



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/pub/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Kars (Türkiye) Polifloral Arı Poleninin Botanik Kökeni, Antibakteriyel ve Antioksidan Özellikleri: Analitik Bir Çalışma

Neslihan MUTLU¹, Gül Esmâ AKDOĞAN KARADAĞ^{*2}, Salih AKPINAR¹

¹Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 36100, Kars, Türkiye

²Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 36100, Kars, Türkiye
Neslihan MUTLU, [ORCID No: 0000-0002-1339-3267](https://orcid.org/0000-0002-1339-3267), Gül Esmâ AKDOĞAN KARADAĞ, [ORCID No: 0000-0001-7959-2130](https://orcid.org/0000-0001-7959-2130), Salih AKPINAR, [ORCID No: 0000-0003-2435-7373](https://orcid.org/0000-0003-2435-7373)

*Sorumlu yazar e-posta: gulesmaakdogan@kafkas.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 04.04.2024
Kabul: 27.09.2024
Online Aralık 2024

DOI: [10.53433/yyufbed.1465191](https://doi.org/10.53433/yyufbed.1465191)

Anahtar Kelimeler

Antibakteriyel aktivite,
Antioksidan aktivite,
Arı poleni,
GC/MS,
Yağ asidi

Öz: Bu çalışmanın amacı, Türkiye'nin kuzey-doğusunda yer alan Kars'ta bulunan polifloral arı poleninın otanik kökeni, antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin yanı sıra toplam fenolik içeriği ve toplam flavonoid içeriğini araştırmaktır. Polenin, Cistaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Papaveraceae, Asteraceae, Polygonaceae, Rosaceae, Lamiaceae ve Plantaginaceae dahil olmak üzere on takson içerdiği bulundu. Test edilen mikroorganizmalara karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri 2.5 ile 5 mg/mL arasında değişmektedir. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesinde Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmış ve bu miktarın 23.65 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olduğu belirlenmiştir. Arı poleni etanolik ekstraktındaki toplam flavonoid içerik değeri 14.56 mg kuersetin eşdeğeri (QE)/g olarak belirlenmiştir. Arı poleni etanolik ekstraktının antioksidan kapasitesi, 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), bakır iyon azaltıcı antioksidan kapasitesi (CUPRAC) ve 2,2'-Azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiş, sırasıyla 16.18 mg Trolox eşdeğeri (TE)/g, 54. mg TE/g ve 91.9 mg TE/g sonuçları elde edilmiştir. Yağ asidi bileşimleri, gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) kullanılarak belirlenmiştir. Baskın yağ asidinin α -linolenik asit (%20.46) olduğu, bunu sırasıyla linoleik asit (%16.68), palmitik asit (%12.94) ve araşidonik asitin (%9.65) takip ettiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada, Kars'tan temin edilen polifloral arı poleninın botanik çeşitliliği, antibakteriyel ve antioksidan özellikleri ile kimyasal içeriği hakkında kapsamlı bir değerlendirme sunmaktadır.

Botanical Origin, Antibacterial, and Antioxidant Properties of Polyfloral Bee Pollen from Kars (Türkiye): An Analytical Study

Article Info

Received: 04.04.2024
Accepted: 27.09.2024
Online December 2024

DOI: [10.53433/yyufbed.1465191](https://doi.org/10.53433/yyufbed.1465191)

Keywords

Antibacterial activity,
Antioxidant activity,
Bee pollen,
Fatty acid,
GC/MS

Abstract: The aim of the present study is to investigate the botanical origin, antibacterial and antioxidant activities, as well as the total phenolic content and total flavonoid content of polyfloral bee pollen from Kars in the north-eastern region of Türkiye. The pollen load was found to contain ten taxa, including Cistaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Papaveraceae, Asteraceae, Polygonaceae, Rosaceae, Lamiaceae, and Plantaginaceae. The minimal inhibitory concentration (MIC) values against tested microorganisms ranged from 2.5 to 5 mg mL⁻¹. The Folin-Ciocalteu method was used to determine the total phenolic content, which was found to be 23.65 mg gallic acid equivalent (GAE) g⁻¹. The TFC value in the bee pollen ethanolic extract was determined to be 14.56 mg quercetin equivalent (QE) g⁻¹. The antioxidant capacity of the bee pollen ethanolic extract was evaluated using the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC), and 2,2'-Azino-bis-3-

ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) methods, which yielded results of 16.18 mg Trolox equivalent (TE) g⁻¹, 54.23 mg TE g⁻¹, and 91.9 mg TE g⁻¹, respectively. The fatty acid compositions were identified using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). The predominant fatty acid was found to be α -linolenic acid (20.46 %), followed sequentially by linoleic acid (16.68 %), palmitic acid (12.94 %), and arachidonic acid (9.65 %). This study provides a comprehensive assessment of the botanical diversity, antibacterial and antioxidant properties, and chemical composition of polyfloral bee pollen from Kars.

1. Giriş

Çiçek poleni olarak da bilinen arı poleni, besleyici, iyileştirici ve tedavi edici özelliklere sahip, kompleks bir bitkisel arı ürünüdür (Mischenko ve ark., 2020). Proteinler, karbonhidratlar, lipitler, fenolik bileşikler, biyoelementler ve vitaminler gibi değerli biyoaktif maddeler içerir (Mosić ve ark., 2023). Güçlü antioksidan aktiviteye sahip olan arı polenin, antibakteriyel, antifungal ve antitümör gibi çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği rapor edilmiştir (Keskin & Özkök, 2020).

Coğrafi konum ve botanik köken, arı polenin kimyasal bileşimini belirlemede kritik bir rol oynar. Farklı bölgelerdeki bitki türleri ve arıların tercih ettiği çiçekler, polenin fitokimyasal profilini etkiler. Rajs ve ark. (2022) çalışması, fenolik içerik ve antioksidan kapasitenin bitki türlerine ve coğrafi konuma bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Ayrıca, işleme teknikleri ve saklama koşulları da polenin besleyici ve biyoaktif bileşenlerini etkileyebilir. Prđun ve ark. (2021) araştırması, bu faktörlerin polenin kalitesini korumada ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır. Yine Aličić ve ark. (2020), yaptıkları çalışma ile floristik kompozisyonun, coğrafi bölgenin, arı türlerinin, hazırlama koşullarının ve depolama süresinin arı polenin kimyasal bileşimi ve biyoaktif özellikleri üzerindeki etkisini vurgulamışlardır. El Ghouzi ve ark. (2023) ise, arı poleninde bulunan besleyici elementlerin ve biyoaktif mikro besinlerin, onun çeşitli kompozisyonunu ve tedavi edici özelliklerini nasıl belirlediğine dikkat çekmişlerdir.

