

**T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MONOFLORAL ARI POLENİ VE FERMENTE ARI POLENİ
ÖRNEKLERİNDEN FARKLI YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN FİZİKO-KİMYASAL, BİYOKİMYASAL VE
MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ AÇISINDAN GIDA KORUMA
TEKNOLOJİSİNDEKİ POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

İKRANUR FELEK

ARI VE ARI ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Duygu Nur ÇOBANOĞLU

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Dilhun Keriman ARSERİM UÇAR

Bingöl-2025

**MONOFLORAL ARI POLENİ VE FERMENTE ARI POLENİ
ÖRNEKLERİNDEN FARKLI YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN FİZİKO-KİMYASAL, BİYOKİMYASAL VE
MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ AÇISINDAN GIDA KORUMA
TEKNOLOJİSİNDEKİ POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Duygu Nur ÇOBANOĞLU danışmanlığında, İkranur FELEK tarafından hazırlanan bu çalışma 10/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Arı ve Arı Ürünleri Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. Aslı ÖZKIRIM	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. İbrahim Halil GEÇİBESLER	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. Ebru AKKEMİK	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. Duygu Nur ÇOBANOĞLU	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Veysel SÜZERER	İmza	:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/
nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma TÜBİTAK 1002 A Hızlı Destek projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No:123O910

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmaların tamamlanabilmesi için gerekli desteği veren sadece akademik rehberliği ile değil, aynı zamanda yapıcı eleştirileri ile bu çalışmanın ortaya çıkmasında bana kazandırdığı araştırma disiplini ve bakış açıları için değerli hocam sayın Doç. Dr. Duygu Nur ÇOBANOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca bilgi birikimini ve önerilerini paylaşan, katkı ve önerileri ile çalışmamın gelişimini sağlayan ikinci danışmanım değerli hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Dılhun Keriman ARSERİM UÇAR'a teşekkür ederim. Tez izleme sınavlarım esnasında yaptıkları yönlendirmeler ve katkıları gerekse yapıcı geri bildirimleri ile tezimin gelişiminde büyük rol oynayan süreç boyunca gösterdikleri ilgi, sabır ve anlayış için kıymetli hocalarım sayın Doç. Dr. İbrahim Halil GEÇİBESLER ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Veysel SÜZERER'e teşekkür ederim. Tezimin TÜBİTAK proje aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, önerileriyle çalışmama önemli katkılar sunan, bilimsel yaklaşımımı geliştirmemi sağlayan değerli hocam sayın Prof. Dr. Aslı ÖZKIRIM'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam sırasında cihaz kullanımını sağlayarak sürecin sağlıklı bir şekilde ilerlemesine katkı sunan deneysel kısmını başarıyla gerçekleştirme fırsatı veren sayın Dr. Öğr. Üyesi Serhat KOÇYİĞİT'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam YÖK 100/2000 doktora öncelikli alanlar programı kapsamında desteklenmiştir. Tezimin bir bölümü TÜBİTAK 1002 A Hızlı Destek kapsamında desteklenmiştir. YÖK ve TÜBİTAK birimine teşekkür ederim. Tez çalışmamın laboratuvar aşamalarında yararlandığım Bingöl Üniversitesi Arı ve Doğal Ürünler Ar-GE ve Ür-GE Uyg. ve Araş. Merkezi ve Merkezi Laboratuvar Uyg. ve Araş. Merkezi'ne ve çalışanlarına teşekkür ederim. Tez sürecimde beni destekleyen ve kolaylıklar sağlayan değerli arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte her zaman yanımda olan, sabırları, sevgileri ve sonsuz destekleriyle bana güç veren canım aileme en derin teşekkürlerimi sunuyorum. Şefkati ve bitmek bilmeyen desteği için sevgili anneme minnettarım. Bana çalışkanlığı ve dürüstlüğü öğreten sevgili babama sonsuz özlem ve minnetle...

İkranur FELEK

Bingöl 2025

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
2.1. Arı Poleni	7
2.2. Monofloral ve Multifloral Arı Poleni	8
2.3. Arı Poleni Fizikokimyasal Özellikleri	9
2.4. Arı Poleninin Fenolik İçeriği ve Biyoaktivitesi	10
2.5. Arı Poleni ve Fermentasyon	13
2.6. Arı Poleni Ekstraksiyon Modelleri ve Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu	18
2.7. Arı Poleninin Potansiyel Gıda Uygulamaları	24
2.8. Enkapsülasyon Uygulamaları	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	28
3.1. Materyal	28
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Arı Polenlerinin Palinolojik Analizi	28
3.2.2. Arı Polenlerinin Fizikokimyasal Analizleri	29
3.2.2.1. Arı Polenlerinin Nem, Kül ve pH Analizleri	29
3.2.2.2. Arı Polenlerinin Protein İçeriği Analizi	30
3.2.2.3. Arı Polenlerinin %Yağ İçeriği ve Yağ Asidi Profili Analizi	30
3.2.2.4. Arı Polenlerinin Element İçeriklerinin Saptanması	31
3.2.2.5. Arı Polenlerinin Renk Analizi	33
3.2.3. Arı Polenlerinin Ekstraksiyonu ve Fermentasyonu	33
3.2.3.1. Arı Polenlerinin Gamma Işıma ile Sterilizasyonu	33

3.2.3.2. Arı Polenİ Örneklerinin Toplam Maya ve Kűf Analizi.....	34
3.2.3.3. Fermente Edilmemiş Arı Polenlerinin Ekstraksiyonu.....	34
3.2.3.3.1. Polen Örneklerinin Maserasyon Yöntemi ile Ekstraksiyonu	34
3.2.3.3.2. Polen Örneklerinin ASE Cihazı ile Ekstraksiyonu	35
3.2.3.4. Fermentasyon İşlemi	35
3.2.3.4.1. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG Bakteri Suşunun Çoğaltılması.....	35
3.2.3.4.2. Polen Örneklerinin Fermentasyonu.....	36
3.2.3.4.3. Polen Örneklerinde Toplam Laktobasil Sayısı Analizi....	37
3.2.3.4.4. Polen Örneklerinin Gram Boyama Analizi	38
3.2.3.5. Fermente Edilmiş Arı Polenlerinin Ekstraksiyonu.....	39
3.2.3.5.1. Maserasyon Yöntemi ile Ekstraksiyon İşlemi.....	39
3.2.3.5.2. ASE Cihazı ile Ekstraksiyon İşlemi.....	39
3.2.4. Arı Polenİ Ekstraktlarının Spektrofotometrik ve TEM Analizleri	39
3.2.4.1. Toplam Fenolik İçerik (TFİ) Analizi.....	39
3.2.4.2. DPPH• (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Analizi.....	40
3.2.4.3. ABTS•+ (2,2'-Azino-Bis(3-Etilbenzotiazoline-6-Sűlfonik Asit)) Analizi	40
3.2.4.4. CUPRAC (Bakır(II) İyonu İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasitesi) Analizi	41
3.2.4.5. Arı Polenİ Ekstraktlarının Fenolik Bileşiklerinin Analizi	41
3.2.4.6. Arı Polenİ Tanelerinin Duvar Yapılarının İncelenmesi.....	51
3.2.5. <i>Castanea sativa</i> Polen Ekstraktından Fiber Üretimi ve Karakterizasyon Analizleri	51
3.2.5.1. Kaplama Materyalinin Hazırlanması.....	51
3.2.5.2. Elektro Eğirme Cihazı için Besleme Çözeltinin Hazırlanması	52
3.2.5.3. Elektro Eğirme İşlemi.....	52
3.2.5.4. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi.....	53
3.2.5.5. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR) Analizi	53
3.2.6. <i>Castanea sativa</i> Polen Ekstraktı Yűklű Fiberlerin Tavuk eti Yűzeyine Uygulanması.....	53
3.2.6.1. TBARS Analizi (Lipit Peroksidasyon Analizi).....	54

3.2.6.2. Renk Analizi	55
3.2.7. İstatistiksel Analizler	55
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	56
4.1. Monofloral Arı Poleni Örneklerinin Palinolojik Doğrulanması	56
4.2. Arı Poleni Örneklerinin Fizikokimyasal Bulguları	57
4.2.1. Arı Polenlerinin %Nem, %Kül ve pH Değerleri	57
4.2.2. Arı Polenlerinin %Protein İçeriklerinin Belirlenmesi	59
4.2.3. Arı Polenlerinin %Yağ ve Yağ Asidi Profillerinin Belirlenmesi	60
4.2.4. Arı Polenlerinin Element İçeriklerinin Belirlenmesi	62
4.2.5. Arı Polenlerinin L*, a*, b* Değerlerinin Belirlenmesi	68
4.3. Arı Polenlerinin Fermentasyon Bulguları	70
4.3.1. Arı Polenlerinin Toplam Maya ve Küf Sayısının Belirlenmesi	70
4.3.2. Gram Boyama	71
4.3.3. Arı Poleni Örneklerinin Toplam Laktobasil Sayısının Belirlenmesi	73
4.4. Arı Poleni Örneklerinin Spektrofotometrik ve TEM Analiz Bulguları	75
4.4.1. Arı Poleni Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi	75
4.4.2. Arı Poleni Ekstraktlarının DPPH• Aktivitelerinin Belirlenmesi	81
4.4.3. Arı Poleni Ekstraktlarının ABTS•+ Aktivitelerinin Belirlenmesi	83
4.4.4. Arı Poleni Ekstraktlarının CUPRAC Aktivitelerinin Belirlenmesi	85
4.4.5. Arı Poleni Ekstraktlarının Fenolik Bileşik Profillerinin Belirlenmesi	91
4.4.6. Fermente Edilmiş Polen Tanelerinin Duvar Yapılarının İncelenmesi	100
4.5. <i>Castanea sativa</i> Arı Poleni ASE Ekstraktı Katkılı Fiberlerin Karakterizasyonu ve Gıda Uygulaması Bulguları	101
4.5.1. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Fiber Yapılarının Görüntülenmesi	101
4.5.2. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi Analizi	106
4.5.3. Tavuk Etinin Lipit Peroksidasyon Düzeyinin Belirlenmesi (TBARS Analizi)	108
4.5.4. Tavuk Etinin L*, a* ve b* Değerlerinin Belirlenmesi	112
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	115
KAYNAKLAR	118

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ASE	: Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu
DPPH	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
ABTS	: 2,2'-Azino-Bis (3-Etilbenzotiazoline-6-Sülfonik Asit)
TFİ	: Toplam fenolik içerik
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
MDA	: Malondialdehit
FTIR	: Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi
TE	: Troloks eşdeğeri
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
CUPRAC	: Bakır(II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasitesi
PVA	: Polivinil alkol
PLA	: Polilaktik asit
TBA	: Tiyobarbitürik asit
γ	: Gama
TCA	: Trikloroasetik asit
PE-PVA	: Polen ekstraktı yüklü polivinil alkol fiberleri
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi
ICP-MS	: İndüktif eşleşmiş plazma ve kütle spektrometresi
GC-MS	: Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi
KT	: Kontrol tavuk göğüs eti
CFU	: Koloni oluşturan birim
mL	: Mililitre
MAS	: Maserasyon
Et-Oh	: Etanol
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Tez çalışması deney tasarım şeması.....	27
Şekil 3.1.	Arı polenlerinin ekstraksiyonu ve fermentasyonu içeren deney tasarımı şeması.....	33
Şekil 3.2.	Arı poleni örneklerinden maserasyon yöntemi ile ekstrakt eldesi.....	34
Şekil 3.3.	Arı poleni örneklerinin ASE ekstraksiyon aşamaları.....	35
Şekil 3.4.	A- <i>L. rhamnosus</i> Kwik Stik, B-Üremiş <i>L. rhamnosus</i> ATCC içeren MRS broth besiyeri, C-Kontrol grubu MRS Broth içeren besiyeri.....	36
Şekil 3.5.	Polenlerin fermentasyon işlemi.....	37
Şekil 3.6.	Polen örneklerinin gram boyama aşamaları.....	38
Şekil 3.7.	Elüsyonda takip eden gradiyent koşulları.....	42
Şekil 3.8.	PVA kaplama materyali.....	51
Şekil 3.9.	<i>Castanea sativa</i> poleni ASE ekstraktı katkılı %14 PVA çözeltisi görseli.....	52
Şekil 3.10.	<i>Castanea sativa</i> poleni yüklü fiberlerin tavuk eti yüzeyine uygulanması.....	53
Şekil 3.11.	Tavuk etinin renk analizi görseli.....	54
Şekil 4.1.	Polen örneklerinin ışık mikroskobu görüntüleri (100X).....	57
Şekil 4.2.	Öğütülmüş polen örnekleri.....	70
Şekil 4.3.	Arı poleni örneklerinin toplam maya ve küf analizine ait petrilerin görüntüleri.....	72
Şekil 4.4.	Fermente arı poleni örneğinin gram boyama görüntüsü (100X).....	73
Şekil 4.5.	Petride laktobasil üremesi.....	75
Şekil 4.6.	A-TFİ Gallik asit standart eğrisi, B-Arı poleni ekstraktlarının TFİ sonuçları.....	80
Şekil 4.7.	A-DPPH Troloks standart eğrisi, B-Arı poleni ekstraktlarının DPPH aktivitesi sonuçları.....	82
Şekil 4.8.	A-ABTS Troloks standart eğrisi, B-Arı poleni ekstraktlarının ABTS aktivitesi sonuçları.....	84
Şekil 4.9.	A-CUPRAC Troloks standart eğrisi, B-Arı poleni ekstraktlarının	

CUPRAC aktivitesi sonuçları.....	86
Şekil 4.10. Fermente arı poleni içerisinde yer alan polen tanelerinin TEM mikrografları.....	101
Şekil 4.11. Fiberlerin farklı büyütmelelerdeki mikrografları ve fiber çap histogramları.....	104
Şekil 4.12. FTIR spektrumu.....	108

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1. Türkiye'nin yıllara göre arıcılık verileri	2
Tablo 2.1. Arı poleni ile ilgili yapılan <i>in vitro</i> antioksidan çalışmaları	12
Tablo 2.2. Arı poleni fermentasyon çalışmaları	15
Tablo 2.3. Arı poleni antioksidan aktivitesi ve uygulanan ekstraksiyon metotları	19
Tablo 2.4. ASE tekniği ile yapılan ekstraksiyon çalışmaları	22
Tablo 3.1. ICP-MS çalışma koşulları	32
Tablo 3.2. Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı	44
Tablo 4.1. Arı poleni örneklerinin botanik kaynakları	56
Tablo 4.2. Arı polenlerinin %nem, %kül ve pH değerleri	59
Tablo 4.3. Arı poleni örneklerinin %protein ve %yağ içerikleri	60
Tablo 4.4. Arı poleni örneklerinin %yağ asidi profilleri	61
Tablo 4.5. Arı poleni örneklerinin element içerikleri (mg/kg)	68
Tablo 4.6. Arı polenlerinin L*, a*, b* değerleri	70
Tablo 4.7. Arı poleni örneklerinin toplam laktobasil sayıları	73
Tablo 4.8. Arı poleni ekstraktlarının TFI (mg GAE/g ekstrakt) değerleri	80
Tablo 4.9. Arı poleni ekstraktlarının DPPH• aktivite değerleri	82
Tablo 4.10. Arı poleni ekstraktlarının ABTS•+ aktivite değerleri	84
Tablo 4.11. Arı poleni ekstraktlarının CUPRAC aktivite değerleri	86
Tablo 4.12. Arı poleni ekstraktlarının fenolik profilleri	96
Tablo 4.13. Kontrol tavuk etinin 0. gün TBARS ve renk değerleri	111
Tablo 4.14. Tavuk etlerinin farklı günlere ait TBARS değerleri	111
Tablo 4.15. Tavuk etlerinin farklı günlere ait L* değerleri	113
Tablo 4.16. Tavuk etlerinin farklı günlere ait a* değerleri	114
Tablo 4.17. Tavuk etlerinin farklı günlere ait b* değerleri	114

MONOFLORAL ARI POLENİ VE FERMENTE ARI POLENİ ÖRNEKLERİNDEN FARKLI YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN FİZİKO-KİMYASAL, BİYOKİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ AÇISINDAN GIDA KORUMA TEKNOLOJİSİNDEKİ POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Tez çalışması kapsamında, Türkiye’de üretilen farklı monofloral (*Castanea sativa*, *Papaver* sp., *Cistus* sp.) arı polenlerinin fizikokimyasal farklılıklarının saptanması, fermentasyonunun ve farklı ekstraksiyon metotlarının biyolojik aktif bileşen içeriği ve antioksidan aktiviteye etkisinin belirlenmesi ile antioksidan aktivitesi en yüksek polen ekstraktı katkılı elektro eğirme yöntemi yardımı ile elde edilen mikro-nanofiberlerin tavuk etinin raf ömrü üzerindeki etkinliğinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda, fizikokimyasal analizler sonucunda polen örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır. Spektrofotometrik analizler sonucunda, en yüksek antioksidan aktivite fermente edilmemiş *Castanea sativa* arı poleni ASE ekstraktlarında belirlenmiştir. Ancak, fenolik profil içeriğinin fermentasyonla beraber tüm polen örneklerinde arttığı belirlenmiştir. TEM sonuçlarına göre, fermentasyon işleminin polenin duvar yapısını apertür kısımlarından bozduğu görülmüştür. Fermentasyon işlemi ile toplam laktobasil sayısı *Castanea sativa* poleninde $3,610 \pm 0,073$, *Papaver* sp. poleninde $6,39 \pm 0,057$, *Cistus* poleninde ise $5,033 \pm 0,009$ log CFU/g olarak bulunmuştur. Fermentasyon işlemi tüm arı poleni örneklerinde ferulik asit, kumarik asit, kaempferol içeriğini arttırmıştır. ASE ekstraksiyonu, maserasyona göre biyoaktiviteyi daha fazla arttırmıştır. Doğal antioksidanlara ilgi artmış bu kapsamda arı poleni ekstraktı içeren fiberlerin gıdalarda kullanımı araştırılmıştır. Elektro eğirme cihazı ile fiber üretimi için antioksidan aktivitesi güçlü olan *Castanea sativa* polen ekstraktı tercih edilmiştir. Elde edilen fiberlerin SEM analizleri sonucunda artan polen ekstraktı konsantrasyonu ile polen yüklü PVA fiberlerin ortalama çaplarının kalınlaştığı bulunmuş olup saf PVA fiber görüntüsüne göre rastgele düzensiz dağıldığı ve kümeleşmelerin varlığı gösterilmiştir. FTIR analizi ile bantlar incelendiğinde polen yüklenmesi ile PVA fiberlerin polen ekstraktının pikleri ile örtüştüğü görülmektedir. Artan polen ekstraktı konsantrasyonu ile piklerin absorbans değerlerinde artış saptanmıştır. Fiberlerin tavuk göğüs etine kaplanması sonucu TBARS değerinde 3. ve 7. günlerde istatistiksel anlamda anlamlı fark saptanmış olup lipid oksidasyonunu önlemede polen ekstraktı katkılı fiberlerin etkili olduğu bulunmuştur. Renk analiz bulgularında L*değerinde depolama sürecinde istatistiksel farkların var olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma arı poleni ekstraktı içeren mikro-nanofiberlerin gıda uygulamasında ilk örneklerden olup, elde edilen sonuçlar doğal içerikli koruyucu materyallerin gıda endüstrisindeki yerinin güçleneceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Arı poleni, *Castanea sativa*, *Papaver* sp., *Cistus* sp., fermentasyon, ASE, antioksidan, LC-MS MS, Mikro-nanofiber, Elektro eğirme, Monofloral

INVESTIGATION OF THE POTENTIAL OF EXTRACTS OBTAINED BY DIFFERENT METHODS FROM MONOFLORAL AND FERMENTED BEE POLLEN SAMPLES IN FOOD PRESERVATION TECHNOLOGY IN TERMS OF THEIR PHYSICO-CHEMICAL, BIOCHEMICAL, AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the physicochemical differences of different monofloral (*Castanea sativa*, *Papaver* sp., *Cistus* sp.) bee pollen produced in Turkey, to determine the effect of fermentation and different extraction methods on biologically active component content and antioxidant activity, and to determine the effectiveness of micro-nanofibers obtained by electro-spinning method with the most active pollen extract on the shelf life of chicken meat. In this context, statistically significant differences were found between pollen samples as a result of physicochemical analysis. As a result of spectrophotometric analysis, the highest antioxidant activity was determined in unfermented *Castanea sativa* bee pollen ASE extracts. However, phenolic profile content was found to increase with fermentation in all pollen samples. According to TEM results, it was observed that the fermentation process disrupted the wall structure of the pollen from the aperture parts. The total number of lactobacilli was found to be 3.610 ± 0.073 log CFU/g in *Castanea sativa* pollen, 6.39 ± 0.057 log CFU/g in *Papaver* sp. pollen and 5.033 ± 0.009 log CFU/g in *Cistus* pollen. Fermentation process increased ferulic acid, coumaric acid, kaempferol content in all bee pollen samples. ASE extraction increased bioactivity more than maceration. Interest in natural antioxidants has increased and in this context, the use of fibers containing bee pollen extract in foods has been investigated. *Castanea sativa* pollen extract with strong antioxidant activity was preferred for fiber production with electro spinning device. As a result of SEM analysis of the obtained fibers, it was found that the average diameters of pollen-loaded PVA fibers thickened with increasing pollen extract concentration, and it was shown that they were randomly irregularly distributed. When the bands were examined by FTIR analysis, it was observed that PVA fibers overlapped with the peaks of pollen extract with pollen loading. As a result of coating the fibers on chicken breast meat, a statistically significant difference was found in TBARS value on the 3rd and 7th days and it was found that pollen extract added fibers were effective in preventing lipid oxidation. In the color analysis findings, it was determined that there were statistical differences in L* value during the storage process. This study is one of the first examples of micro-nanofibers containing bee pollen extract in food application and the results obtained are predicted to strengthen the place of natural preservative materials in the food industry.

Keywords: Bee pollen, *Castanea sativa*, *Papaver* sp., *Cistus* sp., fermentation, ASE, antioxidant, LC-MS MS, Micro-nanofiber, Electrospinning, Monofloral

1. GİRİŞ

Arıcılık; bal arılarının ve bitkisel kaynakların kullanıldığı, başta bal olmak üzere, balmumu, polen, propolis, arı zehri, arı sütü, ana arı, oğul üretiminin gerçekleştirildiği faaliyetlerin bütünüdür. Arıcılık faaliyeti için düşük başlangıç sermayesi ve az girdi gerekmektedir. Arıların yaşam biçimlerine ve arıcılıktan elde edilen ürünlere dikkat edildiğinde doğaya olan bağlılığın oldukça önemli olduğu görülmektedir. Arıcılığın, bitkisel üretimin temel taşı olan polinasyona sağladığı katkı oldukça büyüktür. Bunun yanında geçmişten günümüze arıcılıkla elde edilen ürünlerden ekonomik ve besin değeri yüksek gıda, terapötik uygulamalar, kozmetik ve farmakolojik birçok alanda faydalanılmaktadır (Bölüktepe ve Yılmaz 2008; Parlakay vd., 2008; Sancak vd. 2013; Ceyhan vd., 2016).

Ülkemiz; iklim özellikleri, coğrafi yapı ve floral çeşitlilik bakımından dünyada oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu olumlu etkiler arıcılık faaliyetinin geniş ölçekte uygulanmasını mümkün kılmaktadır. Dünyadaki ballı bitki florasının 3/4'ü Türkiye'de bulunmaktadır. Bu durum, arıcılığın ülkemiz için önemli potansiyele sahip bir iş kolu olduğunu göstermektedir (Sancak vd., 2013; Ceyhan vd., 2016). Arıcılık ülkemizin her bölgesinde yapılmaktadır. Her bölgenin farklı çevresel koşullara sahip olması, çiçeklenme dönemlerinin ayrı zamanlarda gerçekleşmesi polen ve nektar kaynağından yıl boyunca faydalanmayı mümkün kılmaktadır (Semerci, 2017). TÜİK verilerine göre (Tablo 1.1) Türkiye'de arıcılık yapan işletme sayısının 2015 yılında 83475 olduğu, 2024 yılına gelindiğinde ise bu sayının 97984'e ulaştığı görülmektedir. Tablo 1'deki veriler dikkate alındığında Türkiye'ye ait toplam kovan sayısının geçtiğimiz 10 yıl içinde arttığı anlaşılmaktadır (TÜİK, 2025). Bu veriler ülkemizde arıcılığa yönelimin her geçen gün arttığını göstermektedir.

Tablo 1.1. Türkiye'nin yıllara göre arıcılık verileri

YILLAR	EKS	YKS	AFYİS	DOĞAL BAL (TON)	BALMUMU (TON)
2015	222635	7525652	83475	108128,357	4755,528
2016	220882	7679482	84047	105727,435	4440,158
2017	194406	7796666	83210	114471,450	4488,117
2018	203922	7904502	81830	107920,097	3987,13
2019	198992	7929368	80675	109329,575	3971,118
2020	222152	7956933	82862	104076,647	3765,175
2021	277089	8456305	89361	96344,311	3765,975
2022	249738	8734938	95386	118297,464	4165,004
2023	255494	8969387	100399	114886,428	3970,914
2024	244813	8717162	97984	95492,311	3315,791

*Eks- Eski Tip Kovan Sayısı, Yks-Yeni Tip Kovan Sayısı, Afyis-Arıcılık Faaliyeti Yapan İşletme Sayısı.

Eski Mısırlılar poleni hayat veren toz olarak tanımlamaktadır. Polen kelimesi Latince olup ilk kez John Ray tarafından *Historia plantarum*'da (1686) kullanılmıştır. Arı polenin insan beslenmesinde kullanımı 2. Dünya savaşı sonrasında geliştirilen polen tuzaklarıyla birlikte başlamıştır (Campos vd., 2010). Arı poleni, bal arısının bitkilerden topladığı polenleri ağız salgıları ve nektar ile birleştirerek pelet haline getirdiği yapılardır. Vitaminler, karotenoidler ve polifenoller gibi içeriğindeki aktif doğal metabolitlerin varlığı nedeniyle arı poleni, önemli birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Yapılan çalışmalarda arı polenin; anitoksidan, antimikrobiyal, antikanserojen aktivite, hepatoprotektif ve kardiyoprotektif etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca esansiyel yağ asitleri, fosfolipitler, fitosteroller, flavonoidler ve fenolik asitler arı poleninde farmakolojik aktivite gösteren maddeler olarak bulunmuştur.

Son yıllarda fonksiyonel gıdaların tüketiminin sağlığı iyileştirdiğine yönelik inanç artmakta ve tüketicilerin gıda tercihlerini bu yönde yaptıkları görülmektedir. Arı poleni çeşitli besin maddelerini içermesi nedeniyle potansiyel gıda takviyesi olarak düşünülmektedir. Piyasada granül, kapsül, tablet olarak satışa sunulmaktadır. Bunun yanı sıra günümüzde yapılan çalışmalarda arı poleni; şekerleme, meyve suyu, fırıncılık ürünleri, et ürünleri ve fermente ürünler dahil olmak üzere farklı ürünlerde katkı maddesi

olarak denenmiş olup, bu fonksiyonel ürünlerin fiziko-kimyasal, antioksidan, antimikrobiyal aktivite gibi birtakım analizleri yapılmıştır (Kosti'c vd., 2020).

Arı poleninin bileşimi, bitki kökeni, iklim koşulları ve arıların özel polen toplama davranışları gibi faktörlere bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir (Khalifa vd., 2021; Kosti'c vd., 2015) Çalışmalar, arıların seçici yiyecek arama davranışları sergilediklerini, beslenme ihtiyaçlarını karşılamak için genellikle sınırlı sayıda bitki türünden polen toplamayı tercih ettiklerini göstermiştir (Nicolson, 2011; Russo ve Danforth, 2017). Bu seçici özellik sayesinde, arı poleninin besinsel değeri yüksektir. Ayrıca arı poleninin besin profili, terapötik potansiyeli ile ilişkilendirilmiştir ve araştırmalar, arı poleninin kardiyovasküler sorunlar ve bazı kanser türleri dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların önlenmesinde rol oynayabileceğini göstermiştir (Khalifa vd., 2021; Algethami vd., 2022).

Arı poleni, bitki kaynağına bağlı olarak monofloral, bifloral ve polifloral olarak sınıflandırılmaktadır. Arı poleninin bitkisel kaynağının bilmek, besin değerlerini, sağlık yararlarını, arıcılık ve insan beslenmesindeki uygulamaları değerlendirmek için gereklidir. Monofloral arı poleni, ağırlıklı olarak tek bir bitki türünden elde edilmektedir, bu da o bitki ile ilgili belirli biyokimyasal ve organoleptik özellikleri korumasını sağlamaktadır. Ayrıca, monofloral arı poleninde bulunan fenolik bileşikler, antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler de dahil olmak üzere çeşitli sağlık yararlarıyla ilişkilendirilmiştir (De Melo vd., 2018; Rajs vd., 2022) Polifloral arı poleni, birden fazla bitki türünden toplanan polen tanelerinden oluşmaktadır (Muturi vd., 2022).

Arı poleninin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için, fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonunun yapılması gerekmektedir. Ekstraksiyon işlemi numune matris özelliklerine, analitlerin kimyasal özelliklerine ve matris-analit etkileşimlerine dayanmaktadır. Bu nedenle uygun bir ekstraksiyon yöntemi ve çözücüsü seçmek gerekliliği oluşmaktadır. Bunun yanı sıra ekstraksiyon işleminde göz önünde bulundurulması gereken diğer parametreler ekstraksiyon tipi, süresi, çözücü:hammadde oranı ve ekstraksiyon sıcaklığı-basıncıdır. Bütün bu değişkenler düşünüldüğünde arı poleni için en uygun ekstraksiyon sürecini belirlemek amacıyla farklı yöntemlerin karşılaştırılması önemli olmaktadır.

Arı polenini oluşturan, bitki polen tanelerinin güçlü duvar yapısı, biyoyararlanımını sınırlandırmaktadır. Olgun bitki polen tanesinin duvarı intin ve ekzin tabakalarından oluşmaktadır. İntin yapısı bileşiminde pektin, selüloz ve protein bulunmaktadır. Bununla birlikte ekzin yapısı ise esas olarak selüloz ve sporopolleninden oluşmaktadır. Sporopollenin oldukça kararlı bir biyopolimerdir. Bu önemli yapı poleni korozyon, asit, biyolojik bozulma ve diğer çevresel etmenlere karşı korumaktadır. Yapılan çalışmalarla, bileşimini oluşturan polen tanelerinin duvar yapılarının güçlü olması nedeni ile, arı poleninde bulunan besin maddelerinin sindirilebilirliği, biyoyararlanımı düşüktür ve tam olarak emiliminin gerçekleşmediği saptanmıştır (Poyraz vd., 2023). Arı poleninin %10-15'inin insanlar tarafından sindirilebilir olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle arı poleninin aktif bileşenlerinin açığa çıkmasını sağlamak ve biyoyararlanımı iyileştirmek amacıyla içeriğini oluşturan polen tanelerinin hücre duvar yapısının bozulması önemli olmaktadır. Polen hücre duvarı yapısının bozulmasını sağlamak amacıyla fiziksel ve biyolojik yöntemler kullanılmıştır. Mikrobiyal fermentasyon bitki poleni hücre duvarının yapısını bozmak için kullanılan yeşil ve çevre dostu bir biyolojik yöntemdir. Fermentasyon işlemi fermente ürünlerin katma değerinin arttırmaya elverişli olan, bitki substratlarından ya da gıda maddelerinden aktif bileşenlerin salınmasını teşvik eden önemli bir yöntemdir. Önceki araştırmalar arı polenin fermentasyonunun, içeriğini oluşturan polen tanelerinin hücre duvarı yapısını bozması üzerine odaklanmıştır (Cruz-Casas vd., 2021; Mora-Adames vd., 2021; Barta vd., 2022).

Mikro-nanoenkapsülasyon, polifenol biyoyararlanımında ve stabilitesinde, ayrıca toksisite azaltmada ve biyoaktif bileşenlerin işlevselliğini geliştirmede kullanılan yararlı bir teknolojidir. Bu teknoloji ile farklı gıdaların yeniden formülasyonu, gıdaların raf ömrünün uzaması ve gıdalara yeni fonksiyonel özellik kazandırılması sağlanmıştır (El-Kholy vd., 2019). Mikro-nanofiberler yüksek yüzey alanı ve ayarlanabilir gözenek boyutu gibi oldukça önemli özelliklere sahiptir. Bu malzemeler ile farklı özellikte filtreleme ve paketlenme materyalleri geliştirilebildiği çalışmalarda gösterilmiştir. Elektro eğirme mikro-nanolif üretebilen ucuz, yüksek sıcaklık gerektirmeyen, çeşitli kaplama materyallerinin kullanılabildiği enkapsülasyon amacıyla tercih edilen tekniklerden biridir. Elektro eğirme işleminde, polimer çözeltisi, kılcal borudan elektrik alan kuvveti ile ekstrüde edilir ve kılcal borunun sonunda bir Taylor konisi oluşturulur. Elektrik alan yoğunluğu arttıkça Taylor konisinin yüzeyinde biriken pozitif yükler, yüzey gerilimini

yenerek sıvının püskürmesine neden olur. Çözücü hızla buharlaşarak sürekli bir ultra ince polimer elyaf elde edilir (Pakolpakçıl ve Draczynski, 2021).

Gıdaların işlenmesi sırasında uygulanan işlemler (örneğin, pastörizasyon) biyoaktif maddelerin kaybolmasına neden olabilmektedir. Yeni teknoloji olarak ortaya çıkan enkapsülasyon prosesleri ile biyoaktif bileşenlerin olumsuz etkilere karşı korunup biyoyararlanımlarının artırılması hedeflenmektedir. Enkapsülasyon teknolojisinde biyoaktif madde biyopolimer ile kaplanarak kapsül içine hapsedilmektedir. Böylelikle aktif bileşenler koruyucu kaplama ile kaplanıp uygun koşullarda ve hızda salınabilmektedir (Çoruhli, 2013; Demircan, 2016).

Tez çalışması kapsamında monofloral arı poleni ve fermente arı poleni örneklerinden farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktların fiziko-kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri açısından gıda koruma teknolojisindeki potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır. *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. monofloral arı polenlerinin botanik kaynakları doğrulanmıştır. Monofloral polenler arasında besinsel içerik ve organoleptik özellikler açısından farklar ortaya konulmuştur. Ayrıca monofloral arı polenlerinin botanik kaynakları ile karakteristik özellikleri analiz sonuçları ile belirlenmiştir.

“Botanik kaynakları belirlenen monofloral arı poleni örneklerinin ve fermente polen örneklerinin biyolojik içerikleri ve aktiviteleri açısından farkları var mıdır, antioksidan farkları belirlerken polifenol ekstraksiyonunda uygun metodoloji ne olmalıdır, Belirlenen metodolojiye göre uygun parametre koşulları nelerdir?” şeklindeki sorulara cevaplar aranmıştır. Sonuçta palinolojik analizler ile botanik kaynağı tespit edilen arı polenlerinde baskın olan bitki taksonu belirlenmiş olup yapılan biyoaktivite testleri ile baskın bitki taksonu içeren monofloral polenler arasında biyoaktif içerik açısından farklar ortaya konulmuştur. Arı poleni örneklerinin biyolojik aktiviteleri kıyaslanıp hangi bitki taksonunun (monofloral polen kaynak oluşturan) daha faydalı olabileceği tespit edilmiştir. Arı poleni ekstraksiyonunda, yenilikçi yöntem olan ASE ve biyotransformasyon (mikrobiyal fermentasyon) yöntemleri kullanılarak, polenin ekzin tabakasının parçalanması sağlanıp içeriğindeki değişimler saptanmıştır. Geleneksel yöntem olan maserasyon, yeşil teknik olarak bilinen ASE ve yine yeşil teknik ve

biyolojik bir yöntem olarak bilinen fermentasyon tekniğinin fenolik içerik ve antioksidan aktivite üzerine etkileri kıyaslanmıştır. Literatür verileri incelendiğinde daha önce *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. arı poleni örneklerinin birlikte değerlendirildiği bir fermentasyon çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile ilk kez arı poleni örneklerinden polifenollerin ekstraksiyonunda yeşil teknik olarak bilinen yenilikçi işleme teknolojilerinden olan hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE) kullanılarak fermente edilmiş ve fermente edilmemiş arı poleni ekstraktları elde edilmiştir. Maserasyon, ASE ve fermentasyon tekniği uygulanarak bu yöntemlerin polifenolik içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin kıyaslandığı çalışmalara literatürde rastlanılmamıştır. Antioksidan aktivite yönüyle en etkili içeriğe sahip ekstrakt tespit edilmiştir.

Çalışmanın son bölümünde en yüksek antioksidan aktiviteye sahip ekstraktın model gıdada kullanımının değerlendirilmesi amacıyla elektro eğirme tekniği ile mikro-nanofiber yapıları elde edilmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde üretilen fiberlerin PVA polimeri ile kaplandığı ve fiberlerin ortalama çaplarının artan ekstrakt konsantrasyonu ile arttığı bulunmuştur. FTIR analizi ile farklı oranlardaki polen katkılı fiberlerde PVA polimer yapısı korunarak ilgili fenolik bileşiklerin yapıda yer aldığı piklere rastlanılmıştır. Tez çalışması ile ilk kez ASE ile elde edilen *Castanea sativa* arı poleni ekstraktının değişen oranları elektro eğirme yöntemiyle fiber üretiminde kullanılmıştır.

Son yıllarda gıdalarda sentetik koruyucuların yerine doğal antioksidanlara olan ilgi artmaktadır. Bu antioksidan moleküllerin etkinliğinden uzun süre faydalanmak için enkapsülasyon uygulamaları yapılmaktadır. Sonuçta *Castanea sativa* ASE arı poleni ekstraktı içeren fiberlerin, tavuk etinin raf ömrü boyunca lipid oksidasyonunun azaltılmasında etkili olduğu saptanmıştır. Bu çalışma arı poleni ekstraktı katkılı PVA fiberlerin gıda uygulaması yönüyle literatürde ilk olmuştur. Arı polenin, etkili biyoaktivitesi ile ilerleyen yıllarda gıda uygulamalarında kullanılarak daha fazla çalışmalara konu olabileceği düşünülmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Arı Polenİ

Bitki poleni, tohumlu bitkilerde vejetatif (gelişmeye ait) ve generatif (üremeye ait) olmak üzere iki çekirdeğe sahip bitkinin anterinde üretilen mikrosporlardır. Arı poleni bal arısı (*Apis mellifera*) tarafından larva ve genç arıları beslemek amacı ile toplanmaktadır. Bal arıları (*Apis mellifera*) bitkilerden topladıkları polenleri oral salgılarıyla birleştirerek pelet haline getirirler ve arka bacaklarında bulunan polen keseleri vasıtasıyla kovana taşırlar. Arıcılar tarafından kovan girişine takılan polen tuzakları ile arı poleni hasat edilmektedir. Bu şekilde toplanan arı poleninin nem içeriği oldukça yüksektir. Bu nedenle yeni hasat edilen polen örnekleri hemen tüketilmeli ya da hızlı bir şekilde kurutularak uygun depolama koşullarında saklanmalıdır (Denisow ve Denisow-Pietrzyk, 2016; Kieliszek vd., 2018).

Bitki polenlerinin dolayısı ile arı poleninin rengi sarıdan siyaha, siyahtan kırmızıya kadar değişebilmektedir. Bileşiminde insan sağlığı açısından önemli maddeler bulunduran polenin rengi ve kimyasal içeriği botanik kaynağına göre farklılıklar göstermektedir (Genç, 1993; İsmail vd., 2013).

Bir arı polen peleti, binlerce bitki polen tanesi içermektedir (Aylanc vd., 2021). Bir bitki poleni tanesinin dış kabuğu (sporodermis) ekzin ve intin olmak üzere iki ana katmandan oluşmaktadır. İntin, selüloz ve pektinden oluşan bir iç tabakadır; ekzin ise olağanüstü kimyasal ve biyolojik direnç sağlayan sporopollenin bakımından zengin, daha sert bir dış tabakadır (Wang ve Dobritsa, 2018). Polen tanesinin dış tabakası olan ekzin, esas olarak kimyasal ve termal stabilitesi ile bilinen oldukça dayanıklı bir biyopolimer olan sporopolleninden oluşur (Qu ve Meredith, 2018). Bu sağlam yapı, polenin iç içeriğini çevresel bozulma ve mikrobiyal saldırılardan koruyan koruyucu bir bariyer görevi görmektedir (Tainsh vd., 2021). Sporopollenin uzun zincirli yağ asitleri, fenilpropanoidler, fenoller ve eser miktarda karotenoid içerir ve bunların hepsi hidrofobik

özelliklerine, yapısal gücüne ve antioksidan kapasitesine katkıda bulunur (Hegedüs vd., 2021). Sonuç olarak, ekzin bitki polenin çevresel tehditlere karşı korunmasında çok önemli bir rol oynar. Ekzin ayrıca farklı bitki türleri arasında bileşiminde önemli ölçüde değişkenlik gösterir, bu da polen tanelerinin yüzeyinde gözlemlenen desen ve süslemelerin çeşitliliğine neden olur (Wang ve Dobritsa, 2018). Bu değişkenlik, polenin çevreyle ve çiçeklerin dışı üreme yapılarıyla etkileşime girme yeteneğini etkileyebilmektedir.

Arı poleninin biyoyararlanımı, onu oluşturan bitki polenlerinin bozunmaya dirençli ekzin olarak bilinen dış tabakası tarafından kısıtlanmaktadır. Dolayısı ile ekzin tabakası, arı poleninin işlevselliğini ve biyoyararlanımını etkileyen kritik bir yapıdır. Son zamanlarda ekzin tabakasının yapısını bozarak, polenin besinsel ve işlevsel profilini iyileştirmek için fiziksel ve biyoteknolojik teknikler geliştirilmiştir (Alcalá-Orozco vd., 2024). Bu teknikler, fermantasyon ve kurutma gibi geleneksel yöntemlerden, enzimatik hidroliz ve ultrason işlemi gibi modern yeniliklere kadar uzanmaktadır (Kanar ve Mazi, 2019; Zhu vd., 2024; Zuluaga-Domínguez vd., 2019; Zuluaga-Dominguez ve Quicazan, 2019). Tüm bu teknolojiler polen tanesinin ekzininin yapısını bozarak besinlerin ve biyoaktif bileşiklerin biyoyararlanımını artırmayı amaçlamaktadır (Hegedüs vd., 2021).

2.2. Monofloral ve Multifloral Arı Poleni

Arı poleni yani polen peletinin bitkisel kaynağı palinolojik analizlerle belirlenmektedir. Arı poleninin bitkisel kaynağı; besinsel, fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Mikroskobik analizler sonucunda, tek tip bitki türünden (en az %80'i aynı bitkiye ait polen tanelerinden) oluşan, aynı organoleptik ve biyokimyasal özellikler gösteren polenler “**monofloral arı poleni**” olarak kabul edilmektedir. Arılar, arılığın çevresinde floranın yetersiz olması durumunda farklı botanik kaynaklardan yararlanmaktadır. Topladıkları farklı bitki polen tanelerini ağız salgıları ve bir miktar nektar ile karıştırarak pelet haline getirip, **multifloral arı polenini** oluşturmaktadır (Barth vd., 2010; Thakur ve Nanda, 2020; Alimoglu vd., 2021). Günümüzde monofloral ve multifloral arı poleninin, biyoaktif bileşen içeriği farklıdır, bu nedenle arı poleninin bitkisel kaynağının belirlenmesi önem kazanmaktadır. Biyoyararlılığı değişen arı poleninde ortaya çıkan ekonomik değer farkı nedeniyle,

botanik kaynak tespiti büyük önem taşımaktadır (Alimoglu vd., 2021). Bir çalışmada laden arı poleninin kestane arı polenine göre karotenoid içeriğinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu polenlerin sterol içeriklerinin farklı olduğu belirlenmiş, laden arı poleninde delta-5-avenasterol baskın iken, kestane arı poleninde betasitosterol baskın olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada polen alerjisi açısından da polenin botanik kaynağının belirlenmesinin önemli olduğu belirtilmiştir (Silici, 2015).

2.3. Arı Polenİ Fizikokimyasal Özellikleri

Arı poleni, ergin larvalar ve genç işçi arılar için önemli bir protein kaynağıdır. Protein içeriğinin yanında yapısında karbonhidratları, yağ asitlerini, turuncudan kırmızıya değişen renk pigmentlerini, çeşitli vitaminleri (A, B2, B3, B5, C, E gibi), mineralleri, polifenoller, karotenoidleri ve bazı enzimleri bulundurmaktadır. Arı poleni içeriğinden ötürü tam eksiksiz besin olarak kabul edilmektedir. Arı polenin kimyasal içeriğini; botanik orijin, coğrafi köken, toprak tipi ve arıcılık uygulamaları önemli ölçüde etkilemektedir (Genç ve Dodoloğlu, 2002; Almeida-Muradian vd., 2005). Arı poleni kuru ağırlıkta %40-85 oranlarında karbonhidratları içermektedir. Polende baskın şeker, fruktoz olup bunu takiben glukoz ve sukroz gelmektedir. Oligosakkaritler ve polisakkaritler de polenin yapısında bulunan önemli bileşenlerdir. Karbonhidratlardan sonra arı poleninde bulunan önemli gruba proteinler oluşturmaktadır. Kuru ağırlıkta ortalama %14-30 aralığında protein bulunmaktadır (Başdoğan vd., 2019). Prolin, glutamik asit ve aspartik asit başlıca aminoasitleri oluşturmakla birlikte neredeyse aminoasitlerin tamamını bulundurabilmektedir. Prolin ve glutamik asit varlığı arı poleninin kalitesiyle ilişkilendirilip 20 mg/g değerinden yüksek glutamik asit miktarı tazeliğin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Urcan vd., 2017; Li vd., 2018). Yapılan çalışmalar sonucu arı poleninde yaklaşık 20 yağ asidi tanımlanmış olup, linolenik ve palmitik asidin majör olarak bulundukları belirtilmiştir (Li vd., 2018). Yağ asitlerinin toplam doymamışlığının doymuşluğa oranının 1,57-1,92 arasında olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Lipit içeriğinin kuru ağırlıkta yaklaşık %1-10 aralığında olduğu ifade edilmiştir. Arı poleni vitaminlerce zengin bir kaynaktır. B grubu vitaminleri içermekle birlikte, nikotinamid ve niasin yapısında en çok bulunan B grubu vitaminlerdir. Ayrıca yapısında A, C ve E vitaminleri de tespit edilmiştir. Arı poleni potasyum (K), sodyum (Na), kalsiyum (Ca),

magnezyum (Mg), fosfor (P), çinko (Zn), bakır (Cu), mangan (Mn) gibi önemli mineralleri içermektedir (Campos vd., 2008; Li vd., 2018).

Arı poleni yapısında yaklaşık %0,7 oranında lipofilik A ve E vitaminleri ile hidrofilik vitaminler olan B grubu vitaminleri ve C vitaminini içermektedir. Türkiye’den toplanan 30 arı poleni örneğinde A, C ve E vitamin düzeyleri belirlemeye yönelik bir çalışma yapılmıştır. Sonuçta vitamin içerikleri sırasıyla; A vitamini 22,0-53,7 µg/g, C vitamini 304,3-768,3 µg/g ve E vitamini 180,0-340,7 µg/g olarak bulunmuştur (Alayunt vd., 2013). Brezilya bölgesine ait farklı arı polenlerinin vitamin içerikleri belirlenmiş ve C vitamini değeri 14-119 µg/g, E vitamini değeri ise 19,4-43,0 µg/g olarak tespit edilmiştir (Melo ve Almeida-Muradian, 2010). Bunun yanı sıra arı poleninde A vitaminlerinin öncülü olarak da bilinen karotenoidleri içermesidir (Kostić vd., 2020). Vitaminler ve karotenoidlerin yoğun çift bağ mevcudiyeti nedeniyle yapıları oldukça kararsızdır. Bu sebeple arı polenine uygulanan sıcak hava ile kurutma, uzun süre pişirme ve depolama koşullarında bu yapılar bozulabilmektedir. Bu değerli bileşenlerin düzeylerinde azalma ve kayıplar meydana gelebilir (Simpson, 1983). Arı poleni içerdiği magnezyum (Mg), çinko (Zn), demir (Fe), kalsiyum (Ca), fosfor (P), potasyum (K) gibi mikro besin elementleri yönünden insan beslenmesinde ilgili eksiklik durumunda gıda takviyesi olarak düşünülebilecek iyi bir kaynaktır (Li vd., 2018). Selenyum (Se), insan vücudunda selenoproteinler için kofaktör olması özelliği ile fizyolojik sürece ciddi katkısı olan bir elementtir. Polenin yaklaşık %0,02 oranında Se içerdiği çalışmalarda belirtilmiş olup bu nedenle beslenmede Se kaynağı olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür. Bu bağlamda yapılan analizlerde mısır poleni örneğinde 69-176 µg/g, Ürdün arı poleninde ise 1752-3030 µg/g düzeylerinde bulunmuştur (Kostić vd., 2020).

