde değerleri %89–%103 arasında hesaplanmıştır (Korn vd., 2013).

Yapılan bir diğer çalışmada, *Melipona quadrifasciata anthidioides* arı (iğnesiz arı) türünden elde edilen jeopropolis numunelerinde mikrodalga çözünürleştirme yöntemi uygulanarak ICP-OES cihazı ile element analizi gerçekleştirilmiştir. 24 elementin (Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Sb, Si, Se, Sn, Sr, V ve Zn) konsantrasyonu belirlenmiştir. İncelenen tüm örneklerde Cd ve Mo' nun LOD ve LOQ değerlerinin altında olduğu tespit edilmiştir (Ferreira vd., 2021)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deney çalışmalarında kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Çalışmada kullanılan kimyasallar;

- Nitrik asit (HNO_3 , %65).
- Ultra saf su.
- ICP-OES için multielement standart solüsyonları.

3.2. Kullanılan Cihazlar

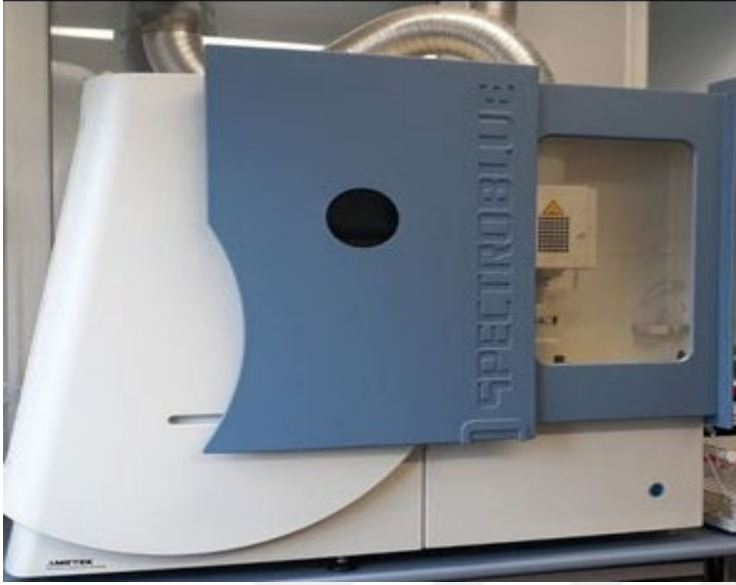
3.2.1. İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES)

Spectro/SpectroBlue sop marka model optik emisyon cihazı (ICP-OES) kullanıldı (Şekil 3.1) İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometre (ICP-OES) cihazının çalışma parametreleri “Çizelge 3.1” de verilmiştir.

Çizelge 3.1. ICP-OES cihazının çalışma koşulları

Parametreler	
Optik sistem	Konfokal optik sistem (optimize Paschen-Runge birikim, ORCA) ve alüminyum yarım kabuk teknoloji
Çözünürlük	165-285 nm aralığında 8 pm (pikometer) ve yüksek dalga boylarında 16 pm
Dedektör	SCD
Sisleştirici	Eş merkezli
Sprey bölmesi	Siklonik
Plazma gücü	1400 W
Pompa hızı	30 rpm
Soğutma akışı	Argon gazı, 12 l/min
Yardımcı akış	Argon gazı, 1 l/min
Sisleştirici akışı	Argon gazı, 1 l/min

Geniş ve doğrusal çalışma aralığı, düşük gözlenebilme sınırı, kimyasal girişimin olmaması, oldukça iyi kesinlik ve doğruluk elde edilmesi, hızlı ve aynı zamanda birçok elementin tayin edilebilmesinden dolayı çalışmamızda ICP-OES cihazı kullanıldı.



Şekil 3.1. ICP-OES cihazı

3.2.2. Mikrodalga Örnek Çözünürleştirme Sistemi

Numunelerin asitte parçalanıp analize hazırlanması için “CEM MARSPress 5” mikrodalga çözme sistemi kullanıldı (Şekil 3.2). Mikrodalga fırın yüksek güçte mikrodalga enerjisi ile çeşitli örneklerin uygun asit karışımları içinde çözülmesini sağlayan ve özellikle AAS ve ICP-OES analizleri için geliştirilmiş bir sistemdir. Cihazın yazılımı yakma programlarını hafızada tutabilecek, 10 basamağa kadar program yapmaya uygun şekilde hazırlanmıştır.

Ayrıca bilgisayar kontrollü olarak da çalışabilmekte ve bir referans kabı içine yerleştirilen basınç ve sıcaklık problemleri yardımıyla örnek kabının iç ve dış sıcaklığı ile basıncın bir grafikte ekrandan takip edilmesine olanak vermektedir. Mikrodalga ile parçalanmalarda işlem çok kısa (~20 dakika) sürdüğü için hız önemli bir avantajdır. Bunun yanı sıra kapalı kap içinde ve yüksek basınçta çalışılabildiği için buharlaşma kayıpları önlenir ve bu nedenle az miktarda reaktifle çalışılabilir. Böylece reaktiflerden gelebilecek kirlenmeler en aza indirgenir.



Şekil 3.2. Mikrodalga fırını

Satın alınan ticari propolis damla numunelerinden 1 mL alınıp 9 mL HNO₃ ilave edilerek mikrodalga çözünürleştirme yöntemi ile çözünürleştirme işlemleri yapılmıştır. Mikrodalga fırınının çalışma parametreleri; 200 °C’de 45 dk yakma işlemine tabi tutulmuş ve örneklerdeki organik bileşikler uzaklaştırılıp, örneklerdeki inorganik bileşiklerin asit çözeltisine geçmesi sağlanmıştır.

3.3. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

1000 ppm stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyon aralıkları sırasıyla Na için 1,25 ppm (en düşük) - 25 ppm (en yüksek), Mg için 5-100 ppm, Ca için 15-300 ppm, K için 15-300 ppm, P, Fe, Cu, B, Mn, Zn, Al, As, Bi, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb, Hg için 25-1000 ppb olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.4. Numunelerin Toplanması

Analizi yapılacak olan ticari propolis damla numunelerinin 2 tanesi Tekirdağ ilindeki süpermarketten ve eczaneden, 1 tanesi de internet ortamından, piyasaya hakim olan ve ekstraksiyon çözücüsü aynı olmayan 3 farklı propolis damla markalarından seçilmiştir (Çizelge 3.2). Propolis damla numuneleri analiz edilecekleri güne kadar oda koşullarında saklanmıştır.

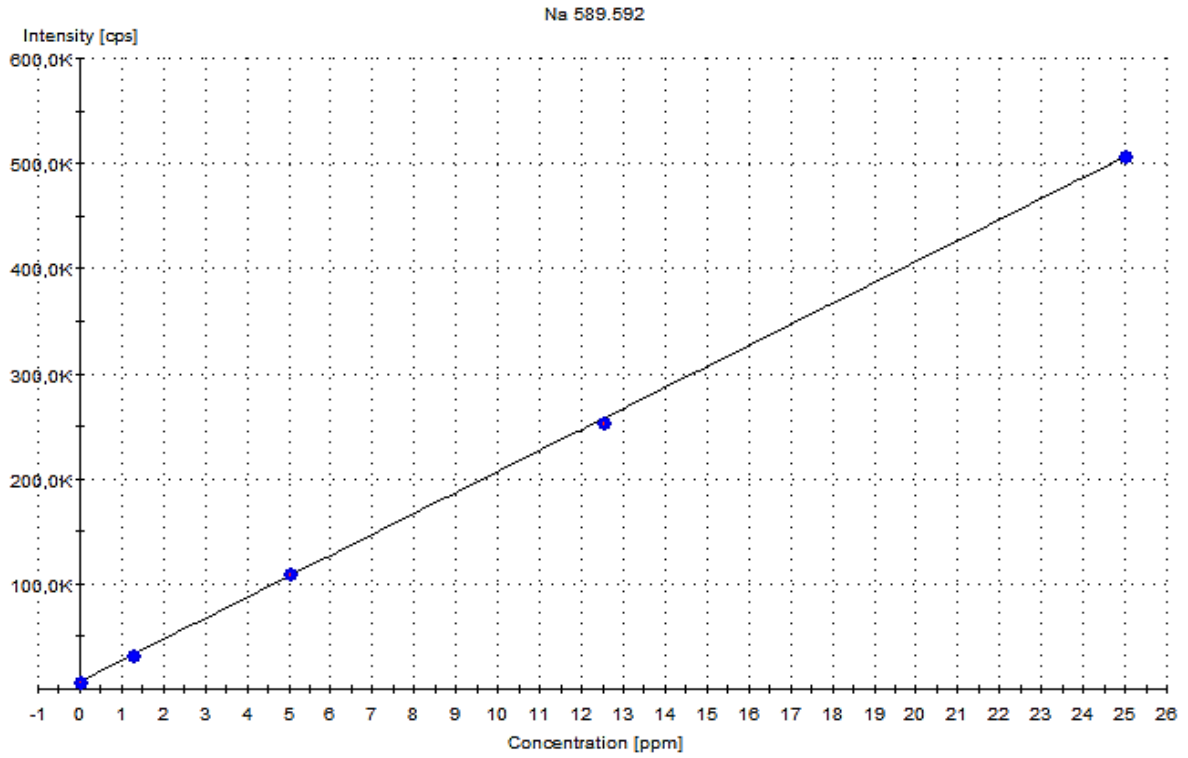
Çizelge 3.2. Temin edilen ticari propolis damla markaları özellikleri

Propolis damla numune markası	Propolis ekstraksiyon çözücüsü	Hacim	Ambalaj türü
A markası	Su	20 mL	Cam şişe
B markası	Glikol ve su	20 mL	Cam şişe
C markası	Etil alkol	30 mL	Cam şişe

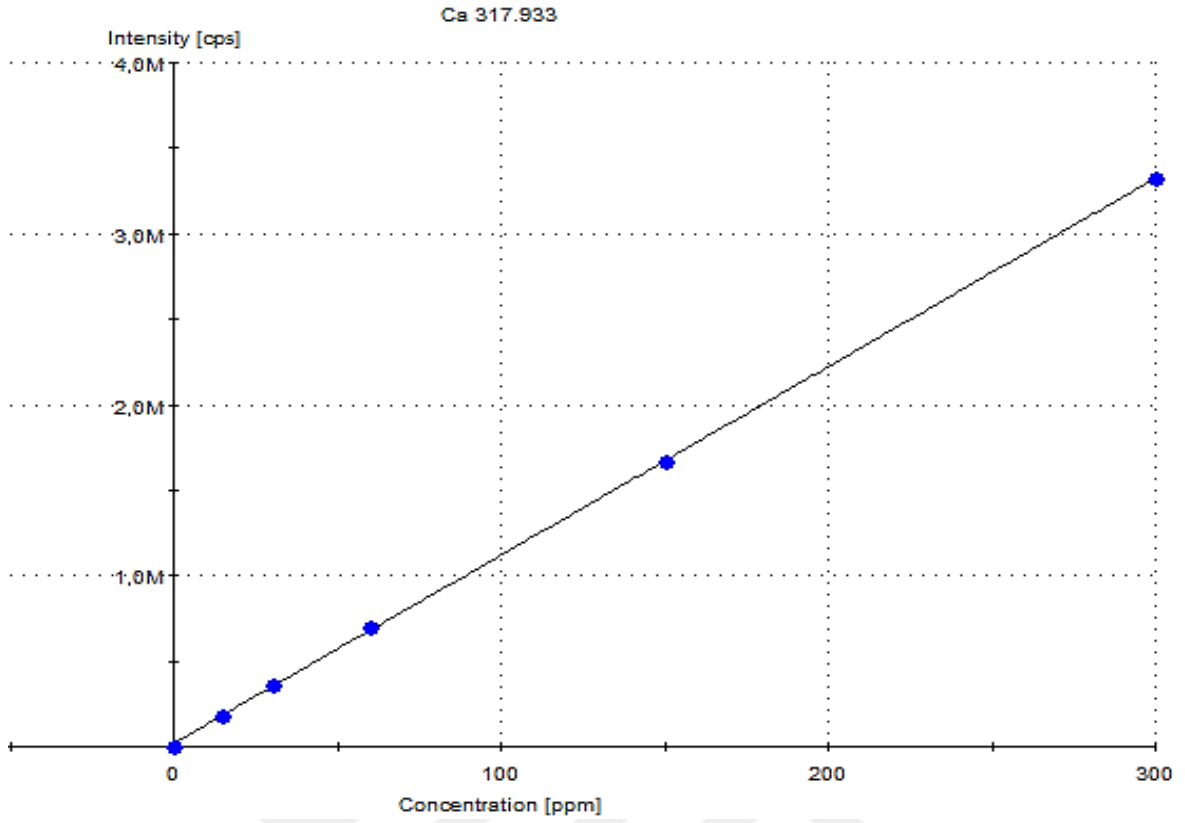
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Çizilmesi

