

Türkiye Coğrafyasına Ait Çam Ballarında Antioksidan ve Antibakteriyel Potansiyelin Araştırılması

Investigation of Antioxidant Capacity and Antimicrobial Potential of Pine Honey from Turkey Geography

© Cevat NİSBET,^a
 © Ahmet Yılmaz ÇOBAN,^b
 © Berika TAŞTEKİN^a

^aBiyokimya AD,
 Ondokuz Mayıs Üniversitesi
 Veteriner Fakültesi,
^bTıbbi Mikrobiyoloji AD,
 Ondokuz Mayıs Üniversitesi
 Tıp Fakültesi,
 Samsun

Received: 08.09.2017
 Received in revised form: 04.12.2017
 Accepted: 05.12.2017
 Available online: 30.04.2018

Correspondence:
 Cevat NİSBET
 Ondokuz Mayıs Üniversitesi
 Veteriner Fakültesi,
 Biyokimya AD, Samsun,
 TÜRKİYE/TURKEY
 cnisbet@omu.edu.tr

Bu çalışma, 7. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi (28-30 Mayıs 2015, Samsun)'nde sözlü olarak sunulmuştur.

ÖZET Amaç: Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilmiş çam ballarının antibakteriyel ve antioksidan potansiyeli araştırılmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada, 14 adet çam balı örneğinin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus epidermidis* patojenlerine karşı anti mikrobiyal potansiyeli disk difüzyon tekniği ile belirlenmiştir. Diğer taraftan çam balının antioksidan ve fenolik madde miktarı araştırılmıştır. **Bulgular:** Bal ekstraktlarında total fenolik düzeyi ortalama $163,98 \pm 20,01$ mgGAE/100 g, total flavonoid $4,86 \pm 0,59$ mgQE/100 g, antioksidan aktivitesi ise $105,96 \pm 12,25$ DPPH- sc_{50} mg/mL olarak belirlenmiştir. **Sonuç:** Elde edilen sonuçlara göre çam balının antioksidan düzeyinin yüksek olduğu saptanmıştır ve çalışma grubunda olan patojenlerin gelişimine karşı inhibisyon etkisi göstermiştir. Bu veriler ışığında çam balının terapötik etkinliğe sahip olduğunu söylemek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel ajanlar; antioksidanlar; apiterapi antiinflamasyon; bal; flavonoidler

ABSTRACT Objective: To investigate the antibacterial and antioxidant potential of pine honeys obtained from different regions of Turkey. **Material and method:** In this study, 14 pine honey samples were used obtained from different regions of Turkey. Antibacterial potential was determined by disk diffusion technique was used. In order to investigate the antibacterial activity of pine honey, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus epidermidis* were used. On the other hand, was measured total antioxidant activity, total flavonoid amount and phenolic concentration in pine honey. **Results:** For the different dilutions of honey samples, it was observed that there was no bacterial growth. It was measured that the total phenolic level was $163,98 \pm 20,01$ mgGAE/100 g honey, total flavonoid content was $4,86 \pm 0,59$ mgQE/100 g honey and IC50 value measured for antioxidant activity was $105,96 \pm 12,25$ DPPH- sc_{50} mg/ml. **Conclusion:** It was determined that pine honey have antioxidant activity and antibacterial potential. In the light of this data it is possible to say that pine honey has a therapeutic effect.

Keywords: Anti-bacterial agents; antioxidants; apitherapy anti-inflammation; honey; flavonoids

Dünyanın her yerinde enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede antibakteriyel ajan kullanımı ilk basamağı oluşturmaktadır. Ancak, antibakteriyel ilaçların kullanılması aynı zamanda dirençli patojenlerin de ortaya çıkmasına neden olmaktadır ki bu da kullanılan ilaçların etkinliğini azaltmaktadır.¹⁻³ Uygunsuz ve gereksiz kullanımları sonucu gelişen direnç nedeni ile etkilerini önemli oranda kaybetmiş olan antibiyotikler, günümüzde bütün insan ve hayvan sağlığını tehdit edecek düzeyde çok