2.4. Arı Poleninin Fenolik İçeriği ve Biyoaktivitesi

Polifenoller, patojen gelişimi gibi biyolojik ve UV radyasyon, yüksek sıcaklık gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olan çevresel faktörlere karşı korunmada önemli aktivite göstermektedir. Bu nedenle oldukça önemli antioksidanlardır (Mierziak vd., 2014). Campos vd. (2003), bazı arı poleni örneklerini inceleyip yapısında kuersetin, mirisetin ve luteolin flavonoid aglikonlarını tespit etmişlerdir. Güney Brezilya arı polenine yönelik yapılan bir çalışmada rutin ve mirisetin fenoliklerinin yüksek

miktarlarda bulundukları saptanmıştır (Carpes vd., 2008). Kuzeydoğu Brezilya'ya ait 22 arı poleni örneğinin izoquersetin, mirisetin, trisetin, quersetin, luteolin, selagin, kaemferol ve izorhamnetin içerdikleri tespit edilerek bütün örneklerde izorhamnetin 3-*O*- β -neohesperiosid bulunduğu belirlenmiştir (Freire vd., 2012). Sırbistan'dan toplanan arı polenlerinin fenolik içeriğine yönelik yapılan çalışmada 19 flavonol glikozit ve 18 polifenol çeşidi olmak üzere toplam 37 farklı polifenol bulunmuştur. Qersetin-3-*O*-galaktosid en baskın bileşik olarak tespit edilmiştir. Qersetin-3-*O*-rhamnosid, izorhamnetin-3-*O*-rutinosid, rutin-3-*O*-rutinosid belirlenen diğer bileşiklerdir (Kostić vd., 2019). Fanali vd. (2013), inceledikleri arı polenlerinde 9 farklı polifenol belirlemişlerdir. Bu polifenoller *o*-,*p*- kumarik asit, mirisetin, ferulik asit, sinnamik asit, quersetin, hesperidin, naringenin ve kaemferoldür. Mısır bölgesine ait arı poleni ekstraktlarının 3,4-dimetoksisinamik asit yönünden zengin olduğu saptanmıştır (Mohdaly vd., 2015). Anzer arı poleninin fenolik içeriğinin incelendiği bir çalışmada bütün arı poleni örneklerinde vanillik asit, kafeik asit, şiringik asit, *p*-OH benzoik asit, *p*-kumarik asit, rutin, ferulik asit bileşenlerinin var olduğu saptanmıştır. Bunun yanı sıra arı poleni örneklerinden bir tanesinin haricinde yüksek miktarlarda quersetin içerdikleri belirtilmiştir (Ulusoy, 2010). Li vd. (2015), arı poleninin 4 tane flavonoid glikozit grubu içerdiğini belirlemiştir. Quersetin-3-*O*- β -D-glukosil-(2 $\rightarrow$ 1)- β -glukosit, kaemferol-3,4'-di-*O*- β -D-glukosit, 5,7, 4'-trihidroksi-3' metoksiflavon-3-*O*- β -D-soforosid ve kaemferol-3-*O*- β -D-glukosil-(2 $\rightarrow$ 1)- β -D-glukosit tanımlanan bileşiklerdir.

Arı polenin sağlık üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu gösteren birçok çalışma vardır. *Cistaceae* (Ladengiller) familyasına ait arı poleninin *in vivo* antioksidan aktivitesi araştırılmış ve sonuçta bu polenin farelerde antioksidan enzim ekspresyonunu modüle ettiği ve hepatik lipid peroksidasyonunu azalttığı saptanmıştır (Šarić vd., 2009). Mısır ve Kahire orijinli arı poleni örneklerinin sodyum florürle indüklenen sıçanlarda malondialdehit düzeyinde önemli bir azalma sağladığı ve ayrıca beyinde ve kanda süperoksit dismutaz ve glutatyon seviyelerinde belirgin bir artışla antioksidan sistemi güçlendirdiği belirlenmiştir (Khalil ve Elsheikh 2010). Bunun yanında başka bir çalışmada *Castanea* poleninin karbon tetraklorür (CCl₄) ile indüklenmiş ratlarda karaciğer yenilenmesini teşvik ettiği ayrıca hepatositleri oksidatif strese karşı koruduğu tespit edilmiştir (Yıldız vd., 2013). Bir çalışmada ıhlamur bitki orjinli arı poleninin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal giderme aktivitesi, süperoksit radikal

süpürme analizleri *in vitro* ve *in vivo* olarak test edilmiştir. Süperoksit dismutaz aktivitesi, toplam antioksidan kapasite olarak analizler gerçekleştirilmiş ve sonuçta doza bağlı olarak süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde ve toplam antioksidan aktivitede artış gözlenmiştir. Malondialdehit (MDA) içeriğinde de önemli ölçüde azalma belirlenmiştir. Arı polenin ilaç geliştirmede potansiyel doğal bir kaynak olabileceği belirtilmiştir (Jin vd., 2018). Tablo 2.1’de arı polenin antioksidan aktivitesine ait bazı *in vitro* alışmalar özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Arı poleni ile ilgili yapılan *in vitro* antioksidan alışmaları

Coğrafik/Floral orijin	Deney modeli	Sonuç	Referans
Brezilya	DPPH (EC50 $\mu\text{g/mL}$)	104,5 (Etanol Eks.) 212,0 (Metanol Eks.) 41,9 (Etil asetat Eks.)	Silva vd., 2006
İspanya/ <i>Cistus ladanifer</i> , <i>Cistus albidus</i>	DPPH (IC50)	196,7 $\mu\text{g/mL}$ (Etanol eks.)	Izuta vd., 2009
Sonora ölü/Mesquite	FRAP ([Fe^{2+} mM])	2,89 (Metanol eks.) 1,98 (Etanol eks.)	Leblanc vd., 2009
Sonora ölü/ Mimosa		3,96 (Metanol eks.) 3.22 (Etanol eks.)	
<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> L.		%86,25 inhibisyon, 1383, 67 mg/kg	
<i>Helianthus annuus</i> L.	DPPH, TFİ	%47,97 inhibisyon, 691,67 mg/kg	Fatrcová-řramková vd., 2013
<i>P. somniferum</i> L.		%75,93 inhibisyon, 817,33 mg/kg	
Sırbistan/ <i>Helianthus annuus</i> L.	TFİ	244,44 mg/kg kuru ağırlık (metanol eks.) 200,58 mg/kg kuru ağırlık (etanol eks.)	Kostić vd., 2019
Letonya/ <i>Rubus idaeus</i>	TFİ, ABTS	32,13 $\pm$ 1,26 mg GAE/g, 2,21 $\pm$ 0,07 mmol TE/100 g	Straumite vd., 2022
Letonya/ <i>Trifolium pratense</i>		4,71 $\pm$ 0,19 mg GAE/g, 0,40 $\pm$ 0,02 mmol TE/100 g	
Letonya/ <i>Taraxacum officinale</i>		8,21 $\pm$ 0,31 mg GAE/g, 0,94 $\pm$ 0,02 mmol TE/100 g	
Letonya/ <i>Vicia faba</i> L.		18,40 $\pm$ 0,14 mg GAE/g, 0,72 $\pm$ 0,03 mmol TE/100 g	
Letonya/ <i>Phacelia tanacetifolia</i>		19,48 $\pm$ 0,59 mg GAE/g, 1.83 $\pm$ 0.08 mmol TE/100 g	

Tablo 2.1. (Devam) Arı poleni ile ilgili yapılan *in vitro* antioksidan çalışmaları

Coğrafik/Floral orijin	Deney modeli	Sonuç	Referans
Letonya/ <i>Brassica napus</i>	TFİ, ABTS	29,94 ± 0,77 mg GAE/g, 2.05 ± 0.04 mmol TE/100 g	Straumite vd., 2022
Letonya/ <i>Salix babylonica</i>			

*TFİ: Toplam fenolik içerik, DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, ABTS: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit), TE: Troloks eşdeğeri, GAE: Gallik asit eşdeğeri, FRAP: Ferrik indirgeyici antioksidan güç, Eks: Ekstraksiyon.

Arı polenin *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteri suşları üzerinde güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Li vd., 2018). Bunun yanında *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* gibi küf ve mayalara karşı antifungal etkisi saptanmıştır (Kačaniová vd., 2012). Bu antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri sayesinde arı polenin bakteriyel ve fungal enfeksiyonları önlemede kullanılabileceği düşünülmektedir (Li vd., 2018). Arı polenin polifenol, yağ asidi, fosfolipit ve fitosterol içeriğinden dolayı antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Moita vd. (2013), arı polenin etanol ekstraktının lipopolisakkarit murin makrofajlarında prostoglandin üretimini azaltarak antiinflamatuvar etkisini belirlemiştir.

2.5. Arı Poleni ve Fermentasyon

Fermentasyon, bakteri ve mantar gibi mikroorganizmaların organik bileşikleri parçaladığı biyolojik bir süreçtir. Günümüzde, mikrobiyal fermentasyon şeftali suyunun (Hashemi vd., 2021) ve erik yan ürünlerinin (Dulf vd., 2016) antioksidan kapasitesinin geliştirilmesinde başarıyla uygulanmıştır. Ayrıca, ginsengin anti-enflamatuvar ve antioksidan aktivitelerini geliştirdiği bulunmuştur (Hwang vd., 2019). Son araştırmalar, fermentasyonun fenolik maddelerin salınımı ve arı polenin antioksidan aktivitesinin artırılması üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu doğrulamıştır (Kaškonienė vd., 2015; Adaškevičiūtė vd., 2022). Bununla birlikte, fermentasyonun arı poleni bileşimi ve biyoaktivitesindeki değişikliklere kapsamlı olarak odaklanan çok az çalışma bulunmaktadır (Tablo 2.2).

Arı poleninin *in vitro* şartlarda fermentasyonu bu doğal olayı anlamak için çalışılmıştır. Çalışmalar sonucunda fermentasyon işleminin arı poleninin kimyasal bileşiminde ve biyolojik aktivitesinde önemli değişiklikler ortaya çıkardığı belirlenmiştir. Arı poleninin bileşimini oluşturan bitki polen tanelerinde gerçekleşen ekzin modifikasyonunu sağladığı düşünülen fermentasyon işlemi ile, sporopollenin ve diğer organik bileşenlerin kısmen parçalanarak, ekzinin bileşiminde ve yapısında değişikliklere neden olabildiği düşünülmektedir (Poyraz vd., 2023). Çalışmalara göre, fermentasyon sırasında mikroorganizmalar, polen tanelerinin ekzini ile etkileşime girer, kimyasal bağları kırar ve yapısını değiştiren enzimler ve metabolitler salgılar (Cruz-Casas vd., 2021; Barta vd., 2022). Böyle bir süreç, ekzinin zayıflamasına katkıda bulunur ve daha önce erişilemeyen biyoaktif bileşiklerin salınımını kolaylaştırır, böylece sonraki uygulamalar için kullanılabilirliklerini artırır (Aylanc vd., 2022). *In vitro* fermentasyon sırasında, başta laktik asit bakterileri olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar polen tanelerinin karmaşık yapılarının parçalanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllarda araştırmacılar, farklı koşullar altında *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* veya *Lactobacillus paracasei* gibi çeşitli mikroorganizmalar kullanarak, arı poleni fermentasyonunu laboratuvar ölçeğinde başlatmayı denemişlerdir (De-Melo vd., 2018; Mora-Adames vd., 2021; Miłek vd., 2023; Zheng vd., 2023; Yin vd., 2024). Bu mikrobiyal aktivite, yağ asitleri, enzimler, polifenoller ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşikler de dahil olmak üzere faydalı metabolitlerin üretimine yol açmaktadır (Dinu vd., 2023; Urcan vd., 2024). Bu fermentasyon süreci, arı poleninin besin değerini ve biyoyararlanımını artırarak hem arılar hem de insanlar için daha faydalı bir besin kaynağı haline gelmesinde önem taşımaktadır. Bu tip, laktik fermentasyonu arı poleninin içeriğini oluşturan bitki polen tanelerinin duvar yapısını bozarak, arı polenini daha sindirilebilir ve yeni besinlerle zenginleştirilmiş hale getirebilmektedir (Aylanc vd., 2021). Yapılan bir çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* arı poleninin fermentasyonunun, flavonoid içeriğini %55-135 arasında önemli ölçüde arttırarak, arı polenindeki toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteyi geliştirdiğini göstermiştir (Kaškonienė vd., 2018).

Tablo 2.2. Arı poleni fermentasyon çalışmaları

Referans	Amaç	Prosedür	Sonuç
Kaşkonienė vd., 2020	Fermente edilmiş ve fermente edilmemiş polifloral arı poleni örneklerinin antioksidan, antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi	Pastörize edilmiş ve pastörize edilmemiş arı poleni örnekleri kullanılmıştır. Bakteri suşu olarak <i>Lactobacillus rhamnusus</i> ve <i>Lactobacillus lactis</i> tercih edilmiştir. Arı poleni ve distile su oranında 1:2 (W/V) karıştırılmıştır. 400 µL bakteri suşu (2.9×10^9 CFU/mL) ilave edilmiştir. 37°C 12 gün fermente edilmiştir.	Arı polenin yapay katı hal fermentasyonu ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine olumlu etkileri saptanmıştır. Antioksidan aktiviteyi 1,27–2,40 kat, antibakteriyel aktiviteyi 1,08–16,9 kat ve antifungal aktiviteyi 1,96–5,52 kat artırdığı belirlenmiştir.
Mora-Adames vd., 2021	Yeni bir probiyotik gıda elde etmek için tek substrat olarak yüksek Kolombiya arı poleni kullanarak pilot ölçekli bir laktik asit fermentasyon sürecinin standartlaştırılması amaçlanmıştır.	Ticari olarak temin edilen 3 farklı starter kullanılmıştır. starter A: <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. lactis</i> ve <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> , starter B: <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. lactis</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. cremoris</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. biovar. diacetylactis</i> , starter C: <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM. Distile su:polen oranı için 1:1, 2:1 oranları çalışılmıştır. 80 kpa/115°C /10-20 dak.)	Başlangıç pH'ı 5,8'e ayarlanmış, ısı/basınç (10 dakika; 80 kPa; 115 °C) ile ön işleme tabi tutulmuş 2:1 su:polen karışımının, tüm laktik başlatıcılar için pilot ölçekli laktik fermentasyon için yeterli bir substrat olduğu belirlenmiştir. Seçilen koşullarda, laktik asit üretiminin kinetiği ve spesifik laktik bakterilerin büyümesi saptanmıştır. Fermentasyon işlem süresi 30 saat olarak belirlenmiş olup, bundan sonra bakteri popülasyonlarında önemli bir düşüş gözlenmiştir.

Tablo 2.2. (Devam) Arı poleni fermentasyon çalışmaları

Referans	Amaç	Prosedür	Sonuç
Mora-Adames vd., 2021	Yeni bir probiyotik gıda elde etmek için tek substrat olarak yüksek Kolombiya arı poleni kullanarak pilot ölçekli bir laktik asit fermentasyon sürecinin standartlaştırılması amaçlanmıştır.	Fermentasyon için 10 dakika ısıtma işlemi, su/polen oranı 2:1, seçilmiş olup 0,0160 g starter kültür/kg inoküle edilmiştir.	Test edilen başlangıç kültürleri arasında, yalnızca probiyotik <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM tarafından 30 saat sonra ağırlıkça %1,65'lik bir konsantrasyonla laktik asit üretimi açısından en iyi performansı göstermiştir. Sonuçta, probiyotik özelliklere sahip fonksiyonel bir gıda ürünü olarak ticari ölçekte fermente arı poleni üretiminin fizibilitesini vurgulanmıştır.
Zuluaga-Dominguez ve Quicazan, 2019	Çalışmanın amacı, maya olarak <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , bakteri olarak <i>Lactobacillus plantarum</i> ve ticeri olarak Choozit kültürün dahil edilmesi yoluyla arı poleni fermentasyonunun Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC), fenolik bileşikler, flavonoidler ve antioksidan aktivite parametreleri üzerine etkilerini belirlemek olduğu belirtilmiştir.	Her preparasyon için 1:1 oranında arı poleni ve su kullanılarak 200 g substrat hazırlanmıştır. Substratlar, önceden kapatılmış ve 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş 250 mL'lik şişelerde saklanmıştır. Daha sonra hazırlanan substrat önceden hazırlanan maya, bakteri ve ticari kültür inokuluma eklenmiştir 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır.	Sonuçlar, maya ve laktik asit bakterileri arasındaki konsorsiyum kullanımının toplam fenolikler ve antioksidan aktivite gibi özelliklerde sırasıyla %31 ve %39 oranında önemli ölçüde arttığını göstermiştir. DSC ile yapılan analiz, fermente edilmiş ürünlerin ısı akışında taze arı polenine kıyasla bir artış gösterdiği saptanmış olup buna mikroorganizmaların aktivitesinden kaynaklanan yapısal değişiklik sebep olarak gösterebilir.

Tablo 2.2. (Devam) Arı poleni fermentasyon çalışmaları

Referans	Amaç	Prosedür	Sonuç
Adaşkevičiute vd., 2022	Avrupa'nın farklı bölgelerinden (İtalya, Hollanda, Polonya, Danimarka, Slovakya, İspanya) toplanan arı polenin biyolojik olarak aktif bileşik kompozisyonu ve antioksidan aktivitesi üzerinde katı hal laktik asit fermentasyon prosesinin etkisi belirlenmiştir. Kendiliğinden fermentasyon ve bir <i>Lactobacillus rhamnosus</i> kültürü kullanılarak fermentasyon gerçekleştirilmiştir.	farklı (İtalya, Litvanya, İsveç, Malta, İspanya) Bakteriyel fermentasyon ve bakteri eklenmeden fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Polen numunesinden 10 g, 2 mL steril damıtılmış su ile 2 saat ısıtılıp soğutulmuştur. Bal ve su karışımı (2,5 mL su ile 1,5 g bal) eklenmiştir. Bakteriyel fermentasyon için 800 µL <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ($2,9 \times 10^9$ koloni oluşturan birim (CFU)/mL) ve spontan fermentasyon için Tween 80 ile 800 µL MRS broth ilave edilmiştir. Polenin üzerinde yaklaşık %20 boşluk bulunan şişeler kapatılmıştır ve 37°C'de fermentasyon için bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Bakteriyel fermentasyon için 9 gün ve spontan fermentasyon için 11 gün sürmüştür.	Kendiliğinden ve bakteriyel fermentasyon süreçleri, test edilen polen örneklerinde toplam fenolik bileşik içeriği (1,1-1,9 kat), toplam flavonoid içeriği (1,1-1,6 kat) ve radikal süpürme aktivitesinde (1,4-2,3 kat) istatistiksel olarak anlamlı bir artış ortaya koyduğu saptanmıştır. Çalışılan doğal ve fermente polenin özellikleri, polenin botanik bileşimi ile ilgili olan coğrafi toplama alanına bağlanmıştır. Litvanya polenin en yüksek toplam fenolik bileşik içeriğine, toplam flavonoidlere ve radikal yakalama aktivitesine sahip olduğu, Malta ve İtalya polenin ise en düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Spesifik fenolik asitler ve flavonoidlerde 1,2-3,1 kat artış gözlenmiş ve fermentasyondan sonra benzoik, vanilik, kafeik asitler ve mirisetin dahil olmak üzere yeni bileşikler tanımlanmıştır.

Tablo 2.2. (Devam) Arı poleni fermentasyon çalışmaları

Referans	Amaç	Prosedür	Sonuç
Kaşkonienė vd., 2018	Arı poleninin laktik asit bakterileri tarafından katı hal fermentasyonu gerçekleştirilip fermentasyonun fermente edilmiş ve fermente edilmemiş arı poleninin toplam fenolik bileşik içeriğine, toplam flavonoid içeriğine ve radikal yakalama aktivitesine etkisi değerlendirilmiştir.	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (ATCC 53,103) bakteri kültürü fermentasyon için kullanılmıştır. 30 g homojenize edilmiş arı polenine 6 mL steril distile su ilave edilerek şişmeye bırakılmıştır. Şişmiş arı polenine 10 mL kaynatılıp soğutulmuş %60 (ağırlık/hacim) bal çözeltisi ilave edilmiştir. İki özdeş fermantasyon karışımı numunesi seti oluşturulmuş; bir setteki tüm numuneler 600 µL <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ($2,92 \times 10^9$ CFU/mL) ile zenginleştirilirken, diğer setteki numuneler kontrol olarak bırakılmıştır.	Fermantasyon, toplam flavonoid içeriği üzerinde olumlu etki gösterdiği bulunmuştur (flavonoid miktarı %55-135 arttı). Sonuçlar, doğal arı ekmeğinin antioksidan aktivitesi ile karşılaştırılmıştır. Toplam fenolik bileşiklerin içeriği birkaç numunede 1,1-1,4 kat arttığı saptanmışken geri kalanında değişmediği bulunmuştur. Sonuçlar bakteri içeren ve içermeyen fermente örneklerde benzer tespit edilmiştir. Bununla birlikte, tüm doğal fermantasyon numunelerinde radikal yakalama kapasitesinde 2,0-5,5 kat azalma gözlemlenirken, bakteri ile fermente edilmiş numunelerde arı poleni numunesinin kökenine bir bağımlılık gösterdiği saptanmıştır.

2.6. Arı Poleni Ekstraksiyon Modelleri ve Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu

İlaç, gıda ve kimya endüstrileri gibi farklı endüstriyel kollarda biyoaktif bileşenler oldukça sık kullanılmaktadır. Bundan dolayı bu aktif bileşenlerin ekstrakte edilmesinde

en uygun ve en verimli yöntemin araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Atmosferik basınçta, katı/sıvı ekstraksiyon teknikleri kullanılarak yapılan geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin düşük seçicilik ve ekstraksiyon verimi, uzun ekstraksiyon süresi ve yüksek oranda solvent gerektirdiği bilinmektedir. Tablo 2.3'te arı polenine uygulanan ekstraksiyon metodunun ve antioksidan aktivitesinin yer aldığı bazı çalışmalar özetlenmiştir. Ayrıca bu yöntemlerde ekstrakt aşırı ısıya, oksijene ve ışığa maruz kalabileceğinden ekstraktta bozulmalar meydana gelebilir. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyon yöntemi (ASE), otomatik, tekrarlanabilir bir ekstraksiyon tekniği olması nedeniyle gıda ve farmasötik alanlarında kapsamlı bir şekilde uygulanmaya başlanmıştır. Son yıllarda çeşitli meyve ve sebze örneklerinden biyoaktif bileşikler ASE tekniği kullanılarak elde edilmiştir.

Tablo 2.3. Arı poleni antioksidan aktivitesi ve uygulanan ekstraksiyon metotları

Referans	Botanik /Coğrafi Orijin	Ekstraksiyon Metodu	Antioksidan Analiz	Sonuç
Fatrcová - Šramková vd., 2013	Haşhaş (<i>Papaver somniferum</i> L.), Kolza (<i>Brassica napus</i> subsp. <i>napus</i> L.), Ayçiçeği (<i>Helianthus annuus</i> L.)	Maserasyon (%90 Et-OH, 70°C 30 dak. su banyosu)	DPPH• (%İnhibisyon), DNA Biyosensör yöntemi (I/I ₀), Bileşiklerin İndirgeme Kapasitesi (µg/mL)	DPPH aktivitesi en yüksek kolza poleninde bulunmuştur. DPPH aktivitesi: Kolza (%86,25)>haşhaş (75,93)>ayçiçeği (47,97) Biyösensör yöntemi I/I ₀ değeri: Kolza (1,93)>Haşhaş (0,95) >Ayçiçeği (0,37) İndirgeme Kapasite (µg/mL): Kolza (4495,33)>haşhaş(3452,67)>ayçiçeği (2778,67)
Alimoğlu vd., 2021	Karadeniz (Türkiye)/ Multifloral	Çalkalamalı su banyosu (%70 Et-OH, 1 sa, 100 rpm, 40°C) sonrasında 15 dak. sonikasyon işlemi	DPPH•, CUPRAC, FRAP	DPPH: 4,26-22,93 mg TE/g ekstrakt, CUPRAC: 29,27-84,12 mg TE/g ekstrakt, FRAP: 3,42-16,03 mg TE/g ekstrakt
Pascoal vd., 2014	Portekiz, İspanya/Multifloral	Maserasyon (metanol ile)	DPPH•, TBARS	DPPH 2,98-6,69 mg/ mg ekstrakt, TBARS 0,35-3,70 mg /mg ekstrakt
Mărghitaş vd., 2009	Romanya/ Multifloral	Maserasyon (metanol ile), sonrasında 15 dakika sonikasyon	DPPH•, FRAP, ABTS•+	DPPH 0,135-2,814 mmol T/g, FRAP 0,255-5,355 mmol T/g, ABTS 0,546-6,838 mmol T/g

Tablo 2.3. (Devam) Arı poleni antioksidan aktivitesi ve uygulanan ekstraksiyon metotları

Referans	Botanik/ Coğrafi Orijin	Ekstraksiyon Metodu	Antioksidan Analiz	Sonuç
Thakur ve Nanda, 2021	Hindistan/ Hindistan cevizi (HCP), Kişniş (KNP) ve Kolza Poleni (KP), Multiflora l (MP)	Sonikasyon ve maserasyon	DPPH• (EC ₅₀ µg/mL), FRAP (mmol Fe ²⁺ /g) ABTS (%inhibisyon)	DPPH: HCP(64,96)>KP(43)>MP(22,68)> KNP(6,09) FRAP: KNP(103,98)>MP(77,36)>KP(56, 82)>HCP(32,54) ABTS: KNP(96,58)>MP(86,87)>KP(83,9 4)>HCP(80,36)
Rodriguez-Gonzalez vd., 2018	Kolombiya	Mikrodalga destekli ekstaksiyon (MDE)- Ultrasound destekli ekstraksiyon (UDE)	ABTS•+ (mmol T/g), FRAP (mmol T/g)	ABTS:MDE (0,057-0,092), UDE (0,098) FRAP: MDE (0,036-0,055), UDE (0,094)
Zhang vd., 2020	Kolza tohumu	Sonikasyon (%80 Et-OH)	DPPH• (IC ₅₀), ABTS (IC ₅₀)	DPPH:116,75µg/mL ABTS: 76,87 µg/mL
Rebiai ve Lanez, 2012	Kuzeybatı Cezayir/Y abani havuç, biberiye, ökaliptus, multiflora l	Soxhlet (metanol)	TAK (Toplam antioksidan kapasite)	Yabani Havuç> Biberiye> Ökaliptus> Heteroflora
Freire vd., 2012	Brezilya poleni	Ultrasonik banyo (etanol)	DPPH• (EC ₅₀), ABTS (EC ₅₀), Metal Şelatlama Aktivitesi	DPPH:10,7-209,1 ABTS:6,0-97,2 Metal Şelatlama Aktivitesi: 171,9- 6196,0
Zuluaga-Domínguez vd., 2018	Kolombiya/ <i>Hypochaeris radicata</i> , <i>Brassica</i> spp.	Maserasyon (Etanol)	ABTS•+ (µmolT/g), FRAP (µmol T/g)	ABTS:60,8-70,3 FRAP: 58,5-87,2

ASE katı, yarı katı ya da sıvı örneklerden yüksek sıcaklık ve basınç uygulanarak hedef bileşenlerin hızlı bir şekilde alınmasını sağlayan otomatik bir sistemdir. Bu yöntem yüksek basınçta çözücünün kaynama noktasının üzerinde de ekstraksiyon yapmasını mümkün kılmaktadır. ASE tekrarlanabilirliği, hızlı ekstraksiyon özelliği, gradiyent farklı çözücü, sıcaklık ve basınç dereceleri kullanılarak numuneleri otomatik olarak işleme yeteneği nedeniyle popüler hale gelmektedir.

Literatür incelendiğinde ASE'nin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur. ASE, dört ticari mikroalg türü olan *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella zofingiensis* ve *Nannochloropsis gaditana*'dan lipidleri çıkarmak için kullanılmış ve ASE'den elde edilen lipid geri kazanımlarının, geleneksel manuel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada, çözücüler, reaksiyon sıcaklığı, statik süre ve statik döngüler dahil olmak üzere optimal ASE koşulları araştırılmıştır. En etkili kloroform-metanol ekstraksiyon yöntemini belirlemek için ASE, ticari basınçlı sıvı ekstraksiyon tekniği ve geleneksel manuel ekstraksiyon yöntemi denenmiştir. Bu yöntemlerin tam potansiyelini değerlendirmede, yağ asidi metil ester (FAME) ve çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) geri kazanımı da kıyaslanmıştır. Optimum ASE çalışma koşulları (metanol/kloroform = hacimce 2:1, 100°C, 5 dakikalık statik süre ve dört statik döngü) kullanılarak, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella zofingiensis* ve *Nannochloropsis gaditana*'nın kuru biyokütlenin lipid içerikleri sırasıyla %27,5, %25,8, %15,2 ve %29,8 bulunmuştur. ASE ekstraksiyonundan elde edilen kuru biyokütlenin toplam yağ asidi metil ester (FAME) içeriğinin, bu türlerden elde edilen geleneksel manuel ekstrakttan 1,3-2,7 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır, ASE'nin lipid ve FAME geri kazanımında etkili olduğu belirtilmiştir (Tang vd., 2016).

Bir başka çalışmada mandalina kabuğundan kritik altı su ekstraksiyonu tekniği ile elde edilen su ekstraktlarının antioksidan aktivite ve fenolik bileşik içeriğine ekstraksiyon sıcaklığının ve statik ekstraksiyon süresinin etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmanın amacının, ASE 350 kullanılarak kritik altı su ekstraksiyonu sırasında ekstraksiyon sıcaklığının ve statik ekstraksiyon süresinin antioksidan aktivite ve fenolik bileşikler üzerindeki etkisini araştırmak olduğu belirtilmiştir. 5 dakika statik ekstraksiyon süresi için ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'den 180°C'ye yükselmesi ile mandalina kabuğundan elde edilen kritik altı su ekstraktlarının IC₅₀ değerleri 40,8 kat olup FRAP ve bakır II indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) değerleri ise sırası ile 66,9 ve 34,2 kat artmıştır. Ayrıca, kritik altı su ekstraktlarının TFİ içeriği ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'den 180°C'ye yükselmesi ile 5 ve 15 dakika statik ekstraksiyon sürelerinde sırası ile 4,9 ve 5,0 kat artmıştır. Bunun yanı sıra ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'den 180°C'ye yükselmesi ile 5 ve 15 dakika statik ekstraksiyon sürelerinde kritik altı su ekstraktlarının toplam flavonoid içeriklerinde sırası ile 9,6 ve 9,9 kat artış elde edilmiştir (Özkaynak Kanmaz ve Saral, 2017).

Tablo 2.4'te ASE tekniği ile yapılan ekstraksiyon çalışmaları ve bu çalışmalara ait sonuçlar özetlenmiştir.

Tablo 2.4. ASE tekniği ile yapılan ekstraksiyon çalışmaları

Referans	Amaç	Prosedür	Sonuç
Chen vd., 2020	Mikroalgler için farklı toplam lipid ekstraksiyon protokollerinin etkinliğini değerlendirmek için, birkaç geleneksel lipit ekstraksiyon yöntemi sistematik olarak hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (ASE) yöntemiyle karşılaştırılmıştır.	Alg biyokütlesi: 150 mg, 3 dakika, 120 °C, 1500 psi'de (yaklaşık 10.3 MPa), 5 ml ekstraksiyon hücresi, 1 dakika ön ısıtma, statik döngü: 1 döngü metanol/DMSO ekstraksiyonu (9:1, v/v) ve iki döngü heksan/dietil eter ekstraksiyonu (1:1, v/v), yıkama hacmi: %60, temizleme süresi: 30 s Ekstraksiyonun sonunda, 1:1:1:1 (v/v/v/v) oranını oluşturmak için birleştirilen süpernatantlara dietil eter, heksan ve su ilave edilmiştir.	Sonuçlar, sıcak Soxhlet ekstraksiyonunun ve ASE'nin, geleneksel manuel ekstraksiyon yöntemlerinden elde edilen verimlerden daha yüksek olan toplam lipid ekstraksiyon verimlerinde karşılaştırılabilir olduğunu göstermiştir. Farklı ekstraksiyon yöntemlerinden kaynaklanan lipid oksidasyonu, sıcak bir Soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle sürekli ısıtmanın lipid oksidasyonuna yol açabileceğini göstermiştir. Ekstre edilen lipitlerin verimliliği ve kalitesi, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon adımları ve tüketilen solvent hacimleri göz önüne alındığında, ASE, toplam lipit ekstraksiyonu ve mikroalg biyokütlesinden lipitlerin analizi için çok umut verici bir yöntemdir.

Tablo 2.4. (Devam) ASE tekniği ile yapılan ekstraksiyon çalışmaları

Referans	Amaç	Prosedür	Sonuç
Ahmad vd., 2021	İncelenen araştırma taze zeytin meyvesinde sıcaklıkların ve çözücülerin fenolik bileşikler üzerindeki etkisini vurgularken, daha fazla verimle daha kısa ve ekonomik bir yeşil ekstraksiyon yöntemi geliştirmeyi ve doğrulamayı amaçladığı belirtilmiştir. Ek olarak, UHPLC-DAD kullanılarak fenolik bileşiklerin (galik asit, rutin, kersetin ve luteolin) eş zamanlı tayini ve miktarının kısa ve hassas bir yöntemi geliştirilmiştir.	34 mL hücre, numune 1 g, ekstraksiyon döngüleri (2/çalışma), basınç (100 atm), çalıştırmalar arasındaki statik süre (10 dakika), durulama hacmi (%20) ve boşaltma süresi (20 sn). Kullanılan yeşil çözücüler, farklı sıcaklıklarda (60, 80, 100 °C) (ACE, Et-OH ve distile su), 0,4 um selüloz filtreler, Çalışmada uygulanan üç tip çözücü ve üç farklı sıcaklık dikkate alınarak toplam (3X3=9) 9 hücre	ASE-MD, yüksek bir ekstrakt verimi ve geri kazanım yüzdesi ortaya çıkarmıştır. UHPLC-DAD yöntemi, fenoliklerin (GA, RT, QT, LT) eş zamanlı tayini için 3 dakikalık daha kısa çalışma süresiyle geliştirilmiş ve doğrulanmıştır. ACE: Et-OH ikili çözücü sistemi önerilmiştir. ASE-UHPLC yöntemi ayrıca 42 ticari gıda örneğinde büyük ölçekte uygulanmıştır. Ekstrakt verimi ve fenoliklerin geri kazanımına karşı solvent ve sıcaklık etkileri incelenmiş ve istatistiksel araçlar, solvent doğası ile ekstrakt verimi arasında yüksek bir korelasyon sergilemiştir, ancak, sıcaklık ekstrakt ve fenolik verimi üzerinde önemli bir doğrudan korelasyonu gözlenmemiştir.
Zengin vd., 2020	<i>Helichrysum stoechas</i> subsp. <i>barrelieri</i> mevcut çalışma geleneksel ve geleneksel olmayan ekstraksiyon tekniklerini (maserasyon ve soxhlet ekstraksiyon (SE), hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (ASE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) ve ultrasonik yardımcı ekstraksiyon (UAE)) kullanmayı amaçlamıştır.	ASE için numunelerin 1 g'ı diatomik toprakla birlikte bir özütleme hücresine yerleştirilmiştir. Etanol (20 mL) ile 120 °C/1500 psi'de 6 dakika süreyle özümlenmiştir. İşlem, ASE 350 sistemi Dionex Corporation'da (Sunnyvale, CA, ABD) gerçekleştirilmiştir.	Ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ASE>MAE>UAE>maserasyon>SE şeklinde sıralanmıştır. ASE ile elde edilen ekstrakt DPPH ve ABTS 219,92 ve 313,12 mg TE/g en güçlü aktivite göstermiştir. CUPRAC ve ferrik indirgeyici antioksidan güç FRAP için sırasıyla 927,39 ve 662,87 mg TE/g. Sonuç olarak, biyoaktif ikincil metabolitlerin ekstraksiyonu için geleneksel olmayan metotlarının ASE ve UAE kullanımı savunulmuştur.

2.7. Arı Poleninin Potansiyel Gıda Uygulamaları

Besleyici ve tedavi edici özellikleri ile arı poleni doğal bir besin takviyesi olarak tüketilmektedir. Son yıllarda araştırmacılar, arı polenini besleyici özelliklerinin yanında ürün kalite özelliklerini geliştirmek amacıyla fonksiyonel bileşen olarak gıda sistemlerinde kullanmaya başlamıştır. Bir çalışmada asidofilus sütü ve probiyotik yoğurt (%0,6 w/w oranında) arı poleni ile zenginleştirilmiştir. Sonuçta yağ seviyesinden bağımsız olarak laktik asit içeriğinin arttığı bulunmuştur (Glušac vd., 2015). Süt ürünleriyle ilgili yapılan başka bir çalışmada, fermente sütlü içeceğe 10-20 mg/mL aralığında arı poleni ilave edilmiştir. Polen ilavesinin duyu özellikleri etkilemeden antimikrobiyal aktivite gösterdiği ayrıca probiyotik canlılığı ve viskoziteyi arttırdığı tespit edilmiştir (Yerlikaya, 2014). Thakur ve Nanda (2019), süt tozunun (işlenmiş ürünlerin formülasyonlarında oldukça sık kullanılan) polifenol içeriğini arttırmak amacıyla arı poleni ilave ederek vakumda kurutulmuş süt tozu elde etmiştir.

Fırıncılık ürünlerinde de arı poleni takviyesi denenmiştir. Glutensiz ekmek üretiminde arı poleni ilavesi araştırılmış ve arı poleni ile zenginleştirme sonucu hamur ve mayalanma özelliklerine olumsuz etki göstermeden, glutensiz ekmeğin tekno-fonksiyonel parametrelerini iyileştirdiği saptanmıştır. Bununla birlikte bayatlamayı geciktirdiği ve genel duyu kabul edilebilirlikte artış sağladığı bulunmuştur (Conte vd., 2018). Ayrıca Krystyjan vd. (2015), çalışmalarında bisküvi üretiminde buğday unu ikamesi olarak arı polenini kullanmıştır. %10 polen ikamesinin bisküvilerin protein, şeker, kül, lif, polifenol ve antioksidan potansiyelinde artış sağladığı saptanmıştır. Ancak bisküvilerde duyu açıdan %5'lik arı poleni ikamesinin kontrol bisküvilerine göre benzer beğeniyi aldığı belirtilmiştir.

Et ürünlerinde oksidatif bozulmayı önlemek veya geciktirmek amacıyla arı poleni alternatif bir yaklaşım olarak düşünülebilmektedir.

Bu yaklaşımdan yola çıkarak De Florio Almeida vd. (2017), liyofilize arı poleni ekstresinin antioksidan özellikleri ve fenolik profilini belirleyip liyofilize arı poleni katkılı domuz eti ile hazırlanmış sosislerin oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisini değerlendirdiği bir çalışma yapmışlardır. Liyofilize arı poleninde yüksek konsantrasyonlarda toplam fenolik bileşik 19,69 mg GAE / g olarak bulunup EC₅₀ 0,97

mg / mL değerinde belirlenmiştir. 0,68 mg / g değeriyle kaempferol en yüksek miktarda bulunan fenolik bileşik olarak tespit edilmiştir. Arı polenli sosislerin depolama boyunca kontrol grubuna göre TBARS (tiyobarbitürik asit reaktif maddeler) değerleri daha düşük saptanmıştır. Arı polenin yüksek antioksidan aktivite ve fenolik bileşikler nedeniyle domuz sosisinde güçlü antioksidatif etkiler gösterdiği saptanmıştır. Sentetik antioksidanlara eşdeğer doğal antioksidanlar bulmak gıda teknoloјisi gelişimi için önemli bir nokta olup arı polenli bu sosis, et ürünlerine yönelik tüketiciler talebine bir alternatif olabileceği düşünülmüştür. Arı polenin (oğunlukla *Cistus ladanifer* bitkisinden oluşan) antioksidan aktivitesi siyah salam üretimi kapsamında Anjos vd. (2019), tarafından araştırılmıştır. Bu alışma ile arı polenin et ürünlerinde doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği, ancak alerjik tüketicileri uyarmak için dikkatli bir etiketlemenin gerekli olduğu bildirilmiştir.

2.8. Enkapsülasyon Uygulamaları

Enkapsülasyon bir maddenin etrafının başka bir madde ile kaplanmasıyla, nanometre-milimetre aralığında çaplara sahip partiküller üretme işlemidir. Çoęu zaman biyoaktif maddelerin korunması amacıyla koruyucu bariyer olarak kullanılmaktadır. Son ürünün raf ömrü, depolama boyunca olumsuz koşullara karşı stabilitesini sağlamaya yardımcı olmaktadır. Ayrıca enkapsüle bileşenin hedef dokularda salınımı sağlanmaktadır (Nedovic vd., 2011, Đorđević vd., 2015). Gıda endüstrisinde gıdaların besinsel değerini arttırmak, sindirim özelliklerini iyileştirmek, raf ömrünü uzatmak gibi amaçlarla enkapsülasyon işlemi uygulanmaktadır (Gökmen vd., 2012). Ayrıca enkapsülasyon işlemiyle gıdaların biyoyararlanımının artmasının yanı sıra gıda çeşitliliği ve enkapsüle maddenin fonksiyonelliği de sağlanmış olur (Nedovic vd., 2011).

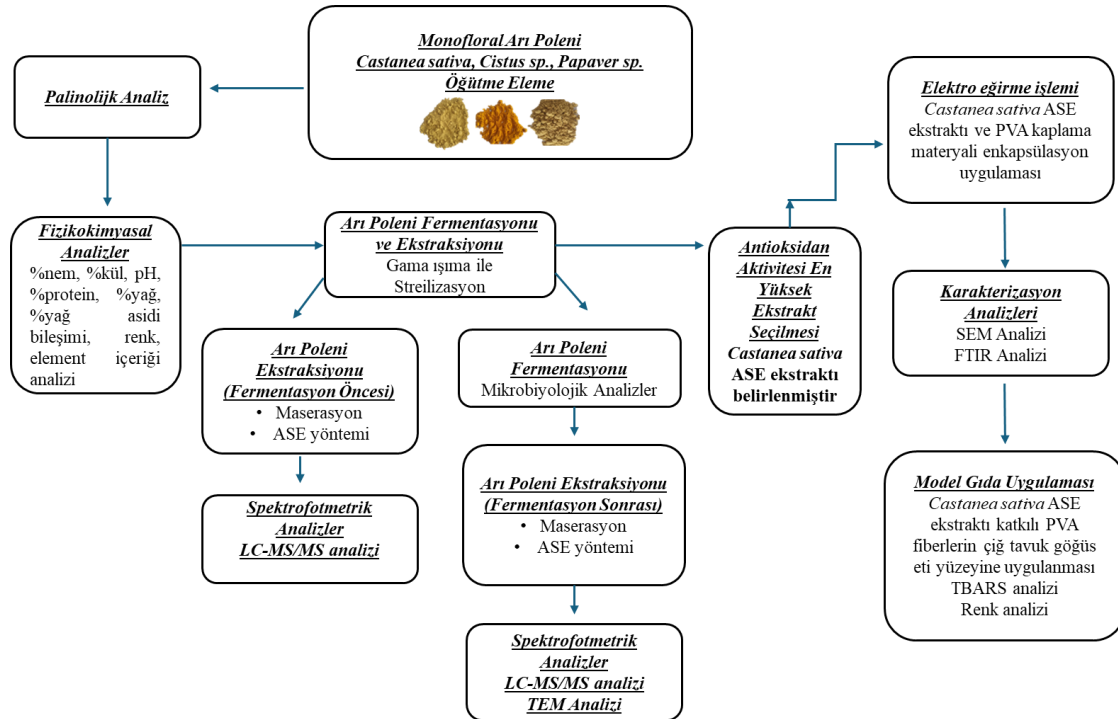
Kaplama materyallerinin özellikleri enkapsülasyon işleminde oldukça önemlidir. Kapsüllerin dış materyalleri yemeye uygun olmalı, biyolojik olarak paralanabilmeli ve koruyucu bir bariyer oluşturabilmelidir. Gıda endüstrisinde genellikle biyomoleküller kaplama materyali olarak tercih edilmektedir. Malzemenin reolojik özellikleri optimum düzeyde olmalı, kapsllediği biyoaktif madde ile tepkimeye girmemeli, maksimum düzeyde koruma sağlamalıdır (Nedovic vd., 2011).

Emülsifikasyon, koaservasyon, inklüzyon kompleks oluşturma, nanoçöktürme, süperkritik akışkan tekniği, elektroegirme yöntemi mikro-nanoenkapsülasyon işleminde kullanılan tekniklerdir. Elektroegirme, nanolif ya da farklı nanoyapıların oluşturulabildiği yüksek gerilim kaynağı ile elektrik alanına dayalı yenilikçi bir üretim sistemidir. Elektroegirme tekniği ile son ürün farklı morfolojik yapılarda oluşturulabilmektedir. Bu da elektroegirme tekniğinin en önemli avantajlarından birisidir. Elde edilecek nanoyapıların morfolojileri işlem parametrelerindeki değişikliklerle kontrol edilebilmektedir. Bu işlem ile geniş yüzey-hacim oranları sağlanarak yenilebilir filmler ile biyoaktif maddelerin kapsüllenmesi işlevleri yapılabilir. Yöntem basit, ucuz olup farklı polimerlerin kullanılması ve ticari uygulama için oldukça uygundur (Yılmaz, 2015).

Arı poleni elektro egirme yöntemiyle enkapsüle edilerek ve karakterizasyonu SEM, FTIR, DSC yöntemleri ile belirlenebilmektedir. Sonuçta polen örneklerinin faydalı özellikleri ve aljinat liflerin biyouyumluluğu nedeniyle biyomedikal uygulamalarda kullanım potansiyeline sahip olabilmektedir (Pakolpakçıl ve Draczynski, 2021). El-Kholy vd. (2019), arı polenini kazein ve lesitin ile enkapsüle ederek fonksiyonel yoğurt üretiminde kullanmıştır. Arı poleni takviyesi ile gelişmiş viskozite, su tutma kapasitesi ve sineresiz sağlanmış hem probiyotik hem de prebiyotik açısından simbiyotik fonksiyonel bir yoğurt oluşturulduğu belirtilmiştir.

Tez çalışması kapsamında ilk olarak monofloral *Papaver sp.*, *Cistus sp.* ve *Castanea sativa* arı polenlerinin palinolojik analizleri yapılmış olup polenlerin botanik kaynakları doğrulanmıştır. İkinci olarak monofloral *Papaver sp.*, *Cistus sp.* ve *C. sativa* arı poleni örneklerinin fizikokimyasal analizleri yapılmıştır ve polen örneklerinin besinsel içerikleri ve farklılıkları kıyaslanmıştır. *Papaver sp.*, *Cistus sp.* ve *C. sativa* arı poleni örnekleri fermentasyon öncesi gamma ışıma ile sterilize edilmiştir. Daha sonra monofloral *Papaver sp.*, *Cistus sp.* ve *C. sativa* arı polenlerinin bir kısmı *Lactobacillus rhamnosus* ile fermente edilmiştir. Fermente olan ve fermente olmayan, arı poleni örnekleri ekstraksiyon işleminde yenilikçi bir yaklaşım olan ve yeşil yöntem olarak bilinen hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE) yöntemi ve geleneksel yöntem olan maserasyon tekniği ile ekstrakte edilmiştir. Bu yöntemlerle edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri ve fenolik içerikleri kıyaslanmıştır. Biyoaktivite analizleri

sonucunda en yüksek antioksidan aktivite gösteren *C. sativa* arı poleni örneği ekstraktı enkapsülasyon aşaması için tercih edilmiştir. *C. sativa* arı poleni ekstraktı ile polivinil alkol (PVA) kaplama materyali kullanılarak elektro eğirme yöntemi ile mikro-nanofiberler üretilmiştir. Elde edilen fiberler için bazı karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Son aşamada polen yüklü fiberler çiğ tavuk göğüs eti yüzeyine uygulanarak tavuk etinin raf ömrü (lipit oksidasyon düzeyi) üzerindeki etkinliği test edilmiştir. Şekil 2.1’de çalışma kapsamında yapılan analizlere ait deney tasarım şeması yer almaktadır.