Kars ili Türkiye'nin kuzeydoğusunda yer alan, 1500-2000 metre rakımlı, uzun kış mevsimi ve kısa, yağışlı yaz mevsimi olan bir bölgedir. Türkiye'nin bal üretiminin %0.8'ini karşılayan Kars balı (Ozenirler ve ark., 2018), 2018 yılında Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından coğrafi işaret olarak tescillenmiştir (Türk Patent ve Marka Kurumu, 2018). Ancak yapılan literatür taraması doğrultusunda, Kars arı polenin kimyasal içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile palinolojik özelliklerinin birlikte değerlendirildiği detaylı bir çalışma yapılmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, Kars bölgesinden elde edilen bir arı poleni örneğinin kimyasal bileşimi, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal etkilerini analitik yöntemlerle ayrıntılı olarak inceleyerek, bu bölgedeki polenin potansiyel biyolojik özelliklerini belirlemek ve ileride yapılacak kapsamlı çalışmalara bir referans noktası oluşturmaktır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Arı poleni örneği

Arı poleni örneği, Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinde yer alan Kars'ın Arpaçay ilçesinden (40°50'54"K 43°19'54"D) 2020 yılının ağustos ayında bal üreticisinden temin edilip analizler başlayana kadar -20 °C'de saklanmıştır.

2.2. Arı polenin botanik kökeni

Arı poleni örneklerinin çiçek kaynağı, Barth ve arkadaşları ile Wodehouse'un yönteminin modifiye edilmesiyle mikroskopik analiz yoluyla tanımlanmıştır (Wodehouse, 1936; Barth ve ark., 2010). Öğütülmüş arı poleni örneğinden 2 gram alınarak, 13 mL %70 etanol ile 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 10 dakika vortekslenmiş ve ardından 3500 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan sıvı dökülmüş, altta kalan tortu ise bazik fuksinli gliserin jelatin boyası ile karıştırılmıştır. Bu karışım lam üzerine alınarak polen preparatı hazırlanmıştır. Hazırlanan preparat,

Leica DM500 ışık mikroskobu altında 400X büyütmede incelenmiştir. Toplam 1000 polen tanesi sayılarak, polen taksonları ve bu taksonların yüzdeleri hesaplanmıştır. Polen tanelerinin sıklığı, dominant (>45), sekonder (%15-45), minor (%3-15) ve eser polen (%1-3) olmak üzere dört kategoriye ayrılmıştır (Özkök ve ark., 2021). Polen fotoğrafları, 400X büyütmede Bestscope (BLM-280) mikroskobu kullanılarak çekilmiş ve Şekil 1'de gösterilmiştir.

2.3. Arı poleni ekstraktı

Ultrasonik ekstraksiyon işlemi, Zhou ve ark. (2015) yönteminde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, arı poleni numuneleri ev tipi bir öğütücü ile toz haline getirilmiştir. Ardından, 1.5 gramlık numune tartılarak 100 mL %95 etanol (Sigma-Aldrich, ABD) içinde, 40 °C'de ve 60 dakika boyunca ultrasonik banyo (Bandelin Electronic RK 255H, Almanya) kullanılarak çözündürülmüştür. Elde edilen karışım, 3500 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatant toplanmıştır. Bu ekstraksiyon işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Toplanan süpernatant, 0.22 µm'lik bir membran filtreden süzülerek -20 °C'de stok çözelti olarak saklanmıştır.

2.4. Toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid içerik

Toplam fenolik içerik Folin–Ciocalteu reaktanı kullanılarak belirlenmiştir. 100 µL polen ekstraktı, 900 µL deiyonize su ve 5 mL Folin–Ciocalteu reaktifi (0.2 N) bir tüpte karıştırılmış ve 8 dakika bekletilmiştir. 5 mL sodyum karbonat eklenip 30 saniye vortekslenmiştir. Karışım, oda sıcaklığında 2 saat karanlıkta bekletilmiş ve ardından absorbansı 765 nm'de UV-vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Sonuçlar, mg galik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir (Capanoglu ve ark., 2013). Toplam flavonoid içerik, Zhishen ve ark. (1999) tarafından protokolda küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Kuersetin (KE) standart olarak kullanılmıştır. Yönteme göre, 20 µl standart ve örnek, 80 µl dH₂O içeren mikropilaya kuyucuklarına eklenmiştir. Daha sonra 5 dakika sonra 6 µl %5 NaNO₂ eklenmiştir. 5 dakikadan sonra, 6 µl %10 alüminyum klorür (AlCl₃) eklenmiş ve 6 dakika sonra 40 µl NaOH (1 M) eklenmiştir. Toplam hacim distile su ile 200 µl'ye tamamlanmıştır. Absorbans 510 nm'de mikropilaya okuyucu kullanılarak okunmuştur. Sonuçlar KE eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid içeriklerin belirlenmesi için tüm testler üç kez tekrar edilmiş olup, değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur.

2.5. Antioksidan aktivite

Arı poleni numunesinin antioksidan aktivitesi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve Cu(II)'nin oksidan olarak kullanıldığı toplam antioksidan potansiyel yöntemi (CUPRAC) ile belirlenmiştir.

DPPH radikal temizleme kapasitesi, Bersuder ve ark. (1998) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Her bir süpernatant (50 µL) 2 mL DPPH çözeltisine eklenmiş ve karışım karanlık bir su banyosunda 30 dakika boyunca çalkalanarak bekletilmiştir. Absorbans, 517 nm'de ölçülmüştür.