önemli bir sorun hâline gelmiştir.^{3,4} Dünya Sağlık Örgütü; “*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Nontyphoidal Salmonella*, *Shigella species*, *Neisseria gonorrhoeae*” bakterilerinden en az birinin antibiyotiğe olan direncine dair bilgi veren 114 ülkenin verileri temel alınarak yapılan incelemede, antibiyotiklere karşı bakterilerin direncinin artmasının büyük bir küresel tehdit oluşturduğu uyarısında bulunmuştur.⁵ Özellikle antibiyotiklere karşı gelişen bu dirençte Türkiye’nin ilk sıralarda yer alması ülkemizde ciddi bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır.^{5, 6}

Son yıllarda dünyanın pek çok ülkesinde hastalıkla mücadele konusunda alternatif yeni stratejiler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Bu araştırmaların ana hedefi, doğal kaynaklı antibakteriyel ürünlerle tedavi yöntemlerinin oluşturulmasıdır.⁷⁻⁹ Özellikle bitkisel ürünlerin kullanımının önemli bir alternatif yöntem olabileceği düşüncesi yaygındır.⁹ Konu ile ilgili bilim insanları, kendi ülke öz kaynaklarından yararlanarak bitkilerin biyoaktif moleküler kökenli formülasyonları üzerinde pek çok yenilikçi çalışmalar yürütmektedirler. Değişik bitkilerden elde edilen bileşenlerle bakterilere karşı yapılan in vitro çalışmalar umut vadeden sonuçlar üretmiş ve bitkilerin bu bileşenlerinin patojenlerin kontrolünde etkin olarak kullanılabileceğini göstermiştir.^{9,10} Türkiye; farklı coğrafi yapısı, iklimi, yaygın tıbbi bitki çeşitliliği, endemik bitki zenginliği nedeni ile nontoksik bir doğal ürünün elde edilmesi için önemli potansiyele sahiptir.¹¹ Bu flora ile doğrudan ilişkili önemli bir kaynak ise arı ürünleridir.¹² Arıların çiçek nektarlarından veya bitkiler üzerinde yaşayan bazı canlıların ürettikleri salgılardan topladıkları ve enzimatik olarak değişikliğe uğratarak meydana getirdikleri bal, besleyiciliğinin yanı sıra insan ve hayvan sağlığında yüzyıllardan beri kullanılan şifalı bir üründür.¹³⁻¹⁵ Bal; enfeksiyonların çabuk temizlenmesi, yaralardan ölü dokuların ve yabancı maddelerin çabuk uzaklaştırılması, inflamasyonun hızlı baskılanması, yara ve yara izinin hızlı azalması, yeni damar oluşumu, doku granülasyonu ve epitelyum gelişmesinin uyarılmasını sağlamaktadır.^{13,15,16} Balın antibiyotiğe dirençli bakterilere karşı güçlü in vitro aktivitesine

sahip olduğu ve antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen kronik yara enfeksiyonlarında antibakteriyel ajan olarak kullanıldığı bildirilmiştir.¹⁶ Balın bu sağlık etkisi botanik kaynağına bağlı olarak değişmektedir.¹⁷ Dolayısıyla her balın antioksidan, antitümör, antibakteriyel, antiviral aktivitesi bitki kaynağına bağlı olarak farklılık göstermektedir.^{13,17,18}

Çam balı, arıların çiçek nektarı yerine çam pamuklu (*Marchalina hellenica*) böceğin salgısını kullanarak ürettiği bir baldır. Bu böcek sadece Kızılçam, Karaçam ve Halep çamında yaşamakta ve çamın öz suyunu emerek beslenmektedir. Ağaç üzerinde bıraktığı salgı damlacıkları arılar tarafından çam balına dönüştürülmektedir.^{19,20} Dünyada çam balının %92’si Türkiye’de, %8’i ise Yunanistan’da üretilmektedir.^{20,21} Ülkemize ve yöremize ait bu ürünün özelliklerinin araştırılması hem beslenme hem de sağlık açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, dünyada en büyük kaynağına ülkemizin sahip olduğu çam balının, antioksidan kapasitesi ve bakteriyel patojenlere karşı antibakteriyel etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmada kullanılacak olan çam balı numuneleri Akdeniz-Ege (Muğla-Marmaris-Aydın-Kuşadası) Bölgeleri’nden toplam 14 örnek olacak şekilde toplanmıştır. Ballar 2014 yılı hasat döneminde arıcılardan temin edilmiştir. Numuneler cam kavanozlarda analiz edilene kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.