Şekil 2.1. Tez çalışması deney tasarım şeması

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışma kapsamında Türkiye’de en çok bilinen ve monofloral olarak üretimi yapılan *Castanea sativa* (kestane), *Cistus* sp. (laden) ve *Papaver* sp. (haşhaş) arı poleni örnekleri seçilmiştir. *Castanea* poleni Türkiye’de en çok üretiminin yapıldığı Trabzon, *Cistus* ve *Papaver* poleni ise Afyon illerinde yer alan arılıklardan taze olarak toplanmıştır. Tüm analizlerden önce arı poleni örnekleri liyofilizatör cihazında kurutulmuştur. Kurutulan örnekler öğütülmüş, 0,5 mesh elek ile elenmiştir. Arı poleni tozları, analizleri yapılana kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir. Arı polenlerinin mikrobiyolojik fermentasyonu için *Lactobacillus rhamnosus* GG bakteri suşu kullanılmıştır. Deneysel çalışmalar Bingöl Üniversitesi Arı ve Doğal Ürünler AR-GE ve ÜR-GE Araştırma ve Uygulama Merkezi ve Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde yapılmıştır. Hizmet alımına ilişkin; spektrofotometrik analizler, ASE cihazı ve evaporatör cihaz kullanımı, LC-MS-MS ile kalitatif ve kantitatif bileşen tayini parametreleri bahsi geçen araştırma ve uygulama merkezlerinde yürütülmüştür.

3.2. Yöntem

3.2.1. Arı Polenlerinin Palinolojik Analizi

Arı poleninin palinolojik analizi Çobanoğlu vd., 2023 tarafından önerilen yöntem kullanılarak yapılmıştır. 1 g polen örneği ile 7,5 mL etil alkol (%70 lik) 15 mL falkon tüplerine alınıp iyice karıştırılarak vortekslenmiştir. Karışım 3500 rpm’de 15 dakika santrifüjlenerek polenler dibe çöktürülmüştür. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Süpernatant kısmı uzaklaştırılarak, 1:1 gliserin-su çözeltisi eklenmiştir. Karışım vortekslenip tam olarak karışması sağlanmıştır. Hazırlanan karışımdan 10 µL bir lam üzerine alınmıştır. Sonra bazik fuksin-gliserin jelatin lam üzerine alınmıştır ve 70°C’de eritilmiştir. Lam üzerine 18*18 mm² lamel kapatılarak lam ters çevrilmiştir. Hazırlanan preparatlar 12 saat

beklendikten sonra mikroskopik inceleme yapılmıştır. Polen preparatları aracılığıyla polenlerin morfolojik özellikleri incelenmiş ve arı poleni içerisinde yer alan bitki polen tanelerinin teşhisi LEICA DM 2500 marka mikroskop ile yapılmıştır. Polen tanelerinin teşhisinde, referans preparatlar ve mevcut literatür verileri kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda %80 ve üzerinde tek tür botanik kaynaklı polen tanesi çeşidine sahip polenler monofloral olarak sınıflandırılmıştır (Campos vd., 2008).

3.2.2. Arı Polenlerinin Fizikokimyasal Analizleri

3.2.2.1. Arı Polenlerinin Nem, Kül ve pH Analizleri

Nem analizi için polen örneklerinden 3 g tartılmış ve örnekler daha önceden sabit tartıma getirilmiş ve darası alınmış petrilere aktarılmıştır. Etüvde 105°C’de sabit tartıma gelinceye kadar bekletilmiştir. %Nem içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Mayda, 2019).

$$\% \text{ Nem} = ((m_1 - m_2) / m) * 100$$

m= örnek ağırlığı

m₁= örnek ağırlığı + petri kabının ağırlığı

m₂= kurutulmuş örnek ağırlığı + petri kabının ağırlığı

Kül analizi için polen örneklerinden 3 g tartılmıştır. Tartılan örnekler önceden darası alınmış ve sabit tartıma getirilmiş krozelere aktarılaraq kül fırınında 550-600°C’de örnek rengi kül grisi (siyahlık kayboluncaya kadar) oluncaya kadar tutulmuştur. Krozelerin ağırlıkları kaydedilmiştir. %Kül içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Yıldız, 2011).

$$\% \text{ kül} = ((M_2 - M_1) / M) * 100$$

M₁ = Sabit tartıma getirilen krozenin ağırlığı

M₂ = Yakmadan sonraki kroze ve kül ağırlığı

M = Örnek ağırlığı

pH analizi için arı poleni örnekleri 5'er g tartılıp 20 mL saf suda homojenize edilmiştir. Dijital pH-metre aracılığı (thermo scientific orion star A211) ile ölçüm yapılarak sonuç verilmiştir (Çobanoğlu et al., 2021).

3.2.2.2. Arı Polenlerinin Protein İçeriği Analizi

Polen örneklerinin protein içerikleri Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. Polen örneklerinden 1 g tartılarak sülfirik asit ve kjeldahl tableti ile yakma ünitesine yerleştirilmiştir. Karışım yeşil berrak renk alıncaya kadar 150 dakika yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Süre bitiminde erlene alınan karışım %40 NaOH ve %2 borik asit ile distile edilmiştir. Distilasyon bitiminde örnekler 0,1 N HCl ile titre edilerek harcanan HCl hacmi kaydedilmiştir. Polen örnekleri için 6,25 değişim faktörü baz alınarak % protein hesaplanmıştır. Protein içeriği için yapılan hesaplama aşağıda verilmiştir.

$$\%N = (V \text{ asit} \times N \text{ asit} \times 1,4) / M \text{ örnek}$$

$$\%Protein = \%N \times 6,25$$

N asit: Normalite asit

M örnek: Örnek Ağırlığı

V asit: Titrasyonda harcama ait hacmi

3.2.2.3. Arı Polenlerinin %Yağ İçeriği ve Yağ Asidi Profili Analizi

Polen örneklerinin yağ içerikleri solvent ekstraktör cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Sabit tartıma getirilen krozelere 80 mL hekzan eklenerek cihaza yerleştirilmiştir. Parametreler; Plate sıcaklığı 130 °C, immersion süresi 120 dk, yıkama süresi 60 dk, geri kazanım süresi 60 dk. olarak ayarlanmıştır. Analiz bitiminde kroze son ağırlığı tartılmıştır ve sonuçlar kaydedilmiştir.

Solvent ekstraktörü ile elde edilen *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen yağlarının GC-MS cihazı ile %yağ asidi profili belirlenmiştir. Agilent 7890A GC-5975C MS ve FID dedektörü eş zamanlı olarak kullanılmıştır. Analizde 250°C: 60mx250µmx0.15µm özelliklerine sahip J&W 122-7061 kolon seçilmiştir. Taşıyıcı gaz helyumdur ve kolon akış hızı 1 mL'dir. Spitless modda enjeksiyon hacmi 1 µL'dir. Giriş

basıncı 20,83 psi, toplam akış 34 mL/dak. 10 mL heksan ile kapaklı tüplere 100 µL polen yağı örnekleri ilave edildi ve ardından vortekslenmiştir. Karışıma 100 µL 2 KOH ilave edildikten sonra 30 saniye vortekslenmiştir ve 4500 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Daha sonra üst kısımdan 1,5 mL'lik flakonlara alınarak GC-MS cihazında analiz edilmiştir. Kromatografik koşullar 50°C'den başlamıştır. 50°C'de 2 dakika bekletildikten sonra dakikada 20°C hızla 200°C'ye ulaşmıştır. Daha sonra dakikada 5°C hızla 230°C'ye ulaşmış ve 30 dakika bu sıcaklıkta tutulmuştur. Analiz süresi toplamda 55,5 dakika sürmüştür. MS cihazında Wiley ve NIST kütüphaneleri kullanılarak sonuçlar belirlenmiştir. Analiz 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.2.2.4. Arı Polenlerinin Element İçeriklerinin Saptanması

Çalışma kapsamında *Castanea sativa*, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenlerinin makro ve mikro element içerikleri tespit edilmiştir. Polen örneklerine ait element içeriklerinin belirlendiği yöntem ve parametreler aşağıda belirtilmiştir.

ICP-MS analizi için Mikrodalga Fırınında Çözündürme İşlemi: ICP-MS metodu numune hazırlanmasında, polen numunelerden sırasıyla yaklaşık 500 mg tartılarak mikro dalga fırının teflon kaplarına aktarılmıştır ve her bir numunenin üzerine derişik 10 mL %65'lik Merck nitrik asit eklenmiştir. Kontrol için boş bir teflon kapa 10 mL %65'lik nitrik asit eklenmiştir. Teflon kaplar CEM marka MARS6 ONE TOUCH (USA) model mikrodalga parçalayıcı fırınına yerleştirilmiştir. 25 dakika içinde maksimum sıcaklık 210 °C'ye kadar yükseltilerek bu sıcaklıkta 15 dakika bekletilmiştir. Toplamda 40 dakika kapalı sistemde bekletilerek çözündürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga fırın sıcaklığının ortam koşullarına dönmesinden sonra teflon kaplarda bulunan çözelti ultra saf su ile teflon kaplar kapakları ile iyice yıkanarak 50 mL balon jojelere alınmıştır. Çözeltilerin uygun seyreltmeleri yapılarak ICP-MS cihazında belirlenen şartlarda okumaları yapılmıştır.

Element analizi için ICP-MS Metodu: ICP-MS kalibrasyon çözeltileri ticari olarak satılan çoklu element standartları %1'lik (suprapure nitrik asit-ultra saf su) ile seyreltilerek kalibrasyon grafiği hazırlanarak oluşturulmuştur. Yapılan çalışmada numunelerin element analizleri için sisleştirici, sisleştirme odası ve entegre bir auto-

sampler bulunduran ICP-MS NexION® 2000 C (PerkinElmer®Inc., USA) cihazı kullanılmıştır. Sartorius™ Wall Mounted Arium pro Ultrapure Water System cihazından elde edilen 18,2 MΩ ultra saf su kullanılarak %1 suprapure nitrik asit-ultra saf su içeren yıkama çözeltisi hazırlanarak Tablo 3.1’de belirtilen konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Element analizlerinin kontrolü için 25 ppb konsantrasyonunda 89Y internal standardı kullanılmıştır.

Peristaltik pompa aracılığı ile numuneler argon gazı akışı ile siklon püskürtme haznesine gönderilmiştir. Girişimleri önlemek için argon gazının yanında yüksek oranda helyum gazı kullanılmıştır. Analizlerde ayarlama, veri toplama ve veri analizi dahil olmak üzere cihazı kontrol etmek için “Syngistix ICP-MS software version” 2.2 cihaz yazılımı kullanılmıştır. ICP-MS cihazının tüm çalışma koşulları aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.1. ICP-MS çalışma koşulları

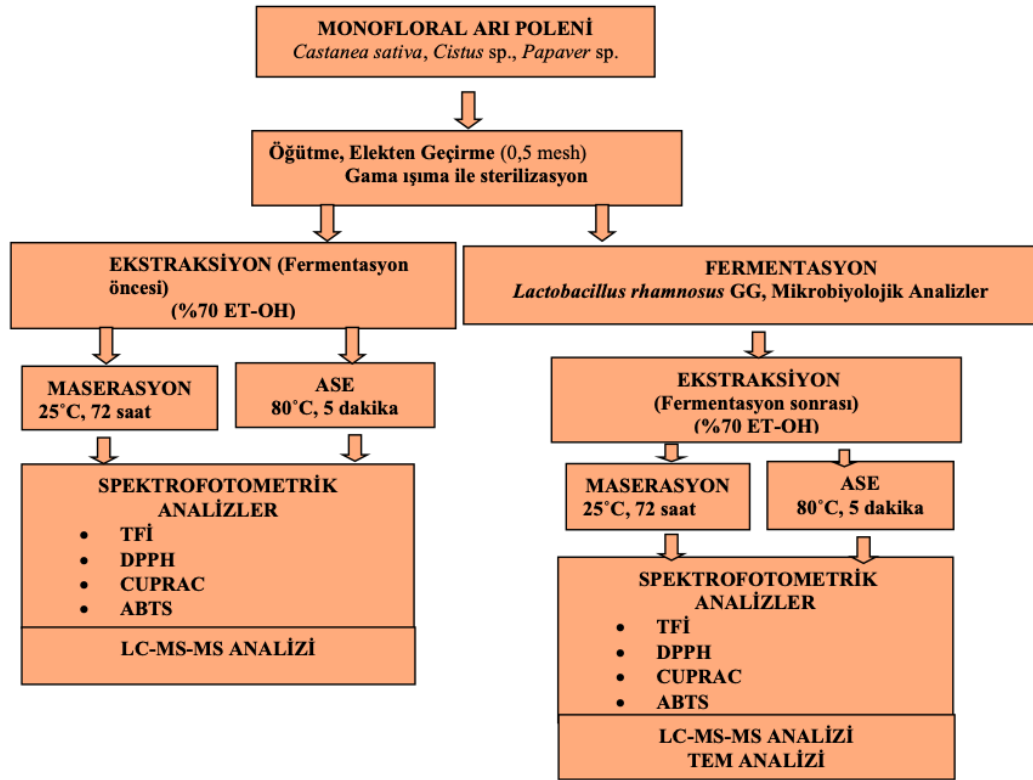
Parametre	Açıklama/ Değer
Nebulizer	MEINHARD® plusGlassType C
Sprey odası	Cam silikonik
Tek parça torch	w/2,5mm kuvarz enjektör ile
Enjektör	2.0 mm iç çaplı
Nebulizer akış hızı	%2’den az oksit oluşumu için optimize edilmiş
RF Gücü	1600 W
Koniler	Nikel /Ni)
Tekrar sayısı	3
Bekleme süresi	50 milisaniye
Aerosol seyreltme	2,5 kat ayarlanmış
Numune besleme hızı	350 µL/dk
Durulama süresi	45 saniye
Nebulizer gaz akış hızı	0,93 L/dk
Deflektör voltajı	-12 V,
Analog voltajı	-1750 V
Darbe voltajı	1100 V,
Ayrım eşiği	26,
Numune tüpü (turuncu-sarı)	Flare uçlu PVC pompa tüpleri 0,51 mm/0,89 mm
Internal Standart Tubing(Orange-red)	Flare uçlu PVC pompa tüpleri 0,19 mm/0,91 mm
Peristaltik pompa hızı	35 rpm
Alternatif akım (AC) rotasyon ofseti	-4,

3.2.2.5. Arı Polenlerinin Renk Analizi

Arı poleni örneklerinin renk analizleri Minolta renk cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk sonuçları L*, a*, b* cinsinden belirlenmektedir. L*beyazlık/koyuluk; a* kırmızılık/yeşillik; b* mavilik/sarılık ifade etmektedir.

3.2.3. Arı Polenlerinin Ekstraksiyonu ve Fermentasyonu

Bölüm 3'e ait arı polenin ekstraksiyonu ve fermentasyonunu içeren işlem basamakları deney tasarımı şeması Şekil 3.1'de özetlenmiştir.



Şekil 3.1. Arı polenlerinin ekstraksiyonu ve fermentasyonu içeren deney tasarımı şeması

3.2.3.1. Arı Polenlerinin Gamma Işıma ile Sterilizasyonu

Castanea sativa, *Papaver sp.* ve *Cistus sp.* polen örneklerinin sterilizasyonu gamma ışıma yöntemiyle (7,5 kGy) gerçekleştirilmiştir. Polenlerin sterilizasyonu, Ankara Atom Enerjisi Kurumu'nda gerçekleştirilmiştir (Mcistusova vd., 2022).

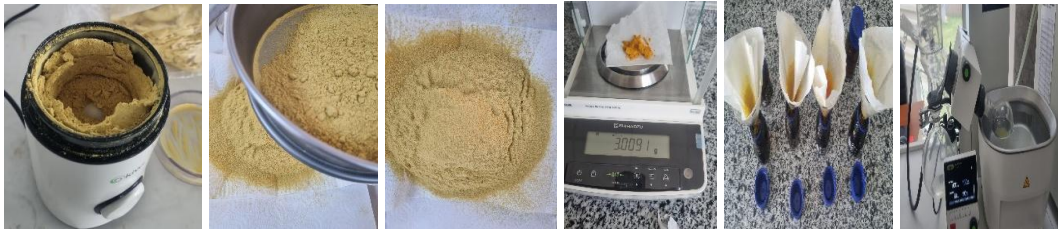
3.2.3.2. Arı Polenini Örneklerinin Toplam Maya ve Küf Analizi

Gama ışını ile sterilizasyondan önce ve sonra polenin mikrobiyotasında bulunan toplam maya ve küf sayımı yapılarak, Gama ışınının etkinliği saptamak amaçlanmıştır. Bu yöntem gama ışıma öncesinde ve sonrasında uygulanmıştır. Toplam maya ve küf sayımı için Potato dekstroze agar kloramfenikol (PDA, Merck) besiyeri kullanılmıştır. Polen örneklerinden 1 g tartılarak 9 mL steril serum fizyolojik içerisinde çözündürülerek ve 10^{-5} dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 100 µL alınarak yayma plak yöntemi ile ekimler yapılarak petriyer aerobik ortamda 25°C’de 5 gün süreyle inkübe edilmiştir (Estevinho vd., 2012; Barbara vd., 2015).

3.2.3.3. Fermente Edilmemiş Arı Polenlerinin Ekstraksiyonu

3.2.3.3.1. Polen Örneklerinin Maserasyon Yöntemi ile Ekstraksiyonu

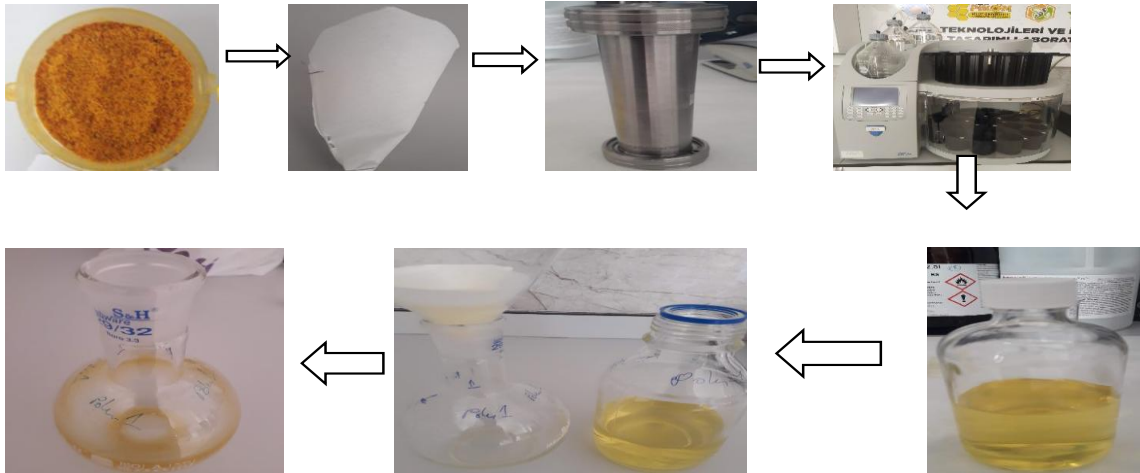
Arı poleni örneklerinin maserasyon yöntemi ile ekstraksiyonu literatüre dayanarak bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir (Lopes vd., 2020; Asmae vd., 2021; Lawag vd., 2021). Polen tozlarından 3 g tartılıp üzerine 60 mL %70 etanol (1w:20v) eklenmiştir. Hazırlanan karışım manyetik karıştırıcıda 25°C’de 72 saat bırakılmıştır. Süre bitiminde hazırlanan karışım whatman 4 filtre kağıdı ile filtre edilmiştir. Süzüntü 60°C’de evapore edilmiştir. Elde edilen ekstrakt kullanılıncaya kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Arı poleni örneklerinden maserasyon yöntemi ile ekstrakt eldesi

3.2.3.3.2. Polen Örneklerinin ASE Cihazı ile Ekstraksiyonu

Arı poleni örneklerinin hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu yöntemi için toz haline getirilen örnekler ve fermente polen örneklerinden 3 g tartılmış, çözücü olarak %70 etanol kullanılmıştır. Tartılan toz polen örnekleri 22 mL'lik çelik hücreye doldurularak kapak kısımlarına selüloz filtre konulmuş kapatılıp cihaza yerleştirilmiştir. ASE cihazı çalışma koşulları incelenen literatür sonucu ile belirlenmiştir (Xue vd., 2012). ASE cihazı koşulları sıcaklık 80°C, statik süre 5 dakika, yıkama hacmi %60, purge süresi 80 saniye olarak uygulanmıştır. Ekstraksiyon işlemi (statik döngü) 2 kez devam etmiştir. İşlem bitiminde ekstrakt yeniden filtre edilmiş, süzöntü 60°C'de evapore edilerek bütün çözücü uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstrakt kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.3).



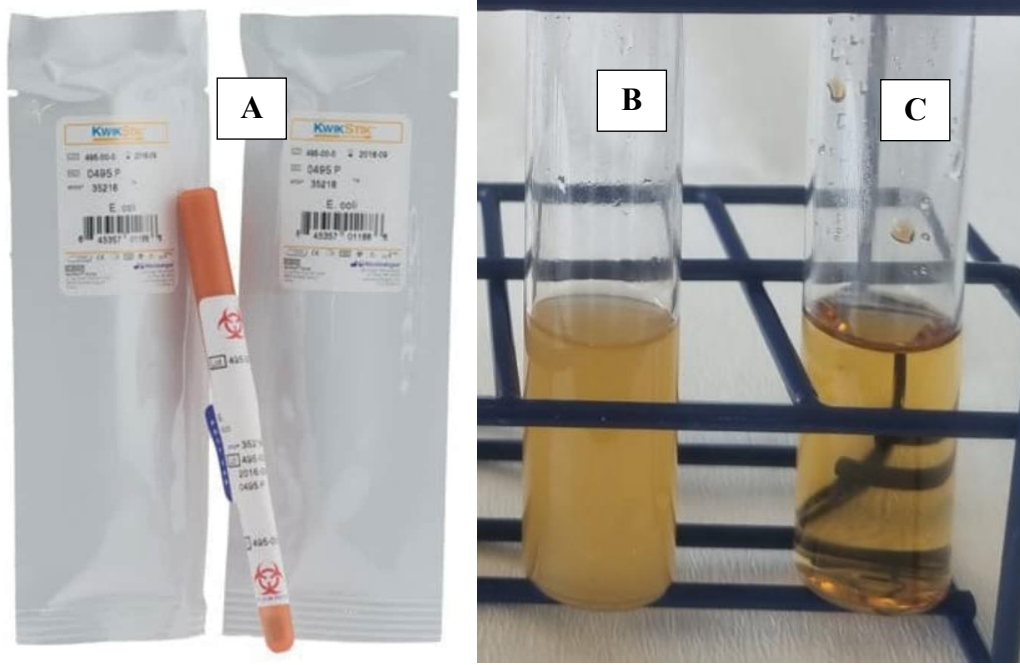
Şekil 3.3. Arı poleni örneklerinin ASE ekstraksiyon aşamaları

3.2.3.4. Fermentasyon İşlemi

3.2.3.4.1. *Lactobacillus rhamnosus* GG Bakteri Suşunun Çoğaltılması

Bu çalışma için, MRS broth besiyeri hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerine dondurularak kurutulmuş ticari kwik stik *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 ile alınan suştan ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besiyeri ve kontrol grubu olan besiyeri 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Çoğaltılan *L. rhamnosus* ATCC %20 gliserol ile birlikte steril

ependorflara alınarak -20°C’de saklanmıştır. MRS broth’da üremiş olan *L. rhamnosus* ATCC ait görsel Şekil 3.4’te verilmiştir.

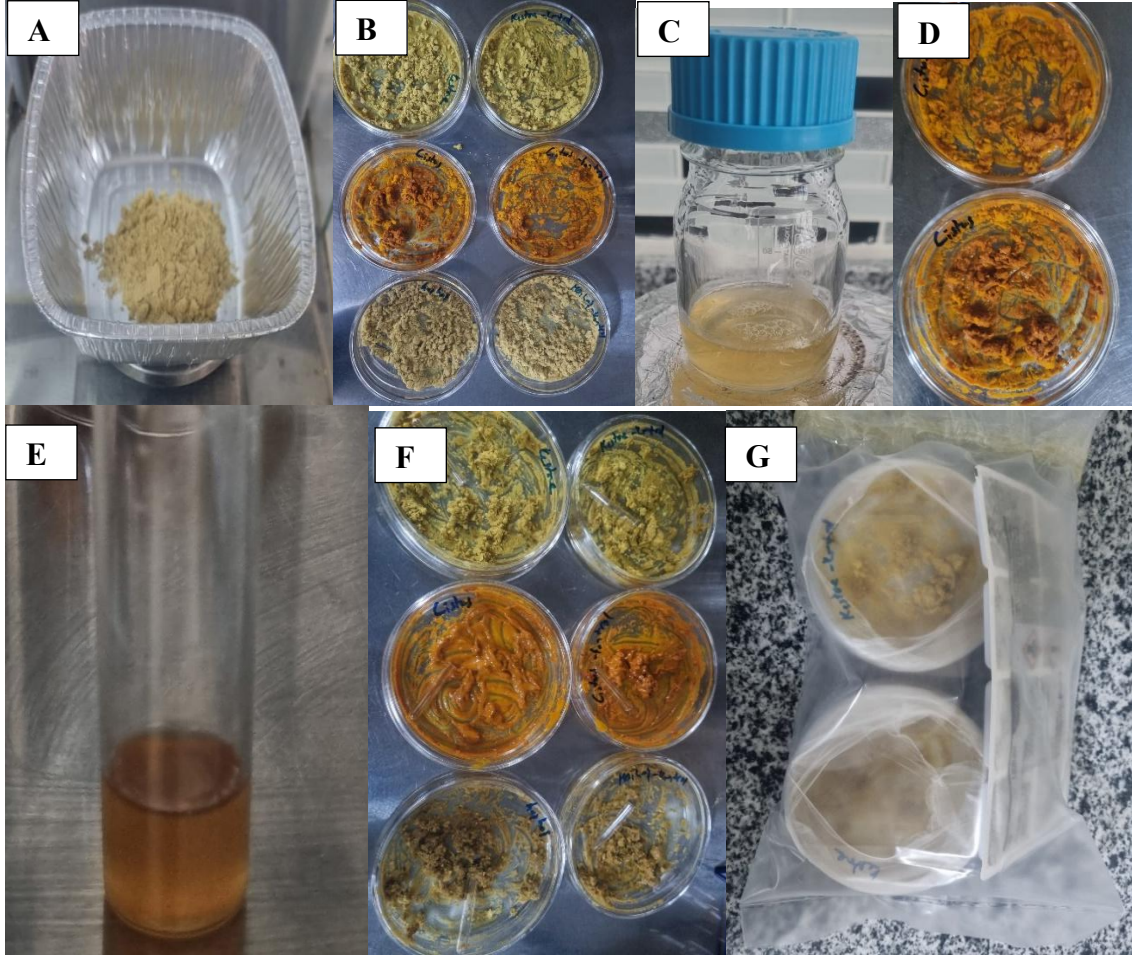


Şekil 3.4. A- *L. rhamnosus* Kwik Stik, B-Üremiş *L. rhamnosus* ATCC içeren MRS broth besiyeri, C-Kontrol grubu MRS Broth içeren besiyeri

3.2.3.4.2. Polen Örneklerinin Fermentasyonu

Fermentasyon işlemi Kaşkoniené vd. (2018), kullandığı yöntem baz alınarak bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon işleminde spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0,730 absorbans değerine sahip MRS broth besiyerinde üretilmiş *L. rhamnosus* bakteri kolonisi (hücre yoğunluğu: $2,9 \times 10^9$ CFU/mL) kullanılmıştır. Steril polen örneklerinden 6 g tartılarak steril petri kaplarına alınmıştır ve üzerine 2,7 mL steril distile su eklenmiş ve karışım yaklaşık 30 dakika bekletilerek polenlerin şişmesi sağlanmıştır. Şişmiş polen karışımına 1 mL kaynatılarak soğutulan bal çözeltisi (bal ve su sırasıyla 10g / 17,5 g W/W) eklenmiş ve tam karışması sağlanmıştır. Elde edilen karışıma 343 µL $2,9 \times 10^9$ CFU/mL hücre yoğunluğuna sahip *L. rhamnosus* bakteri kolonisi ilave edilmiş ve tam karışması sağlanmıştır. Kontrol grubu olarak *L. rhamnosus* bakterisi yerine her polen örneği için 343 µL %70 etanol ilave edilmiştir. Hazırlanan petri kaplarının etrafı parafilmle kaplanarak 37°C’de 12 gün anaerobik jar pedi ile inkübasyona bırakılmıştır. Fermentasyon işlemi steril koşullarda biyogüvenlik kabininde

gerçekleştirilmiştir. Steril *Castanea sativa*, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenlerinin fermentasyon işlemine ait görsel Şekil 3.5’te verilmiştir.



*A-Polen tartma; B-Steril distile su ile polen karıştırılması ve bekletilmesi; C, D- Bal çözeltisi ilavesi; E, F- *L. rhamnosus* bakteri ilave edilmesi; G-Petrilerin anaerobik jar pedi ile inkübasyona bırakılması.

Şekil 3.5. Polenlerin fermentasyon işlemi

3.2.3.4.3. Polen Örneklerinde Toplam Laktobasil Sayısı Analizi

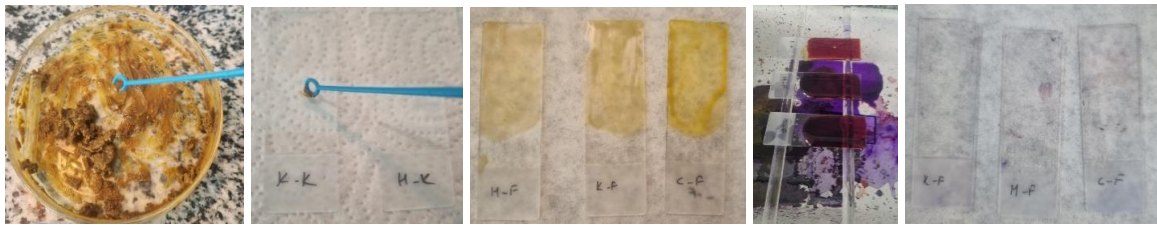
Dökme plak yöntemi ile toplam *L. rhamnosus* bakteri sayısı belirlenmiştir. Bütün işlemler steril koşullarda yapılmıştır. Fermentasyon sonrasında polen örneklerinden 1 g tartılmış ve 9 mL serum fizyolojik eklenerek homojenize edilmiştir. Daha sonra örneklerin serum fizyolojik ile 10^{-7} 'ye kadar seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Petri kaplarına 1 mL dilüsyonlardan alınarak üzerine MRS agar besiyeri eklenmiş ve 8 olacak şekilde petri kapları karıştırılmıştır ve soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan ve katılaştıran petrilere 37°C 'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petrilere oluşan

kolonilerin sayımı yapılarak fermente polen örneklerindeki canlı bakteri sayısı saptanarak başlangıç koloni sayısı (CFU) ile karşılaştırılmıştır. Petrilerdeki 30-300 arası koloni sayısı olan petriler sayılmıştır.

3.2.3.4.4. Polen Örneklerinin Gram Boyama Analizi

Gram boyama ile gram pozitif ve gram negatif bakteriler olarak sınıflandırma yapılmaktadır. Sonuçta mor renk ile boyanan bakteriler gram (+), pembe-kırmızı renk ile boyanan bakteriler gram (–) olarak belirlenmektedir. Steril öze yardımıyla fermente polen örneklerinden bir miktar lam üzerine alınmış ve üzerine 2-3 damla distile su damlatılmıştır. Karışım lam üzerine yayılmış, lam fiksasyon işlemi için bek alevi üzerinden 3 kez geçirilmiştir. Kurutulan preparatlar gram boyamada kullanılmıştır. Gram boyamanın aşamaları aşağıda verilmiştir.

Preparatlara kristal viyole dökülmüştür ve 1 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde distile su ile yıkanmıştır. Preparatlara lugol çözeltisi dökülmüş ve 1 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde distile su ile yıkanmıştır. Preparatlara %96 etil alkol dökülmüş (dekolorizasyon) ve 30 sn bekletilmiştir. Süre bitiminde distile su ile yıkanmıştır. Preparatlara safranin dökülmüş ve 1 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde distile su ile yıkanmıştır. Hazırlanan preparatlar kurutma kağıdına alınmış ve kurutulduktan sonra Leica DM 2500 marka ışık mikroskopunda 40X’de görüntü taranmış ve 100X objektifte immersiyon yağı ile görüntüler fotoğraflanmıştır. Gram boyama aşamalarına ait görseller Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.6. Polen örneklerinin gram boyama aşamaları

3.2.3.5. Fermente Edilmiş Arı Polenlerinin Ekstraksiyonu

3.2.3.5.1. Maserasyon Yöntemi ile Ekstraksiyon İşlemi

Fermente edilen arı poleni örneklerinden 3 g tartılıp 60 mL %70 etanol ile ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon koşulları 3.2.3.3.1’de verilen yöntem ile aynı şekilde uygulanmıştır.

3.2.3.5.2. ASE Cihazı ile Ekstraksiyon İşlemi

Fermente edilen arı poleni örneklerinden 3 g tartılıp %70 etanol ile ASE cihazında ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon koşulları ve şartlar 3.2.3.3.2’de verilen yöntem ile aynı şekilde uygulanmıştır. Her polen örneğinden toplamda 4 adet ekstrakt elde edilmiştir.

3.2.4. Arı Polen Ekstraktlarının Spektrofotometrik ve TEM Analizleri

3.2.4.1. Toplam Fenolik İçerik (TFİ) Analizi

Polen ekstraktlarının toplam fenolik içeriği Slinkard ve Singleton (1977), uyguladıkları Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. 0,2 N Folin çözeltisi ile %7,5’lik Na₂CO₃ saf su ile hazırlanmıştır. Pipetlenen örnekler 2 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Süre bitiminde 760 nm dalga boyunda spektrofotometre ile absorbans değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar gallik asit eğrisi baz alınarak mg GAE/g olarak hesaplanmıştır. Standart olarak Gallik asit kullanılıp sonuçlar mg GAE/g polen ekstrakt olarak verilmiştir. Gallik asit çözeltisinin konsantrasyonları etanol ile hazırlanmıştır. *Castanea sativa*, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenlerinin çalışma konsantrasyonu 5 mg/mL olarak belirlenmiştir. Pipetleme prosedüründe 50 µL örnek, 250 µL folin-3 dakika bekletilmiş-750 µL sodyum karbonat-2,5 mL saf su=3550 mL (toplam hacim) referans hazırlanıp referansa karşı okuma yapılmıştır. Gallik asit çözeltisi 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63 7,81, 3,91 µL konsantrasyonlarında hazırlanmıştır.

3.2.4.2. DPPH• (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Analizi

Brand-Williams vd. (1995), yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. 0,1 mM DPPH çözeltisi etil alkol ile hazırlanmıştır. Standart olarak troloks kullanılıp 517 nm’de spektrofotometre ile analiz yapılmıştır. Troloks çözeltisinin 20, 40, 80, 120, 160, 200, 240, 280, 320, 360 μ M konsantrasyonları hazırlanarak standart eğrisi oluşturulmuştur. Standart eğrisi ile mg TE/g örnek olarak sonuç verilmiştir. Analiz için pipetleme yapılırken polen ekstraktlarından 100 μ L ve DPPH çözeltisinden 900 μ L olacak şekilde tüplerde pipetlenmiştir. Kontrol için etil alkol kullanılmıştır. Hazırlanan tüpler 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Her örnek 3 tekrarlı olarak analiz edilmiştir. Sonuçlar troloks standart eğrisi baz alınarak mg TE/g olarak hesaplanmıştır. *Castanea sativa*, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenlerinin çalışma konsantrasyonu yapılan denemelerle 5 mg/mL olarak belirlenmiştir.

3.2.4.3. ABTS•+ (2,2’-Azino-Bis(3-Etilbenzotiazoline-6-Sülfonik Asit)) Analizi

Re vd. (1999), ABTS yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. ABTS stok çözeltisi hazırlamak için 7 mM ABTS ile 2 mM $K_2S_2O_8$ tartılarak 25 mL distile su ile çözündürülmüştür. Hazırlanan stok çözeltisi 12-16 saat oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletilmiştir. Süre bitiminde ABTS çalışma çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için ABTS stok çözeltisi %100 etanol ile absorbans değeri 0,750-0,800 aralığında olacak şekilde spektrofotometre yardımıyla ayarlanmıştır. Sonuçlar troloks kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Troloks çözeltisinin 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 310, 330 μ M konsantrasyonları hazırlanarak standart eğrisi oluşturulmuştur. Standart eğrisi ile mg TE/g örnek olarak sonuç verilmiştir. Analiz için pipetleme yapılırken polen ekstraktlarından 100 μ L ve ABTS çalışma çözeltisinden 900 μ L olacak şekilde tüplerde pipetlenmiştir. Kontrol için etil alkol kullanılmıştır. Hazırlanan tüpler 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 734 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Her örnek 3 tekrarlı olarak analiz yapılmıştır. Sonuçlar troloks standart eğrisi baz alınarak mg TE/g olarak hesaplanmıştır.

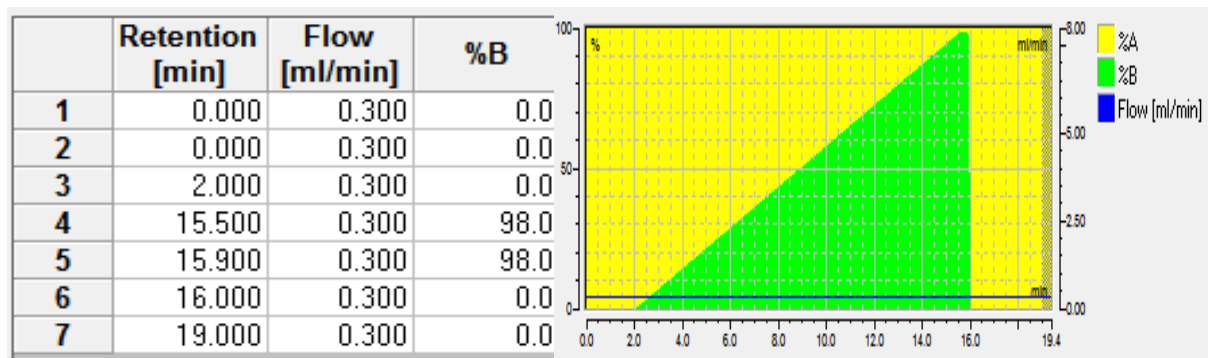
3.2.4.4. CUPRAC (Bakır(II) İyonu İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasitesi) Analizi

CUPRAC analizi Apak vd. (2010), geliştirdiği yöntem baz alınarak yapılmıştır. 10^{-2} -M 250 mL CuCl_2 çözeltisi saf su ile, $7,5 \times 10^{-3}$ -M 25 mL Neokuproin çözeltisi etil alkol ile, 1 M 250 mL Amonyum asetat çözeltisi saf su ile, 10^{-3} -M 25 mL Troloks standart çözeltisi metanol ile hazırlanmıştır. Pipetlemede 1'er mL CuCl_2 çözeltisi, Neokuproin ve amonyum asetat olacak şekilde yapılmıştır. Üzerine 100 μL örnek ve 1 mL saf su konularak çözelti vortekslenip 50 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Referans çözeltisinde ise 1,1 mL saf su eklenmiştir. Her örnek 3 tekrarlı olarak analiz edilmiştir. Standart olarak troloks kullanılıp değişen hacimlerde eklenerek son konsantrasyonu hesaplanarak sonuçlar mg TE/g olarak hesaplanmıştır. *Castanea sativa*, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenlerinin çalışma konsantrasyonu yapılan denemelerle 5 mg/mL olarak belirlenmiştir. Pipetleme prosedüründe 100 μL örnek, 1 mL CuCl_2 , 1 mL Neokuproin, 1 mL amonyum asetat ve 1 mL saf su kullanılmıştır. Referans hazırlanıp referansa karşı okuma yapılmıştır. Troloks çözeltisi 50, 100, 150, 200, 250, 300 μL olarak pipetlenmiştir. Troloks hacim-son konsantrasyon değerleri; 50 μL : $1,22 \times 10^{-5}$ -M troloks, 100 μL : $2,44 \times 10^{-5}$ -M troloks, 150 μL : $3,66 \times 10^{-5}$ -M troloks, 200 μL : $4,88 \times 10^{-5}$ -M troloks, 250 μL : $6,10 \times 10^{-5}$ -M troloks, 300 μL : $7,32 \times 10^{-5}$ -M troloks

3.2.4.5. Arı Poleni Ekstraktlarının Fenolik Bileşiklerinin Analizi

LC-HR MS analizleri, DIONEX UltiMate 3000 RS pompası, DIONEX UltiMate 3000 RS otomatik numune alıcısı ve DIONEX UltiMate 3000 RS kolon fırını içeren LC sistemi ve ısıtılmalı elektrosprey iyonlaşma arayüzüne sahip Exactive Plus Orbitrap (ThermoFisherScientific) yüksek çözünürlüklü MS bileşimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Orbitrap-MS cihazı, bir otomatik şırınga enjektörü (ThermoFisherScientific, ABD) kullanılarak pozitif (Pierce™ LTQ Velos ESI PositiveIonCalibration Solution) ve negatif kalibrasyon (Pierce™ NegativeIonCalibration Solution) solüsyonları ile kalibre edilmiştir. Yapılan LC-HRMS analizlerinde LC ve MS kısmı sistem bilgisayarına yüklenmiş olan TraceFinder 3.2 (ThermoScientific) programı ile eş zamanlı olarak çalıştırılmış, veriler Xcalibur software version 2.1.0.1140 (ThermoFisherScientific) programı ile toplanılarak kaydedilmiştir.

Kromatografi ve yüksek çözünürlüklü MS koşulları: Gerçekleştirilen analizler bir Merck Purosper® STAR RP-18 endcapped Hibar® HR model UHPLC (100 mm×2,1 mm, 3µm) kolon kullanılmıştır. Kolon fırın sıcaklığı 30 °C olarak çalıştırılmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli A fazında Ultrapure su sistemi (GFL 2004/ Human power 1) ile elde edilen ultra saf su da hazırlanmış %0,5 (v/v) glasiyel asedik asit, hareketli B fazında %99,9 saflıkta LC-MS derecede metanol (Sigma) kullanılmıştır. Ayırım, numune enjeksiyon hacmi 20,0 µL ve 0,3 mL/dk akış hızında gradiyent elüsyon koşulları Şekil 3.7’de belirtilen durumlara göre gerçekleştirilmiştir. Analiz süresi toplam 20 dakika olarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.7. Elüsyonda takip eden gradiyent koşulları

Isıtılmış bir elektrosprey iyonlaşma ara yüzü ile donatılmış Orbitrap HRMS hem pozitif (Full MS/AIF) hem de negatif (Full MS/AIF) modda çalıştırılmıştır. İyonlaştırma ara yüzü kılıf gaz (sheath gas) akış oranı 35; yardımcı gaz (auxiliary gas) akış oranı 7; sprej voltaj 3,5 kV; kapiler sıcaklığı 350 °C; yardımcı gaz (auxiliary gas) sıcaklığı 350 °C; S-lens RF seviyesi 50 olarak ayarlanmıştır. MS tarama aralığı 60-800 m/z; resolution 17500; ACG target 3. 106; maximum IT 2 ms; CE (çarpışma enerjisi, collision energy)/step CE 25 V koşullarında gerçekleştirilmiştir.