ABTS radikal katyon çözeltisi hazırlamak için, 2,2'-Azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit, su içinde 7 mM konsantrasyonda çözülmüştür. ABTS çözeltisi, 2.45 mM potasyum persülfat ile reaksiyona sokulmuş ve kullanılmadan önce oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat bekletilmiştir. Arı poleni örneklerinin incelenmesi için, ABTS çözeltisi etanol ile 734 nm'de 0.70 absorbansa ulaşana kadar seyreltilmiş ve 30 °C'de dengelenmiştir. Arı poleni ekstresi, 1 mL etanol veya PBS içinde seyreltikten sonra, 1 mL ABTS çözeltisi ile karıştırılmıştır. Tüpler, karıştırıldıktan sonra 1 dakika bekletilmiş ve ardından 30 °C'de 6 dakika boyunca kapalı tutulmuştur. Örneklerin absorbansları 734 nm'de ölçülmüş ve sonuçlar mg TE/g cinsinden ifade edilmiştir (Makhlouf-Gafsi ve ark., 2018; Mayda ve ark., 2020).

CUPRAC yönteminde, arı poleni ekstresi sırasıyla 0.1 mL, 1.0×10^{-2} M Cu(II) klorür çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışıma ardından 7.5×10^{-3} M neokuproin çözeltisi ve 1 M amonyum asetat tamponu (pH 7.0) eklenmiştir. Karışımın toplam hacmi damıtılmış su eklenerek 4 mL'ye tamamlanmış, oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiş ve ardından absorbans değeri 450 nm'de ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri, bir antioksidan çözeltisi olmadan yapılan ölçümlerle karşılaştırılarak, sonuçlar mg Trolox Eşdeğeri/g (mg TE/g) olarak ifade edilmiştir (Apak ve ark., 2004).

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için tüm testler üç kez tekrar edilmiş olup, sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur.

2.6. Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC/MS) analizi

Örneklerin yağ asidi bileşimi, AOAC 920.39 (2000)'da tanımlanan yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Yağ ekstraksiyonu, bir Soxhlet cihazında çözücü olarak hekzan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen lipitler, GC (Thermo Scientific Trace 1310, ABD) analizi için yağ asidi metil esterlerine (FAME'ler) dönüştürülmüştür. Bu işlem için çıkarılan yağ heptan içinde çözülmüş ve 2N KOH eklenmiştir. Karışım vorteksenerek 5000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan berrak heptan fazı, GC/MS analizi için cam deney tüplerine transfer edilmiştir. Örnek, otomatik bir örnekleme cihazı (Autosampler AI 1310, Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak cihaza enjekte edilmiştir (1 μ L). Numune, Thermo Scientific (ABD) ISQ LT modeli GC/MS kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz için Thermo Scientific'ten Trace Gold TG-WaxMS kılcal kolonu (60 m uzunluğunda, iç çapı 0.25 mm, film kalınlığı 0.25 μ m) kullanılmıştır. Enjeksiyon sıcaklığı 240 °C'ye ayarlanmış ve fırın sıcaklığı 3 dakika boyunca 100 °C'de tutulmuş, ardından 4 °C/dakika hızla 240 °C'ye yükseltilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dakika akış hızı ve 1:20 bölünme oranı ile helyum kullanılmıştır. Kütle spektrometresi ünitesi (ISQ LT, Thermo Fisher Scientific, ABD), elektron iyonizasyon modunda (70 eV) çalıştırılmıştır. Yağ asitleri, 37 bileşenli standart bir FAME karışımıyla (CHEM-LAB n.v.-CL40.13093, Belçika) tutma süreleri karşılaştırılarak tanımlanmıştır.

2.7. Antimikrobiyal etkinlik

Antimikrobiyal deneylerde toplam 18 insan patojenik mikrobiyal suş kullanılmıştır (Tablo 3). Antimikrobiyal etkinin test edildiği ATCC suşları, Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından, diğer suşlar ise Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu (RSKK) Laboratuvarından temin edilmiştir. Bakteri suşları, Tryptic Soy Agar'a (Oxoid, UK) ekilerek 37 °C'de 18 saat boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra %0.9 steril salin tamponunda McFarland Standardı 0.5'e ($1-1.5 \times 10^8$ CFU/mL) ayarlanmıştır. Arı polenin stok çözeltisinin sıvı kısmı, döner buharlaştırıcı ile buharlaştırılmıştır. Kurutulan 0.02 g polen örneği tartılmış ve antimikrobiyal aktivite testleri için 1 mL dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüştür.

2.7.1. Disk difüzyon yöntemi

Arı poleni örneğinin antibakteriyel etkisini belirlemek için disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Çapı 6 mm olan boş diskler, 20 mg/mL konsantrasyondaki arı poleni örneği çözeltileri ile emdirilmiştir. Negatif kontrol olarak DMSO, standart antibiyotik olarak ise 10 μ g/disk konsantrasyonunda siprofloksasin kullanılmıştır. İnkübasyonun ardından (18-24 saat boyunca, 37 °C'de) inhibisyon bölgelerinin boyutları ölçülmüştür. Sonuçların doğruluğunu sağlamak amacıyla test üç kez tekrarlanmıştır.

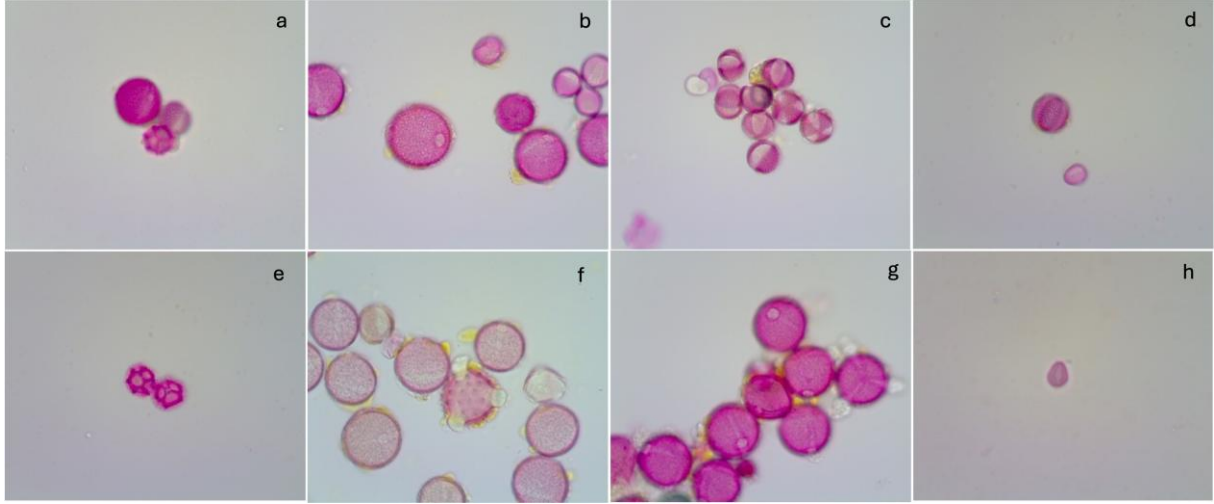
2.7.2. Minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) testi