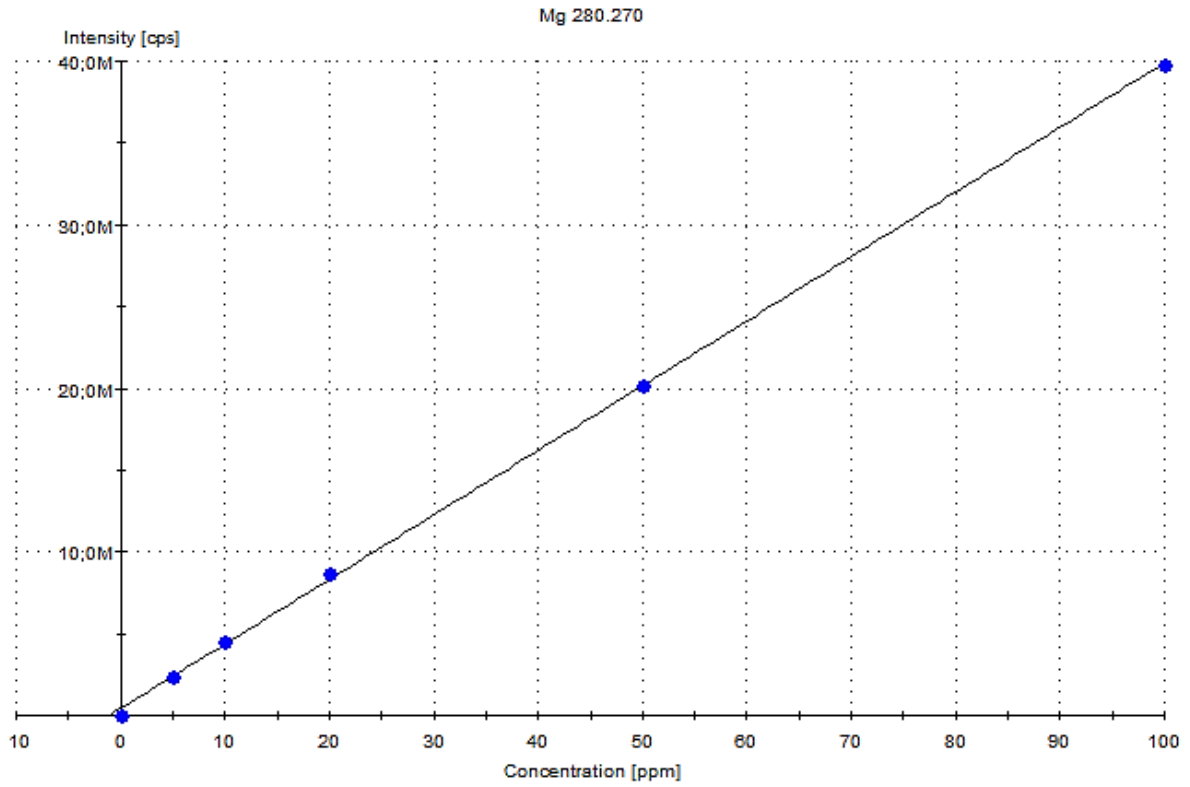
Na, Ca, Mg, K, Al, B, Cu, Fe, Mn, P ve Zn elementlerine ait kalibrasyon grafikleri “Şekil 4.1 – Şekil 4.11” arası verilmiştir.



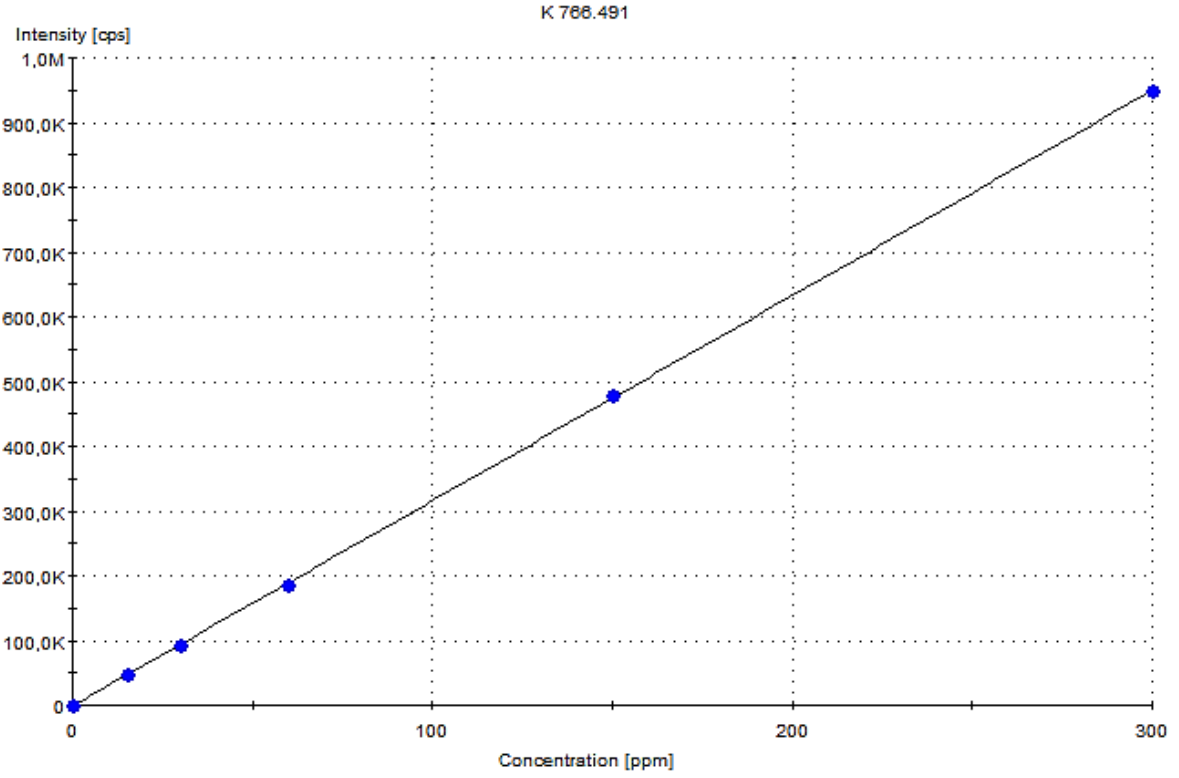
Şekil 4.1. Na elementinin kalibrasyon grafiği (589,592 nm)



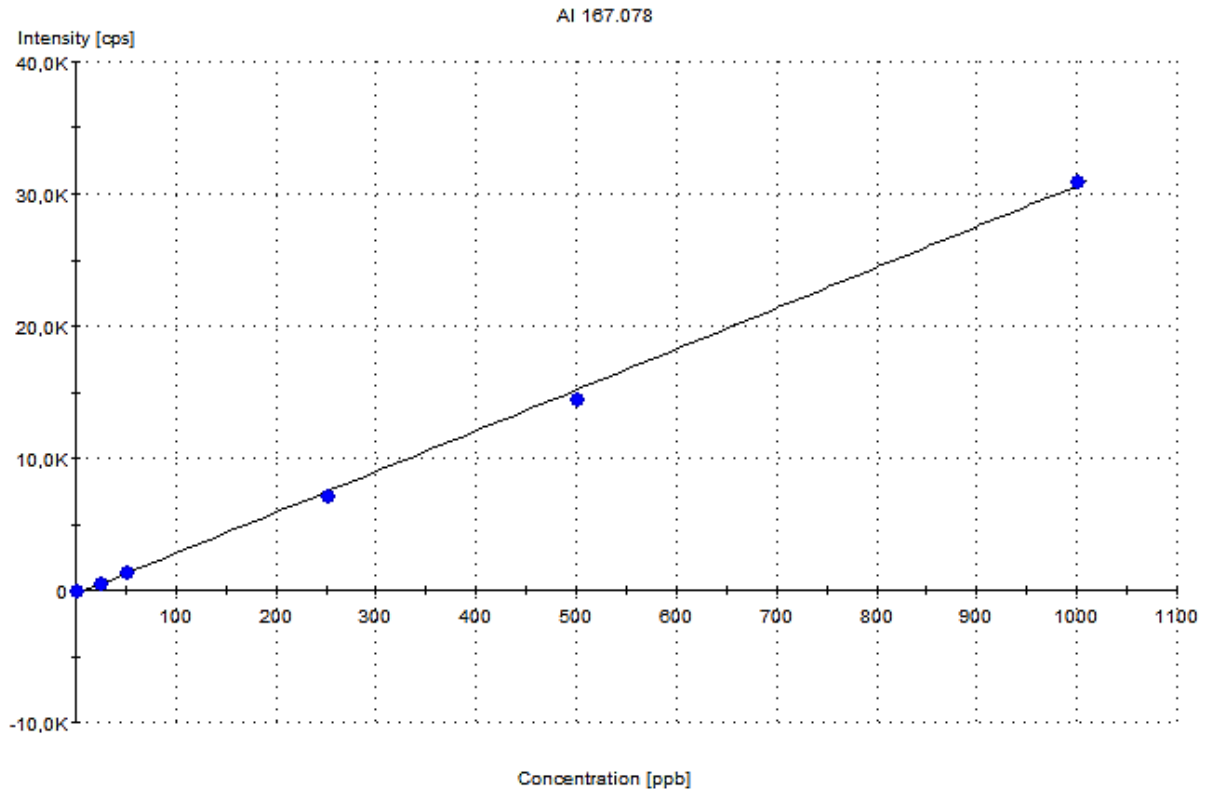
Şekil 4.2. Ca elementinin kalibrasyon grafiği (317,933 nm)



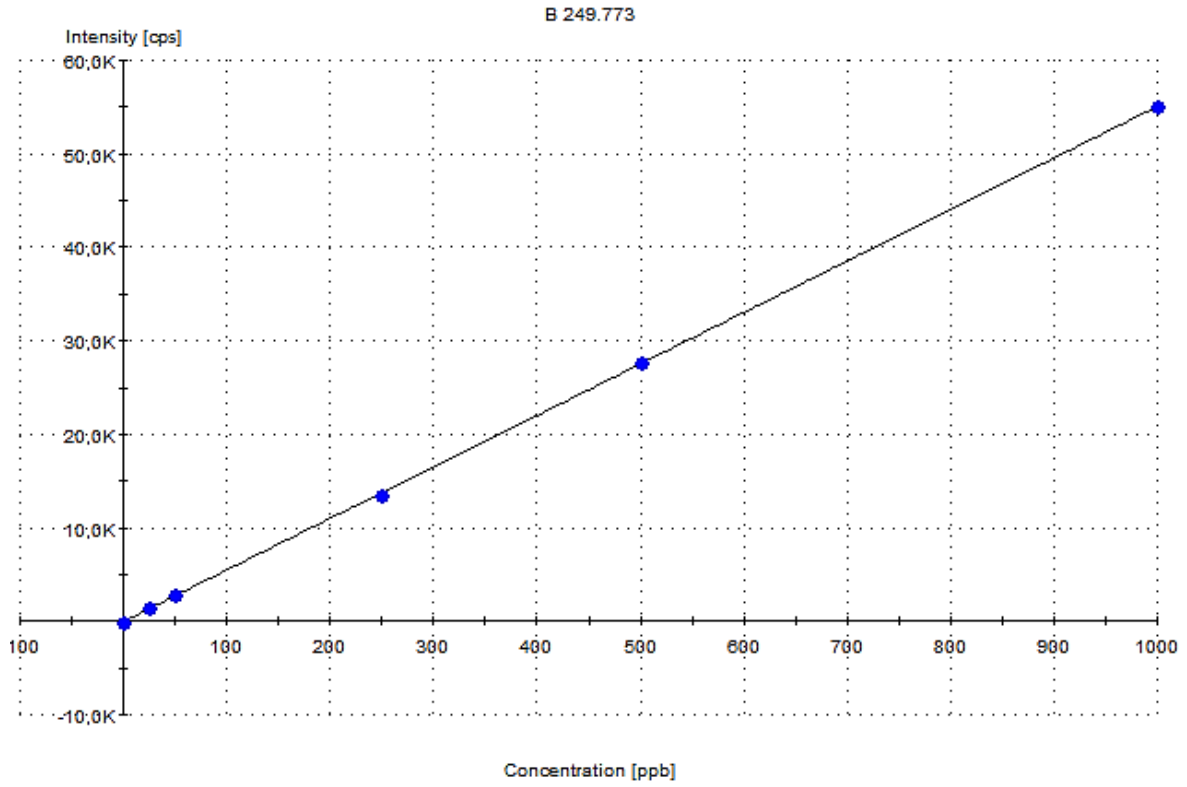
Şekil 4.3. Mg elementinin kalibrasyon grafiği (280,270 nm)