LC–Orbitrap HRMS analiz metoduna ait fitokimyasal bileşikler için standartların konsantrasyonu 10ppb-20ppb-40ppb-60ppb-80ppb-100ppb-200ppb-400ppb-600ppb-800ppb-1000ppb hazırlanarak her biri üç tekrarlı şekilde enjeksiyonu yapılmıştır. WA, 1, T, PF, MB SIVI örnekleri 100 µL alınmış, üzerine 9900 µL %50 metanol ve %50 oranında %0,5 asedik asit içeren su karışımında çözülmüştür. Diğer katı numuneler 10 mg tartılmıştır. 10 mL 5 mL metanolde 10 dakika ultrasonik banyoda tutularak

çözündükten sonra üzerine 5 mL %0,5 asetik asit içeren su karışımı eklenerek 10 dakika ultrasonik banyoda tutulmuştur. Çözünen örnekler şırınga yardımı ile gözenek büyüklüğü 0,22 mikrometre 25 mm çaplı PTFE şırınga filtreden süzülerek 1,5 mL vial'e alınmış, cihaza enjeksiyonu yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı (LOD) ve tayin alt sınırı (LOQ) değerleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı

	Bileşik Adı	RT	Ana iyon	Parçalanma iyonları	Katılmış iyon	Polarite	R ²	Lineer aralık ng/mL	% GERİ KAZANIM 10 µg/kg için	GERİ KAZANIM RSD µg/L	LOD µg/kg	LOQ µg/kg
1	Benzoic acid	10,88	121,0295	12,02950	M-H	-	0,9976	10-100	98,39	1,34	0,39	1,31
2	4-Hydroxybenzoic acid	7,83	13.702.442	93,03471	M-H	-	0,9981	10-100	92,95	5,92	1,65	5,50
3	Salicylic acid	10,89	13.702.442	93,03468	M-H	-	0,9935	10-100	86,10	3,02	0,78	2,60
4	3-hydroxybenzoic acid (3-HBA)	8,65	13.702.442	93,03471	M-H	-	0,9974	10-100	95,21	1,71	0,49	1,63
5	3-hydroxyphenylacetic acid (3-HPA)	8,57	15.104.007	107,05045	M-H	-	0,9934	10-100	97,67	2,07	0,61	2,03
6	Syringic acid	8,9	19.704.555	121,02975	M-H	-	0,9976	10-100	96,65	1,68	0,49	1,62
7	Gallic acid(3,4,5-trihydroxybenzoic acid)	3,75	16.901.425	125,0246	M-H	-	0,9974	10-100	99,26	1,88	0,56	1,87
8	Protocatechuic acid (3,4-Dihydroxybenzoic acid)	6,27	15.301.933	109,02949	M-H	-	0,9972	10-100	98,55	0,30	0,09	0,29
9	Protocatechuic acid ethyl ester (Ethyl 3,4-Dihydroxybenzoate)	10,94	18.105.063	108,02187	M-H	-	0,9918	10-100	91,43	0,56	0,15	0,52
10	3,4-dihydroxybenzaldehyde (Protocatechuic aldehyde)	7,32	13.702.442	136,01671	M-H	-	0,9905	10-100	95,01	4,83	1,38	4,59
11	2,4-dihydroxybenzoic acid (beta-Resorcylic acid)	8,4	15.301.933	67,01888	M-H	-	0,9958	10-100	94,18	4,23	1,20	3,98

Tablo 3.2. (Devam) Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı

	Bileşik Adı	RT	Ana iyon	Parçalanma iyonları	Katılmış iyon	Polarite	R ²	Liner aralık ng/mL	% GERİ KAZANIM 10 µg/kg için	GERİ KAZANI M RSD µg/L	LOD µg/kg	LOQ µg/kg
12	Vanillic acid	8,59	16.70 3.498	108,02173	M-H	-	0,9 900	10-100	85,55	4,78	1,23	4,09
13	Homovanillic acid((4-Hydroxy-3-methoxyphenylacetic acid)	8,69	18.10 5.063	108,02176	M-H	-	0,9 922	10-100	94,76	2,29	0,65	2,17
14	Vanillin	9,24	15.10 4.007	10.802.178	M-H	-	0,9 972	10-100	97,79	3,40	1,00	3,33
15	Gentisic acid	7,37	15.30 1.933	108,02176	M-H	-	0,9 969	10-100	96,57	0,73	0,21	0,71
16	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid(DOPAC, Homoprotocatechuic acid)	6,96	16.70 3.498	93,0346	M-H	-	0,9 916	10-100	104,36	0,75	0,23	0,78
17	trans Cinnamic acid	12,34	14.70 4.515	147,0451	M-H	-	0,9 908	10-100	92,48	1,72	0,48	1,59
18	coumaric acid (trans-3-Hydroxycinnamic acid)	9,79	16.30 4.007	11.905.027	M-H	-	0,9 976	10-100	96,95	1,58	0,46	1,53
19	Caffeic acid	8,6	17.90 3.498	135,04509	M-H	-	0,9 947	10-100	99,68	4,62	1,38	4,60
20	Caffeic acid phenhyl ester (CAPE)	14,29	28.30 9.758	135,04526	M-H	-	0,9 908	10-100	95,63	3,75	1,08	3,59
21	Ferulic acid	10,05	19.30 5.063	13.403.751	M-H	-	0,9 943	10-100	95,51	3,40	0,97	3,25
22	Sinapic acid	10	22.30 6.120	193,01436	M-H	-	0,9 932	10-100	98,77	0,36	0,11	0,36
23	Chlorogenic acid	8,05	35.30 8.781	191,05624	M-H	-	0,9 972	10-100	98,09	4,90	1,44	4,81
24	Quinic acid	0,93	19.10 5.611	85,02962	M-H	-	0,9 953	10-100	89,58	5,53	1,49	4,96

Tablo 3.2. (Devam) Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı

	Bileşik Adı	RT	Ana iyon	Parçalanma iyonları	Katılmış iyon	Pola rite	R ²	Liner aralık ng/mL	% GERİ KAZANIM 10 µg/kg için	GERİ KAZANIM RSD µg/L	LOD µg/kg	LO Q µg/kg
25	3-(4-Hydroxyphenyl) propionic acid	9,2 8	16.505 .572	108,02195	M-H	-	0,99 35	10-100	95,47	2,67	0,76	2,55
26	α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid	10, 03	18.803 .532	93,0347	M-H	-	0,99 83	10-100	94,49	2,39	0,68	2,26
27	Catechin (Cianidanol)-p	7,6 2	28.907 .176	109,02975	M-H	-	0,99 41	10-100	99,47	0,68	0,20	0,68
28	Epigallocatechin	7,4 8	30.506 .668	108,0219	M-H	-	0,99 08	10-100	107,49	0,96	0,31	1,03
29	Epigallocatechin gallate	8,2 9	45.707 .763	108,021850	M-H	-	0,99 48	10-100	104,77	2,59	0,82	2,72
30	Chrysin (5,7-Dihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one)	16, 63	25.305 .063	253,05063	M-H	-	0,99 05	10-100				
31	Apigenin (5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one)	13, 24	26.904 .555	117,03464	M-H	-	0,99 52	10-100	84,36	1,44	0,37	1,22
32	Acacetin (5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one)	14, 93	28.306 .120	268,03717	M-H	-	0,99 51	10-100	86,09	3,93	1,02	3,38
33	Rhoifolin (Apigenin 7-O-neohesperidoside)	11, 01	57.715 .628	269,04532	M-H	-	0,99 25	10-100	86,60	5,03	1,31	4,35
34	Vicenin 2	9,0 3	59.315 .119	473,10941	M-H	-	0,99 60	10-100	102,15	4,79	1,47	4,90
35	Apigenin 7-glucuronide	11, 17	44.507 .763	269,04535	M-H	-	0,99 57	10-100	87,69	6,69	1,76	5,87
36	Apigenin 7-glucoside	11, 12	43.109 .837	269,0448	M-H	-	0,99 29	10-100	96,37	2,43	0,70	2,35

Tablo 3.2. (Devam) Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı

	Bileşik Adı	RT	Ana iyon	Parçalanma iyonları	Katılmış iyon	Polarite	R ²	Liner aralık ng/mL	% GERİ KAZANIM 10 µg/kg için	GERİ KAZANIM RSD µg/L	LOD µg/kg	LOQ µg/kg
37	Genkwanin(4',5-Dihydroxy-7-methoxyflavone, Apigenin 7-O-methyl ether)	14,93	28.306.120	268,03745	M-H	-	0,9951	10-100	96,09	3,52	1,02	3,38
38	Apiin (Apigenin-7-(2-O-apiosylglucoside)	10,94	56.314.063	269,0463	M-H	-	0,9906	10-100	65,93	3,88	0,77	2,56
39	Vitexin (Apigenin 8-C-glucoside)	10,08	43.109.837	311,05603	M-H	-	0,9959	10-100	90,88	3,44	0,94	3,12
40	Schaftoside	9,64	56.314.063	443,09949	M-H	-	0,9969	10-100	96,63	3,47	1,01	3,35
41	Rutin hydrate M-OH2	10,65	60.914.611	300,02777	M-H	-	0,9961	10-100	102,96	3,31	1,02	3,41
42	Luteolin	12,53	28.504.046	175,04039	M-H	-	0,9967	10-100	91,16	5,14	1,41	4,69
43	Luteolin-7-O-glucuronide (Luteolin-7-O-β-D-glucuronide)	10,48	46.107.255	285,04056	M-H	-	0,9967	10-100	85,92	2,87	0,74	2,47
44	Diosmetin (Luteolin 4'-methyl ether)	13,35	29.905.611	284,0329	M-H	-	0,9966	10-100	86,24	2,36	0,61	2,04
45	Orientin	9,72	44.709.328	327,05148	M-H	-	0,9944	10-100	87,87	5,33	1,40	4,68
46	Isoorientin	9,72	44.709.328	327,05151	M-H	-	0,9944	10-100	87,87	5,33	1,40	4,68
47	Luteoloside (Luteolin 7-glucoside)	10,46	44.709.328	285,04059	M-H	-	0,9921	10-100	94,46	3,37	0,96	3,19
48	Luteolin 7-rutinoside	10,36	59.315.119	285,04065	M-H	-	0,9956	10-100	101,05	5,71	1,73	5,77
49	Galangin (3,5,7-Trihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one)	14,69	26.904.555	269,04555	M-H	-	0,9967	10-100	86,81	2,33	0,61	2,03
50	Quercetin	12,18	30.103.538	151,00342	M-H	-	0,9967	10-100	100,79	0,86	0,26	0,87

Tablo 3.2. (Devam) Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı

	Bileşik Adı	RT	Ana iyon	Parçalanma iyonları	Katılmış iyon	Polarite	R ²	Lineer aralık ng/mL	% GERİ KAZANIM 10 µg/kg için	GERİ KAZANIM RSD µg/L	LOD µg/kg	LOQ µg/kg
51	İsoquercitrin (Quercetin 3-glucoside)	10,72	46.308.820	300,02768	M-H	-	0,9 924	10-100	83,60	4,80	1,20	4,01
52	Narcissin (Narcissoside, Isorhamnetin 3-rutinoside)	11,37	62.316.176	315,05139	M-H	-	0,9 949	10-100	86,23	4,31	1,12	3,72
53	Quercetin 3-rutinoside 7-glucoside	11,53	28.705.536	135,04512	M-H	-	0,9 962	10-100	86,97	6,46	1,69	5,62
54	Isorhamnetin (Quercetin 3'-methyl ether)	13,2	30.002.780	315,05103	M-H	-	0,9 987	10-100	96,81	4,86	1,41	4,70
55	Kaempferol	13,05	28.504.046	136,01686	M-H	-	0,9 976	10-100	85,18	3,04	0,78	2,59
56	Afzelin (Kaempferol 3-rhamnoside)	11,96	43.109.837	285,04028	M-H	-	0,9 966	10-100	88,29	5,17	1,37	4,56
57	Kaempferide	14,82	29.905.611	284,03265	M-H	-	0,9 972	10-100	93,29	3,28	0,92	3,06
58	Kaempferitrin	11,01	57.715.628	431,09995	M-H	-	0,9 925	10-100	86,60	5,03	1,31	4,35
59	Nicotiflorin (Kaempferol 3-rutinoside, Kaempferol 3-O-β-rutinoside)	11,29	59.315.119	285,04041	M-H	-	0,9 972	10-100	91,72	8,14	2,24	7,46
60	Astragalın (Kaempferol 3-glucoside)	11,32	44.709.328	284,03281	M-H	-	0,9 936	10-100	87,97	6,18	1,63	5,43
61	Tiliroside	12,39	59.313.006	285,04102	M-H	-	0,9 963	10-100	93,35	3,00	0,84	2,80
62	Leucoside (Kaempferol 3-sambubioside)	11,53	28.705.536	135,04514	M-H	-	0,9 962	10-100	86,97	6,46	1,69	5,62
63	Myricetin	11,58	31.703.029	151,0038	M-H	-	0,9 838	10-100				
64	Fisetin hydrate	11,44	28.504.046	135,009	M-H	-	0,9 969	10-100	92,33	6,47	1,79	5,97

Tablo 3.2. (Devam) Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon	Parçalanma iyonları	Katılmış iyon	Polarite	R ²	Liner aralık ng/mL	%GERİ KAZANIM 10 µg/kg için	GERİ KAZANIM RSD µg/L	LOD µg/kg	LOQ µg/kg
65	Naringin	10,55	57.91 7.193	459,11502	M-H	-	0,9 912	10-100	85,86	7,33	1,89	6,30
66	Naringenin	12,34	27.10 6.120	119,05035	M-H	-	0,9 939	10-100	86,54	3,20	0,83	2,77
67	Sakuranetin (Naringenin 7-O-methyl ether)	14,02	28.50 7.685	119,05032	M-H	-	0,9 965	10-100	86,42	7,90	2,05	6,83
68	Narirutin (Narirutinsa, Naringenin rutinoside)	10,39	57.91 7.193	271,06107	M-H	-	0,9 958	10-100	84,12	3,84	0,97	3,23
69	Eriodictyol (3,4,5,7-Tetrahydroxyflavanone)	10,66	28.70 5.501	287,05501	M-H	-	0,9 939	10-100	95,45	2,66	0,76	2,54
70	Liquiritigenin	11,58	25.50 6.628	255,06592	M-H	-	0,9 924	10-100	83,01	1,67	0,42	1,38
71	Liquiritin (4',7-Dihydroxyflavanone 4'-glucoside)	9,99	41.91 3.366	138,05452	M-H	-	0,9 919	10-100	84,91	0,80	0,20	0,68
72	Genistein (5,7-Dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one)	12,65	26.90 4.555	13.302.959	M-H	-	0,9 935	10-100	97,25	3,27	0,95	3,18
73	Daidzin	9,33	41.51 0.346	253,05191	M-H	-	0,9 908	10-100	87,77	6,01	1,58	5,28
74	Formononetin (Neochanin)	13,61	26.70 6.628	252,04263	M-H	-	0,9 938	10-100	84,43	2,83	0,72	2,39
75	Kuromanine (Cyanidin 3-glucoside chloride)	8,16	44.70 9.328	285,0397	M-H	-	0,9 958	10-100	93,41	3,00	0,84	2,80
76	ellagic acid	10,91	30.09 9.899	300,99872	M-H	-	0,9 978	10-100	95,82	3,00	0,86	2,87
77	Esculin hydrate	7,43	33.90 7.216	177,0193	M-H	-	0,9 962	10-100	95,54	2,32	0,67	2,22

Tablo 3.2. (Devam) Fenolik bileşiklerin belirleme alt sınırı ve tayin alt sınırı

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon	Parçalanma iyonları	Katılmış iyon	Polarite	R ²	Liner aralık ng/mL	% GERİ KAZANIM 10 için µg/kg	GERİ KAZANIM RSD µg/L	LOD µg/kg	LOQ µg/kg
78	Phloridzin	10,98	43.512.967	273,07648	M-H	-	0,9934	10-100	98,43	1,10	0,33	1,08
79	Rosmarinic acid	10,82	35.907.724	161,02451	M-H	-	0,9971	10-100	94,99	3,97	1,13	3,78
80	Glabridin	15,17	32.312.888	135,04533	M-H	-	0,9987	10-100	95,70	2,24	0,64	2,15
81	Arbutin	2,96	27.108.233	108,0218	M-H	-	0,8478	10-100	95,36	2,48	0,71	2,36
82	Emodin	16,35	26.904.555	225,05573	M-H	-	0,983	10-100	95,38	5,04	1,44	4,81
83	Etoposide	11,66	61.117.351	405,09308	M-H	-	0,9904	10-100	105,08	3,41	1,08	3,59
84	Doxorubicin Hydrchloride	11,8	54.216.678	543,17461	M-H	-	0,9934	10-100	97,32	3,71	1,08	3,61
85	Ethylgallate	9,41	19.704.555	124,01682	M-H	-	0,9929	10-100	95,19	3,34	0,95	3,18

*alınma zamanı (RT), Quan Peak (m/z), iyon modu (polarite), confirming ions (m/z), kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayısı (R2), doğrusal (Lineer) aralık (µg/L), belirleme alt sınırı (LOD) (µg/L) ve tayin alt sınırı (LOQ) T (µg/L), % geri kazanım ve % geri kazanım RSD.

3.2.4.6. Arı Polen Tanelerinin Duvar Yapılarının İncelenmesi

TEM çalışmaları, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi MERLAB araştırma merkezinde gerçekleştirilmiştir. Polenlerin ekzin yapısı ve polenlerin duvar yapısı incelenmiştir. Polen taneleri, öncelikle fosfat tamponunda 48 °C’de bir gece boyunca sabitlenmiş, ardından %1 osmiyum tetroksitte 1 saat post fiksasyon uygulanmış, tekrar fosfat tamponunda (pH 7,2) iki kez yıkanmış ve 1000 g’de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Polen taneleri, agar ile birleştirilmiş, uranil asetat ile boyanmış ve dereceli etanol serisiyle dehidrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra propilen oksit ve epon işlemlerinin ardından polen, araldite içine gömülmüştür. Örnekler, uranil asetat-kurşun sitrat ile boyandıktan sonra TEM incelemesi için hazır hale getirilmiştir. Kesitler, JEM1010 transmisyon elektron mikroskopuyla (Jeol, Tokyo, Japonya) gözlemlenmiştir (Mete vd., 2021).

3.2.5. *Castanea sativa* Polen Ekstraktından Fiber Üretimi ve Karakterizasyon Analizleri

3.2.5.1. Kaplama Materyalinin Hazırlanması

Kaplama materyali olarak yapılan denemelerde polivinil alkol (PVA) kullanılmıştır. %14 PVA çözeltisi distile su (W: V) ile hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım 60°C’de 4 saat 350 rpm ayarlı manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır (Şekil 3.8) (Göksen vd., 2021).



Şekil 3.8. PVA kaplama materyali

3.2.5.2. Elektro Eğirme Cihazı için Besleme Çözeltinin Hazırlanması

ASE cihazı ile elde edilen evapore edilmiş *Castanea sativa* (kestane) polen ekstraktı elektro eğirme işlemi için besleme çözeltisinde kullanılmıştır. %14 PVA çözeltisine 0, 200 mg/mL, 300 mg/mL, 400 mg/mL ve 600 mg/mL konsantrasyonlarında *Castanea sativa* polen ekstraktı 1 mL %70 etanol ile hazırlanarak eklenmiştir. Hazırlanan polen ekstraktı karışımı, %14 PVA çözeltisine çözelti karışmaya başladıktan 2 saat sonra eklenmiştir. %14 PVA karışımı toplamda 4 saat karışırken 2 saati polen ekstraktı ile gerçekleşmiştir. Polen ekstraktı içermeyen kontrol gurubu %14 PVA çözeltisi de hazırlanmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. *Castanea sativa* poleni ekstraktı katkılı %14 PVA çözeltisi görseli

3.2.5.3. Elektro Eğirme İşlemi

0, 200, 300, 400 ve 600 mg/mL polen ekstraktı %14 PVA çözelti karışımları kullanılarak elektro eğirme cihazı ile fiber yapılmıştır (%0, %14, %21, %28 ve %42 oranlarında polen katkılı PVA fiberleri üretilmiştir). Elektro spin işlem koşulları: 5 mL şırınga kullanılmıştır. 18 gauge yeşil uçlu iğne ile fiber üretilmiştir. Plaka iğne ucu mesafesi 10 cm olarak ayarlanmıştır. Besleme çözeltisi akış hızı 0,20 mL/saat çalışılmıştır. Spin voltajı 18 kV değerinde belirlenmiştir (Göksen vd., 2021).

3.2.5.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

0, 200, 300, 400 ve 600 mg/mL *Castanea* polen ekstraktı katkılı %14 PVA fiberlerinin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM-a JEOL JSM 6510) cihazı ile görüntüler kaydedilmiştir. SEM cihazı ile analiz işlemleri Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Fiber yapıların çaplarının ölçülebilmesi amacıyla Image J yazılımı program kullanılmış olup orijin programı ile ortalama çaplar ve standart sapma hesaplanarak histogram diyagramları oluşturulmuştur (Pakolpakçıl ve Draczynski, 2021).

3.2.5.5. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR) Analizi

0, 200, 300, 400 ve 600 mg/mL *Castanea sativa* arı poleni ekstraktı katkılı %14 PVA fiberlerinin ve *Castanea sativa* polen ekstraktının kimyasal ve fonksiyonel gruplarının karakteristik piklerinin tanımlanması için Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR- Perkin Elmer Spektrum 100) spektrumları ölçülmüştür. FTIR cihazı ile analiz işlemleri Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Tanımlama için $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığı kullanılmış, 32 tarama yapılmıştır. Çözünürlük 4 cm^{-1} 'dir (Zeytuncu vd., 2014; Wang vd., 2024).

3.2.6. *Castanea sativa* Polen Ekstraktı Yüklü Fiberlerin Tavuk eti Yüzeyine Uygulanması

Hazırlanan 0, 200, 300 ve 400 mg/mL *Castanea sativa* arı poleni ekstraktı içeren %14 PVA çözeltilerinden elektro eğirme işlemi fiberler üretilmiştir. Elde edilen fiberler çiğ tavuk eti göğsüne uygulanmıştır. 5 g tavuk göğsü kesilerek yüzeyleri sırasıyla 0, 200, 300 ve 400 mg/mL kestane polen ekstraktı içeren %14 PVA fiberleri ile kaplanmıştır. Kaplama işleminin çiğ tavuk etinin raf ömrü üzerine etkisini belirlemek için kaplanan tavuk göğüs etleri 0, 3 ve 7 gün $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında bekletilmiştir. Çiğ tavuk göğüs kaplama materyalinin raf ömrü sürecinde değişimdeki etkisinin kıyaslanması amacıyla 0. gün de TBARS ve renk analizinde çalışılmıştır. Ayrıca polen ekstraktı içermeyen %14 PVA fiber örneği de kaplamada kullanılmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. *Castanea sativa* polen ekstraktı yüklü fiberlerin tavuk eti yüzeyine uygulanması

3.2.6.1. TBARS Analizi (Lipit Peroksidasyon Analizi)

0, 200, 300 ve 400 mg/mL *Castanea sativa* arı poleni ekstraktı katkılı %14 PVA fiberleri ile kaplanan tavuk göğüs etlerinin 0., 3. ve 7. günlerde TBARS analizi yapılmıştır. Lipit peroksidasyon düzeyini belirlemek amacıyla %20 TCA ile 0,02 M TBA çözeltisi distile su ile hazırlanmıştır. 5 g tavuk göğüs eti bıçak yardımı ile küçük parçalara kıyılmıştır. Daha sonra 25 mL %20 TCA çözeltisi ile amber renkli cam şişelerde karıştırılmıştır. Karışım homojenizatör yardımıyla 1200 rpm 2 dakika homojenize edilmiştir. Homojenize karışım üzerine 20 mL distile su ilave edilmiş 1 saat oda sıcaklığında çalkalayıcı ile karıştırılmıştır. Süre bitiminde karışımlar 3500 rpm’de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Çökeltiden süpernatant kısım ayrılarak çözelti 50 mL distile su ile tamamlanmıştır. Elde edilen süzüntüden 5 mL alınarak 5 mL 0,02 M TBA ile cam tüpte karıştırılmıştır. Karışımlar 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiş sonrasında ince filtre ile filtre edilmiştir. Karışımlar ağzı kapalı cam tüplerde 95°C’de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. 1 saat sonunda çözeltiler reaksiyonun durdurulması amacıyla 0°C soğuk suya alınmıştır. Çözeltiler spektrofotometrede absorbans değeri alınmadan önce son kez 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası 532 nm dalga boyunda spektrofotometre yardımıyla absorbans değerleri kör numune saf su olacak şekilde kaydedilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri 7,8 ile çarpılarak TBARS değeri hesaplanmıştır (Xiong vd., 2015).

3.2.6.2. Renk Analizi

0, 200, 300 ve 400 mg/mL *Castanea sativa* arı poleni ekstraktı katkılı %14 PVA fiberleri ile kaplanan tavuk göğüs etlerinin 0, 3. ve 7. günlerinde renk değerleri L^* , a^* ve b^* olarak minolta renk cihazı ile belirlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Tavuk etinin renk analizi görseli

3.2.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 25, JMP 5.01.1 programı ve Minitab 17 kullanılarak yapılmıştır. Tukey Pairwise Comparison testi ile gruplar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farkların anlamlılığını değerlendirmek için eş zamanlı %95 güven aralıkları kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Monofloral Arı Poleni Örneklerinin Palinolojik Doğrulanması

Arı poleni örneklerinin mikroskobik analiz sonucu içeriğinde saptanan bitki taksonları ve bu taksonların bulunma yüzdeleri Tablo 4.1’de ve polen örneğinin içerdiği polen tanelerinin ışık mikroskobu görüntüsü Şekil 4.1’de verilmiştir. Arı poleni örnekleri monofloral *Castanea sativa* (kestane), *Papaver* sp. (haşhaş) ve *Cistus* sp. (laden) polenleridir. Polen örneklerinin monofloral olarak doğrulamasında baz alınan bitki takson oranı %80’dir.

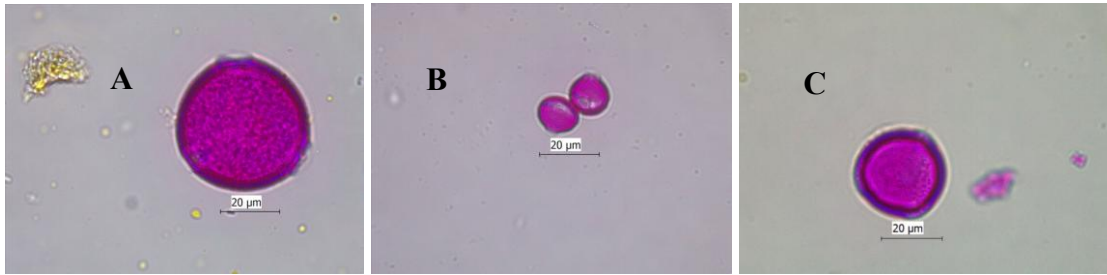
Tablo 4.1. Arı poleni örneklerinin botanik kaynakları

Coğrafik Kaynak	Botanik Kaynak	Polen tipi ve bulunma sıklığı (%)
Trabzon	<i>Castanea sativa</i> (monofloral)	*****: <i>Castanea sativa</i> %95 *: <i>Brassica</i> sp. %1,75; <i>Medicago</i> sp. %1,25; <i>Ferula</i> sp. %1,2, <i>Rosaceae</i> %0,8
Afyon	<i>Cistus</i> sp. (monofloral)	***** <i>Cistus</i> sp. %92 ** <i>Centaurea</i> sp. %3,2; <i>Hypericum</i> %3,3 * <i>Olea</i> sp. %1,2, <i>Papaver</i> sp %0,3
Afyon	<i>Papaver</i> sp. (monofloral)	***** <i>Papaver</i> %93 ** <i>Astragalus</i> sp %3,3, <i>Daucus</i> sp. %3,7

*****: >80; ****45-80; ***15-45; **3-15; *<3.

Arı polenin palinolojik analizi, bu değerli arı ürününün botanik kökenlerini ve besin profillerini anlamak için çok önemli bir yöntemdir. Bu analiz, arılar tarafından toplanan polen tanelerinin mikroskobik incelemesini içerir ve araştırmacıların polenin kaynaklandığı bitki türlerini tanımlamasına olanak tanır. Arı polenin sınıflandırılması genel olarak monofloral ve multifloral kategorilere ayrılabilir; monofloral polen tek bir bitki türünden elde edilirken multifloral polen birden fazla türden oluşur. Bu ayırım,

polenin bitki kaynağına bağlı olarak büyük ölçüde değişebilen biyokimyasal ve organoleptik özelliklerini etkilediği için önemlidir (Çobanoğlu, 2024; Çobanoğlu vd., 2021). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda palinolojik analizlerin doğruluğunu artırmak için çeşitli metodolojiler kullanılmıştır. Örneğin, Kostić vd. (2015), tek bir türe ait %80'den fazla polen içeren örneklerin monofloral olarak sınıflandırılabilceğini, birden fazla türe sahip olanların ise belirli polen türlerinin baskınlığına göre kategorize edilebileceğini göstermiştir. Bu çalışmada *Cistus* sp., *Papaver* sp., *Castanea* sp. arı polenlerinin tümünün monofloral olduğu belirlenmiştir.



*A: *Cistus* sp.; B: *Castanea sativa*; C: *Papaver* sp.

Şekil 4.1. Polen örneklerinin ışık mikroskobu görüntüleri (100X)

4.2. Arı Polenleri Örneklerinin Fizikokimyasal Bulguları

4.2.1. Arı Polenlerinin %Nem, %Kül ve pH Değerleri

pH, nem ve kül içeriği gibi fizikokimyasal parametreler arı poleni için önemli kalite belirteçlerindendir. Coğrafi bölge, bitkisel orjin ve toprak tipi gibi özellikler nedeniyle polen çeşitleri farklı değerlerde pH, nem ve kül içeriğine sahiptir.

Arı poleninin nem içeriği besinsel özelliklerini, raf ömrünü ve mikrobiyal bulaşıya yatkınlığını etkilemektedir. Taze arı poleninin genellikle %15-%30'a varan yüksek nem içeriği var olup bu değer polen kaynağına, saklama koşullarına ve coğrafi özelliklere bağlı olarak değişmektedir. Çalışmamız kapsamında polen örneklerinin %nem içerikleri Tablo 4.2.'de verilmiştir. Polen örnekleri arıcılardan yaş haliyle temin edilmiş olup analizler öncesinde liyofilizatör cihazı ile 3 gün süre ile kurutulmuştur. Sonuçta hesaplanan değerler kurutulmuş polenler içindir. En yüksek nem içeriği $11,57 \pm 0,29^A$ *Papaver* sp. poleninde bulunmuş olup en düşük nem değeri *Castanea sativa* arı poleninde

saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada taze arı polen örneklerinin nem oranları $11,13 \pm 0,03$ ile $27,80 \pm 0,18$ olarak bulunmuştur. Kurutulmuş polenler için %nem değerleri %8'in altında tespit edilmiştir. Bu oranın bitkisel köken ve saklama koşullarına bağlı olarak farklılaştığı belirtilmiştir (Mokhnache vd., 2025). Arı poleninin fizikokimyasal özelliklerini inceleyen bir araştırmada %nem oranının %16,92 ile 31,08 arasında değişen değerler gösterdiği saptanmıştır. Bu durumun hasat zamanındaki yüksek bağıl nem oranından kaynaklandığı belirtilmiştir (Spulber et al, 2018). La Calera ve Zipaquirra bölgelerinden toplanan arı poleni örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada arı poleni örneklerine uygulanan kurutma işlemleri (35°C ve 45°C) ile su aktivitelerinin ve nem içeriklerinin belirgin şekilde azaldığı bulunmuştur. 35°C'de kurutma ile nem değerleri %9,31 ile %11,23 olarak saptanmış olup 45°C'de kurutma işlemi için bu değerler sırasıyla %8,29 ile %7,09'dur (Barajas vd., 2012). Melo ve Almeida-Muradian (2011), çalışmalarında farklı kurutma yöntemlerinin arı poleninin nem içeriği üzerindeki etkisini araştırmış sonuçta kızılötesi uygulamasının ve liyofilizasyon işleminin nem içeriğini azaltmada en etkili yöntemler olduğunu bildirmiştir.

Arı poleninin kül içeriği, mineral bileşiminin toplam değerini yansıtan önemli bir kalite göstergesidir. Miktarı polen kaynağına ve toprak cinsine bağlı olarak değişmektedir. Tez çalışmasında arı poleni örneklerinin %kül değerleri kül tayin metodu ile hesaplanmış sonuçlar Tablo 4.2'de sunulmuştur. En yüksek %kül içeriği $3,58 \pm 0,58^A$ ile *Castanea sativa* arı polen örneğinde bulundu. Daha sonra % kül içerikleri sırasıyla *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polen örneklerinde tespit edilmiştir ($3,26 \pm 1,47^A$ - $2,92 \pm 0,63^A$). Literatür incelendiğinde %1,9 (Spulber et al, 2018), %1,93-%3,73 arasında (Mokhnache vd., 2025) %kül oranları saptanmıştır. Çalışmamızda incelediğimiz arı poleni örneklerinin %kül içerikleri literatürde bulunan değerlerle uyumludur.

Arı poleninin pH değeri mikrobiyal gelişim ve raf ömrü bakımından önemli bir parametredir. Tez çalışmasında polen örneklerinin pH değerleri dijital pH metre kullanılarak belirlenmiştir ve sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. pH değerleri kıyaslandığında *Castanea sativa* poleninin en düşük pH değerine sahip olduğu görülmektedir. Polen örneklerinin tümü asidik özellikte bulunmuştur. *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. poleni örneklerinin pH değerleri *Castanea sativa* polenine göre daha yüksek

olup birbirine yakın değerdedir. Farklı çalışmalar arı polenin pH değerini genellikle 3,9-5,9 arasında bulmuştur. Örneğin Romanya arı polenin incelendiği bir araştırmada polen örneklerinin pH değerleri 3,9-5,84 aralığında bulunmuş ortalama pH değerinin 4,60 olduğu bildirilmiştir (Oroian vd., 2022). Başka bir araştırmada ise arı ürünleri arasında polenin daha yüksek bir pH'ya sahip olduğu ve pH değerinin 4,30-5,22 arasında değiştiği belirtilmiştir (Adaşkevičiūtė vd., 2019). Diğer bir araştırmada arı polenlerinin pH değerleri bitkisel kaynağa göre anlamlı farklılıklar göstermiş, pH değerleri $5,33 \pm 0,13$ ile $3,87 \pm 0,02$ arasında asidik özellikte bulunmuştur (Mokhnache vd., 2025).

Tablo 4.2. Arı polenlerinin %nem, %kül ve pH değerleri

Polen Örneği	%Nem	%Kül	pH
<i>Castanea sativa</i>	$9,63 \pm 0,70^B$	$3,58 \pm 0,58^A$	$3,997 \pm 0,02^C$
<i>Papaver</i> sp.	$11,57 \pm 0,29^A$	$2,92 \pm 0,63^A$	$4,347 \pm 0,04^B$
<i>Cistus</i> sp.	$10,55 \pm 0,28^{AB}$	$3,26 \pm 1,47^A$	$4,430 \pm 0,03^A$

* Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$).

4.2.2. Arı Polenlerinin %Protein İçeriklerinin Belirlenmesi

Polen örneklerinin %protein içerikleri Kjeldahl yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır ve polen örneklerinin %protein içerikleri Tablo 4.3'de verilmiştir. $28,06 \pm 0,09^A$ ile en yüksek protein içeriği *Papaver* sp. poleninde bulunmuştur. Daha sonra sırasıyla $26,35 \pm 1,39^A$ ile *Castanea sativa* poleni, $16,46 \pm 2,19^B$ ile *Cistus* sp. poleni gelmektedir. *Fraxinus ornus*, *Coriandrum*, *Salix*, *Quercus ilex*, *Vitis*, *Castanea*, *Trifolium alexandrinum* baskın arı polenlerinin protein içeriklerinin belirlendiği bir çalışmada % protein değerinin çalışmamızla benzer şekilde %16-25 aralığında değiştiği bulunmuştur. Bahsi geçen çalışmada incelenen farklı mevsimleri ait kestane polenlerinin ise %protein değerleri 16,02-22,1 aralığında hesaplanmıştır. Bu değerlerin çalışmamızda incelediğimiz kestane polenine ($26,35 \pm 1,39$) göre daha düşük olduğu görülmektedir (Castiglioni vd. 2022). Negrao vd. (2014), Brezilya arı poleninde %18,66-24,39; Kostic vd. (2015) Sırbistan arı poleninde %14,81-27,25; Yang vd. (2013), Çin arı poleninde %14,26-28,95; Gabriele vd. (2015) İtalya arı poleninde %25,87-28,42 oranlarında protein içerik belirlemişlerdir. Bu değerler çalışmamızda elde ettiğimiz %protein içerikleri ile benzer şekildedir (%16,46-28,06).

Tablo 4.3. Arı poleni örneklerinin %protein ve %yağ içerikleri

Polen Örneği	%Protein	%Yağ
<i>Castanea sativa</i>	26,35 ± 1,39 ^A	1,137
<i>Papaver</i> sp.	28,06 ± 0,09 ^A	3,0857
<i>Cistus</i> sp.	16,46 ± 2,19 ^B	4,7473

* Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$).

4.2.3. Arı Polenlerinin %Yağ ve Yağ Asidi Profillerinin Belirlenmesi

Polen örneklerinin %yağ içerikleri solvent ekstraktör cihazı ile yağ içerikleri elde edilerek %yağ değerleri hesaplanmıştır ve polen örneklerine ait %yağ değerleri Tablo 4.3’de verilmiştir. %Yağ içeriği en yüksek %4,747 ile *Cistus* arı poleni örneğinde bulunmuştur. En az yağ içeriği %1,137 ile *Castanea sativa* poleninde hesaplanmıştır. Polenlerde lipit varlığı arılar için oldukça çekici olup lipit içeriği yüksek konsantrasyonlu bitkilerin arılar tarafından daha çok ziyaret edildiği bildirilmiştir (Negrão vd., 2018). Literatürde lipit içeriği genellikle %1-13 aralığında tespit edilmiş olup %22 oranında lipit içeren arı poleni de saptanmıştır (Campos vd., 2008, De-Melo vd., 2017). Yapılan bir çalışmada farklı ülkelerden toplanan aynı monofloral bitki kaynaklı arı polenlerinin lipit içeriklerinin toplandıkları ülkelere göre önemli farklar gösterdikleri bulunmuştur. *Cistus* sp. arı poleninin % lipit içeriği İtalya için %1,9, Yunanistan için %3,8, İspanya için %7,2 olduğu belirtilmiştir (De-Melo vd., 2017; Thakur ve Nanda, 2020).

Solvent ekstraktörü ile elde edilen *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen yağlarının GC-MS cihazı ile % serbest yağ asidi profili belirlenmiştir ve yağ asidi profiline ilişkin değerler Tablo 4.4’de verilmiştir. *Castanea sativa* ve *Papaver* sp. arı polen, yağ ekstraktları doymuş yağ asitlerinden palmitik asidi içerirken *Cistus* poleni palmitik aside ek olarak kısa zincirli yağ asitlerinden olan caprilik asit, caprik asit, laurik asit ve miristik asit bulundurmaktadır. Tablodaki veriler incelendiğinde tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri yönüyle polen yağı ekstraktlarının iyi bir kaynak olabileceği görülmektedir. *Castanea sativa* poleninin omega 9 ve omega 6 içeriği diğer iki polen örneğine göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak omega 3 içeriği ise *Castanea sativa* poleninde en düşük oranda bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. arı polenlerinin omega 3 yönüyle *Castanea sativa* arı polenine göre daha iyi bir

kaynak olabilecekleri belirlenmiştir. *Papaver* sp. arı poleninde omega 3, omega 6 ve omega 9 yağ asitlerinin dengeli oranlarda dağıldığı saptanmıştır. Polen yağı ekstraktlarının toplam doymamış yağ asidi oranları kıyaslandığında sırasıyla *Castanea sativa* (%76,92), *Papaver* sp. (%75,22) ve *Cistus* sp. (%48,033) olacak şekilde sıralanmıştır. *Cistus* sp. poleninin 24 farklı yağ asidi bileşenini içerdiği *Castanea sativa* ve *Papaver* sp. arı polenlerinin ise 7 adet yağ asidi bileşenini yapıda bulundurduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda polen örneklerinde %4,29-71,47 doymuş yağ asitleri, %1,29-53,24 tekli doymamış yağ asitlerini, %4,33-75,71 çoklu doymamış yağ asitlerini içerdikleri belirtilmektedir. Çalışmamız kapsamında incelenen polen örneklerinin doymuş, tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri miktarı literatür değerleri aralığında bulunmuştur. İnsan beslenmesinde Avrupa EC 1924/06 yönetmeliğine göre 300 mg/100 g konsantrasyonunda omega 3 içeren gıdalar omega 3 kaynağı kabul edilmektedir. Bu nedenle arı polenlerinin insan beslenmesi için iyi bir omega 3 kaynağı olabileceği düşünülmektedir (Li vd., 2017). Arı poleninin esansiyel yağ asitleri açısından iyi bir içeriğe sahip olduğu ancak miktarların ve bileşimlerin botanik kaynağa bağlı olarak değiştiği literatürde belirtilmektedir ve yaptığımız çalışmada da bu durum saptanmıştır (Ghouizi vd., 2023).

Tablo 4.4. Arı poleni örneklerinin %yağ asidi profilleri

Yağ Asitleri (%)	<i>Castanea</i>	<i>Papaver</i>	<i>Cistus</i>
C 8:0 (Kaprilik asit)	-	-	0,42±0,363
C 10:0 (Kaprilik asit)	-	-	3,17±0,416
C 12:0 (Laurik asit)	-	-	0,737±0,068
C 14:0 (miristik asit)	-	-	1,84±0,155
C 16:0 (palmitik asit)	22,74±0,41	23,11±0,24	25,89±0,542
cis-Vasenik asit	0,05±0,087	-	-
n-Heksadekanoik asit	0,01±0,011	-	-
9,12,15-Oktadekatrienoik asit	0,11±0,196	-	-
Benzenasetik asit, metil ester	-	0,0867±0,15	-
Miristik asit, metil ester	-	0,0233±0,04	-
C-14	-	0,3533±0,61	-
C 18:1 (omega 9) ((oleik asit)	39,30±1,98	25,81±0,10	18,197±0,855
C 18:2 (omega 6) (Linoleik asit)	34,24±1,93	25,93±0,45	27,11±1,397
C 18:3 (omega 3) (Linolenik asit)	3,38±0,468	23,48±0,525	20,726±2,730

Tablo 4.4. (Devam) Arı poleni örneklerinin %yağ asidi profilleri

Yağ Asitleri (%)	<i>Castanea</i>	<i>Papaver</i>	<i>Cistus</i>
C 20:1 (omega 9) (Eikosenoik asit)	-	-	0,0133±0,015
- <i>trans</i>-13-Oktadekenoik asit, metil ester	-	-	0,09±0,155
- <i>cis</i>-9-Oktadekenoik asit, propil ester	-	-	0,01±0,017
9-Oktadekenoik asit (E)	-	-	0,0333±0,0416
10-Oktadekenoik asit, metil ester	-	-	0,0533±0,0288
<i>cis</i>-Metil 11-eikosenoat	-	-	0,0167±0,0288
9-Oktadekenoik asit (Z)	-	-	0,0333±0,0416
Erusik asit	-	-	0,1033±0,0764
6-Oktadekenoik asit	-	-	0,03±0,03
3-Dokosenoik asit, metil ester (Z)	-	-	0,0633±0,109
C 22:1 (<i>cis</i> - 13) (omega 9)	-	-	0,1067±0,127
7,10,13-Heksadekatrienoik asit, metil ester	-	-	0,0133±0,0231
Oleik asit	-	-	0,03±0,0360
<i>cis</i>-11-Eikosenoik asit, metil ester	-	-	0,0167±0,0152
9-Octadekenoik asit (Z) metil ester	-	-	0,03±0,0519
<i>trans</i>-4-İzopropil-3-((E)-1-oktenil) sikloheksanon	-	-	0,03±0,0519

4.2.4. Arı Polenlerinin Element İçeriklerinin Belirlenmesi

Kimyasal elementler insan vücudunun tüm hücre ve dokularında serbest veya bağlı halde bulunmaktadır. Bu elementler biyokimyasal reaksiyonlarda katalizör görevi gördükleri gibi büyüme ve gelişme, metabolik süreçlerde temel ve vazgeçilmez yapı taşlarıdır. Elementlerin sergiledikleri fizyolojik etkiler doz durumuna bağlı olmaktadır (Skalny, 2011). Bu nedenle elementlerin fonksiyonlarını gösterdikleri optimum konsantrasyon aralıkları mevcuttur. Element eksiliğine veya fazla birikimine bağlı olarak vücutta doğrudan veya dolaylı olarak ciddi değişiklikler ve hasarlar oluşabilmektedir. Buna metal-ligand homeostasisinin bozulması ve patolojik değişikliklerin gelişmesi neden olmaktadır. Metaller ve ligandları (ör; aspartat, glutamat vb.) çeşitli hastalıkların gelişiminde ve tedavisinde etkili olan enzimler için aktivatör veya inhibitör olarak işlev görebilmektedir (Skalnaya ve Skalny, 2018).

Elementlerin vücuttaki içeriği ve fizyolojik rolü hakkında bilgileri sistemleştirebilmek adına elementler çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma ilkelerinden biri elementlerin memeli ve insan vücudundaki içeriğine bağlı olarak gruplandırılmasıdır.

Buna bağılı olarak ilk grubu vücuttaki içeriğı %0,01'den fazla olan 'makro elementler' oluşturmaktadır. Bu grupta yer alan C, H, O, ve N canlı maddenin %96'sını meydana getirmiştir. Bu elementler canlı doku ve organların oluşumundaki öncü rolleri nedeniyle 'organojen'ler olarak da adlandırılırlar. Ca, Na, K, S, Cl, Mg, P bu grupta yer alan diğerelementlerdir (Fraga, 2005; Karasakal, 2012; Skalnaya ve Skalny, 2018).

İkinci grubu; Fe, Zn, F, Sr, Cu, Mo, Mn, Al elementleri oluşturup vücuttaki miktarları %0,00001 ile 0,01 arasında değişmektedir. Bu elementler 'iz element' olarak adlandırılmaktadır. İz elementler vücutta eser miktarda bulunmalarına rağmen biyolojik sistemin gelişiminin tüm aşamalarında, hayati fonksiyonların düzenlenmesinde yer alan fizyolojik sistemlerde oldukça önemli bileşen grubunu oluşturmaktadır (Karasakal, 2012; Mehri, 2020; Mehri ve Marjan, 2013).

Üçüncü grubu ise ultra iz (ultratrace) elementler oluşturmaktadır. Vücuttaki konsantrasyonları %0,0000001'den düşük olup Se, Co, V, Cr, As, Ni, Li, Ba, Ti, Ag, Sn, Be, Ga, Ge, Hg, Sc, Zr, Bi gibi elementler bu grupta yer almaktadır (Skalnaya ve Skalny, 2018). İnsan sağlığının korunmasında etkili ve çevresel kaynaklardan alınması zorunlu olan elementler 'mikro besinler' kategorisindedir. Vücut için gereklilikleri kg başına mg veya µg gibi düşük miktarlardadır. Gıdalar, insanlar için önemli iz element kaynağıdır. Dünyadaki yoksul nüfusun yararlandığı tek çeşit beslenmenin sebep olduğu (örneğin tahıl bazlı) enerji, protein ve element eksiklikleri görülmesi muhtemel beslenme problemleri arasında görülmektedir. Bunun yanı sıra sanayileşmiş ülkelerdeki fast food ve rafine beslenme alışkanlıkları da bazı temel eser element eksikliklerinin görülmesini beraberinde getirmektedir (Combs, 2013).

İz element gerekliliğı; bir elementin alım düzeyinin sürekli olarak belirli bir limitin altında kalmasıyla birlikte bireyde fizyolojik fonksiyonlarda bir azalmaya yol açması ya da elementin organik yapının ayrılmaz bir parçası olması şeklinde açıklanabilmektedir. Temel eser element eksikliği önemli metabolik bozukluklara neden olabilmektedir. Bu eksiklikler klinik ve morfolojik değişikliklerle birlikte patolojik sonuçlanabilir. Genel immun direncin azalmasıyla birlikte iltihaplanmalar, endokrinopatiler ve neoplastik hastalıklar görülebilmektedir (Skalnaya ve Skalny, 2018).

Elementlerden metaller, prooksidan veya antioksidan olarak görev yapabilmektedir. Metalin işlevi kimyasal yapısına ve metali şelatlayan moleküle bağlı olarak değişmektedir. Örneğin Fe, prooksidan ve antioksidan olarak hareket edebilir. Se ise bir antioksidan olarak işlev yapmaktadır (Fraga, 2005). İnsan fizyolojisi açısından önem taşıyan çeşitli fonksiyonlar gören bazı geçiş metalleri kobalt, molibden, krom ve vanadyumdur. Kobalt; kobaltinin bileşeni (Kıran, 2018), molibden; ksantin oksidaz ve sülfite redüktaz enzimlerinde elektron transfer maddesi (İpek, 2003), krom ve vanadyum ise glikoz ve lipid metabolizmasında etkileri ile görev almaktadır (Fraga, 2005). Biyolojik sistemlerde metaller genellikle proteinlere bağlanarak metaloproteinleri oluşturmakta ayrıca daha küçük moleküller olan fitatlar, polifenoller gibi bileşiklerle de konjuge halde bulunmaktadır. Metaloproteinlerdeki metaller genellikle yapısal işlevlere sahip olup enzimatik sistemlerde yer almaktadır. Ayrıca metaller, hedef organa taşınabilme amacı ile de proteinlere bağlanabilmektedir.

Metaloproteinlerin enzim sistemindeki rolleri; enzimin aktif bölgesinin bileşeni, üçüncül veya dördüncül enzim yapılarının stabilizatörleri ve substratın reaksiyonlar içinde yönlendirilmesi şeklinde . Bazı metallerin çeşitli hastalıklarda veya durumlarda takviye olarak alınması gerekli hale gelebilir (Örneğin böbrek yetmezliğinde görülen anemilerde). Ancak bu takviyelerin kontrollü olmaması durumunda yüksek dozlara maruziyetle birlikte toksik etkiler söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle element takviyelerinde temellilik ve sağlığın teşviki ve geliştirilmesine yönelik durumlarda gereksinme ve toksisite sınırlarının tanımlanması oldukça önemlidir (Fraga, 2005).

Ağır metaller olarak bilinen Cd, As, Pb ve Hg elementlerinin insan sağlığı için ciddi toksik etkileri vardır. Bu elementler gıdaların doğasında toksikolojik etki gösterecek seviyede bulunmazlar. Ancak çevresel faktörlerin etkisiyle gıdalar normalde bulundurdıkları düzeyden daha yüksek miktarlarda bu elementleri içerebilmektedir. Polen, arıcılık faaliyetleri kapsamında çeşitli çevresel kirleticilerden dolayı bu ağır metalleri içerebilmekte ayrıca bu metaller yönünden risk oluşturabilecek sınırdaki bulunabilmektedir (De Oliveiraa vd., 2017; Tutun vd., 2022).

Çalışma kapsamında *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polenlerinin makro ve mikro element içerikleri tespit edilmiştir. Polen örneklerine ait element içeriklerinin konsantrasyonları Tablo 4.5’de verilmiştir.

Gıdalarda eser miktarda bulunmasına karşın makro elementlerin büyüme ve gelişmedeki rolleri oldukça önemlidir. İncelenen polen örneklerinin tümünde en yüksek konsantrasyonda tespit edilen makro element “Ca” olarak bulunmuştur. Ca miktarı polen örneklerinde sırasıyla *Castanea sativa* arı poleninde 1110,969 mg/kg; *Papaver* sp. arı poleninde 781,233 mg/kg; *Cistus* sp. arı poleninde 606,651 mg/kg olarak saptanmıştır. Polen çeşidine bağlı olarak polenlerde Ca içeriklerinin değişkenlik gösterdiği görülmüştür. En yüksek Ca içeriği *Castanea sativa* arı poleninde tespit edilmiştir.

Polen örneklerinde Ca elementinden sonra yüksek konsantrasyonda tespit edilen ikinci makro element Mg olmuştur. Mg miktarı en yüksek *Papaver* sp. arı poleninde (633,004 mg/kg) bulunmuş olup bunu takiben *Castanea sativa* (615,562 mg/kg), *Cistus* sp. (409,0 mg/kg) polenleri gelmektedir. Tespit edilen diğer bir makro element Na’dur. Na içeriği en fazla *Castanea sativa* poleninde saptanmış daha sonra sırasıyla *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. arı polenlerinde bulunmuştur.

Analiz sonucunda polenlerin makro elementlerin yanı sıra vücut için gerekli olan Fe, Zn, Mn, Cu, Mo, Se, Cr, Co gibi mikro elementleri de içerdikleri belirlenmiştir. *Castanea sativa* poleni için en yüksek konsantrasyonda Fe iz elementi; *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. arı polenlerinde ise en yüksek konsantrasyonda Zn iz elementi tespit edilmiştir.