ANTİBAKTERİYEL ANALİZ METODU

Çalışmanın ilk aşamasında, 96 kuyucuklu plaklar 100’er µL Mueller-Hinton sıvı besi yeri ile dolduruldu. Her bir bal örneği için ayrı ayrı, toplamda 14 adet plak hazırlandı. Bal örnekleri B kuyucuğundan başlayarak H’ye kadar seri dilüsyon yöntemiyle dağıtıldı. A kuyucukları üreme kontrolü için, H kuyucukları ise sterilizasyon kontrolü için ayrıldı. *E. coli*, *S. aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus epidermidis* bakteri-

leri bir gece önceden pasajlandı. Pasajlanan bakterilerden 0,5 McFarland bulanıklığında çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiler 1/100 oranında seyreltildi. Seyreltilmiş bakteri çözeltilerinden 100 µL H kuyucukları hariç tüm kuyucuklara dağıtıldı. Hazırlanan plaklar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda, plaklar üremenin varlığı veya yokluğuna göre yorumlandı (Şekil 1).¹⁴

Antibakteriyel etkinliği ölçmek için metisiline duyarlı *S. aureus* [methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA)], metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), *Enterokok*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* bakterileri kullanıldı. Bakteri süspansiyonları 0,5 McFarland yoğunluğunda hazırlandı. Mueller-Hinton agar içeren plaklar üzerine eküvyonla yayıldı. Daha sonra 6 mm çaplı boş antibiyotik diskleri aralarında yaklaşık 30 mm mesafe olacak şekilde besi yerinin üzerine yerleştirildi ve %50 konsantrasyondaki her bir bal örneği ayrı ayrı kâğıt disklere 200 µL olarak pipetleyerek emdirildi. Yirmi dört saat 37°C'de inkübe edilen plaklar zon oluşumu açısından incelenerek, zon çapları ölçüldü (Tablo 1).^{15,22} Çalışmada kullanılan bakteri kültür kaynak-

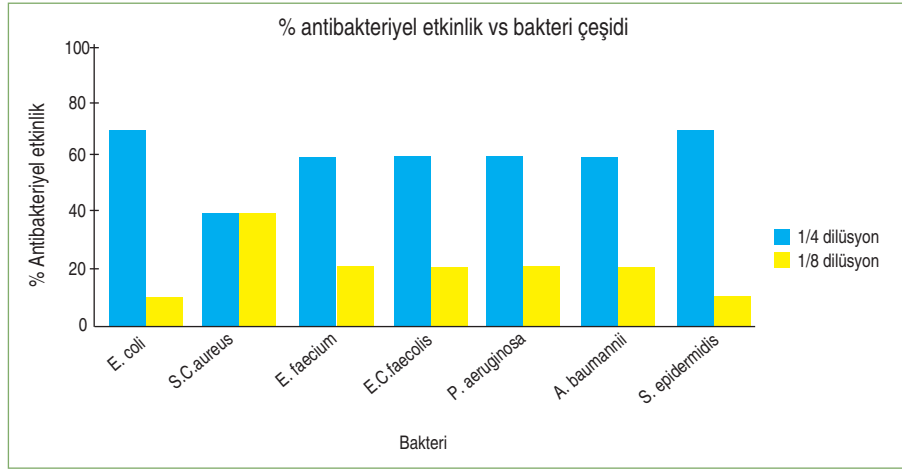
ları ise Ondokuzmayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'ndan temin edilmiştir.