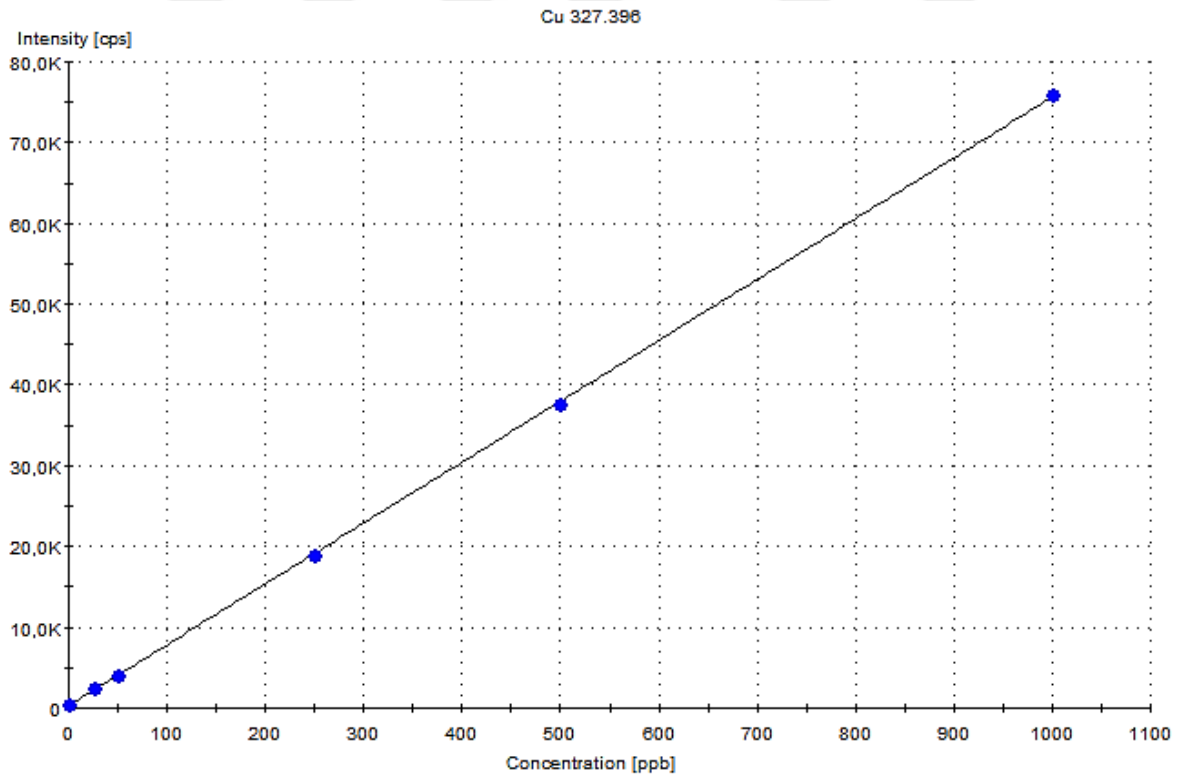
Şekil 4.4. K elementinin kalibrasyon grafiği (766,491 nm)



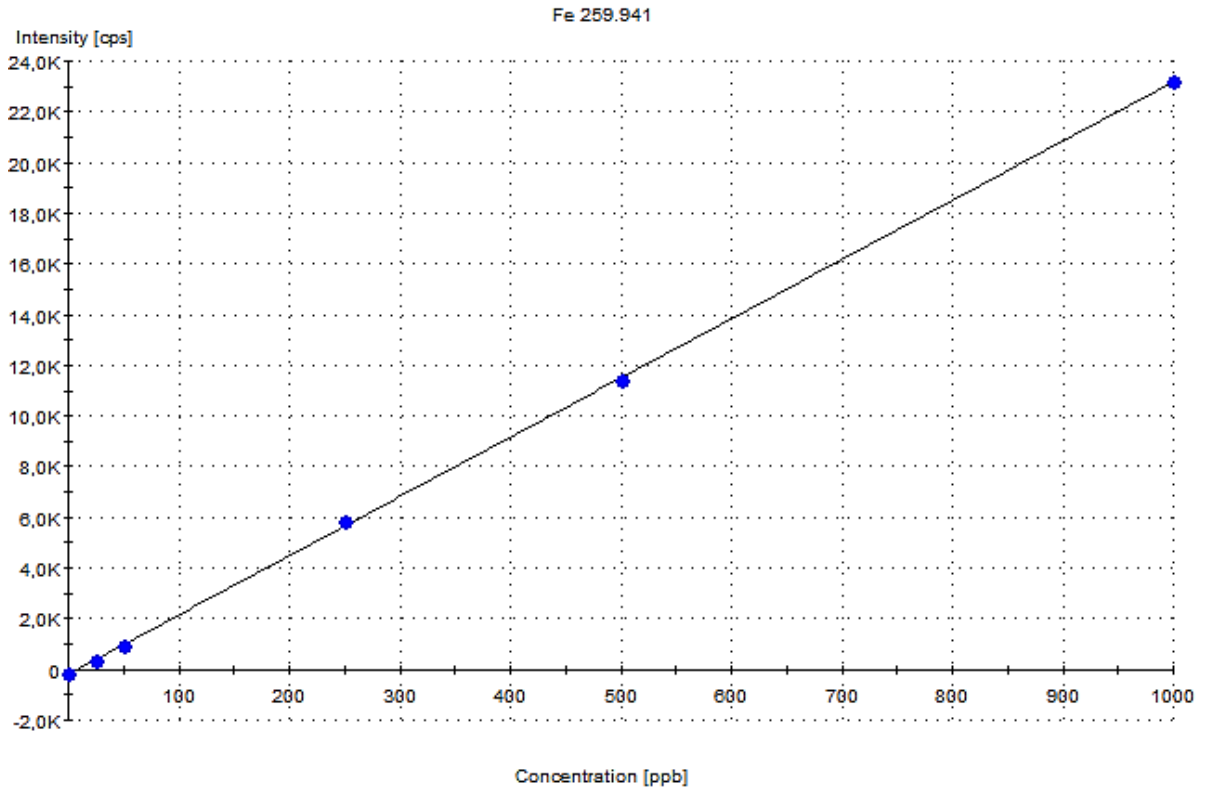
Şekil 4.5. Al elementinin kalibrasyon grafiği (167,078 nm)



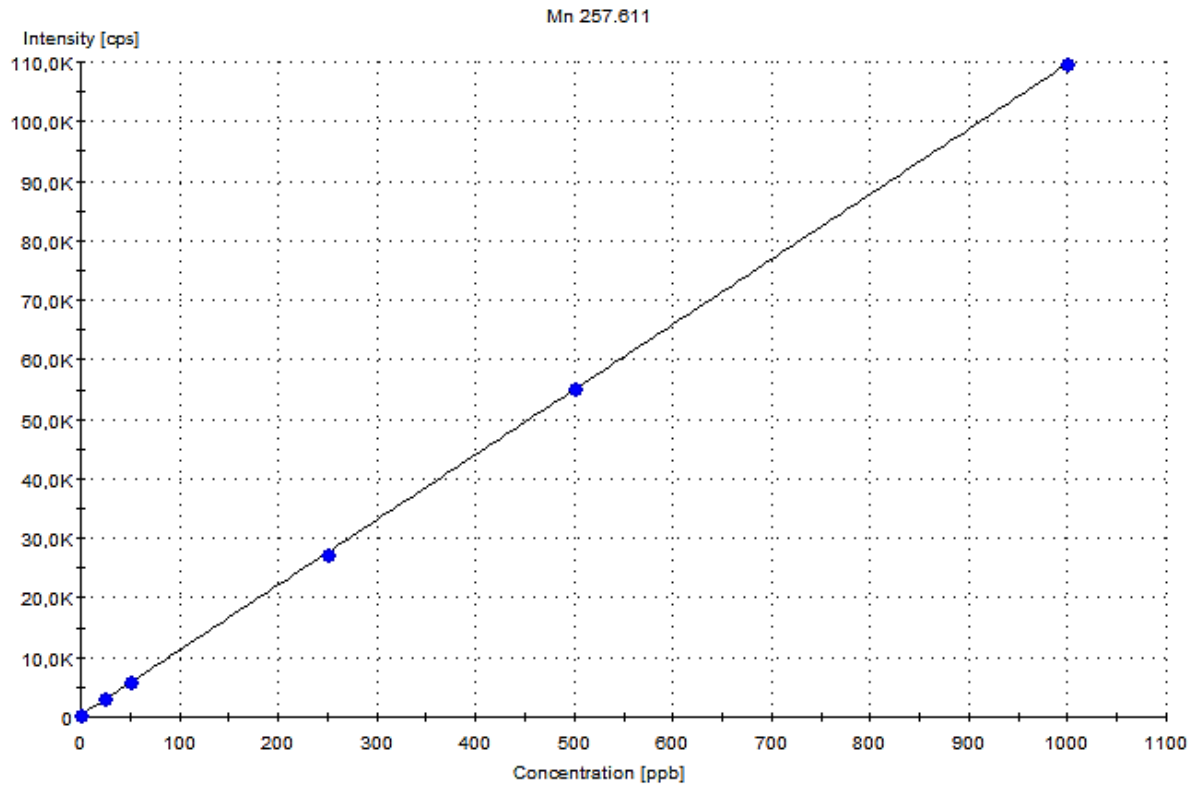
Şekil 4.6. B elementinin kalibrasyon grafiği (249,773 nm)



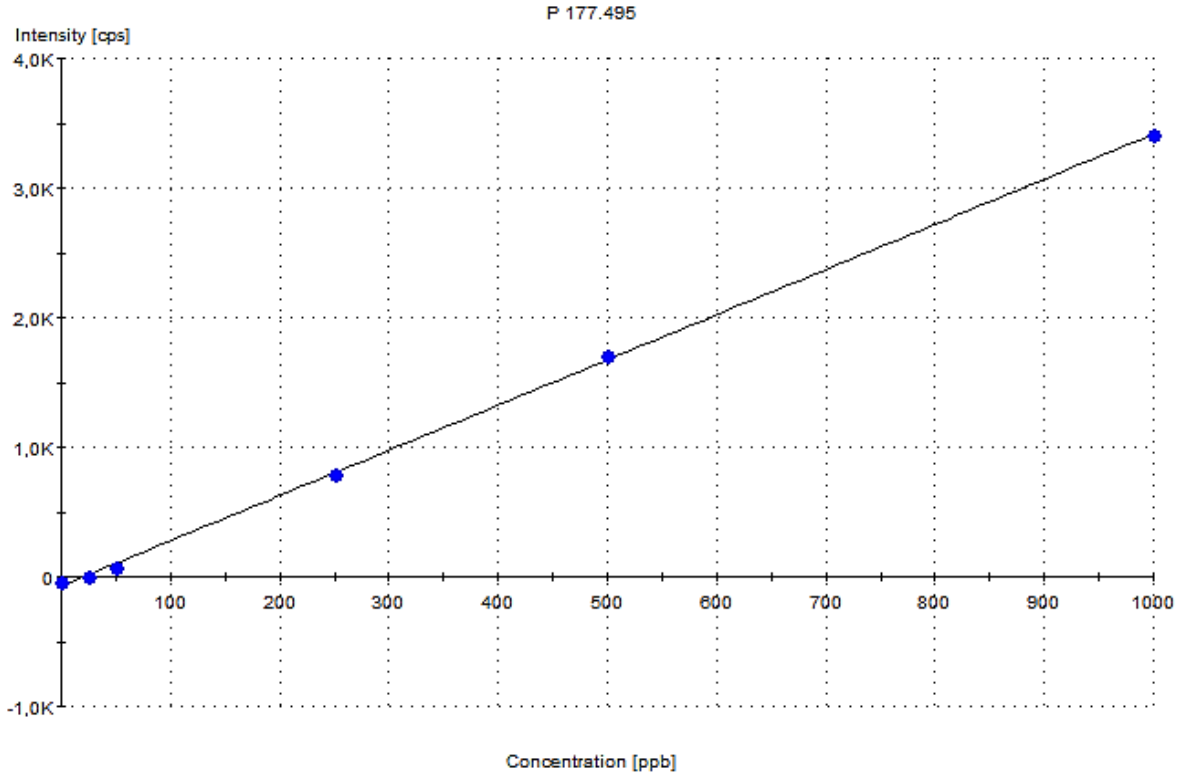
Şekil 4.7. Cu elementinin kalibrasyon grafiği (327,396 nm)