Arı poleni ekstresinin farklı konsantrasyonlarını elde etmek için iki katlı seri seyreltmeler, doğrudan Mueller Hinton besiyeri içeren bir mikrotitre plağında hazırlanmıştır (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.62 ve 0.31 mg/mL). Her bir kuyuya, nihai olarak 5×10^5 CFU/mL konsantrasyonuna ulaşacak şekilde 20 μ L bakteriyel inokulum eklenmiştir. Standart ilaç olarak ampisilin kullanılmıştır. Plaka, steril bir kapakla kapatılarak 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Optik yoğunluk, 600 nm'de bir mikropalak okuyucu (Bio-Tek, Eon, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Minimum inhibitör konsantrasyon (MIC), gözle görülür mikrobiyal büyümeyi engelleyen en düşük konsantrasyon olarak kaydedilmiştir.

3. Bulgular

3.1. Botanik kökeni

Bu çalışmada, Kars bölgesinden toplanan bir adet arı poleni örneği incelenmiş ve Cistaceae (%27.8), Boraginaceae (%19.9), Brassicaceae (%19.6), Fabaceae (%16.4), Asteraceae (%8.7), Papaveraceae (%4.2), Polygonaceae (%2.0), Rosaceae (%1.0), Lamiaceae (%0.2) ve Plantaginaceae (%0.2) olmak üzere 10 farklı polen taksonu tespit edilmiştir. Kars'tan temin edilen arı poleni örneğinin polifloral olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. Bazı polen taksonlarının mikroskopik görüntüleri. a) Karışık polen (Cistaceae, Asteraceae, Brassicaceae); b) Karışık polen (Cistaceae, Rosaceae); c) Brassicaceae; d) Karışık polen (Brassicaceae, Boraginaceae); e) Asteraceae; f) Karışık polen (Cistaceae, Asteraceae, Brassicaceae); g) Cistaceae; h)Boraginaceae.

3.2. Toplam fenolik-flavonoid içeriği ve antioksidan kapasitesi

Toplam fenolik içerik, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir ve sonuçlar mg GAE/g polen olarak ifade edilmiştir. Arı poleni etanol ekstraktındaki Toplam fenolik içerik 23.65 mg GAE/g olarak bulunurken, toplam flavonoid içerik ise 14.56 mg KE/g olarak saptanmıştır.

Bu çalışmada, arı poleni etanol ekstresinin antioksidan kapasitesini belirlemek için DPPH, CUPRAC ve ABTS yöntemleri kullanılmış ve elde edilen sonuçlar sırasıyla 16.18 mg TE/g, 54.23 mg TE/g ve 91.9 mg TE/g olarak bulunmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Polen örneğinin toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik ve antioksidan aktiviteleri

Toplam fenolik içerik (mg GAE/g)	Toplam flavonoid içerik (mg KE/g)	CUPRAC (mg TE/g)	DPPH (mg TE/g)	ABTS (mg TE/g)
23.65 ± 0.21	14.56 ± 0.22	54.23 ± 0.44	16.18 ± 0.18	91.9 ± 0.75

Not: Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

3.3. Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC/MS) analizi

Arı poleni yağ ekstraktının GC-MS analizi sonucunda, toplamda 33 yağ asidi tanımlanmıştır; bunların 15'i doymuş, 8'i tekli doymamış ve 10'u çoklu doymamış yağ asididir. Bu yağ asitlerinin miktarları, toplam yağ asitlerinin yüzdesi olarak ifade edilmiştir (Çizelge 2). En baskın yağ asidi olarak %20.46 oranında α -linolenik asit belirlenmiş, bunu sırasıyla %16.68 linoleik asit, %12.94 palmitik asit ve %9.65 araşidonik asit izlemiştir.

Kantitatif analiz, test örneğinde palmitik asidin (%12.94) baskın doymuş yağ asidi olduğunu ortaya koymuştur. Diğer baskın doymuş yağ asitleri ise sırasıyla stearik asit (%3.00), behenik asit (%2.61), heneikosanoik asit (%2.51), araşidonik asit (%1.45) ve miristik asit (%1.42) olarak %1'in üzerinde seviyelerde tespit edilmiştir. Tekli doymamış yağ asitleri arasında, oleik asit (%8.01), eikosenoik (cis-11) asit (%4.99), erusik asit (%4.11), nervonik asit (%2.01) ve elaidik asit (%1.62) en fazla bulunanlar olarak belirlenmiştir. En fazla bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin ise sırasıyla α -linolenik asit (%20.46), linoleik asit (%16.68), araşidonik asit (%9.65), eikosatrienoik (cis-8_11_14) asit (%3.25) ve eikosadienoik (cis-11_14) asit (%1.46) olduğu tespit edilmiştir. Test örneğinin, doymuş yağ asitlerine kıyasla daha yüksek oranda doymamış yağ asitleri (Doymuş yağ asitlerinin / Doymamış yağ asitlerinin 2.76) içerdiği ve n-6/n-3 yağ asitleri oranının %4'ten düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 2. Arı polenin yağ asit içeriği