ANTIÖKSİDAN ANALİZ METODU

Total antioksidan aktivitesinin hesaplanması, hazırlanmış olan ekstraların indirekt metot kullanılarak baldaki 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) üzerindeki serbest radikal süpürücü etkilerine göre yapılmıştır. DPPH radikal süpürme aktivitesi sonucunda IC₅₀ değerleri, mg/mL şeklinde değerlendirilecektir. Ölçüm spektrofotometrede 520 nm'de modifiye edilmiş, Meda ve ark. ile Dimins ve ark.'nın yöntemine göre gerçekleştirilmiştir.²³⁻²⁵ Antioksidant aktivitesi DPPH'nin inhibasyon yüzdesi olarak ifade edilmiş olup, aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$AA[\%]=\frac{(Abs\ cont-Abs\ sample)}{Abs\ cont}\times 100.$$

Total fenolik konsantrasyon düzeyi, Beretta ve ark. tarafından, modifiye edilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre spektrofotometrede 750 nm'de okunarak, toplam fenol miktarı 100 g ekstrede mg gallik aside eş değer olacak şekilde hesaplanmıştır.^{24,26,27}



ŞEKİL 1: 1/4 ve 1/8 dilüsyonlarındaki çam ballarında antibakteriyel etkinlik yüzdesinin bakteri çeşitlerine göre grafiği.

TABLO 1: Çam ballarının 1/2 dilüsyonda antibakteriyel zon çapları.

Çam balı	E.coli	Klebsiella	Pseudomonas	MRSA	MSSA	Enterokok
Zon çapları	14,0±1,2	15,7±0,6	15,0±0,7	17,0±1,6	18,5±0,5	16,7±1,7

MRSA: Metisiline dirençli staphylococcus aureus, MSSA: Metisiline duyarlı staphylococcus aureus.

Total flavonoid analizinde ise Arvouet-Grand ve ark. tarafından adapte edilen Dowd metodu uygulanmıştır. Bu metodda 100 g balda mg bazında kuersetin [quercetin (QE/100 g)] konsantrasyon temel alınarak hazırlanmış olan bal solüsyonları, spektrofotometrede 415 nm'de okunmuştur.^{25,28}

Çalışma sonunda elde edilen veriler SPSS 2004 istatistiki paket programında kullanılarak sonuçlar değerlendirildi.²⁹

BULGULAR

1. Çam balın antibakteriyel etkinlik düzeyleri,
2. Çam balın antioksidan ve fenolik bileşikleri analiz bulguları.

TARTIŞMA

Dünya genelinde yanlış ve aşırı antibiyotik kullanımı bakterilerin antibiyotik tedavilerine karşı dirençli hâle gelmesine neden olmuştur. Türkiye, kişi başına günlük antibiyotik tüketiminde 40 Avrupa ülkesi arasında birinci sırada yer almaktadır.³⁰ Bu durum ise oluşan antibiyotik direncinin ciddi bir kamusal sağlık tehdidi hâline geldiğinin göstergesidir. Son yıllarda hastalıkla mücadelede doğal ürünlerin bir alternatif olabileceği önemle üzerinde durulmaya başlanmış bir konudur.^{8,9} Bu çerçevede yapmış olduğumuz çalışmada, çam balının antibakteriyel potansiyeli; *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. epidermidis* bakterilerine karşı inhibisyon etkisi göstermiştir (Şekil 1). Bu sonuçlar, Mercan ve ark.nın çam balı üzerinde yaptıkları çalışma ile paralellik göstermektedir (Tablo 1).¹⁵ Alnaimat ve ark.nın, Yunanistan çam balında yaptıkları çalışmada, inhibisyon zon çapını *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Lysinibacillus sphaericus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* için sırasıyla 17,0±1,0, 18,3±1,2, 16,3±1,5, 17,3±2,1, 20,3±1,2 (mm)±SS olarak saptamışlardır.³¹ Amghalia ve ark. ise Malezya ballarının %20, %25 ve %30 bal konsantrasyonlu

Mueller-Hinton agarda MRSA ve MSSA'yı inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır.³² Nassar ve ark.nın çalışmasında, %12,5, %25 ve %50 konsantrasyondaki doğal balın dış plağından izole edilen *Streptococcus mutans*'ın in vitro gelişimini önlediği bildirilmiştir.³³