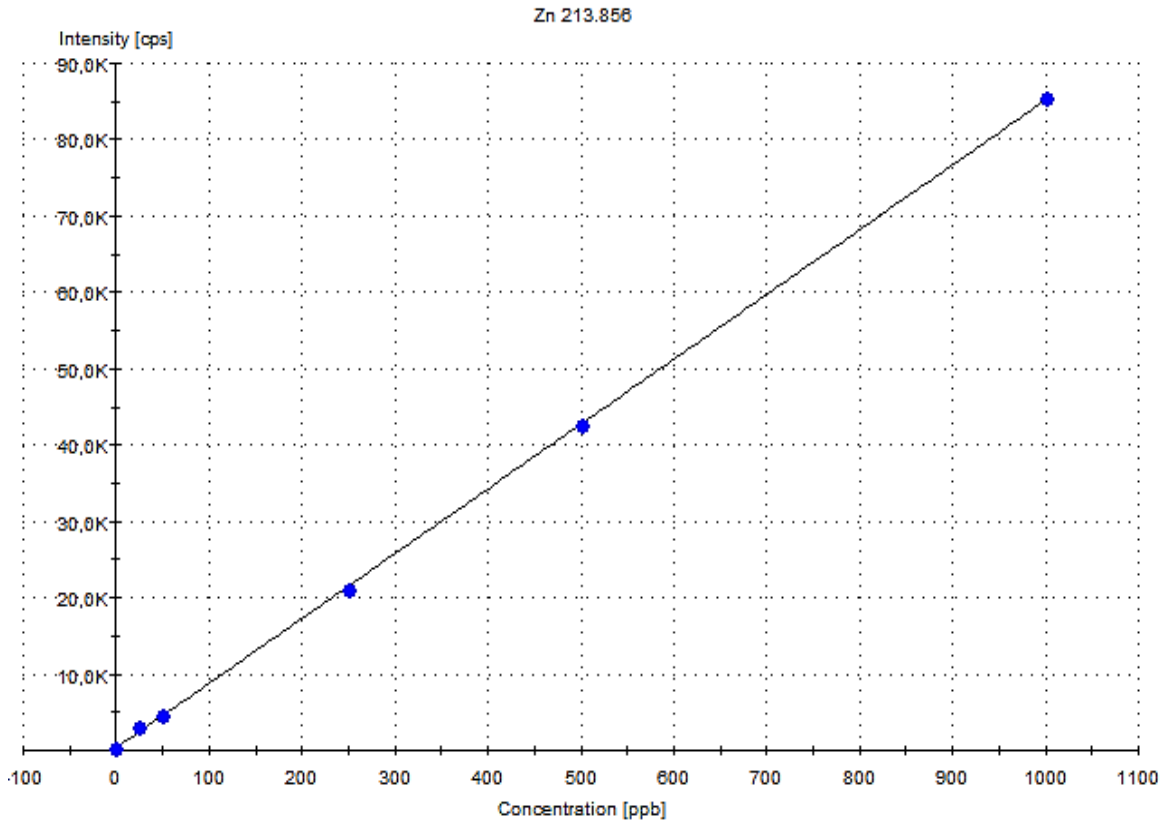
Şekil 4.8. Fe elementinin kalibrasyon grafiği (259,941 nm)



Şekil 4.9. Mn elementinin kalibrasyon grafiği (257,611 nm)



Şekil 4.10. P elementinin kalibrasyon grafiği (177,495 nm)



Şekil 4.11. Zn elementinin kalibrasyon grafiği (213,856 nm)

4.2. Dalga Boyları ve Gözlenebilme Sınırlarının Belirlenmesi

Elementlerin çoğunluğu emisyon yaptıkları 3 farklı dalga boyu referans alınarak aranmıştır. Numunede emisyon piki veren elementlere ait en uygun dalga boyları seçilerek o dalga boyunda analiz yapılmıştır.

Dalga boyunun seçiminde aynı elemente ait emisyonların gözlenebilme sınırı düşük olanı, sinyal/gürültü oranı veya pik şiddeti yüksek olanı tercih edilmiştir. Elementlerin dalga boyları, kullanılan yöntemin gözlenebilme ve tayin sınırları “Çizelge 4.1” de verilmiştir.

Analiz edilen her bir metal için 5 ayrı noktadan regresyon eğrileri çizildikten sonra 3 paralel blank örnek analizi yapılarak bu sonuçlar üzerinden standart sapma değerleri hesaplandı. LOD değeri, standart sapma değerinin 3, LOQ değeri ise standart sapma değerinin 10 ile çarpımı sonucu elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Elementlerin dalga boyları (nm), gözlenebilme ve tayin sınırları

Element	Dalga boyu (nm)	Gözlenebilme sınırı (LOD)	Tayin sınırı (LOQ)
Na	589,592	0,1591 ppm	0,530 ppm
Ca	317,933	0,0193 ppm	0,064 ppm
Mg	280,270	0,0287 ppm	0,096 ppm
K	766,491	0,1292 ppm	0,431 ppm
Al	167,078	0,4838 ppb	1,613 ppb
B	249,773	2,949 ppb	9,830 ppb
Cu	327,396	0,0619 ppb	0,206 ppb
Fe	259,941	0,6769 ppb	2,256 ppb
Mn	257,611	0,6791 ppb	2,264 ppb
P	177,495	7,937 ppb	26,457 ppb
Zn	213,856	0,6433 ppb	2,144 ppb

4.3. Ticari Propolis Numunelerinde Bulunan Element İçerikleri

As, Bi, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb ve Hg elementlerinin numunelerde çok küçük derişimlerde bulunması ve gözlenebilir sınıırının altında olmasından dolayı ICP-OES cihazı ile tayin edilememiştir.

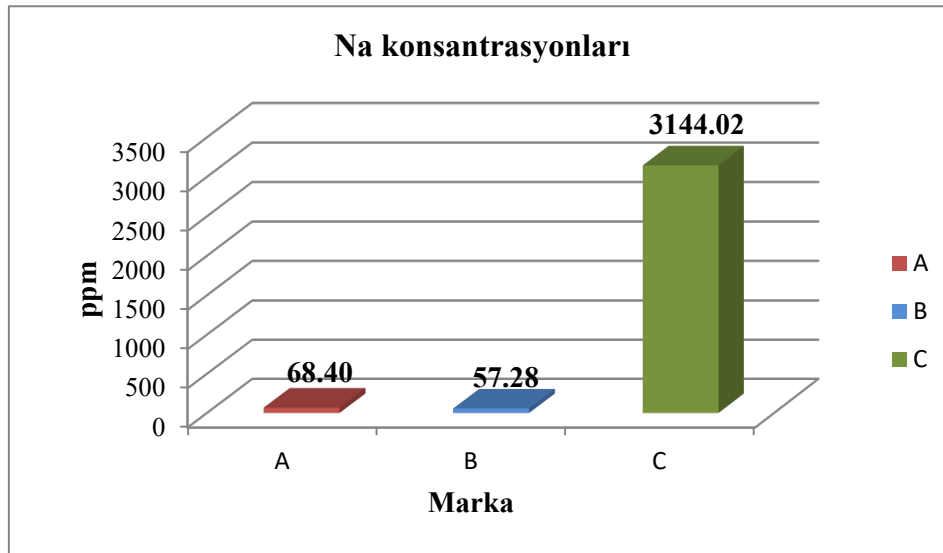
Mikrodalga çözünürleştirilmesi yapılmış ticari propolis damla numunelerinden 3 mL alındı. Balon jodede 20 mL saf su ile tamamlanarak ICP-OES cihazında okutuldu. Elde edilen ortalama değerler (element konsantrasyonları), standart sapmaları ve %RSD (bağıl standart sapma) değerleri aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 4.2 – Çizelge 4.12) gösterilmiştir.

4.3.1. Sodyum (Na) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Na elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.2. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Na elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Na (ppm)	68,40±1,77	57,28±3,34	3144,02±35,76
%RSD	2,58	5,84	1,14



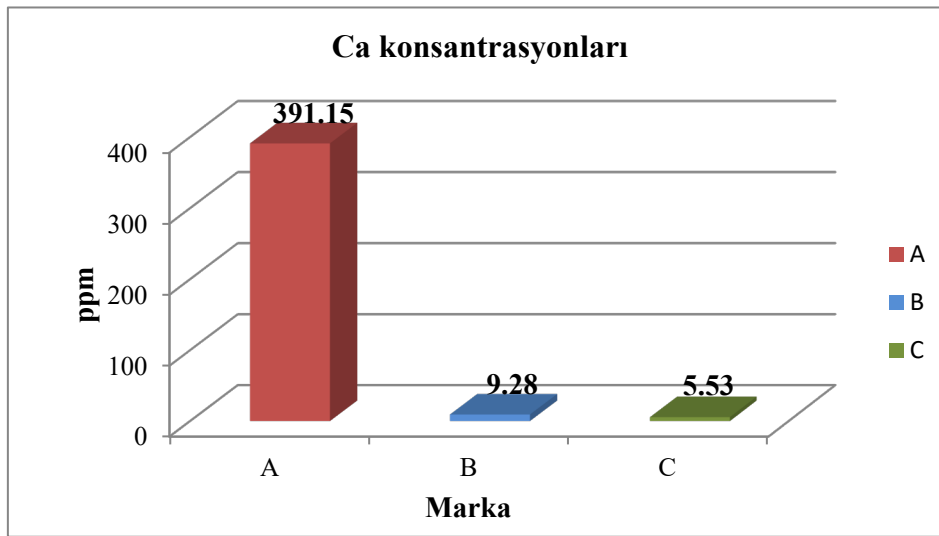
Şekil 4.12. Na elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.2. Kalsiyum (Ca) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Ca elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.3. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Ca elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Ca (ppm)	391,15±2,70	9,28±0,08	5,53±0,20
%RSD	0,69	0,86	3,61



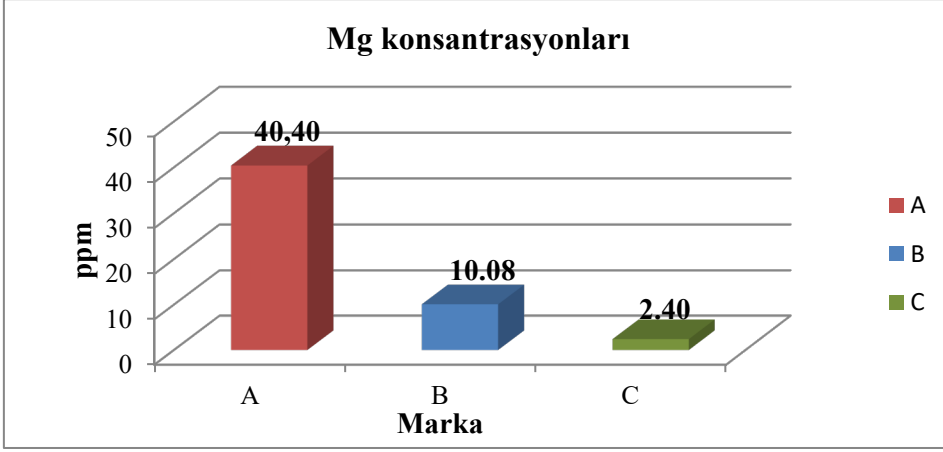
Şekil 4.13. Ca elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.3. Magnezyum (Mg) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Mg elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.4. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Mg elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Mg (ppm)	40,40±1,54	10,08±0,05	2,40±0,07
%RSD	3,81	0,46	2,78



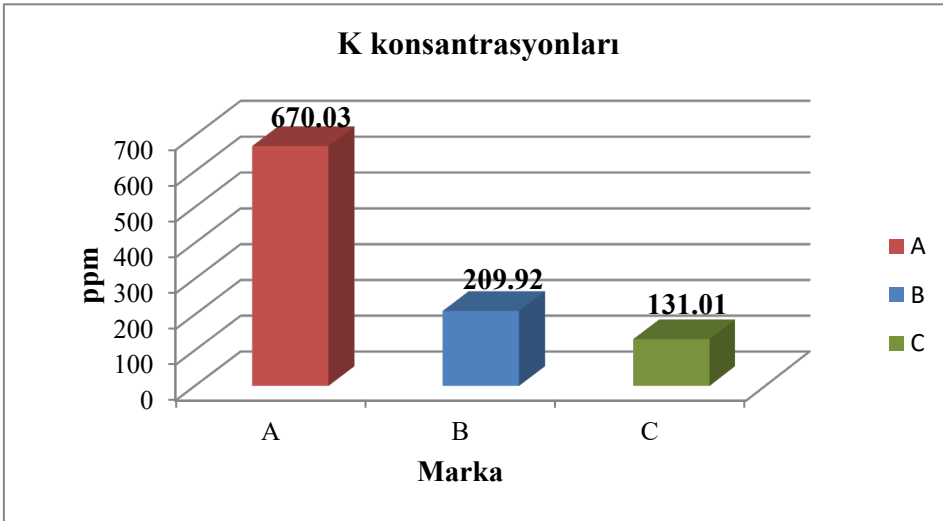
Şekil 4.14. Mg elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.4. Potasyum (K) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan K elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.5. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan K elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
K (ppm)	670,03±4,67	209,92±4,45	131,01±2,22
%RSD	0,70	2,12	1,69