No	t _R *	Yağ Asitleri	Kimyasal İsimlendirme	% Toplam	
Doymuş yağ asitler					
1	24.43	Palimitik	C16:0	12.94 ± 0.20	
2	27.93	Stearik	C18:0	3.00 ± 0.25	
3	34.17	Behenik	C22:0	2.61 ± 0.14	
4	33.57	Heneikosanoik	C21:0	2.51 ± 0.23	
5	31.17	Araşidik	C20:0	1.45 ± 0.15	
6	20.45	Miristik	C14:0	1.42 ± 0.02	
7	36.93	Lignoserik	C24:0	0.76 ± 0.03	
8	16.24	Laurik	C12:0	0.49 ± 0.09	
9	11.96	Kaprik	C10:0	0.38 ± 0.06	
10	5.89	Kaproik	C6:0	0.32 ± 0.05	
11	35.94	Trikosanoik	C23:0	0.25 ± 0.06	
12	26.17	Heptadekanoik	C17:0	0.17 ± 0.03	
13	8.27	Kaprilik	C8:0	0.12 ± 0.02	
14	22.36	Pentadekanoik	C15:0	0.09 ± 0.03	
15	4.87	Buirik	C4:0	0.01	
Tekli doymamış yağ asitleri					
16	28.57	Oleik	C19:1n9c	8.01 ± 0.36	
17	31.79	Eikosenoik (cis-11)	C20:1	4.99 ± 0.18	
18	34.79	Erusik	C22:1n9	4.11 ± 0.10	
19	37.55	Nervonik	C24:1	2.01 ± 0.13	
20	28.7	Elaidik	C19:1n9t	1.62 ± 0.06	
21	26.71	Heptadekanoik (cis-10)	C17:1	0.38 ± 0.21	
22	23.43	Pentadekanoik (cis -10)	C15:1	0.03	
23	25.38	Palmitoleik	C16:1	0.03 ± 0.01	
Çoklu doymamış yağ asitleri					
24	30.98	α -Linolenik	C18:3n3	20.46 ± 0.46	
25	29.71	Linoleik	C18:2n6c	16.68 ± 0.30	
26	33.94	Araşidonik	C20:4n6	9.65 ± 0.62	
27	33.57	Eikosatrienoik (cis-8_11_14)	C20:3n6	3.25 ± 0.28	
28	32.83	Eikosadienoik (cis-11_14)	C20:2	1.46 ± 0.09	
29	30.44	γ -Linolenik	C18:3n6	0.25 ± 0.03	
30	38.48	Dokosaheksaenoik (cis-4_7_10_13_16_19)	C22:6n3	0.17 ± 0.01	
31	35.57	Dokosadienoik (cis-13_16)	C22:2	0.14 ± 0.02	
32	30.17	Linoelaidik	C18:2n6t	0.13 ± 0.01	
33	35.2	Eikosapentaenoik (cis-5_8_11_14_17)	C20:5n3	0.08 ± 0.02	
				% Doymuş yağ asitlerinin	26.52
				% Doymamış yağ asitlerinin	73.45
				% Toplam	99.97
Doymuş yağ asitlerinin / Doymamış yağ asitlerinin					2.76

*t_R: tutunma zamanı

Not: Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

3.4. Antimikrobiyal etkinlik

Arı polenin etanolik ekstraktının antimikrobiyal profilini belirlemek amacıyla toplam 18 Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri seçilmiştir. Ancak ekstraktın, test edilen tüm Gram-pozitif bakterilere ve bazı Gram-negatif bakterilere karşı zayıf bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Arı polenin etanolik ekstraktının farklı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı in vitro antimikrobiyal aktivitesine ait sonuçlar Çizelge 3'te sunulmuştur.

Çizelge 3. Arı poleni ekstraktının (20 mg/mL) inhibisyon zonları (mm ± standart sapma) ve MİK değerleri

Mikroorganizma	Arı polenin inhibisyon zonları (400µg/disk)	Siprofloksasinin inhibisyon zonları (10µg/disk)	MİK değerleri (20mg/mL)	
Gram-pozitif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10.0 ± 1.73	28 ± 1.15	2.5
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	7.0 ± 1.0	29.3 ± 1.53	5
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29219	9.5 ± 0.5	25.0	5
Gram-negatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1/Klinik	9.6 ± 1.15	14.3 ± 1.15	5
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2/Klinik	TE	15.3 ± 0.58	TE
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	9.1 ± 0.76	38.0 ± 1.0	5
	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603	8.6 ± 1.15	25.0 ± 1.0	5
	<i>Escherichia coli</i> 1/Klinik	TE	45.0 ± 2.89	TE
	<i>Escherichia coli</i> 2/Klinik	TE	13.6 ± 2.89	TE
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	TE	39.3 ± 2.08	TE
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	TE	38.6 ± 1.53	TE
	<i>Escherichia coli</i> O:124 RSKK 318	TE	45.0	TE
	<i>Escherichia coli</i> O:152 RSKK 323	8.3 ± 0.58	35.6 ± 0.58	5
	<i>Escherichia coli</i> O:157 H:7 RSKK 09007	8.5 ± 0.50	47.0 ± 1.0	5
	<i>Escherichia coli</i> O:143 RSKK 322	8.1 ± 0.20	27.3 ± 0.58	2.5
	<i>Escherichia coli</i> O:28 RSKK 314	TE	30.3 ± 0.58	TE
	<i>Escherichia coli</i> O:164 RSKK 324	7.5 ± 1.32	36.3 ± 1.15	5
	<i>Acinetobacter baumannii</i> /Klinik	TE	TE	TE

TE: Tespit edilmedi

Not: Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Antimikrobiyal duyarlılık testinde 7.0 mm ile 10 mm arasında değişen zon çapları gözlenmiştir. Arı polenin etanolik ekstraktı, *S. aureus* suşlarına, *E. faecalis*'e, *P. aeruginosa* suşlarına (siprofloksasine dirençli klinik izolat hariç), *K. pneumonia*'ya, *E. coli*'nin ATCC suşlarına ve bazı gıda kaynaklı *E. Coli* suşlarına karşı zayıf etki göstermiştir (*E. coli* O:152, *E. coli* O:157 H:7, *E. coli* O:143,

E. coli O:164). Test edilen mikroorganizmalara karşı MİK değerleri Çizelge 3'te gösterildiği gibi 2.5 ile 5 mg/mL arasında değişmektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

4.1. Botanik kökeni

Arı poleni örneklerinin botanik kökeni, bitki kaynağı, coğrafi köken, mevsimsel koşullar ve arı faaliyetleri gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Gardana ve ark., 2018). Feás ve ark. (2012), Portekiz'de arıların genellikle Cistaceae ve Boraginaceae familyalarından polen topladığını belirtmiştir. Bu çalışmada da arılar tarafından en çok tercih edilen polen taksonu olarak Cistaceae belirlenmiştir. Özkök ve ark. (2021), Türkiye'nin farklı bölgelerinden alınan 7 arı poleni örneğinin botanik kökenini mikroskopik analiz ile incelemişlerdir. Bu çalışma, incelenen bölgeler arasında Sivas'ın arı poleni içeriğinin, polen çeşitliliği açısından Kars'a en yakın örnek olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, Mayda ve ark. (2020), Türkiye'nin Beytepe-Ankara, Kahramankazan-Ankara, Bursa, Kırklareli ve Rize bölgelerinden arı poleni örneklerini incelemiş ve 33 farklı polen taksonu tanımlamıştır. Ankara'dan toplanan polen örneklerinin bitki familyaları açısından Kars örneğine en yakın olduğu belirlenmiştir.