Balın terapötik aktivitesini önemli ölçüde etkileyen fenolik asitler ve flavonoidler, antibakteriyel ve antioksidan etki göstermeleri açısından önem taşımaktadırlar.^{34,35} Bu bileşiklerin konsantrasyonu balın kaynağını teşkil eden bitki florasına bağlı olarak farklılık göstermektedir.³⁶ Bu çalışmada, çam ballarının total fenolik içeriği ortalama 163,98±20,01 mg GAE/kg olarak saptanmıştır. En düşük değer 96,90, en yüksek değer ise 285,60 olarak bulunmuştur (Tablo 2). Bu değerler, üretilen diğer monofloral ballar ile kıyaslandığında fenolik içeriği açısından kestane > çam > akasya > narenciye > şeklinde bir değerlendirme yapmak mümkündür (Tablo 3).^{23,26,27,37-39} Çalışma sonuçlarımız diğer ülkelerde çeşitli ballarda yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında, çam balına ait fenolik içeriğinin yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 3).^{23,27,40} Çalışmada, flavonoid içeriği 1,24 ile 8,79 (QE/kg bal) arasında değişkenlik göstermektedir ve ortalama değeri 4,86±0,59 bulunmuştur. Bu sonuçlar çam balı ile yapılan diğer araştırma verileri ile kıyaslandığında; Özkök ve ark. ile benzerlik, Kıvrak ve ark. ile farklılık gösterdiği saptanmıştır.^{41,42} Bu farklılığın bölgesel ve hasat dönemine bağlı farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarımız, diğer monofloral ballar ile kıyaslandığında flavonoid içeriğinin çam> kestane> akasya> ayçiçeği> narenciye şeklinde bir değere sahip olduğu görülmektedir.^{37,38} Diğer ülkelerde yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında ise türler arası ve bölgesel farklılığa bağlı değişkenlik göstermektedir (Tablo 3).^{25,43}

Çalışmada total antioksidan aktivitesinin hesaplanması, balın DPPH üzerinde serbest radikal süpü-

TABLO 2: Çam ballarında antioksidan, toplam fenolik asit ve flavonoid düzeyleri.

Örnekler	Total flavonoid (mgQE/kg) (min-max)	Total fenolik mgGAE/kg (min-max)	Antioksidan, DPPH-sc ₅₀ (mg/ml) (min-max)
Çam balı	4,86±0,59	1,24-8,79	163,98±20,01
			285,60-96,90
			105,96±12,25
			199,03-39,14

TABLO 3: Değişik ülkelere ait bal örneklerinde fenolik, flavonoid içeriği ve antioksidan düzeyleri.

Balın kaynağı	Total fenol içeriği (mg/GAE/100 g)	Flavonoid (mg/QE/100 g)	Antioksidan DPPH-IC ₅₀ mg/mL	Referans
Polanya (akasya)	32,5-40,6	-	25,6-35,9	Wilczynska, (2010)
Slovenya (akasya)	44,8±14,8 (mg/GAE/kg)	-	53,8±8,5	Bertoncelj ve ark., (2007)
İtalya (kestane)	211,2±5,5 (mg/GAE/kg)	-	7,9±0,04	Beretta ve ark., (2005)
Slovenya (kestane)	199,9±34,1 (mg/GAE/kg)	-	10,0±1,8	Bertoncelj ve ark., (2007)
Türkiye (narenciye)	113,8±4,3	1,6±0,1	152,7±5,0	Deniz, (2016)
Brezilya (narenciye)	40,36±7,6	0,17±0,15	15,2±10,8	Lianda ve ark., (2012)
Güney Afrika (multifloral)	74,38±20,54	2,57±2,09	-	Meda ve ark., (2005)
Türkiye (ayçiçeği)	127,3±13,5	1,8±0,1	167,3±9,7	Deniz, (2016)

rücü etkilerine göre yapılmıştır. Buna göre, antioksidan aktivitesi çam ballarında ortalama 105,96±12,25 DPPH (mg/mL) olarak saptanmıştır (Tablo 2). Çalışma bulguları, çam ballarının pek çok flora kaynağına kıyasla daha yüksek radikal süpürücü etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Tablo 3).^{26,27,37,38,44}

SONUÇ

Çalışmada elde edilen sonuçlar çam balının *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. epidermidis* bakterilerine karşı inhibisyon etkisi gösterdiğini, yüksek fenolik ve flavonoid içeriği ve radikal süpürücü etkinliği ile potansiyel terapötik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet,

gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Cevat Nisbet; **Tasarım:** Cevat Nisbet, Ahmet Yılmaz Çoban, Berika Taştekin; **Denetleme/Danışmanlık:** Cevat Nisbet, Ahmet Yılmaz Çoban; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Cevat Nisbet, Ahmet Yılmaz Çoban, Berika Taştekin; **Analiz ve/veya Yorum:** Cevat Nisbet, Ahmet Yılmaz Çoban; **Kaynak Taraması:** Cevat Nisbet, Ahmet Yılmaz Çoban, Berika Taştekin; **Makalenin Yazımı:** Cevat Nisbet.