Polen örneklerinin Fe içerikleri *Castanea sativa* (89,871 mg/kg) > *Papaver* sp. (31,641 mg/kg) > *Cistus* sp. (25,167 mg/kg) olarak bulunmuştur. *Castanea sativa* arı poleninin Fe içeriği diğer örneklere oranla çok daha yüksek miktarlarda saptanmıştır. Demir vücutta oksijen taşınması, enerji metabolizması, DNA sentezi, hücresel büyüme ile ilgili proteinlerde kofaktör olması yönünden vücut için elzem bir mineraldir. Demir organizmada Fe^{2+} ve Fe^{3+} şeklinde bulunur. Transferrine bağlı olmayan demir vücutta toksik etki oluşturabilir. Demir elementinin fazlaca birikimi karaciğer, kalp hasarına neden olabilmektedir. Günlük alınması gereken demir miktarı 10-20 mg/gün olup 200 mg üzerinde toksik etkiler görülebilmektedir. Demir elementi için öldürücü dozun 7-35 g/gün

arasında olduğu belirtilmiştir. Siyah çay veya kahvede bulunan oksalatlar, fitatlar, tanenler ve peynir, süt ve yumurta kaynaklı fosfatlar nedeniyle demir emiliminin azaldığı çalışmalarla saptanmıştır (Skalnaya ve Skalny, 2018).

Zn içeriği dikkate alındığında *Castanea sativa* arı polenin (56,930 mg/kg) en yüksek içeriğe sahip olduğu bunu takiben sırasıyla *Papaver* sp. (41,927 mg/kg) ve *Cistus* sp. (25,550 mg/kg) polenlerinin geldiği görülmüştür. Çinko elementinin yeterli düzeyde alınması DNA sentezi, RNA transkripsiyonu ve hücrel apoptoz için oldukça önemlidir (Mehri, 2020). Birçok enzim için kofaktör olan çinkonun, özellikle gelişmekte olan ülkelerde eksiklik indisansının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çinko eksikliğiyle birlikte iştahsızlık, büyüme geriliği, bağışıklığın azalması, nörolojik bazı hastalıklar görülebilmektedir (Mehri, 2020; Skalnaya ve Skalny, 2018). Ayrıca malabsorpsiyon, alkolizm, kronik karaciğer ve böbrek hastalıklarının patolojik sonucu olarak çinko eksikliğiyle karşılaşılabilir. Embriyogenez evresi, çocukluğun ve yaşlılığın ilk dönemleri çinko gereksinmesi açısından oldukça önemli evrelerdir. Günlük çinko gereksinmesi 10-15 mg/gün olup toksik etki oluşturacak seviyesi 600 mg/günün üzerindedir. Fosfat, fitat, alkol, diüretikler veya antimetabolit alımının artması çinko eksikliğine neden olabilmektedir (Skalnaya ve Skalny, 2018).

Mn elementinin konsantrasyonu yapılan analiz sonucunda *Castanea sativa* poleninde (71,858 mg/kg) diğer polen örneklerine oranla yaklaşık 7 kat daha yüksek tespit edilmiştir. Diğer polenlerin Mn içerikleri kıyaslandığında sırasıyla *Papaver* sp. (18,817 mg/kg) ve *Cistus* sp. (8,498 mg/kg) olarak saptanmıştır. Mn enzimatik süreçlerde kofaktör görevi gören elementlerden biridir. Mn ve Fe taşınımı arasında bir bağlantı olduğu belirtilmektedir. Bunun yanı sıra beyindeki enzimlerin yapısında, antioksidan, bağışıklık ve üreme sistemlerinde önemli görevleri bulunmaktadır (Aschner ve Aschner, 2005). Buna karşın aşırı manganez birikiminin merkezi sinir sisteminde nörolojik hasarlara yol açabileceği bildirilmektedir. Optimal Mn gereksinmesi 3-5 mg/gün'dür. Günlük 40 mg üzerinde alımı toksik etki oluşturabilmektedir. B1, E, fosfor ve kalsiyum manganez emilimini kolaylaştırırken kalsiyum ve fosforun aşırı alımı Mn emilimini engellemektedir (Skalnaya ve Skalny, 2018).

Se, Mo, Co elementleri *Castanea sativa* poleninde en yüksek düzeyde tespit edilmiştir. *Papaver* sp. poleninde (0,244 mg/kg) Se elementi, diğer polenlere oranla en az seviyede bulunmuştur. Selenyum, vücutta antioksidan sistemde, bağışıklık ve üreme sisteminde önemli işlevler gerçekleştirmektedir. Selenyum için günlük alım düzeyi 20-70 µg/gün olup 5 mg/gün üzerinde toksik etki görülmektedir. Se eksikliğinde vücutta As, Cd, ve Hg gibi ciddi toksik etkileri olan ağır metallerin birikimi artabilmektedir. Se; Hg ve As ile antagonist etki gösterir. Şiddetli selenyum eksikliğinde Kashin-Beck hastalığı görülmektedir (Mehri, 2020). Mo, yüksek dozlarda toksik olabilen bir eser elementtir. Uzun süreli parenteral beslenmelerde eksikliğine rastlanılmıştır. Günlük tavsiye edilen Mo tüketim miktarı 75-250 µg/gün olup minimum günlük gereksinme 25 µg/gün olarak belirtilmiştir (Skalnaya ve Skalny, 2018). Co ise çoğunlukla böbrek, karaciğer, kemik, iskelet kası ve pankreasta biriken bir eser elementtir. İyonize kobalt vücutta toksik etki oluşturabilmektedir. Vücutta kobalt çoğunlukla B12 vitaminin yapısına katılmaktadır (Quadros vd., 2005). Optimal olarak 0,3 mg/gün üzerinde kobalt alınmalıdır. Vücutta toksik etki gösterdiği doz 500 mg olarak belirtilmektedir. Yüksek düzeyde protein ve demir içeren diyetlerin kobalt emilimini güçleştirdiği, bakır ve çinkonun ise kobalt emilimini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Skalnaya ve Skalny, 2018).

Cu elementi *Castanea sativa* ve *Cistus* sp. polenlerinde tespit edilmemiştir. Bakır, doku solunumunda, hormon sentezinde ve demir emiliminde rol alan enzimlerin yapısal parçası olarak görev yapan eser elementlerden biridir. Bu nedenle bakır metabolizması bozukluğunun sağlık üzerine olumsuz etkileri söz konusu olmaktadır. Bakır sülfat, antimikrobiyal ve koterant olarak kullanıldığı ayrıca anemi ve hipotrofi tedavilerinde tercih edildiği bildirilmektedir bildirilmiştir (Mehri, 2020; Skalnaya and Skalny 2019). Günlük optimum alım değeri 2-3 mg olup bakır elementinin günde 1 mg'dan daha az alınması sonucu yetersizliğinin oluşması söz konusudur. Yüksek miktarda çinko ve molibden alımı, mangan, kadmiyum, tanenler, askorbik asit bakır emilimi azaltan etmenlerdendir bildirilmiştir (Skalnaya ve Skalny, 2018).

Cr içeriği ise *Castanea sativa* poleninde en yüksek miktarda olup diğer polen örneklerinin bu içeriği birbirine yakın değerlerde saptanmıştır. Polen örneklerinin Cd, As ve Pb ağır metal içerikleri çalışma kapsamında belirlenmiştir. Pb metali hiçbir polen örneğinde tespit edilmemiştir. Cd element içeriği *Castanea sativa* > *Cistus* sp. > *Papaver*

sp. olarak bulunmuştur. As metal konsantrasyonu en yüksek *Castanea sativa*; en düşük *Cistus* sp. poleninde saptanmıştır. Ağır metal içerikleri dikkate alındığında en yüksek ağır metal içeriğinin 0,266 mg/kg gibi çok düşük bir düzeyde olduğu görülmüştür.

Tablo 4.5. Arı poleni örneklerinin element içerikleri (mg/kg)

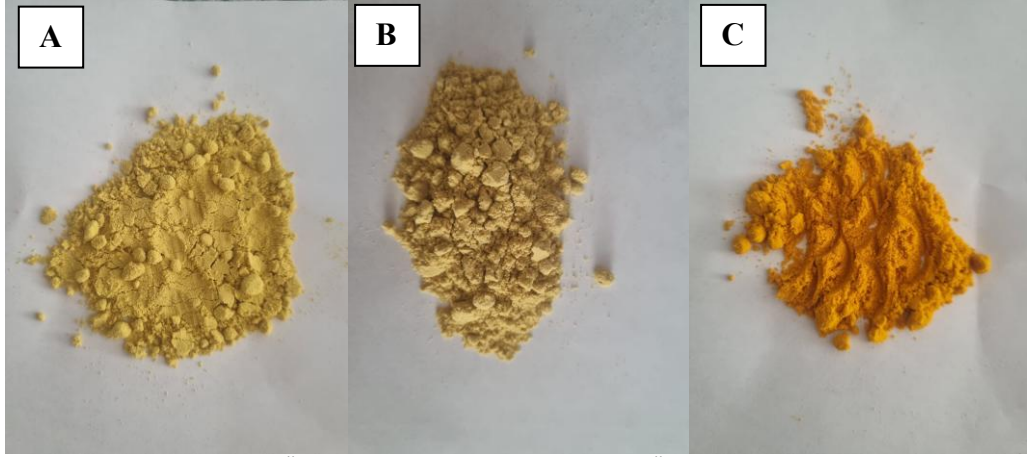
Element/ Polen Örnekleri	<i>Castanea sativa</i>	SS	<i>Papaver sp.</i>	SS	<i>Cistus sp.</i>	SS
Na	136,846	0,014	110,493	0,018	82,870	0,005
Ca	1110,969	1,422	781,233	0,469	606,651	0,091
Mg	615,562	0,148	633,004	0,146	409,968	0,012
Cr	0,804	0,001	0,353	0,000	0,315	0,000
Mn	71,858	0,029	18,817	0,010	8,498	0,002
Fe	89,871	0,013	31,641	0,007	25,167	0,005
Co	0,955	0,000	0,510	0,000	0,511	0,000
Cu	TE	TE	1,315	0,002	TE	TE
Zn	56,931	0,010	41,927	0,013	25,550	0,006
Se	1,143	0,007	0,244	0,006	0,907	0,004
Mo	0,615	0,000	0,437	0,000	0,407	0,000
Li	2,351	0,002	1,394	0,001	1,267	0,000
Ni	8,173	0,004	0,961	0,000	1,472	0,001
V	0,974	0,000	0,518	0,000	0,515	0,000
B	9,568	0,008	12,876	0,002	9,905	0,008
Au	8,029	0,000	4,693	0,000	4,463	0,000
As	0,242	0,000	0,132	0,000	0,110	0,000
Ag	TE	-	TE	-	TE	-
Cd	0,266	0,000	0,112	0,000	0,155	0,000
Pb	TE	-	TE	-	TE	-
Ti	3,889	0,000	1,582	0,001	1,637	0,001
Ga	0,514	0,001	0,034	0,000	0,316	0,000
Ge	1,281	0,004	0,533	0,002	0,987	0,001
Rb	6,870	0,000	4,280	0,002	2,571	0,001
Sr	3,489	0,001	10,028	0,003	2,088	0,000

TE: Tespit edilemedi., SS: Standart sapma.

4.2.5. Arı Polenlerinin L*, a*, b* Değerlerinin Belirlenmesi

Arı polenin renginin oluşumunda botanik kökenin rolü büyüktür. Arı polenin rengi özelliklerini etkilemekle birlikte genellikle sarıdan turuncuya, kırmızıdan yeşile değişen geniş renk spektrumuna sahiptir. Uluslararası Aydınlatma Komisyonu'nun (CIE) standart verilerine göre L* değeri örneklerin aydınlığını (0-100 arasında, 0-siyah rengi, 100-beyaz rengi), a* değeri kırmızılık-yeşillik (sırasıyla + ve – değerler) ve b* değeri ise sarılık-mavilik (sırasıyla + ve – değerler) ifade etmektedir (Afshari-Jouybari ve Farahnaky, 2011).

Tez çalışmasında *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. arı poleni örneklerinin L*, a* ve b* değerleri Minolta renk cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlara ait veriler Tablo 4.6'da verilmiştir. Ayrıca öğütülmüş polen tozlarına ait fotoğraflar Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Polen örneklerinin L* değerleri incelendiğinde *Castanea sativa* ve *Papaver* sp. arı polenlerinin birbirine yakın olduğu ve yüksek parlaklığa sahip olduğu söylenebilir. *Cistus* sp. polenin L* değeri 50'nin üzerinde olup aydınlık özelliktedir. İstatistiksel analiz sonucu polen örneklerinin L*, a* ve b* değerlerinin anlamlı olarak ($p<0,05$) farklı olduğu saptanmıştır. a* değeri incelendiğinde polen örneklerinden *Cistus* sp. arı poleni ($30,21 \pm 0,15^A$) diğer polen örneklerine göre oldukça büyük bir değere sahiptir. *Cistus* sp. arı polenin kırmızılık değeri daha yüksektir ve Şekil 4.2'de de görüldüğü gibi turuncu renk olarak anlaşılmaktadır. b* değerine bakıldığında yine *Cistus* sp. arı polenin en yüksek değerde olduğu saptanmıştır. Sonra sırasıyla *Castanea sativa* ve *Papaver* sp. arı polenleri gelmiş olup bu polenler için de b* değeri sarılığın arttığını göstermektedir. Orta ve Doğu Avrupa'dan toplanan monofloral arı polenlerinin renk analizleri bir çalışmada belirlenmiştir. Çoğu örnek için L* değeri 50'in üzerinde bulunmuş, ayçiçeği ve kolza polenlerinde ise bu değer 70'e kadar yükselmiştir. a* değeri ise bazı polen örneklerinde negatif bulunmuştur. Ayçiçeği, karahindiba ve devedikeni polenlerinde bu değer >10 üzerinde güçlü kırmızı tonlar olarak saptanmıştır. b* değeri tüm örneklerde pozitif saptanmıştır ve kolza, ayçiçeği ve kaya gülü polenlerinde yoğun sarı tonların hakim olduğu belirtilmiştir (Végh vd., 2023). Kestane poleni için yapılan bir çalışmada L* değeri 52,5-64,2 arasında bulunmuş olup çalışmamızdaki L* değerinden daha düşüktür. a* değeri ise 4,8-6,8 arasında saptanmış çalışmamızdaki a* değerinden daha büyük aralıktadır. b* değeri ise 26,7-49,3 aralığında bulunmuş, bu değer çalışmamızdaki değerden daha düşüktür. İncelenen literatürdeki kestane polenin renk değeri çalışmamız kapsamında incelenen kestane poleni ile birebir aynı bulunmamıştır. Bu durum, botanik kaynak aynı olsa bile arı polenin renk özelliklerinin oluşumunda coğrafi bölge, arıcılık uygulamaları, toprak tipinin farklılığından etkilendiğinin kanıtı olabilmektedir (Rodríguez vd., 2023). Fas çevresinde yapılan bir araştırmada polen örneklerinin renklerinin görsel olarak açık sarı, turuncu ve koyu sarı arasında değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir. Aynı bitki türüne ait örnekler arasında bile yakın ton farklılıkları gözlenmiş olup oksidasyon gibi faktörlerin renk varyansına etkisi vurgulanmıştır (Aylanc vd., 2023).



*A- *Castanea sativa* poleni, B- Öğütülmüş *Papaver* sp. poleni, C-Öğütülmüş *Cistus* sp.

Şekil 4.2. Öğütülmüş polen fotoğrafları

Tablo 4.6. Arı polenlerinin L*, a*, b* değerleri

Polen Örneği	L*	a*	b*
<i>Castanea sativa</i>	72,57 ± 0,12 ^A	3,62 ± 0,045 ^C	61,22 ± 0,11 ^B
<i>Papaver</i> sp.	71,69 ± 0,45 ^B	6,44 ± 0,39 ^B	46,47 ± 0,15 ^C
<i>Cistus</i> sp.	61,85 ± 0,3 ^C	30,21 ± 0,15 ^A	100,01 ± 3,45 ^A

* Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$).

4.3. Arı Polenlerinin Fermentasyon Bulguları

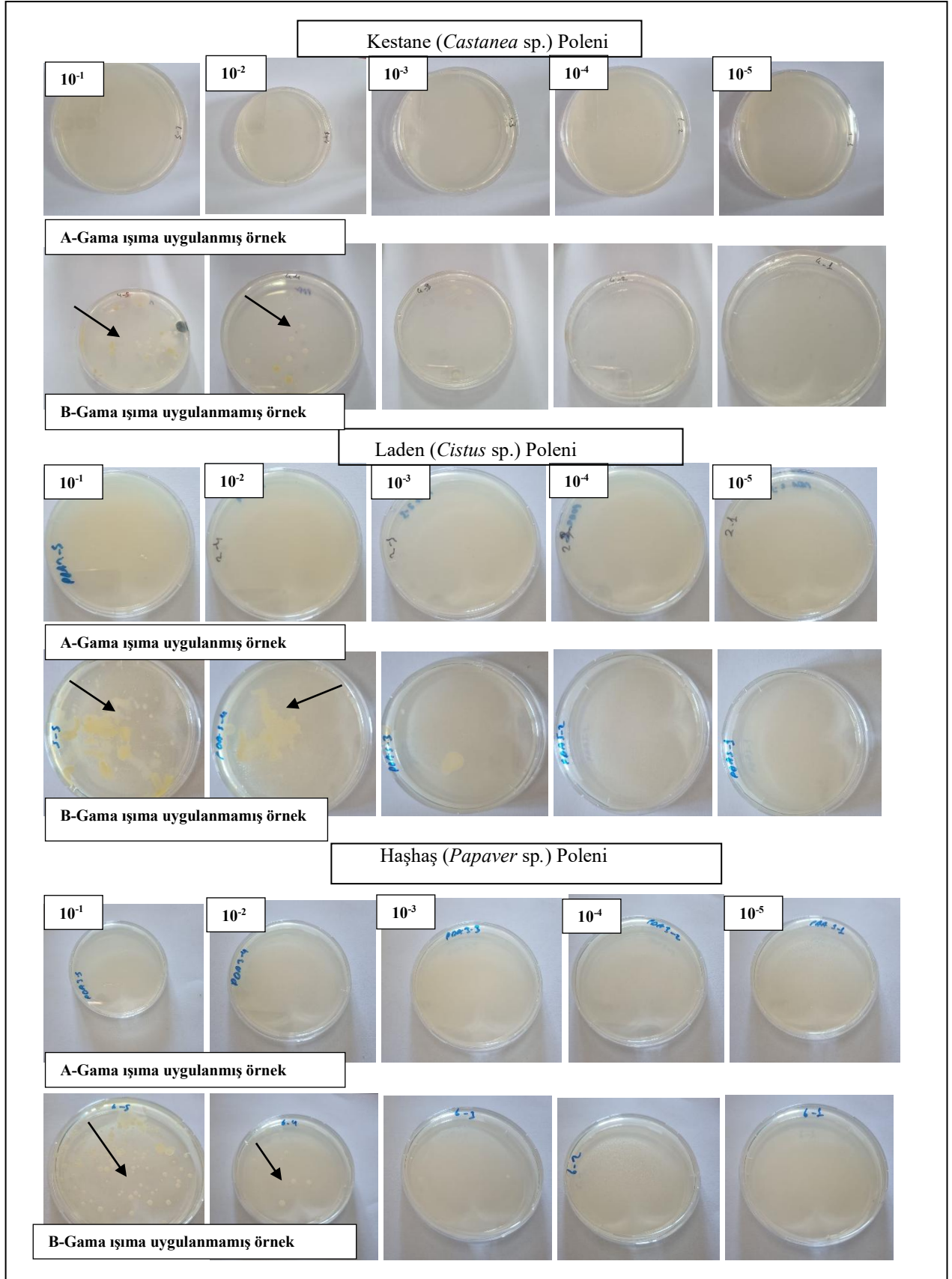
4.3.1. Arı Polenlerinin Toplam Maya ve Küf Sayısının Belirlenmesi

Fermentasyon öncesi polen örneklerine Türkiye Atom Enerjisi kurumunda 7,5 kGy büyüklüğünde gama ışına uygulanarak sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Arı poleni örnekleri yapısında bakteri, maya ve küfler olmak üzere bazı mikroorganizmaları barındırmaktadır. Bu durumun önüne geçmek ve kontrollü fermentasyonu sağlamak amacıyla arı poleni örnekleri, fermentasyon işlemi öncesinde steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminin etkinliğinin test edilmesi için gama ışına uygulanan ve gama ışına uygulanmayan *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. arı poleni örneklerine toplam maya ve küf sayımı analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda gama ışına uygulanan polen örneklerinin 10^{-5} dilüsyona kadar olan seyreltmelerde her üç polen örneğinde de maya ve küf üremesi gözlenmemiştir. Gama ışına uygulanmamış polen örneklerinde ise petrilere maya ve küf varlığı saptanmıştır. Petrilere ait görseller Şekil 4.3’de verilmiştir.

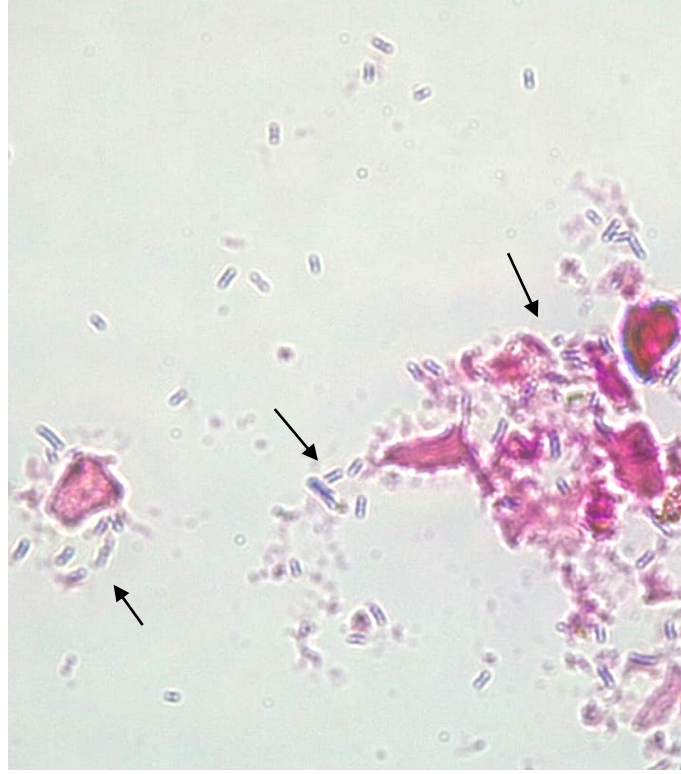
Petrilere bakıldığında gama ışıma ile polen örneklerinin steril edildikleri belirlenmiştir. Analiz sonucunda gama ışıma uygulanmayan polen örneklerinde petri kaplarında küf ve maya üremeleri gözlenirken, gama ışıma uygulanan polen örneklerinde çalışılan bütün konsantrasyonlarda maya ve küf üremesi tespit edilmemiştir. Bu sonuç 7,5 kGy dozunda uygulanan gama ışıma işleminin polen örneklerinin sterilizasyonunda etkin olduğunu göstermektedir. Steril edilen *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen örnekleri *L. rhamnosus* suşu ile fermentasyon işlemine tabi tutulmuştur. Fermentasyon işlemi sonucunda toplam laktobasil sayımı ve gram boyama yapılmıştır.

4.3.2. Gram Boyama

Lactobacillus rhamnosus suşu ile fermente edilen arı poleni örneklerinin gram boyama tekniği ile preperatları hazırlanmış ve preperatların mikroskopik analizi yapılmış ve görüntüleme alınmıştır. Fermente edilen örneklerde üremenin gözlendiği görülmektedir. (Şekil 4.4)



Şekil 4.3. Arı poleni örneklerinin toplam maya ve küf analizine ait petrilerin görüntüleri



Şekil 4.4. Fermente arı poleni örneğinin gram boyama görüntüsü (100X)

4.3.3. Arı Poleni Örneklerinin Toplam Laktobasil Sayısının Belirlenmesi

Dökme plak yöntemi ile toplam laktobasil bakteri sayısı belirlenmiştir. Petriler 37°C’de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petrilerde oluşan kolonilerin sayımı yapılarak fermente polen örneklerindeki canlı bakteri sayısı saptanarak başlangıç koloni sayısı (CFU) ile karşılaştırılmıştır. Petrilerdeki 30-300 arası koloni sayısı olan petriler sayılmıştır. Sonuçlara ait veriler Tablo 4.7’de verilmiştir. Petrilere ait görseller Şekil 4.5’de gösterilmektedir.

Tablo 4.7. Arı poleni örneklerinin toplam laktobasil sayıları

Örnekler	Toplam Laktobasil Sayısı log CFU/g
Fermente- <i>Castanea</i> sp.	3,610 ± 0,073 ^c
Kontrol- <i>Castanea</i> sp.	-
Fermente- <i>Papaver</i> sp.	6,39 ± 0,057 ^a
Kontrol- <i>Papaver</i> sp.	-
Fermente- <i>Cistus</i> sp.	5,033 ± 0,009 ^b
Kontrol- <i>Cistus</i> sp.	-

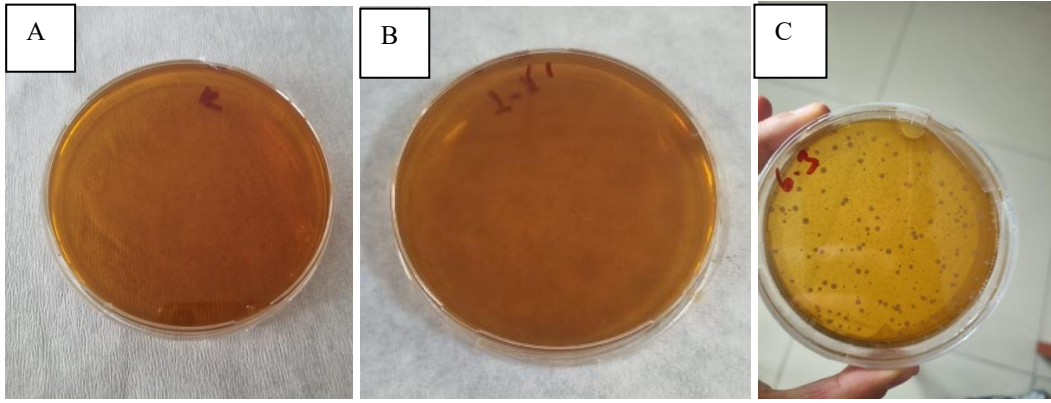
*Aynı sütundaki farklı küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$).

Zuluaga vd. (2019), yaptıkları araştırma ile arı poleninin fermentasyon işlemleri boyunca canlı hücre sayısı test edilmiştir. Tüm denemeler 8 log₁₀ (CFU/g) başlangıç hücre sayısına sahip olduğu belirtilmiştir. *L. plantarum* ile gerçekleştirilen fermentasyonla ilgili olarak, canlı mikroorganizma popülasyonu 8 ve 9 log₁₀ (CFU/g) üzerinde kalarak substrata yüksek bir adaptasyon göstermiştir. Bu arada, ATCC konsorsiyumu fermentasyon süreci boyunca, sürecin sonunda 5 log₁₀ (CFU/g) değerine ulaşana kadar popülasyonda bir azalma göstermiştir. Ayrıca, ATCC mayası da benzer bir eğilim göstererek 4 log₁₀'dan (CFU/g) daha az canlı hücre sayısına ulaşmıştır. Bu değerler çalışmamızda saptadığımız toplam laktobasil sayısı sonucunu destekler niteliktedir. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada sonuçta yapılan sayımda toplam laktobasil sonuçları 3,610 ± 0,073 ile 6,39 ± 0,057 log CFU/g olarak bulunmuştur. Bakteri inokülasyon miktarı yaklaşık 9 log cfu/g miktarındadır. Bu durum inkübasyon süresince bakteri hücre popülasyonunun azaldığını göstermektedir. Öte yandan çalışmamızdaki inkübasyon süreci bahsi geçen çalışmadan oldukça uzun bir süreçte gerçekleştirilmiştir.

Gönül (2016), polen fermentasyonunun fenolik bileşiklerin biyoyararlılığı ve profilleri üzerindeki etkisine yönelik bir çalışma yapmıştır. Çalışma Afyon, İzmit, ve Sivas olmak üzere Türkiye'nin 3 farklı ilinde toplanan polen örnekleri fermente edilmiştir, Fermentasyonun etkisiyle fermente edilmiş Afyon polen örneklerinde 3 log'luk laktik asit bakteri artışı gözlenirken, fermente edilmiş İzmit ve Sivas örneklerinde sırasıyla 0,5 ve 1 log'luk laktik asit bakteri artış gözlenmiştir. Ticari arı ekmeğinde laktik asit bakterisi, maya ve toplam aerobik mezofilik bakteri üremesi gözlenmemiştir.

Fermente arı poleninin besin maddelerine biyoerişilebilirliği ve antiinflamatuvar özelliklerinin belirlendiği bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında kullanılan karma starter yaklaşık 8 log CFU g⁻¹ nihai yoğunluğunda inoküle edilmiştir. Fermentasyonu sırasında, laktik bakterilerin hücre yoğunluğu 96 saat sonra yaklaşık 9 log CFU g⁻¹'e ulaşmış, 144 saate kadar neredeyse sabit kalmış, ardından inkübasyon süresi boyunca 7,15 ± 0,29 log CFU g⁻¹'e düşmüştür. Diğer taraftan, P'nin spontane fermentasyonu sırasında, laktik bakteriler ancak 120 saat sonra yaklaşık 9 log CFU g⁻¹ hücre yoğunluğuna ulaşmış ve aniden 4,0 ± 0,31 log CFU g⁻¹'e düşmüştür. İnkübasyonun ilk 24 saatinde, maya hücre yoğunluğu hafifçe artmış, ardından inkübasyon süresi boyunca yaklaşık 4 log CFU g⁻¹'e kadar kademeli olarak azalmıştır (Filannino vd., 2021).

Bu çalışmaya benzer şekilde starter mikroorganizma hücre yoğunluğu çalışma kapsamında başlangıç inokülasyon sayısına oranla fermente edilen örneklerde azalmıştır. Çalışmamızda saptadığımız toplam laktobasil sayısı sonucu $3,610 \pm 0,073$ ile $6,39 \pm 0,057$ log cfu/g olarak bulunmuştur. Bakteri inokülasyon miktarı yaklaşık 9 log cfu/g miktarındadır. Bu durum inkübasyon süresince bakteri hücre popülasyonunun azaldığını göstermektedir.



*A-Kontrol grubu petri, B-Kontrol *Papaver* sp. grubu petri, C-Fermente *Papaver* sp. grubu petri.

Şekil 4.5. Petride laktobasil üremesi

4.4. Arı Polenleri Örneklerinin Spektrofotometrik ve TEM Analiz Bulguları

Fermente edilmiş ve fermente edilmemiş *Castanea sativa*, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenlerinin maserasyon yöntemi ve ASE cihazı ile ekstraksiyon işlemi aşaması tamamlandıktan sonra, elde edilen ekstraktların TFİ, DPPH•, CUPRAC ve ABTS•+ olmak üzere spektrofotometrik analizleri yapılmıştır.

4.4.1. Arı Polenleri Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi

Fermente edilmiş ve fermente edilmemiş arı polenlerinden maserasyon ve ASE cihazı ile elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri Folin Ciocalteu metodu ile belirlenmiştir. Analiz sonucu mg GAE/g ekstrakt olarak verilmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.6'da ve Tablo 4.8'de verilmiştir. Polen ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri $2,78 \pm 0,09$ ile $31,85 \pm 1,52$ mg GAE/ g aralığındadır. TFİ değerleri *K-ASE ($31,85 \pm 1,52$ mg GAE/ g), *K-MAS ($18,11 \pm 1,08$ mg GAE/ g), *H-ASE ($14,98 \pm 0,89$ mg GAE/

g), *FK-ASE ($13,71 \pm 2,61$ mg GAE/ g) ekstraktlarında en yüksek değerde saptanmıştır. En düşük içerikler ise sırasıyla *L-MAS ($2,78 \pm 0,09$ mg GAE/ g), *FK-MAS ($3,41 \pm 0,40$ mg GAE/ g), *FL-MAS ($4,90 \pm 0,92$ mg GAE/ g) ve *FL-ASE ($5,75 \pm 0,83$ mg GAE/ g) örneklerinde bulunmuştur.

- ❖ **Kısaltmalar:** * K-MAS: *Castanea sativa* (Kestane) maserasyon; K-ASE: *Castanea* ASE; FK-MAS: Fermente *Castanea* Maserasyon; FK-ASE: Fermente *Castanea* ASE; H-MAS: *Papaver* sp. (Haşhaş) maserasyon; H-ASE: *Papaver* ASE, FH-MAS: Fermente *Papaver* maserasyon; FH-ASE: Fermente *Papaver* ASE; L-MAS: *Cistus* sp. (laden) maserasyon; L-ASE: *Cistus* ASE; FK-MAS: Fermente *Cistus* Maserasyon; FL-ASE: Fermente *Cistus* ASE şeklindedir.

Fermente edilmemiş *Castanea* sp. polen örneğinin hem maserasyon hem de ASE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik içeriği fermente edilmiş ve fermente edilmemiş *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen örneklerinden yüksek değerde bulunmuştur. Fermentasyon işlemi ile *Castanea* sp. polen örneğinin toplam fenolik içeriğinin azaldığı bulunmuştur. *Cistus* sp. polenin maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik içerik verilerine göre fermente edilen *Cistus* sp. polenin ($2,78 \pm 0,09$ - $4,90 \pm 0,92$ mg GAE/g) toplam fenolik içeriğinin arttığı bulunmuştur. Fermentasyon işlemi uygulanmış polen örneklerinin ASE cihazı ile alınan ekstraktlarının tümünde toplam fenolik içeriklerinin azaldığı saptanmıştır. Fermente edilen polen örneklerinin maserasyon ile alınan ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri *Castanea* sp. poleninde yüksek oranda azalırken, *Papaver* sp. polenindeki azalma önemsiz olup, *Cistus* sp. poleninde yükselmiştir.

Ticari arı poleni ürünlerinin antioksidan ve antibakteriyel özellikleri Borycka vd. (2015), tarafından çalışılmıştır. TFİ değerleri 14,560-27,453 mg GAE/g aralığında değişmektedir. *Castanea* polenin ASE ekstraktının TFİ değeri bu değerlerden yüksektir. Bu çalışmada ticari olarak satılan arı polenin su, etanol ve metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik miktarı belirlenmiştir.

Gönül (2016), polen fermentasyonunun fenolik bileşiklerin biyoyararlılığı ve profilleri üzerindeki etkisine yönelik bir çalışma yapmıştır. Çalışma Afyon, İzmit ve Sivas olmak

üzere Türkiye'nin 3 farklı ilinde toplanan polen örnekleri fermente edilmiştir. Fermentasyon prosesinde *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* ve ticari arı ekmeği kullanılmıştır. Fermentasyon işleminin etkisiyle her 3 polen örneğinde de toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriğinde önemli bir azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlara benzer olarak çalışma kapsamında çalıştığımız L-MAS örneği haricinde diğer örneklerimizde toplam fenolik içeriğinde düşüş bulunmuştur.

Yunanistan'dan *Cistus creticus* arı polenindeki fenolik bileşiklerin, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin değerlendirildiği bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada, *Cistus* poleninin TFİ değeri $15,2 \pm 0,4$ - $60,2 \pm 2,0$ mg GAE/g ekstrakt olarak bulunmuştur (Atsalakis vd., 2017). Bir başka çalışmada Güney Romanya'dan ham monofloral arı poleninin flavonoid/fenolik profili ve antioksidan aktivitesi üzerine bir araştırma yapılmıştır. Bu kapsamda *Papaver* sp. dahil olmak üzere 9 farklı monofloral arı polenlerinin, TFİ aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmada yer alan monofloral *Papaver* sp. poleninin TFİ değeri, bu çalışmada yer alan *Papaver* sp. poleni ekstraktlarından elde edilen TFİ değeri ile benzerdir. (Spulber vd., 2018).

Katı hal fermentasyonunun arı poleni fenolik bileşikleri ve radikal süpürme kapasitesi üzerine etkisinin değerlendirildiği bir araştırma yapılmıştır. Bu kapsamda beş farklı arı poleni örneği *Lactobacillus rhamnosus* GG ile ve bakterisiz olarak fermente edilmiştir. Elde edilen fermente örnekler toplam fenolik bileşik içeriği, toplam flavonoid içeriği ve serbest radikal (DPPH) süpürme kapasitesi açısından spektrofotometrik yöntemlerle analiz edilmiştir. Arı poleninin fermentasyonu, toplam fenolik bileşiklerin içeriğini birkaç örnekte 1,1-1,4 kat arttırmış, diğerlerinde ise değiştirmemiştir. Araştırmamızda incelediğimiz örneklerde ise bu çalışmaya benzer olarak FL-MAS örneğinde toplam fenolik içerikte artış gözlenirken diğer örneklerde azalma saptanmıştır (Kaškonienė vd., 2018).

Bir çalışmada Bursa Cumalıkızık'dan temin edilen *Castanea* poleninin antioksidan özellikleri ve toplam fenolik miktarı incelenmiştir. Ekstraksiyon işlemi için 3 g polen ve etanol (30 mL) bir cam şişeye yerleştirilmiş; daha sonra şişe 65°C'de 30 dakika boyunca ultrasonik banyoya (40 kHz) yerleştirilmiştir. Daha sonra, pH'ı 2'ye ayarlamak için ekstrakta 10 M HCl eklenmiştir. Daha sonra, arı poleninin ultrasonik destekli

ekstraksiyonuna 65°C'de 30 dakika boyunca devam edilmiştir. Ekstraktın TFİ değeri, $32,18 \pm 0,25$ mg GAE/g bulunmuştur, bu değer K-ASE değeri ile benzerdir (Şahin ve Karkar, 2019).

Alimoğlu vd. (2021), monofloral ve polifloral arı polenlerinin fenolik profillerinin ve biyoaktivitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışma yapmıştır. Ekstraksiyon işlemi için %70 Et-OH, 1 saat 100 rpm'de 40°C koşulları kullanılmıştır. Arı polenlerinin Toplam fenolik miktarları 25,73-26,92 mg/GAE/g ekstrakt olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda *Castanea* arı poleninin ASE ekstraktı TFİ miktarı ($31,85 \pm 1,52$ mg GAE/g ekstrakt) daha yüksek, diğer ekstraktların TFİ miktarı ise düşüktür.

Karkar vd. (2021), çalışmasında Türkiye'den toplanan *Castanea* arı poleninin antioksidan özelliklerinin değerlendirilmesi ve fenolik ve karotenoid profillerine yönelik bir araştırma yapmıştır. Karadeniz bölgesinden 10 adet *Castanea* poleni ile Marmara bölgesinden 6 adet *Castanea* polen örneğini incelemiştir. *Castanea* poleni örneklerinin TFİ değerleri Marmara Bölgesi'nden toplanan *Castanea* polenlerinde 27,82-39,50 mg GAE/g, Karadeniz Bölgesi'nden toplanan polenlerde ise 16,19-38,82 mg GAE/g arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda, *Castanea* polen örneği Trabzon'dan toplanmış, polenin ASE ile ekstraksiyonunun TFİ değeri bu değerlere yakın bulunmuş, diğer ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen TFİ değerleri daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmada da ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanılmış, bizim çalışmadaki maserasyon ile hazırlanan ekstraktın değeri çok düşük bulunmuştur, bu farkın *Castanea* örneklerinin farklı yıllarda toplanmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Fenolik ve uçucu bileşiklerin karakterizasyonu ile mono ve polifloral Fas arı poleninin antioksidan ve antikanser aktivitesinin değerlendirilmesi bir araştırma kapsamında yapılmıştır. Arı poleni örneklerinin TFİ değerleri $2,7 \pm 0,6$; $16,8 \pm 1,1$ mg GAE/g aralığında bulunmuştur. Bu değerler, farklı coğrafi bölgede olması ve botanik kaynaklı olmasına rağmen bizim çalışmamızla benzerdir. *Castanea* poleninin ASE ekstraksiyonun TFİ değeri bu değerlere göre çok yüksek bulunmuştur (Aylanc vd., 2023).

Monofloral gelincik arı poleninin (*Papaver rhoeas* L.) fitokimyasal bileşimi ve antioksidan özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, ekstrakt edilebilir arı poleni fenolik

fraksiyonu ile fenolik bileşiklerin, fenilamidlerin ve alkaloidlerin bileşimini belirlemek ve alkali-hidrolize edilebilir arı poleni ekstraktının fenolik, fenilamid ve alkaloid bileşimini belirlemek amacıyla 2 farklı ekstraktın TFİ, DPPH ve CUPRAC aktiviteleri saptanmıştır. TFİ değerleri $11,59 \pm 0,24$ - $2,46 \pm 0,07$ mg GAE/g bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, *Papaver* sp. polenin maserasyon, fermente maserasyon ve fermente ASE ekstrakt değerleri bu aralıta olmasına rağmen, *Papaver* polenin ASE ile ekstraksiyonunun TFİ değeri ($14,98 \pm 0,89$ mg GAE/g) bu aralıktan yüksek bulunmuştur (Kostić vd., 2023).

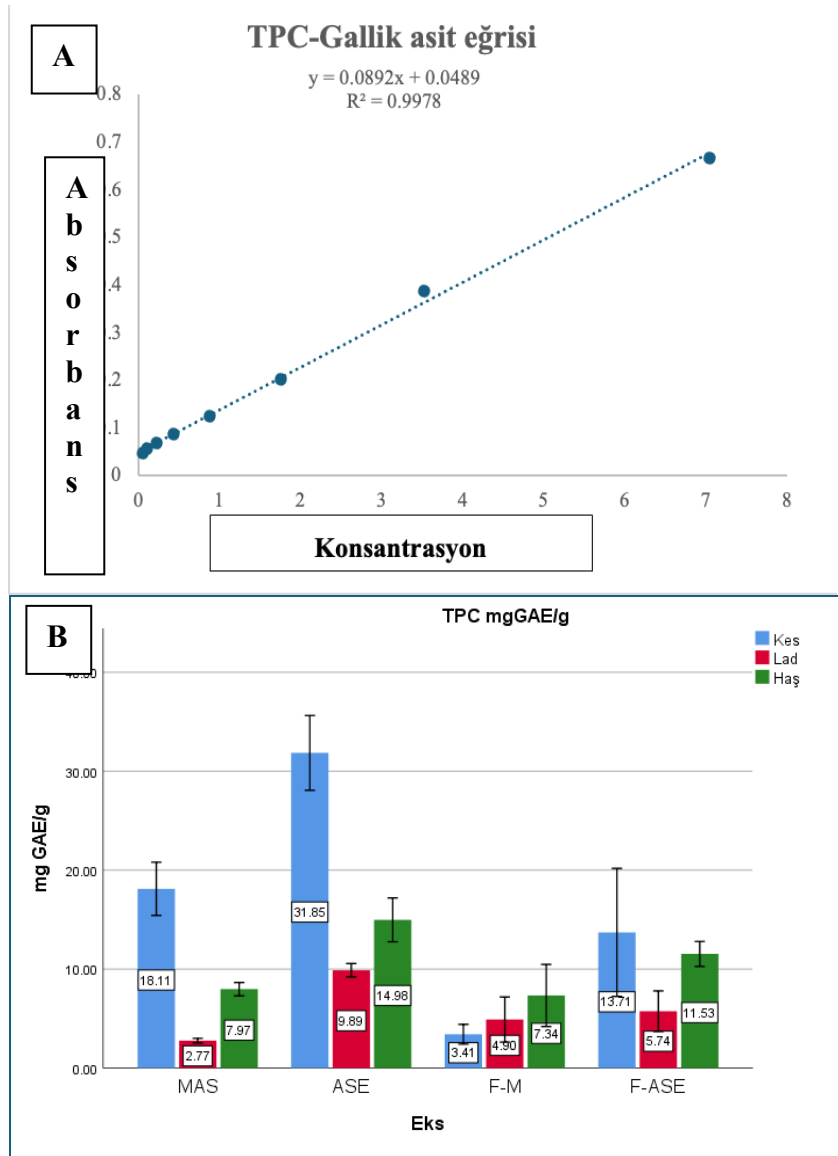
Bir çalışma kapsamında yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *Nelumbo nucifera* (Lotus) arı polenin antioksidan aktiviteleri, polifenoller, flavonoidler ve serbest amino asit içeriklerine etkisi incelenmiştir. Ekstraktların TFİ değerleri $50,65 \pm 0,006$ mg GAE/100 g – $360,77 \pm 0,04$ mg GAE/100 g olarak bulunmuş olup, *Papaver* sp. polenin tüm ekstraksiyon metotlarının TFİ değerleri ($7,34 \pm 1,26^{Ca}$ - $14,98 \pm 0,89^{Ab}$) bu değerlerden yüksek bulunmuş, fermente *Castanea* ve *Cistus* arı polenin maserasyonla yapılan ekstraktı hariç diğer ekstraksiyon metotlarının TFİ değerleri bu değerlerden yüksek bulunmuştur (Tuoheti vd., 2024).

Çobanoğlu (2024), Türkiye'nin farklı bölgelerden topladığı monofloral arı polenleri ile önce palinolojik doğrulama yapmış, daha sonra polenlerin antioksidan aktivitesi ve fenolik içeriğini saptamıştır. Çalışmada *Cistus* sp. polenin TFİ değeri $4,5 \pm 0,35$ mg GAE/g, *Papaver* sp. polenin TFİ değeri ise $9,3 \pm 0,13$ - $11 \pm 0,21$ mg GAE/g olarak bulunmuştur. Bu çalışmada arı polenlerinden ekstraktlar maserasyon yöntemi ile elde edilmiş olup, değerler bizim çalışmamızda saptanandan yüksektir. Bunu nedeninin, coğrafik bölge farkı ve arı poleni içerisinde daha az oranda bulunan diğer bitkilere ait olan polen tanelerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Tablo 4.8. Arı poleni ekstraktlarının TFİ (mg GAE/g ekstrakt) değerleri

Toplam Fenolik İçerik mg GAE/g ekstrakt			
Yöntem/Örnek	<i>Castanea</i>	<i>Papaver</i>	<i>Cistus</i>
MAS	18,11 ± 1,08 ^{Ba}	7,98 ± 0,28 ^{Cb}	2,78 ± 0,09 ^{Cc}
ASE	31,85 ± 1,52 ^{Aa}	14,98 ± 0,89 ^{Ab}	9,89 ± 0,28 ^{Ac}
F-MAS	3,41 ± 0,40 ^{Db}	7,34 ± 1,26 ^{Ca}	4,90 ± 0,92 ^{Bb}
F-ASE	13,71 ± 2,61 ^{Ca}	11,53 ± 0,51 ^{Ba}	5,75 ± 0,83 ^{Bb}

*MAS: Maserasyon; ASE: Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyon sistemi; F: Fermentasyon; A, B, C, D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$) a,b,c: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$).



*Eks: Polen ekstraktları, kes: kestane, lad: laden, haş: haşhaş, mas, m: maserasyon, F: fermentasyon.

Şekil 4.6. A-TFİ Gallik asit standart eğrisi, B- Arı poleni ekstraktlarının TFİ sonuçları

4.4.2. Arı Poleni Ekstraktlarının DPPH• Aktivitelerinin Belirlenmesi

Maserasyon ve ASE cihazı ile elde edilen fermente edilmiş ve fermente edilmemiş arı poleni ekstraktlarının DPPH radikal süpürme aktiviteleri belirlenmiştir. Analiz sonucu mg TE/g ekstrakt olarak verilmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.7’de ve Tablo 4.9’da verilmiştir. Polen ekstraktlarının DPPH aktiviteleri $9,97 \pm 0,32$ ile $39,33 \pm 1,20$ mg TE/g aralığındadır. DPPH aktiviteleri K-ASE ($39,33 \pm 1,20$ mg TE/ g), K-MAS ($20,35 \pm 0,16$ mg TE/ g), FK-ASE ($18,26 \pm 0,53$ mg TE/ g), L-ASE ($16,22 \pm 0,21$ mg TE/ g) ekstraktlarında en yüksek değerde (mg TE/g) saptanmıştır. En düşük aktiviteler (mg TE/g) ise sırasıyla FK-MAS ($9,97 \pm 0,32$), H-MAS ($10,31 \pm 0,14$), FH-MAS ($10,53 \pm 1,11$) ve FL-ASE ($10,81 \pm 0,44$) örneklerinde bulunmuştur.