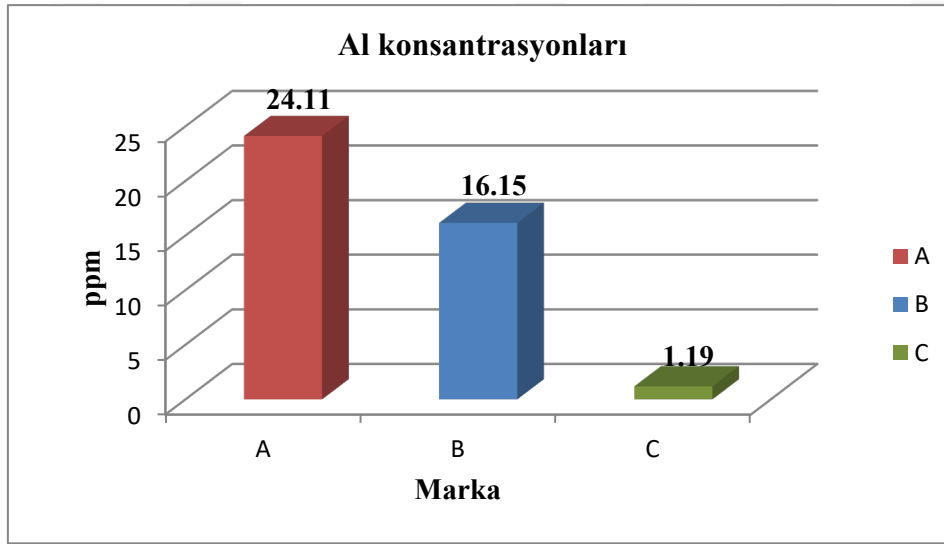
Şekil 4.15. K elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.5. Alüminyum (Al) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Al elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.6. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Al elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Al (ppm)	24,11±0,77	16,15±0,10	1,19±0,03
%RSD	3,21	0,61	2,50



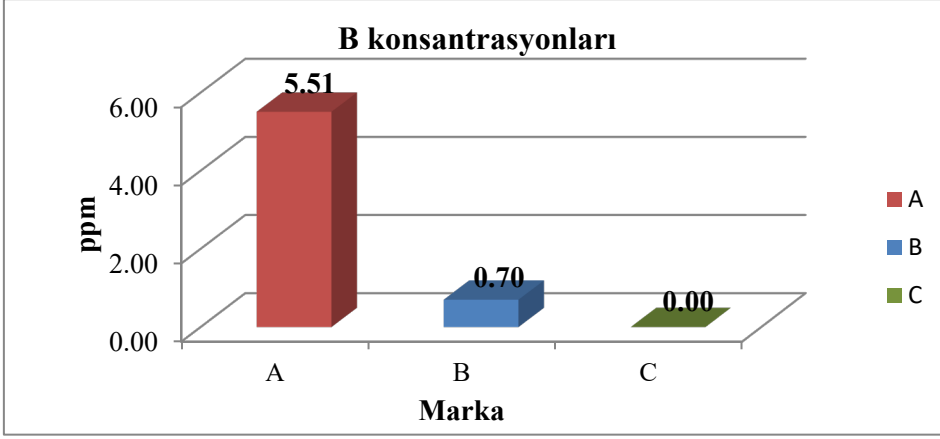
Şekil 4.16. Al elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.6. Bor (B) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan B elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir. C markasında B elementine rastlanmamıştır.

Çizelge 4.7. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan B elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
B (ppm)	5,51±0,12	0,70±0,03	0,00±0,00
%RSD	2,27	4,04	0,00



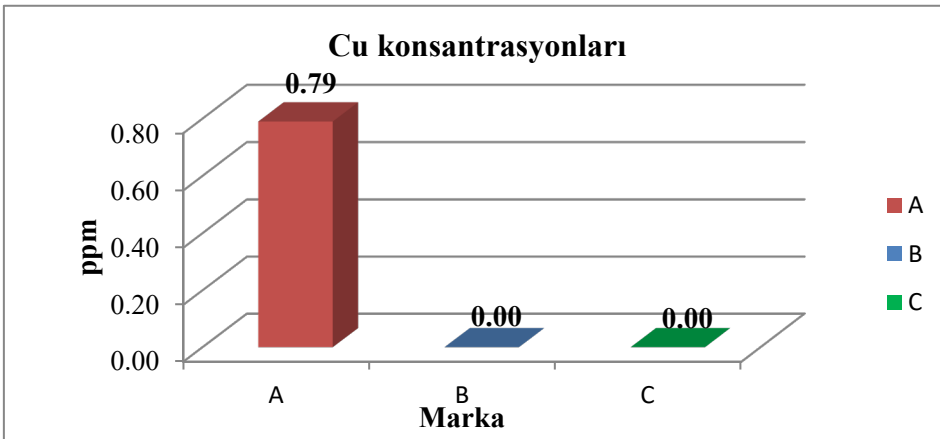
Şekil 4.17. B elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.7. Bakır (Cu) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Cu elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir. B ve C markalarında Cu elementine rastlanmamıştır.

Çizelge 4.8. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Cu elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Cu (ppm)	0,79±0,04	0,00±0,00	0,00±0,00
%RSD	5,22	0,00	0,00



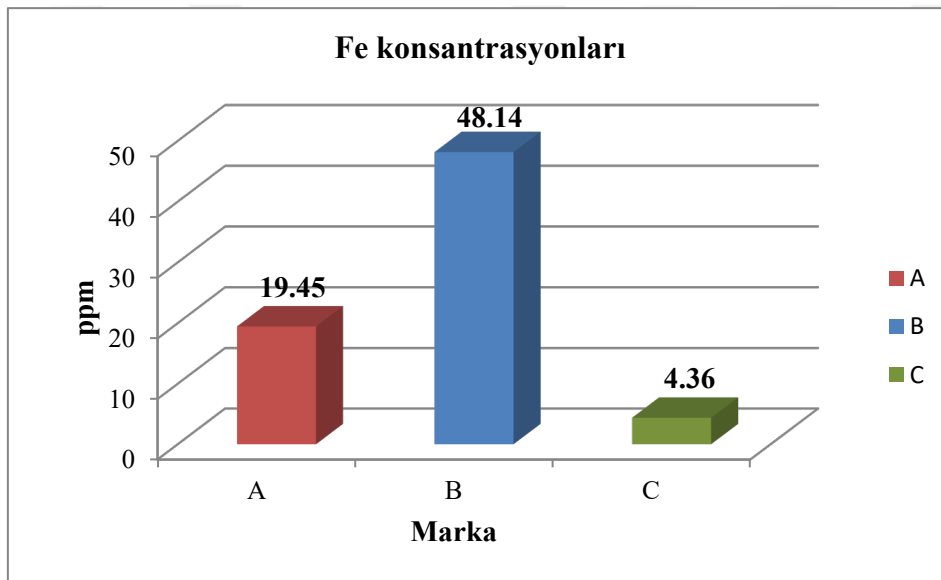
Şekil 4.18. Cu elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.8. Demir (Fe) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Fe elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.9. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Fe elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Fe (ppm)	19,45±0,33	48,14±0,18	4,36±0,19
%RSD	1,70	0,37	4,38



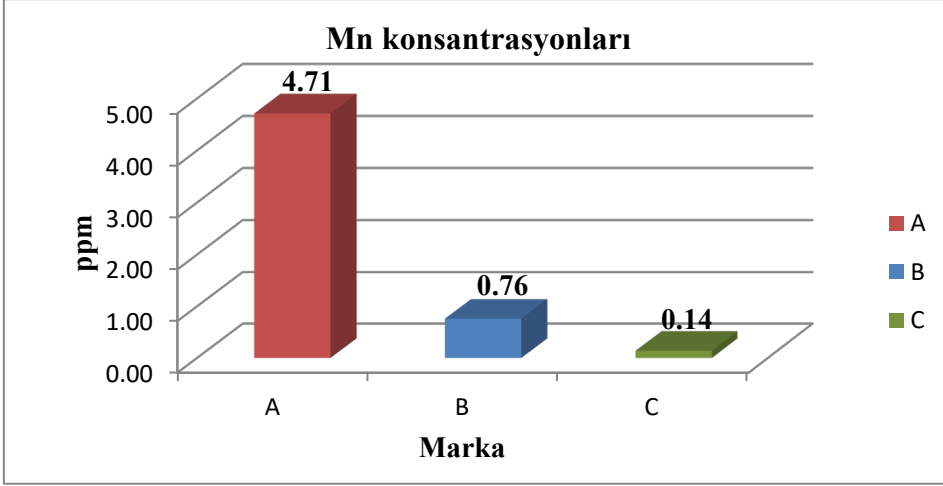
Şekil 4.19. Fe elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.9. Manganez (Mn) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Mn elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.10. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Mn elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Mn (ppm)	4,71±0,05	0,76±0,02	0,14±0,01
%RSD	1,09	2,25	6,51



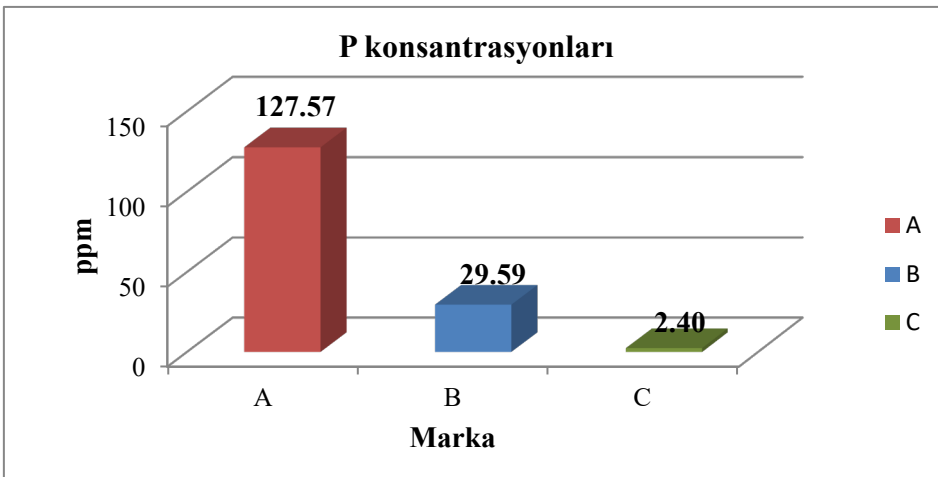
Şekil 4.20. Mn elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.10. Fosfor (P) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan P elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.11. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan P elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
P (ppm)	127,57±1,30	29,59±0,37	2,40±0,25
%RSD	1,02	1,26	10,32



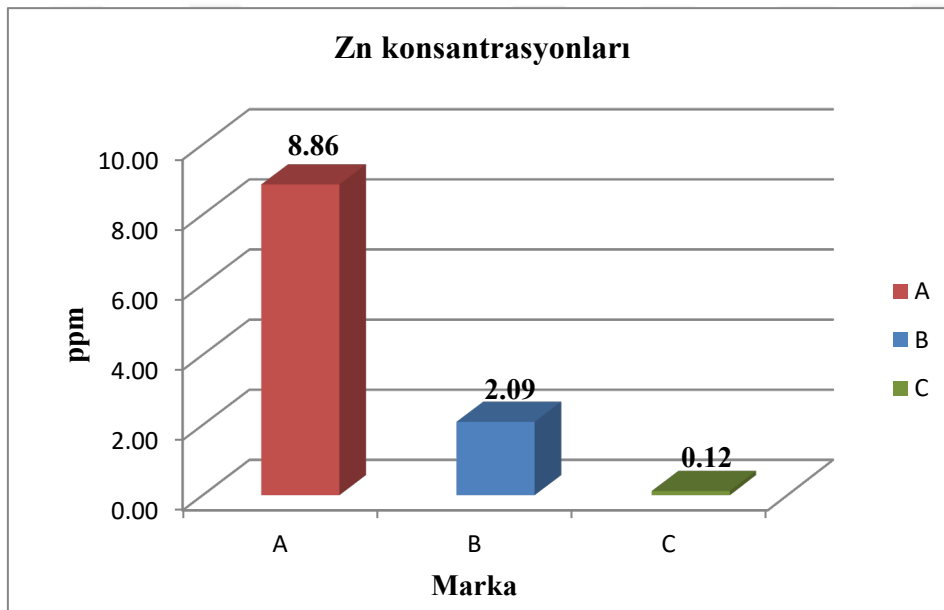
Şekil 4.21. P elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.3.11. Çinko (Zn) Elementi

Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Zn elementi konsantrasyonu sonuçları standart sapması ve bağıl standart sapması ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.12. Ticari propolis damla numunelerinde bulunan Zn elementi konsantrasyonları

	A markası	B markası	C markası
Zn (ppm)	8,86±0,16	2,09±0,01	0,12±0,01
%RSD	1,76	0,65	5,05



Şekil 4.22. Zn elementi konsantrasyonlarının karşılaştırılması

4.4. Geri Kazanım

Analitik yöntemler ile her zaman örnekteki analit miktarı tam olarak tayin edilemeyebilir. Geri Kazanım (formül 4.1), kullanılan yöntemin analit miktarının tamamını tespit edebilme etkinliğini ifade eden bir büyüklüktür. Geri kazanım üç şekilde yapılabilmektedir:

- Numuneye bilinen miktarda analit eklenerek.
- Sertifikalı referans malzeme kullanılarak.
- Referans yöntemle analiz yapıp incelenerek.

$$\%Gerikazanım = (Cu/Cs) \times 100$$

(4.1)

Standart katma yöntemi ile geri kazanım yapıldı. Na, Ca, Mg ve K elementleri için 300 ppm'lik hazırlanan stok çözeltiden 4 mL alındı. 3 mL mikrodalga çözünürleştirilmesi yapılmış numuneye eklendi. Balon jodede 20 mL saf su ile tamamlandı.