KAYNAKLAR

- Lodesani M, Costa M, Man MC. Limits of chemotherapy in beekeeping: development of resistance and the problem of residues. *Bee World* 2005;(86):102-9.
- Jo N, Kim B, Lee SM, Oh J, Park IH, Jin Lim K, et al. Aptamer-functionalized capacitance sensors for real-time monitoring of bacterial growth and antibiotic susceptibility. *Biosens Bioelectron* 2017;102:164-70.
- Qiao M, Ying GG, Singer AC, Zhu YG. Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environ Int* 2018;110:160-72.
- Radlinski L, Conlon BP. Antibiotic efficacy in the complex infection environment. *Curr Opin Microbiol* 2018;42:19-24.
- World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance: Global report on surveillance. Geneva: WHO Press; 2014. p.232.
- Aykac K, Ozsurekci Y, Tanır Basaranoglu S, Akin MS, Cengiz AB, Bicakcigil A, et al. Current epidemiology of resistance among Gram-negative bacilli in paediatric patients in Turkey. *J Glob Antimicrob Resist* 2017;11:140-4.
- Boligon AA, Brum TF, Zadra M, Piana M, Alves CF, Fausto VP, et al. Antimicrobial activity of *Scutia buxifolia* against the honeybee pathogen *Paenibacillus larvae*. *J Invertebr Pathol* 2013;112(2):105-7.
- Jamalian A, Shams-Ghahfarokhi M, Jaimand K, Pashootan N, Amani A, Razzaghi-Abyaneh M. Chemical composition and antifungal activity of *Matricaria recutita* flower essential oil against medically important dermatophytes and soil-borne pathogens. *J Mycol Med* 2012;22(4):308-15.