4.2. Toplam fenolik-flavonoid içeriği ve antioksidan kapasitesi

Arı polenin antioksidan etkisinin türlere özgü olduğu ve bitki kaynakları arasında büyük farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir (Denisow & Denisow-Pietrzyk, 2016). Çalışmalar, coğrafi farklılıklar, çevresel faktörler ve polenin toplandığı bitki türlerine bağlı olarak arı polenin antioksidan kapasitesindeki çeşitliliği vurgulamaktadır (Dulger Altiner ve ark., 2020). Arı polenin antioksidan aktivitelerine ve oksidatif strese karşı koruyucu etkilerine fenolaminler ve flavonoidler de katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2020).

Arı polenin toplam fenolik içeriği, bitki kaynakları ve coğrafi konumlara göre değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin, Türkiye'de yapılan bir çalışmada, polenin toplam fenolik içerik değerlerinin 6.40 ile 16.4 mg GAE/g arasında değiştiği, en yüksek toplam fenolik ve antioksidan aktivitenin ise *Salix* taksonu polenlerinde bulunduğu rapor edilmiştir (Yıldız ve ark., 2013). Toplam fenolik içerik değerlerindeki bu değişkenlik, İtalya'da yapılan ve farklı yıllarda toplanan arı polenleri için 4.20 ile 29.60 mg GAE/g arasında olduğunu rapor edildiği çalışmalarda da açıkça görülmektedir (Sawicki ve ark., 2022). Ayrıca, arı polenin etanolik veya metanolik ekstraktlarının yüksek antioksidan kapasitesi ile başta flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere yüksek miktarda polifenoller arasındaki korelasyon, bu bileşiklerin arı polenin antioksidan özelliklerine olan katkısını daha da vurgulamaktadır (Bleha ve ark., 2019). Ancak, çalışmamızda Kars polenin toplam fenolik içeriği bu değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlarımızın, Türkiye'deki polenler için bildirilen aralıkta (16.19 mg GAE/g ve 38.82 mg GAE/g) olduğu tespit edilmiştir (Karkar ve ark., 2020).

Arı polenin toplam flavonoid içeriği de çeşitli çalışmalarda incelenmiş ve farklı botanik kökenler arasında önemli farklılıklar ortaya konmuştur. Örneğin, Brezilya'da yapılan bir araştırma, arı polenin yüksek antioksidan aktivite sergilediğini ve bunun potansiyel olarak flavonoidleri de içerebilen yüksek fenolik bileşik içeriğine atfedilebileceğini bildirmiştir (Carpes ve ark., 2009). Ayrıca, farklı botanik kökenlerden elde edilen arı polenleri üzerinde yapılan bir çalışma, toplam fenolik içerik değerlerinde 4.2 (*Magnolia*) ile 29.6 mg/g GAE (*Lamium*) arasında değişen belirgin farklılıklar göstermiştir; bu da bitki kaynaklarına bağlı olarak flavonoid içeriğindeki değişiklikleri ortaya koymaktadır (Rocchetti ve ark., 2018).

Arı polenin antioksidan kapasitesi, DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC gibi çeşitli yöntemlerle kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bitki ekstraktlarındaki antioksidan kapasite ile toplam fenolik içerik arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş, bu da fenolik bileşiklerin bu bitkilerin antioksidan özelliklerine önemli katkılar sağladığını göstermektedir (Dudonné ve ark., 2009). Bu bulgular, arı polenin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde fenolik bileşikler ve flavonoidlerin önemini vurgulamaktadır. Çalışmamızda, Türkiye'de yapılan bazı çalışmalara (Yesiltan ve ark., 2014; Çeksteryt ve ark., 2016; Mayda ve ark., 2020) kıyasla daha yüksek bir antioksidan kapasite tespit edilmiştir.

4.3. Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC/MS) analizi

Arı polenin yağ asidi bileşimi, besinsel önemi nedeniyle ilgi çekmektedir. Çalışmamıza benzer şekilde, [Mayda ve ark. \(2020\)](#), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan polen örneklerinde yüksek düzeyde α -linolenik asit, linoleik asit, palmitik asit, araşidonik asit ve oleik asit rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, çalışmamızda [Mayda ve ark. \(2020\)](#) çalışmasında bildirilmeyen pentadekanoik asit ve elaidik asit de tespit edilmiştir. Ayrıca, [Mayda ve ark. \(2020\)](#) çalışmasında belirlenen behenik asit, heneikosanoik asit, erusik asit ve nervonik asit bu çalışmada daha yüksek düzeylerde bulunmuştur.

Erusik asit, yenilebilir bir omega-9 yağ asidi olarak bilinir ve Lorenzo yağı olarak bilinen tedavi edici bir bileşenin parçasıdır. Bu asit, adrenolökodistrofi tedavisinde kullanılmakta ve nöral hücre ölümünü bloke ederek multipl skleroz ve Alzheimer hastalığında terapötik roller oynadığı bilinmektedir. Aynı zamanda erusik asit, miyelinin önemli bir bileşeni olan nervonik aside dönüşebilmektedir ([Altınöz & Özpinar, 2019](#)).

Çalışmamızdan farklı olarak, [Özcan ve ark. \(2019\)](#) Türkiye ve Rusya'nın altı farklı bölgesinden (Konya-Karapınar, Rusya-Altay Dağları, Rusya-Perm Bölgesi, Hatay, Antalya-Alanya, Niğde-Bor) toplanan polen örneklerinde en baskın yağ asidinin oleik asit olduğunu bulmuşlardır. Yağ asidi bileşimindeki bu farklılıklar, botanik ve coğrafi köken farklılıklarına ve ayrıca yağ asitlerinin izolasyonu ve ekstraksiyonu için kullanılan metodolojiye bağlanabilir ([Estevinho ve ark., 2011](#)). Çalışmamız, [Estevinho ve ark. \(2011\)](#) Brezilya ve Portekiz arı polenleri üzerinde yaptıkları araştırma ile karşılaştırıldığında, yağ asidi içeriklerinin benzer yüzdelerde olduğu gözlemlenmiştir.