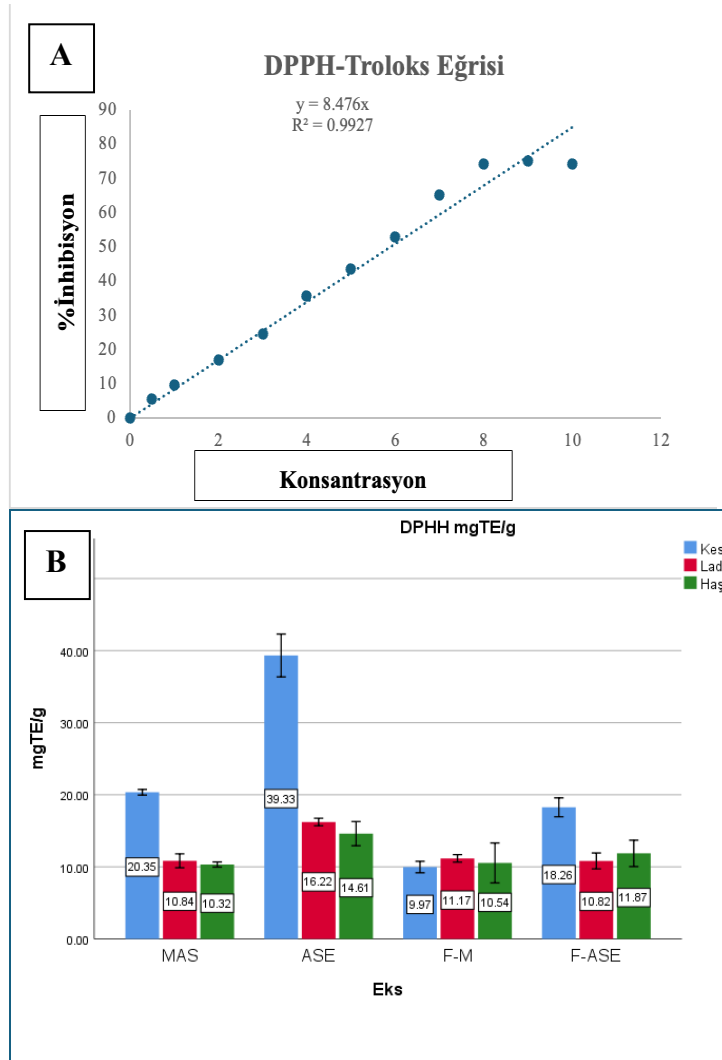
- ❖ Kısaltmalar: * K-MAS: *Castanea sativa* (Kestane) maserasyon; K-ASE: *Castanea* ASE; FK-MAS: Fermente *Castanea* Maserasyon; FK-ASE: Fermente *Castanea* ASE; H-MAS: *Papaver* sp. (Haşhaş) maserasyon; H-ASE: *Papaver* ASE, FH-MAS: Fermente *Papaver* maserasyon; FH-ASE: Fermente *Papaver* ASE; L-MAS: *Cistus* sp. (laden) maserasyon; L-ASE: *Cistus* ASE; FK-MAS: Fermente *Cistus* Maserasyon; FL-ASE: Fermente *Cistus* ASE şeklindedir.

Fermente edilmemiş *Castanea* sp. polen örneğinin hem maserasyon hem de ASE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının DPPH aktiviteleri fermente edilmiş ve fermente edilmemiş *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen örneklerinden yüksek değerde bulunmuştur. Fermente edilmemiş *Castanea* polen örneğinin hem maserasyon hem de ASE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının DPPH aktivitesi fermente edilmiş ve fermente edilmemiş *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen örneklerinden yüksek değerde bulunmuştur. Fermentasyon işlemi ile *Castanea* sp. polen örneğinin DPPH aktivitesinin azaldığı bulunmuştur. *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenin maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının DPPH aktiviteleri kıyaslandığında fermente edilen *Cistus* sp. ($10,84 \pm 0,39$ - $11,17 \pm 0,21$ mgTE/g) ve *Papaver* sp. ($10,31 \pm 0,14$ - $10,53 \pm 1,11$ mgTE/g) polenin aktivitelerinin arttığı bulunmuştur. Fermentasyon işlemi uygulanmış polen örneklerinin ASE cihazı ile alınan ekstraktlarının tümünde DPPH aktivitelerinin azaldığı saptanmıştır. Maserasyon ile alınan ekstraktların ise DPPH aktiviteleri *Castanea* sp. poleninde yüksek oranda azalırken, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. poleninde içerik artmıştır.

Tablo 4.9. Arı poleni ekstraktlarının DPPH• aktivite değerleri

DPPH• mg TE/g			
Yöntem/Örnek	<i>Castanea</i>	<i>Papaver</i>	<i>Cistus</i>
MAS	20,35 ± 0,16 ^{Ba}	10,31 ± 0,14 ^{Bb}	10,84 ± 0,39 ^{Bb}
ASE	39,33 ± 1,20 ^{Aa}	14,61 ± 0,68 ^{Ab}	16,22 ± 0,21 ^{Ab}
F-MAS	9,97 ± 0,32 ^{Da}	10,53 ± 1,11 ^{Ba}	11,17 ± 0,21 ^{Ba}
F-ASE	18,26 ± 0,53 ^{Ca}	11,87 ± 0,74 ^{Bb}	10,81 ± 0,44 ^{Bb}

*MAS: Maserasyon; ASE: Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyon sistemi; F: Fermentasyon; A, B, C, D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$), a,b: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$), a: Aynı satırdaki aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemsizdir ($p > 0,05$).



*Eks: Polen ekstraktları, kes: kestane, lad: laden, haş: haşhaş, mas, m: maserasyon, F: fermentasyon.

Şekil 4.7. A- DPPH Trolox standart eğrisi, B- arı poleni ekstraktlarının DPPH aktivitesi sonuçları

4.4.3. Arı Polen Ekstraktlarının ABTS•+ Aktivitelerinin Belirlenmesi

Fermente edilmiş ve fermente edilmemiş arı polenlerinden maserasyon ve ASE cihazı ile elde edilen ekstraktlarının ABTS radikal katyon giderme aktiviteleri belirlenmiştir. Analiz sonucu mg TE/g ekstrakt olarak verilmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.8 ve Tablo 4.10'da verilmiştir. Polen ekstraktlarının ABTS aktiviteleri $4,37 \pm 0,16$ ile $20,66 \pm 0,13$ mg TE/g aralığındadır. ABTS aktiviteleri K-ASE ($20,66 \pm 0,13$ mg TE/g), K-MAS ($16,18 \pm 0,58$ mg TE/g), FK-ASE ($9,49 \pm 0,16$ mg TE/g), L-ASE ($9,98 \pm 0,09$ mg TE/g) ekstraktlarında en yüksek değerde saptanmıştır. En düşük aktiviteler ise sırasıyla FK-MAS ($4,37 \pm 0,16$ mg TE/g), FH-MAS ($5,15 \pm 0,26$), FL-ASE ($5,64 \pm 0,22$ mg TE/g) ve FL-MAS ($5,56 \pm 0,15$ mg TE/g) örneklerinde bulunmuştur.

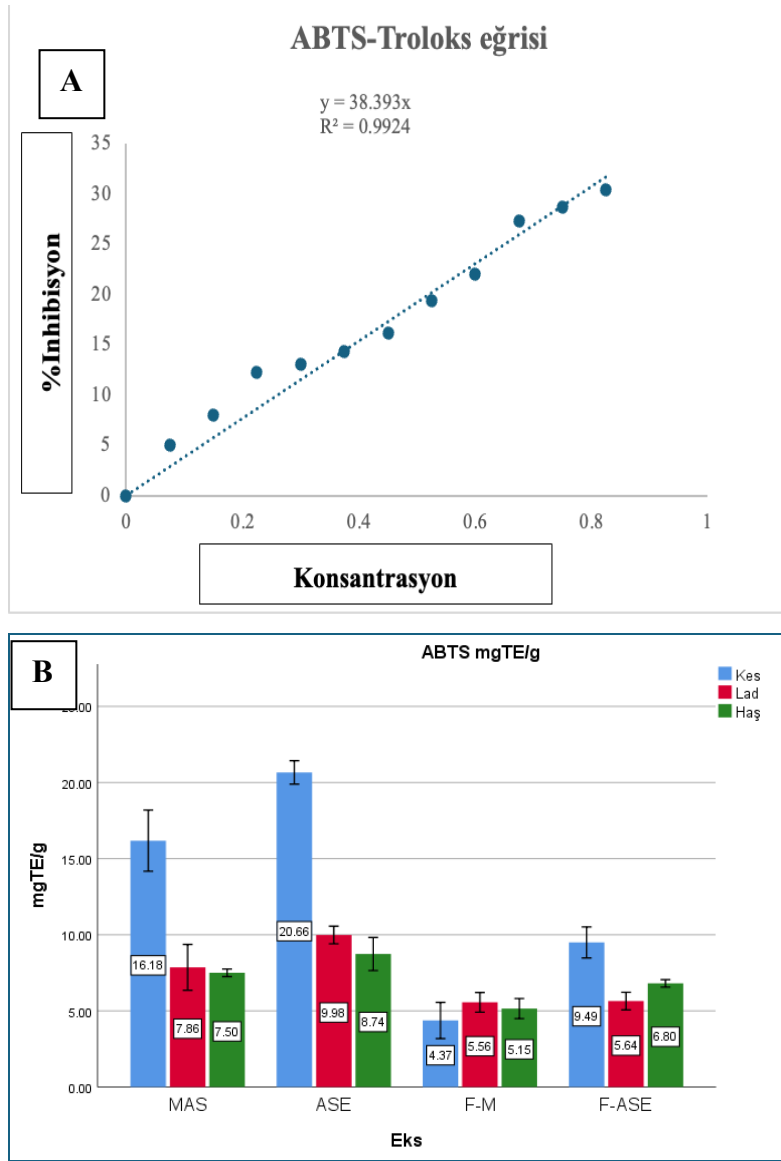
- ❖ Kısaltmalar: * K-MAS: *Castanea sativa* (Kestane) maserasyon; K-ASE: *Castanea* ASE; FK-MAS: Fermente *Castanea* Maserasyon; FK-ASE: Fermente *Castanea* ASE; H-MAS: *Papaver* sp. (Haşhaş) maserasyon; H-ASE: *Papaver* ASE, FH-MAS: Fermente *Papaver* maserasyon; FH-ASE: Fermente *Papaver* ASE; L-MAS: *Cistus* sp. (laden) maserasyon; L-ASE: *Cistus* ASE; FK-MAS: Fermente *Cistus* Maserasyon; FL-ASE: Fermente *Cistus* ASE şeklindedir.

Fermente edilmemiş *Castanea* polen örneğinin hem maserasyon hem de ASE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının ABTS aktiviteleri fermente edilmiş ve fermente edilmemiş *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen örneklerinden yüksek değerde bulunmuştur. Fermentasyon işlemi ile *Castanea* polen örneğinin ABTS aktivitesinin azaldığı bulunmuştur. *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. poleninin maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının ABTS aktiviteleri kıyaslandığında fermente edilen *Cistus* sp. ($7,86 \pm 0,42$ - $5,56 \pm 0,15$ mgTE/g) ve *Papaver* sp. ($7,50 \pm 0,06$ - $5,15 \pm 0,26$ mgTE/g) poleninin aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur. Fermentasyon işlemi uygulanmış polen örneklerinin ASE cihazı ile alınan ekstraktlarının tümünde ABTS aktivitelerinin azaldığı saptanmıştır. Maserasyon ile alınan ekstraktların ise ABTS aktiviteleri *Castanea* poleninde yüksek oranda azalırken, *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. poleninde de içerik azalmıştır.

Tablo 4.10. Arı poleni ekstraktlarının ABTS•+ aktivite değerleri

ABTS•+ mg TE/g			
Yöntem/Örnek	<i>Castanea</i>	<i>Papaver</i>	<i>Cistus</i>
MAS	16,18 ± 0,58 ^{Ba}	7,50 ± 0,06 ^{Bb}	7,86 ± 0,42 ^{Bb}
ASE	20,66 ± 0,13 ^{Aa}	8,74 ± 0,22 ^{Ac}	9,98 ± 0,09 ^{Ab}
F-MAS	4,37 ± 0,16 ^{Db}	5,15 ± 0,26 ^{Dab}	5,56 ± 0,15 ^{Ca}
F-ASE	9,49 ± 0,16 ^{Ca}	6,80 ± 0,03 ^{Cb}	5,64 ± 0,22 ^{Cc}

*MAS: Maserasyon; ASE:Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyon sistemi; F: Fermentasyon; A, B, C, D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$), a,b,c: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$).



*Eks:Polen ekstraktları, kes: kestane, lad: laden, haş:haşhaş, mas,m: maserasyon, F:fermentasyon.

Şekil 4.8. A- ABTS Trolox standart eğrisi, B--Arı poleni ekstraktlarının ABTS aktivitesi sonuçları

4.4.4. Arı Polen Ekstraktlarının CUPRAC Aktivitelerinin Belirlenmesi

Fermente edilmiş ve fermente edilmemiş arı polen örneklerinin maserasyon ve ASE cihazı ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC radikal giderme aktiviteleri belirlenmiştir. Analiz sonucu mg TE/g ekstrakt olarak verilmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.9 ve Tablo 4.11’de verilmiştir. Polen ekstraktlarının CUPRAC aktiviteleri $17,49 \pm 2,03$ ile $281,51 \pm 4,80$ mg TE/g aralığındadır. CUPRAC aktiviteleri K-ASE ($281,51 \pm 4,80$ mg TE/g), K-MAS ($161,76 \pm 8,29$ mg TE/g), FK-ASE ($102,80 \pm 6,94$ mg TE/g), H-ASE ($69,95 \pm 1,74$ mg TE/g) ekstraktlarında en yüksek değerde saptanmıştır. En düşük aktiviteler ise sırasıyla FH-MAS ($17,49 \pm 2,03$ mg TE/g), FL-MAS ($18,47 \pm 1,49$ mg TE/g), FK-MAS ($19,94 \pm 1,49$ mg TE/g) ve L-MAS ($23,86 \pm 2,30$ mg TE/g) örneklerinde bulunmuştur.

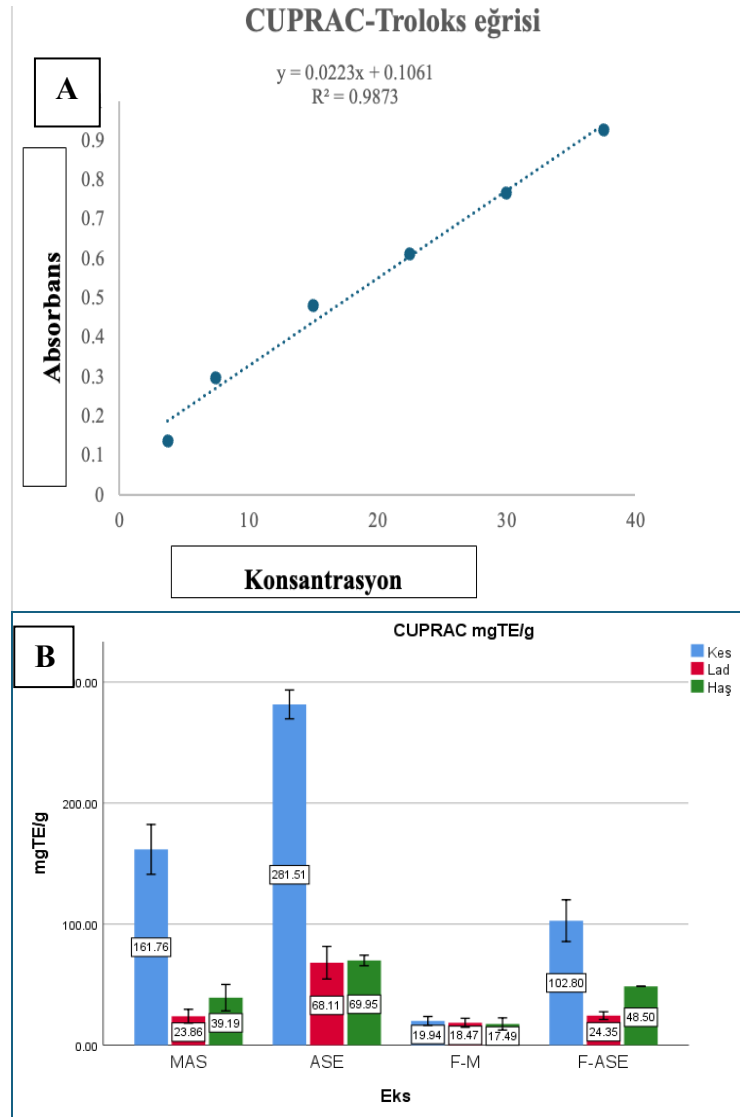
- ❖ Kısaltmalar: * K-MAS: *Castanea sativa* (Kestane) maserasyon; K-ASE: *Castanea* ASE; FK-MAS: Fermente *Castanea* Maserasyon; FK-ASE: Fermente *Castanea* ASE; H-MAS: *Papaver* sp. (Haşhaş) maserasyon; H-ASE: *Papaver* ASE, FH-MAS: Fermente *Papaver* maserasyon; FH-ASE: Fermente *Papaver* ASE; L-MAS: *Cistus* sp. (laden) maserasyon; L-ASE: *Cistus* ASE; FK-MAS: Fermente *Cistus* Maserasyon; FL-ASE: Fermente *Cistus* ASE şeklindedir.

Fermente edilmemiş *Castanea* polen örneğinin hem maserasyon hem de ASE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC aktiviteleri fermente edilmiş ve fermente edilmemiş *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. polen örneklerinden yüksek değerde bulunmuştur. Fermentasyon işlemi ile *Castanea* polen örneğinin CUPRAC aktivitesinin azaldığı bulunmuştur. *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenin maserasyon yöntemi ve ASE cihazı ile elde edilen ekstraktlarının CUPRAC aktiviteleri kıyaslandığında fermente edilen *Cistus* sp. ve *Papaver* sp. polenin aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur. Fermentasyon işlemi uygulanmış polen örneklerinin ASE cihazı ile alınan ekstraktlarının tümünde CUPRAC aktivitelerinin azaldığı saptanmıştır. Maserasyon ve ASE cihazı ile alınan ekstraktların ise CUPRAC aktiviteleri *Castanea* sp. poleninde yüksek oranda azaldığı bulunmuştur.

Tablo 4.11. Arı poleni ekstraktlarının CUPRAC aktivite değerleri

CUPRAC mg TE/g			
Yöntem/Örnek	<i>Castanea</i>	<i>Haşhaş</i>	<i>Cistus</i>
MAS	161,76 ± 8,29 ^{Ba}	39,19 ± 4,39 ^{Cb}	23,86 ± 2,30 ^{Bc}
ASE	281,51 ± 4,80 ^{Aa}	69,95 ± 1,74 ^{Ab}	68,11 ± 5,42 ^{Ab}
F-MAS	19,94 ± 1,49 ^{Da}	17,49 ± 2,03 ^{Da}	18,47 ± 1,49 ^{Ba}
F-ASE	102,80 ± 6,94 ^{Ca}	48,50 ± 0,00 ^{Bb}	24,35 ± 1,29 ^{Bc}

*MAS: Maserasyon; ASE: Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyon sistemi; F: Fermentasyon; A, B, C, D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$), a, b, c: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$), Aynı satırdaki aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemsizdir ($p>0,05$).



*Eks:Polen ekstraktları, kes: kestane, lad: laden, haş:haşhaş, mas,m: maserasyon, F:fermentasyon.

Şekil 4.9. A-CUPRAC troloks standart eğrisi, B- Arı poleni ekstraktlarının CUPRAC aktivitesi sonuçları

Arı poleni sahip olduğu biyoaktif bileşenleri sayesinde farklı biyolojik aktiviteler göstermektedir. Bu önemli aktivitelerden biri antioksidan aktivitedir. Arı polenin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için, fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonunun yapılması gerekmektedir. Arı polenin antioksidan aktivitesi ve fenolik içerikleri uygulanan ekstraksiyon işlemine ve ekstraksiyon sürecine bağlı olarak değişmektedir. Ekstraksiyon işlemi numune matris özelliklerine, analitlerin kimyasal özelliklerine ve matris-analit etkileşimlerine dayanmaktadır. Bu nedenle uygun bir ekstraksiyon yöntemi ve çözücüsü seçmek gerekliliği oluşmaktadır. Bunun yanı sıra ekstraksiyon işleminde göz önünde bulundurulması gereken diğer parametreler ekstraksiyon tipi, süresi, çözücü:hammadde oranı ve ekstraksiyon sıcaklığı-basıncıdır. Arı polenin botanik kaynağı, coğrafi orijini ve ekstraksiyon teknikleri gibi değişen parametrelere bağlı olarak antioksidan aktivitelerinin karşılaştırıldığı birçok çalışma yer almaktadır.

Ticari arı poleni ürünlerinin antioksidan ve antibakteriyel özellikleri Borycka vd. (2015), tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmada ticari olarak satılan arı polenin su, etanol ve metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik miktarı belirlenmiştir. Polen örneğinin ekstraktlarının ABTS aktivitesi su, etanol ve metanol olmak üzere sırasıyla $50,380 \pm 9,868$, $133,044 \pm 17,012$, $101,183 \pm 11,406$ $\mu\text{mol Trolox/g}$ saptanmıştır. Çalışma kapsamında elde ettiğimiz polen ekstraktlarının ABTS aktiviteleri gerekli hesaplama dönüşümü sağlandığında ($17,45\text{-}82,54$ $\mu\text{mol Trolox/g}$) bu çalışmada incelenen polen örneğinden daha düşüktür.

Gönül (2016), polen fermentasyonunun fenolik bileşiklerin biyoyararlılığı ve profilleri üzerindeki etkisine yönelik bir çalışma yapmıştır. Çalışma Afyon, İzmit ve Sivas olmak üzere Türkiye'nin 3 farklı ilinde toplanan polen örnekleri fermente edilmiştir. Çalışmasında DPPH ve CUPRAC analiz sonuçlarında fermente edilmiş polen örneklerinin fermente edilmemiş polen örneklerine göre önemli derecede yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu saptamıştır. Bunun aksine çalışmamızda fermente edilmiş polen örneklerimizin CUPRAC aktivitesinin fermente edilmemiş örneklere göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Çalışmada FH-MAS ve FL-MAS örneklerinin DPPH aktivitesi bahsi geçen çalışma gibi artış göstermiştir. Çalışma kapsamında incelenen diğer örneklerde ise DPPH aktivitesinde azalma saptanmıştır. Bununla birlikte, Gönül, (2016) çalışmasında ABTS metodundan alınan sonuçlara göre arı polenin toplam antioksidan

kapasitesi üzerinde fermentasyonun etkisi gözlemlenmemiştir. Tez çalışması kapsamında ise fermentasyon ile ABTS aktivitesinde azalma saptanmıştır.

Yunanistan'dan *Cistus creticus* arı polenindeki fenolik bileşiklerin, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin değerlendirildiği bir araştırma yapılmıştır. *Cistus* sp. poleninin DPPH aktivitesi IC_{50} $233,3 \pm 6,1$ $\mu\text{g/mL}$ ABTS aktivitesi ise IC_{50} $56,2 \pm 0,8$ $\mu\text{g/mL}$ olarak saptanmıştır (Atsalakis vd., 2017).

Bir başka çalışmada Güney Romanya'dan ham monofloral arı poleninin flavonoid/fenolik profili ve antioksidan aktivitesi üzerine bir araştırma yapılmıştır. Bu kapsamda *Papaver* sp. dahil olmak üzere 9 farklı monofloral arı polenlerinin, TPC, DPPH ve ABTS aktiviteleri belirlenmiştir. Monofloral polen örneklerinin ABTS aktiviteleri $73,45 \pm 10$ ile $791,46 \pm 45$ μg Trolox/g polen aralığında bulunmuştur. DPPH aktivitelerinin ise IC_{50} değerleri $2,78 \pm 0,03$ - $22,06 \pm 0,15$ $\mu\text{g/mL}$ olarak saptanmıştır (Spulber vd., 2018). Çalışmamızda kullandığımız fermente edilmiş ve edilmemiş *Castanea*, *Papaver* sp. (*Papaver somniferum*) ve *Cistus* polenlerinin maserasyon ve ASE ile ekstraktlarından bulunan ABTS aktiviteleri bahsi geçen araştırmadan daha yüksek oranlarda ($4,37 \pm 0,16$ ile $20,66 \pm 0,13$ mg TE/g) saptanmıştır. Bu farklılığın monofloral polenlerin botanik ve coğrafik orijinlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Katı hal fermantasyonunun arı poleni fenolik bileşikleri ve radikal süpürme kapasitesi üzerine etkisinin değerlendirildiği bir araştırma yapılmıştır. Bu kapsamda beş farklı arı poleni örneği *Lactobacillus rhamnosus* GG ile ve bakterisiz olarak fermente edilmiştir. Elde edilen fermente örnekler toplam fenolik bileşik içeriği, toplam flavonoid içeriği ve serbest radikal (DPPH) süpürme kapasitesi açısından spektrofotometrik yöntemlerle analiz edilmiştir. Doğal fermantasyonun tüm örneklerinde radikal temizleme kapasitesinde azalma gözlenirken, bakterilerle fermente edilen örneklerde arı poleni örneğinin kökenine bağlı olduğu görülmüştür. İncelediğimiz örneklerde ise bu çalışmaya benzer olarak FL-MAS örneğinde toplam fenolik içerikte artış gözlenirken diğer örneklerde azalma saptanmıştır. DPPH aktivitelerinde değerlendirildiğinde çalışma ile benzer şekilde FL-MAS ve HF-MAS örnekleri haricinde azalış gözlenmiştir (Kaškonienė vd., 2018).

Bir çalışmada Bursa Cumalıkızık'tan temin edilen *Castanea* poleninin antioksidan özellikleri ve toplam fenolik miktarı incelenmiştir. Elde edilen ekstraktın ABTS analizi yapılmış $73,09 \pm 1,07$ mg TE/g olarak saptanmıştır (Şahin ve Karkar, 2019). Bu değer çalışmada kullanılan *Castanea* polenine göre daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın, polenin botanik orijini ve coğrafi konumu ile kullanılan ekstraksiyon tekniğinin etkisinden de kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca çalışmada kullanılan *Castanea* poleninin botanik kaynağının doğrulanmasına yönelik herhangi bir bulguya makalede rastlanmamıştır.

Alimoğlu vd. (2021), monofloral ve polifloral arı polenlerinin fenolik profillerinin ve biyoaktivitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışma yapmıştır. Ekstraksiyon işlemi için %70 Et-OH, 1 saat 100 rpm'de 40°C koşulları kullanılmıştır. DPPH aktiviteleri 4,26-22,93 mg TE/g, CUPRAC aktiviteleri ise 29,27-84,12 mg TE/g ekstrakt aralığında tespit edilmiştir. Çalışmamızda incelediğimiz polen örneklerinin DPPH aktiviteleri $9,97 \pm 0,32$ ile $39,33 \pm 1,20$ mg TE/g aralığında saptanmıştır. Bu değerler bahsi geçen araştırmaya benzer olup ASE ile elde edilen ekstraktların DPPH aktivitesinin daha yüksek olduğu söylenebilmektedir. Çalışmamızda elde edilen CUPRAC aktivite sonuçları ise $17,49 \pm 2,03$ ile $281,51 \pm 4,80$ mg TE/g aralığındadır. ASE cihazından ve maserasyon yöntemi ekstraktları kullanılarak ortaya çıkan CUPRAC aktivitesindeki bazı bulgular bahsi geçen çalışmadan daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

Karkar vd. (2021), çalışmasında Türkiye'den toplanan *Castanea* arı poleninin antioksidan özelliklerinin değerlendirilmesi ve fenolik ve karotenoid profillerine yönelik bir araştırma yapılmıştır. Karadeniz bölgesinden 10 adet *Castanea* poleni ile Marmara bölgesinden 6 adet *Castanea* polen örneğini incelemiştir. Farklı yerlerden toplanan *Castanea* polen örneklerinin ABTS aktiviteleri $13,85 \pm 0,03$ - $42,58 \pm 0,28$ mg TE/g arasındadır. Çalışmamızda kullanılan *Castanea* polen örneğinin ABTS verileri ile kıyaslandığında K-MAS ve K-ASE örneklerinin bahsi geçen çalışmanın aralığında yer aldığı belirlenmiştir. Fermente edilmiş *Castanea* polen örneklerinde ise bu değer daha düşüktür.

Fenolik ve uçucu bileşiklerin karakterizasyonu ile mono ve polifloral Fas arı poleninin antioksidan ve antikanser aktivitesinin değerlendirilmesi bir araştırma kapsamında yapılmıştır. Polen örneklerinin DPPH radikal süpürme aktiviteleri EC_{50} 0,71 mg/mL ile

EC₅₀ 0,28 mg/mL arasında bulunmuştur. ABTS deneyinde, radikal süpürme değerleri mg arı poleni başına 0,81 ile 1,26 mM Trolox eşdeğerleri arasında belirlenmiştir. Bu araştırma çalışmamızla benzer şekilde arı polenlerinin DPPH'a kıyasla daha düşük ABTS aktivitesi ile sonuçlanmıştır (Aylanc vd., 2023).

Monofloral gelincik arı poleninin (*Papaver rhoeas* L.) fitokimyasal bileşimi ve antioksidan özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, ekstrakte edilebilir arı poleni fenolik fraksiyonu ile fenolik bileşiklerin, fenilamidlerin ve alkaloidlerin bileşimini belirlemek ve alkali-hidrolize edilebilir arı poleni ekstraktının fenolik, fenilamid ve alkaloid bileşimini belirlemek amacıyla 2 farklı ekstraktın DPPH ve CUPRAC aktiviteleri saptanmıştır. Çalışmada *Papaver* poleninin CUPRAC aktiviteleri $22,78 \pm 0,66$ ile $69,00 \pm 0,96$ mg AAE/g polen olarak asetik asit cinsinden belirlenmiştir. DPPH aktiviteleri ise $2,94 \pm 0,12$ ile $16,71 \pm 0,87$ $\mu\text{mol TE/g}$ olarak bulunmuştur (Kostić vd., 2023). Çalışmamızdaki polen ekstraktlarının DPPH aktivitelerinin gerekli hesaplama dönüşümleri yapıldığında DPPH aktivitelerinin 39,83-157,137 $\mu\text{mol TE/g}$ olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre incelediğimiz polen ekstraktlarının daha yüksek DPPH aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Bu aktivite farklılığı üzerinde coğrafi ve botanik orijin ile uygulanan ekstraksiyon metodunun etkisinin de olduğu düşünülmektedir.

Bir çalışma kapsamında yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *Nelumbo nucifera* (Lotus) arı poleninin antioksidan aktiviteleri, polifenoller, flavonoidler ve serbest amino asit içerikleri üzerine etkisi incelenmiştir. %80 etanol ile elde edilen ekstraktların DPPH aktiviteleri $718,02 \pm 2,87$ - $2516,34 \pm 2,22$ $\mu\text{g VcE/g}$ artan basınç oranıyla arttığı bulunmuştur. Benzer şekilde ABTS aktiviteleri $194,11 \pm 0,7$ - $530,59 \pm 2,938$ $\mu\text{g VcE/g}$ artan basınç oranıyla arttığı saptanmıştır (Tuoheti vd., 2024).

Hypochaeris ve *Brassica* baskın botanik orijinli arı poleni örneğinin fermentasyonu ve biyolojik aktivitesi bir çalışma kapsamında incelenmiştir. Bu çalışmada farklı laktik asit bakteri ve maya kültürleri kullanılmıştır. *L. plantarum* bakteri ve *S. cerevisiae* maya kültürü ile yapılan fermentasyon sonucu fermente polenin toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik, FRAP ve TEAC aktiviteleri taze arı polenine göre kıyaslanmıştır. Sonuçta toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik, FRAP ve TEAC aktiviteleri taze arı polenine göre azaldığı saptanmıştır (Zuluaga-Dominguez ve Quicazan, 2019).

Çalışmada incelediğimiz *Lactobacillus rhamnosus* bakterisi ile yapılan fermentasyon sonucunda, *Castanea*, *Cistus* ve *Papaver* sp. poleninde de benzer şekilde ekstraktların büyük çoğunluğunda fermente edilmemiş formlarına göre antioksidan aktivitede ve toplam fenolik içerik değerinde azalma saptanmıştır.

Çobanoğlu (2024), Türkiye'nin farklı bölgelerden topladığı monofloral arı polenleri ile önce palinolojik doğrulama yapmış, daha sonra polenlerin antioksidan aktivitesi ve fenolik içeriğini saptamıştır. Çalışmada DPPH ve ABTS değerleri, *Cistus* poleni için sırası ile $25,86 \pm 2,88$; $94,9 \pm 0,03$ $\mu\text{mol TE/g}$; *Papaver* sp. poleni için $37,65 \pm 2,48$ - $30,01 \pm 0,86$; $121,1 \pm 0,94$ - $112,3 \pm 0,88$ $\mu\text{mol TE/g}$ bulunmuştur.

Çalışma sonuçları ile incelenen literatür çalışmaları değerlendirildiğinde arı poleninin fermentasyonunda sıcaklık, fermentasyon süresi ve bakteri suşu veya suşlarının seçimi ayrıca arı poleninin botanik orijini gibi parametrelerin önemli etkisinin olduğu görülmüştür. Böylelikle gelecekteki çalışmaların, sıcaklık, fermentasyon süresi ve bakteri suşu veya suşlarının seçimi gibi fermentasyon koşullarının optimizasyonuna odaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca polen ekstraksiyonunda geleneksel yöntemlere göre hızlandırılmış solvent ekstraksiyon metodu olan ASE cihazı ile alınan ekstraktların antioksidan aktivitelerin geliştirilmesinde etkili olduğu ve günümüz çalışmalarında bu ekstraksiyon işleminin optimizasyonunun faydalı olacağı düşünülmektedir.

4.4.5. Arı Poleni Ekstraktlarının Fenolik Bileşik Profillerinin Belirlenmesi

Fermente edilmiş ve fermente edilmemiş kestane, haşhaş ve laden polen örneklerini içeren 12 farklı ekstrakta ait fenolik bileşik içeriklerinin sonuçları Tablo 4.12'de verilmiştir. Fermente edilmiş ve fermente edilmemiş polen ekstraktları maserasyon ve ASE cihazı yöntemleri kullanılarak elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların fenolik bileşik profilleri kalitatif ve kantitatif içerikleri LC-HR MS cihazı ile belirlenmiştir. *Castanea sativa* poleninde K-MAS 15, K-ASE 21, FK-MAS 17, FK-ASE 14, *Papaver* sp. poleninde H-MAS 15, H-ASE 17, FH-MAS 18, FH-ASE 20, *Cistus* sp. poleninde L-MAS 13, L-ASE 13, FL-MAS 11, FL-ASE 16 adet fenolik bileşik tespit edilmiştir.

- ❖ Kısaltmalar: * K-MAS: *Castanea sativa* (Kestane) maserasyon; K-ASE: *Castanea* ASE; FK-MAS: Fermente *Castanea* Maserasyon; FK-ASE: Fermente *Castanea* ASE; H-MAS: *Papaver* sp. (Haşhaş) maserasyon; H-ASE: *Papaver* ASE, FH-MAS: Fermente *Papaver* maserasyon; FH-ASE: Fermente *Papaver* ASE; L-MAS: *Cistus* sp. (laden) maserasyon; L-ASE: *Cistus* ASE; FK-MAS: Fermente *Cistus* Maserasyon; FL-ASE: Fermente *Cistus* ASE şeklindedir.

Castanea sativa arı poleninde bulunan miktarca baskın fenolik bileşikler; isorhamnetin (quercetin 3'-methyl ether) ($3715,1635 \pm 847,82 \mu\text{g}/5\text{g}$ ekstrakt) FK-ASE örneğinde, eriodictyol (3,4,5,7-tetrahydroxyflavanone ($1966,6625 \pm 153,20 \mu\text{g}/5\text{g}$ ekstrakt) K-ASE örneğinde tespit edilmiştir. *Papaver* sp. arı poleninde bulunan miktarca baskın fenolik bileşikler; luteolin 7-rutinoside ($4628,5195 \pm 369,24 \mu\text{g}/5\text{g}$ ekstrakt) H-MAS örneğinde, luteolin 7-rutinoside ($4343,574 \pm 158,16 \mu\text{g}/5\text{g}$ ekstrakt) H-ASE örneğinde belirlenmiştir. *Cistus* sp. arı poleninde bulunan miktarca baskın fenolik bileşikler; quercetin ($1861,52 \pm 61,18 \mu\text{g}/5\text{g}$ ekstrakt) FL-MAS örneğinde, quercetin ($1859,6225 \pm 47,19 \mu\text{g}/5\text{g}$ ekstrakt) FL-ASE örneğinde belirlenmiştir.

Fermente edilmiş *Castanea sativa* arı poleni örneği incelendiğinde; coumaric acid (trans-3-hydroxycinnamic asit), ferulic asit, isorhamnetin (quercetin 3'-methyl ether) ve kaempferol içeriklerinin maserasyon ve ASE yöntemi ile alınan ekstraktlarında fermente edilmemiş *Castanea sativa* poleni ekstraktlarına göre önemli düzeyde arttığı saptanmıştır. Quercetin bileşiği ise *Castanea sativa* poleninin ASE ekstraksiyonunda saptanmış olup miktarı fermente *Castanea sativa* örneğinde daha yüksek bulunmuştur. Buna ek olarak bazı fenolik bileşiklerin fermentasyon işlemi ile oluştuğu belirlenmiştir. Bu bileşikler caffeic asit, astragalin (kaempferol 3-glucoside), protocathechuic asit (3,4-dihydroxybenzoic asit) ve quercetin 3-rutinoside 7-glucoside'dir.

Fermente edilmiş *Papaver* sp. arı poleni örneği incelendiğinde protocathechuic asit (3,4-dihydroxybenzoic asit), 3,4-dihydroxybenzaldehyde (protocatechuic aldehyde), coumaric asit (trans-3-hydroxycinnamic asit), caffeic asit, ferulic asit ve kaempferol içeriklerinin maserasyon ve ASE yöntemi ile alınan ekstraktlarında fermente edilmemiş *Papaver* sp. arı poleni ekstraktlarına göre önemli düzeyde arttığı bulunmuştur. Buna ek olarak

myricetin ve salicylic asit fenolik bileşiğinin fermentasyon işlemi ile oluştuğu belirlenmiştir.

Fermente edilmiş *Cistus* sp. arı poleni örneği incelendiğinde Fermente edilmiş *Cistus* sp. arı poleni incelendiğinde, salicylic asit, quercetin, isorhamnetin (quercetin 3'-methyl ether), kaempferol ve myricetin içeriklerinin maserasyon ve ASE yöntemi ile alınan ekstraktlarında fermente edilmemiş *Cistus* sp. arı poleni ekstraktlarına göre önemli düzeyde arttığı bulunmuştur. Ferulic asit ve coumaric asit (trans-3-hydroxycinnamic asit) bileşikleri *Cistus* sp. arı polenin fermentasyonu ile elde edilen ekstraktlarında tespit edilmiş olup fermente edilmemiş *Cistus* sp. arı poleni ekstraktlarında saptanmamıştır.

Arı polenin fenolik bileşimi, sağlık yararları ve besin değeri üzerindeki etkileri nedeniyle önemli bir araştırma alanıdır. Arı polenin, antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal özelliklerine önemli ölçüde katkıda bulunan flavonoidler ve fenolik asitler de dahil olmak üzere çeşitli fenolik bileşikler açısından zengin olduğu bilinmektedir. Arı polenin fenolik profili, botanik kökeninin yanı sıra, üretildiği alandaki toprak türü ve iklim koşulları gibi çevresel faktörlere bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir. Araştırmalar, arı polenin çok çeşitli fenolik bileşikler içerdiğini göstermiştir. Rocchetti vd. (2019), arı polenin özellikle kaempferol, quersetin ve izorhamnetin gibi flavonoidler ve klorojenik asit gibi fenolik asitler bakımından zengin olduğunu tespit etmiştir. Bu bileşikler, biyolojik sistemlerde oksidatif stresi azaltmaya yardımcı olabilecek güçlü antioksidan aktiviteleri ile bilinmektedir. Kim vd. (2015), flavonoidlerin ve fenolik asitlerin arı polenin ana bileşenleri olduğunu ve çeşitli biyolojik aktivitelerine katkıda bulunduğunu vurgulamıştır. Bu bileşiklerin antioksidan kapasitesi, hücreleri serbest radikallerin neden olduğu hasardan korumak için gereklidir ve böylece çeşitli hastalıkların önlenmesinde rol oynar.

Ayrıca, arı poleninden fenolik bileşikler elde etmek için kullanılan ekstraksiyon yöntemleri, bu bileşiklerin verimini ve profilini önemli ölçüde etkileyebilir. Anjos vd. (2019), fenolik asitler ve flavonoidler de dahil olmak üzere polifenollerin, arı poleninde güçlü antioksidan özellikler sergileyen temel bileşenler olduğunu belirtmiştir. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu, bu fenolik bileşiklerin biyoyararlanımını artırabilir ve böylece arı polenin potansiyel sağlık yararlarını artırabilir (Urcan vd.,

2024). Antioksidan özelliklerine ek olarak, arı polenindeki fenolik bileşikler çeşitli sağlık yararları ile ilişkilendirilmiştir. Örneğin, flavonoidlerin kronik inflamatuvar durumların yönetiminde faydalı olabilecek anti-inflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Maruyama vd., 2010). Ayrıca, arı poleninde bulunan fenolik bileşiklerin varlığı, bal arılarında bağışıklık fonksiyonunun iyileşmesiyle ilişkilendirilmiştir. Polenle beslenen arılarda bu biyoaktif bileşiklerden zengin polen tüketildiğinde bağışıklık yetkinliğinin arttığını gösteren çalışmalar bunu desteklemektedir (Danıhlık vd., 2018).

Bu çalışmada, Türkiye’de üretimi yapılan monofloral *Castanea sativa*, *Papaver* sp., ve *Cistus* sp., arı poleni örnekleri ve *Lactobacillus rhamnosus* ile fermente edilen yine aynı polen örnekleri çözücü olarak %70’lik etanol kullanıp maserasyon tekniği ile ve yenilikçi bir teknik olan ASE yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonunda, elde edilen ekstraktların LC HR MS cihazı ile fenolik içeriği saptanmıştır. İncelenen 83 adet fenolik bileşenden 30 fenolik bileşen saptanmış, kaemferol tüm ekstraktlarda saptanmıştır. Polen ekstraktlarının LC HR MS cihazında araştırılan fenolik bileşenlere göre, en yüksek fenolik içeriği azalan sıra ile; FH-ASE>H-ASE>FH-MAS>H-MAS>FK-ASE>FL-ASE>K-ASE>FK-MAS>FL-MAS>K-MAS>L-MAS>L-ASE şeklindedir. En yüksek oran 12931 µg/5g ile fermente edilmiş *Papaver* sp. poleninin ASE ekstraktında, en düşük oran 1164 µg/5g ise *Cistus* sp. arı poleninin ASE ekstraktından elde edilmiştir.

Daha önce *Papaver* sp. poleni ile yapılan çalışmalara benzer olarak luteolin *Papaver* sp. poleninin maserasyon hariç tüm ekstraktlarında en yüksek oranda bulunmuştur (Çobanoğlu, 2024; Kostić vd., 2023). Bu da *Papaver* sp. poleni için luteolinin marker olabileceğini doğrulamıştır. F-H MAS ve H-MAS örnekleri kıyaslandığında, fermente edilmiş ekstraktta luteolin saptanmışken, fermente edilmemiş ekstraktta luteolin gözlenmemiştir. Buradan yola çıkarak, fermentasyonun arı poleninde biyoyararlanımı artırdığı düşünülmüştür. Luteolin 7-rutinoside *Papaver* sp. poleninde tüm ekstraktlarda yüksek oranda bulunmuştur.

Daha önce bir araştırmada, *Anadenanthera* bitkisine ait arı poleninde bulunan Eriodictyol fermente olan *Castanea* örneklerinde tespit edilmemiş, fermente edilmemiş *Castanea* örneklerinde ise saptanmıştır (De-Melo vd., 2018). Bu flavanoid *Papaver* sp. arı poleninde de yüksek oranda bulunmuştur. *Cistus* poleninde ise sadece ASE

ekstraktlarında saptanmış, fermente olmuş *Cistus* poleninin ASE ekstraktında, *Cistus* poleninin ASE ekstraktından çok daha yüksek oranda eriodictyol bulunmuştur.

Ellagik asit sadece fermente olmayan *Castanea* arı poleni ekstraktlarında belirlenmiştir. Çobanoğlu (2024), monofloral arı poleni ile hazırladıkları ekstraktların hiçbirinde ellagik asit tespit edememiştir. Naringenin ise fermente olmayan *Castanea* arı poleninin ASE ekstraksiyonunda en yüksek değerde tespit edilmiştir.

Daha önceki çalışmalarda, *Cistus* poleninde saptanan mirisetin, fermente olmuş *Cistus* poleninin ekstraktlarında daha yüksek oranda tespit edilmiştir (Tomás-Lorente vd., 1992). Bu da fermentasyonun *Cistus* poleninin biyoyararlanımını artırdığını gösterebilmektedir.

Bir kaempferol türevi olan astragalin, *Lactobacillus rhamnosus* ile fermente olmuş *Castanea* poleni örneklerinde saptanırken, fermente olmamış *Castanea* örneklerinde belirlenememiştir. Bu da fermentasyonun *Castanea* polenlerinde biyoyararlanımı artırdığına dair bir gösterge olabilir. Astragalin, bir çalışmada *Castanea* yaprağının ekstraktında saptanmıştır (Marrazzo vd., 2023).

Yine bir kaempferol türevi olan afzelin, *Papaver* sp. polenlerinin tüm ekstraktlarında diğer polen ekstraktlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Kaempferol ise, tüm arı poleni örneklerinin *Lactobacillus rhamnosus* ile fermente edilmesi ile daha yüksek bulunmuştur. Bu da fermentasyonun farklı bitki kaynaklı arı polenlerinin biyoyararlılığını artırdığını göstermektedir.

İsorhamnetine yüksek oranda fermente edilmiş ve edilmemiş tüm *Castanea* arı polenlerinde rastlanılmıştır. Isoquercitrin (quercetin 3-glucoside)'e ise fermente edilmiş *Cistus* arı polenlerinde bulunamamıştır. Fermente edilen polen örneklerinin ferulik asit miktarı, fermente olmayan arı poleni örneklerinden daha yüksektir.

Tablo 4.12. Arı poleni ekstraktlarının fenolik profilleri

[illegible]

Tablo 4.12. (Devam) Arı poleni ekstraktlarının fenolik profilleri

Fenolikler/Polen Örnekleri	Castanea				Papaver				Cistus			
Fenolikler (µg/5 g ekstrakt)	K-MAS	K-ASE	FK-MAS	FK-ASE	H-MAS	H-ASE	FH-MAS	FH-ASE	L-MAS	L-ASE	FL-MAS	FL-ASE
Pinocembrin	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Doxorubicin Hydrchloride	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Ethylgallate	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	2,095	Nd	5,1505±0,16	Nd	Nd	Nd
TOPLAM (µg/5 g ekstrakt)	2880,841	6061,7875	5005,1625	7214,279	10952,383	12900,264	12560,1455	12931,0845	1398,746	1164,427	4467,366	6953,9575

*K-MAS: *Castanea sativa* (Kestane) maserasyon; K-ASE: *Castanea* ASE; FK-MAS: Fermente *Castanea* Maserasyon; FK-ASE: Fermente *Castanea* ASE; H-MAS: *Papaver* sp. (Haşhaş) maserasyon; H-ASE: *Papaver* ASE, FH-MAS: Fermente *Papaver* maserasyon; FH-ASE: Fermente *Papaver* ASE; L-MAS: *Cistus* sp. (laden) maserasyon; L-ASE: *Cistus* ASE; FK-MAS: Fermente *Cistus* Maserasyon; FL-ASE: Fermente *Cistus* ASE.