9. Fankam AG, Kuete V, Voukeng IK, Kuiate JR, Pages J. Antibacterial activities of selected Cameroonian spices and their synergistic effects with antibiotics against multidrug-resistant phenotypes. *BMC Complement Altern Med* 2011;11:104.
10. Kuete V, Alibert-Franco S, Eyong KO, Ngameni B, Folefoc GN, Nguemaving JR, et al. Antibacterial activity of some natural products against bacteria expressing a multidrug-resistant phenotype. *Int J Antimicrob Agents* 2011;37(2):156-61.
11. Ertürk YE, Yılmaz O. [Türkiye'de Organik Arıcılık]. *COMU Journal of Agriculture Faculty* 2013;(1):35-42.
12. Roshan N, Rippers T, Locher C, Hammer KA. Antibacterial activity and chemical characteristics of several Western Australian honeys compared to manuka honey and pasture honey. *Arch Microbiol* 2017;199(2):347-55.
13. Nisbet HO, Nisbet C, Yarım M, Güler A, Özak A. [Effects of different type of honey on healing of cutaneous wounds]. *Wounds* 2010; 22(11):1275-83.
14. Coban AY, Birinci A, Ekinci B, Durupinar B. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by the broth microdilution method with 7H9 broth. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004;99(1):111-3.
15. Mercan N, Guvensen A, Celik A, Katircioglu H. Antimicrobial activity and pollen composition of honey samples collected from different provinces in Turkey. *Nat Prod Res* 2007;21(3): 187-95.
16. Atrott J, Henle T. Methylglyoxal in manuka honey-correlation with antibacterial properties. *Czech J Food Sci* 2009;(27):163-5.
17. Escuredo O, Míguez M, Fernández-González M, Carmen Seijo M. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chem* 2013;138(2-3):851-6.
18. Nisbet C, Güler A, Ciftci G, Yarım GF. [The investigation of protein profile of different botanic origin honey and density saccharose-adulterated honey by SDS-PAGE method]. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009;15(3):443-6.
19. Miguel S, Pukkala T, Yesil A. Integrating pine honeydew honey production into forest management optimization. *Eur J Forest Res* 2014;(133):423-32.
20. Bilgen Çınar S. [Analytical properties of Turkish pine honey]. Thesis, Ankara: Ankara University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Food Engineering; 2010.
21. Tananaki C, Thrasylvoulou A, Giraudel L, Montury M. Determination of volatile characteristics of Greek and Turkish pine honey samples and their classification by using Kohonen self organising maps. *Food Chem* 2007;(101): 1687-93.
22. Pfaller M, Boyken L, Hollis R, Kroeger J, Messer S, Tendolkar S, et al. Comparison of the broth microdilution methods of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and the Clinical and Laboratory Standards Institute for testing itraconazole, posaconazole, and voriconazole against *Aspergillus* isolates. *J Clin Microbiol* 2011;49(3): 1110-2.
23. Wilczyńska A. Phenolic content and antioxidant activity of different types of polish honey—a short report. *Pol J Food Nutr Sci* 2010;60(4): 309-13.
24. Dimins F, Kuka P, Augspole I. Characterisation of honey antioxidative properties. International Conference of Food Innova 2010; 28-9.
25. Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* 2005;(91): 571-7.
26. Bertonec J, Doberšek U, Jamnik M, Golob T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem* 2007;105(2):822-8.
27. Beretta G, Granata P, Ferrero M, Orioli M, Facino RM. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* 2005;533(2):185-91.
28. Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P. [Standardization of propolis extract and identification of principal constituents]. *J Pharm Belg* 1994;49(6):462-8.
29. SPSS. User's guide SPSS.INC.Chicago IL60606-6412 (Customer ID:361835); 2004.
30. Versporten A, Bolokhovets G, Ghazaryan L, Abilova V, Pyshnik G, Spasojevic T, et al. Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect Dis* 2014;14(5):381-7.
31. Alnaimat S, Wainwright M, Al'Abri K. Antibacterial potential of honey from different origins: a comparison with manuka honey. *JMBFS* 2012;1(5):1328-38.
32. Amghalia N, Shamsudin M, Abdullah R, Mohamed R, Sekawi Z. Antibacterial Activity of Honey Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Research Journal of Biological Sciences* 2009;4(8):943-7.
33. Nassar HM, Li M, Gregory RL. Effect of honey on *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(2): 536-40.
34. Al-Mamary M, Al-Meer A, Al-Habori M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research* 2002;22(9):1041-7.
35. Buba F, Gidado A, Shugaba A. Analysis of biochemical composition of honey samples from North-East Nigeria. *Biochem Anal Biochem* 2013;2(3):139-41.
36. Ertürk Ö, Şahin H, Kolaylı S, Ayvaz MÇ. Antioxidant and antimicrobial activity of East Black Sea. *Turk J Biochem* 2014;39(1):99-106.
37. Deniz A. [Investigation of antioxidant capacities of honeys obtained from different botanical sources]. Master Thesis. Samsun: Ondokuz Mayıs University; 2016.
38. Lianda RLP, Sant'ana LD, Echevarria A, Castro RN. Antioxidant activity and phenolic composition of Brazilian honeys and their extracts. *J Braz Chem Soc* 2012;23(4):618-27.
39. Can Z, Yildiz O, Şahin H, Turumtay EA, Silici S, Kolaylı S. An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chem* 2015;180:133-41.
40. Saxena S, Gautam S, Sharma A. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chem* 2010; 118(2):391-7.
41. Kivrak Ş, Kivrak İ. [Assessment of phenolic profile of Turkish honeys]. *International Journal of Food Properties* 2017;20(4):864-76.
42. Özkök A, D'arcy B, Sorkun K. Total phenolic acid and total flavonoid content of Turkish pine honeydew honey. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 2010;2(2):65-71.
43. Lachman J, Hejtmánková A, Sýkora J, Karban J, Orsák M, Rygerová B. [Contents of major phenolic and flavonoid antioxidants in selected Czech honey]. *Czech J Food Sci* 2010;28(5): 412-26.
44. Küçük M, Kolaylı S, Karaoğlu S, Ulusoy E, Baltacı C, Candan F. [Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia]. *Food Chem* 2007;(100):526-34.