Al, B, Cu, Fe, Mn, P, Zn, As, Bi, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb ve Hg elementleri için 10 ppm'lik hazırlanan stok çözeltiden 1 mL alındı. 3 mL mikrodalga çözünürleştirilmesi yapılmış numuneye eklendi. Balon jodede 20 mL saf su ile tamamlandı. Elementlerin %geri kazanım değerleri "Çizelge 4.13" de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Ticari propolis numunelerindeki elementlerin %geri kazanım değerleri

Element	A markası	B markası	C markası
Na	95,6	97,7	100,9
Ca	87,75	89,44	89,31
Mg	102,3	104,05	94,06
K	69,67	97,39	92,61
Al	91,61	91,41	88,24
B	101,94	101,84	102,2
Cu	101,22	101,92	97,52
Fe	94,15	98,6	90,99
Mn	96,05	95,23	89,65
P	96,36	100,1	98,8
Zn	98,78	97,52	91,44

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

İnsan sağlığı üzerinde ağır metallerin pek çok olumsuz etkileri vardır. Havada, gıdalarda ve suda ağır metal analizleri için kullanılan pek çok yöntem vardır. Ağır metallerin analizlerinin doğru ve duyarlı olarak yapılabilmesi için kullanılacak analiz yönteminin iyi seçilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, tayin yöntemi olarak ICP-OES seçilmiştir.

Örneklerin çözünürleştirilmesinde kapalı sistem mikrodalga fırın kullanılarak çözünürleştirme işleminin tam olarak gerçekleştirilmesi ve buharlaşma kayıplarının yok edilmesi sağlanmıştır.

Propolis insan sağlığına faydaları bakımından oldukça faydalı bir üründür. Antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antienflamatuar içeriğinin yanı sıra pek çok farklı rahatsızlık için de önleyici ve tedavi edici özelliği olduğu bilinir. Ayrıca propolis güçlü bir antioksidandır ve bağışıklık direncini desteklemeye yardımcı olur. Bu nedenle tükettiğimiz gıdaların metal içeriklerinin belirlenmesi insan sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Çalışmada ticari propolis damla numunelerinde 11 elementin (Na, Ca, Mg, K, Al, B, Cu, Fe, Mn, P ve Zn) konsantrasyonları ICP-OES ile belirlenmiştir. 10 elementin (As, Bi, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb ve Hg) elementlerinin numunelerde çok küçük derişimlerde bulunması ve gözlenebilme sınırının altında olmasından dolayı ICP-OES cihazı ile tayin edilememiştir.

Na, Ca, Mg, K, Al, B, Cu, Fe, Mn, P, Zn, As, Bi, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb ve Hg elementlerinin dalga boyları sırasıyla 589,592; 317,933; 280,270; 766,491; 167,078; 249,773; 327,396; 259,941; 257,611; 177,495; 213,856; 189,042; 223,061; 228,502; 228,616; 267,716; 202,095; 231,604; 220,353; 206,833; 194,227 belirlenmiştir.

Bu tezde kullanılan damla formunda sıvı propolis markaları etik kurallar gereği açık bir şekilde verilmemiştir. A, B ve C markası şeklinde belirtilmiştir. Üç markanın da ambalajında takviye edici gıda olduğu belirtilmiştir. Ayrıca mer'i mevzuatta yapılan araştırma sonucunda propolis ve arı sütü gibi ürünlerin henüz bir Türk Gıda Kodeksi tebliğinin olmadığı görülmüştür.

Na elementi analizi sonuçlarına göre en yüksek miktara (konsantrasyon) sahip numune 3144,02 ppm (mg/L) ile etil alkol ile ekstrakte edilen C markasıdır. En düşük miktar ise 57,28 ppm (mg/L) ile glisikol ve su ile ekstrakte edilen B markasıdır. Su ile ekstrakte edilen A

markasında Na miktarı da 68,40 ppm (mg/L)'dir. Na elementinin geri kazanım değerleri %95,6-%100,9 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım yüzdesi en yüksek C markasında, en düşük A markasında bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliğinin (tebliğ no:2013/49, Resmi Gazete tarihi: 16.08.2013, Resmi Gazete sayısı: 28737 <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/08/20130816-16.htm>) Ek-3 “Takviye Edici Gıdalarda Kullanılan Vitamin ve Minerallerin Günlük Maksimum Limitleri” kısmındaki çizelgede sodyum için günlük maksimum limit belirlenmemiştir.

Ca elementi analizi sonuçları ele alındığında 391,15 mg/L miktar ile A markası en yüksek Ca miktarına sahip örnektir. En düşük miktar ise 5,53 mg/L ile C markasındadır. Ca elementinin geri kazanım oranları %87,75 ile %89,44 arasındadır. Geri kazanım yüzdesi en yüksek B markasında bulunurken en düşük A markasında bulunmuştur. Mezkur tebliğin Ek-3 kısmına göre takviye edici gıdalarda kullanılan Ca elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 1500 mg, 4-10 yaş arası 750 mg olarak belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda propolis numunelerinden elde edilen Ca elementi konsantrasyon miktarlarının, tebliğde belirtilen takviye edici gıdalarda kullanılan minerallerin günlük maksimum limitlerinden düşük olduğu görülmüştür.

Mg miktarı analizlerinde en yüksek Mg miktarına sahip numune 40,40 mg/L ile A markasıdır. En düşük Mg miktarı ise 2,40 mg/L ile C markasındadır. Mg elementinin geri kazanım oranları %94,06 ile %104,05 arasındadır. Geri kazanım yüzdesi en yüksek B markasında bulunurken en düşük C markasında bulunmuştur. Anılan tebliğin Ek-3 bölümünde takviye edici gıdalarda kullanılan Mg elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 250 mg olarak, 4-10 yaş arası 125 mg belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda propolis numunelerinden elde edilen Mg elementi konsantrasyon miktarlarının, tebliğde belirtilen takviye edici gıdalarda kullanılan minerallerin günlük maksimum limitlerinden düşük olduğu görülmüştür.

K elementi analiz sonuçlarına göre en yüksek miktara sahip numune 670,03 mg/L ile A markasıdır. En düşük K miktarı ise 131,01 mg/L ile C markasındadır. K elementinin geri kazanım oranları %69,67-%97,39 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım yüzdesi en yüksek B markasında bulunurken en düşük A markasında bulunmuştur. Anılan tebliğe göre takviye edici gıdalarda kullanılan K elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 1500

mg, 4-10 yaş arası 750 mg olarak belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda propolis numunelerinden elde edilen K elementi konsantrasyon miktarlarının, tebliğde belirtilen takviye edici gıdalarda kullanılan minerallerin günlük maksimum limitlerinden düşük olduğu görülmüştür.

Al miktarı analizlerinde en yüksek Al miktarına sahip numune 24,11 mg/L ile A markasıdır. En düşük Al miktarı ise 1,19 mg/L ile C markasıdır. Al elementinin geri kazanım oranları %88,24 ile %91,61 arasındadır. Geri kazanım yüzdesi en yüksek A markasıdır. Anılan tebliğde Al elementi ile ilgili bir sınırlama ya da düzenleme yapılmamıştır.

B elementi analizlerinde en yüksek miktara sahip numune 5,51 mg/L ile A markasıdır. B markasındaki bor elementi miktarı 0,70 mg/L iken C markasında bor elementine rastlanmamıştır. B elementinin geri kazanım oranları %101,84-%102,2 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım oranları birbirine yakın olup en yüksek C markasında bulunmuştur. Anılan tebliğe göre takviye edici gıdalarda kullanılan B elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 8 mg, 4-10 yaş arası 4 mg olarak belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda propolis numunelerinden elde edilen B elementi konsantrasyon miktarlarının, tebliğde belirtilen takviye edici gıdalarda kullanılan minerallerin 11 yaş ve üzeri için belirlenen günlük maksimum limitlerinden düşük olduğu görülmüştür. Sadece A markasındaki (5,51 mg/L) B elementi miktarının 4-10 yaş arası için belirlenen limitten yüksek olduğu görülmüştür.

Cu elementi analiz sonuçlarına göre sadece A markasında 0,79 mg/L (790 µg/L) Cu miktarı tespit edilmiştir. Cu elementinin geri kazanım oranları %97,52-%101,92 aralığında bulunmuştur. A ve B markasının geri kazanım yüzdeleri birbirine çok yakın olup en yüksek geri kazanım yüzdesi B markasında, en düşük C markasında bulunmuştur. Anılan tebliğe göre takviye edici gıdalarda kullanılan Cu elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 2000 µg, 4-10 yaş arası 1000 µg olarak belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda A markası numunesinden elde edilen Cu elementi konsantrasyon miktarının, tebliğde belirtilen takviye edici gıdalarda kullanılan minerallerin günlük maksimum limitlerinden düşük olduğu görülmüştür.

Fe elementi analizlerinde en yüksek miktara sahip numune 48,14 mg/L ile B markasıdır. En düşük Fe miktarı ise 4,36 mg/L ile C markasıdır. Fe elementinin geri

kazanım oranları %90,99-%98,6 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım yüzdesi en yüksek B markasında bulunurken en düşük C markasında bulunmuştur. Anılan tebliğe göre takviye edici gıdalarda kullanılan Fe elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 17 mg, 4-10 yaş arası 8,5 mg olarak belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda A (19,45 mg/L) ve B (48.14 mg/L) markası numunelerinden elde edilen Fe elementi konsantrasyon miktarlarının tebliğde belirtilen günlük maksimum limitlerden yüksek olduğu görülmüştür.

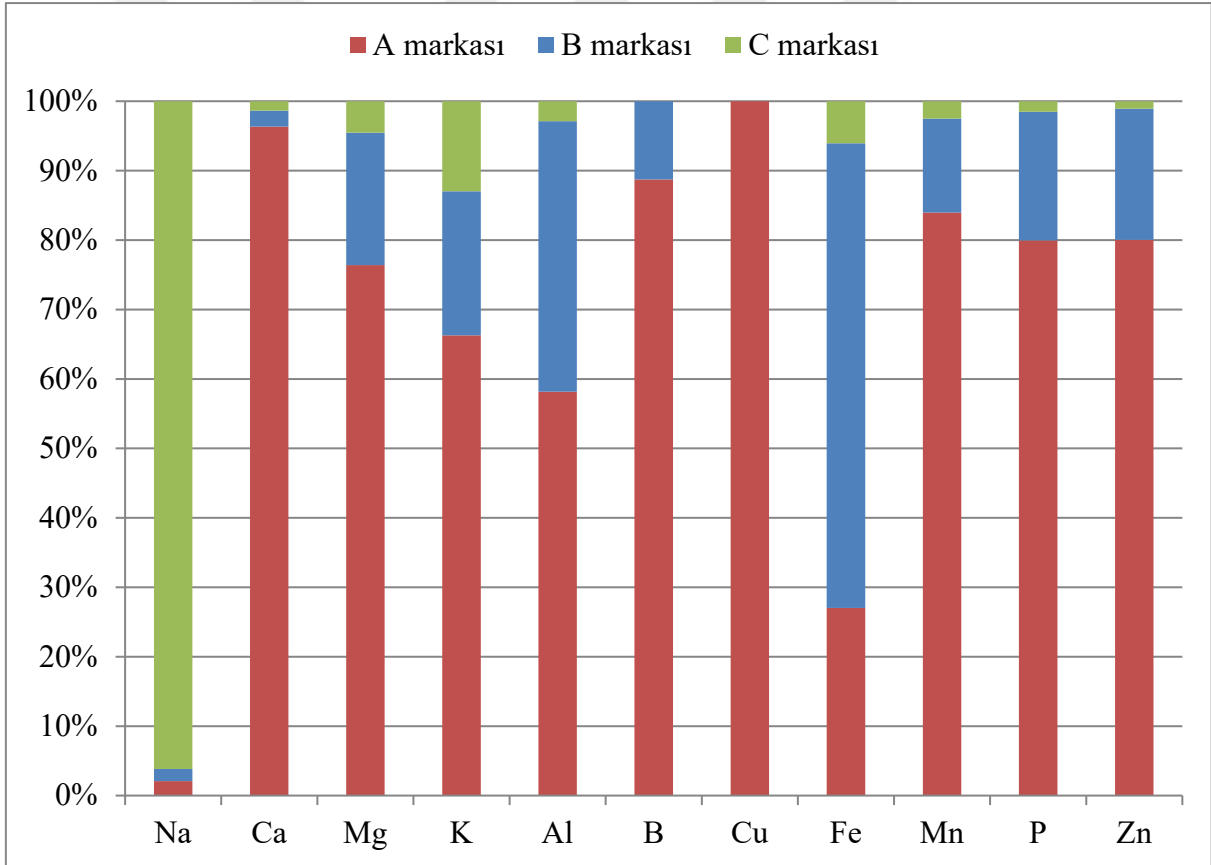
Mn elementi analizlerinde en yüksek miktara sahip numune 4,71 mg/L ile A markasıdır. En düşük Mn miktarı ise 0,14 mg/L ile C markasıdır. B markasındaki miktarı 0,76 mg/L olarak bulunmuştur. Mn elementinin geri kazanım oranları %89,65-%96,05 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım yüzdesi en yüksek A markasında bulunurken en düşük C markasında bulunmuştur. Anılan tebliğe göre takviye edici gıdalarda kullanılan Mn elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 2 mg, 4-10 yaş arası 1 mg olarak belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda sadece A markası numunesinden elde edilen Mn elementi konsantrasyon miktarının (4,71 mg/L), tebliğde belirtilen takviye edici gıdalarda kullanılan minerallerin günlük maksimum limitlerinden yüksek olduğu görülmüştür.