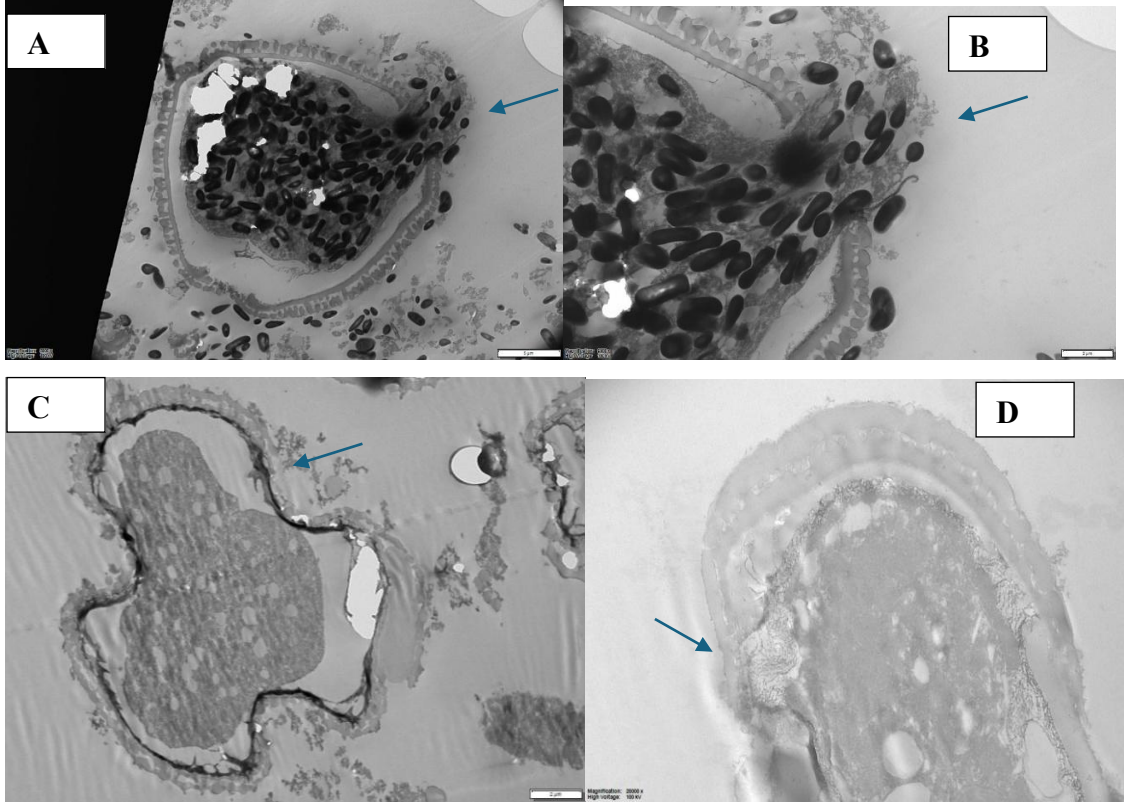
4.4.6. Fermente Edilmiş Polen Tanelerinin Duvar Yapılarının İncelenmesi

TEM cihazı arı polenin fermentasyon sürecinde mikrobiyal etkileşimler ve polen yapısındaki morfolojik değişikliklerin gözlenmesinde kullanılan önemli bir yöntemdir.

Utoiu vd. (2018), fermentasyon sürecinde arı poleninde meydana gelen değişimlerin TEM ile detaylı şekilde gözlemlenebileceğini, ekzin - intin katmanlarında kademeleri bozulma olduğu ve hücresel içeriğin dış ortama salındığını göstermiştir. Özellikle fermentasyonun ilerleyen günlerinde duvar yıkımı belirginleşmiş ve biyoaktif bileşiklerin sıvı faza geçişi artmıştır.

Mikrobiyal fermentasyonun arı polenin bileşimindeki değişiklikleri üzerine etkisinin kapsamlı bir şekilde incelendiği bir çalışmada, fermentasyondan sonra arı polenin dış duvarının çatladığı ve çatlak ile birlikte polen içeriğinin dışarı aktığı ve etrafa dağıldığı saptanmıştır. Bu sonuçla fermentasyonun arı poleni duvarını parçalayabileceği ve içeriğin serbest kalmasını sağlayabileceğini göstermiştir (Zhang vd., 2022).

Fermentasyon işlemi uygulanan *Castanea sativa*, *Papaver* sp. ve *Cistus* sp. arı poleni örneklerinin polen tanelerinin duvar yapıları TEM cihazı ile görüntülenmiştir. Bu görüntülemeye ait görseller Şekil 4.10'da verilmiştir. Mikrobiyal fermentasyon polen duvarını bozmak için kullanılan yeşil ve çevre dostu bir biyolojik yöntemdir. Fermentasyon işlemi fermente ürünlerin katma değerinin arttırmaya elverişli olan, bitki substratlarından ya da gıda maddelerinden aktif bileşenlerin salınmasını teşvik eden önemli bir yöntemdir. Yapılan araştırmalar, arı polenin fermentasyonunun hücre duvarı yapısını bozması üzerine odaklanmıştır. Bu aşamada fermentasyon etkinliğinin anlaşılabilmesi amacıyla TEM analizi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından yapılmıştır. TEM mikrografında, polenin duvar yapısının bazı polen tanelerinde duvar yapısının daha ince olduğu apertür (açıklık) kısımlarından deforme olduğu ve böylece polenin duvar tabakası bütünlüğünün bozularak *Lactocillus rhamnosus* suşlarının polenin içine girdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.10 A,B). Bazı mikrograflarda ise ekzin tabakasının yapısının deforme olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.10 C,D). Fermentasyon ile polenin duvar yapısının bütünlüğünün bozularak, protoplazmasının dışarı çıktığı görülmüştür.



*A; B: *Cistus* polen tanesi; C: *Papaver* polen tanesi; D: *Castanea* polen tanesi.

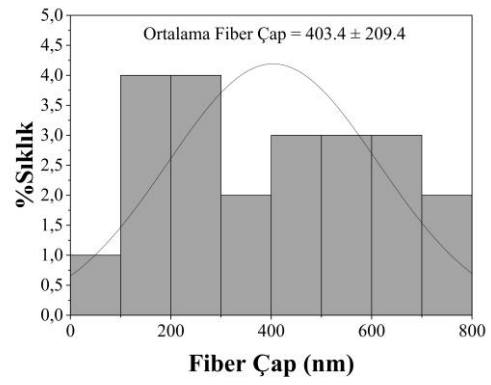
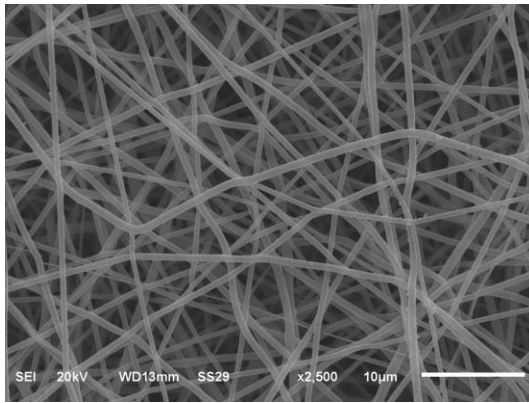
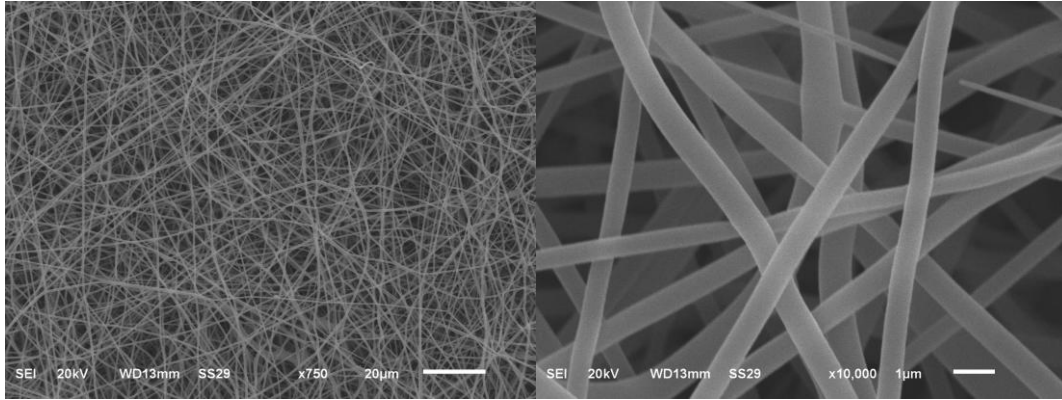
Şekil 4.10. Fermente arı poleni içerisinde yer alan polen tanelerinin mikrografları

4.5. *Castanea sativa* Arı Poleni ASE Ekstraktı Katkılı Fiberlerin Karakterizasyonu ve Gıda Uygulaması Bulguları

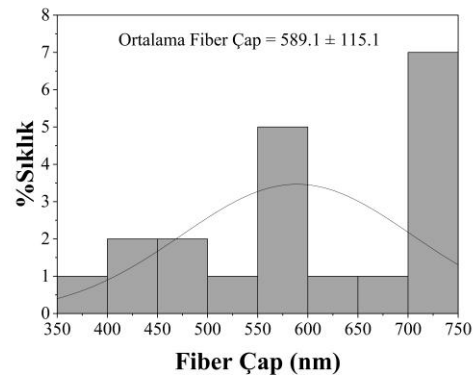
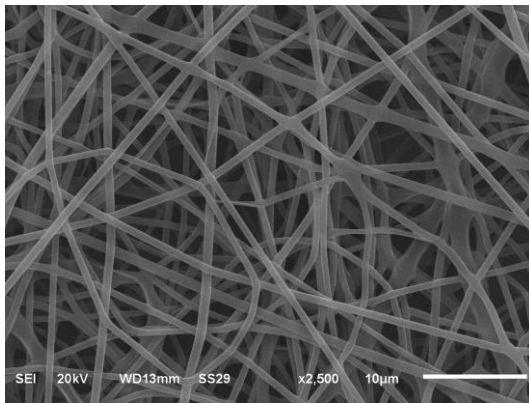
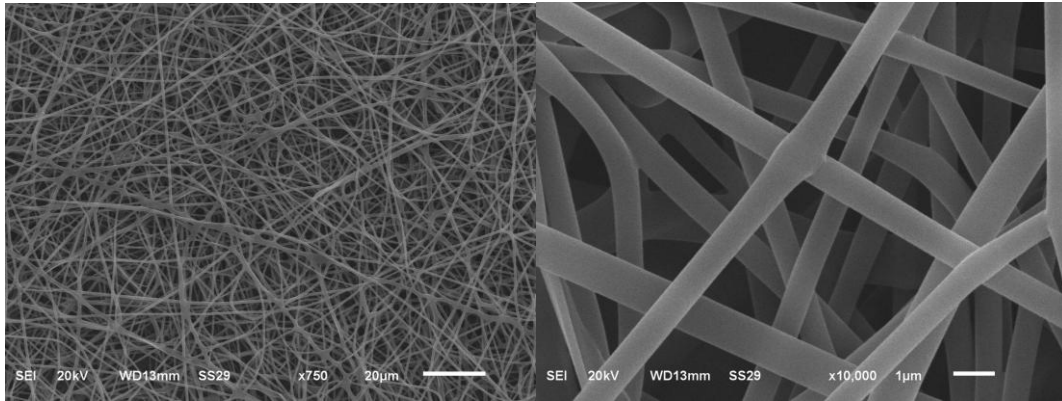
4.5.1. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Fiber Yapılarının Görüntülenmesi

%14 PVA fiberi ile %14, %21, %28 ve %42 oranlarında polen katkı PVA fiberlerinin morfolojik görüntüleri ve fiber çap dağılımı diyagramı Şekil 4.11’de gösterilmiştir.

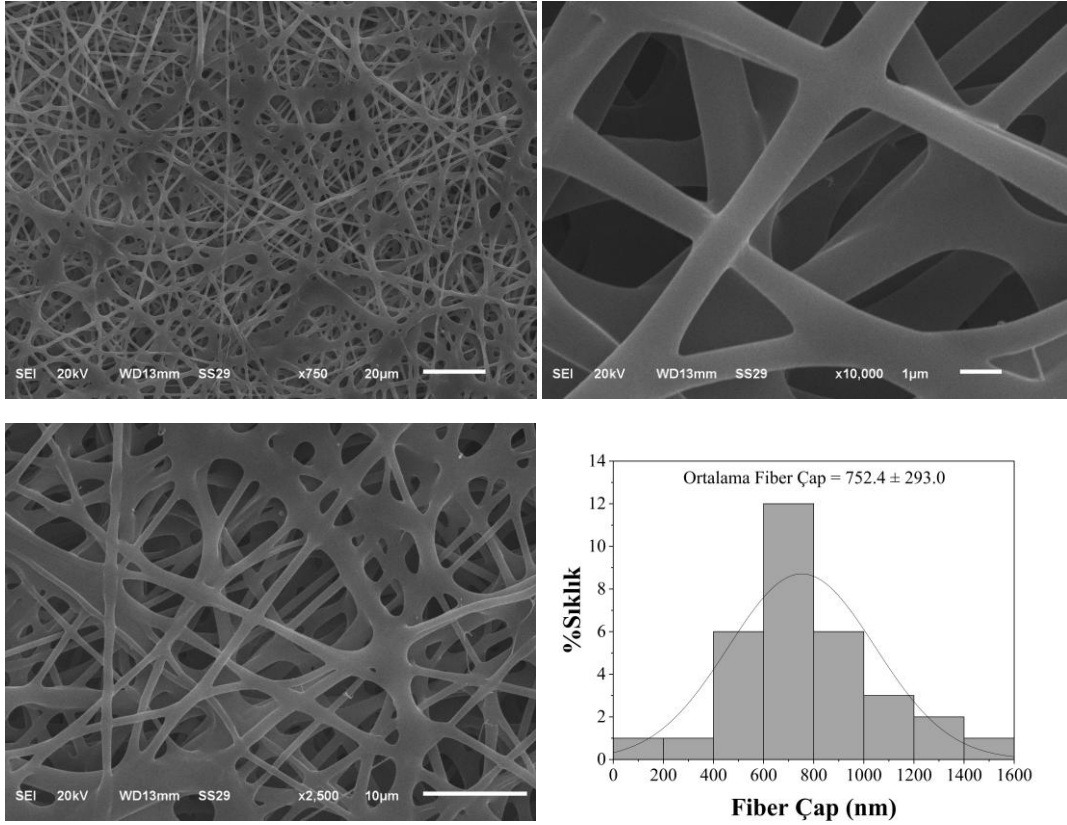
A)



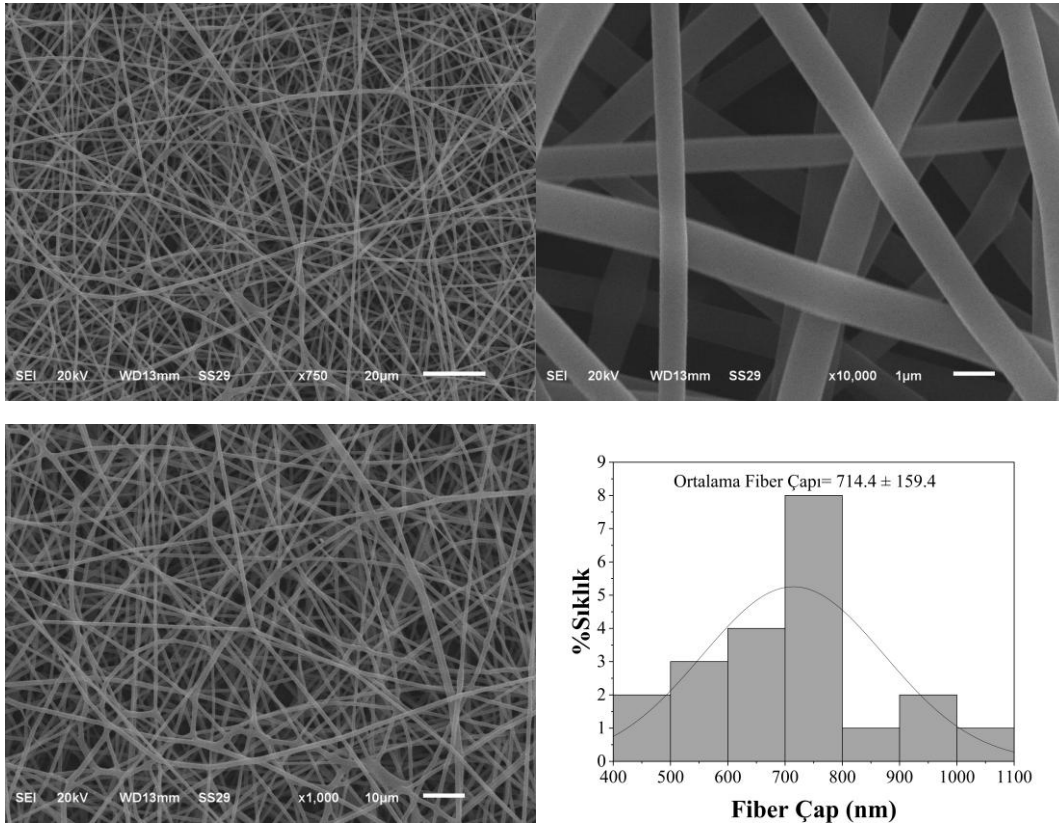
B)



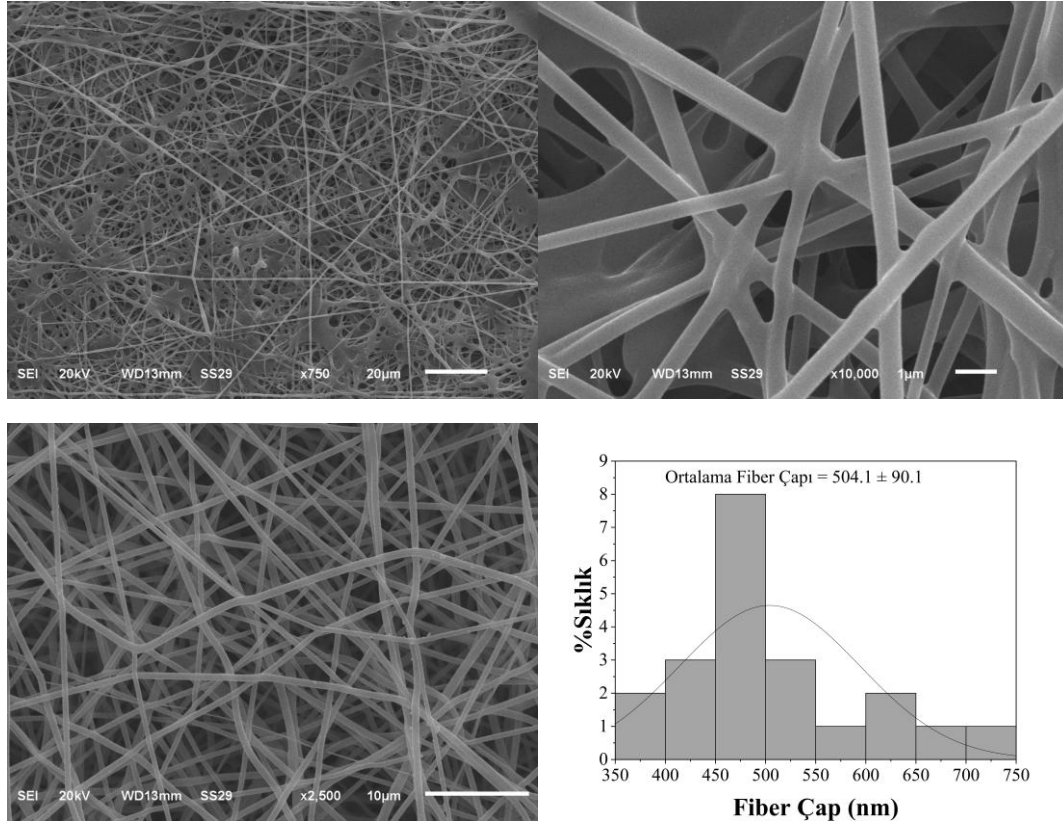
C)



D)



E)



*A-%14 PVA, B-%14 Polen ekstraktı katkılı PVA(PE-PVA), C-%21 PE-PVA, D-%28 PE-PVA, E-%42 PE-PVA.

Şekil 4.11. Fiberlerin farklı büyütmelerdeki mikrografları ve fiber çap histogramları

Fiber örneklerinin 750, 1000, 2500 ve 10000X büyütmelerdeki görüntüleri Şekil 4.11’de verilmiştir. Şekil 4.11-A PVA fiberinin morfolojik görüntüleri incelendiğinde şeritteki uzunluk boyunca benzer çaplara sahip rastgele yönlendirilmiş lifler sergilediği ve herhangi bir boncuklu yapının oluşmadığı saptanmıştır. Ortalama fiber çapının $403,4 \pm 209,4$ nm olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.11-B 200 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA (%14 PE-PVA) fiber örneklerine ait görselleri içermektedir. %14 PE-PVA fiberlerinin kontrol grubu olarak düşünülen PVA fiberine oranla daha kalın lifler oluşturduğu ancak fiberlerin çap dağılımlarının benzer olduğu ve yine boncuksuz yapılar sergilediği gösterilmiştir. Ortalama fiber çap boyutu $589,1 \pm 115,1$ nm olduğu belirlenmiştir. Bu değer artışında polen ekstraktının kaplanması etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Şekil 4.11-C 300 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA (%21 PE-PVA) fiber örneklerine ait görselleri içermektedir. %21 PE-PVA fiberlerinin %14 PE-PVA

fiberlerine oranla daha kalın lifler oluşturduğu ve bu liflerin dağılımlarının düzensiz tavrı ve kümeleşmeler sergilediği gösterilmiştir. Bu görsellerden artan polen ekstraktının fiber yapılarının çaplarının kalınlaşmasına ve düzensizleşmesine neden olduğu anlaşılmaktadır. Şekil 4.11-D 400 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı içeren PVA (%28 PE-PVA) fiber örneklerinin SEM mikrografları verilmiştir. %25 PE-PVA fiberlerinin kalın lif yapılarının olduğu görülmektedir. Lif yapılarının rastgele düzensiz dağıldığı ve kümeleşmelerin varlığı gösterilmiştir. Ortalama fiber çapı $714,4 \pm 159,4$ nm değerinde hesaplanmıştır.

Şekil 4.11-E 600 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı içeren PVA (%42 PE-PVA) fiber örneklerinin SEM görüntülerini içermektedir. Fiber yapılarının ortalama çapları $504,1 \pm 90,1$ nm değerinde bulunmuştur. Lif yapılarının artan bu yüksek polen ekstraktı oranıyla (%42) oldukça olumsuz etkilendiği gözlenmiştir. Ayrıca elektro eğirme işlemi uygulandığı esnada fiber üretiminde %42'lik polen ekstraktı oranında zorluklarla karşılaşmıştır ve fiber üretimi tamamlanamamıştır. Ayrıca görseller incelendiğinde fiberlerin morfolojik dağılımının düzensiz olduğu ve kümeleşmelerin arttığı gösterilmiştir. 600 mg/mL konsantrasyonuna kadar fiberlerin ortalama çaplarının arttığı, 600 mg/mL ile ortalama çapta azalma saptanmıştır. Bu elektro eğirme çözeltilerinin iletkenliğinin artmasına neden olabilir, bu da jetin daha fazla gerilmesine neden olabilir ve daha ince bir fiber çapı ile sonuçlanması ile açıklanabilir. Bu durumda 600 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkısı ile fiber etkileşiminin zor gerçekleştiği düşünülmektedir. Artan oranda polen ekstraktı içerikli fiberlerin PVA fiberlerine göre tekdüze yapılarının bozulduğu gözlenmiştir.

Literatürde arı polenin elektro eğirme yöntemi ile fiber denemesine yönelik bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada sodyum aljinat ve polivinil alkol taşıyıcı ajan olarak kullanılmıştır. Farklı oranlarda %1, %2, %3 arı poleni yüklenmiş SA/PVA nanofiberleri üretilmiştir. SEM görüntülerinde saf SA/PVA fiberlerinin pürüzsüz ve homojen fiber yapıları sergilediği, arı poleni yüklü fiberlerin ise heterojen, düğümlü ve zaman zaman çap değişimleri sergilediği görülmüştür. Ayrıca fiberlerin kalınlıkları polen katkısı ile birlikte ortalama 183 nm'den 100-150 nm aralığına düşmüştür. Bu duruma polen ilavesi ile çözeltideki iletkenlik artışı ve jetteki çekim gücünün etkisinin olduğu belirtilmiştir (Pakolpakçıl ve Draczynski, 2021).

Yenilebilir gıda ambalajları için propolis özlü elektrospun lifli malzemeler başlıklı bir yayında propolis ekstraktı ile yüklenmiş PVA kaplı elektrospun lifler üretilmiştir. SEM görüntüleri, saf polimerin düzgün, homojen pürüzsüz yüzey özellikleri sergiledikleri saptanmıştır. Propolis yüklü fiberlerde ise partikül kümeleşmesi ve mikro pürüzlükler gözlenmiştir. Lif çapında az bir artış olup boncuklanma gözlenmemiştir. Partiküllerin lif yapısını bozmadan matris içerisine yerleştiği saptanmıştır. SEM sonucuna göre propolis yüklü fiberlerin yenilebilir gıda ambalajlarında hem mekanik dayanıklılık yönüyle hem de koruyucu özellikleri ile antimikrobiyal bileşenlerin kontrollü salınımında etkili olduğu belirtilmiştir (Zelca vd., 2023).

Moradkhannejhad vd. (2018), zein/propolis fiber sistemini incelemiş olup fiberlerde çap artışı gözlemlemiş ancak boncuklanmanın oluşmadığını SEM görüntüleriyle desteklemiştir. Özellikle propolis partiküllerinin fiber yüzeyine dağılmasının mikro yapılarıyla birlikte yara iyileşmesini hızlandırma ve enfeksiyon önleme potansiyeli olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Mele, 2023).

Zanella vd. (2021), yara iyileştirmesinde etkili olabileceği düşünülen propolis katkılı elektrospun fiberlerin geliştirilmesini hedeflemiştir. Bu kapsamda PBAT, PCL polimerlerine alkolik propolis ekstraktı (%16,5) eklenmiştir. SEM analiz bulgularına göre saf polimer karışımının 0,51 μm çapında olduğu propolis yüklü fiberlerin ise ortalama 1,16 μm çapında olduğu bulunmuştur. Bu bulgular propolis katkısının lif çapını arttırdığını göstermektedir. Lif çapının artışı çözelti viskozitesinin ve yüzey geriliminin artışından kaynaklandığı belirtilmektedir. Ancak liflerin homojen ve düzgün yapılı olduğu, boncuklu yapının olmadığı bulunmuştur.

4.5.2. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi Analizi

Castanea sativa arı polen ekstraktı, PVA ve polen ekstraktı katkılı PVA fiberlerin fonksiyonel gruplarının varlığı ve fiber yapısal değişiklikleri FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir. FTIR cihazı ile elde edilen spektruma ait görsel şekil 4.12'de yer almaktadır. *Castanea sativa* arı poleni ekstraktına ait karakteristik pik değerleri 3278 cm^{-1} , 2929 cm^{-1} , 1603 cm^{-1} , 1407 cm^{-1} , 1249 cm^{-1} , 1028 cm^{-1} , 919 cm^{-1} , 866 cm^{-1} , 816 cm^{-1} , 766 cm^{-1} de gözlenmiştir. PVA fiberine ait karakteristik pikler 3310 cm^{-1} , 2933

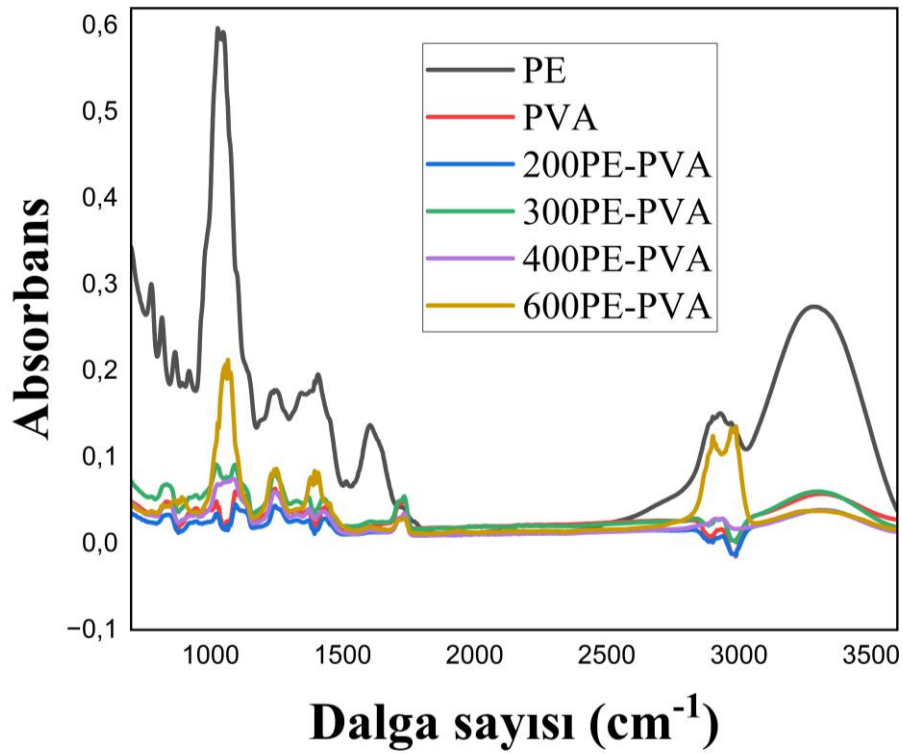
cm^{-1} , 2817 cm^{-1} , 1734 cm^{-1} , 1431 cm^{-1} , 1245 cm^{-1} , 1095 cm^{-1} , 1022 cm^{-1} , 832 cm^{-1} olarak belirlenmiş olup O-H gerilme titreşimi, C-H gerilme titreşimi, C-C gerilmesi, C-O gerilmesi, C-O bükülmeleri ve PVA yan grupları C-H bükülmeleri görülmektedir. 3278 , 1603 , 1249 , $766-919 \text{ cm}^{-1}$ bölgeleri fenolik bileşikler ve flavonoidlerle ilişkili OH hidroksil grubu, C=C aromatik, C-O streç aromatik halka titreşimleri ve aromatik C-H bükülmelerini göstermektedir (Castiglioni vd., 2019; Bakour vd., 2022). Bantlar incelendiğinde polen yüklenmesi ile PVA fiberlerin polen ekstraktının pikleri ile örtüştüğü görülmektedir. Artan polen ekstraktı konsantrasyonu ile piklerin absorbans değerlerinde artış saptanmıştır. Polen katkılı fiberlerin polen ekstraktı spektrumu ile yakın dalga sayılarında pikler vermiş olup absorbans değeri artan polen katkısı ile artış göstermiştir. Farklı oranlardaki polen katkılı fiberlerde PVA polimer yapısı korunarak ilgili fenolik bileşiklerin yapıda yer aldığı piklere rastlanılmıştır.

Fenolik bileşikler, içerdiği yüksek OH grubu ile FTIR spektrumunda $3200-3600 \text{ cm}^{-1}$ aralığında geniş ve belirgin O-H görülmektedir. Anzer poleni ile yapılan bir çalışmada arı polenin fenolik bileşiklerinin FTIR analizinde O-H bantlarının belirgin olduğu ve fenolik yapıların varlığının doğrulandığı bulunmuştur (Ulusoy ve Kolaylı, 2014). Fenolik bileşiklerin fiber yapılarına dahil edilmesi FTIR spektrumunda belirgin kaymalara ve bant yoğunluğu değişikliklerine sebep olur.

Prdun vd. (2021), arı polenli fiberlerin FTIR analizinde, fenolik bileşiklerin materyale hidrojen bağları ile bağlandığını ve $3200-3600 \text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki O-H bantlarında değişiklik olarak ortaya çıktığını belirtmektedir. $1650-1750 \text{ cm}^{-1}$ C=O gerilme titreşimlerinde kaymalar gözlenmiş olup fenolik bileşiklerin fiber materyali ile kimyasal etkileşiminin göstergesi olduğu belirtilmiştir. Bayram vd. (2021), aynı botanik kökene sahip arı poleni ve arı ekmeğinin fenolik profilleri FTIR analizi ile kıyaslanmış ve üretim süreçlerinin spektrumlarda değişikliklere neden olduğunu belirtmiştir. Özellikle yeni kimyasal bağların oluşumu veya mevcut olanların yıkımı spektrumda yeni bant oluşumu veya mevcut bandın kaybolması ile gözlemlendiği bulunmuştur.

Pakolpakçıl ve Draczynski (2021) tarafından yürütülen bir çalışmada elektro eğirme yöntemi ile arı poleni yüklü sodyum aljinat ve polivinil alkol nanofibrözler üretilmiştir. FTIR-ATR spektrumunda, arı poleninde 3300 cm^{-1} OH gerilme, 2922 cm^{-1} CH gerilme,

1606 ve 1514 cm^{-1} aromatik C=C ayrıca 1028 cm^{-1} C-O gerilme bantlarının olduğu saptanmıştır. Saf kaplama materyali SA/PVA spektrumunda ise 3310 cm^{-1} OH gerilme, 2941 cm^{-1} CH, 1732 cm^{-1} C=O ve 1091 cm^{-1} C-O bantları bulunmuştur. Arı poleni ilavesiyle FTIR spektrumunda özellikle 2880-2860 cm^{-1} bölgelerindeki CH gerilme bantları genişlemiş, OH bandının yoğunluğu artmıştır. Böylelikle polen fenolik gruplarının fiber taşıyıcısına başarılı bir şekilde entegre olduğu belirtilmiştir.



**Castanea sativa* Polen ekstraktı (PE), PVA, %14 polen ekstraktlı PVA (200PE-PVA), %21 polen ekstraktlı PVA (300PE-PVA), %28 polen ekstraktlı PVA (400PE-PVA), %42 polen ekstraktlı PVA (600PE-PVA).

Şekil 4.12. FTIR spektrumu

4.5.3. Tavuk Etinin Lipit Peroksidasyon Düzeyinin Belirlenmesi (TBARS Analizi)

%14 Polivinil alkol (%14 PVA), 200 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi (%14 PE-PVA), 300 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi (%21 PE-PVA), 400 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi (%28 PE-PVA) örnekleri çiğ tavuk eti göğüs yüzeyinin kaplanması için kullanılmıştır. 0, 3. ve 7. günlerde bu tavuk etlerinin TBARS analizleri yapılarak elde edilen bulgular

kaydedilmiştir. Hiç kaplama yapılmamış kontrol grubu tavuk eti de raf ömrü boyunca analiz edilmiştir. Lipit peroksidasyonuna ait sonuçlar Tablo 4.13 ve Tablo 4.14'te verilmiştir. Tablo 4.13'te kontrol grubu tavuk göğüs etinin 0. gün kaplama işlemi uygulanmadan yapılan TBARS ve renk analiz sonuçlarına ait veriler yer almaktadır. Tavuk göğüs etinin başlangıç lipit peroksidasyonu $0,249 \pm 0,01$ mg MAD/ 100 g değerinde bulunmuştur. 3. gün verileri incelendiğinde en yüksek TBARS değeri kontrol grubu tavuk etinde bulunmuş olup fiber kaplama işlemi ile tavuk etinin TBARS değeri (mg MDA/100g) azalmıştır. Bu durumda kaplama işleminin çiğ tavuk etinin lipit peroksidasyonunun azaltılmasında etkili olabileceği görülmektedir. 7. gün analizlerinde en yüksek TBARS değeri kontrol tavuk ve %14 PVA kaplı tavuk etinde saptanmıştır. Arı poleni ekstraktı katkılı fiber kaplamaların ise TBARS değerleri bu değerlerden düşük bulunmuştur. Arı poleni ilavesinin fiberlere aktivite kattığı söylenebilmektedir. Böylelikle tavuk etinin lipit peroksidasyonu, arı poleni fiber kaplamaları ile düşüş göstererek arı polen ekstraktı içeren fiberlerin tavuk etinin raf ömründe pozitif bir potansiyel etki sağladığı anlaşılmaktadır. Ancak bu olumlu katkı artan orana bağlı olarak düzenli bir artış olacak şekilde saptanmamıştır.

3. gün analiz sonuçlarına göre en etkili kaplama %21 PE-PVA grubu olmuştur. En az etki ise %28 PE-PVA grubunda bulunmuştur. 7. gün verilerine göre en yüksek etki %14 PE-PVA grubunda saptanmış olup en az etki %28 PE-PVA grubunda tespit edilmiştir. 3. gün sonuçları baz alındığında istatistiksel anlamda kontrol tavuğuna göre kaplama işlemi arasında anlamlı bir farklılık bulunmuş olup kaplama yapılan fiber örnek grupları arasında bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. 7. gün verileri istatistiksel olarak incelendiğinde KT ve %14 PVA kaplama örnekleri aynı grupta yer alıp istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır. Bu grupların diğer fiber kaplamaları ile arasındaki istatistiksel fark anlamlı bulunmuştur. Ayrıca kaplamalar arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlıdır. 3 ve 7. günlerde lipit peroksidasyonunu önlemede en az etkili arı poleni katkılı fiber kaplaması %28 PE-PVA grubu olmuştur. Bu durum, SEM sonuçları da düşünüldüğünde artan polen konsantrasyonu ile fiber oluşumunun homojenliğinin kaybolması ve düzgün olmayan fiber yapıların oluşması ile kaplama işleminde yaşanan güçlüklerle bağdaştırılabilir.

Bir araştırmada, timol yüklü kitosan kaplamalı elektro eğirme nanofiberleri balık filetolarının kaplanması kimyasal bozulmayı geciktirmek amacıyla yenilikçi bir yaklaşım olarak sunulmuştur. Sonuçta kitosan ve timol katkılı kitosan fiberlerle yapılan fileto kaplamaların kaplanmamış gruba göre soğuk depolama boyunca daha düşük TBARS değerine sahip olduğu bulunmuştur. Bu durum kaplamaların balık yüzeyiyle temas alanını artırarak lipid oksidasyonunu önlenmesi şeklinde açıklanmıştır. Çalışmamız kapsamında incelediğimiz tavuk örneklerinde de benzer sonuçlar bulunmuş olup raf ömrü süresince kaplanmış tavukların daha düşük TBARS değeri içerdiği saptanmıştır (Ceylan vd., 2017).

Aytac vd. (2017), çalışmasında tokoferol ve siklodekstrin kompleksi içeren elektro eğirme ile elde edilmiş polilaktik asit (PLA) nanolifleri üretmiştir. Tokoferol ve tokoferol-siklodekstrin kompleksi katkılı fiberler dana eti yüzeyine uygulanarak raf ömrü boyunca TBARS aktivitesi test edilmiştir. Tokoferol ve tokoferol-siklodekstrin kompleksi katkılı fiberlerin kontrol grubuna oranla TBARS oluşumunu önemli ölçüde engellediği bulunmuştur. 21 günün sonunda kontrol grubunda $1,55 \pm 1,04$ mg MDA/kg oranında lipid oksidasyon değeri bulunmuş olup tokoferol içeren PLA kaplamada bu değer $0,78 \pm 0,45$ mg MDA/kg, tokoferol-siklodekstrin PLA kaplamada ise $0,78 \pm 0,51$ mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak nanofiberlerle paketlenen örneklerin çok daha yavaş ve az okside olduğu belirtilmiştir. Araştırmamızda incelediğimiz tavuk etlerinde de benzer şekilde kaplamalı grupların 7. günün sonunda lipid oksidasyonunu anlamlı derecede azalttığı saptanmıştır.

Bir çalışmada ön işlem görmüş balık filetolarına aktif ambalaj amacıyla elektro eğirme cihazı ile çay polifenoller katkılı doğal polisakkarit bazlı nano fiberlerin üretimi incelenmiştir. Çay polifenolü, nişasta ve pullulan kompleksine dahil edilerek elde edilen fiberlerin balık filetoları ile ambalajlanmasını sağlanmıştır. Filetoların raf ömrü boyunca lipid oksidasyonu üzerindeki koruyucu etkisine yönelik TBARS analizleri yapılmıştır. 8. günün sonunda çay polifenolü katkılı nişasta-pullulan paketlemesinin filetolarda TBARS değerini düşürdüğü saptanmıştır (Wang vd., 2025).

Cevizin raf ömrünü uzatmak ve yağların oksidasyonunu önlemek amacıyla doğal yenilebilir ve antioksidan özellikte ambalaj üretimi bir çalışma kapsamında incelenmiştir.

Gallik asit yüklü mercimek unu/polietilen nanolifleri elde edilmiş olup cevizlerin paketlenmesinde kullanılmıştır. Cevizlerin TBARS değeri analiz edilmiş ceviz örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. TBARS değerinde bir fark gözlenmemiş olsa da genel olarak yapılan diğer analizlerde gallik asidin güçlü antioksidan özelliği ile oksidasyonu azalttığı ve cevizin raf ömrünü uzatabileceği belirtilmiştir (Aydogdu vd., 2019).

Esansiyel yağlar içeren hibrit çapraz bağlı elektrospun polivinil alkol fiberleri ile biyobozunur aktif gıda ambalaj üretimi ve tavuk göğüs filetosunun korunması amacıyla kullanılmasına yönelik bir araştırma yapılmıştır. Araştırma kapsamında defne ve biberiye esansiyel yağları katkılı PVA fiberleri elektro eğirme ile üretilmiştir. Çapraz bağlayıcı olarak fiber yapısına sitrik asit ilavesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Isıl işlem sırasında esansiyel yağların bir kısmı kayba uğrasa bile, tavuk göğüs filetosuna uygulanmasının lipid oksidasyonunu %68'e kadar engellediği ve antimikrobiyal etkiyi arttırdığı saptanmıştır (Göksen vd., 2021).

Tablo 4.13. Kontrol tavuk etinin 0. gün TBARS ve renk değerleri

Gün/ Fiber Örnekleri	TBARS	L*	a*	b*
0.gün-KT	0,249 ± 0,01	60,72 ± 1,02	2,87 ± 0,45	17,15 ± 0,43

*KT: Kontrol çiğ tavuk göğüs eti

Tablo 4.14. Tavuk etlerinin farklı günlere ait TBARS değerleri

Gün/ Fiber Örnekleri	TBARS değeri (mg MDA/100g)	
	3. gün	7. gün
KT	0,698 ± 0,005 ^a	0,690 ± 0,005 ^a
%14PVA	0,452 ± 0,03 ^b	0,698 ± 0,005 ^a
%14PE-PVA	0,475 ± 0,01 ^b	0,448 ± 0,005 ^d
%21PE-PVA	0,405 ± 0,005 ^b	0,518 ± 0,01 ^c
%28PE-PVA	0,479 ± 0,04 ^b	0,604 ± 0,005 ^b

* Aynı sütundaki farklı küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$).

KT: Kontrol çiğ tavuk göğüs eti, %14 PVA: saf polivinil alkol fiberi, %14 PE-PVA: 200 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %21 PE-PVA: 300 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %28 PE-PVA: 400 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi.

4.5.4. Tavuk Etinin L*, a* ve b* Değerlerinin Belirlenmesi

PVA, %14 PE-PVA, %21 PE-PVA, %28 PE-PVA fiber örnekleri çiğ tavuk eti göğsü yüzeyini kaplanmasında kullanılmıştır. 0, 3. ve 7. günlerde bu tavuk etlerinin renk analizleri yapılarak elde edilen bulgular kaydedilmiştir. Hiç kaplama yapılmamış kontrol grubu tavuk eti de raf ömrü boyunca analiz edilmiştir. Renk analizine ait L* değeri bulguları Tablo 4.15.'de verilmiştir.

Tablo 4.15'te fiber kaplaması yapılan ve kontrol grubu tavuk etlerinin L* parlaklık değerleri verilmiştir. L* değeri 3. gün örneklerinde %14 PVA kaplı tavuk etinde en yüksek bulunmuştur. Polen ekstraktı içeren fiberle kaplı tavuk örneklerinin ise L* değerleri daha düşük bulunmuş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir. Bu durumda polen ekstraktı kaplamaların tavukların parlaklığını az bir oranda da olsa azalttığı saptanmıştır. 7. günde tavuk örneklerinin L* değeri 3. gün verilerine göre azalmıştır. Raf ömrü ile tavuk etinin parlaklığı azalmıştır. 7. günde kontrol tavuk ve %14 PVA fiber kaplı tavuk etlerinin L* değeri yüksek oranda bulunmuş olup birbirleri ile istatistiksel olarak aynı grupta yer almaktadır. Polen ekstraktı katkılı fiber kaplamalar ise tavuk etinin parlaklığını azaltmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. L* değerinin polen ekstraktı ile kaplamalarda azalmasında polen ekstraktının sarı renginin etkili olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.16'da fiber kaplaması yapılan ve kontrol grubu tavuk etlerinin a* değeri kırmızılık-yeşillik verilmiştir. 3. gün verileri incelendiğinde en yüksek a değeri %14 PE-PVA grubunda ($4,51 \pm 1,47^a$) bulunmuş olup gruplar arasında a* değerleri arasında istatistiksel anlamda bir fark gözlenmemiştir. 7. günde a* değerleri artmıştır. %14 PVA, %21 PE-PVA ve %28 PE-PVA gruplarında yüksek oranda bulunmuş olup bu değerlerin diğer gruplarla aralarındaki fark anlamlı tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.17'de fiber kaplaması yapılan ve kontrol grubu tavuk etlerinin b* değeri sarılık-mavilik verilmiştir. 3. gün verileri incelendiğinde en yüksek b* değeri %28 PE-PVA fiber kaplı tavuk eti örneğinde bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel anlamda bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). 7. günde b* değerleri kontrol, %14 PE-PVA ve %28 PE-PVA

tavuk etlerinde azalmış, %14 PVA ve %21 PE-PVA gruplarında artmış olup bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Esansiyel yağlar içeren hibrit çapraz bağlı elektrospun polivinil alkol fiberleri ile biyobozunur aktif gıda ambalaj üretimi ve tavuk göğüs filetosunun korunması amacıyla kullanılmasına yönelik bir araştırma yapılmıştır. Araştırma kapsamında defne ve biberiye esansiyel yağları katkılı PVA fiberleri elektro eğirme ile üretilmiştir. Elde edilen fiberlerle tavuk göğsü filetolarına yapılan kaplamaların depolama süreci boyunca L^* , a^* , ve b^* değerleri kaydedilmiştir. Bütün örneklerde depolama boyunca kararlı gözlenerek L^* değerinde azalma saptanmıştır. a^* değeri ambalajlanmamış örneklerde raf ömrü süresince artış göstermiştir. Buna karşın ambalajlanmış tavuk filetolarının a^* değerlerinde raf ömrü boyunca anlamlı bir azalış saptanmıştır. b^* değerinde ise en fazla ambalajsız tavuk göğsü filetolarında artış gösterdiği belirtilmiştir (Göksen vd., 2021). Bu veriler ışığında çalışmamız ile benzer şekilde uygulanan kaplama işleminin tavuk etlerinin renk özelliklerini etkilediği anlaşılmaktadır.

Tablo 4.15. Tavuk etlerinin farklı günlere ait L^* değerleri

Gün/ Fiber Örnekleri	L^* değeri	
	3. gün	7. gün
KT	60,42 ± 0,49 ^b	59,18 ± 0,42 ^a
%14PVA	62,35 ± 0,22 ^a	58,64 ± 0,59 ^a
%14PE-PVA	58,62 ± 1,22 ^{bc}	56,73 ± 0,03 ^b
%21PE-PVA	58,38 ± 0,62 ^c	52,68 ± 0,5 ^d
%28PE-PVA	60,25 ± 0,54 ^{bc}	54,09 ± 0,54 ^c

* Aynı sütundaki farklı küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$).

KT: Kontrol çiğ tavuk göğüs eti, %14 PVA: saf polivinil alkol fiberi, %14 PE-PVA: 200 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %21 PE-PVA: 300 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %28 PE-PVA: 400 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi

Tablo 4.16. Tavuk etlerinin farklı günlere ait a* değerleri

Gün/ Fiber Örnekleri	a* değeri	
	3. gün	7. gün
KT	4,24 ± 0,45 ^a	4,04 ± 0,11 ^b
%14PVA	3,55 ± 0,17 ^a	5,04 ± 0,41 ^a
%14PE-PVA	4,51 ± 1,47 ^a	4,07 ± 0,12 ^b
%21PE-PVA	3,45 ± 0,13 ^a	5,24 ± 0,12 ^a
%28PE-PVA	3,29 ± 0,13 ^a	5,53 ± 0,29 ^a

* Aynı sütundaki farklı küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$).

KT: Kontrol çiğ tavuk göğüs eti, %14 PVA: saf polivinil alkol fiberi, %14 PE-PVA: 200 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %21 PE-PVA: 300 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %28 PE-PVA: 400 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi

Tablo 4.17. Tavuk etlerinin farklı günlere ait b* değerleri

Gün/ Fiber Örnekleri	b* değeri	
	3. gün	7. gün
KT	19,25 ± 0,68 ^b	17,31 ± 1,34 ^b
%14PVA	14,70 ± 0,09 ^b	23,13 ± 0,72 ^a
%14PE-PVA	17,32 ± 3,67 ^b	16,42 ± 1,05 ^b
%21PE-PVA	16,94 ± 2,47 ^b	22,87 ± 0,52 ^a
%28PE-PVA	19,51 ± 0,72 ^b	18,40 ± 0,62 ^b

* Aynı sütundaki farklı küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$).