4.4. Antimikrobiyal etkinlik

Çalışmamızla uyumlu olarak, birçok araştırmacı, arı polenin etanolik ekstraktının Gram-negatif bakterilere kıyasla Gram-pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğunu bildirmiştir ([Gerçek ve ark., 2022](#)). Ancak, bizim bulgularımızın aksine, [Karadal ve ark. \(2018\)](#) polen örneklerinin *E. coli* O 157' ye karşı antibakteriyel aktivite göstermediğini, [Erkmen ve ark. \(2008\)](#) ise polen ekstraktının *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermediğini rapor etmişlerdir. Bu sonuçlardaki farklılıkların, arı poleninde bulunan ve sağlık açısından yararlı özelliklere sahip polifenoller ve diğer kimyasal bileşiklerdeki değişikliklerden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür ([Estevinho ve ark., 2011](#)).

Bulgularımız, arı poleni ekstraktlarına karşı *S. aureus*'un en duyarlı tür olduğunu ve *E. coli*'nin en dirençli tür olduğunu belirten önceki bazı çalışmalarla benzerdir ([Graikou ve ark., 2011](#); [Pascoal ve ark., 2014](#)). Benzer şekilde, çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarının (siprofloksasin dirençli klinik izolat hariç) arı polenine duyarlı olduğu görülmüştür, ki bu da diğer bazı çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur ([Carpes ve ark., 2007](#); [Fatrčová-Šramková ve ark., 2013](#)).

Bulgularımız, Kars arı polenin, daha önce incelenen arı poleni örnekleriyle karşılaştırıldığında dikkate değer bir içeriğe, biyolojik özelliklere, toplam fenolik içerik değerine ve toplam flavonoid içerik değerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Kars arı polenin gözlemlenen biyoaktivitesinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve bu polenin gıda, besin takviyesi ve ilaç endüstrilerindeki potansiyel uygulamalarının değerlendirilmesi için daha kapsamlı araştırmalar gerekmektedir. Genel olarak, çalışmamızın, polen örnekleri üzerine artan bilgi birikimine katkıda bulunduğu ve Kars arı polenin potansiyel sağlık faydalarına sahip değerli bir doğal kaynak olarak öne çıktığı vurgulanmıştır.

Teşekkür

Analizler sırasında sağladıkları teknik destek için Sinop Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı personeline teşekkür ederiz.

Kaynakça

- Aličić, D., Flanjak, I., Ačkar, Đ., Jašić, M., Babić, J., & Šubarić, D. (2020). Physicochemical properties and antioxidant capacity of bee pollen collected in Tuzla Canton (B&H). *Journal of Central European Agriculture*, 21(1), 42-50. <https://doi.org/10.5513/jcea01/21.1.2533>
- Altınöz, M., & Özpinar, A. (2019). PPAR- δ and erucic acid in multiple sclerosis and Alzheimer's disease. Likely benefits in terms of immunity and metabolism. *International Immunopharmacology*, 69, 245-256. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.057>

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Barth, O., Freitas, A., Oliveira, É., Silva, R. A., Maester, F. M., Andrella, R. R. S., & Cardozo, M. B. Q. G. (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(4), 893-902. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652010000400011>
- Bersuder, P., Hole, M., & Smith, G. (1998). Antioxidants from a heated histidine-glucose model system. I: Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high-performance liquid chromatography. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75(2), 181-187. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0030-y>
- Bleha, R., Shevtsova, T., Kruzik, V., Brindza, J., & Sinica, A. (2019). Morphology, physicochemical properties and antioxidant capacity of bee pollens. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(1), 1-8. <https://doi.org/10.17221/139/2018-cjfs>
- Capanoglu, E., De Vos, R. C., Hall, R. D., Boyacioglu, D., & Beekwilder, J. (2013). Changes in polyphenol content during production of grape juice concentrate. *Food Chemistry*, 139(1-4), 521-526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.023>
- Carpes, S. T., Begnini, R., Alencar, S., & Masson, M. (2007). Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência E Agrotecnologia*, 31(6), 1818-1825. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542007000600032>
- Carpes, S. T., Mourão, G., Alencar, S., & Masson, M. (2009). Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Food Technology*, 12(03), 220-229.
- Čeksterytė, V., Navakauskienė, R., Treigyte, G., Jansen, E., Kurtinaitienė, B., Dabkevičienė, G., & Balžekas, J. (2016). Fatty acid profiles of monofloral clover beebread and pollen and proteomics of red clover (*Trifolium pratense*) pollen. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 80(11), 2100-2108. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1204218>
- Denisow, B., & 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. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7729>
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>
- Dulger Altiner, D., Sandıkcı Altınatmaz, S., Sabuncu, M., Aksu, F., & Sahan, Y. (2020). In-vitro bioaccessibility of antioxidant properties of bee pollen in Turkey. *Food Science and Technology*, 41(1), 133-141. <https://doi.org/10.1590/fst.10220>
- El Ghouizi, A., Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaaid, D., El Menyiy, N., Hano, C., & Lyoussi, B. (2023). Bee pollen as functional food: Insights into its composition and therapeutic properties. *Antioxidants*, 12(3), 557. <https://doi.org/10.3390/antiox12030557>
- Erkmen, O., & Özcan, M. (2008). Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. *Journal of Medicinal Food*, 11(3), 587-592. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.0038>
- Estevinho, L., Rodrigues, S., Pereira, A., & Feás, X. (2011). Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(2), 429-435. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02859.x>
- Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Kačániová, M., Mariassyova, M., Rovná, K., & Stričík, M. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 48(2), 133-138. <https://doi.org/10.1080/03601234.2013.727664>
- Feás, X., Vázquez-Tato, M., Estevinho, L., Seijas, J., & Iglesias, A. (2012). Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17(7), 8359-8377. <https://doi.org/10.3390/molecules17078359>