P elementi analizlerinde en yüksek miktara sahip numune 127,57 mg/L ile A markasıdır. En düşük P miktarı ise 2,40 mg/L ile C markasıdır. P elementinin geri kazanım oranları %96,36-%100,1 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım yüzdesi en yüksek B markasında bulunurken en düşük A markasında bulunmuştur. Anılan tebliğe göre takviye edici gıdalarda kullanılan P elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 700 mg, 4-10 yaş arası 350 mg olarak belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda propolis numunelerinden elde edilen P elementi konsantrasyon miktarlarının, tebliğde belirtilen takviye edici gıdalarda kullanılan minerallerin günlük maksimum limitlerinden düşük olduğu görülmüştür.

Zn elementi analizlerinde en yüksek miktara sahip numune 8,86 mg/L ile A markasıdır. En düşük Zn miktarı ise 0,12 mg/L ile C markasıdır. B markasındaki miktarı 2,09 mg/L olarak bulunmuştur. Zn elementinin geri kazanım oranları %91,44-%98,78 aralığında bulunmuştur. Geri kazanım yüzdesi en yüksek A markasında bulunurken en düşük C markasında bulunmuştur. Anılan tebliğe göre takviye edici gıdalarda kullanılan Zn elementinin günlük maksimum limiti 11 yaş ve üzeri için 15 mg, 4-10 yaş arası 7,5 mg olarak

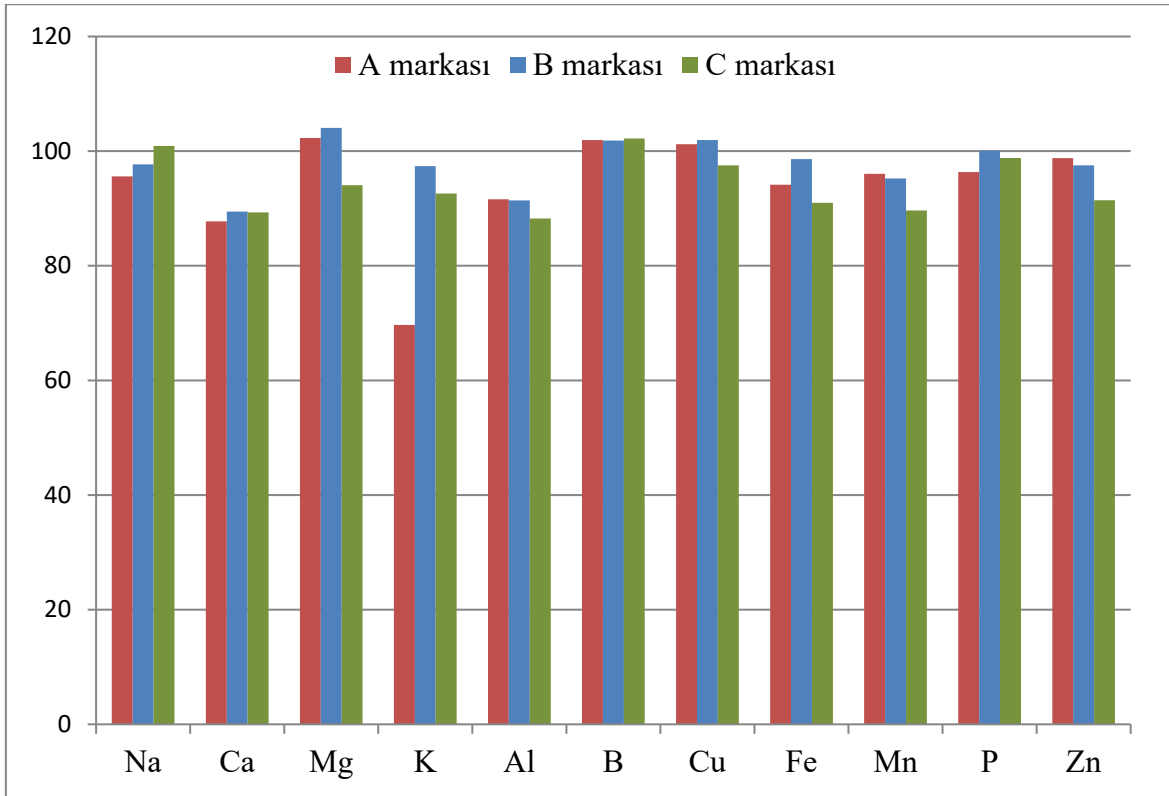
belirlenmiştir. ICP-OES ile yapılan analizler doğrultusunda B (2,09 mg/L) ve C (0,12 mg/L) markası numunelerinden elde edilen Zn elementi konsantrasyon miktarlarının tebliğde belirtilen günlük maksimum limitlerden düşük olduğu, sadece A markası numunesinden elde edilen Zn elementi konsantrasyon miktarının (8,86 mg/L) 4-10 yaş arası için belirlenen limitten yüksek olduğu görülmüştür.

Ticari propolis damla numunelerinde yapılan analiz sonuçlarını genel olarak ele aldığımızda; Fe ve Na elementi hariç diğer tüm konsantrasyonları belirlenen elementlerin (Ca, Mg, K, Al, B, Cu, Mn, P ve Zn) A markasında miktar olarak daha çok bulunduğu görülmüştür (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Yaptığımız çalışmada ICP-OES ile konsantrasyonları bulunan elementlerin 3 farklı markada bulunma yüzdeleri

Geri kazanım değerleri de incelendiğinde, Al ve Mn elementinin A markasında; Ca, Mg, K, Cu, Fe ve P elementlerinin B markasında; Na ve B elementlerinin de C markasında geri kazanım yüzdeleri en yüksek bulunmuştur (şekil 5.2). Genel olarak geri kazanım yüzdeleri birbirine yakın olarak çıkmıştır.



şekil 5.2. Yaptığımız çalışmada tespit edilen elementlerin 3 farklı markadaki geri kazanım yüzdeleri

KAYNAKLAR

- Akyar, I. (2011). Microwave-assisted digestion. *Wide spectra of quality control* (61-65). Rijeka, Croatia: InTech.
- Altundag, H. ve Tuzen, M. (2011). Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2800-2807.
- Aly, S.A. ve Elewa, N.A. (2007). The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of aspergillus versicolor and sterigmatocystin biosynthesis in ras cheese. *The Journal of Dairy Research*, 74(1), 74-78.
- Al-Waili, N. S., Salom, K. ve Al-Ghamdi, A. A. (2011). Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice. *In The Scientific World Journal*, 11, 766-787.
- Ayala, F., Lembo, G., Nappa, P. ve Balato, N. (1985). Contact dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis*, 12(3), 181-182.
- Bakkaloğlu, Z. (2020). *Farklı çözücü ve yöntemler kullanılarak elde edilen propolis ekstraktlarının karakterizasyonu* (Doktora Tezi), Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Bankova, V.S., Popov, S. ve Marekov, N. (1983). A study on flavonoids of propolis. *Journal of Natural Products*, 46(4), 471-474.
- Bankova, V.S., Boudourova-Krasteva, G., Popov, S., Sforcin, J.M. ve Funari, S.R.C. (1998). Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie*, 29(4), 361-367.
- Bankova, V.S., De Castro, S.L. ve Marcucci, M.C. (2000). Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3-15.
- Bankova, V.S., Popova, M. ve Trusheva, B. (2016). New emerging fields of application of propolis. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 35(1), 1-11.
- Barroso, P. R., Lopes-Rocha, R., Pereira, E. M. F., Marinho, S. A., De Miranda, J. L., Lima, N. L. ve Verli, F. D. (2012). Effect of propolis on mast cells in wound healing. *Inflammopharmacology*, 20(5), 289-294.
- Başargil, B. (2015). *Enstrümantal analiz temel ilkeler*. Ankara: Gazi kitabevi.

- Björkner, B.E. (1994). Industrial airborne dermatoses. *Dermatologic Clinics*, 12(3), 501-509.
- Bonvehí, J.S. ve Coll, F.V. (2000). Study on propolis quality from China and Uruguay. *Zeitschrift für Naturforschung*, 55(9-10), 778-784.
- Boss, C.B. ve Fredeen, K.J. (2004). *Concepts, instrumentation and techniques in inductively coupled plasma optical emission spectrometry* (3th ed.). Shelton: PerkinElmer Inc.
- Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chemical Toxicology*, 36, 347-363.
- Burgera, M. ve Burgera, J. L. (1998). Microwave assisted sample decomposition in flow analysis. *Analytical Chimica Acta*, 366(1-3), 63-80.
- Carpes, S.T., Begnini, R., Alencar, S. M. ve Masson, M.L. (2007). Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, 6(31), 1818-1825.
- Carvalho, M.L., Magalhães, T., Becker, M. ve von Bohlen A. (2007). Trace elements in human cancerous and healthy tissues: A comparative study by EDXRF, TXRF, synchrotron radiation and PIXE. *Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy*, 62(9), 1004–1011.
- Castaldo, S. ve Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73(1), S1-S6.
- Cheng, Q., Yaobin Y. ve XueLian, W. (2012). Analysis of trace elements in hulless by ICP-OES. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(3), 94-100.
- Christov, R., Trusheva, B., Popova, M., Bankova, V.S. ve Bertrand M. (2006). Chemical composition of propolis from Canada, its antiradical activity and plant origin. *Natural Product Research*, 20(6), 531–536.
- Cogshall, W.L. & Morse, R.A. (1984). *Beeswax: Production, harvesting, processing and products*. Newyork: Wicwas Press.
- Çakıroğlu, T.N. (2010). *Çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünün incelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi), Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Çelik, G. (2016). *Fonksiyonel yeni süt ürünleri; propolis katkılı yoğurt ve ayran* (Yüksek Lisans Tezi), Tunceli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tunceli.

- Darvishi, N., Yousefinejad, V., Akbari, M.E., Abdi, M., Moradi, N., Darvishi, S., Mehrabi, Y., Ghaderi, E., Jamshidi-Naaeini, Y., Ghaderi, B. ve Davoodi, S.H. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory effects of oral propolis in patients with breast cancer treated with chemotherapy: a randomized controlled trial. *Journal of Herbal Medicine*, 23, 100-385.
- Demirkol, Ö. *Endüktif eşleşmiş plazma (ıcp) ile metal analizleri* (Dönem Projesi), Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dobrowolski, J.W., Vohora, S., Sharma, K., Shah, S.A., Naqvi, S. ve Dandiya, P. (1991). Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(1), 77-82.
- Doğan, N. ve Hayoğlu, İ. (2012). Propolis ve kullanım alanları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 16(3), 39-48.
- Düzgün, M. (2013). *Gap uluslararası tarımsal araştırma ve eğitim merkezinin tescilli tahıllarında eser elementlerin ICP-OES ile tayini* (Yüksek Lisans Tezi), Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- El-Sohaimy, S.A. ve Masry, S.H.D. (2014). Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian and Chinese propolis. *American-Eurasian J. Agricultural & Environmental Science*, 14(10), 1116-1124.
- Eskillson C. ve Bjorklund E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 902(1), 227-250.
- Fernandes, F.F., Dias, A.L.T., Ramos, C. L., Ikegaki, M., Siqueira, A.M. ve Franco, M.C. (2007). The “in vitro” antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. *Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo*, 49(2), 93-95.
- Ferreira, R.C., Dias, F.S., Tannus, C.A., Santana, F.B., Santos, D.C.M.B., Dias, F.S., Castro, M.S., Brandão, H.N., Santos Júnior, A. F., Silva, L. C. R. C. ve Chinalia, F.A. (2021). Essential and potentially toxic elements from Brazilian geopropolis produced by the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* using ICP OES. *Biological Trace Element Research*, 199, 3527-3539.
- Florian, D., Barnes, M. ve Knapp, G. (1998). Comparison of microwave assisted acid leaching techniques for the determination of heavy metals in sediments, soils and sludges. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 362, 558-565.