KT: Kontrol çiğ tavuk göğüs eti, %14 PVA: saf polivinil alkol fiberi, %14 PE-PVA: 200 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %21 PE-PVA: 300 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi, %28 PE-PVA: 400 mg/mL *Castanea sativa* arı polen ekstraktı katkılı PVA fiberi

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Arı poleninin beslenme ve tıp alanındaki büyük potansiyeli muazzamdır. Bununla birlikte, arı polenini oluşturan polen tanelerinin dış kılıfı, içeriğindeki besin maddelerinin biyoyararlanımını sınırlayabilir, bu nedenle tabakanın yapısını bozmak için yöntemler önerilmiştir. Fermentasyon, enzimatik hidroliz ve ultrasonik işlem gibi gelişmiş yöntemlerin gözden geçirilmesi, arı polenini dönüştürme, besinlerin ve fenolik bileşiklerin biyoyararlanımını artırarak ve alerjenik bileşikleri parçalayarak besinsel ve biyoaktif özelliklerini geliştirme yeteneklerini göstermektedir. Bu yöntemler ayrıca sindirilebilirliği optimize eder, protein içeriğini artırır ve daha yüksek antioksidan aktiviteyi teşvik ederek poleni daha değerli bir fonksiyonel bileşen haline getirir. Duvar tabakası zayıflamış polen, diyet takviyelerinde (ör. kapsüller, spreylere, şuruplar, tabletler, şişeler), fonksiyonel gıdalarda (ör. atıştırmalıklar, ballı karışımlar, şekerler), kozmetiklerde (ör. kremler, köpüren ürünler) ve farmasötiklerde (ör. ekstraktlar) potansiyel kullanıma sahip olabilir. Gıdalar işlenirken uygulanan bazı işlemler gıdaların biyoaktif içeriğinin azalmasına neden olabilmektedir. Enkapsülasyon prosesi, biyoaktif yapıların olumsuz durumlara karşı biyoaktivitelerinin korunmasında etkili olan yenilikçi işlemlerdir. Enkapsülasyon teknolojisinde biyoaktif madde biyopolimer ile kaplanarak kapsül içine hapsedilmektedir. Böylelikle aktif bileşenler koruyucu kaplama ile kaplanıp uygun koşullarda ve hızda salınabilmektedir. Mikro-nanoenkapsülasyon uygulamaları polifenol biyoyararlanımı ve stabilitesi için kullanılan yararlı bir teknolojidir. Mikro-nanofiberler yüksek yüzey alanı ve ayarlanabilir gözenek boyutu gibi oldukça önemli özelliklere sahiptir. Bu malzemeler ile farklı özellikte filtreleme ve paketleme materyalleri geliştirilebildiği çalışmalarda gösterilmiştir. Elektro eğirme mikro-nano fiber üretiminde kullanılabilen tekniklerden biridir.

Bu çalışmada, Türkiye’de üretilen üç adet monofloral *Castanea sativa*, *Cistus* sp., ve *Papaver* sp. arı polenleri ile çalışılmıştır. Arı poleni örneklerine farklı fizikokimyasal analizler yapılmış polen örnekleri arasındaki farklar tespit edilmiştir. Arı polenlerinin %nem, %kül, %protein, %yağ ve %yağ asidi bileşimi, element içerikleri ve renk analizleri yapılmıştır. Örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit

edilmiştir. Buradan botanik orijinin arı poleninin fizikokimyasal içeriği üzerinde önemli farklılıkları oluşturduğu söylenebilmektedir. Arı polenlerinin botanik orijin, coğrafi konum, arıcılık uygulamaları gibi parametrelere bağlı olarak değişen fizikokimyasal özellikleri düşünüldüğünde arı polenlerinin bir standardizasyonunun olması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

İkinci olarak arı poleni örnekleri *Lactobacillus rhamnosus* GG bakteri suşu ile fermente edilerek dış duvar tabakasının yapısının bozulabilirliği araştırılmış, TEM mikrograflarına göre her polenin ekzin tabakası tamamen yok olmasa da, polenin duvar tabakasında yer alan açıklıklardan polenin duvar yapısının bütünlüğünün bozulduğu belirlenmiştir. Ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü ülkemizde polen çeşitliliği çok yüksektir bu çalışmada sadece üç çeşit polen incelenmiştir.

Çalışmada, fermente olan ve fermente olmayan arı polenlerinin maserasyon ve ASE ile ekstraktları hazırlanmış, hazırlanan ekstraktların spektroskopik analizleri yapılmış olup, bu analizlere göre fermente edilmemiş ASE ile elde edilen polen ekstraktlarının TFI ve antioksidan aktivite değerleri en yüksek bulunmuştur. Fermente olan örneklerin aktivitesinin yüksek olması beklenirken, bu polen ekstraktlarının aktivitesi fermente olmayan ASE'li örneklerle göre daha düşük çıkmıştır. Bu da, fermentasyon sırasında *Laktobasillerin* ortaya çıkan faydalı maddeleri substrat olarak kullanabileceğini düşündürmektedir. Tez sonuçlarına göre, LC HR MS cihazı ile yapılan analizler sonucunda, genellikle fermente olan arı polenlerinin ASE ekstraktlarının fenolik içeriği daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma, bu alanda yapılan ilk çalışma olup, polenin biyoyararlılığını artırmak adına bu çalışmaların devam etmesi gerekmektedir.

Son olarak antioksidan aktivite yönüyle yapılan analizler sonucunda en iyi ekstrakt olarak belirlenen *Castanea sativa* arı poleninin ASE ekstraktı ile elektro eğirme yöntemiyle mikro-nanofiberler üretilmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde üretilen fiberlerin PVA polimeri ile kaplandığı ve fiberlerin ortalama çaplarının artan ekstrakt konsantrasyonu ile birlikte arttığı bulunmuştur. Ancak 600 mg/mL konsantrasyonunun fiber üretimini zorlaştırdığı ve cihazda üretim esnasında bazı zorluklarla karşılaşıldığı bulunmuştur. FTIR analizi ile *Castanea sativa* arı poleni ekstraktı, saf PVA polimeri ve diğer üretilen fiberlerin absorbans değerleri belirlenmiştir. Polen katkılı fiberlerin polen ekstraktı

spektrumu ile yakın dalga sayılarında pikler vermiş olup absorbands değeri artan polen katkısı ile artış göstermiştir. Farklı oranlardaki polen katkılı fiberlerde PVA polimer yapısı korunarak ilgili fenolik bileşiklerin yapıda yer aldığı piklere rastlanılmıştır.

Son yıllarda gıdalarda sentetik koruyucuların yerine doğal antioksidanlara olan ilgi artmaktadır. Bu antioksidan moleküllerin etkinliğinden uzun süre faydalanmak için enkapsülasyon uygulamaları yapılmaktadır. Bu amaçla *Castanea sativa* arı poleni ekstraktı ile üretilen PVA kaplı mikro-nanofiberler çiğ tavuk eti yüzeyine uygulanmış tavuk etinin raf ömrü üzerindeki etkinliği TBARS ve renk analizleri ile test edilmiştir. Sonuçta *Castanea sativa* arı poleni ekstraktı içeren fiberlerin, tavuk etinin raf ömrü boyunca lipit oksidasyonunun azaltılmasında etkili olduğu saptanmıştır. Bu çalışma arı poleni ekstraktı katkılı PVA fiberlerin gıda uygulaması yönüyle literatürde ilk olmuştur. Arı poleni etkili biyoaktivitesi ile ilerleyen yıllarda gıda uygulamalarında kullanılarak daha fazla çalışmalara konu olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Adaškevičiūtė, V., Kaškonien, V., Barčauskaitė, K., Kaškonas, P. and Maruška, A. (2022). The impact of fermentation on bee pollen polyphenolic compounds composition. *Antioxidants*, 11(4), 645.

Adaškevičiūtė, V., Kaškonienė, V., Kaškonas, P., Barčauskaitė, K., and Maruška, A. (2019). Comparison of physicochemical properties of bee pollen with other bee products. *Biomolecules*, 9(12), 819.

Afshari-Jouybari, H., and Farahnaky, A. (2011). Evaluation of photoshop software potential for food colorimetry. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 170-175.

Ahmad, R., Ahmad, N., Aljamea, A., Abuthayn, S., and Aqeel, M. (2021). Evaluation of solvent and temperature effect on green accelerated solvent extraction (ASE) and UHPLC quantification of phenolics in fresh olive fruit (*Olea europaea*). *Food Chemistry*, 342, 128248.

Alayunt, N. Ö., Karagözoglu, Y., Parlak, A. E. and Türkoglu, S. (2013). Determination of the antioxidant vitamin levels in fresh and dried bee pollens in Bingol's flora. *Asian Journal of Chemistry*, 25, 6870–6872.

Alcalá-Orozco, M., Lobo-Farfan, I., Tirado, D. F. and Mantilla-Escalante, D. C. (2024). Enhancing the nutritional and bioactive properties of bee pollen: A comprehensive review of processing techniques. *Foods*, 13(21), 3437.

Algethami, J. S., El-Wahed, A. A. A., Elashal, M. H., Ahmed, H. R., Elshafiey, E. H., Omar, E. M., ... and El-Seedi, H. R. (2022). Bee pollen: Clinical trials and patent applications. *Nutrients*, 14(14), 2858.

Alimoglu, G., Guzelmeric, E., Yuksel, P. I., Celik, C., Deniz, I. and Yesilada, E. (2021). Monofloral and polyfloral bee pollens: Comparative evaluation of their phenolics and bioactivity profiles. *Lwt-Food Science and Technology*, 142, 110973.

Almeida-Muradian, L. B., Pamplona, L. C., Coimbra, S. and Barth, O. M. (2005). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal Of Food Composition and Analysis*, 18(1), 105–111.

Anjos, O., Fernandes, R., Cardoso, S. M., Delgado, T., Farinha, N., Paula, V., ... and Carpes, S. T. (2019). Bee pollen as a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in black pudding. *Lwt-Food Science and Technology*, 111, 869-875.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Bektaşoğlu, B. and Bener, M. (2010). Cupric ion reducing antioxidant capacity assay for antioxidants in human serum and for hydroxyl radical scavengers. *Advanced Protocols In Oxidative Stress II*, 215-239.

Aschner, J. L. and Ascher, M. (2005). Nutritional aspects of manganese homeostasis, *Molecular Aspects of Medicine*, 26, 353–362.

Asmae, E. G., Nawal, E. M., Bakour, M., Lyoussi, B. (2021). Moroccan monofloral bee pollen: botanical origin, physicochemical characterization, and antioxidant activities. *Journal of Food Quality*, 2021, 1-10.

Atsalakis, E., Chinou, I., Makropoulou, M., Karabournioti, S. and Graikou, K. (2017). Evaluation of phenolic compounds in *cistus creticus* bee pollen from Greece. Antioxidant and antimicrobial properties. *Natural Product Communications*, 12(11), 1813-1816.

Aydogdu, A., Yildiz, E., Aydogdu, Y., Sumnu, G., Sahin, S., and Ayhan, Z. (2019). Enhancing oxidative stability of walnuts by using gallic acid loaded lentil flour based electrospun nanofibers as active packaging material. *Food Hydrocolloids*, 95, 245-255.

Aylanc, V., Ertosun, S., Russo-Almeida, P., Falcão, S. I. and Vilas-Boas, M. (2022). Performance of green and conventional techniques for the optimal extraction of bioactive compounds in bee pollen. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(6), 3490-3502.

Aylanc, V., Falcão, S. I., Ertosun, S. and Vilas-Boas, M. (2021). From the hive to the table: Nutrition value, digestibility and bioavailability of the dietary phytochemicals present in the bee pollen and bee bread. *Trends in Food Science and Technology*, 109(January), 464-481.

Aylanc, V., Larbi, S., Calhelha, R., Barros, L., Rezouga, F., Rodríguez-Flores, M. S., ... and Vilas-Boas, M. (2023). Evaluation of antioxidant and anticancer activity of mono- and polyfloral Moroccan bee pollen by characterizing phenolic and volatile compounds. *Molecules*, 28(2), 835.

Aytac, Z., Keskin, N. O. S., Tekinay, T., and Uyar, T. (2017). Antioxidant α -tocopherol/ γ -cyclodextrin-inclusion complex encapsulated poly (lactic acid) electrospun nanofibrous web for food packaging. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(21).

Bakour, M., Laaroussi, H., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Ousaaïd, D., Teixeira, J. A., and Lyoussi, B. (2022). Exploring the palynological, chemical, and bioactive properties of non-studied bee pollen and honey from Morocco. *Molecules*, 27(18), 5777.

Barajas, J., Cortes-rodriguez, M. I. S. A. E. L. and Rodríguez-sandoval, E. D. U. A. R. D. O. (2012). Effect of temperature on the drying process of bee pollen from two zones of Colombia. *Journal of Food Process Engineering*, 35(1), 134-148.

Bárbara, M. S., Machado, C. S., Sodré, G. D. S., Dias, L. G., Estevinho, L. M., and De Carvalho, C. A. L. (2015). Microbiological assessment, nutritional characterization and phenolic compounds of bee pollen from *Mellipona mandacai* Smith, 1983. *Molecules*, 20(7), 12525–12544.

Barta, D. G., Cornea-Cipcigan, M., Margaoan, R. and Vodnar, D. C. (2022). Biotechnological processes simulating the natural fermentation process of bee bread and therapeutic properties-An overview. *Frontiers in Nutrition*, 9, 871896.

Barth, O. M., Freitas, A. S., Oliveira, É. S., Silva, R. A., Maester, F. M., Andrella, R. R., Cardozo, G. M. (2010). Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: a proposal for technical standardization. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82, 893-902.

Başdoğan, G., Sağdıç, O., Daştan, T., Düz, G., Acar, S. (2019). Farklı bölgelerden toplanan arı polenlerinin fizikokimyasal özellikleri ve şeker profillerinin belirlenmesi. *European Journal Science and Technology*, 15, 627-631.

Ecem Bayram, N., Gercek, Y. C., Çelik, S., Mayda, N., Kostić, A. Ž., Dramićanin, A. M., and Özkök, A. (2021). Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin—Similarities and differences. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), 103004.

Borycka, K., Grabek-Lejko, D. and Kasprzyk, I. (2015). Propiedades antioxidantes y antibacterianas de productos comerciales de polen de abejas. *Journal of Apicultural Research*, 54(5), 491–502.

Bölüktepe, F. E. and Yılmaz, S. (2008). Arı ürünlerinin bilinirliği ve satın alınma sıklığı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 8(2), 53-62.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.

Campos, M. G. R., Bogdanov, S., de Almeida-Muradian, L. B., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C. and Ferreira, F. (2008). Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research*, 47(2), 154–161.

Campos, M. G. R., Frigerio, C., Lopes, J. and Bogdanov, S. (2010). What is the future of bee-pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(4), 131–144.

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A. and Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens constituent flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 742–745.

Carpes, S. T., Prado, A., Aparecida, I., Moreno, M., Mourao, G. B., Alencar, S. M. And Masson, M. L. (2008). Screening of the antioxidant potential of bee pollen produced in the southern region of Brazil. *Quimica Nova*, 31, 1660-1671.

Castiglioni S, Stefano M, Astolfi P, Pisani, M, Carloni P (2022). Characterisation of Bee Pollen from the Marche Region (Italy) According to the Botanical and Geographical Origin with Analysis of Antioxidant Activity and Colour, Using a Chemometric Approach. *Molecules*, 27(22), 7996.

Ceyhan, V., Cinemre, H. A., Yeninar, H., Demiryürek, K., Bozoğlu, M., Kılıç, O., Öztürk, A. İ., Emir, M., Canan, S., Yıldırım, Ç., ve Başer, U. (2016). *Türkiye Arıcılığının Mevcut Durumu, Sorunları ve Geleceği* (pp. 1–63). Samsun, Türkiye: Erol Ofset.

Ceylan, Z., Sengor, G. F. U. and Yilmaz, M. T. (2017). A novel approach to limit chemical deterioration of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fillets: Coating with electrospun nanofibers as characterized by molecular, thermal, and microstructural properties. *Journal of food science*, 82(5), 1163-1170.

Chen, W., Liu, Y., Song, L., Sommerfeld, M. and Hu, Q. (2020). Automated accelerated solvent extraction method for total lipid analysis of microalgae. *Algal Research*, 51, 102080.

Combs, G. F. (2013). Geological impacts on nutrition. *In Essentials of Medical Geology* (Ed. O. Selinus et al.). Dordrecht, Netherlands: Springer, p. 179–195.

Conte, P., Del Caro, A., Balestra, F., Piga, A. and Fadda, C. (2018). Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach. *LWT- Food Science and Technology*, 90, 1–7.

Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M. L. and Flores-Gallegos, A. C. (2021). Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3, 100047.

Çobanoğlu, D. N. (2024). Assessing monofloral bee pollens from Türkiye: Palynological verification, phenolic profile, and antioxidant activity. *Journal of Food Science*, 89(3), 1711–1726.

Çobanoğlu, D. N., Akyıldız, İ. E., Kızılpınar Temizer, İ., Damarlı, E. and Çelik, Ş. (2023). Phenolic compound, organic acid, mineral, and carbohydrate profiles of pine and blossom honeys. *European Food Research and Technology*, 249(6), 1503–1515.

Çobanoğlu, D. N., Felek, İ. and Dündar, O. (2021). Palynological, antioxidant and physicochemical properties of pollen loads from eastern Anatolia. *Bee Studies*, 13(2), 31–38.

Çoruhli, T., (2013). Kara Dut Antosiyaninlerinin İyonik Jelasyon Yöntemi ile Enkapsülasyonu ve Enkapsülasyon Parametrelerinin Tepki Yüzeyi Metodu ile Optimize Edilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi.

Danihlík, J., Škrabišová, M., Lenobel, R., Šebela, M., Omar, E., Petřivalský, M. and Brodschneider, R. (2018). Does the pollen diet influence the production and expression of antimicrobial peptides in individual honey bees? *Insects*, 9(3), 79.

De Florio Almeida, J., dos Reis, A. S., Heldt, L. F. S., Pereira, D., Bianchi, M., De Moura and C., Carpes, S. T. (2017). Lyophilized bee pollen extract: A natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in refrigerated sausages. *LWT-Food Science and Technology*, 76, 299–305.

- De Oliveiraa, F. A., de Abreu, A. T., de Oliveira Nascimento, N., Froes-Silva, R. E. S., Antonini, Y., Nalini, H. A. and de Lena, J. C. (2017). Evaluation of matrix effect on the determination of rare earth elements and As, Bi, Cd, Pb, Se and In in honey and pollen of native Brazilian bees (*Tetragonisca angustula* – Jataí) by Q-ICP-MS. *Talanta*, 162, 488–494.
- De Melo, A. A. M., Estevinho, L. M., Moreira, M. M., Delerue-Matos, C., de Freitas, A. da S., Barth, O. M. and de Almeida-Muradian, L. B. (2018). Phenolic profile by HPLC-MS, biological potential, and nutritional value of a promising food: Monofloral bee pollen. *Journal of Food Biochemistry*, 42(5).
- De Melo, A. A. M. and De Almeida-Muradian, L. B. (2017). Chemical composition of bee pollen. In *Bee Products: Chemical and Biological Properties* (Ed. J. M. Alvarez-Suarez). Cham, Switzerland: Springer International Publishing, p. 221–259
- Demircen, E. (2016). Elma Kabuklarından Elde Edilen Fenolik Bileşiklerin Lipozom ile Enkapsülasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi.
- Denisow, B. and Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303–4309.
- Dinu, L. D., Gatea, F., Roaming Israel, F., Lakicevic, M., Dedović, N. and Vamanu, E. (2023). The modulation effect of a fermented bee pollen postbiotic on cardiovascular microbiota and therapeutic perspectives. *Biomedicines*, 11(10), 2712.
- Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., ... and Nedović, V. (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4): 452-490.
- Dulf, F. V., Vodnar, D. C. and Socaciu, C. (2016). Effects of solid-state fermentation with two filamentous fungi on the total phenolic contents, flavonoids, antioxidant activities and lipid fractions of plum fruit (*Prunus domestica* L.) by-products. *Food Chemistry*, 209, 27–36.
- El Ghouizi, A., Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaaïd, D., El Menyiy, N., Hano, C. and Lyoussi, B. (2023). Bee Pollen as Functional Food: Insights into Its Composition and Therapeutic Properties. *Antioxidants*, 12(3), 557.
- El Kholy, W. M., Soliman, T. N. and Darwish, A. M. G. (2019). Evaluation of date palm pollen (*Phoenix dactylifera* L.) encapsulation, impact on the nutritional and functional properties of fortified yoghurt. *PLoS ONE*, 14(10).
- Estevinho, L. M., Rodrigues, S., Pereira, A. P. and Feás, X. (2012). Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(2), 429–435.
- Fanali, C., Dugo, L. and Rocco, A. (2013). Nano-liquid chromatography in nutraceutical analysis: determination of polyphenols in bee pollen. *Journal of Chromatography A*, 1313(10), 270.

Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Kačániová, M., Máriássyová, M., Rovná, K. and Stričík, M. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health*, 48(2), 133–138.

Filannino, P., Di Cagno, R., Vincentini, O., Pinto, D., Polo, A., Maialetti, F., ... and Gobbetti, M. (2021). Nutrients bioaccessibility and anti-inflammatory features of fermented bee pollen: A comprehensive investigation. *Frontiers in microbiology*, 12, 622091.

Fraga, C. G. (2005) Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26, 235–244.

Freire, K. R., Lins, A. C., Dórea, M. C., Santos, F. A., Camara, C. A. and Silva, T. M. (2012). Palynological origin, phenolic content, and antioxidant properties of honeybee-collected pollen from Bahia, Brazil. *Molecules*, 17(2), 1652–1664.

Gabriele, M., Parri, E., Felicioli, A., Sagona, S., Pozzo, L., Biondi, C., Domenici, V. And Pucci, L. (2015). Phytochemical composition and antioxidant activity of Tuscan bee pollen of different botanic origins. *Italian Journal of Food Science*, 27(2), 248–259.

Genç, F. (1993). *Arıcılığın temel esasları* (Yayın No: 149). Ankara, Türkiye: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.

Genç, F. ve Dodoloğlu, A. (2002). *Arıcılığın temel esasları* (pp. 166–338). Erzurum, Türkiye: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi.

Glušac, J. R., Stijepić, M. J., Milanović, S. D., Đurđević-Milošević, D. M. (2015). Physico-chemical properties of honeybee pollen enriched acidophilus milk and probiotic yoghurt. *Acta Periodica Technologica*, 46.

Gökmen, S., Palamutoğlu, R., Sarıçoban, C. (2012). Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 36-50.

Göksen, G., Fabra, M. J., Pérez-Cataluña, A., Ekiz, H. I., Sanchez, G., and López-Rubio, A. (2021). Biodegradable active food packaging structures based on hybrid cross-linked electrospun polyvinyl alcohol fibers containing essential oils and their application in the preservation of chicken breast fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 27, 100613.

Gönül, S. 2016. Impact of bee pollen fermentation on the profile and bioaccessibility of phenolic compounds. Master's thesis, Istanbul Technical University.

Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D. and Jouki, M. (2021). Improving bioactive properties of peach juice using Lactobacillus strains fermentation: antagonistic and anti-adhesion effects, anti-inflammatory and antioxidant properties, and Maillard reaction inhibition. *Food Chemistry*, 365, 130501.

Hegedüs, K., Fehér, C., Jalsovszky, I., Kristóf, Z., Rohonczy, J., Vass, E., ... and Hantz, P. (2021). Facile isolation and analysis of sporopollenin exine from bee pollen. *Scientific Reports*, 11(1), 1–16.

Hwang, J. E., Kim, K. T. and Paik, H. D. (2019). Improved antioxidant, anti-inflammatory, and anti-adipogenic properties of hydroponic ginseng fermented by *Leuconostoc mesenteroides* KCCM 12010P. *Molecules*, 24(18).

Ismail, A. M., Owayss, A. A., Mhanny, K. M. and Salem, R. A. (2013). Evaluation of pollen collected by honey bee, *Apis mellifera* L. colonies at Fayoum Governorate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 12, 129–135.

Izuta, H., Narahara, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., Kondo, S. and Hara, H. (2009). 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity of bee products and their constituents determined by ESR. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 32(12), 1947–1951.

İpek, H. (2003). Molibden. *Yüziüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(1), 73–76.

Jin, T. Y., Saravanakumar, K. and Wang, M. H. (2018). *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of water and methanol extracts of linden bee pollen. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 186–189.

Kačániová, M., Vukovic, N., Chlebo, R., Hascik, P., Rovna, K., Cubon, J., ... and Pasternakiewicz, A. (2012). The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia. *Archives of Biological Sciences*, 64(3), 927–934.

Kanar, Y. and Mazi, B. G. (2019). Effect of different drying methods on antioxidant characteristics of bee-pollen. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 3376–3386.

Kanmaz, E. Ö. and Saral, Ö. (2017). The effect of extraction parameters on antioxidant activity of subcritical water extracts obtained from mandarin peel. *Gıda / The Journal of Food*, 42(4), 405–412.

Karasakal, A. (2012). Çevre Örneklerinde Ultraeser Arsenik Ve Selenyumun Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri ile Tayini, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi.

Karkar, B., Şahin, S. and Güneş, M. E. (2021). Evaluation of antioxidant properties and determination of phenolic and carotenoid profiles of chestnut bee pollen collected from Turkey. *Journal of Apicultural Research*, 60(5), 765–774.

Kaškonienė, V., Adaškevičiūtė, V., Kaškonas, P., Mickienė, R. and Maruška, A. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of natural and fermented bee pollen. *Food Bioscience*, 34, 100532.

Kaškonienė, V., Kaškonas, P. and Maruška, A. (2015). Volatile compounds composition and antioxidant activity of bee pollen collected in Lithuania. *Chemical Papers*, 69(2), 291–299.

Kaškonienė, V., Katilevičiūtė, A. and Kaškonas, P. and Maruška, A. (2018). The impact of solid-state fermentation on bee pollen phenolic compounds and radical scavenging capacity. *Chemical Papers*, 72(8), 2115–2120.

Khalifa, S. A. M., Elashal, M. H., Yosri, N., Du, M., Musharraf, S. G., Nahar, L. and El-Seedi, H. R. (2021). Bee pollen: Current status and therapeutic potential. *Nutrients*, 13(6), 1876.

Khalil, F. A. and Nora, E. (2010). The effects of dietary Egyptian propolis and bee pollen supplementation against toxicity of sodium fluoride in rats. *Journal of American Science*, 6(11), 310–316.

Kıran, İ. (2018). B12 Vitamin Eksikliği Anemisi Hastalarında İz Element Mineral ve Bazı Biyokimyasal Parametre Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi.

Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błażej, S., Chlebowska-Śmigiel, A. and Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 170–180.

Kim, S. B., Jo, Y. H., Liu, Q., Ahn, J. H., Hong, I. P., Han, S. M., ... and Lee, M. K. (2015). Optimization of extraction condition of bee pollen using response surface methodology: Correlation between anti-melanogenesis, antioxidant activity, and phenolic content. *Molecules*, 20(11), 19764–19774.

Kostic, A. Z., Barac, M. B., Stanojevic, S. P., Milojkovic-Opsenica, D. M., Tesic, Z. L., Sikoparija, B., Radisic, P., Prentovic, M. and Pesic, M. B. (2015). Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 301–309.

Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Gašić, U. M., Nedić, N., Stanojević, S. P., Tešić, Ž. L. and Pešić, M. B. (2019). Polyphenolic profile and antioxidant properties of bee-collected pollen from sunflower (*Helianthus annuus* L.) plant. *LWT*, 112: 1–7.

Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Barac, M. B., Shariati, M. A., Tešić, Ž. L. and Pešić, M. B. (2020). The application of pollen as a functional food and feed ingredient. *Biomolecules*, 10, 84.

Kostić, A., Milinčić, D. D., Špirović Trifunović, B., Nedić, N., Gašić, U. M., Tešić, Ž. L., ... and Pešić, M. B. (2023). Monofloral corn poppy bee-collected pollen—A detailed insight into its phytochemical composition and antioxidant properties. *Antioxidants*, 12(7), 1424.

Krystijan, M., Gumul, D., Ziobro, R. and Korus A. (2015). The fortification of biscuits with bee pollen and its effect on physicochemical and antioxidant properties in biscuits. *LWT – Food Science and Technology*, 63, 640–646.

Lauberts, M. and Pals, M. (2021). Antioxidant activity of different extracts from black alder (*Alnus glutinosa*) bark with greener extraction alternative. *Plants*, 10(11), 2531.

- Lawag, I. L., Yoo, O., Lim, L. Y., Hammer, K. and Locher, C. (2021). Optimisation of bee pollen extraction to maximise extractable antioxidant constituents. *Antioxidants*, 10(7), 1113.
- Leblanc, B. W., Davis, O. K., Boue, S., Delucca, A. and Deeby, T. (2009). Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115(4), 1299–1305.
- Li, Q. Q., Wang, K., Marcucci, M. C., Sawaya, A. C. H., Hu, L., Xue, X. F., Wu, L. M. and Hu, F. L. (2018). Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. *Journal of Functional Foods*, 49, 472–484.
- Li, Q., Liang, X., Zhao, L., Zhang, Z., Xue, X., Wang, K. and Wu, L. (2017). UPLC-Q-Exactive Orbitrap/MS-based lipidomics approach to characterize lipid extracts from bee pollen and their in vitro anti-inflammatory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 6848–6860.
- Li, Y., Qi, Y., Ritho, J., Zhang, Y., Zheng, X., Zhou, J. and Sun, L. (2015). Characterization of flavonoid glycosides from rapeseed bee pollen using a combination of chromatography, spectrometry and nuclear magnetic resonance with a step-wise separation strategy. *Natural Product Research*, 30(2), 228–231.
- Lopes, A. J. O., Vasconcelos, C. C., Garcia, J. B. S., Dória Pinheiro, M. S., Pereira, F. A. N., Camelo, D. de S., ... and do Socorro de Sousa Cartágenes, M. (2020). Anti-inflammatory and antioxidant activity of pollen extract collected by *Scaptotrigona affinis postica*: In silico, in vitro, and in vivo studies. *Antioxidants*, 9(2), Article 104.
- Mărghitaș, L. A., Stanciu, O. G., Dezmirean, D. S., Bobiș, O., Popescu, O., Bogdanov, S. and Campos, M. G. (2009). In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chemistry*, 115(3), 878–883.
- Marrazzo, P., Mandrone, M., Chiocchio, I., Zambonin, L., Barbalace, M. C., Zalambani, C., ... and Hrelia, S. (2023). By-product extracts from *Castanea sativa* counteract hallmarks of neuroinflammation in a microglial model. *Antioxidants*, 12(4), 808.
- Maruyama, H., Sakamoto, T., Araki, Y. and Hara, H. (2010). Anti-inflammatory effect of bee pollen ethanol extract from *Cistus* sp. of Spanish on carrageenan-induced rat hind paw edema. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(1), 1–11.
- Mayda, N. (2019). Arı Poleni ve Arı Ekmeğinin Palinolojik, Kimyasal ve Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Mcistusova, R., Aleksieva, K., Solakov, N. and Loginovska, K. (2022). Effects of gamma irradiation on free radical components, phenolic content and antioxidant activity of beebread. *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences*, 75(5), 672–679.
- Mehri, A. (2020). Trace elements in human nutrition (II) – An update. *International Journal of Preventive Medicine*, 11(2), 1–17.

- Mehri, A. and Marjan, R. F. (2013). Trace elements in human nutrition: A review. *International Journal of Medical Investigation*, 2(3), 115–128.
- Mele, E. (2023). Electrospinning of honey and propolis for wound care. *Biotechnology and Bioengineering*, 120(5), 1223–1239.
- Melo, I. L. P. D. and Almeida-Muradian, L. B. D. (2011). Comparison of methodologies for moisture determination on dried bee pollen samples. *Food Science and Technology*, 31, 194–197.
- Melo, I. L. P. and Almeida-Muradian, L. B. (2010). Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples. *Química Nova*, 33, 514–518.
- Mete, D., Şahin, A. A., Hamzaoglu, E. and Pınar, N. M. (2021). Pollen morphology applied to species delimitation of Turkish *Dianthus* L. (*Caryophyllaceae*). *Palynology*, 45(4), 599–625.
- Mierziak, J., Kostyn, K. and Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19(10), 16240–16265.
- Milek, M., Mołoń, M., Kula-Maximenko, M., Sidor, E., Zagula, G. and Dżugan, M. (2023). Chemical composition and bioactivity of laboratory-fermented bee pollen in comparison with natural bee bread. *Biomolecules*, 13(7), Article 1071.
- Mohdaly, A. A. A., Mahmoud, A. A., Roby, M. H. H., Smetanska, I. and Ramadan, M. F. (2015). Phenolic extract from propolis and bee pollen: Composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Biochemistry*, 39(5), 538–547.
- Moita, E., Gil-Izquierdo, A., Sousa, C., Ferreres, F., Silva, L. R., Valentão, P., ... and Andrade, P. B. (2013). Integrated analysis of COX-2 and iNOS derived inflammatory mediators in LPS-stimulated RAW macrophages pre-exposed to *Echium plantagineum* L. bee pollen extract. *PLoS ONE*, 8(3), e59131.
- Mokhnache, M., Belhadj, H., Alien, A. M. B., Douadi, N. and Harzallah, D. (2025). Physicochemical, phytochemical, and microbiological analyses of some Algerian bee-collected pollen samples. *Acta Periodica Technologica*, 15–15.
- Mora-Adames, W. I., Fuenmayor, C. A., Benavides-Martín, M. A., Algecira-Enciso, N. A. and Quicazán, M. C. (2021). Bee pollen as a novel substrate in pilot-scale probiotic-mediated lactic fermentation processes. *LWT-Food Science and Technology*, 141, 110868.
- Moradkhannejhad, L., Abdouss, M., Nikfarjam, N., Mazinani, S. and Heydari, V. (2018). Electrospinning of zein/propolis nanofibers; antimicrobial properties and morphology investigation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 29, 1–10.
- Muturi, M. N. K., Bargul, J. L. and Lattorff, H. M. G. (2022). Influence of the type of pollen diet on the survival, body weight, and immune response in the African honeybee. *Journal of Apicultural Science*, 66(1), 29–43.

- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815.
- Negrão, A. F., Barreto, L. M. and Orsi, R. O. (2014). Influence of the collection season on production, size, and chemical composition of bee pollen produced by *Apis mellifera* L. *Journal of Apicultural Science*, 58(2), 5–10.
- Negrão, A. F. and Orsi, R. O. (2018). Harvesting season and botanical origin interferes in production and nutritional composition of bee pollen. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90, 325–332.
- Nicolson, S. W. (2011). Bee food: The chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two. *African Zoology*, 46(2), 197–204.
- Oroian, M., Dranca, F. and Ursachi, F. (2022). Characterization of Romanian bee pollen—An important nutritional source. *Foods*, 11(17), 2633.
- Pakolpakçıl, A. and Draczyński, Z. (2021). Green approach to develop bee pollen-loaded alginate based nanofibrous mat. *Preprints*, Article 202105.
- Parlakay, O., Yılmaz, H., Yaşar, B., Seçer, A. and Bahadır, B. (2008). Türkiye’de arıcılık faaliyetinin mevcut durumu ve trend analizi yöntemiyle geleceğe yönelik beklentiler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 17–24.
- Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X. and Estevinho, L. M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 233–239.
- Poyraz, F., Yalmançı, D., İspirli, H. and Dertli, E. (2023). Characterization of bee bread produced with defined starter cultures mimicking the natural fermentation process. *Fermentation*, 9(2), 174.
- Prđun, S., Svečnjak, L., Valentić, M., Marijanović, Z. and Jerković, I. (2021). Characterization of bee pollen: Physico-chemical properties, headspace composition and FTIR spectral profiles. *Foods*, 10(9), 2103.
- Qu, Z. and Meredith, J. C. (2018). The atypically high modulus of pollen exine. *Journal of The Royal Society Interface*, 15(146), Article 20180108.
- Quadros, E. V., Nakayama, Y. and Sequeira, J. M. (2005). The binding properties of the human receptor for cellular uptake of vitamin B12. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 327, 1006–1010.
- Rajs, B. B., Primorac, L., Gal, K., Bubalo, D., Prđun, S. and Flanjak, I. (2022). Influence of botanical origin on phenolic content and antioxidant capacity of monofloral bee pollen. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 21(2), 213–222.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Rebiai, A. and Lanez, T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of *Apis mellifera* bee pollen from northwest Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Science*, 4(2), 155–163.
- Rocchetti, G., Castiglioni, S., Maldarizzi, G., Carloni, P. and Lucini, L. (2019). UHPLC-ESI-QTOF-MS phenolic profiling and antioxidant capacity of bee pollen from different botanical origin. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(2), 335–346.
- Rodríguez-Flores, M. S., Escuredo, O., Seijo, M. C., Rojo, S., Vilas-Boas, M. and Falcão, S. I. (2023). Phenolic profile of castanea bee pollen from the Northwest of the Iberian Peninsula. *Separations*, 10(4), 270.
- Rodriguez-Gonzalez, I., Ortega-Toro, R. and Diaz, C. (2018). Influence of microwave- and ultrasound-assisted extraction on bioactive compounds from pollen. *Contemporary Engineering Sciences*, 11(34), 1669–1676.
- Russo, L. and Danforth, B. (2017). Pollen preferences among the bee species visiting apple (*Malus pumila*) in New York. *Apidologie*, 48(6), 806–820.
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabała-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A. and Buszman, E. (2015). Polyphenols from bee pollen: Structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules*, 20, 21732–21749.
- Sancak, K., Sancak, A. Z. ve Aygören, E. (2013). Dünya ve Türkiye’de arıcılık. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 5(10), 7–14.
- Šarić, A., Balog, T., Sobočanec, S., Kušić, B., Šverko, V., Rusak, G. and Reali, D. (2009). Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus* L. rich bee pollen. *Food & Chemical Toxicology*, 47(3), 547.
- Semerci, A. (2017). Türkiye arıcılığının genel durumu ve geleceğe yönelik beklentiler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 107–118.
- Silici, S. (2015). Arı poleni ve arı ekmeği. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 14(2), 99–105.
- Silva, T. M. S., Camara, C. A., Da Silva Lins, A. C., Maria Barbosa-Filho, J., Da Silva, E. M. S., Freitas, B. M. and De Assis Ribeiro Dos Santos, F. (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 507–511.
- Simpson, K. L. (1983). Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proceedings of the Nutrition Society*, 42, 7–17.

Skalnaya, G. M. and Skalny, A. V. (2018). *Essential trace elements in human health: A physician's view*. Tomsk, Russia: Publishing House of Tomsk State University.

Skalny, A. V. (2011). Bioelementology as an interdisciplinary integrative approach in life sciences: Terminology, classification, perspectives. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25, S3–S10.

Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.

Spulber, R., Doğaroğlu, M., Băbeanu, N. and Popa, O. (2018). Physicochemical characteristics of fresh bee pollen from different botanical origins. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(1), 13357–13365.

Straumite, E., Bartule, M., Valdovska, A., Kruma, Z. and Galoburda, R. (2022). Physical and microbiological characteristics and antioxidant activity of honey bee pollen. *Applied Sciences*, 12(6), 3039.

Şahin, S. and Karkar, B. (2019). The antioxidant properties of the chestnut bee pollen extract and its preventive action against oxidatively induced damage in DNA bases. *Journal of Food Biochemistry*, 43(7), e12888.

Tainsh, F., Woodmansey, S. R., Austin, A. J., Bagnall, T. E. and Gilbert, J. D. J. (2021). Sporopollenin as a dilution agent in artificial diets for solitary bees. *Apidologie*, 52(1), 101–112.

Tang, Y., Zhang, Y., Rosenberg, J. N., Sharif, N., Betenbaugh, M. J. and Wang, F. (2016). Efficient lipid extraction and quantification of fatty acids from algal biomass using accelerated solvent extraction (ASE). *RSC Advances*, 6(35), 29127–29134.

Thakur, M. and Nanda, V. (2018). Assessment of physico-chemical properties, fatty acid, amino acid and mineral profile of bee pollen from India with a multivariate perspective. *Journal of Food & Nutrition Research*, 57(4), 328–340.

Thakur, M. and Nanda, V. (2019). Process optimization of polyphenol-rich milk powder using bee pollen based on physico-chemical and functional properties. *Journal of Food Process Engineering*. 42(6), Article e13148.

Thakur, M. and Nanda, V. (2020). Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 82–106.

Thakur, M. and Nanda, V. (2020). Exploring the physical, functional, thermal, and textural properties of bee pollen from different botanical origins of India. *Journal of Food Process Engineering*, 43(1), 1–14.

Thakur, M. and Nanda, V. (2021). Screening of Indian bee pollen based on antioxidant properties and polyphenolic composition using UHPLC-DAD-MS/MS: A multivariate analysis and ANN based approach. *Food Research International*, 140, 110041.

Tomás-Lorente, F., Garcia-Grau, M. M., Nieto, J. L. and Tomás-Barberán, F. A. (1992). Flavonoids from *Cistus ladanifer* bee pollen. *Phytochemistry*, 31(6), 2027–2029.

TÜİK 2025, Merkezi dağıtım sistemi-hayvancılık verileri. Erişim tarihi: 01.07.2025 <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>

Tuoheti, T., Gao, Q., Yan, Q., Xu, L. and Dong, M. S. (2024). Enhanced antioxidant activities, polyphenols, flavonoids, and free amino acid contents of *Nelumbo nucifera* bee pollen via high hydrostatic pressure treatment. *CyTA-Journal of Food*, 22(1).

Tutun, H., Aluç, Y., Kahraman, H. A., Sevin, S., Yipel, M. and Ekici, H. (2022). The content and health risk assessment of selected elements in bee pollen and propolis from Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 105, 104234.

Ulusoy, E. (2010). Anzer balının ve polenin yüksek sıvı kromatografisi ile fenolik bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan özellikleri, Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi.

Ulusoy, S. and Kolaylı, S. (2014). Phenolic composition and antioxidant properties of Anzer bee pollen. *Journal of Food Biochemistry*, 38(1), 49–56.

Urcan, A. C., Criste, A. D., Dezmirean, D. S., Bobiş, O., Bonta, V., Burtescu, R. F., ... and Mărgăoan, R. (2024). Enhancing antioxidant and antimicrobial activities in bee-collected pollen through solid-state fermentation: A comparative analysis of bioactive compounds. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 13(3).

Urcan, A. C., Mărghitaş, L. A., Dezmirean, D. S., Bobiş, O., Bonta, V., Mureşan, C. I. and Mărgăoan, R. (2017). Chemical composition and biological activities of beebread – review. *Animal Science and Biotechnologies*, 74(1), 6.

Uţoiu, E., Matei, F., Toma, A., Diguţă, C. F., Ştefan, L. M., Mănoiu, S., ... and Oancea, F. (2018). Bee collected pollen with enhanced health benefits, produced by fermentation with a Kombucha Consortium. *Nutrients*, 10(10), 1365.

Végh, R., Sipiczki, G. and Csóka, M. (2023). Investigating the antioxidant and color properties of bee pollens of various plant sources. *Chemistry & Biodiversity*, 20(7), e202300126.

Wan Omar, W. A., Yahaya, N., Ghaffar, Z. A. and Fadzilah, N. H. (2018). GC-MS analysis of chemical constituents in ethanolic bee pollen extracts from three species of Malaysian stingless bee. *Journal of Apicultural Science*, 62(2), 275–284.

Wang, J., Si, Y., Liu, Y., Zhang, X., Xu, J., Xu, H., ... and Li, S. (2025). Loading of tea polyphenols into electrospun starch-based nanofibrous films for active package of pre-processed fish fillets. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145370.

Wang, R., & Dobritsa, A. A. (2018). Exine and aperture patterns on the pollen surface: Their formation and roles in plant reproduction. *Annual Plant Reviews*, 1, 1–40.

Wang, Y., He, J., Zou, L., Wang, H., Wang, C. and Li, Y. V. (2024). Effect of the solid content of spinning solutions on the structure properties of large-diameter polyvinyl alcohol fiber. *Journal of Polymer Research*, 31(2), 55.

Xiong, Z., Sun, D. W., Pu, H., Xie, A., Han, Z. and Luo, M. (2015). Non-destructive prediction of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value for freshness evaluation of chicken meat using hyperspectral imaging. *Food Chemistry*, 179, 175–181.

Xue, X., Zhao, J., Chen, L., Zhou, J., Yue, B., Li, Y., ... and Liu, F. (2012). Analysis of coenzyme Q10 in bee pollen using online cleanup by accelerated solvent extraction and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 133(2), 573–578.

Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J. and Sun, P. (2013). Characterization of chemical composition of bee pollen in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(3), 708–718.

Yang, Y., Zhang, J., Zhou, Q., Wang, L., Huang, W. and Wang, R. (2019). Effect of ultrasonic and ball-milling treatment on cell wall, nutrients, and antioxidant capacity of rose (*Rosa rugosa*) bee pollen, and identification of bioactive components. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(12), 5350–5357.

Yerlikaya, O. (2014). Effect of bee pollen supplement on antimicrobial, chemical, rheological, sensorial properties and probiotic viability of fermented milk beverages. *Mljekarstvo*, 64, 268–279.

Yıldız, O. (2011). Bir Gıda Maddesi Olarak Kestane Poleninin Kimyasal Bileşimi, Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rolü, Doktora tezi, Karadeniz teknik üniversitesi.

Yıldız, O., Can, Z., Saral, Ö., Yuluğ, E., Öztürk, F., Aliyazıcıoğlu, R. and Kolaylı, S. (2013). Hepatoprotective potential of chestnut bee pollen on carbon tetrachloride-induced hepatic damages in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–9.

Yılmaz, T. (2015). E vitamininin elektrodöndürme yöntemiyle enkapsülasyonu ve elektrodöndürmeyi etkileyen parametrelerin incelenmesi nanoliflerin karakterizasyonu *Yüksek Lisans Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.

Yin, S., Li, Q. Q., Tao, Y., Zhou, E., Wang, K., Chen, W. and Wu, L. M. (2024). Allergen degradation of bee pollen by lactic acid bacteria fermentation and its alleviatory effects on allergic reactions in BALB/c mice. *Food Science and Human Wellness*, 13(1), 349–359.

Zanella, H. G., Rossin, A. R. S., Hardt, J. C., Rosenberger, A. G., Wiggers, J. C., Caetano, J. and Dragunski, D. C. (2021). Electrospinning PBAT (poly(butylene adipate co terephthalate))/PCL (poly(ϵ caprolactone)) blend containing propolis for the preparation of a smart wound dressing. *Química Nova*, 44(10), 1245–1251.

Zelca, Z., Merijs-Meri, R., Krumme, A. and Bernava, A. (2023). Electrospun fibrous materials with propolis extracts for edible food packagings. *Molecules*, 28(14), 5497.

Zengin, G., Cvetanović, A., Gašić, U., Tešić, Ž., Stupar, A., Bulut, G., ... and Mahomoodally, M. F. (2020). A comparative exploration of the phytochemical profiles and bio-pharmaceutical potential of *Helichrysum stoechas* subsp. *barrelieri* extracts obtained via five extraction techniques. *Process Biochemistry*, 91, 113-125.

Zeytuncu, B., Akman, S., Yucel, O. and Kahraman, M. (2014). Preparation and characterization of UV-cured hybrid polyvinyl alcohol nanofiber membranes by electrospinning. *Materials Research*, 17, 565–569.

Zhang, H., Liu, R. and Lu, Q. (2020). Separation and characterization of phenolamines and flavonoids from rape bee pollen, and comparison of their antioxidant activities and protective effects against oxidative stress. *Molecules*, 25(6), 1264.

Zhang, H., Lu, Q. and Liu, R. (2022). Widely targeted metabolomics analysis reveals the effect of fermentation on the chemical composition of bee pollen. *Food Chemistry*, 375, 131908.

Zheng, H., Sun, Y., Zeng, Y., Zheng, T., Jia, F., Xu, P., ... and Yang, Y. (2023). Effects of four extraction methods on structure and in vitro fermentation characteristics of soluble dietary fiber from rape bee pollen. *Molecules*, 28(12), 4800.

Zhu, X., Das, R. S., Bhavya, M. L., Garcia-Vaquero, M. and Tiwari, B. K. (2024). Acoustic cavitation for agri-food applications: Mechanism of action, design of new systems, challenges and strategies for scale-up. *Ultrasonics Sonochemistry*, 105, 106850.

Zuluaga-Dominguez, C. M. and Quicazan, M. (2019). Effect of fermentation on structural characteristics and bioactive compounds of bee-pollen based food. *Journal of apicultural science*, 63(2), 209-222.

Zuluaga-Domínguez, C., Castro-Mercado, L. and Cecilia Quicazán, M. (2019). Effect of enzymatic hydrolysis on structural characteristics and bioactive composition of bee-pollen. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(7), e13983.

Zuluaga-Domínguez, C., Serrato-Bermudez, J. and Quicazán, M. (2018). Influence of drying-related operations on microbiological, structural and physicochemical aspects for processing of bee-pollen. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, 11(2), 57-64.