- Gardana, C., Del Bò, C., Quicazán, M., Corraea, A., & Simonetti, P. (2018). Nutrients, phytochemicals and botanical origin of commercial bee pollen from different geographical areas. *Journal of Food Composition and Analysis*, 73, 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.07.009>
- Gerçek, Y. C., Celik, S., & Bayram, S. (2022). Screening of plant pollen sources, polyphenolic compounds, fatty acids and antioxidant/antimicrobial activity from bee pollen. *Molecules*, 27(1), 117. <https://doi.org/10.3390/molecules27010117>
- Graikou, K., Kapeta, S., Aligiannis, N., Sotiroudis, G., Chondrogianni, N., Gonos, E., & Chinou, I. (2011). Chemical analysis of Greek pollen-Antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 33. <https://doi.org/10.1186/1752-153x-5-33>
- Karadal, F., Onmaz, N. E., Abay, S., Yildirim, Y., Al, S., Tatyuz, I., & Akcay, A. (2018). A study of antibacterial and antioxidant activities of bee products: Propolis, pollen and honey samples. *Ethiopian Journal of Health Development*, 32(2).
- Karkar, B., Şahin, S., & Ertan Güneş, M. (2020). 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. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1844462>
- Keskin, M., & Özkök, A. (2020). Effects of drying techniques on chemical composition and volatile constituents of bee pollen. *Czech Journal of Food Sciences*, 38(4), 203-208. <https://doi.org/10.17221/79/2020-cjfs>
- Makhlouf-Gafsi, I., Krichen, F., Mansour, R., Mokni, A., Sila, A., Bougatef, A., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2018). Ultrafiltration and thermal processing effects on Maillard reaction products and biological properties of date palm sap syrups (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Chemistry*, 256, 397-404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.145>
- Mayda, N., Özkök, A., Bayram, N., Gerçek, Y., & Sorkun, K. (2020). Bee bread and bee pollen of different plant sources: Determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles. *Journal of Food Measurement & Characterization*, 14(4), 1795-1809. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00427-y>
- Mischenko, O., Lytvynenko, O., Afara, K., & Kryvoruchko, D. (2020). Influence of nest structure and age of the bee queen on preparation of protein feed by bees. *Visnyk Agrarnoi Nauky*, 98(10), 27-32. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202010-04>
- Mosić, M. D., Trifković, J. Đ., Ristivojević, P. M., & Milojković-Opsenica, D. M. (2023). Quality assessment of bee pollen-honey mixtures using thin-layer chromatography in combination with chemometrics. *Chemistry & Biodiversity*, 20(3), e202201141. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202201141>
- Official Methods of Analysis (2000). 17th Ed., AOAC INTERNATIONAL, Official Method 920.39, Gaithersburg, MD, USA.
- Ozenirler, C., Bayram, N. E., Celemlı, O. G., Celikbicak, O., & Sorkun, K. (2018). Chemical characterization of Kars honey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(3), 1889-1895.
- Özcan, M. M., Aljuhaimi, F., Babiker, E. E., Uslu, N., Ceylan, D. A., Ghafoor, K., ... & Alsawmahi, O. N. (2019). Determination of antioxidant activity, phenolic compound, mineral contents and fatty acid compositions of bee pollen grains collected from different locations. *Journal of Apicultural Science*, 63(1), 69-79. <https://doi.org/10.2478/jas-2019-0004>
- Özkök, A., Koru, Ö., Bedir, O., Çetinkaya, S., Gençay Çelemlı, Ö., Özenirler, Ç., Mayda N., & Sorkun, K. (2021). Total bioactive compounds and antimicrobial capacities of bee pollen with different botanical origins. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Food Science and Technology*, 78(1), 57. <https://doi.org/10.15835/buasvmcnfst:2020.0061>
- Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., & Estevinho, L. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.010>
- Prđun, S., Svečnjak, L., Valentić, M., Marijanović, Z., & Jerković, I. (2021). Characterization of bee pollen: physico-chemical properties, headspace composition and FTIR spectral profiles. *Foods*, 10(9), 2103. <https://doi.org/10.3390/foods10092103>

- Rajs, B. B., Primorac, L., Gal, K., Bubalo, D., Prđun, S., 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. <https://doi.org/10.17306/j.afs.1024>
- Rocchetti, G., Castiglioni, S., Maldarizzi, G., Carloni, P., & Lucini, L. (2018). UHPLC-ESI-QTOF-MS phenolic profiling and antioxidant capacity of bee pollen from different botanical origin. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(2), 335-346. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13941>
- Sawicki, T., Starowicz, M., Kłębukowska, L., & Hanus, P. (2022). The profile of polyphenolic compounds, contents of total phenolics and flavonoids, and antioxidant and antimicrobial properties of bee products. *Molecules*, 27(4), 1301. <https://doi.org/10.3390/molecules27041301>
- Türk Patent ve Marka Kurumu. (2018). Erişim tarihi: 23 Aralık 2024. <https://kars.tarimorman.gov.tr/Belgeler/Kars%20Bal%C4%B1%20Co%C4%9Frafifi%20%C4%B0%C5%9Fareti.pdf>
- Wodehouse, R. P. (1936). Evolution of pollen grains. *Botanical Review*, 2(2), 67-84.
- Yesiltas, B., Capanoglu, E., Firatligil-Durmus, E., Sunay, A., Samanci, T., & Boyacioglu, D. (2014). Investigating the in-vitro bioaccessibility of propolis and pollen using a simulated gastrointestinal digestion System. *Journal of Apicultural Research*, 53(1), 101-108. <https://doi.org/10.3896/ibra.1.53.1.10>
- Yıldız, O., Can, Z., Saral, Ö., Yuluğ, E., Öztürk, F., Aliyazıcıoğlu, R., Canpolat, S., & Kolaylı, S. (2013). Hepatoprotective potential of chestnut bee pollen on carbon tetrachloride-induced hepatic damages in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2013/461478>
- Zhang, H., Liu, R., & 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. <https://doi.org/10.3390/molecules25061264>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00102-2)
- Zhou, J., Qi, Y., Ritho, J., Zhang, Y., Zheng, X., Wu, L., Li, Y., & Sun, L. (2015). Flavonoid glycosides as floral origin markers to discriminate of unifloral bee pollen by LC-MS/MS. *Food Control*, 57, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.035>