- Gençay, Ö. ve Sorkun, K. (2002). Propolis hakkında neler biliyoruz. *Teknik Arıcılık*, 75, 17-21.
- Ghisalberti, E. (1979). Propolis: A review. *Bee world*, 60(2), 59–84.
- Gong, S., Luo, L., Gong, W., Gao, Y. ve Xie, M. (2012). Multivariate analyses of element concentrations revealed the groupings of propolis from different regions in China. *Food Chemistry*, 134, 583-588.
- Gündüz, T. (2002). *İnstrümental Analiz*. Ankara: Gazi Kitabevi.
- Gündüz T. (2007). *İnstrümental Analiz* (10th ed.). Ankara: Gazi Kitabevi.
- Güney, F. (2016). *Bazı propolis özütlerinin meyveli yoğurtların biyokimyasal, fizikokimyasal ve raf ömrü üzerine etkilerinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi), Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Hazem, A., Pitică-Aldea, I.M., Popescu, C., Matei, L., Dragu, D., Economescu, M., Alexiu, I., Crişan, I., Diaconu, C.D., Bleotu, C. ve Lupuliasa, D. (2017). The antiviral/virucidal effects of alcoholic and aqueous extracts with propolis. *Farmacia*, 65(6), 868-876.
- Hoening, M. (2001). Preparation steps in environmental trace element analysis—facts and traps. *Talanta*, 54(6), 1021–1038.
- Huang, S., Zhang C-P., Wang K., Li, G.Q. ve Hu, F-L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19, 19610-19632.
- Isla, M. I., Zampini, I. C., Ordóñez, R. M., Cuello, S., Juárez, B. C., Sayago, J. E., Moreno, M.I.N., Alberto, M.R., Vera, N.R., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Ciocchini, F. ve Maldona, L.M. (2009). Effect of seasonal variations and collection form on antioxidant activity of propolis from San Juan, Argentina. *Journal of Medicinal Food*, 12(6), 1334-1342.
- İnal, A. ve Kacar, B (2010). *Bitki analizleri*. Ankara: Nobel Akademi Yayıncılık.
- Jin, Q., Liang, F., Zhang, H., Zhao, L., Huan, Y. ve Song. D. (1999). Application of microwave techniques in analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 18(7), 479-484.
- Kamar, V. (2016). *ICP-OES ile ökse otunda ağır metal tayini* (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Karacan, M.S. ve Çağran, F. (2009). Multielement determination in fruit, soap and gummy extract of *Pistacia terebinthus* L. by ICP-OES. *Turkish Journal of Biology*, 33, 311-318.
- Karasakal, A. (2012). *Çevre örneklerinde ultraeser arsenik ve selenyumun hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon spektrometri ile tayini* (Doktora Tezi), Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi, Edirne.
- Kasote, D.M., Pawar, M. V., Bhatia, R. S., Nandre, V. S., Gundu, S. S., Jagtap, S. D. ve Kulkarni, M. V. (2017). HPLC, NMR based chemical profiling and biological characterisation of Indian propolis. *Fitoterapia*, 122, 52–60.
- Keskin, M. (2018). *Propolis ve özütlerinin kalite parametrelerinin belirlenmesi ve enkapsülasyonu* (Doktora Tezi), Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kılıç, E., Köseoğlu, F. ve Yılmaz, H. (1998). *Enstrümental Analiz İlkeleri*. Ankara: Bilim Yayıncılık.
- Koç, A. N., Silici, S., Mutlu-Sarıgüzel, F. ve Sağdıç, O. (2007). Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology and Biotechnology*, 45(1), 57-61.
- Korn, M.G.A., Guida, M.A.B., Barbosa, J.T.P., Torres, E.A., Fernandes, A.P., Santos, J.C.C., Dantas, K.G.F. ve Nobrega, J.A. (2013). Evaluation of sample preparation procedures for trace element determination in Brazilian propolis by inductively coupled plasma optical emission spectrometry and their discrimination according to geographic origin. *Food Analytical Methods*, 6, 872-880.
- Krell, R. (1996). *Value-added products from beekeeping*. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations.
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., Kubilius, R., Kasparaviciene, G. ve Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of their composition and biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 156.
- Kumazawa, S., Yoneda, M., Shibata, I., Kanaeda, J., Hamasaka, T. ve Nakayama, T. (2003). Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *J-Stage Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51(6), 740-742.

- Kutluca, S., Genç, F., ve Korkmaz, A. (2008). *Propolis*. Samsun: Samsun Valiliği İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayını.
- Küçükaslan, İ. (2011). İz elementler ve ineklerde reproduktif açıdan önemi. *Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 1(4), 26-35.
- Llobett, J.M., Falco, G., Casas, C., Teixido, A. ve Domingo, L. (2003). Concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in common foods and estimated daily intake by children, adolescents, adults, and seniors of Catalonia, Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 838-842.
- Mantovi, P., Bonazzi G., Maestri E. ve Marmiroli N. (2003). Accumulation of copper and zinc from liquid manure in agricultural soils and crop plants. *Plant and Soil*, 250, 249-257.
- Marcucci, M. C. (1995). Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26 (2), 83–99.
- Marcucci, M.C. (1999). Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Current Topics Phytochem*, 2, 115–123.
- Matheson A. & Reid M. (2011). *Practical beekeeping in New Zealand: The definitive guide completely revised and updated* (4th ed.). Auckland: Exisle Publishing.
- Minczewski, J., Chwastowska, J. ve Dbyczynski, R. (1982). *Separation and preconcentration. methods in inorganic trace analysis*. New York: John Wiley and Sons.
- Nanditha, B. ve Prabhasankar, P. (2008). Antioxidants in bakery products: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(1), 1-27.
- Nunes, L.C.C., Galindo, A.B., Lustosa, S.R., Brasileiro, M.T., Do Egito, A.A., Freitas, R.M., Randau, K.P. ve Neto, R.P.J. (2013). Influence of seasonal variation on antioxidant and total phenol activity of red propolis extracts. *Advance Studies in Biology*, 5(3), 119-133.
- Oliva, S. R., Raitio, H. ve Mingorance, M. D. (2003). Comparison of two wet digestion procedures for multi–element analysis of plant samples. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 34, 2913–2923.
- Oliveira, E. (2003). Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and future trends. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 14(2), 174-182.
- Özdemir, G. (2018). *Meyve sularında eser element konsantrasyonlarının tayini* (Yüksek Lisans Tezi), Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

- Özdere, M. (2019). *Farklı yörelerden toplanan propolis örneklerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Özkan, Ö.Ş. (2021). *Mikroalga plazma–atomik emisyon spektrometri (mp–aes) ile gıdalarda mineral element ve ağır metal analizleri için metot validasyonu ve ölçüm belirsizliği hesaplamaları* (Yüksek Lisans Tezi), Gümüşhane Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gümüşhane.
- Özkaya, H. ve Kahveci, B. (1990). *Tahıl ve ürünleri analiz yöntemleri*. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.
- Parsons, P.J. ve Barbosa F. (2007). Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 62(9), 992-1003.
- Peereboom, J.W.C. (1985). General aspects of trace elements and health. *The Science of the Total Environment*, 42(2), 1–27.
- Pena, R.C. (2008). Propolis standardization: a chemical and biological review. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 35, 11-20.
- Pietta, P.G., Gardana, C. ve Pietta, A.M. (2002). Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*, 73, 7-20.
- Pytlakowska, K., Kita, A., Janoska, P., Polowniak, M. ve Kozik, V. (2012). Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chemistry*, 135(2), 494-501.
- Qian, W.L., Khan, Z., Watson, D.G. ve Fearnley, J. (2008). Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 78-83.
- Russo, A., Longo, R. ve Vanella, A. (2002). *Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin*. *Fitoterapia*, 73(1), S21-S29.
- Sağdıç, O., Silici, S. ve Yetim, H. (2007). Fate of escherichia coli and E. coli O157: H7 in apple juice treated with propolis extract. *Annals Of Microbiology*, 57(3), 345-348.
- Sandel, E.B. ve Onishi, H. (1978). *Photometric determination of traces of metals general aspects*. New York: John Wiley & Sons.

- Santos, F.A., Bastos, E.M.A., Uzeda, M., Carvalho, M.A.R., Farias, L.M., Moreira, E.S.A. ve Braga, F.C. (2002). Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(1), 1-7.
- Santos, F.A., Bastos, E. M. A. F., Maia, A. B. R. A., Uzeda, M., Carvalho, M. A. R., Farias, L.M. ve Moreira, E.S.A. (2003). Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity on periodontopathogens. *Phytotherapy Research*, 17(3), 285-289.
- Schiffmann, R.F. (1986). Food product development for microwave processing. *Food Technology*, 40(6), 94-98.
- Segueni, N., Khadraoui, F. ve Rhouati, S. (2017). Volatile compounds as propolis characterization markers. In Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration. *Springer*, 16(4), 1271-1273.
- Seidel, V., Peyfoon, E., Watson, D.G. ve Fearnley, J. (2008). Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. *Phytotherapy Research*, 22, 1256-1263.
- Sforcin, J.M. (2007). Propolis and the immune system a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 1-14.
- Silici, S. ve Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 69-73.
- Silici, S. (2010). Turkish propolis: Chemical constituents. *Mellifera*, 10(19), 24-33.
- Smrkolj P., Pograjc, L., Hlastan-Ribic, C. ve Stibilj, V. (2005). Selenium content in selected Slovenian foodstuffs and estimated daily intakes of selenium. *Food Chemistry*, 90(4) ,691-697.
- Sorucu, A. (2015). *Marmara bölgesindeki propolislerde biyolojik etkisi olan fenolik madde ve miktarlarının mevsim ve rakım farkına bağlı olarak belirlenmesi* (Doktora Tezi), Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Sultanoğlu, P. (2011). *Hatay ilinde üretilen balların eser element düzeyleri ve kemometrik yöntemlerle karakterizasyonu* (Yüksek Lisans Tezi), Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.

- Szczesna, T. (2006). Protein content and amino acid composition of bee-collected pollen originating from Poland, South Korea and China. *Journal of Apicultural Science*, 50(2), 91- 99.
- Szczesna, T. (2007). Concentration of selected elements in honeybee-collected polen. *Journal of Apicultural Science*, 51(1), 5-13.
- Şahin, İ. (2001). *Volimetri ile ICP-AES yöntemiyle şalgam suyunda ağır metal tayini* (Yüksek Lisans Tezi), Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Tazawa, S., Warashina, T., Noro, T. ve Miyase, T. (1998). Studies on the constituents of Brazilian propolis. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46(9), 1477-1479.
- Tazawa, S., Warashina, T. ve Noro, T. (1999). Studies on the constituents of Brazilian propolis. II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47(10), 1388-1392.
- Thamnopoulos, I.A.I., Michailidis, G.F., Fletouris, D.J., Badeka, A., Kontominas, M.G. ve Angelidis, A.S. (2018). Inhibitory activity of propolis against listeria monocytogenes in milk stored under refrigeration. *Food Microbiology*, 73, 168-176.
- Thiel, G. ve Danzer, K. 1997. Direct analysis of mineral componenets in wine by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 357, 553-557.
- Tolba, M.F., Omar, H., Azab, S., Khalifa, A., Abdel-Naim, A. ve Abdel-Rahman, S. (2016). Caffeic acid phenethyl ester: a review of its antioxidant activity, protective effects against ischemia-reperfusion injury and drug adverse reactions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 2183–2190.
- Uğur, A. ve Arslan, T. (2004). An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *Journal of Medicinal Food*, 7(1), 90-94.
- Valiente, L., Piccinna, M., Ale, E.R., Grillo, A. ve Smichowski, P. (2002). Determination of selenium in dietary supplements by ETAAS and HG–AAS: A comparative study. *Atomic Spectroscopy*, 23(4), 129-134.
- Vandecasteele, C. ve Block C.B. (1993). *Modern methods for trace element determination*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.

- Velikova, M., Bankova, V., Sorkun, K., Houcine, S., Tsvetkova, I. ve Kujumgiev, A. (2000). Propolis from the mediterranean region: Chemical composition and antimicrobial activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(9-10), 790-793.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J. ve Perez-Alvarez, J.A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science*, 73(9), R117-R124.
- Volpi, N. ve Bergonzini G. (2006). Analysis of flavonoids from propolis by on-line hplc-electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42(3), 354-361.
- Wagh, V.D. (2013). Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013, 1-11.
- Walker, P. ve Crane E. (1987). Constituents of propolis. *Apidologie*, 18, 327-334.
- Yang, W., Wu, Z., Huang, Z.Y. ve Miao, X. (2017). Preservation of orange juice using propolis. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3375-3383.
- Yıldız, A. ve Genç, Ö. (1993). *Enstrümental Analiz*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
- Yumuşakbaş, H. (2013). *Malatyanın farklı yörelerinde yetiştirilen bazı kırmızı renkli meyvelerin mineral madde miktarlarının icp (indüksiyonla eşleşmiş plazma) ile tayini ve yöntemin validasyonu üzerine çalışmalar* (Yüksek Lisans Tezi), İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Zheljazkov, V.D. ve McNeil, P. (2008). Comparison of five digestion procedures for recovery of nutrients and trace elements in plant tissue. *Journal of Plant Nutrition*, 31, 1937-1946.
- Zheng, Y., Li, XK., Wang, Y. ve Cai, L (2008). The role of zinc, copper and iron in the pathogenesis of diabetes and diabetic complications: Therapeutic effects by chelators. *Hemoglobin*, 32(1-2), 135-145.
- Zorlu, D. (2021). Covid-19 and anatolian propolis: a case report. *Acta Medica Mediterranea*, 31, 1229-1233.
- Zurnacı, M. (2015). *Vitamin komplekslerindeki metallerin ICP-OES cihazı kullanılarak tayini* (Yüksek Lisans Tezi), Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.